

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ

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

«До захисту в ЕК»
Директор інституту(декан факультету)
Наталія ГРЕГІРЧАК
(ім'я та прізвище)

«__» __ грудня 2025 р.

«До захисту допущено»
Завідувач кафедри
Віктор СТАБНІКОВ
(ім'я та прізвище)

«__» __ грудня 2025 р.

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА
НА ЗДОБУТТЯ ОСВІТНЬОГО СТУПЕНЯ МАГІСТРА

зі спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія»
(код та назва спеціальності)
освітньо-професійної програми Промислова та фармацевтична біотехнологія
на тему: Особливості отримання біофлокюлянтів мікробного походження

Виконав: здобувачка 2 курсу, групи 1

КОРОЛЕНКО Богдана Володимирівна
(прізвище, ім'я, по батькові повністю) (підпис)

Керівник СТАБНІКОВ Віктор Петрович
(прізвище, ім'я та по батькові повністю) (підпис)

Консультанти _____
(прізвище та ініціали) (підпис)

_____ (підпис)

_____ (підпис)

Рецензент _____
(прізвище та ініціали) (підпис)

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

Здобувач _____
(підпис)

Київ – 2025 р.

НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ

Інститут (факультет) Біотехнології та екологічного контролю
Кафедра біотехнології і мікробіології
Освітній ступінь магістр
Спеціальність 162 «Біотехнології та біоінженерія»
(код і назва)
Освітньо-професійна програма «Промислова та фармацевтична біотехнологія»
(назва)

ЗАТВЕРДЖУЮ
Завідувач кафедри біотехнології і
мікробіології
Віктор СТАБНІКОВ
“ 01 ” жовтня 2025 року

ЗАВДАННЯ

НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ ЗДОБУВАЧА

КОРОЛЕНКО Богдани Володимирівни
(прізвище, ім'я, по батькові)

1. Тема роботи «Особливості отримання біофлокулянтів мікробного походження»

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-кв

2. Строк подання здобувачем роботи 26.11.2025

3. Вихідні дані до роботи робота присвячена біотехнологічній розробці способу одержання мікробного біофлокулянту, призначеного для флокуляції мікроводоростей у технологічних схемах виробництва біодизеля; продуцентом флокулянту є *Bacillus agaradhaerens* C9, який синтезує біофлокулянт MBF-C9

4. Зміст пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно розробити) Реферат, Вступ, РОЗДІЛ 1, РОЗДІЛ 2, РОЗДІЛ 3, РОЗДІЛ 4, РОЗДІЛ 5, РОЗДІЛ 6, РОЗДІЛ 7, РОЗДІЛ 8, РОЗДІЛ 9, Висновки

5. Перелік графічного матеріалу 2 технологічні схеми, 2 апаратурні схеми

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
	РОЗДІЛ 1-3.	01.10.2025 – 25.10.2025	
	РОЗДІЛ 2.	27.10.2025 – 29.10.2025	
	РОЗДІЛ 3.	31.10.2025 – 05.11.2025	
	РОЗДІЛ 4-5	06.11.2025 – 15.11.2025	
	РОЗДІЛ 6	17.11.2025 – 18.11.2025	
	РОЗДІЛ 7	19.11.2025 – 20.11.2025	
	РОЗДІЛ 8-9	20.11.2025 – 24.11.2025	
	Оформлення списку літературних джерел	26.11.2025	
	Оформлення вступу та реферату	26.11.2025	
	Оформлення презентації	26.11.2025	
	Оформлення пояснювальної записки	26.11.2025	

Здобувач _____
(підпис)

Керівник роботи _____
(підпис)

Богдана КОРОЛЕНКО _____
(ім'я та прізвище)

Віктор СТАБНІКОВ _____
(ім'я та прізвище)

ABSTRACT

The qualification work is devoted to the biotechnological development of a method for obtaining a microbial bioflocculant intended for the flocculation of microalgae in technological schemes for biodiesel production. Improving the efficiency of microalgae separation is one of the key stages in modern bioenergy technologies, as the rate and completeness of biomass sedimentation determine the overall productivity and economic feasibility of lipid extraction.

Particular attention is given to the producer *Bacillus agaradhaerens* C9, which synthesizes the bioflocculant MBF-C9 with high flocculating activity toward microalgal cells. A technological scheme for the extraction and purification of the bioflocculant has been developed, including cooled continuous centrifugation of the culture broth, ultrafiltration concentration of the supernatant, cold precipitation with 96% ethanol, washing, and convective drying. Optimal parameters ensuring the preservation of at least 90% of the product's flocculating activity were established.

Material and technological calculations were performed, the required equipment was identified, and the feasibility of scaling the process to an industrial level was substantiated. The proposed bioflocculant effectively aggregates microalgal cells, significantly facilitating their separation prior to lipid extraction and thereby increasing the energy efficiency and economic viability of biodiesel production.

The work consists of an introduction, nine chapters, conclusions, and a list of references (132 sources). It contains 7 figures and 10 tables. The graphical part of the project includes a technological and an equipment scheme, each presented on two A1-format sheets.

Keywords: bioflocculant, powdered preparation, technological process, stabilization, quality control, microalgae, biodiesel production.

РЕФЕРАТ

Кваліфікаційна робота присвячена біотехнологічній розробці способу одержання мікробного біофлокулянту, призначеного для флокуляції мікроводоростей у технологічних схемах виробництва біодизеля. Підвищення ефективності відокремлення мікроводоростей є одним із ключових етапів у сучасних біоенергетичних технологіях, оскільки саме швидкість і повнота осадження біомаси визначають загальну продуктивність і економічну доцільність процесу отримання ліпідів.

Особливу увагу приділено продуценту *Bacillus agaradhaerens* C9, який синтезує біофлокулянт MBF-C9 з високою флокулятивною активністю щодо мікроводоростей. Розроблено технологічну схему виділення та очищення біофлокулянту, що включає охолоджене проточне центрифугування культуральної рідини, ультрафільтраційне концентрування супернатанту, холодне осадження 96-% етанолом, промивання та конвективне сушіння. Встановлено оптимальні параметри, які забезпечують збереження не менше 90 % флокулятивної активності продукту.

Проведено матеріально-технологічні розрахунки, визначено необхідне обладнання та обґрунтовано можливість масштабування процесу до промислового рівня. Запропонований біофлокулянт дозволяє ефективно агрегувати клітини мікроводоростей, значно полегшуючи їх відокремлення перед екстракцією ліпідів і тим самим підвищуючи енергоефективність та економічність виробництва біодизеля.

Робота складається зі вступу, 9 розділів, висновків та списку літератури (132 посилання). Наведено 7 рисунків та 10 таблиць. Графічну частину проекту представлено у вигляді технологічної та апаратурної схеми по 2 листа формату А1 кожного.

Ключові слова: біофлокулянт, порошковий препарат, технологічний процес, стабілізація, контроль якості, мікроводорості, виробництво біодизелю.

ЗМІСТ

ВСТУП	8
РОЗДІЛ 1. ХАРАКТЕРИСТИКА БІОФЛОКУЛЯНТІВ.....	10
1.1. Флокуляції та класифікація флокулянтів.....	10
1.2. Хімічні флокулянти, механізм дії, обмеження застосування.....	11
1.3. Біофлокулянти, їх хімічна природа та загальні властивості	13
РОЗДІЛ 2. БІОЛОГІЧНІ ПРОДУЦЕНТИ ТА БІОСИНТЕЗ БІОФЛОКУЛЯНТІВ.....	17
2.1. Мікроорганізми – продуценти біофлокулянтів.....	17
2.1.1. Бактерії як продуценти біофлокулянтів.....	17
2.1.2. Актиноміцети, що здатні синтезувати біофлокулянти.....	24
2.1.3. Гриби як продуценти біофлокулянтів.....	28
2.1.4. Дріжджі-продуценти біофлокулянтів.....	32
2.1.5. Ціанобактерії як продуценти біофлокулянтів.....	35
2.2. Метаболічні шляхи синтезу біополімерів флокулюючої дії.....	36
2.2.1. Полісахаридні шляхи синтезу	38
2.2.2. Синтез глікопротеїнів.....	38
2.2.3. Біосинтез поліпептидів і комплексних полімерів.....	39
2.2.4. Регуляція синтезу біофлокулянтів	39
РОЗДІЛ 3. ВИДІЛЕННЯ, ОЧИЩЕННЯ ТА ЗАСТОСУВАННЯ БІОФЛОКУЛЯНТІВ.....	41
3.1. Методи відокремлення біофлокулянтів із культурального середовища	41
3.2. Форми випуску й стабільність готового препарату	43
3.3. Перспективи промислового застосування та економічна доцільність	44
РОЗДІЛ 4. ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБГРУНТУВАННЯ.....	46
4.1. Характеристика біофлокулянтів	46
4.2. Огляд ринку біофлокулянтів	49

4.3. Розрахунок річної потужності виробництва.....	53
РОЗДІЛ 5. ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ СТАДІЙ ТЕХНОЛОГІЧНОГО ПРОЦЕСУ ДЛЯ ОДЕРЖАННЯ СУБСТАНЦІЇ БІОФЛОКУЛЯНТУ	57
5.1. Обґрунтування вибору післяферментаційних процесів отримання субстанції біофлокулянту	57
5.1.1. Вибір методу відділення біомаси та концентрування супернатанту	58
5.1.2. Осадження біофлокулянту органічним розчинником.....	60
5.1.3. Висушування біофлокулянту.....	61
5.2. Підбір технологічного обладнання з врахуванням матеріальних потоків по стадіях	63
5.3. Специфікація обладнання.....	65
РОЗДІЛ 6. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ВИДІЛЕННЯ ТА ОЧИЩЕННЯ БІОФЛОКУЛЯНТУ.....	67
РОЗДІЛ 7. ТЕХНОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ОТРИМАННЯ БІОФЛОКУЛЯНТУ	69
7.1. Обґрунтування вибору товарної форми випуску біофлокулянту	69
7.2. Специфікація обладнання.....	73
7.3. Опис технологічного процесу	74
РОЗДІЛ 8. КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА.....	76
8.1. Контроль виробництва субстанції біофлокулянту	76
8.2. Методи контролю препарату на основі біофлокулянту.....	79
РОЗДІЛ 9. ПРОЄКТ ЗАЯВКИ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ БІОФЛОКУЛЯНТУ	83
9.1. Галузь і застосування корисної моделі.....	83
9.2. Відомі аналоги та їх основні недоліки	83
9.3. Постановка задачі корисної моделі та її вирішення	84
9.4. Опис запропонованого способу	84
9.5. Формула корисної моделі	85

9.6. Реферат	85
ВИСНОВКИ.....	87
СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ.....	88

ВСТУП

Забруднення водних ресурсів є однією з найактуальніших екологічних проблем сучасності. Інтенсивний розвиток промисловості, зростання обсягів комунально-побутових та сільськогосподарських стічних вод призводять до накопичення у водоймах значної кількості завислих частинок, органічних і неорганічних сполук, важких металів та мікроорганізмів. Традиційні методи очищення води, що базуються на використанні неорганічних коагулянтів (солей алюмінію, заліза) або синтетичних полімерів, часто супроводжуються утворенням токсичних залишків, підвищеною корозійною активністю та високими експлуатаційними витратами (Sharma, Rana, & Panthari, 2020; Salem, & AL-Musawi, 2021; Łukasiewicz, 2025).

Альтернативою цим реагентам є біофлокулянти — природні полімери мікробного, рослинного або тваринного походження, здатні спричиняти агрегацію та осадження завислих частинок без негативного впливу на довкілля. Біофлокулянти мають переваги у вигляді біорозкладності, нетоксичності та сумісності з біологічними процесами очищення, що робить їх перспективними у водоочисних технологіях нового покоління (Mohammed, & Wan Dagang, 2019).

В останні роки зростає інтерес до мікробних біофлокулянтів, які продукуються бактеріями та актиноміцетами під час ферментації. Такі сполуки демонструють високу флокулювальну активність при низьких дозах внесення (1–10 мг/л), стабільність у широкому діапазоні рН та температур і ефективність щодо різних типів забруднень — від глинистих частинок до мікроводоростей (Yang et al., 2024a).

Згідно з даними Державної служби статистики України, у 2023 році обсяг утворених стічних вод, що не обробляються, становив 375,6 млн м³ (<https://sdg.ukrstat.gov.ua/uk/6-3-1/>), що підкреслює масштаб проблеми та необхідність впровадження нових екологічно безпечних технологій очищення.

					<i>НУХТ БТЕК 02.01.03 КР ПЗ</i>			
<i>Змн.</i>	<i>Лист</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>	<i>ВСТУП</i>	<i>Лім.</i>	<i>Арк.</i>	<i>Аркушів</i>
<i>Розроб.</i>	<i>Короленко Б.В.</i>						8	105
<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>			

У цьому контексті розроблення біотехнологічних процесів одержання біофлокулянтів набуває особливого значення як наукового, так і практичного напрямку.

Актуальність роботи зумовлена потребою у створенні екологічно безпечних і ефективних засобів очищення води від зважених частинок, що набуває особливого значення в умовах зростання антропогенного навантаження на довкілля. Біофлокулянти, отримані з мікроорганізмів, є перспективною альтернативою синтетичним флокулянтам завдяки їхній біорозкладності, нетоксичності та високій флокулювальній активності. Розроблення технології виділення, очищення та контролю якості біополімерних речовин природного походження сприяє впровадженню сталих біотехнологічних процесів у системи водоочищення та інших галузях промисловості.

Новизною роботи є одержання біофлокулянту MBF-C9 шляхом культивування *Bacillus agaradhaerens* C9, який має високу флокулятивну активність (95,29%) (Liu, Wang, Jiang, Liu, & Wang, 2015).

РОЗДІЛ 1

ХАРАКТЕРИСТИКА БІОФЛОКУЛЯНТІВ

1.1. Флокуляції та класифікація флокулянтів

Флокуляція — це процес агрегації дрібнодисперсних частинок, колоїдів або мікроорганізмів у більші агрегати (флокули), які легко осаджуються або відокремлюються від рідкої фази. Механізм флокуляції ґрунтується на зменшенні електростатичного відштовхування між частинками, нейтралізації їхнього заряду та утворенні міжчастинкових містків за участю високомолекулярних сполук. Цей процес широко використовується у водоочищенні, харчовій промисловості, біотехнології, а також у видобувній і целюлозно-паперовій галузях (Hocking, Klimchuk, & Lowen, 2007; Hogg, 2000).

Залежно від природи та механізму дії, флокулянти класифікують на такі основні групи (Agunbiade, Pohl, & Ashafa, 2016):

1. Неорганічні (мінеральні) флокулянти (Shivraj, Quraishi, & Basu, 2023)

До них належать солі багатовалентних металів (наприклад, $Al_2(SO_4)_3$, $FeCl_3$, $Fe_2(SO_4)_3$). Їхня дія ґрунтується на коагуляції — нейтралізації зарядів колоїдних частинок та формуванні гідроксидних флокул, які адсорбують забруднювачі. Такі реагенти ефективні, але утворюють велику кількість осаду й можуть підвищувати мінералізацію води.

2. Синтетичні флокулянти (Krishnan, & Attia, 2018)

Це полімери на основі акриламід, акрилової кислоти, етену та їхніх кополімерів (наприклад, поліакриламід — ПАА). Вони діють переважно за механізмом “місткового зв’язування”, утворюючи полімерні ланцюги між частинками. Такі речовини мають високу флокулюючу активність навіть при низьких концентраціях, проте можуть бути токсичними та біонестійкими, що обмежує їх застосування в екологічно чутливих системах.

					<i>НУХТ БТЕК 02.01.03 КР ПЗ</i>			
<i>Змн.</i>	<i>Лист</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>				
<i>Розроб.</i>		<i>Короленко Б.В.</i>			РОЗДІЛ 1 ХАРАКТЕРИСТИКА БІОФЛОКУЛЯНТІВ	<i>Лім.</i>	<i>Арк.</i>	<i>Аркушів</i>
<i>Перевір.</i>		<i>Стабніков В.П.</i>					10	105
<i>Реценз.</i>						<i>Кафедра БТМ</i>		
<i>Н. Контр.</i>								
<i>Затверд.</i>		<i>Стабніков В.П.</i>						

3. Природні полімерні флокулянти (біофлокулянти) (Mohammed, & Wan Dagang, 2019)

Ця група включає біополімери мікробного, рослинного або тваринного походження — полісахариди, білки, глікопротеїни, нуклеїнові кислоти. Їхня перевага полягає у біорозкладності, нетоксичності та відновлюваності джерел, що робить їх альтернативою синтетичним агентам. До цієї групи належать, зокрема, ксантан, декстран, хітозан, а також біополімери, синтезовані мікроорганізмами *Bacillus*, *Aspergillus*, *Rhizobium* тощо.

Окрім хімічної природи, флокулянти також класифікують за (Kolya, & Kang, 2023):

- знаком заряду полімеру: катіонні, аніонні, неіоногенні та амфотерні;
- молекулярною масою: низько-, середньо- та високомолекулярні;
- механізмом дії: зарядова нейтралізація, адсорбційне зв'язування, місткове з'єднання, комплексоутворення.

Вибір типу флокулянта визначається природою забруднень, показниками рН, іонної сили середовища та вимогами до екологічної безпечності процесу. У сучасних технологіях спостерігається тенденція до заміни синтетичних флокулянтів біологічними аналогами, що зумовлено екологічними та регуляторними вимогами Kolya, & Kang, 2023).

1.2. Хімічні флокулянти, механізм дії, обмеження застосування

Хімічні флокулянти — це сполуки неорганічної або органічної природи, здатні спричиняти агрегацію колоїдних і зважених частинок у рідких середовищах шляхом нейтралізації заряду, зниження потенціалу подвійного шару або утворення міжчастинкових містків. Їх застосовують у водоочищенні, осадженні мікрочастинок, концентруванні суспензій і відділенні твердих фаз (Semblante et al., 2018).

До найпоширеніших неорганічних флокулянтів належать солі багатовалентних металів, зокрема сульфат алюмінію ($\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$), хлорид заліза(III) (FeCl_3), сульфат заліза(III) ($\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$), а також поліалюмінійхлорид (РАС) і ферихлоридні комплекси. Їхній механізм дії базується на коагуляції — зниженні електрокінетичного потенціалу частинок за рахунок адсорбції катіонів металів і утворення гідроксидних флокул, які додатково зв'язують колоїди, зависі та органічні речовини (Shivraj, Quraishi, & Basu, 2023).

Переваги таких реагентів (Zaman et al., 2020):

- висока ефективність у широкому діапазоні концентрацій зважених речовин;
- швидке утворення осаду;
- порівняно невисока вартість.

Однак вони мають низку суттєвих недоліків:

- утворення великої кількості осаду, який потребує подальшої утилізації;
- підвищення мінералізації води через надлишок іонів сульфату або хлориду;
- ризик вторинного забруднення алюмінієм або залізом;
- чутливість до рН (ефективність значно знижується за високої лужності).

Унаслідок цього неорганічні флокулянти дедалі частіше замінюють комбінованими або біологічними агентами.

Синтетичні полімерні флокулянти (ПАА, поліакрилати, поліетиленіміни, поліакриламідні кополімери) є високомолекулярними сполуками, здатними адсорбуватися на поверхні частинок і з'єднувати їх полімерними ланцюгами за механізмом “місткового зв'язування” (Krishnan, & Attia, 2018).

Основні переваги синтетичних полімерних флокулянтів (Lee, Robinson, & Chong, 2014):

- висока ефективність при низьких дозах (0,1–10 мг/л);
- стабільність у широкому діапазоні рН і температур;
- можливість точного регулювання властивостей полімеру шляхом кополімеризації.

Водночас ці сполуки мають екологічні обмеження:

- деякі мономери (зокрема акриламід) є токсичними й мутагенними;
- полімери погано розкладаються у довкіллі, що призводить до накопичення полімерних залишків у мулі та водних системах;
- у процесах очищення питної води застосування акриламідних полімерів суворо регламентоване міжнародними стандартами (наприклад, <0,05 мг/л вільного акриламіду за рекомендацією ВООЗ).

Сучасні підходи передбачають використання комплексних коагуляційно-флокуляційних систем, у яких поєднують неорганічні солі (як джерело катіонів) і полімерні флокулянти (як зв'язувальний агент). Такі системи забезпечують більш повне видалення колоїдних частинок, проте не розв'язують проблеми токсичності полімерів (Zaki et al., 2023).

Через зазначені недоліки спостерігається стійка тенденція до пошуку природних або біосинтезованих альтернатив — біофлокулянтів, які поєднують високу ефективність із біорозкладністю й нетоксичністю. Їхній розвиток відповідає вимогам концепцій «зеленої хімії» та сталого водоочищення.

1.3. Біофлокулянти, їх хімічна природа та загальні властивості

Біофлокулянти — це високомолекулярні біополімери природного або мікробного походження, здатні спричиняти агрегацію зважених частинок, колоїдів і мікроорганізмів у водних системах шляхом адсорбції, зарядової нейтралізації або утворення полімерних “містків”. На відміну від синтетичних флокулянтів, біофлокулянти є екологічно безпечними, біорозкладними та нетоксичними, що робить їх перспективними агентами для технологій очищення

стічних вод, особливо у сфері питного водопостачання та біологічних очисних споруд (Mańczak, Kaczmarek, & Ziegler-Borowska, 2020).

Термін «біофлокулянт» охоплює широкий спектр природних полімерів, які продукуються (Nkosi et al., 2024):

мікроорганізмами — бактеріями (*Bacillus*, *Rhodococcus*, *Paenibacillus*, *Azotobacter*), мікроскопічними грибами (*Aspergillus*, *Penicillium*), водоростями та актиноміцетами;

рослинними та тваринними організмами — хітин, хітозан, альгінати, пектини, желатин;

комплексами мікробного синтезу — екзополісахариди, глікопротеїни, біополімери змішаного складу, що виділяються у культуральне середовище під час росту продуцента.

За хімічним складом біофлокулянти є переважно високомолекулярними гетерополімерами, які можуть містити (Liu, Xu, & Yang, 2001):

- полісахаридну фракцію — глюкозу, манозу, галактозу, рамнозу, уронові кислоти;
- білкову або пептидну фракцію, що визначає зарядові властивості та гідрофобність;
- функціональні групи ($-\text{COOH}$, $-\text{OH}$, $-\text{NH}_2$), здатні до іонного або водневого зв'язування із частинками забруднювача.

Такі сполуки часто мають амфотерний характер, поєднуючи позитивно та негативно заряджені ділянки, що підвищує їхню універсальність у системах різного рН.

Флокуляційна активність – це показник здатності біофлокулянту викликати агрегацію та осадження часток у суспензії. Найчастіше її оцінюють за допомогою тесту на каоліні: у певну кількість суспензії каоліну додають розчин біофлокулянту, обережно змішують і залишають для осідання. Після цього вимірюють оптичну густину (OD) верхнього шару рідини і порівнюють із контролем без біофлокулянту (Okaiyeto, Nwodo, Okoli, Mabinya, & Okoh, 2016).

Формула для розрахунку (Okaiyeto, Nwodo, Okoli, Mabinya, & Okoh, 2016):

$$\text{Флокуляційна активність, \%} = \frac{A_0 - A}{A_0} \times 100$$

де A_0 – OD контролю, A – OD з біофлокулянтом.

Високі значення (близько 90–99 %) свідчать про ефективну здатність біофлокулянту зв'язувати частки та утворювати флокули, що робить його придатним для очищення води.

Флокуляційна активність біополімерів реалізується через кілька основних механізмів:

- Адсорбційно-містковий — полімер адсорбується на поверхні частинок і формує між ними “містки”, що забезпечують агрегацію (Gregory, & Varany, 2011).
- Нейтралізація заряду — амінні або карбоксильні групи полімеру компенсують заряд колоїдів (Roussy, Van Vooren, Dempsey, & Guibal, 2005).
- Комплексоутворення та гідрофобна взаємодія — біополімери можуть утворювати координаційні або водневі зв'язки з іонами та органічними домішками (Khademian, Salehi, Sanaeepur, Galiano, & Figoli, 2020).

Ефективність процесу залежить від молекулярної маси біофлокулянта, його конформації у розчині, концентрації, іонної сили середовища та співвідношення “біофлокулянт–частинки” (Ajao et al., 2021).

Основні фізико-хімічні характеристики біофлокулянтів (Ghosh, Pathak, & Ganguli, 2009; Ajao et al., 2021):

- висока флокулююча активність (до 90–99 % видалення зважених частинок у модельних системах);
- термостабільність у межах 50–70 °C (для більшості полісахаридних структур);

- оптимальний рН дії — у діапазоні 4–8;
- повна або часткова біорозкладність у природних умовах;
- відсутність вторинного токсичного впливу на водні екосистеми.

Біофлокулянти демонструють ефективність у видаленні з води не лише зважених частинок, а й барвників, важких металів, нафтопродуктів, мікропластику, що свідчить про їхній широкий потенціал у комплексному очищенні промислових і побутових стоків.

Порівняно з неорганічними та синтетичними полімерними флокулянтами, біофлокулянти мають низку переваг:

- екологічна безпечність і біосумісність;
- відсутність токсичних мономерів (наприклад, акриламід);
- можливість отримання з відновлюваної сировини (біотехнологічний синтез);
- потенціал одночасного біорозкладання органічних домішок під час очищення.

Основними обмеженнями їх промислового впровадження наразі залишаються висока собівартість виробництва, варіабельність складу та необхідність масштабування біосинтезу, що зумовлює інтерес до оптимізації умов культивування продуцентів і підвищення виходу біополімерів.

РОЗДІЛ 2

БІОЛОГІЧНІ ПРОДУЦЕНТИ ТА БІОСИНТЕЗ БІОФЛОКУЛЯНТІВ

2.1. Мікроорганізми – продуценти біофлокулянтів

Мікроорганізми є головними продуцентами біофлокулянтів завдяки їхній здатності синтезувати широкий спектр екзополімерів — полісахаридів, білків, глікопротеїнів, нуклеїнових кислот і ліпополісахаридів, які мають флокулюючу активність. Ці сполуки секретуються у культуральне середовище як вторинні метаболіти або компоненти клітинної поверхні (Li et al., 2013).

Біосинтез біофлокулянтів притаманний представникам різних таксономічних груп — бактеріям, актиноміцетам, дріжджам, мікроскопічним грибам, ціанобактеріям і водоростям. Їхні біополімери істотно відрізняються за хімічним складом, молекулярною масою, зарядом і функціональними властивостями (Gao et al., 2006).

Вибір конкретного продуцента визначається умовами середовища, джерелами вуглецю та азоту, рН і аерацією, а також цільовим типом флокулянта. Наприклад, бактерії зазвичай продукують нейтральні або слабкоаніонні полісахариди, тоді як гриби — високомолекулярні глікопротеїни із вираженою катіонною активністю (див.нижче).

2.1.1. Бактерії як продуценти біофлокулянтів

Бактерії є найчисленнішою й найкраще дослідженою групою мікроорганізмів – продуцентів біофлокулянтів. Вони характеризуються швидким ростом, генетичною пластичністю та здатністю продукувати позаклітинні полімери з високою флокулюючою активністю (Alias et al., 2022).

До бактеріальних продуцентів належать представники родів *Bacillus*, *Paenibacillus*, *Azotobacter*, *Pseudomonas*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Rhodobacter*, *Alcaligenes* та *Sphingomonas* (Alias et al., 2022; Dhiman et al., 2025). Їхні

					НУХТ БТЕК 02.01.03 КР ПЗ				
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата					
Розроб.	Короленко Б.В.				РОЗДІЛ 2		Лім.	Арк.	Аркушів
Перевір.	Стабніков В.П.				БІОЛОГІЧНІ ПРОДУЦЕНТИ ТА БІОСИНТЕЗ БІОФЛОКУЛЯНТІВ			17	105
Реценз.							Кафедра БТМ		
Н. Контр.									
Затверд.	Стабніков В.П.								

біофлокулянти мають різну природу — від чистих полісахаридів (наприклад, у *Bacillus subtilis*) (Xia et al., 2023) до глікопротеїнових комплексів (*Paenibacillus polymyxa*) (Zhao et al., 2016).

Механізм дії бактеріальних біофлокулянтів зазвичай базується на адсорбційно-містковому ефекті, зумовленому наявністю у макромолекулі гідроксильних, карбоксильних, амінних або амідних груп, здатних до водневого та іонного зв'язування з частинками домішок (Guo et al., 2015).

Бактерії мають також технологічні переваги (Chukwuma, Rafatullah, Tajarudin, & Ismail, 2021):

- можуть культивуватись у відносно простих живильних середовищах;
- легко адаптуються до різних субстратів, у тому числі промислових відходів;
- продукують стабільні полімери, що зберігають активність у широкому діапазоні рН (5–9) та температур (20–40 °C).

У літературі описано десятки бактеріальних штамів із високим флокулюючим потенціалом; узагальнені дані про них, їхні оптимальні умови культивування та характеристики біофлокулянтів наведено у таблицях цього підрозділу. В табл.2.1. представлені бактеріальні продуценти біофлокулянтів.

Тож, враховуючи інформацію з табл.2.1. можна зробити наступні висновки. Бактеріальні продуценти біофлокулянтів належать до різних родів — *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Alteromonas*, *Agrobacterium*, *Corynebacterium*, *Kocuria*, *Alcaligenes*, *Pseudoalteromonas* тощо, що свідчить про широку таксономічну представленість флокуляційної активності. Найчастіше зустрічаються штами роду *Bacillus* (понад третину від загальної кількості), які відомі високою метаболічною активністю, термостабільністю ферментів і здатністю до секреції позаклітинних полімерів.

Таблиця 2.1.

Бактерії-продуценти біофлокулянтів

Продуцент	Флокулянт	Склад поживного середовища, г/л	Умови культивування	Концентрація біофлокулянту, г/л	Флокуляційна активність, %	Джерело
<i>Bacillus</i> sp. AEMREG7	MBF-UFH	1,0 л стічної води з пивоварні як основа Глюкоза – 20, Сечовина – 0,5, Дріжджовий екстракт – 0,5, (NH ₄) ₂ SO ₄ – 0,2	Початкове рН 6,0, 56 год, 28 °С, 160 об/хв, Об'єм інокуляту – 3%	8 (1,6 г/200 мл)	88,5	Okaiyeto, Nwodo, Okoli, Mabinya, & Okoh, 2016
<i>Bacillus salmalaya</i> 139SI	QZ-7 (глікопротеїн)	Сахароза – 10,0 Глюкоза – 5,0 Дріжджовий екстракт – 1,5 Сечовина – 1,5 КН ₂ РО ₄ – 0,1 К ₂ НРО ₄ – 0,1 NaCl – 0,1 MgSO ₄ ·7H ₂ O – 0,2	рН 7 ± 0,2, 72 год, 35,5 °С, 160 об/хв, Об'єм інокуляту – 5%	15,268	83,3	Abu, Ismail, Dadrasnia, & Usman, 2018
<i>Bacillus pumilus</i> ZAP 028	Глікопротеїн	Мальтоза – 20, Сечовина – 0,5, Дріжджовий екстракт – 0,5, (NH ₄) ₂ SO ₄ – 0,2	Початкове рН 7,0, 24 год, 28 °С, 160 об/хв, Об'єм інокуляту – 4%	2,5	89,7	Maqapela et al., 2016

Продовження табл.2.2.

<i>Bacillus agaradhaerens</i> C9	MBF-C9 (глікопротеїн)	Глюкоза – 10, Дріжджовий екстракт – 10, K ₂ HPO ₄ – 1,3 MgSO ₄ ·7H ₂ O – 0,2 Na ₂ CO ₃ – 15,0	Початкове рН 10,2, 48 год, 37 °С, 200 об/хв	4,65*	95,29	Liu, Wang, Jiang, Liu, & Wang, 2015
<i>Bacillus velezensis</i> MN714634	SW2 (ЕПС)	Глюкоза – 15,91 Пептон – 1, K ₂ HPO ₄ – 5, KH ₂ PO ₄ – 2, MgSO ₄ ·7H ₂ O – 3,05 (NH ₄) ₂ SO ₄ – 1,59	рН 7,0, 48 год, 25 °С, 130 об/хв	Не визначали	97,11	Agunbiade et al., 2022
<i>Bacillus aryabhatai</i> PSK1	PSK1 (глікопротеїн)	Глюкоза – 10,0 Дріжджовий екстракт – 3,5 K ₂ HPO ₄ – 5,0 KH ₂ PO ₄ – 2,0 MgSO ₄ – 0,5 NaCl – 0,1	24 год, 28 °С, 150 об/хв, Об'єм інокуляту – 2%	6	94,56	Abd El-Salam et al., 2017
<i>Rhizobium radiobacter</i> SZ4S7S14	ЕПС	Дріжджовий екстракт – 4,0 Мальтозний екстракт – 10,0 Декстроза – 4,0	72 год, 30 °С, 150 об/хв	3,6	92	Rasulov et al., 2017
<i>Alteromonas</i> sp. CGMCC	Протеоглікан	Глюкоза - 30,0, Пшеничне борошно – 1,5, Морська сіль - 34,0, KH ₂ PO ₄ - 0,1, K ₂ HPO ₄ - 0,1	рН 7,5 48 год, 30 °С, 150 об/хв	11,18	2575,4 Од/мл	Chen et al., 2017
<i>Pseudomonas</i> sp. GO2	ЕПС	Кукурудзяний шлам – 5, NaNO ₃ – 0,1 K ₂ HPO ₄ – 0,1, KCl – 0,1 MgSO ₄ – 0,05 Дріжджовий екстракт – 0,05 Пептон – 0,3	рН 7,46 130,46 год, 37 °С, 200 об/хв	Не визначали	99,8	Guo et al., 2017

Продовження табл.2.2.

<i>Pseudomonas boreopolis</i> G22	MBF-G22 (ЕПС)	NaNO ₃ – 1,0 K ₂ HPO ₄ – 1,0 KCl – 1,0 MgSO ₄ – 0,5 Дріжджовий екстракт – 0,5 Пептон – 3,0 Деревна тирса – 5,0	Початкове рН 7,0 96 год, 30 °С, 200 об/хв, Об'єм інокуляту – 1%	Не визначали	97,1	Guo et al., 2018
<i>Alcaligenes faecalis</i> HCB2	ЕПС	Глюкоза – 20,0 KH ₂ PO ₄ – 2,0 K ₂ HPO ₄ – 5,0 (NH ₄) ₂ SO ₄ – 0,2 NaCl – 0,1 CH ₄ N ₂ O – 0,5 MgSO ₄ – 0,2 Дріжджовий екстракт – 0,5 Фільтрована морська вода – 1 л	Початкове рН 9,0 72 год, 30 °С, 200 об/хв, Об'єм інокуляту – 1%	4	92	Maliehe, Basson, & Dlamini, 2019
<i>Kocuria rosea</i> BU22S	pKr (ЕПС)	Глюкза – 15,61, Пептон – 6,45, NaCl – 2, MgSO ₄ – 0,2	рН 6,0, 72 год, 37 °С, Об'єм інокуляту – 0,5%	4,72 ±0,02	76,4	Chouchane, Mahjoubi, Ettoumi, Neifar, & Cherif, 2018
<i>Methanosarcina spelaei</i> RK-23	MBF-23 (ЕПС)	Ацетат – 0,03, NaCl - 17,5	рН 6,5, 96 год, 38 °С, Анаеробні умови	Не визначали	95,6	Zhao et al., 2020

Закінчення табл.2.2.

<i>Pseudoalteromonas</i> sp. NUM8	Глікопротеїн	Екстракт яловичини – 5,0 Сахароза – 10,0 Fe(C ₆ H ₅ O ₇) – 0,2 NaNO ₃ – 5,0 MgCl ₂ – 6,0 Na ₂ SO ₄ – 3,0 CaCl ₂ – 2,0 Na ₂ CO ₃ – 0,2 H ₃ BO ₃ – 0,02 SrCl ₂ – 0,03 Na ₂ HPO ₄ – 0,08	Початкове рН 5,0 72 год, 28 °С, 160 об/хв, Об'єм інокуляту – 3%	Не визначали	94,5	Fu, Liao, Zhang, Zhou, & Yang, 2021
<i>Corynebacterium</i> <i>glutamicum</i> Cg1- P30	Глікопротеїн	Глюкоза – 12,2, Кукурудзяний екстракт – 4, Сечовина – 3,6, MgSO ₄ ·7H ₂ O – 0,25 K ₂ HPO ₄ – 1,0 KH ₂ PO ₄ – 1,0	Час не вказано 30 °С, 200 об/хв, Об'єм інокуляту – 2%	0,52*	91,92	Liu et al., 2023
<i>Agrobacterium</i> <i>tumefaciens</i> F2	ЕПС	Глюкоза – 10,0 K ₂ HPO ₄ – 5,0 KH ₂ PO ₄ – 2,0, NaCl – 0,1 Сечовина – 0,5 Дріжджовий екстракт – 0,5 MgSO ₄ ·7H ₂ O – 0,2 N-гексанойл-гомосерин лактон – 0,00009 (0,45 мкМ)	Початкове рН 7,25, 30 год, 30,4 °С, 140 об/хв, Анаеробні умови	0,64	88,54	Chouchane, Mahjoubi, Ettoumi, Neifar, & Cherif, 2018

Примітка*: очищеного препарату

Основними типами флокулянтів є екзополісахариди (ЕПС) та глікопротеїни, рідше — протеоглікани. Це вказує, що структурна природа біофлокулянтів бактеріального походження переважно полісахаридно-білкова.

Усі середовища містять джерело карбону (найчастіше — глюкозу або мальтозу), азоту (сечовину, пептон, дріжджовий екстракт, сульфат амонію), а також фосфатні буфери та солі магнію. Оптимальна концентрація глюкози коливається в межах 10–20 г/л, тоді як у морських ізолятів (*Alteromonas*, *Pseudoalteromonas*) – до 30 г/л у поєднанні з морською сіллю або Na_2CO_3 .

Азотисті добавки мають ключовий вплив на продуктивність: комбінування органічного (дріжджовий екстракт, сечовина) і неорганічного ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$) джерел стимулює синтез ЕПС-глікопротеїнів.

Деякі продуценти (*Bacillus* sp. AEMREG7, *Pseudomonas* sp. GO2) ефективно ростуть на відходах промисловості (пивоварна стічна вода, кукурудзяний шлам), що підтверджує потенціал біотехнологічного рециркування.

Більшість штамів проявляють максимальну флокуляційну активність у мезофільному діапазоні температур (25–37 °C), при рН 6,0–7,5, та аераційних умовах (160–200 об/хв).

Тривалість культивування для більшості культур становить 24–72 години, тоді як морські або анаеробні види потребують подовженого часу (до 96 год).

Концентрація отриманих біофлокулянтів варіює в широких межах — від 0,52 г/л (*C. glutamicum*) до 15,27 г/л (*B. salmalaya*), що відображає як різницю у типі полімеру, так і в умовах культивування.

Флокуляційна активність у більшості випадків перевищує 90%, а максимальні значення досягають 97–99,8% (*Pseudomonas* sp. GO2, *B. velezensis* MN714634). Виключенням є *Kocuria rosea* BU22S, активність якої становить лише 76,4%, що може бути зумовлено високою солоністю або менш оптимальним співвідношенням C:N.

Глікопротеїнові флокулянти (*Bacillus*, *Corynebacterium*, *Pseudoalteromonas*) демонструють високу активність навіть при коротких періодах культивування (24–48 год), що свідчить про швидку секрецію білково-зв'язаних полісахаридів. ЕПС, навпаки, формуються довше, але часто забезпечують стабільнішу та термостійку флокуляцію, особливо у морських умовах. Рівень очищення також впливає на показники — наприклад, очищений MBF-C9 має високу активність (95,29%) при помірній концентрації (4,65 г/л).

Отримані результати свідчать, що бактеріальні біофлокулянти можуть бути ефективною заміною синтетичних флокулянтів у технологіях очищення стічних вод, харчовій промисловості, біосепарації та виробництві біоматеріалів.

Найперспективнішими продуцентами для масштабування можна вважати *Bacillus velezensis* MN714634, *Pseudomonas* sp. GO2 та *Bacillus agaradhaerens* C9 — через поєднання високої флокуляційної активності, помірних вимог до середовища та стійкості полімерів.

Додаткову цінність мають штами, що ростуть на відходах біотехнологічних виробництв, що знижує собівартість та екологічне навантаження.

Бактерії — надзвичайно різноманітна група продуцентів біофлокулянтів із високою ефективністю (переважно >90%), здатна функціонувати у широкому діапазоні рН, температур і джерел живлення. Поєднання простих вуглецевих субстратів, помірних умов культивування та здатність до росту на промислових відходах робить бактеріальні біофлокулянти перспективними для екологічно безпечних і економічно вигідних біотехнологічних процесів очищення води та осадження зависів.

2.1.2. Актиноміцети, що здатні синтезувати біофлокулянти

Актиноміцети становлять особливу групу грампозитивних мікроорганізмів із розвиненою міцеліальною морфологією, які поєднують риси бактерій і грибів. Представники родів *Streptomyces*, *Nocardia*, *Rhodococcus*, *Micromonospora* та *Actinomyces* відомі своєю здатністю синтезувати широкий

спектр вторинних метаболітів — антибіотиків, ферментів і поверхнево-активних сполук, серед яких виявлено й полімерні біофлокулянти (De Simeis, & Serra, S. 2021).

Біофлокулянти актиноміцетного походження зазвичай являють собою високомолекулярні глікопротеїни або гетерополісахариди з домінуванням моносахаридів глюкози, рамнози, манози та галактози. Ці сполуки мають як гідрофільні, так і гідрофобні фрагменти, що забезпечує їм здатність ефективно зв'язувати частинки різної природи — органічні, колоїдні та неорганічні (Sivasankar, Poongodi, Lobo, & Pugazhendhi, 2020).

Одним із найвивченіших продуцентів є *Streptomyces* sp., із якого виділено біофлокулянт із вмістом полісахариду близько 80 % та білка 15–20 %. Такий біополімер проявляє високу активність у флокуляції частинок каоліну (ефективність понад 90 % при дозі 5–10 мг/л) і стабільність у широкому діапазоні рН (3–10) (Sivasankar, Poongodi, Lobo, & Pugazhendhi, 2020). Інші представники, як-от *Rhodococcus erythropolis* (Tokumoto et al., 2009), утворюють поверхнево-активні полімери, що поєднують властивості біофлокулянтів і біоемульгаторів, підвищуючи ефективність очищення вод від масел і важких металів.

Перевагою актиноміцетів як продуцентів є (De Simeis, & Serra, S. 2021):

- висока метаболічна різноманітність і здатність синтезувати полімери складної будови;
- адаптація до екстремальних умов, що дозволяє застосовувати їх у різних типах стічних вод (з високою солоністю, вмістом фенолів чи металів);
- легкість масштабування процесу ферментації завдяки усталеним технологіям культивування *Streptomyces* у промислових біореакторах.

Разом з тим, недоліком актиноміцетних культур є триваліший період росту порівняно з бактеріями та необхідність ретельного підбору поживного середовища для стимуляції біосинтезу флокулюючих полімерів.

Таблиця 2.2.

Актиноміцети, що здатні синтезувати біофлокулянти

Продуцент	Флокулянт	Склад поживного середовища, г/л	Умови культивування	Концентрація біофлокулянту, г/л	Флокуляційна активність, %	Джерело
<i>Terrabacter</i> sp. KF682157.1	SFD 11 (ЕПС)	Глюкоза – 10,0 Пептон – 1,0 MgSO ₄ ·7H ₂ O – 0,3	pH 7,0, 48 год, 25 °C, 130 об/хв	2,1*	85	Agunbiade, Pohl, Heerden, Oyekola, & Ashafa, 2019
<i>Streptomyces platensis</i> FJ 486385.1	ЕПС	K ₂ HPO ₄ – 5,0 KH ₂ PO ₄ – 2,0	pH 7,0, 48 год, 25 °C, 130 об/хв	4,61*	90	Agunbiade, Pohl, & Ashafa, 2018
<i>Streptomyces</i> sp. hsn06	FLC-hsn06	Глюкоза – 10,0 NaCl – 24,0 NH ₄ Cl – 1,0 MgSO ₄ ·7H ₂ O – 0,5 Дріжджовий екстракт – 0,6 K ₂ HPO ₄ ·3H ₂ O – 6,5 KH ₂ PO ₄ – 2,0	48 год, 28 °C, 120 об/хв	Не визначали	92,7%	Li et al., 2018
<i>Streptomyces</i> sp. AUABF	ABF (ЕПС)	Дріжджовий екстракт – 2,5 Пальмовий джаггер – 20,0 NH ₄ NO ₂ – 1,0 MgCl ₂ – 0,2 K ₂ HPO ₄ – 5,0 NaCl – 0,1	Початкове pH 7,0, 144 год, 30 °C, 200 об/хв	4,94	99,18	Sivasankar, Poongodi, Lobo, & Pugazhendhi, 2020

Примітка: * - очищеного препарату

В табл.2.2. наведено приклади деяких актиноміцетів, що здатні до синтезу біофлокулянтів.

Наведена інформація в табл.2.2. показує наступне. За сучасними даними до актиноміцетів-продуцентів біофлокулянтів належать представники родів *Streptomyces* і *Terrabacter* — типових ґрунтових актиноміцетів із розвинутою здатністю до синтезу позаклітинних полімерів. Домінування *Streptomyces* (три зчотирьох штамів у таблиці) підтверджує, що саме цей рід є головним продуцентом ЕПС серед актиноміцетів завдяки потужній ферментній системі, здатній утилізувати різноманітні джерела вуглецю.

Усі наведені штами синтезують екзополісахариди (ЕПС) — природні полімери, що формують позаклітинну матрицю колоній актиноміцетів і забезпечують адгезію, агрегацію клітин та флокуляційну активність. Це свідчить, що саме ЕПС є основним структурним типом флокулянтів для актиноміцетів, на відміну від бактерій, серед яких часто трапляються глікопротеїни.

Усі продуценти культивувалися на помірно вуглецевих середовищах (10–20 г/л глюкози або джаггеру), із комбінованими джерелами азоту (пептон, дріжджовий екстракт, нітрати або амонійні солі) й незначною кількістю мінеральних солей (Mg^{2+} , K^+ , фосфати). Особливістю середовища *Streptomyces* sp. hsn06 є високий вміст NaCl (24 г/л), що свідчить про його галофільну або гало толерантну природу. Використання пальмового джаггеру (*Streptomyces* sp. AUABF) як джерела карбону підтверджує можливість заміни очищених цукрів на дешевші сировини рослинного походження.

Висока активність *Streptomyces* ($\geq 90\%$) при помірній продуктивності (2–5 г/л) вказує на те, що навіть невеликі кількості ЕПС забезпечують значну флокуляційну здатність через високу спорідненість до зважених частинок.

На відміну від типових бактеріальних продуцентів (*Bacillus*, *Pseudomonas*), актиноміцети продукують полісахаридні флокулянти, без білкових домішок, що робить їх більш стабільними та біосумісними для

застосування у харчовій, фармацевтичній та водоочисній галузях. Хоч концентрація ЕПС у актиноміцетів нижча, їх флокуляційна ефективність не поступається, а іноді навіть перевищує бактеріальні аналоги за рахунок високої в'язкості та зарядової щільності полімерів.

Актиноміцетні флокулянти мають переваги у стійкості до температури, рН та солоності, що розширює спектр їхнього промислового використання. Найперспективнішими продуцентами для подальших досліджень є *Streptomyces* sp. AUABF та sp. hsn06, які демонструють одночасно високу активність (92–99%) та адаптивність до різних умов.

Актиноміцети — ефективні продуценти біофлокулянтів, головним чином екзополісахаридної природи. Вони проявляють високу флокуляційну активність навіть за невисокої концентрації полімеру, здатні рости на доступних і дешевих субстратах, а також зберігають активність у широкому діапазоні умов. Це робить їх перспективними для розробки екологічно безпечних біофлокулянтів природного походження, придатних для очищення стічних вод, біосепарації та біоматеріалів нового покоління.

2.1.3. Гриби як продуценти біофлокулянтів

Філаменти та одноклітинні гриби є важливим джерелом природних біофлокулянтів завдяки їхній здатності синтезувати широкий спектр високомолекулярних полімерів — полісахаридів, глікопротеїнів і протеїнів, які мають флокулювальну активність. Гриби характеризуються високою продуктивністю біомаси, простотою культивування та здатністю до утворення позаклітинних полімерних речовин, що накопичуються у культуральному середовищі й можуть бути легко відділені від клітинної маси (Shende, & Niwarale, 2025).

До найвідоміших родів грибів-продуцентів біофлокулянтів належать *Aspergillus*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Mucor*, *Fusarium*, *Trichoderma*, *Aureobasidium* і *Phanerochaete* (Shende, & Niwarale, 2025). Наприклад, *Aspergillus niger* продукує біополімер, що містить полісахариди з β -1,3- і β -1,6-глікозидними зв'язками,

відповідальними за ефективне утворення флокул у водних системах (Zhang et al., 2022), а *Rhizopus oligosporus* здатний синтезувати глікопротеїни з вираженим позитивним зарядом, що забезпечує електростатичну взаємодію із негативно зарядженими колоїдами (Wang et al., 2025).

Перевагою грибів як продуцентів є можливість регулювання складу біополімерів шляхом зміни умов культивування (джерело вуглецю, рН, співвідношення С:N, аерація). Крім того, багато грибів здатні утилізувати недорогі субстрати — агропромислові відходи (м'яса, пивна дробина, лушпиння рису чи кукурудзи), що значно знижує собівартість біосинтезу (Philippoussis, 2009).

Встановлено, що флокуляційна активність грибних біополімерів зумовлена поєднанням кількох механізмів: (1) зарядового нейтралізування поверхні частинок, (2) утворення «містків» між суспендованими частинками за рахунок довгих полімерних ланцюгів, (3) гідрофобних і водневих взаємодій (Chen, ChenD., & Wu, 2003).

Загалом грибні біофлокулянти мають високу стабільність у широкому діапазоні рН (4–9), здатність ефективно осаджувати колоїди навіть при низьких дозах (менше 10 мг/л) та добру біодеградабельність, що робить їх привабливими для екологічно безпечного очищення стічних вод.

В табл.2.3. показані грибні продуценти біофлокулянтів.

З таблиці 2.3. видно, що всі наведені продуценти належать до роду *Aspergillus* — відомих філаментозних грибів, що характеризуються високою секреторною активністю й здатністю утворювати великі кількості позаклітинних полімерів. Найчастіше згадуваним видом є *A. flavus*, представлений кількома штамами (S44-1, ІН-7, АF3), що підтверджує його біотехнологічну перспективність у синтезі біофлокулянтів.

Для більшості штамів *Aspergillus* описано екзополісахаридні біофлокулянти (ЕПС), хоча в окремих випадках (штам ІН-7) ідентифіковано

Таблиця 2.3.

Міцеліальні гриби як продуценти біофлокулянтів

Продуцент	Флокулянт	Склад поживного середовища, г/л	Умови культивування	Концентрація біофлокулянту, г/л	Флокуляційна активність, %	Джерело
<i>Aspergillus flavus</i> S44-1	ЕПС	Гідролізат курячих нутроців як середовище	pH 7,0, 35 °C, 72 год, 150 об/хв Об'єм інокуляту – 4%	6,75	91,8	Mohammed, & Wan, 2019
	ІН-7 (глікопротеїн)	Сахароза – 11,87 Пептон – 7,52 MgSO ₄ ·7H ₂ O – 0,5 KCl – 0,5 FeSO ₄ – 0,01 K ₂ HPO ₄ – 1,0	Початкове pH 7,0, 40 °C, 60 год, 200 об/хв	Не визначали	91,6	Aljuboori et al., 2015
<i>Aspergillus flavus</i> AF3	ЕПС		Початкове pH 7,0, 28 °C, 168 год, 150 об/хв	Не визначали	93	Mahfouz, Daigham, Abass, & Plant, 2020
<i>Aspergillus niger</i> A18	MBFA 18	Стічні води картопляно-кромального виробництва як основа середовища, Глюкоза – 20, Сечовина – 0,2	28 °C, 48 год, 150 об/хв	1,89	90,06	Pu et al., 2018
<i>Aspergillus niger</i> (з іранської колекції)	Тип не зазначено	Картопляний екстракт – 4, Глюкоза – 20, Сухий залишок комунальних стічних вод - 10	32 °C, 72 год, 150 об/хв	Не визначали	96	Ayat, Dadkhah, Ahmadi, & Nasrollahi, 2024

глікопротеїнову природу полімеру. Це свідчить про різну хімічну будову біополімерів, де співвідношення полісахаридних і білкових фракцій може визначати адсорбційні властивості та силу флокуляції.

Aspergillus демонструє широку метаболічну гнучкість, ефективно використовуючи як стандартні цукри (глюкоза, сахароза), так і відходи агро- чи харчової промисловості — гідролізат курячих нутрощів або стічні води картопляно-крохмального виробництва. Це вказує на економічну доцільність застосування грибів для біотехнологічної утилізації органічних відходів з одночасним одержанням цінних флокулянтів.

Концентрація біофлокулянтів становила 1,89–6,75 г/л, при цьому активність коливалася у межах 90–96%, що свідчить про високу ефективність флокуляційного процесу навіть за помірних концентрацій полімерів.

Найвищу продуктивність (6,75 г/л) показав штам *A. flavus* S44-1 при використанні білкових відходів, що підтверджує позитивний вплив азотовмісних компонентів на біосинтез ЕПС. Максимальну активність (96%) продемонстрував штам *A. niger* із Іранської колекції, вирощений на середовищі з домішкою комунальних стічних вод — це свідчить про здатність гриба синтезувати ефективний флокулянт у реальних умовах забруднених субстратів.

Мицеліальні гриби, зокрема *Aspergillus*, вирізняються вищою толерантністю до коливань складу середовищ та ефективним використанням відходів як субстратів, тоді як бактерії потребують більш контрольованих поживних умов.

Хоча тривалість культивування грибів зазвичай більша (до 7 діб), отримані ЕПС мають високу молекулярну масу, стабільність і активність, що робить їх цінними для застосувань у водоочищенні, біосепарації, агротехнологіях і харчовій промисловості.

Aspergillus spp. є перспективними продуцентами екологічно безпечних, нетоксичних і біорозкладних флокулянтів, здатних замінити хімічні поліелектроліти у промисловості. Їхня здатність ефективно працювати на

відходах різного походження забезпечує подвійний ефект — очищення та утилізацію органічних сполук при одночасному одержанні цінного біопродукту.

Мицеліальні гриби, головно представники роду *Aspergillus*, є одними з найефективніших мікроорганізмів-продуцентів біофлокулянтів. Вони характеризуються високою флокуляційною активністю (90–96%), можливістю росту на дешевих органічних відходах і стабільною продуктивністю полімерів. Завдяки цьому *Aspergillus* має значний потенціал для створення біоорієнтованих систем очищення води та переробки стічних потоків, що поєднують екологічну безпечність і технологічну ефективність.

2.1.4. Дріжджі-продуценти біофлокулянтів

Дріжджі є перспективними продуцентами біофлокулянтів завдяки швидкому росту, простоті культивування, стійкості до коливань умов середовища та здатності синтезувати позаклітинні полімери з високою флокулювальною активністю. На відміну від бактерій і нитчастих грибів, дріжджі утворюють переважно глікопротеїнові або полісахаридно-білкові комплекси з добре вираженою зарядовою неоднорідністю, що забезпечує широкий спектр міжчастинкових взаємодій (Bauer, Govender, & Bester, 2010).

Серед відомих дріжджів-продуцентів біофлокулянтів найчастіше описують представників родів *Candida*, *Rhodotorula*, *Cryptococcus*, *Saccharomyces*, *Aureobasidium* та *Pseudozyma* (Bauer, Govender, & Bester, 2010). Наприклад, біополімери *Saccharomyces cerevisiae* та *Candida albicans* мають глікопротеїнову природу й ефективно зв'язує частинки металів (Cu^{2+} , Pb^{2+}) у водних розчинах (Pori, Adebuseye, & Ojo, 2008).

Особливу увагу привертають дріжджі роду *Pseudozyma*, які продукують глікопротеїни з β -глюкановими фрагментами та поверхнево-активними властивостями. Завдяки цьому їхні біофлокулянти поєднують ефекти флокуляції та емульгування, що розширює можливості застосування — від очищення промислових стоків до біосорбції органічних забрудників (Johnson, 2013).

Оптимальні умови для біосинтезу біофлокулянтів за допомогою дріжджів зазвичай включають аеробне культивування при температурі 25–30 °С, нейтральне або слаболужне рН (6,0–8,0) і наявність доступних джерел вуглецю (глюкоза, сахароза, гліцерин) та азоту (дріжджовий екстракт, пептон, сечовина). Відомо, що надлишок джерела вуглецю та дефіцит азоту стимулюють утворення позаклітинних полімерів, що підвищує флокулювальну активність культуральної рідини (Okaiyeto et al., 2021).

Переваги дріжджів як продуцентів біофлокулянтів (Yang, & Zheng, 2014):

- короткий лаг-період і висока швидкість росту;
- нетоксичність і відсутність патогенності;
- здатність продукувати стабільні біополімери, активні в широкому діапазоні рН і температур;
- можливість використання недорогих відходів як субстратів (м'яса, відпрацьоване пиво, сироватка).

В табл.2.4. наведено інформацію про дріжджі продуценти біофлокулянтів.

Серед дріжджів-продуцентів біофлокулянтів найвищу флокуляційну активність (99,1 %) виявлено у *P. kudriavzevii* МН545928.1, яка синтезує екзополісахарид (ЕПС) за умов нейтрального рН 7,0, температури 35 °С і 60 год культивування. Основними джерелами живлення для дріжджів є глюкоза (20 г/л) як джерело карбону та пептон, дріжджовий екстракт або сечовина як джерела азоту.

За умов слабокислого середовища (*S. bayanus* var. *ivarum*, рН 4,5) синтезується флокулянт білкової природи, тоді як у *Paecilomyces* sp. М2-1 (рН 8,0) – екзополісахарид МВF2-1 з активністю 97 %. Тож, дріжджі є ефективними продуцентами як полісахаридних, так і білкових біофлокулянтів із флокуляційною активністю понад 90 %.

Таблиця 2.4.

Дріжджі як продуценти біофлокулянтів

Продуцент	Флокулянт	Склад поживного середовища, г/л	Умови культивування	Концентрація біофлокулянту, г/л	Флокуляційна активність, %	Джерело
<i>Pichia kudriavzevii</i> MH545928.1	ЕПС	Глюкоза – 20,0 Пептон – 1,2 NaCl – 0,1 MgSO ₄ – 0,3 K ₂ HPO ₄ – 5,0 KH ₂ PO ₄ – 2,0	pH 7,0, 35 °C, 60 год, 140 об/хв Об'єм інокуляту – 1%	3,6	99,1	Tsilo et al., 2021
	ЕПС	Глюкоза – 20,0 KH ₂ PO ₄ – 2,0 K ₂ HPO ₄ – 5,0 (NH ₄) ₂ SO ₄ – 0,2 NaCl – 0,1 Сечовина – 0,5 MgSO ₄ – 0,2 Пептон – 0,5	pH 7,0, 35 °C, 60 год, 140 об/хв	2,836	80,01	Tsilo et al., 2022
<i>Saccharomyces bayanus</i> var. <i>uvarum</i>	Протеїн	Пептон – 20, Дріжджовий екстракт – 10, Глюкоза - 20	pH 4,5, 28 °C, Час не вказано, 150 об/хв	Не визначали	95	Díaz-Santos, Vila, de la Vega, León, & Vígara, 2015
<i>Raecilomyces</i> sp. M2-1	MBF2-1 (ЕПС)	Глюкоза – 20,0 Сечовина – 0,5 Дріжджовий екстракт – 0,5, (NH ₄) ₂ SO ₄ – 0,2 K ₂ HPO ₄ – 5,0 KH ₂ PO ₄ – 2,0 NaCl – 0,1 MgSO ₄ – 0,2	Початкове pH 8,0, 30 °C, 48 год, 150 об/хв	3,9	97	Qiao et al., 2019

2.1.5. Ціанобактерії як продуценти біофлокулянтів

Ціанобактерії — фототрофні прокаріоти, відомі своєю здатністю синтезувати значну кількість позаклітинних полімерних речовин (ЕПС), до складу яких входять полісахариди, білки, ліпіди та нуклеїнові кислоти. Ці біополімери проявляють виражену флокулювальну активність і розглядаються як перспективні природні біофлокулянти для очищення вод від завислих частинок, барвників і важких металів (De Philippis, Sili, Paperi, & Vincenzini, 2001).

Основними родами ціанобактерій-продуцентів біофлокулянтів є *Anabaena*, *Nostoc*, *Phormidium*, *Oscillatoria*, *Synechococcus* і *Spirulina* (Righini, Francioso, Martel Quintana, & Roberti, 2022). Наприклад, *Anabaena spiroides* продукує полісахаридний біополімер із високим вмістом уронових кислот (до 30 %), що зумовлює його сильний негативний заряд і здатність зв'язувати катіони металів (Ca^{2+} , Fe^{3+} , Pb^{2+}) (Freire-Nordi, Vieira, & Nascimento, 2005).

Хімічна природа біофлокулянтів ціанобактерій переважно полісахаридна. У складі виявляють глюкозу, галактозу, рамнозу, арабінозу, манозу, а також сульфатні й карбоксильні групи, які забезпечують активні сайти зв'язування з частинками. Ці сполуки мають як гідрофільні, так і гідрофобні фрагменти, що сприяє багатоконпонентній взаємодії під час флокуляції — зарядовому нейтралізуванню, утворенню полімерних «містків» і сорбції на поверхні (Di Rippo et al., 2013).

Ціанобактеріальні біофлокулянти мають низку переваг (Noreña-Caro, & Benton, 2018):

- автотрофність продуцентів — синтез відбувається за рахунок фотосинтезу, без потреби у зовнішньому джерелі органічного вуглецю;
- висока стабільність полімерів при екстремальних значеннях рН, температури та солоності;
- біодеградабельність і нетоксичність, що забезпечує екологічну безпечність застосування;

- одночасне видалення завислих частинок і катіонів важких металів завдяки функціональним групам (-COOH, -SO₃H).

З іншого боку, обмеженням використання ціанобактерій є повільніший ріст порівняно з гетеротрофними мікроорганізмами та потреба у світлових і аераційних системах при масштабному культивуванні.

Нині досліджується можливість використання мікроводоростей–ціанобактерій у симбіотичних культурах (наприклад, з бактеріями або дріжджами), що дозволяє поєднати фотосинтетичну автономність і високу продуктивність біополімерів.

В табл.2.5. наведено приклади синтезувальних ціанобактерій щодо біофлокулянтів.

Ціанобактерії роду *Nostoc* і *Anabaena* здатні синтезувати позаклітинні полімерні речовини (ЕПС) з вираженими флокуляційними властивостями. Найвищу активність (95,83 %) продемонструвала *Anabaena* sp. при 14-денному культивуванні у середовищі, збагаченому макро- та мікроелементами (солі Fe, Zn, Mn, Cu, Mo, Co та ін.).

Концентрація біофлокулянтів у досліджених ціанобактерій коливалася в межах 1,29–1,70 г/л. Оптимальні умови для *Nostoc* sp. ВТА97 становили температуру 28±2 °С, цикл освітлення 14/10 год і світлову інтенсивність 54–67 мкмоль фотон·м⁻²·с⁻¹, що забезпечило 84 % флокуляційної активності.

Ціанобактерії є перспективними продуцентами біофлокулянтів, здатними до автотрофного синтезу ЕПС у неорганічних середовищах, що робить їх екологічно привабливими для біотехнологічного очищення води та відходів.

2.2. Метаболічні шляхи синтезу біополімерів флокулюючої дії

Біофлокулянти синтезуються мікроорганізмами через складні метаболічні шляхи, що забезпечують формування високомолекулярних полісахаридів, глікопротеїнів та інших екзополімерів. Розуміння цих шляхів дозволяє оптимізувати культивування продуцентів та підвищувати вихід біофлокулянтів у промислових процесах.

Таблиця 2.4.

Ціанобактерії як продуценти біофлокулянтів

Продуцент	Флокулянт	Склад поживного середовища, г/л	Умови культивування	Концентрація біофлокулянту, г/л	Флокуляційна активність, %	Джерело
<i>Nostoc</i> sp. ВТА97	ЕПС	NaNO ₃ – 1,5, K ₂ HPO ₄ – 0,008 MgSO ₄ ·7H ₂ O – 0,015 CaCl ₂ ·2H ₂ O – 0,0072	28±2 °С, Цикл світло/темрява 14/10 годин, інтенсивність освітлення 54–67 мкМ фотон м/с	1,58±0,06	84	Tiwari et al., 2015
<i>Anabaena</i> sp. ВТА990	ЕПС	Лимонна кислота – 0,0012 Амонійно-залізний цитрат (зелений) – 0,0012 Na ₂ EDTA – 0,0002 Na ₂ CO ₃ – 0,002 H ₃ BO ₃ – 0,00286		1,29±0,04	63	
<i>Anabaena</i> sp. ВТА992	ЕПС	MnCl ₂ ·4H ₂ O – 0,00181 ZnSO ₄ ·7H ₂ O – 0,00022 Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O – 0,00039 CuSO ₄ ·5H ₂ O – 0,00008 Co(NO ₃) ₂ ·6H ₂ O – 0,00005		1,7	88	Khangembam, Tiwari, & Kalita, 2016
<i>Anabaena</i> sp.	ЕПС	NaNO ₃ – 0,1, MgSO ₄ ·7H ₂ O – 0,03, NaCl – 0,01, K ₂ HPO ₄ – 0,03, KH ₂ PO ₄ – 0,07 CaCl ₂ ·2H ₂ O – 0,01 ZnSO ₄ ·7H ₂ O – 0,00882 MnCl ₂ ·4H ₂ O – 0,00144 MoO ₃ – 0,00071 CuSO ₄ ·5H ₂ O – 0,00157 Co(NO ₃) ₂ ·6H ₂ O – 0,00049 H ₃ BO ₃ – 0,01142 EDTA – 0,05, KOH – 0,031 FeSO ₄ ·7H ₂ O – 0,00498	14 діб	Не визначали	95,83	Irawan et al., 2023

2.2.1. Полісахаридні шляхи синтезу

ЕПС синтезуються з внутрішньоклітинних моносахаридів, що утворюються в результаті основного метаболізму вуглецю — гліколізу, пентозофосфатного шунта та циклу Кребса. Основні кроки включають (Liu et al., 2025):

1. Фосфорилування та активація моносахаридів — утворення UDP-глюкози, UDP-галактози, GDP-манози та інших активованих донорів цукрів.
2. Полімеризація — ферменти глікозилтрансферази каталізують з'єднання моносахаридів у довгі ланцюги з визначеною послідовністю.
3. Секреція — полімери транспортуються через клітинну мембрану або накопичуються у слизоподібному матриксі на поверхні клітини.

Полісахаридні біофлокулянти часто містять функціональні групи (карбоксильні, сульфатні, амінні), які надають полімерам зарядові та водневі властивості, необхідні для ефективного флокуляції (Yang et al., 2024).

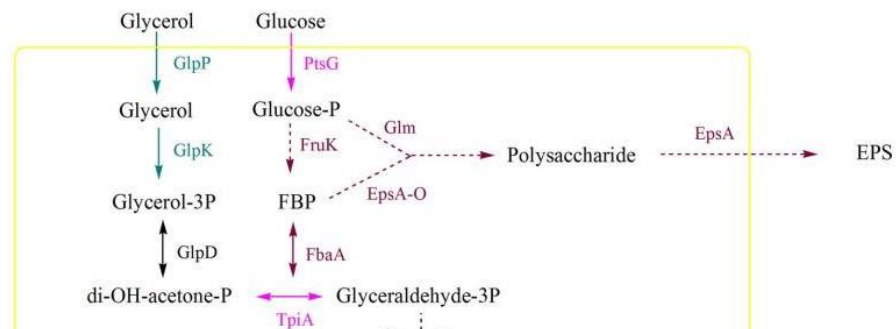


Рис.2.1. Біохімічний синтез ЕПС (Liu, Chen, Yang, Li, & He, 2017)

2.2.2. Синтез глікопротеїнів

Глікопротеїнові біофлокулянти утворюються шляхом ковалентного приєднання вуглеводних залишків до білкової основи. Вуглеводні фрагменти синтезуються за аналогією з полісахаридами, білкова частина — через рибосомний синтез, після чого відбувається глікозилювання в ендоплазматичному або плазматичному апараті мікроорганізму (Shivatare, Shivatare, & Wong, 2022).

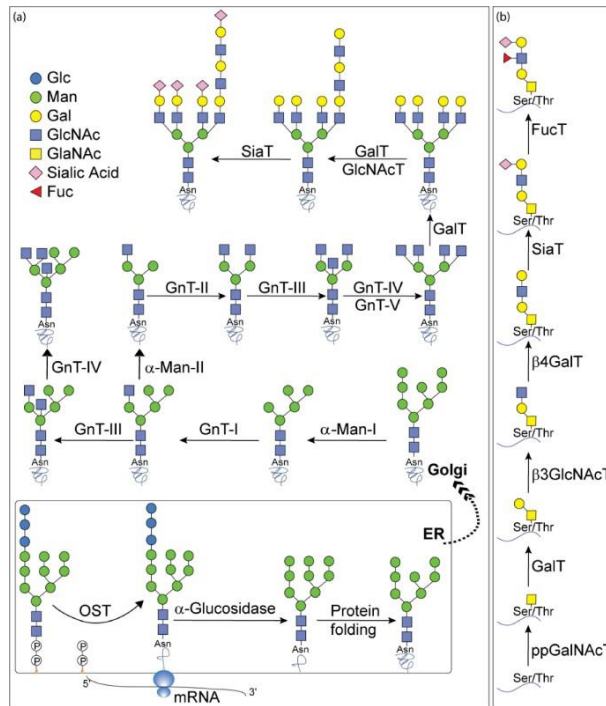


Рис.2.2. Біосинтетичний шлях для А) N-зв'язаного та В) О-зв'язаного синтезу глікопротеїнів (Shivatara, Shivatara, & Wong, 2022)

Глікопротеїни зазвичай мають амфотерний характер, що забезпечує (Shivatara, Shivatara, & Wong, 2022):

- зарядову взаємодію з частинками;
- формування полімерних «містків»;
- високу стабільність у широкому діапазоні рН та іонних сил.

2.2.3. Біосинтез поліпептидів і комплексних полімерів

Деякі бактерії та актиноміцети продукують поліпептидні або гетерополімерні біофлокулянти, де білкова складова переважає над полісахаридною. Такі полімери синтезуються через рибосомний синтез пептидів та подальшу посттрансляційну модифікацію (ацилювання, фосфорилування, приєднання цукрів). Вони забезпечують високі адсорбційні властивості та здатність до комплексоутворення з іонами металів та органічними забрудниками (Laws, Gu, & Marshall, 2001).

2.2.4. Регуляція синтезу біофлокулянтів

Синтез біофлокулянтів контролюється як генетично (експресія відповідних генів для глікозилтрансфераз, ферментів модифікації), так і метаболічно (Liu et al., 2017):

- надлишок джерела вуглецю стимулює ЕПС-продукцію;
- дефіцит азоту або фосфору часто активує вторинний метаболізм і підвищує вихід полімерів;
- присутність іонів Ca^{2+} , Mg^{2+} чи Fe^{3+} може посилювати секрецію та стабільність полімерів;
- окислювальний або рН-стрес може змінювати склад та молекулярну масу синтезованого біофлокулянта.

РОЗДІЛ 3

ВИДІЛЕННЯ, ОЧИЩЕННЯ ТА ЗАСТОСУВАННЯ

БІОФЛОКУЛЯНТІВ

3.1. Методи відокремлення біофлокулянтів із культурального середовища

Виділення та очищення бактеріальних біофлокулянтів є ключовим етапом для отримання продукту з високою флокуляційною активністю та стабільністю. У літературі описано кілька підходів до екстракції та очищення біофлокулянтів, які можна умовно поділити на такі методи:

Метод 1 – виділення MBF-UFH (Okaiyeto et al., 2016)

Для отримання MBF-UFH бактерії культивували протягом 72 годин за оптимальних умов. Культуральний бульйон центрифугували при 4000 об/хв протягом 30 хв для видалення клітинної біомаси. До отриманого супернатанту додавали один об'єм стерильної дистильованої води і повторно центрифугували для видалення нерозчинних домішок. Далі два об'єми холодного етанолу додавали до супернатанту і залишали на ніч при 4 °С для осадження біофлокулянту. Осад збирали центрифугуванням і висушували у вакуумі. Для подальшого очищення неочищений MBF-UFH розчиняли у 100 мл дистильованої води та додавали один об'єм суміші хлороформу та н-бутилового спирту (5:2 об./об.) з перемішуванням протягом 60 секунд. Розчин залишали при кімнатній температурі на 12 годин перед діалізом проти дистильованої води протягом ночі. Після діалізу додавали два об'єми етанолу, отриманий осад розчиняли у воді та висушували у вакуумі для отримання очищеного продукту.

Метод 2 – виділення MBF-C9 (Liu et al., 2015)

Після 48 годин інкубації ферментаційний бульйон центрифугували при 12 000 об/хв за температури 4 °С протягом 30 хв для видалення клітин. Супернатант збирали для екстракції біофлокулянту. Для осадження MBF-C9 до

					<i>НУХТ БТЕК 02.01.03 КР ПЗ</i>			
<i>Змн.</i>	<i>Лист</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>				
<i>Розроб.</i>		<i>Короленко Б.В.</i>			РОЗДІЛ 3 ВИДІЛЕННЯ, ОЧИЩЕННЯ ТА ЗАСТОСУВАННЯ БІОФЛОКУЛЯНТІВ	<i>Лім.</i>	<i>Арк.</i>	<i>Аркушів</i>
<i>Перевір.</i>		<i>Стабніков В.П.</i>					41	105
<i>Реценз.</i>						<i>Кафедра БТМ</i>		
<i>Н. Контр.</i>								
<i>Затверд.</i>		<i>Стабніков В.П.</i>						

бульйону додавали два об'єми холодного абсолютного етанолу. Осад збирали центрифугуванням при 10 000 об/хв, 4 °C протягом 5 хв, промивали 75 % етанолом і ліофілізували для отримання очищеного продукту.

Метод 3 – виділення SFD 11 (Agunbiade et al., 2019)

Після 72 годин ферментації культуральний бульйон центрифугували при 8000 g протягом 30 хв за кімнатної температури для видалення клітин. Супернатант розбавляли одним об'ємом дистильованої води і центрифугували ще 15 хв для видалення нерозчинних домішок. Два об'єми етанолу додавали до супернатанту, обережно перемішували та витримували 12 год у холодильнику. Отриманий осад висушували у вакуумі для отримання неочищеного біофлокулянту, який додатково очищували за допомогою суміші хлороформу та н-бутилового спирту, перемішування, фазового розділення, діалізу та повторного осадження етанолом, після чого продукт ліофілізували.

Метод 4 – виділення протеоглікана *Alteromonas sp.* (Chen et al., 2017)

Ферментаційний бульйон центрифугували при 12 000 об/хв протягом 10 хв для видалення клітин. Супернатант змішували з трьома об'ємами холодного етанолу та залишали при 4 °C на ніч. Осад збирали центрифугуванням при 8000 об/хв протягом 15 хв для отримання сирого біофлокулянту. Далі його розчиняли у дистильованій воді і проводили діаліз з мембраною MWCO 7000–14 000 при 4 °C протягом 12 годин. Після цього до розчину додавали три об'єми холодного етанолу, через 2 години збирали осад центрифугуванням та ліофілізували для отримання очищеного продукту.

Метод осадження етанолом є найбільш простим, безпечним і масштабованим для промислового використання. Він дозволяє ефективно осаджувати полімерні біофлокулянти без руйнування їхньої структури, зберігати високу флокуляційну активність та застосовувати процес у великих об'ємах. У порівнянні з методами із використанням органічних розчинників, цей підхід менш трудомісткий і екологічно безпечний, що робить його оптимальним для

подальших експериментів та промислового виробництва бактеріальних біофлокулянтів.

З врахуванням того, що метод використовується для одержання біофлокулянту MBF-C9, продуцент якого було раніше виділено як один з оптимальних, розробка біотехнологічного виробництва буде будуватись саме на цій роботі, як основній.

3.2. Форми випуску й стабільність готового препарату

Після виділення та очищення бактеріальних біофлокулянтів важливим етапом є формування стабільного препарату, придатного для зберігання та промислового використання. Основними формами випуску бактеріальних біофлокулянтів є порошкоподібні ліофілізовані продукти та розчини концентрованого біофлокулянту у водному середовищі.

Ліофілізовані порошки є найпоширенішою формою, оскільки забезпечують тривалий термін зберігання при кімнатній температурі або холодильних умовах. Ліофілізація дозволяє зберегти структуру полімерів, біологічну активність та флокуляційну здатність біофлокулянтів. Підготовка ліофілізованого продукту включає повторне розчинення осаду після осадження етанолом у стерильній воді, фільтрацію при необхідності для видалення залишків клітин і наступну заморожену сушку. Ліофілізований порошок має високу концентрацію біофлокулянту на одиницю маси і є зручним для транспортування та дозування у промислових процесах очищення стічних вод (Kumar, 2019).

Концентрований розчин біофлокулянту у воді використовується переважно для оперативного застосування в процесах, де важлива швидка готовність продукту до введення в систему (Afolabi et al., 2020). Такі розчини можуть бути стабілізовані шляхом регулювання рН, температури та додавання невеликих концентрацій консервантів або стабілізаторів. Однак водні розчини мають обмежений термін зберігання і потребують охолодження, що ускладнює логістику при масштабуванні виробництва.

Стабільність готового препарату визначається хімічною та фізичною стабільністю полімеру, відсутністю гідролізу або деградації активних груп, а також здатністю зберігати флокуляційну активність протягом зберігання. Для бактеріальних біофлокулянтів встановлено, що ліофілізовані форми зберігають >90 % флокуляційної активності при кімнатній температурі протягом 6–12 місяців, тоді як водні концентрати втрачають активність значно швидше (Tsilo et al., 2021; Agunbiade et al., 2019).

При виборі форми випуску та умов зберігання слід враховувати також масштаб промислового застосування, зручність дозування та транспортні можливості. Для подальшого промислового використання бактеріальних біофлокулянтів оптимальною є ліофілізована порошкоподібна форма, оскільки вона забезпечує максимальну стабільність, простоту зберігання та зручність використання у великих об'ємах стічних вод.

3.3. Перспективи промислового застосування та економічна доцільність

Бактеріальні біофлокулянти демонструють значний потенціал для використання у промислових процесах очищення стічних вод завдяки високій флокуляційній активності, швидкому росту культур та здатності функціонувати в широкому діапазоні фізико-хімічних умов. Основні напрямки їхнього застосування включають коагуляцію та осадження завислих часток у водних системах, видалення важких металів, зниження рівня органічних забруднювачів і стабілізацію біологічних процесів у очисних спорудах (Buthelezi, Olaniran, & Pillay, 2010).

Використання бактеріальних біофлокулянтів має кілька ключових переваг порівняно з хімічними флокулянтами. По-перше, це біологічно сумісні та нетоксичні продукти, що мінімізують ризик вторинного забруднення навколишнього середовища. По-друге, бактеріальні біофлокулянти здатні проявляти активність при нижчих концентраціях, що зменшує витрати на реагенти. По-третє, можливість використання недорогих субстратів, включно зі

стічними водами промислового та сільськогосподарського походження, підвищує економічну доцільність виробництва (Ben Rebah, Mnif, & Siddeeg, 2018).

З економічної точки зору, промислове виробництво бактеріальних біофлокулянтів може бути вигідним за умов оптимізації ферментаційних процесів, зокрема використанням ефективних штамів, масштабованих біореакторів та раціональної системи виділення й ліофілізації продукту. Наприклад, застосування методів осадження етанолом забезпечує високу відновлюваність біофлокулянту та дозволяє отримати стабільний порошкоподібний продукт із збереженням флокуляційної активності, що є критично важливим для промислових обсягів (Dlangamandla et al., 2015).

Враховуючи сучасні тенденції розвитку біотехнологій, перспективними є також інтегровані підходи, де бактеріальні біофлокулянти виробляються та застосовуються безпосередньо у потоках стічних вод, що дозволяє мінімізувати витрати на транспортування та додаткову очистку. Подальші дослідження мають бути спрямовані на оптимізацію штамів, зменшення часу ферментації, підвищення стабільності біофлокулянтів у різних умовах зберігання та забезпечення економічно вигідних технологічних схем виробництва (Orchard et al., 2024).

Отже, бактеріальні біофлокулянти є ефективною та екологічно безпечною альтернативою хімічним реагентам у промисловій очистці стічних вод. Раціональне поєднання високоефективних штамів, простих методів виділення та ліофілізованої форми продукту створює умови для економічно доцільного та масштабованого впровадження цих біополімерів у практику очищення водних систем.

РОЗДІЛ 4

ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБГРУНТУВАННЯ

4.1. Характеристика біофлокулянтів

Біофлокулянти — це високомолекулярні сполуки природного походження, які здатні спричиняти агрегування (флокуляцію) зважених частинок у рідкому середовищі, утворюючи флокули, що легко осаджуються. На відміну від хімічних флокулянтів (наприклад, поліакриламід або солей алюмінію), біофлокулянти є нетоксичними, біорозкладними та екологічно безпечними (Yang et al., 2024b; Kurniawan et al., 2020).

До основних груп біофлокулянтів належать (Sun, Zhang, Miao, & Zhou, 2012):

- Полісахариди (β -глюкани, ксантан, декстран, гіалуронова кислота, целюлозні похідні);
- Білкові флокулянти (глікопротеїни, ферменти з флокуляційною активністю);
- Комплексні біополімери (полісахаридно-білкові або полісахаридно-ліпідні комплекси);
- Мікробні біофлокулянти, синтезовані бактеріями, грибами, дріжджами та водоростями (наприклад, *Bacillus subtilis*, *Aspergillus niger*, *Rhodococcus erythropolis*).

Біофлокулянти мають високу молекулярну масу (від 10^4 до понад 10^7 Да) та численні функціональні групи — гідроксильні ($-\text{OH}$), карбоксильні ($-\text{COOH}$), амінні ($-\text{NH}_2$) та сульфатні ($-\text{SO}_3\text{H}$), що забезпечує їхню адсорбційну активність. Завдяки цим групам полімери здатні утворювати водневі зв'язки та електростатичні взаємодії із частинками колоїдів і металів у розчині, сприяючи їх злипанню (Yang et al., 2024a; Abu Tawila, Ismail, Dadrasnia, & Usman, 2018).

Флокуляційна дія біополімерів реалізується переважно за механізмом

					НУХТ БТЕК 02.01.03 КР ПЗ			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Короленко Б.В.			РОЗДІЛ 4 ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБГРУНТУВАННЯ	Літ.	Арк.	Аркушів
Перевір.		Стабніков В.П.						
Реценз.								
Н. Контр.								
Затверд.		Стабніков В.П.						
						Кафедра БТМ		

(Podgornik, & Ličer, 2006; Czemińska, Szczes, & Jarosz-Wilkolazka, 2015):

- Адсорбційного зшивання — полімер адсорбується на поверхні частинок і з'єднує їх між собою;
- Електростатичної нейтралізації — заряджені групи флокулянту компенсують заряд частинок;
- Мостикового ефекту — довгі полімерні ланцюги утворюють «містки» між частинками суспензії.

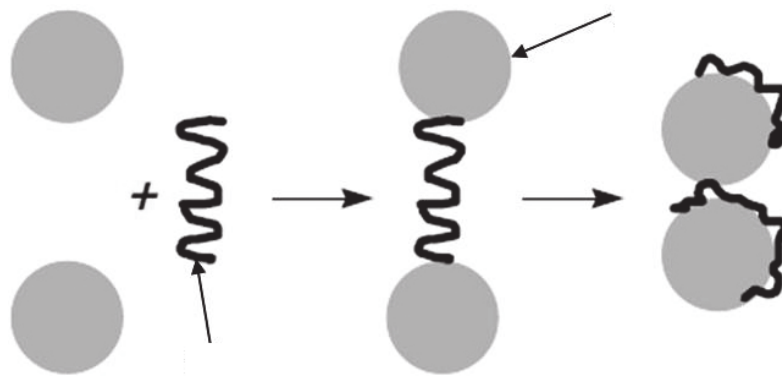


Рис.4.1. Механізм флокуляції, що полягає у формуванні містка: А) утворення містка між частинками та флокулянтом; В) агрегація частинок, зв'язаних довголанцюговим полімером (Czemińska, Szczes, & Jarosz-Wilkolazka, 2015)

Переваги біофлокулянтів (Yang et al., 2024a):

- біосумісність і нетоксичність;
- ефективність у широкому діапазоні рН та температур;
- відсутність вторинного забруднення;
- можливість отримання з відновлюваних джерел (мікробне бродіння, біомаса рослин чи грибів).

Біофлокулянти активно використовують у (Ayat, Dadkhah, Nasrollahi, & Rahmati, 2024):

- очищенні стічних вод від важких металів, колоїдів, органічних сполук;

- харчовій і фармацевтичній промисловості — для осадження білків, клітинних залишків, очищення ферментних розчинів;
- біотехнологічних процесах — для агрегації клітин мікроорганізмів, підвищення ефективності ферментацій;
- сільському господарстві — як складові біопрепаратів для поліпшення структури ґрунту та доступності поживних речовин.

Біофлокулянти розглядаються як екологічно безпечна альтернатива традиційним неорганічним і синтетичним флокулянтам, таким як поліакриламід, сульфат алюмінію чи хлорид заліза. Наявність численних гідроксильних, карбоксильних, амінних та сульфатних груп забезпечують електростатичні взаємодії, водневі зв'язки та сорбцію на поверхні частинок, завдяки чому флокулянти ефективно осаджують колоїди, завислі речовини та іони важких металів (Okaiyeto, Nwodo, Okoli, Mabinya, & Okoh, 2016).

Механізм флокуляції біополімерів у водних системах включає (Czemierska, Szczes, & Jarosz-Wilkolazka, 2015):

- Нейтралізацію заряду зважених частинок і зменшення електростатичного відштовхування;
- Адсорбційно-мостикове з'єднання, коли довгі полімерні ланцюги зшивають кілька частинок між собою;
- Згортання колоїдних структур і утворення великих флокул, що осаджуються або відокремлюються фільтруванням.

Біофлокулянти активно використовують у процесах біоочищення промислових і комунальних стічних вод, зокрема для (Okaiyeto, Nwodo, Okoli, Mabinya, & Okoh, 2016):

- освітлення води від завислих і колоїдних домішок (глина, органічні залишки, мікроорганізми);
- видалення важких металів (Cu^{2+} , Pb^{2+} , Cd^{2+} , Cr^{6+}) через утворення комплексів із функціональними групами полімеру;

- очищення від барвників, фенолів та поверхнево-активних речовин, особливо у текстильній, фармацевтичній та харчовій промисловості;
- попереднього згущення активного мулу в аеротенках очисних споруд;
- біодеградації органічних сполук, коли біополімер одночасно діє як флокулянт і субстрат для мікробної спільноти.

Ефективність мікробних біофлокулянтів, отриманих від *B. subtilis*, *Raenibacillus polytuxa* або *A. niger*, у видаленні завислих речовин може досягати 90–95 %, а кольоровості — до 80 %. При цьому вони не потребують додаткового коагулянту й не залишають токсичних залишків у воді (Okaiyeto, Nwodo, Okoli, Mabinya, & Okoh, 2016).

Переваги біофлокулянтів у порівнянні з хімічними (Mishra et al., 2025):

- Відсутність вторинного забруднення — продукти їх розпаду є нетоксичними;
- Можливість відновлення осаду для біогазового зброджування;
- Сумісність з біологічними методами очищення (активний мул, біоплівки);
- Сировинна доступність — продукуються із дешевих субстратів (м'яса, кукурудзяний сироп, відходи харчової промисловості).

Сучасні дослідження спрямовані на підвищення флокуляційної активності через модифікацію біополімерів (карбоксілювання, сульфонування, зшивання полімерних ланцюгів) і на розробку змішаних систем — комбінацій біофлокулянтів із неорганічними солями або наноматеріалами для очищення складних стічних вод.

4.2. Огляд ринку біофлокулянтів

Ринок біофлокулянтів (природних або біо-базованих полімерів та екстрактів, призначених для коагуляції/флокуляції у водоочищенні) перебуває в

стадії швидкого зростання: аналітичні звіти оцінюють глобальний обсяг сегмента у $\approx 3,0$ млрд USD (2024) з прогнозом CAGR $\approx 6-7$ % протягом наступного десятиріччя. Частина великих постачальників традиційних флокулянтів анонсувала або вивела на ринок «біо-балансовані» полімери (тобто продукти, у виробництві частково використано відновлювану біомасу), що відображає тренд на декарбонізацію хімічних ланцюгів поставок і запит на «зелені» рішення у муніципальній та промисловій водоочищувальній інфраструктурі. Ці ринкові оцінки залежать від методики підрахунку і різних визначень «біофлокулянту», тому слід трактувати їх як орієнтовні (<https://www.factmr.com/report/bioflocclulants-market>; <https://doi.org/10.1007/s13201-025-02401-9>).

Типи комерційних рішень на ринку

1. Біо-балансовані полімери (biomass-balanced polymers) — хімічно еквівалентні класичним полімерним флокулянтам (наприклад, поліакриламідним продуктам), але з частиною вуглецевого походження, отриманою з відновлюваних джерел. Виробники позиціонують ці продукти як «збалансовані» з погляду вуглецевого сліду при збереженні технологічної сумісності з існуючими процесами очищення (<https://www.kemira.com/stories/new-bio-flocclulants-for-water-utilities/>; <https://www.kemira.com/stories/germanys-largest-municipal-wastewater-treatment-plant-chooses-biomass-balanced-polymers/>).

2. Мікробні / полісахаридні біофлокулянти — екстракти або концентрати EPS (екзополімери) мікроорганізмів (бактерій, грибів, дріжджів) у формі рідкого концентрату або висушеного порошку; застосовуються для освітлення, видалення COD/колоїдів, іноді для комплексного захоплення металів (залежно від функціональних груп). Велика частина таких продуктів — або постачання B2B від малих виробників, або результати пілотних/локальних виробництв; у багатьох випадках бізнес-модель передбачає проведення пробних випробувань у конкретному стоку (Dai et al., 2024; Selepe, & Maliehe, 2024).

3. Рослинні/натуральні коагулянти (наприклад, екстракти насіння *Moringa* spp., позбавлений олії бікарбонат насіння тощо) — широко застосовуються на локальному і малому промисловому рівні; низька вартість сировини, але варіабельність якості та потреба в стандартизації (Asrafuzzaman, Fakhrudin, & Hossain, 2011); Abaliwano, Ghebremichael, & Amy, 2008).

Основні виробники й сегменти постачання

1. Великі хімічні/водні компанії (приклади: Kemira, Solenis, інші глобальні постачальники) розширюють портфелі «біо-орієнтованими» продуктами або пропонують окремі лінії biomass-balanced; їхні продукти орієнтовані на муніципальні очисні споруди та великі промислові клієнти.

2. Малі/середні виробники і стартапи (часто регіональні компанії в Азії та Африці) постачають полісахаридні/протеїнові біофлокулянти у формі порошків або концентратів; їхні пропозиції доступні на B2B-платформах, але часто вимагають локального тестування.

3. Агропродуктові постачальники (*Moringa* seed/demin oil cake) — пропонують натуральні коагулянти для регіональних застосувань; підходять для невеликих очисних споруд або як частина низько-бюджетних технологій.

До переваг таких препаратів відноситься: потенційно менша екотоксичність, біорозкладність, позитивний імідж «зелених» технологій, можливість інтеграції з біологічними стадіями очистки (менший ризик інгібування бактерій активного мулу). Проте, до обмежень стосуються наступні можливі виклики: варіабельність якості (для рослинних/місцевих продуктів), потреба в стандартизації і пілотних випробуваннях, часто вища вартість у перерахунку на одиницю ефекту порівняно з масовими хімічними реагентами (але потенційна економія у вивезенні/переробці осаду і екологічних вимогах).

В табл.4.1. показано препарати, що представлені на світовому ринку.

Світовий ринок біофлокулянтів

Продукт / тип	Виробник / постачальник (приклад)	Форма	Активний компонент / опис	Орієнтовне призначення	Джерело
Superfloc® BioMB (лінійка)	Kemira (глобальний постачальник)	емульсія / сухий полімер	biomass-balanced полімери (аналог поліакриламідів, часткова біомаса у вихідній сировині)	муніципальні та промислові очисні споруди, згущення/зневоднення мулу; «drop-in» заміна традиційних полімерів	https://www.kemira.com/stories/new-bio-flocculants-for-water-utilities/ https://www.kemira.com/stories/germanys-largest-municipal-wastewater-treatment-plant-chooses-biomass-balanced-polymers/
Moringa (натуральний коагулянт) — насіння/порошок / позбавлена олії макуха	Регіональні постачальники / агровиробники (приклади: TradeIndia, постачальники Moringa)	порошок, екстракт, де-ойлений бікон (cake)	протеїнові/пептидні фракції насіння (позитивно заряджені білки)	локальні/малі установки, попереднє освітлення, зниження турбідності, частково — COD/колоїди	https://www.tradeindia.com/products/moringa-seed-69191.html
Полісахаридні / мікробні біофлокулянти (товарна позиція)	Китайські / регіональні виробники (приклади оголошень на Alibaba / TradeIndia: «polysaccharide bioflocculant» від різних постачальників)	порошок / рідкий концентрат	полісахаридні EPS / комбінації полісахарид+білок (грубі технічні формуляції)	промислові стоки (харчова, текстильна, целюлозно-паперова), первинна/додаткова флокуляція	https://www.alibaba.com/product-detail/Polysaccharide-bioflocculant-Sucrose-Fermentation-Water-Treatment_60830843998.html https://www.alibaba.com/showroom/bio-flocculant.html
Біо-полімери / біо-поліелектроліти (пілотні продукти)	Малі виробники / стартапи; локальні постачальники у ЄС/Пн.Америці	концентрат / суха суміш	модифіковані катионні/аніонні полісахариди (карбоксилування/кватернізація)	спеціалізовані промислові застосування, коли потрібна низька екотоксичність	Leonhartsberger et al., 2025 Ahmed et al., 2024
Гібридні композиції (біо + неорганіка)	локальні інтегратори/постачальники реагентів	композиційні формуляції	біофлокулянт + неорганічний коагулянт або невеликі добавки (для покращення стійкості у складних стоках)	складні пром. стоки (фарбувальні, металургійні) — підвищення швидкодії/ефективності	https://www.solenis.com/en/products-and-services/water-treatment/flocculants/

Ринок біофлокулянтів швидко розвивається: присутні як великі гравці, що пропонують «біо-балансовані» полімери (наприклад, Kemira Superfloc® БіоМВ), так і малі/регіональні постачальники біополімерів і рослинних коагулянтів (Moringa, полісахаридні порошки). Комерційне впровадження вимагає пілотної адаптації (jar-тести, TDS), а також уваги до стандартів і сертифікації для муніципальних застосувань.

4.3. Розрахунок річної потужності виробництва

З огляду на актуальність виробництва біодизелю, особливо отриманого з мікроводоростей, доцільним є виготовлення біофлокулянту для спрощення їхнього відокремлення перед подальшим переробленням у біодизель.

Згідно з даними Біоенергетична асоціація України наразі в Україні функціонує 14 підприємств, що виробляють біодизель з виробничою потужністю 300 000 тон/рік. З врахуванням відсутності чітких даних по виробництву біодизелю мікроводоростями, припускаємо, що це становить близько 5% від загальної маси:

$$300\ 000\ 000 \times 0,05 = 15\ 000\ 000 \text{ кг/рік}$$

Зі статті Hassan, Ansari, Rawat, & Bux, (2024) відомо, що на виробництво 1 кг мікроводоростей витрачається близько 1000 л води. Тож, кількість води на рік становитиме:

$$15\ 000\ 000 \times 1000 = 15\ 000\ 000\ 000 \text{ л води}$$

З врахуванням наявності альтернатив на ринку, пропонується забезпечувати лише 2 %, тому кількість води, яку потрібно буде обробити біофлокулянтами становитиме:

$$15\ 000\ 000\ 000 \times 0,02 = 300\ 000\ 000 \text{ л води}$$

З основної статті (Liu, Wang, Jiang, Liu, & Wang, 2015) кількість біофлокулянту для ефективної обробки від мікрофодоростей становила 8 мг, тож потрібно:

$$300\ 000\ 000 \times 8 = 2\ 400\ 000\ 000 \text{ мг} = 2\ 400 \text{ кг}$$

Кількість біофлокулянту MBF-C9 після очистки становить 4,65 г/л (Liu, Wang, Jiang, Liu, & Wang, 2015). Тоді, річна потреба в культуральній рідині становитиме:

$$\frac{2400}{4,65} \approx 516 \text{ м}^3$$

Припустимо, що кількість трудоднів нашого виробництва сягає близько 255 діб. Всі інші робочі дні будуть використані на біосинтез екзополісахаридів. Тоді, за одну добу кількість культуральної рідини складе:

$$516/255 \approx 2,02 \text{ м}^3$$

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

$$V_{\text{крц}} = K_1 \cdot V_{\text{д}} \cdot T_{\text{цф}} / 24 = 1,1 \cdot 2,02 \cdot 55 / 24 \approx 5,1 \text{ м}^3,$$

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 – 48 год, та вивантаження – 0,5 год, і становить 55 годин. K_1 – коефіцієнт запасу, що враховує можливість нестерильних операцій ($K_1 = 1,1$).

За виробничий цикл отримують $V_{\text{кр}} = 5,1 \text{ м}^3$ культуральної рідини.

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

$$V_{\text{роб.1}} = V_{\text{кр}} / (1 - E_{\text{ф}}) = 5,1 / (1 - 0,1) = 5,7 \text{ м}^3,$$

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

Виробничий біосинтез здійснюють у ферментері з робочим об'ємом $V_{\text{роб.1}} = 5,7 \text{ м}^3$.

При вибраному коефіцієнті заповнення $K_{\text{зап}} = 0,6$ можливий геометричний об'єм ферментера $V_{\text{ф.1}} = 5,7 / 0,6 = 9,5 \text{ м}^3$. Приймаємо найближчий за об'ємом стандартний ферментер $V_{\text{сф}} = 10 \text{ м}^3$ та уточнюємо прийнятий раніше коефіцієнт заповнення:

$$K_{\text{зап.1}} = V_{\text{роб.1}} / V_{\text{сф}} = 5,7 / 10 = 0,57$$

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:

$$V_{\text{пс1}} = V_{\text{роб.1}} / (1 + X_{\text{ф}}) = 5,7 / (1 + 0,1) = 5,18 \text{ м}^3$$

Кількість посівного матеріалу для ферментера становить:

$$V_{\text{пм1}} = V_{\text{роб.1}} - V_{\text{пс1}} = 5,7 - 5,18 = 0,52 \text{ м}^3$$

Для одержання 520 л інокуляту в інокуляторі враховуємо втрати в результаті краплевиносу через колектор відпрацьованого повітря (10%). Тоді кількість поживного середовища та посівного матеріалу в інокуляторі становить:

$$V_{\text{роб.2}} = V_{\text{пм1}} / (1 - E_{\text{ф}}) = 520 / (1 - 0,1) \approx 577,8 \text{ л}$$

Можливий геометричний об'єм інокулятора $V_{\text{ін}} = 577,8 / 0,6 = 963 \text{ л}$.

Приймаємо найближчий за об'ємом стандартний посівний апарат $V_{\text{сін}} = 1000 \text{ л}$ та уточнюємо прийнятий раніше коефіцієнт заповнення:

$$K_{\text{зап.2}} = V_{\text{роб.2}} / V_{\text{сін}} = 577,8 / 1000 = 0,58$$

Уточнений коефіцієнт заповнення перебуває у дозволених межах.

Кількість поживного середовища в інокуляторі становитиме:

$$V_{\text{пс2}} = V_{\text{роб.2}} / (1 + X_{\text{ін}}) = 577,8 / (1 + 0,1) \approx 525,3 \text{ л}$$

Тоді кількість посівного матеріалу для інокулятора становить:

$$V_{\text{пм2}} = V_{\text{роб.2}} - V_{\text{пс2}} = 577,8 - 525,3 = 52,5 \text{ л}$$

Для одержання 52,5 л інокуляту в інокуляторі враховуємо втрати в результаті краплевиносу через колектор відпрацьованого повітря (10%). Тоді кількість поживного середовища та посівного матеріалу в інокуляторі становить:

$$V_{\text{роб.3}} = V_{\text{пм2}} / (1 - E_{\text{ф}}) = 52,5 / (1 - 0,1) \approx 58,3 \text{ л}$$

Можливий геометричний об'єм інокулятора $V_{\text{ін}} = 58,3 / 0,6 = 97,2 \text{ л}$.

Приймаємо найближчий за об'ємом стандартний посівний апарат $V_{\text{сін}} = 100 \text{ л}$ та уточнюємо прийнятий раніше коефіцієнт заповнення:

$$K_{\text{зап.3}} = V_{\text{роб.3}} / V_{\text{сін}} = 58,3 / 100 = 0,58$$

Уточнений коефіцієнт заповнення перебуває у дозволених межах.

Кількість поживного середовища в інокуляторі становитиме:

$$V_{\text{пс3}} = V_{\text{роб.3}} / (1 + X_{\text{ін}}) = 58,3 / (1 + 0,1) \approx 53 \text{ л}$$

Тоді кількість посівного матеріалу для інокулятора становить:

$$V_{\text{пм3}} = V_{\text{роб.3}} - V_{\text{пс3}} = 58,3 - 53 = 5,3 \text{ л}$$

Для одержання 5,3 л інокуляту в інокуляторі враховуємо втрати в результаті краплевиносу через колектор відпрацьованого повітря (10%). Тоді кількість поживного середовища та посівного матеріалу в інокуляторі становить:

$$V_{\text{роб.4}} = V_{\text{пм3}} / (1 - E_{\text{ф}}) = 5,3 / (1 - 0,1) \approx 5,9 \text{ л}$$

Можливий геометричний об'єм інокулятора $V_{\text{ін}} = 5,9 / 0,6 = 9,83 \text{ л}$.

Приймаємо найближчий за об'ємом стандартний посівний апарат $V_{\text{сін}} = 10 \text{ л}$ та уточнюємо прийнятий раніше коефіцієнт заповнення:

$$K_{\text{зап.4}} = V_{\text{роб.4}} / V_{\text{сін}} = 5,9 / 10 = 0,59$$

Уточнений коефіцієнт заповнення перебуває у дозволених межах.

Кількість поживного середовища в інокуляторі становитиме:

$$V_{\text{пс4}} = V_{\text{роб.4}} / (1 + X_{\text{ін}}) = 5,9 / (1 + 0,1) \approx 5,36 \text{ л}$$

Тоді кількість посівного матеріалу для інокулятора становить:

$$V_{\text{пм4}} = V_{\text{роб.4}} - V_{\text{пс4}} = 5,9 - 5,36 = 0,54 \text{ л}$$

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

$$N_{\text{колб}} = V_{\text{пм4}} / (V_{\text{колб}} \times K_{\text{зап}}) = 540 / (750 \times 0,2) \approx 4 \text{ шт.}$$

Таким чином, для одержання посівного матеріалу необхідно 4 колб.

Отже, процес одержання посівного матеріалу для забезпечення виробничого культивування у ферментері об'ємом 10 м^3 з коефіцієнтом заповнення 0,6 буде проходити у 4 етапи.

РОЗДІЛ 5

ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ СТАДІЙ ТЕХНОЛОГІЧНОГО ПРОЦЕСУ ДЛЯ ОДЕРЖАННЯ СУБСТАНЦІЇ БІОФЛОКУЛЯНТУ

5.1. Обґрунтування вибору післяферментаційних процесів отримання субстанції біофлокулянту

Післяферментаційна обробка є одним із ключових етапів технології одержання біофлокулянтів, оскільки саме вона визначає якість, активність і стабільність кінцевого продукту. Для біополімерних флокулянтів, що синтезуються мікроорганізмами, характерна висока гідрофільність і схильність до утворення колоїдних систем, тому необхідне ретельне відділення клітинної маси та осадження розчиненого полімеру з культурального фільтрату.

Вибір оптимальної схеми післяферментаційних процесів базується на таких критеріях:

- Збереження структури активної субстанції (полісахаридно-білкової матриці);
- Мінімізація втрат при осадженні;
- Виключення токсичних розчинників і реагентів;
- Можливість масштабування та відтворюваності процесу.

Згідно з літературними даними (Yang et al., 2024a), найпоширенішим методом виділення біофлокулянтів є двоступенева схема: первинне центрифугування культуральної рідини для видалення клітин та осадження активного полімеру органічним розчинником (етанолом або ацетоном). Така методика дозволяє отримати високоочищену субстанцію без суттєвих втрат активності.

У цій роботі за основу прийнято схему, описану для біофлокулянту MBF-C9 (Liu, Wang, Jiang, Liu, & Wang, 2015), яка відзначається технологічною простотою, відтворюваністю та безпечністю реагентів. Після 48 годин

					<i>НУХТ БТЕК 02.01.03 КР ПЗ</i>				
<i>Змн.</i>	<i>Лист</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>					
<i>Розроб.</i>		<i>Короленко Б.В.</i>			<i>РОЗДІЛ 5</i> <i>ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ</i> <i>СТАДІЙ ТЕХНОЛОГІЧНОГО</i> <i>ПРОЦЕСУ ДЛЯ ОДЕРЖАННЯ</i> <i>СУБСТАНЦІЇ БІОФЛОКУЛЯНТУ</i>		<i>Лім.</i>	<i>Арк.</i>	<i>Аркушів</i>
<i>Перевір.</i>		<i>Стабніков В.П.</i>						57	105
<i>Реценз.</i>							<i>Кафедра БТМ</i>		
<i>Н. Контр.</i>									
<i>Затверд.</i>		<i>Стабніков В.П.</i>							

культивування культуральну рідину центрифугують при 12 000 об/хв, 4 °С протягом 30 хв для відділення клітинної біомаси. Надосадову рідину, що містить розчинений біополімер, піддають осадженню шляхом додавання двох об'ємів холодного абсолютного етанолу. Осад, який утворюється внаслідок зневоднення макромолекул, відділяють повторним центрифугуванням (10 000 об/хв, 4 °С, 5 хв), промивають 75 % етанолом і висушують методом ліофілізації.

Обрана схема має низку переваг:

- високий вихід біофлокулянту (до 95 % від розчиненої фракції);
- збереження біологічної активності за рахунок низької температури обробки;
- відсутність токсичних реагентів і можливість регенерації етанолу;
- придатність до масштабування у виробничих умовах без потреби у складному обладнанні.

Застосування комбінації центрифугування – осадження – ліофілізації забезпечує одержання стабільної та високоактивної субстанції біофлокулянту, придатної для подальшої розробки препаративних форм, що використовуються у процесах очищення стічних вод.

5.1.1. Вибір методу відділення біомаси та концентрування супернатанту

Відділення клітинної біомаси після завершення ферментації є початковим етапом післяферментаційної обробки, який визначає подальшу чистоту культурального фільтрату та ефективність виділення біофлокулянту. Вибір методу розділення твердих і рідких фаз залежить від морфології продуцента, в'язкості середовища та ступеня гідратації біополімеру.

Серед відомих методів механічного відділення біомаси у мікробіологічних технологіях застосовують (Карлаш, Красінько, 2022):

- гравітаційну седиментацію, що базується на осадженні клітин під дією сили тяжіння;
- фільтрацію через мембрани або пористі матеріали;

- центрифугування — прискорене осадження клітин у полі відцентрових сил.

Для отримання біофлокулянтів седиментація є малоефективною через низьку швидкість процесу та значну в'язкість культуральної рідини. Мембранна фільтрація забезпечує добру якість фільтрату, однак у промислових масштабах характеризується високими енергетичними витратами та швидким забрудненням фільтрувальних елементів, особливо при роботі з полісахаридвмісними культурами (Wang et al., 2011; Карлаш, Красінько, 2022).

Оптимальним методом у даній роботі обрано центрифугування, яке забезпечує ефективне відділення біомаси від культурального середовища без руйнування розчиненого біофлокулянту. За даними Liu, Wang, Jiang, Liu, & Wang (2015), при швидкості 12 000 об/хв і температурі 4 °С центрифугування протягом 30 хв дозволяє повністю усунути клітинні рештки та зберегти структуру екзополімеру в супернатанті. Низька температура процесу запобігає термічній денатурації білкових компонентів біофлокулянту, що є критичним для збереження його флокулювальної активності.

Переваги використання центрифугування на даному етапі (Карлаш, Красінько, 2022):

- висока швидкість і повнота відділення твердих частинок;
- можливість масштабування до промислових установок без зміни параметрів процесу;
- мінімальні втрати активної субстанції, оскільки полімер залишається у супернатанті;
- простота автоматизації та контроль параметрів (швидкість, температура, тривалість).

Центрифугування при 12 000 об/хв і 4 °С протягом 30 хв обґрунтовано як найраціональніший метод попереднього очищення культуральної рідини перед осадженням біофлокулянту.

Концентрування культурального супернатанту, що містить біофлокулянт, є важливим етапом його подальшого виділення та очищення. Мембранний метод ультрафільтрації (UF) забезпечує селективне утримання макромолекул полісахаридів і білків, пропускаючи воду, солі та низькомолекулярні домішки. Такий підхід дозволяє значно зменшити об'єм рідини без застосування високих температур або агресивних хімічних реагентів (Карлаш, Красінько, 2022), що гарантує збереження структурної цілісності та функціональної активності біофлокулянту. У порівнянні з термічним випарюванням або осадженням органічними розчинниками, ультрафільтрація є більш безпечною для продукту, економічно ефективною та легко масштабується на промисловому рівні. Крім того, UF частково очищує супернатант, підвищуючи ефективність наступного етапу виділення біофлокулянту.

5.1.2. Осадження біофлокулянту органічним розчинником

Осадження є ключовим етапом післяферментаційної обробки, спрямованим на концентрування біофлокулянту з культурального фільтрату. Для полісахаридних і глікопротеїнових біополімерів цей процес ґрунтується на зниженні їх розчинності внаслідок дегідратації у присутності водоетанольної суміші або інших органічних розчинників.

Залежно від хімічної природи біофлокулянту застосовують різні преципітанти — етанол, ізопропанол, ацетон або метанол (Zaki et al., 2011). Серед них етанол вважається оптимальним вибором завдяки поєднанню таких властивостей (Ziadi et al., 2018):

- хімічна безпечність і нетоксичність продукту;
- відносно низька вартість і доступність у великих обсягах;
- легкість відновлення шляхом ректифікації;
- здатність до м'якої дегідратації полімерів без руйнування глікозидних зв'язків.

У дослідженні Liu, Wang, Jiang, Liu, & Wang (2015), на основі якого модифіковано технологічну схему, осадження біофлокулянту MBF-C9

проводили шляхом додавання двох об'ємів холодного абсолютного етанолу до супернатанту після центрифугування. Внаслідок цього створюються умови для коагуляції макромолекул полісахаридного комплексу за рахунок різкого зменшення діелектричної проникності середовища. Утворений осад відділяють повторним центрифугуванням при 10 000 об/хв і 4 °С протягом 5 хв.

5.1.3. Висушування біофлокулянту

Висушування осадженої субстанції біофлокулянту є завершальним етапом після ферментаційної обробки та має на меті забезпечення стабільності препарату, зручності його транспортування і тривалого зберігання. Технологічний режим сушіння визначально впливає на збереження флокулювальної активності та фізико-хімічні характеристики отриманого продукту. Серед промислових методів видалення вологи значне поширення має конвективне сушіння, яке ґрунтується на передачі тепла й маси між теплим повітряним потоком і зневодненим матеріалом. Застосування цього способу є технологічно доцільним для великотонажного виробництва полімерних флокулянтів, оскільки він характеризується відносною енергоефективністю та простотою реалізації (Deerak & Iqbal, 2015).

Перед сушінням осад біофлокулянту піддають попередньому механічному зневодненню (центрифугування або фільтрування) до вологості 60–70 %, що дає змогу зменшити енергетичні витрати та мінімізувати тепловий вплив на біополімерну матрицю. Підготовлену масу рівномірно розподіляють тонким шаром завтовшки 5–10 мм на перфорованих лотках або транспортерній стрічці сушарки для забезпечення оптимального контакту з теплоносієм.

Основний етап сушіння здійснюють у режимі подачі нагрітого повітря. Температуру теплоносія підтримують у межах 40–55 °С, що дає можливість уникнути деградації білково-полісахаридних компонентів біофлокулянту (Liu et al., 2015). Швидкість повітря становить 0,8–1,5 м/с, що забезпечує достатню інтенсивність масообміну. Тривалість процесу варіює у межах 2–6 год залежно від початкової вологості та товщини шару матеріалу. На завершальній стадії

температуру поступово знижують до 30–35 °С, що дає можливість рівномірно довести продукт до цільового рівня залишкової вологості, який має становити не більше ніж 8–10 %.



Рис.5.1. Блок-схема виділення та очищення біофлокулянту

З метою підвищення стабільності сухої субстанції біофлокулянту доцільно передбачити введення стабілізуючих добавок після завершення процесу сушіння. Стабілізатори сприяють збереженню флокулювальної активності під час зберігання, регулюють гігроскопічність порошку та запобігають його агрегації.

До найефективніших стабілізаторів належать дисахариди (трегалоза, сахароза), поліоли (манітол, сорбітол) та інертні полісахаридні носії (декстрин, гуміарабик). Їх додають у кількості 2–10 % від маси сухої речовини під час гомогенізації готового ліофілізату або перед фасуванням у споживчу тару (Bjelošević, Pobirk, Planinšek, & Grabnar, 2020).

Введення стабілізаторів на попередніх етапах (перед осадженням або під час промивання етанолом) є недоцільним, оскільки ці речовини малорозчинні в органічних розчинниках і можуть викликати коагуляцію біополімеру.

Оптимальним є введення стабілізатора вже у висушений порошок з подальшим ретельним перемішуванням до отримання однорідної суміші.

Застосування стабілізаторів після процесу ліофілізації забезпечує стабільність препарату протягом тривалого зберігання без зниження його флокуловальної активності.

5.2. Підбір технологічного обладнання з врахуванням матеріальних потоків по стадіях

Вихідні дані:

1. Об'єм культуральної рідини з однієї ферментації ($V_{кр}$) = 5,7 м³;
2. Концентрація біомаси *S. necator* MF01/pBPP-ccr_{Me}J_{Ac}-emd в культуральній рідині ($C_{біом}$) = 10 г/л (теоретично можливий показник абсолютно сухої біомаси (5% вологості) по глюкозі (в середовищі присутні ще дріжджовий екстракт та пептон, але точну концентрацію по ним порахувати неможливо);
3. Концентрація очищеного біофлокулянту в культуральній рідині ($C_{біофлок}$) = 4,65 г/л;

Теоретична кількість очищеного біофлокулянту, яку можна одержати становить $4,65 \cdot 5700 \approx 26,5$ кг. Кількість втрат з врахуванням усіх стадій припускається на рівні 30%. Розподіл втрат по усім стадіям виділення і очищення наведено в таблиці 5.1.

Таблиця 5.1

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 30 %)	Вийшло	
1	2	3	4	5	6	7
ТП 1 Зберігання культуральної рідини						
1	ТП 1 Зберігання культуральної рідини	Культуральна рідина	5700 л	-	-	Збірник культуральної рідини об'ємом 8 м ³

ТП 2 Відділення біомаси та супернатанту центрифугуванням						
2	ТП 2 Відділення біомаси та супернатанту центрифугуванням	Культуральна рідина	5700 л			До проточної центрифуги продуктивністю 6 м ³ /год
		Біомаса	912 кг (10*5700=57 кг; 57*80/5=912 кг)	-	912 кг	Біомаса на знешкодження
		Супернатант	4788 л 5% (5700-912=4788 л)	5%	4548,6 л	До збірника об'ємом 5 м ³
ТП 3 Концентрування супернатанту ультрафільтрацією						
3	ТП 3 Концентрування супернатанту ультрафільтрацією	Супернатант	4548,6 л			До ультрафільтраційної установки з продуктивністю 5 м ³ /год
		Концентрат (в 3 рази)	1516,2 л	5%	≈1440,4 л	До збірника об'ємом 8 м ³
ТП 4 Осадження біофлокулянту етанолом						
4	ТП 4 Осадження біофлокулянту етанолом	Концентрат	1440,4 л			В збірнику об'ємом 8 м ³
		Етанол 96-%	4320 л			
		Суспензія з осадженим біофлокулянтом	-	-	5761,6 л	До проточної центрифуги продуктивністю 3 м ³ /год
ТП 5 Відокремлення осаду біофлокулянту центрифугуванням						
5	ТП 5 Відокремлення осаду біофлокулянту центрифугуванням	Суспензія з осадженим біофлокулянтом	5761,6 л	-	-	Проточна центрифуга продуктивністю 3 м ³
		Відпрацьована етанольна суспензія	4320 л	-	4320 л	На регенерація
		Осад біофлокулянту	260,95 кг	10%	≈234,9 кг	До збірника об'ємом 1 м ³

ТП 6 Конвективне сушіння очищеного біофлокулянту						
8	ТП 6 Ліофільне сушіння очищеного біофлокулянту	Промитий осад біофлокулянту	234,9 кг	-	-	В конвективній сушарці об'ємом заповнення 300 л
		Сухий осад біофлокулянту	29,44 кг	10%	26,5 кг	До металевієї перевізної ємності об'ємом 30 л

5.3. Специфікація обладнання

Таблиця 5.2.

Специфікація обладнання для виробництва субстанції біофлокулянту

Позиція	Найменування	Кількість	Технічна характеристика
Д-8	Об'ємно-ваговий дозатор	5	Дозатор рідинний Trinitі UPK-L72. Продуктивність – 72 л/хв. Габарити (мм): 500x450x450 ¹
Н-9	Насос перистальтичний	1	Перистальтичний насос FLUIMAC HELIOS AS 25 FX. Продуктивність 1344 л/год ²
З-1 З-7	Збірник об'ємом 8 м ³	1	Реактор Hinke Tankbau GmbH (DE). Об'єм 8000 л. Нержавіюча сталь. Швидкість мішалки 101 об/хв. Габарити (мм): 2000x2500 ³
Н-2 Н-5	Насос відцентровий	1	Насос відцентровий NOWA CPM(p) 850-27100. Продуктивність – 6000 л/год. Робочий тиск 2,7 бар ⁴
ПЦ-3	Проточна центрифуга	1	Проточна центрифуга GQ150. Продуктивність 3000 л/год. Швидкість обертів ротора 14000 об/хв. Габарити (мм): 900x550x1600 ⁵
З-4	Збірник об'ємом 5 м ³	1	Реактор BLS-FYF 5000. Об'єм 5000 л. Нержавіюча сталь. Швидкість мішалки до 2800 об/хв. Габарити (мм): 1810x2000 ⁶
УФ-6	Ультрафільтраційна установка	1	Ультрафільтраційна установка BTS-MF5000. Продуктивність 5000 л/год. Габарити (мм): 2500x1300x2600 ⁷
ПЦ-10	Проточна центрифуга	1	Проточна центрифуга GF125. Продуктивність 2000 л/год. Швидкість обертів ротора 15000 об/хв. Габарити (мм): 900x550x1600 ⁵

C-11	Конвективна сушарка	1	Ліофільна шафа FD-300. Об'єм завантаження до 300 кг. Габарити (мм): 4900x2100x2600 ⁸
------	---------------------	---	---

Примітка: 1 - <https://prom.ua/ua/p2772536715-dozator-dlya-razliva.html>, 2 - https://prom-nasos.com.ua/ua/catalog/pumps-by-type/peristaltic_pumps/peristaltichniy-nasos-helios-as-25-fx-1344/?srsltid=AfmBOozUqciWEWTda1_mHwlf8Y6ZwMmX0errdPmT5NmlqWFjHu1tY_q, 10 - <https://www.foeth.com/ru/reaktory/reaktory-iz-nerzhaveyushhej-stali/hinke-8000-ltr-reaktor-iz-nerzhavejuschej-stali-345s764/>, 3 - <https://www.motoblok.biz/ua/catalog/14177/nasosi-ta-stantsii-nowa/51729/nasos-vidtsentrovij-nowa-cpmp-850-27100.html>, 4 - https://www.alibaba.com/product-detail/GQ105-Tubular-Centrifuge-XIANG-Speed-Industrial_1601374906155.html?spm=a2700.7724857.0.0.1eb75be24jCP4h, 5 - https://www.alibaba.com/product-detail/5000-Liter-Stainless-Steel-Jacketed-Chemical_60366202935.html, 6 - <https://prom-nasos.pro/ua/catalog/filtration-plants-cleaning-stations-filter-presses/filtration-plants/ultrafiltration-microfiltration/ustanovka-z-keram-chno-membranoyu-m-krof-ltrac-dlya-virobnictva-b-logo-vina/>, 7 - https://kemolo.com/products/industrial-freeze-dryer?gad_source=1&gad_campaignid=21447535426&gbraid=0AAAAADSRTThICIFp5jmmgc7D_WRMET IJA1&gclid=CjwKCAiA_dDIBhB6EiwAvzc1cI2tzZbmTs4G3gOZ_ccAla1c9x4_bIJFv2h2yv_Ofv05hh4hlZvZlBoCwdUQAvD_BwE

РОЗДІЛ 6

ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ВИДІЛЕННЯ ТА ОЧИЩЕННЯ БІОФЛОКУЛЯНТУ

ТП 1. Зберігання культуральної рідини

Культуральну рідину зберігають при 4 ± 1 °С в збірнику (З-1) до початку стадії виділення та очищення. Далі, рідина подається до ТП 3 за допомогою відцентрового насоса (Н-2)

ТП 2. Відділення біомаси та супернатанту центрифугуванням

Культуральна рідина з минулої стадії подається до проточної центрифуги (ПЦ-3) з холодильною камерою. Встановлюється режим центрифугування 12000 об/хв, 4 ± 1 °С, тривалість 2 години. Біомаса вивантажується вручну та передається на знешкодження, а супернатант відцентровими силами переноситься до збірника (З-4).

ТП 3. Концентрування супернатанту ультрафільтрацією

Супернатант від попередньої стадії надходить на ультрафільтраційну установку (УФ-6) за допомогою відцентрового насоса (Н-5). Супернатант проходить крізь керамічні фільтри протягом 5 годин для зменшення об'єму в 10 разів. Одержаний концентрат подається до збірника (З-7).

ТП 4. Осадження біофлокулянту етанолом

За допомогою об'ємно-вагового дозатора (Д-8) до збірника (З-7) подається 4320 л 96-% етанолу. Вмикається мішалка на швидкості 150 об/хв протягом 30 хвилин. При цьому, до сорочки подається холодна вода для створення зниженої температури (на рівні 10 °С). Тривалість осадження – 12 годин. Перед подачею суспензії, знову вмикається мішалка на 5 хвилин для легшої передачі на наступну стадію.

ТП 5. Відокремлення осаду біофлокулянту центрифугуванням

За допомогою перистальтичного насоса (Н-9) суспензія передається до

					<i>НУХТ БТЕК 02.01.03 КР ПЗ</i>			
<i>Змн.</i>	<i>Лист</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>				
<i>Розроб.</i>		<i>Короленко Б.В.</i>			<i>РОЗДІЛ 6 ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ВИДІЛЕННЯ ТА ОЧИЩЕННЯ БІОФЛОКУЛЯНТУ</i>	<i>Лім.</i>	<i>Арк.</i>	<i>Аркушів</i>
<i>Перевір.</i>		<i>Стабніков В.П.</i>					67	105
<i>Реценз.</i>						<i>Кафедра БТМ</i>		
<i>Н. Контр.</i>								
<i>Затверд.</i>		<i>Стабніков В.П.</i>						

проточної центрифуги (ПЦ-10). Встановлюється режим центрифугування 10000 об/хв, 4 ± 1 °С, тривалість 1 година. Супернатант відцентровими силами направляється на регенерацію, оскільки більша його частина - етанол, а одержаний відцентрований осад розподіляють по лоткам.

ТП 6. Конвективне сушіння очищеного біофлокулянту

Очищений біофлокулянт в лотках ставлять сушитись в конвективну сушарку (С-11). Температура заморожування становить +50 °С. Тривалість сушіння – 24 години. Після цього одержуються пластини біофлокулянту, який розбивають вручну та переносять до перевізної металевої ємності об'ємом 30 л. Ємність закривається кришкою та направляється на збереження як субстанція.

РОЗДІЛ 7
ТЕХНОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ОТРИМАННЯ
БІОФЛОКУЛЯНТУ

7.1. Обґрунтування вибору товарної форми випуску біофлокулянту

Вибір товарної форми є одним із ключових етапів розроблення технології одержання біофлокулянтів, оскільки фізичний стан готової субстанції визначає її стабільність, безпечність зберігання, транспортабельність та ефективність подальшого застосування. У контексті одержання флоків мікробіодоростей для виробництва біодизелю висуваються додаткові вимоги, пов'язані з необхідністю взаємодії з широким спектром суспендованих частинок, включно з клітинами та фрагментами водоростей, пігментно-білковими комплексами та залишками ліпідних фаз. З огляду на це, оптимальною визначено суху порошкову форму біофлокулянту, яка забезпечує збереження активності макромолекул та придатність препарату до тривалого промислового використання.

Суха субстанція демонструє значно вищу фізико-хімічну стабільність порівняно з рідкими формами, оскільки переведення біополімеру у твердий стан мінімізує швидкість гідролітичних та окиснювальних процесів. У рідкому середовищі біофлокулянти, що є комплексами полісахаридів та білкових компонентів, швидко піддаються структуральним змінам, що знижує їх флокулятивну активність. Вміст залишкової вологи на рівні $\leq 10\%$, досягнутий шляхом конвективного сушіння, забезпечує достатнє уповільнення деградаційних процесів, що критично важливо для збереження функціональних груп, відповідальних за адсорбцію та комплексоутворення з частинками мікробіодоростей (Nwodo, & Okoh, 2013;).

Порошкова форма також вирізняється зручністю транспортування та тривалого зберігання, оскільки не потребує охолодження, спеціальної стерильності або герметичних резервуарів для рідких форм. За промислових

					<i>НУХТ БТЕК 02.01.03 КР ПЗ</i>							
<i>Змн.</i>	<i>Лист</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>	РОЗДІЛ 7 ТЕХНОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ОТРИМАННЯ БІОФЛОКУЛЯНТУ			<i>Лім.</i>	<i>Арк.</i>	<i>Аркушів</i>		
<i>Розроб.</i>		<i>Короленко Б.В.</i>								69	105	
<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>										

умов зберігання (склади, логістичні центри) сухий біофлокулянт проявляє значно нижчу чутливість до контамінації, що додатково підвищує його біобезпеку та економічну доцільність. Важливим є і те, що порошкова форма дозволяє відтворювати робочі розчини будь-якої необхідної концентрації, що підвищує гнучкість технологічних режимів у різних схемах очищення водоростевих стоків.

Окремого обґрунтування потребує введення стабілізаторів до складу сухого біофлокулянту. Біополімери мікробного походження схильні до змін аморфної структури, внутрішньої рекристалізації та втрати функціональних властивостей під час зберігання (Sharma et al., 2024). Введення низькомолекулярних стабілізаторів, таких як трегалоза, мальтоза або маніт, забезпечує фіксацію тривимірної структури біополімерної матриці та підтримання передбачуваних реологічних властивостей після розчинення (Parkins, & Lashmar, 2000). Трегалоза та інші дисахариди здатні заміщувати молекули води в активних центрах макромолекули, утворюючи стабільну водневозв'язану матрицю, яка запобігає колапсу полісахаридних ланцюгів (Ricker et al., 2003). Поліоли, такі як маніт та сорбіт, виконують функцію антиоксидантів і знижують чутливість препарату до коливань вологості, що є критично важливим у разі зберігання в нерегульованих умовах (Juvonen et al., 2021; Lang et al., 2020).

Раціональний вибір системи пакування є важливим елементом технології отримання біофлокулянтів, оскільки саме умови зберігання та тип тари визначають стабільність сухої субстанції, збереження її функціональних властивостей та можливість безпечного транспортування. Порошкова форма біофлокулянту, що містить високомолекулярні полісахаридні та білкові компоненти, є чутливою до підвищеної вологості, коливань температури та впливу кисню, тому потребує пакування, здатного забезпечити захист від факторів довкілля протягом усього терміну зберігання.

З огляду на фізико-хімічні властивості субстанції оптимальною визначено герметичну полімерну тару з бар'єрними властивостями, зокрема багат шарові пакети на основі поліетилену високої густини або комбінованих полімерних мембран із вологонепроникним шаром. Таке пакування мінімізує проникнення водяної пари і запобігає повторній гідратації порошку, що є критичним для підтримання стабільності структури біополімерів (Eissenberger et al., 2023). Низька газопроникність бар'єрних матеріалів також зменшує вплив кисню, обмежуючи можливі окиснювальні процеси, які здатні порушувати активні центри біофлюкулянту (Mnif, & Ben Rebah, 2023).

Перевагою полімерних пакетів є їхня механічна стійкість, мала маса та універсальність при транспортуванні, що є важливим для великотоннажних поставок препарату у промислових умовах. На відміну від жорстких контейнерів, гнучке пакування дозволяє зменшити об'єм при транспортуванні та оптимізувати використання складських площ. Воно також не взаємодіє із сухою субстанцією, не спричиняє адсорбції активних компонентів на стінках і не вимагає додаткових внутрішніх покриттів (Lv et al., 2025).

Вибір герметичного пакування обґрунтовується і мікробіологічними аспектами. Незважаючи на значну стійкість сухої форми до контамінації, захист від випадкового потрапляння вологи є необхідним для попередження розвитку умовно-патогенної мікрофлори, здатної активізуватися при локальному зволоженні продукту. Тому пакування з термозварюваними швами забезпечує додатковий бар'єр проти випадкового доступу повітря та мікроорганізмів (<https://entrepouch.com/blog/post/everything-you-need-to-know-about-ziplock-packaging-sizes-uses-and-advantages>).

У промислових умовах застосування доцільним є фасування препарату у мішки або пакети масою 1–20 кг залежно від потреб підприємства. Такий формат забезпечує зручність використання, можливість одноразового внесення дози без порушення герметичності інших одиниць продукції, а також зменшує

технологічні ризики, пов'язані з несанкціонованим відкриттям великих контейнерів.



Рис. 7.1. Приклад пакування біофлокулянту (зображення згенеровано на сайті <https://chatgpt.com/>)

Готова субстанція біофлокулянту, отримана після процесів осадження та сушіння, надходить на подальшу обробку у вигляді грубо подрібненої маси з нерівномірним гранулометричним складом. Такий стан продукту обмежує його однорідність, ускладнює точне дозування та може призводити до нерівномірного розчинення при використанні у промислових технологічних схемах. Тому для формування стабільного, легко дозованого порошкового препарату проводять комплекс технологічних операцій, що включає подрібнення, просіювання, стабілізацію та пакування.

На першому етапі субстанцію піддають механічному подрібненню, що дозволяє розділити великі агрегати і одержати матеріал з дрібною, однорідною структурою. Використовують дробарки або млинки з контрольованим режимом обертання, що запобігає перегріванню та руйнуванню макромолекул. Подрібнення проводять до досягнення середнього розміру часток, оптимального для подальшого просіювання і забезпечення стабільної флокулятивної активності.

Після механічного подрібнення проводять просіювання через сита з визначеною величиною осередків, що дозволяє відокремити надто дрібні

частинки, пил та залишки великих агрегатів. Цей етап забезпечує однорідність порошку, запобігає злипанню часток та полегшує дозування препарату під час його використання у стоках водоростевого біодизельного виробництва.

Наступним етапом є додавання стабілізаторів (трегалоза, мальтоза, маніт) у кількості 2–10 % від маси субстанції (передбачаємо додавання 5%). Стабілізатори виконують роль фізико-хімічного захисту макромолекул, запобігаючи внутрішній рекристалізації полісахаридів, деградації білкових компонентів та частковому злипанню часток при тривалому зберіганні. Рівномірне змішування проводять у спеціальних барабанних або лопаткових змішувачах, що забезпечують однорідне розподілення стабілізатора по всій масі порошку.

Після стабілізації субстанцію направляють на пакування у герметичні багатошарові полімерні пакети, що забезпечують захист від вологи, кисню та сторонніх домішок. Ця технологія дозволяє одержати готовий до застосування порошковий біофлокулянт з високою флокулятивною активністю, стабільною гранулометриєю і придатністю для тривалого зберігання та транспортування.

7.2. Специфікація обладнання

Таблиця 7.1.

Специфікація обладнання на виробництво препарату на основі біофлокулянту

Позиція	Найменування	Кількість	Технічна характеристика
1	2	3	4
Д-1	Ваговий дозатор	1	Ваговий дозатор ДВС-301-50-2. Дозування до 50 кг. Клас точності від 0,2. Продуктивність від 200 доз/год. Габарити (мм): 805x615x610 ¹
П-2	Подрібнювач	1	Електроподрібнювач (модель не вказано). Габарити (мм): 640x500x1200. Розміри завантажувального бункера 1000x500 мм до 45 кг ²
ПВ-3	Промислове вібросито	1	Вібросито (модель не вказано). Продуктивність 300 кг/год. Габарити (мм): 1100x800x1000 ³

ЗМ-4	Змішувач	1	Змішувач V-подібний. Об'єм завантаження 35 л. Частота обертів в діапазоні від 0 до 60 об/хв. Габарити (мм): 1560x995x1450 ⁴
ФА-5	Фасувальний апарат	1	Фасувальний апарат SF8-300. Продуктивність до 20 пакетів/хв. Габарити не наведено ⁵
ЕА-6	Етикувальний апарат	1	Етикувальний апарат UDPM-A. Продуктивність до 20 пакетів/хв. Габарити (мм): 2200x800x1500 ⁶

Примітка: 1 - <https://sweda.com.ua/produktsiya/dozator-dlia-legko-sypuchikh-tekuchikh-materialov/>, 2 - https://casta-vinodelov.com.ua/catalog/drobilki_s_bunkerom_iz_nerzh_stali/8379/?gad_source=1&gad_campaignid=11869646077&gbraid=0AAAAADgmsOyynyA_0fCwc3cdpB_BR-emF&gclid=Cj0KCQiAi9rJBhCYARIsALyPDttwPoo05_GXx7l3r2vrBeGxoDi_qDWEwc7L2a9A0cpl3EjN_XyzX5n0aAlzTEALw_wcB, 3 - https://alter-energo.com.ua/ru/oborudovanie_dlja_biznesa/stroitelnoe_oborudovanie/vibracionnoe_oborudovanie/vibrosito/vibrosito_do_300_kg_chas.html, 4 - <https://energoprom.in.ua/ua/p1151408587-zmishuvach-podibnij-litriv.html>, 5 - https://www.samfull.net/automatic-powder-packing-machine/powder-pouch-packing-machine.html? gl=1*1j4v1ch* up*MQ.* gs*MQ..&gclid=Cj0KCQiAi9rJBhCYARIsALyPDtubPY5k7Wy1li7uxA7Sle9w4CMBcMf7fA2dTA2U1BRT6cEU-ltE_G4aAmXIEALw_wcB&gbraid=0AAAAACeR6rlpJVoB4pV0PtEp_qr4mCW98, 6 - https://www.skilmachine.com/shop/bags-top-amp-bottom-labeler? gl=1*s9qd6g* up*MQ.* gs*MQ..&gclid=Cj0KCQiAi9rJBhCYARIsALyPDtu2Ykx8xJyG8m0hT-qP3K46TiEFhQMuPUBefrcZu3FuBHwD29FIPbIaAu_CEALw_wcB&gbraid=0AAAAACMNEQrGzQgKM1veDAIIL16be3cw9

7.3. Опис технологічного процесу

ТП 1. Подрібнення біофлокулянту

Біофлокулянт зважують на ваговому дозаторі (Д-1) у кількості 26,5 кг. Грубо подрібнений флокулянт вносять в подрібнювач (П-2) для досягнення фракції в 0,25 мм. Тривалість операції – 15 хв. Порошок пересипають в металеву переносну ємність об'ємом 30 л та передають на наступну стадію.

ТП 2. Просіювання порошку біофлокулянту

Одержаний порошок з минулої стадії всипають на промислове вібросито (ПВ-3), де діаметр пор сітки становить 0,25 мм. Флокулянт просіюється протягом 10 хв. Просіяний порошок пересипають в металеву переносну ємність об'ємом 30 л та передають на наступну стадію. Грубу фракцію, що залишилась на ситі передають назад на подрібнення і потім знову просіюють.

ТП 3. Додавання манітолу як стабілізатору

На технічних вагах зважують 1,4 кг манітолу. Стабілізатор всипають до V-подібно змішувача (ЗМ-4). Туди ж всипають просіяний порошок біофлокулянту з минулої стадії. Встановлюється швидкість перемішування – 20 об/хв. Тривалість процесу – 20 хвилин. Одержану суміш пересипають в металеву переносну ємність об'ємом 30 л та передають на наступну стадію.

ПМФ 4. Пакування, маркування та фасування готового препарату

ПМФ 4.1. Фасування біофлокулянту по герметичним поліетиленовим пакетам

Порошок завантажують до бункера фасувального апарату (ФА-5). Автоматизована система дозує по $1 \pm 0,01$ кг готової суміші по поліетиленовим пакетам з зіп застіркою. Далі, машина закриває зіп та конвеєром передає одержані пакети на наступну стадію. Кількість готового препарату становить 28 пакетів.

ПМФ 4.2. Етикування пакетів з готовим препаратом

Одержані пакети маркуються на етикувальному апараті (ЕА-6). Наноситься етикетка, яка містить назву препарату, його склад, інструкцію до застосування, номер серії та термін придатності. Готові пакети складуються в поліетиленовий ящик. Кількість промаркованих пакетів становить 28.

ПМФ 4.3. Групове пакування готової продукції

Готовий препарат вручну запаковується в картонні гофровані коробки в кількості 10 штук. Відповідальний переносить по 10 пакетів у кожну коробку, заклеює її скотчем, наносить маркувальну етикетку, з назвою препарату, серією та датою виробництва. Готові коробки в кількості 3 штук переносять на склад на зберігання.

РОЗДІЛ 8

КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА

8.1. Контроль виробництва субстанції біофлокулянту

Оцінку якості отриманої субстанції біофлокулянту проводять за комплексом фізико-хімічних і функціональних показників, що забезпечують стабільність, чистоту та ефективність препарату.

1. Зовнішній вигляд

Визначають візуально при денному освітленні. Готовий продукт повинен являти собою однорідний порошок без грудок, білого або кремового кольору, без сторонніх включень та запаху.

2. Вологість

Визначають гравіметричним методом висушування наважки до постійної маси при температурі $(105 \pm 2) ^\circ\text{C}$ згідно з вимогами ДСТУ EN ISO 18134-1:2022 (https://online.budstandart.com/ua/catalog/doc-page.html?id_doc=115878).

Допустиме значення — не більше 10 %.



Рис.8.1. Аналізатор вологості

(<https://technowagy.com.ua/products/analizator-vlazhnosti-ma-r/>)

					<i>НУХТ БТЕК 02.01.03 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>Архивів</i>
<i>Розроб.</i>		<i>Короленко Б.В.</i>					76	105
<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>						

3. Зольність

Визначають методом прожарювання проби у фарфоровому тиглі до сталої маси при температурі (550 ± 25) °C згідно з ДСТУ ISO 2171:2010 (https://online.budstandart.com/ua/catalog/doc-page?id_doc=84540).

Допустиме значення — не більше 15 %.



Рис. 8.2. Муфельна піч для визначення зольності

(https://apk.hlr.ua/obektyi-isledovaniya/muka/pokazateli-kachestva/zolnost/?utm_source=google&utm_medium=cpc&utm_campaign=Zolnost/Muka/Poisk&utm_term=%D0%B7%D0%BE%D0%BB%D1%8C%D0%BD%D1%96%D1%81%D1%82%D1%8C&gad_source=1&gad_campaignid=22047542110&g_braid=0AAAAACwuh9IwLO0UpoxWFVSw496h-MOp&gclid=CjwKCAiAoNbIBhB5EiwAZFbYGP5Q-G-GXDf2JVfghuRXhLh3w9K70UOh6-bPO5YeM9qrD5M832QicBoCgwEQAvD_BwE)

kachestva/zolnost/?utm_source=google&utm_medium=cpc&utm_campaign=Zolnost/Muka/Poisk&utm_term=%D0%B7%D0%BE%D0%BB%D1%8C%D0%BD%D1%96%D1%81%D1%82%D1%8C&gad_source=1&gad_campaignid=22047542110&g

braid=0AAAAACwuh9IwLO0UpoxWFVSw496h-

MOp&gclid=CjwKCAiAoNbIBhB5EiwAZFbYGP5Q-G-

GXDf2JVfghuRXhLh3w9K70UOh6-

bPO5YeM9qrD5M832QicBoCgwEQAvD_BwE)

4. рН 1%-го водного розчину

Готують 1 %-й водний розчин біофлокулянту у дистильованій воді, перемішують до повного розчинення та вимірюють рН потенціометричним

методом із використанням каліброваного рН-метра відповідно до ДСТУ 4077-2001 (https://online.budstandart.com/ua/catalog/doc-page.html?id_doc=52791).

Норма — у межах 6,0–7,5.

5. Біофлокулювальна активність

Оцінюють за стандартною каоліною суспензією (1 г/л каоліну у дистильованій воді). До 100 мл суспензії додають визначену кількість біофлокулянту, перемішують 1 хв, витримують 5 хв і вимірюють оптичну густину верхнього шару при довжині хвилі 550 нм (спектрофотометр). Активність (%) розраховують за формулою (Ambarsari, Artika, & Susanti, 2011):

$$A = \left(1 - \frac{OD_{\text{зразка}}}{OD_{\text{контролю}}}\right) \times 100$$

де OD — оптична густина розчину.

Нормативне значення — не менше 90 %.

Біофлокулятивну активність щодо мікрободоростей визначали за зміною оптичної густини культуральної рідини після додавання очищеного біофлокулянту. Культуру *Chlorella minutissima* вирощували у стандартному поживному середовищі (Гліцерин — 67,5 г/л, Казеїн (гідролізат казеїну) — 26,1 г/л, Екстракт дріжджовий — 0,1 г/л, Калій дигідрофосфат (KН₂PO₄) — 0,1 г/л, Натрій гідрофосфат (Na₂HPO₄), Кальцій хлорид дигідрат (CaCl₂·2H₂O) — 0,013 г/л, Залізо-натрієвий комплекс EDTA (FeNaEDTA) — 0,01 г/л, Магній сульфат гептагідрат (MgSO₄·7H₂O) — 0,025 г/л — 0,03 г/л, Алюміній сульфат октадециводний (Al₂(SO₄)₃·18H₂O) — 3,58 мг/л, Манган(II) хлорид тетраводний (MnCl₂·4H₂O) — 12,98 мг/л, Купрум(II) сульфат пентагідрат (CuSO₄·5H₂O) — 1,83 мг/л, Цинк сульфат гептагідрат (ZnSO₄·7H₂O) — 3,2 мг/л; рН 7.0) при 25 °С та фотоперіоді 14/10 год протягом двох тижнів. До отриманої суспензії вносили розчин біофлокулянту MBF-C9 з кінцевою концентрацією від 8 мг/л, перемішували протягом 2 хв і залишали осаджуватися 10 хв.

Після відстоювання відбирали пробу надосадової рідини і вимірювали її оптичну густину при 675 нм (OD₆₇₅), що відповідає піку поглинання хлорофілу

та є індикатором залишкової кількості клітин *C. minutissima* у суспензії. Контрольну пробу готували за аналогічних умов, але без додавання біофлокулянту.

$$\Phi A = \left(\frac{A - B}{A} \right) \times 100$$

де

A — оптична густина контрольної суспензії (без біофлокулянту),

B — оптична густина надосадової рідини після обробки біофлокулянтом.

Отриманий показник характеризує ефективність осадження мікроводоростей під дією біофлокулянту та використовується як кількісна міра його флокулювальної активності.

Активність має становити не менше 80%.

б. Стабільність при зберіганні

Визначають періодично шляхом повторного випробування біофлокулювальної активності після зберігання зразка протягом 6 місяців при температурі (25 ± 2) °C і відносній вологості не більше 60 %. Допускається зниження активності не більше ніж на 15 % від початкового рівня.

8.2. Методи контролю препарату на основі біофлокулянту

Контроль якості порошкового біофлокулянту здійснюють за фізико-хімічними, мікробіологічними та технологічними показниками, що характеризують його стабільність, чистоту та флокулятивну активність. Кожен метод спрямований на підтвердження відтворюваності властивостей препарату, необхідних для застосування у процесах концентрування мікроводоростей у виробництві біодизелю.

1. Визначення органолептичних показників

Мета: оцінити однорідність, колір і відсутність сторонніх включень.

Методика виконання:

Пробу препарату масою 10 г оглядають на білому контрастному тлі при розсіяному денному світлі. Оцінюють:

- колір (характерний кремовий, світло-бежевий або білий),
- однорідність (відсутність агломератів >2 мм),
- відсутність сторонніх частинок, темних включень, механічних домішок.

Критерій приймання: препарат однорідний, без видимих домішок і з характерним кольором.

2. Визначення вологості препарату

Мета: підтвердити стабільність при зберіганні та відсутність ризику мікробного псування.

Методика (<https://technotest.com.ua/sushilnyy-shkaf-mo-212-etalonnoe-opredelenie-vlazhnosti-zerna-po-dstu-uk.html>):

Відважують $2,000 \pm 0,005$ г порошку. Сушать у сушильній шафі при 105 °С протягом 3 год. Охолоджують у ексікаторі 30 хв і знову зважують.

Обчислюють масову частку вологи:

де m_1 — маса до сушіння, m_2 — після.

Критерій: ≤ 10 %.

3. Визначення рН водної витяжки

(https://online.budstandart.com/ua/catalog/doc-page.html?id_doc=77922)

Мета: перевірити стабільність та відповідність умовам застосування у водоростевих суспензіях.

Методика:

Розчинити 1 г препарату у 100 мл дистильованої води. Перемішати 10 хв на магнітній мішалці. Виміряти рН за допомогою каліброваного рН-метра.

Критерій: 6,0–8,0.

4. Визначення гранулометричного складу

(https://online.budstandart.com/ua/catalog/doc-page?id_doc=95596)

Мета: забезпечити рівномірне дозування та відтворювану швидкість розчинення.

Методика:

Використати стандартні ситові фракції: 500 мкм, 250 мкм, 100 мкм. Через набір сит пропускають 20 г порошку. Вимірюють масу фракцій на кожному ситі.

Критерій приймання: ≥ 85 % частинок повинні бути ≥ 250 мкм.

5. Визначення флокулятивної активності

Мета: перевірити функціональну здатність препарату утворювати флоки мікробіодоростей.

Методика:

Метод адаптовано для *Chlorella vulgaris* або іншого стандартного тест-штаму. Приготувати стандартну водоростеву суспензію з оптичною щільністю $OD_{680} = 1,0$. В епруветках змішують 45 мл суспензії та 5 мл розчину біофлокулянту (0,1 %). Перемішують 1 хв, залишають на 30 хв при 25 °С. Обережно відбирають 3 мл надосаду та вимірюють OD_{680} . Розрахунок флокулятивної активності:

Критерій: ≥ 80 %.

6. Визначення розчинності

Мета: оцінити час повного переходу у розчин, важливий для приготування робочих розчинів.

Методика:

1 г препарату додають у 100 мл води (25 °С). Встановлюють магнітне перемішування 300 об/хв. Фіксують час повного зникнення видимих частинок.

Критерій: ≤ 5 хв.

7. Мікробіологічна чистота

Мета: гарантувати відсутність життєздатних контамінантів після сушіння.

Методика:

1 г препарату суспендують у 9 мл стерильного фізіологічного розчину. Роблять серійні розведення 10^{-1} – 10^{-6} .

Засівають на:

МПА (аеробні бактерії),

Сабуро (дріжджі, плісняві гриби).

Інкубують:

30 °С – 48 год (бактерії),

28 °С – 72 год (гриби).

Критерій: КМАФАнМ $\leq 10^3$ КУО/г; відсутність патогенних мікроорганізмів.

8. Визначення масової частки стабілізатора (манітолу, 5 %)

Мета: підтвердити правильне дозування стабілізатора.

Методика:

Визначення проводять методом ВЕРХ (HPLC) з використанням амінного або карбогідратного детектора. Пробу препарату розчиняють у воді, фільтрують через 0,22 мкм і аналізують за калібрувальним графіком стандартизованого манітолу (Cui et al., 2023; Ratiu et al., 2019).

Норма: $5,0 \pm 0,5$ %.

Таблиця 8.1.

Параметри контролю готового препарату

Показник	Метод	Норма
Органолептика	Візуальна оцінка	Однорідний порошок, без домішок
Вологість	Сушіння при 105 °С	≤ 10 %
рН 1% витяжки	рН-метрія	6,0–8,0
Гранулометричний склад	Ситовий аналіз	≥ 85 % <250 мкм
Флокулятивна активність	Зниження OD ₆₈₀	≥ 80 %
Розчинність	Час повного розчинення	≤ 5 хв
Мікробіологічна чистота	Висіви на МПА, Сабуро	КМАФАнМ $\leq 10^3$ КУО/г
Вміст стабілізатора (манітолу)	ВЕРХ	$5,0 \pm 0,5$ %

РОЗДІЛ 9

ПРОЄКТ ЗАЯВКИ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ БІОФЛОКУЛЯНТУ

Назва: «Спосіб виділення та очищення субстанції мікробного біофлокулянту для флокуляції мікробних водоростей у виробництві біодизелю»

9.1. Галузь і застосування корисної моделі

Корисна модель належить до промислової біотехнології, зокрема до технологій одержання допоміжних біопрепаратів для мікробного виробництва біодизелю. Вона стосується способу отримання очищеної субстанції мікробного біофлокулянту, призначеного для ініціювання агрегації й осадження клітин мікробних водоростей у культуральних суспензіях. Такий біофлокулянт застосовують на стадії концентрування клітин перед екстракцією ліпідів, що значно знижує енерговитрати і полегшує відокремлення біомаси.

Біофлокулянт використовується для:

- інтенсивного укрупнення клітин *Chlorella*, *Scenedesmus*, *Nannochloropsis* та інших видів мікробних водоростей;
- формування стійких флоків, придатних для гравітаційного або низькошвидкісного центрифугування;
- скорочення енергоспоживання при зневодненні водоростей у схемі виробництва біодизелю.

9.2. Відомі аналоги та їх основні недоліки

Відомі способи виділення мікробних біофлокулянтів передбачають органічне осадження з наступним ліофільним сушінням (Liu et al., 2015). Їх недоліками є:

- висока енергоємність ліофілізації та складність масштабування;
- часткове руйнування активних компонентів, особливо білково-полісахаридних комплексів;
- низька відтворюваність флокулятивної активності через домішки

					<i>НУХТ БТЕК 02.01.03 КР ПЗ</i>			
<i>Змн.</i>	<i>Лист</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>				
<i>Розроб.</i>		<i>Короленко Б.В.</i>			<i>РОЗДІЛ 9</i> <i>ПРОЄКТ ЗАЯВКИ НА</i> <i>КОРИСНУ МОДЕЛЬ</i> <i>БІОФЛОКУЛЯНТУ</i>	<i>Лім.</i>	<i>Арк.</i>	<i>Аркушів</i>
<i>Перевір.</i>		<i>Стабніков В.П.</i>					83	105
<i>Реценз.</i>						<i>Кафедра БТМ</i>		
<i>Н. Контр.</i>								
<i>Затверд.</i>		<i>Стабніков В.П.</i>						

низькомолекулярних компонентів;

- невідповідність специфічним вимогам водоростевих суспензій, де присутні пігменти, полісахариди та поверхнево-активні речовини, які знижують ефективність флокуляції.

Жоден із відомих способів не розроблений спеціально для отримання біофлокулянту, адаптованого до застосування в технологічних схемах концентрування мікродоростей.

9.3. Постановка задачі корисної моделі та її вирішення

Метою є створення способу, який дозволяє отримати стабільну суху субстанцію мікробного біофлокулянту зі збереженням ≥ 90 % флокулятивної активності, придатну для агрегації клітин мікродоростей та формування міцних флоків на етапі підготовки біомаси до екстракції ліпідів.

Поставлена задача вирішується впровадженням послідовності технологічних операцій: контрольованого охолодженого центрифугування, ультрафільтраційного згущення для видалення низькомолекулярних домішок, холодного етанольного осадження та конвективного сушіння, що дозволяє зберегти активні структурні компоненти біофлокулянту.

9.4. Опис запропонованого способу

Культуральну рідину після ферментації охолоджують до 4 ± 1 °С. Біомасу продуцента відокремлюють шляхом проточного центрифугування при 12 000 об/хв протягом 2 год при температурі 4 °С. Супернатант, що містить розчинений біофлокулянт, відбирають.

Супернатант піддають ультрафільтрації через керамічні мембрани з розміром пор 0,22 мкм при робочому тиску 1,5–2,0 бар до триразового зменшення об'єму. Мембранне згущення дозволяє усунути низькомолекулярні компоненти, які негативно впливають на флокулятивну активність.

Осадження біофлокулянту здійснюють додаванням трьох об'ємів охолодженого 96-% етанолу при 10 ± 2 °С, з подальшим перемішуванням

протягом 30 хв і витримуванням 12 год. Випавший осад центрифугують при 10 000 об/хв протягом 1 год і промивають 75-% етанолом.

Сушіння проводять конвективним методом при 50 ± 5 °C у тонкому шарі 5–10 мм до досягнення залишкової вологості ≤ 10 %. Висушену субстанцію за потреби стабілізують додаванням 5 % трегалози, мальтози або маніту. Після цього продукт подрібнюють, просівають та фасують у герметичні полімерні пакети.

Одержаний біофлокулянт демонструє високу ефективність у флокуляції клітин і фрагментів мікрободоростей, сприяючи швидкому утворенню осаду та спрощуючи подальше виділення ліпідної фракції у виробництві біодизелю.

9.5. Формула корисної моделі

Спосіб виділення та очищення субстанції мікробного біофлокулянту, що включає етапи центрифугування культуральної рідини, осадження біополімеру органічним розчинником і його сушіння,

який відрізняється тим, що:

супернатант після центрифугування додатково концентрують методом ультрафільтрації через мембрани 0,22 мкм до триразового зменшення об'єму;

осадження проводять додаванням 96-% етанолу у співвідношенні 1:2,5–3 при температурі 10 ± 2 °C;

промивання осаду здійснюють 75 % етанолом;

сушіння здійснюють конвективним методом при 50 ± 5 °C до вологості ≤ 10 %;

отримана субстанція призначена для флокуляції мікрободоростей з утворенням агрегатів, що полегшують їх відокремлення в технологічних схемах виробництва біодизелю.

9.6. Реферат

Запропоновано спосіб виділення та очищення мікробного біофлокулянту, призначеного для флокуляції мікрободоростей у процесі виробництва біодизелю. Спосіб включає охолоджене проточне центрифугування культуральної рідини,

мембранне згущення супернатанту, холодне осадження 96-% етанолом, промивання та конвективне сушіння. Отримана субстанція зберігає ≥ 90 % флокулятивної активності та забезпечує швидке агрування клітин мікроводоростей, полегшуючи їх відокремлення перед екстракцією ліпідів. Спосіб енергоощадний, відтворюваний та придатний до промислового масштабування.

ВИСНОВКИ

Обґрунтовано актуальність використання біофлокулянтів у виробництві біодизеля, оскільки саме стадія відокремлення мікроводоростей є найбільш енергозатратною в усьому циклі отримання біопалива, а класичні методи (центрифугування, фільтрація, хімічні флокулянти) мають значні технологічні та екологічні обмеження.

Показано переваги мікробних біофлокулянтів порівняно з хімічними агентами: біорозкладність, нетоксичність, відсутність ризику контамінації ліпідної фракції та сумісність із мікроводоростями, що робить їх оптимальними для біоенергетичних технологій.

Розроблено ефективну технологічну схему виділення та очищення біофлокулянту, яка включає: проточне центрифугування культуральної рідини, ультрафільтраційне згущення супернатанту, осадження 96-% етанолом при охолодженні, конвективне сушіння до вологості ≤ 10 %.

Доведено техніко-економічну доцільність впровадження запропонованого процесу, який є енергоощадним, легко масштабованим, базується на доступному обладнанні та реагентах, а також відповідає вимогам екологічної безпеки.

Практична цінність роботи полягає у створенні технологічно обґрунтованого способу одержання біофлокулянту, що може бути інтегрований у промислові лінії виробництва біодизеля для підвищення їх економічної та енергетичної ефективності.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

Abaliwano, J. K., Ghebremichael, K. A., & Amy, G. L. (2008). Application of the purified *Moringa oleifera* coagulant for surface water treatment. *United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization, Institute for Water Education (UNESCOIHE)*, 5.

Abd El-Salam, A. E., Abd-El-Haleem, D., Youssef, A. S., Zaki, S., Abu-Elreesh, G., & El-Assar, S. A. (2017). Isolation, characterization, optimization, immobilization and batch fermentation of bioflocculant produced by *Bacillus aryabhattai* strain PSK1. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 15(2), 335-344. <https://doi.org/10.1016/j.jgeb.2017.07.002>

Abu Tawila, Z. M., Ismail, S., Dadrasnia, A., & Usman, M. M. (2018). Production and characterization of a bioflocculant produced by *Bacillus salmalaya* 139SI-7 and its applications in wastewater treatment. *Molecules*, 23(10), 2689. <https://doi.org/10.3390/molecules23102689>

Abu, Z. M., Ismail, S., Dadrasnia, A., & Usman, M. M. (2018). Production and characterization of a bioflocculant produced by *Bacillus salmalaya* 139SI-7 and its applications in wastewater treatment. *Molecules*, 23(10), 2689. <https://doi.org/10.3390/molecules23102689>

Afolabi, M., Onukogu, O. A., Igunma, T. O., Nwokediegwu, Z. Q. S., & Adeleke, A. K. (2020). Systematic review of coagulation–flocculation kinetics and optimization in municipal water purification units. *IRE J*, 6(10), 1-12.

Agunbiade, M. O., Pohl, C. H., & Ashafa, A. O. (2016). A Review of the Application of Bioflocculants in Wastewater Treatment. *Polish Journal of Environmental Studies*, 25(4). <https://doi.org/10.15244/pjoes/61063>

Agunbiade, M. O., Pohl, C., Heerden, E. V., Oyekola, O., & Ashafa, A. (2019). Evaluation of fresh water actinomycete bioflocculant and its biotechnological applications in wastewaters treatment and removal of heavy metals. *International journal of environmental research and public health*, 16(18), 3337. <https://doi.org/10.3390/ijerph16183337>

Agunbiade, M., Oladipo, B., Ademakinwa, A. N., Awolusi, O., Adesiyun, I. M., Oyekola, O., ... & Ojo, A. (2022). Bioflocculant produced by *Bacillus velezensis* and its potential application in brewery wastewater treatment. *Scientific Reports*, *12*(1), 10945. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-15193-8>

Agunbiade, M., Pohl, C., & Ashafa, O. (2018). Bioflocculant production from *Streptomyces platensis* and its potential for river and waste water treatment. *brazilian journal of microbiology*, *49*(4), 731-741. <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2017.02.013>

Ahmed, G. E., Hassan, G. K., Gomaa, E. H., Aly, S. A., Salem, S. Y., Badr, E. E., ... & Fify, A. A. (2024). Using a novel bio-based cationic flocculant for food industry wastewater treatment. *Scientific Reports*, *14*(1), 19423. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-69558-2>

Ajao, V., Fokkink, R., Leermakers, F., Bruning, H., Rijnaarts, H., & Temmink, H. (2021). Bioflocculants from wastewater: Insights into adsorption affinity, flocculation mechanisms and mixed particle flocculation based on biopolymer size-fractionation. *Journal of Colloid and Interface Science*, *581*, 533-544. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2020.07.146>

Alias, J., Hasan, H. A., Abdullah, S. R. S., & Othman, A. R. (2022). Properties of bioflocculant-producing bacteria for high flocculating activity efficiency. *Environmental Technology & Innovation*, *27*, 102529. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2022.102529>

Aljuboori, A. H. R., Idris, A., Al-Joubory, H. H. R., Uemura, Y., & Abubakar, B. I. (2015). Flocculation behavior and mechanism of bioflocculant produced by *Aspergillus flavus*. *Journal of environmental management*, *150*, 466-471. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2014.12.035>

Al-Wasify, R. S., Al-Sayed, A. A., Saleh, S. M., & Aboelwafa, A. M. (2015). Bacterial exopolysaccharides as new natural coagulants for surface water treatment. *Int J Pharm Tech Res*, *8*(9), 198-207.

Ambarsari, L., Artika, I. M., & Susanti, H. E. (2011). Characterization of bioflocculant producing-bacteria isolated from tapioca waste water. *HAYATI Journal of Biosciences*, 18(4), 193-196. <https://doi.org/10.4308/hjb.18.4.193>

Asrafuzzaman, M., Fakhruddin, A. N. M., & Hossain, M. A. (2011). Reduction of turbidity of water using locally available natural coagulants. *International Scholarly Research Notices*, 2011(1), 632189. <https://doi.org/10.5402/2011/632189>

Ayat, S. M., Dadkhah, A. A., Ahmadi, A., & Nasrollahi, A. (2024). Optimization of Bioflocculant production from municipal sewage sludge by *Aspergillus niger* using Response Surface Methodology. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-3796956/v1>

Ayat, S. M., Dadkhah, A. A., Nasrollahi, A., & Rahmati, M. (2024). An overview of bio-flocculation of industrial effluents containing iron oxides in the iron and steel industries. *Desalination and Water Treatment*, 320, 100720. <https://doi.org/10.1016/j.dwt.2024.100720>

Badawi, A. K., Salama, R. S., & Mostafa, M. M. M. (2023). Natural-based coagulants/flocculants as sustainable market-valued products for industrial wastewater treatment: a review of recent developments. *RSC advances*, 13(28), 19335-19355. <https://doi.org/10.1039/d3ra01999c>

Bauer, F. F., Govender, P., & Bester, M. C. (2010). Yeast flocculation and its biotechnological relevance. *Applied microbiology and biotechnology*, 88(1), 31-39. <https://doi.org/10.1007/s00253-010-2783-0>

Ben Rebah, F., Mnif, W., & M. Siddeeg, S. (2018). Microbial flocculants as an alternative to synthetic polymers for wastewater treatment: a review. *Symmetry*, 10(11), 556. <https://doi.org/10.3390/sym10110556>

Bjelošević, M., Pobirk, A. Z., Planinšek, O., & Grabnar, P. A. (2020). Excipients in freeze-dried biopharmaceuticals: Contributions toward formulation stability and lyophilisation cycle optimisation. *International journal of pharmaceutics*, 576, 119029. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2020.119029>

Buthelezi, S. P., Olaniran, A. O., & Pillay, B. (2010). Production and characterization of bioflocculants from bacteria isolated from wastewater treatment plant in South Africa. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 15(5), 874-881. <https://doi.org/10.1007/s12257-009-3002-7>

Chen, L., Chen, D., & Wu, C. (2003). A new approach for the flocculation mechanism of chitosan. *Journal of Polymers and the Environment*, 11(3), 87-92. <https://doi.org/10.1023/A:1024656813244>

Chen, Z., Li, Z., Liu, P., Liu, Y., Wang, Y., Li, Q., & He, N. (2017). Characterization of a novel bioflocculant from a marine bacterium and its application in dye wastewater treatment. *BMC biotechnology*, 17(1), 84. <https://doi.org/10.1186/s12896-017-0404-z>

Chouchane, H., Mahjoubi, M., Ettoumi, B., Neifar, M., & Cherif, A. (2018). A novel thermally stable heteropolysaccharide-based bioflocculant from hydrocarbonoclastic strain *Kocuria rosea* BU22S and its application in dye removal. *Environmental technology*, 39(7), 859-872. <https://doi.org/10.1080/09593330.2017.1313886>

Chukwuma, O. B., Rafatullah, M., Tajarudin, H. A., & Ismail, N. (2021). A review on bacterial contribution to lignocellulose breakdown into useful bio-products. *International journal of environmental research and public health*, 18(11), 6001. <https://doi.org/10.3390/ijerph18116001>

Cui, L., Wu, J., Wang, X., Yang, X., Ye, Z., Mayo, K. H., & Zhou, Y. (2023). Purification and identification of oligosaccharides from *Cimicifuga heracleifolia* Kom. rhizomes. *Food Chemistry*, X, 18, 100706. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2023.100706>

Czemierska, M., Szczes, A., & Jarosz-Wilkolazka, A. (2015). Purification of wastewater by natural flocculants. *BioTechnologia. Journal of Biotechnology Computational Biology and Bionanotechnology*, 96(4). <https://doi.org/10.5114/bta.2015.57731>

Dai, J., Zhao, X., Mu, S., Yang, Q., Zhao, C., & Zhao, Z. (2024). A novel polysaccharide-based bioflocculant produced by *Bacillus subtilis* 35A and its application in the treatment of dye decolorization, heavy metal ion adsorption and meat product wastewater. *Frontiers in Microbiology*, *15*, 1457909. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1457909>

De Philippis, R., Sili, C., Paperi, R., & Vincenzini, M. (2001). Exopolysaccharide-producing cyanobacteria and their possible exploitation: a review. *Journal of Applied Phycology*, *13*(4), 293-299. <https://doi.org/10.1023/A:1017590425924>

De Simeis, D., & Serra, S. (2021). Actinomycetes: A never-ending source of bioactive compounds—An overview on antibiotics production. *Antibiotics*, *10*(5), 483. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10050483>

Deepak, B., & Iqbal, Z. (2015). Lyophilization—Process and Optimization for Pharmaceuticals. *International Journal of Drug Regulatory Affairs*, *3*(1), 30-40. <https://doi.org/10.22270/ijdra.v3i1.156>

Dhiman, V. K., Rana, N., Dhiman, V. K., Sharma, A., Pandey, H., Singh, D., ... & Yadav11, A. N. (2025). Plant growth promoting rhizobacteria as biostimulants for plant and soil health: Current research and future challenges. *Journal of Applied Biology & Biotechnology* Vol, *13*(6), 21-33. <https://doi.org/10.7324/JABB.2025.v13.i6.3>

Di Pippo, F., Ellwood, N. T., Gismondi, A., Bruno, L., Rossi, F., Magni, P., & De Philippis, R. (2013). Characterization of exopolysaccharides produced by seven biofilm-forming cyanobacterial strains for biotechnological applications. *Journal of Applied Phycology*, *25*(6), 1697-1708. <https://doi.org/10.1007/s10811-013-0028-1>

Díaz-Santos, E., Vila, M., de la Vega, M., León, R., & Vígara, J. (2015). Study of bioflocculation induced by *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* and flocculating protein factors in microalgae. *Algal research*, *8*, 23-29. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2014.12.013>

Dlangamandla, C., Dyantyi, S. A., Mpentshu, Y. P., Ntwampe, S. K. O., & Basitere, M. (2015). Optimization of Bioflocculant Production by a Biofilm Forming Microorganism from Poultry Wastewater for Use in Poultry Wastewater Treatment. *Dlangamandla, SA Dyantyi, YP Mpentshu, SKO Ntwampe*, M. Basitere*, 436-441. <https://doi.org/10.2166/wst.2016.047>

Eissenberger, K., Ballesteros, A., De Bisschop, R., Bugnicourt, E., Cinelli, P., Defoin, M., ... & Schmid, M. (2023). Approaches in sustainable, biobased multilayer packaging solutions. *Polymers*, 15(5), 1184. <https://doi.org/10.3390/polym15051184>

Freire-Nordi, C. S., Vieira, A. A. H., & Nascimento, O. R. (2005). The metal binding capacity of *Anabaena spiroides* extracellular polysaccharide: an EPR study. *Process Biochemistry*, 40(6), 2215-2224. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2004.09.003>

Fu, W., Liao, M., Zhang, D., Zhou, Y., & Yang, H. (2021). Studies on bioflocculant production by *Pseudoalteromonas* sp. NUM8, a Marine bacteria isolated from the circulating seawater. *Journal of Ocean University of China*, 20(5), 1276-1284. <https://doi.org/10.1007/s11802-021-4747-7>

Gao, J., Bao, H. Y., Xin, M. X., Liu, Y. X., Li, Q., & Zhang, Y. F. (2006). Characterization of a bioflocculant from a newly isolated *Vagococcus* sp. W31. *Journal of Zhejiang University Science B*, 7(3), 186-192. <https://doi.org/10.1631/jzus 2006.B0186>

Ghosh, M., Pathak, S., & Ganguli, A. (2009). Effective removal of *Cryptosporidium* by a novel bioflocculant. *Water environment research*, 81(2), 160-164. <https://doi.org/10.2175/106143008X325818>

Gregory, J., & Barany, S. (2011). Adsorption and flocculation by polymers and polymer mixtures. *Advances in colloid and interface science*, 169(1), 1-12. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2011.06.004>

Guo, H., Hong, C., Zhang, C., Zheng, B., Jiang, D., & Qin, W. (2018). Bioflocculants' production from a cellulase-free xylanase-producing *Pseudomonas boreopolis* G22 by degrading biomass and its application in cost-effective harvest of

- microalgae. *Bioresource Technology*, 255, 171-179.
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.01.082>
- Guo, H., Hong, C., Zheng, B., Lu, F., Jiang, D., & Qin, W. (2017). Biofloculants' production in a biomass-degrading bacterium using untreated corn stover as carbon source and use of biofloculants for microalgae harvest. *Biotechnology for biofuels*, 10(1), 306. <https://doi.org/10.1186/s13068-017-0987-6>
- Guo, J., Yu, J., Xin, X., Zou, C., Cheng, Q., Yang, H., & Nengzi, L. (2015). Characterization and flocculation mechanism of a biofloculant from hydrolyzate of rice stover. *Bioresource Technology*, 177, 393-397.
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.11.066>
- Hassan, H., Ansari, F. A., Rawat, I., & Bux, F. (2024). Unlocking the potential of microalgae: Cultivation in algae recycled effluent with domestic wastewater for enhancing biomass, bioenergy production and CO₂ sequestration. *Journal of Water Process Engineering*, 68, 106499. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2024.106499>
- Hocking, M. B., Klimchuk, K. A., & Lowen, S. (2007). Polymeric flocculants and flocculation. *Journal of Macromolecular Science Part C- Polymer Reviews*, C39(2)(2):177-203 <https://doi.org/10.1081/MC-100101419>
- Hogg, R. (2000). Flocculation and dewatering. *International Journal of Mineral Processing*, 58(1-4), 223-236. [https://doi.org/10.1016/S0301-7516\(99\)00023-X](https://doi.org/10.1016/S0301-7516(99)00023-X)
- Ilori, M. O., Adebuseye, S. A., & Ojo, A. C. (2008). Isolation and characterization of hydrocarbon-degrading and biosurfactant-producing yeast strains obtained from a polluted lagoon water. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 24(11), 2539-2545. <https://doi.org/10.1007/s11274-008-9778-3>
- Irawan, A. P., Rahmawati, A., Fahmi, U. A., Budiman, A., Maghfiroh, K. Q., Erfianti, T., ... & Suyono, E. A. (2023). Studies on biofloculant exopolysaccharides (EPS) produced by *Anabaena* sp. and its application as biofloculant for low cost harvesting of *Chlorella* sp. <https://doi.org/10.35495/ajab.2022.150>

Johnson, E. A. (2013). Biotechnology of non-Saccharomyces yeasts—the basidiomycetes. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 97(17), 7563-7577. <https://doi.org/10.1007/s00253-013-5046-z>

Juvonen, H., Antikainen, O., Lemmens, M., Ehlers, H., & Juppo, A. (2021). The effect of relative humidity and formulation variables on chewable xylitol-sorbitol tablets. *International Journal of Pharmaceutics*, 601, 120573. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2021.120573>

Kazaz, B., Clampitt, J., Perez, M. A., Donald, W. N., Fang, X., & Shaw, J. N. (2023). *Best Practices for Construction Site Stormwater Treatment Using Flocculants* (No. 931-017). Auburn University. Highway Research Center.

Khademian, E., Salehi, E., Sanaeepur, H., Galiano, F., & Figoli, A. (2020). A systematic review on carbohydrate biopolymers for adsorptive remediation of copper ions from aqueous environments-part A: Classification and modification strategies. *Science of the Total Environment*, 738, 139829. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139829>

Khangembam, R., Tiwari, O. N., & Kalita, M. (2016). Production of exopolysaccharides by the cyanobacterium *Anabaena* sp. BTA992 and application as bioflocculants. *J. Appl. Biol. Biotechnol*, 4(1), 008-011. <https://doi.org/10.7324/JABB.2016.40102>

Kolya, H., & Kang, C. W. (2023). Bio-based polymeric flocculants and adsorbents for wastewater treatment. *Sustainability*, 15(12), 9844. <https://doi.org/10.3390/su15129844>

Krishnan, S. V., & Attia, Y. A. (2018). Polymeric flocculants. In *Reagents in Mineral Technology* (pp. 485-518). Routledge.

Kumar, P. (2019). Lyophilization: An important formulation technique. *Int. J. Res. Granthaalayah*, 7, 11-15. <https://doi.org/10.29121/granthaalayah.v7.i9.2019.552>

Kurniawan, S. B., Abdullah, S. R. S., Imron, M. F., Said, N. S. M., Ismail, N. I., Hasan, H. A., ... & Purwanti, I. F. (2020). Challenges and opportunities of biocoagulant/bioflocculant application for drinking water and wastewater treatment

and its potential for sludge recovery. *International journal of environmental research and public health*, 17(24), 9312. <https://doi.org/10.3390/ijerph17249312>

Lang, K., Sánchez-Leija, R. J., Gross, R. A., & Linhardt, R. J. (2020). Review on the impact of polyols on the properties of bio-based polyesters. *Polymers*, 12(12), 2969. <https://doi.org/10.3390/polym12122969>

Laws, A., Gu, Y., & Marshall, V. (2001). Biosynthesis, characterisation, and design of bacterial exopolysaccharides from lactic acid bacteria. *Biotechnology advances*, 19(8), 597-625. [https://doi.org/10.1016/S0734-9750\(01\)00084-2](https://doi.org/10.1016/S0734-9750(01)00084-2)

Lee, C. S., Robinson, J., & Chong, M. F. (2014). A review on application of flocculants in wastewater treatment. *Process safety and environmental protection*, 92(6), 489-508. <https://doi.org/10.1016/j.psep.2014.04.010>

Leonhartsberger, S., Carmona, P., Seidl, B., Mann, K. J., Kozich, M., Sulaeva, I., ... & Mihovilovic, M. D. (2025). Polysaccharide-based green flocculants: A systematic and comparative study of their coagulation-flocculation efficiency. *Carbohydrate Polymers*, 358, 123527. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2025.123527>

Li, O., Lu, C., Liu, A., Zhu, L., Wang, P. M., Qian, C. D., ... & Wu, X. C. (2013). Optimization and characterization of polysaccharide-based bioflocculant produced by *Paenibacillus elgii* B69 and its application in wastewater treatment. *Bioresource technology*, 134, 87-93. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.02.013>

Li, Y., Xu, Y., Song, R., Tian, C., Liu, L., Zheng, T., & Wang, H. (2018). Flocculation characteristics of a bioflocculant produced by the actinomycete *Streptomyces* sp. hsn06 on microalgae biomass. *BMC biotechnology*, 18(1), 58. <https://doi.org/10.1186/s12896-018-0471-9>

Liu, C., Wang, K., Jiang, J. H., Liu, W. J., & Wang, J. Y. (2015). A novel bioflocculant produced by a salt-tolerant, alkaliphilic and biofilm-forming strain *Bacillus agaradhaerens* C9 and its application in harvesting *Chlorella minutissima*

<https://doi.org/10.1016/j.bej.2014.10.006>

Liu, L., Zhang, X., Yin, L., Zhang, H., Li, J., & Ma, Y. (2025). Advances and challenges in bioproduction of microbial exopolysaccharides: Synthesis mechanisms, engineering strategies, and future perspectives. *Carbohydrate Polymers*, 367, 124010. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2025.124010>

Liu, Y., Zeng, Y., Yang, J., Chen, P., Sun, Y., Wang, M., & Ma, Y. (2023). A bioflocculant from *Corynebacterium glutamicum* and its application in acid mine wastewater treatment. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 11, 1136473. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2023.1136473>

Liu, Z., Xu, G., & Yang, H. (2001). Composition and structure of bioflocculant BP25. *Acta Microbiologica Sinica*, 41(3), 348-352.

Łukasiewicz, E. (2025). Coagulation–Sedimentation in Water and Wastewater Treatment: Removal of Pesticides, Pharmaceuticals, PFAS, Microplastics, and Natural Organic Matter. *Water*, 17(21), 3048. <https://doi.org/10.3390/w17213048>

Lv, Y., Liu, N., Chen, C., Cai, Z., & Li, J. (2025). Pharmaceutical Packaging Materials and Medication Safety: A Mini-Review. *Safety*, 11(3), 69. <https://doi.org/10.3390/safety11030069>

Maćczak, P., Kaczmarek, H., & Ziegler-Borowska, M. (2020). Recent achievements in polymer bio-based flocculants for water treatment. *Materials*, 13(18), 3951. <https://doi.org/10.3390/ma13183951>

Mahfouz, A. Y., Daigham, G. E., Abass, H. A., & Plant, E. A. (2020). BIOFLOCCULANT COMPOUND PRODUCED BY ASPERGILLUS FLAVUS ISOLATED FROM EL-DABAA SOIL “OPTIMIZATION, CHARACTERIZATION AND APPLICATION IN TREATMENT OF NILE WATER. *J. Microbiol*, 55.

Makapela, B., Okaiyeto, K., Ntozonke, N., Nwodo, U. U., Green, E., Mabinya, L. V., & Okoh, A. I. (2016). Assessment of *Bacillus pumilus* isolated from fresh water milieu for bioflocculant production. *Applied Sciences*, 6(8), 211. <https://doi.org/10.3390/app6080211>

Maliehe, T. S., Basson, A. K., & Dlamini, N. G. (2019). Removal of pollutants in mine wastewater by a non-cytotoxic polymeric bioflocculant from *Alcaligenes faecalis* HCB2. *International journal of environmental research and public health*, *16*(20), 4001. <https://doi.org/10.3390/ijerph16204001>

Mishra, B., Kallem, P., Yadavalli, R., Mandal, S. K., Reddy, C. N., Sumithra, B., ... & Bana, F. (2025). Industrial wastewater treatment using extracellular polymer substances/bioflocculants: a review. *Applied Water Science*, *15*(3), 1-20. <https://doi.org/10.1007/s13201-025-02401-9>

Mnif, W., & Ben Rebah, F. (2023). Bioflocculants as alternative to synthetic polymers to Enhance wastewater sludge dewaterability: a review. *Energies*, *16*(8), 3392. <https://doi.org/10.3390/en16083392>

Mohammed, J. N., & Wan Dagang, W. R. Z. (2019). Implications for industrial application of bioflocculant demand alternatives to conventional media: waste as a substitute. *Water Science and Technology*, *80*(10), 1807-1822. <https://doi.org/10.2166/wst.2020.025>

Mohammed, J. N., & Wan, W. R. Z. (2019). Culture optimization for production and characterization of bioflocculant by *Aspergillus flavus* grown on chicken viscera hydrolysate. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, *35*(8), 121. <https://doi.org/10.1007/s11274-019-2696-8>

Mubarak, M., Shaija, A., & Suchithra, T. V. (2019). Flocculation: An effective way to harvest microalgae for biodiesel production. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, *7*(4), 103221. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2019.103221>

Nkosi, N. C., Basson, A. K., Ntombela, Z. G., Dlamini, N. G., & Pullabhotla, R. V. (2024). A review on bioflocculant-synthesized copper nanoparticles: characterization and application in wastewater treatment. *Bioengineering*, *11*(10), 1007. <https://doi.org/10.3390/bioengineering11101007>

Noreña-Caro, D., & Benton, M. G. (2018). Cyanobacteria as photoautotrophic biofactories of high-value chemicals. *Journal of CO2 Utilization*, *28*, 335-366. <https://doi.org/10.1016/j.jcou.2018.10.008>

Nwodo, U. U., & Okoh, A. I. (2013). Characterization and flocculation properties of biopolymeric flocculant (glycosaminoglycan) produced by *Cellulomonas* sp. Okoh. *Journal of applied microbiology*, 114(5), 1325-1337.

<https://doi.org/10.1111/jam.12095>

Okaiyeto, K., Nwodo, U. U., Okoli, A. S., Mabinya, L. V., & Okoh, A. I. (2016). Studies on Bioflocculant Production by *Bacillus* sp. AEMREG7. *Polish Journal of Environmental Studies*, 25(1). <https://doi.org/10.15244/pjoes/59331>

Okaiyeto, K., Nwodo, U. U., Okoli, S. A., Mabinya, L. V., & Okoh, A. I. (2016). Implications for public health demands alternatives to inorganic and synthetic flocculants: bioflocculants as important candidates. *MicrobiologyOpen*, 5(2), 177-211.

<https://doi.org/10.1002/mbo3.334>

Okaiyeto, K., Nwodo, U. U., Okoli, S. A., Mabinya, L. V., & Okoh, A. I. (2016). Implications for public health demands alternatives to inorganic and synthetic flocculants: bioflocculants as important candidates. *MicrobiologyOpen*, 5(2), 177-211.

<https://doi.org/10.1002/mbo3.334>

Oladimeji, T. E., Oyedemi, M., Emetere, M. E., Agboola, O., Adeoye, J. B., & Odunlami, O. A. (2024). Review on the impact of heavy metals from industrial wastewater effluent and removal technologies. *Heliyon*, 10(23).

<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e40370>

Orchard, M. J., Yang, G., Webber, G. B., Franks, G. V., & Zhao, C. X. (2024). Development of bioflocculants for mineral processing. *Materials Today Sustainability*, 28, 100965. <https://doi.org/10.1016/j.mtsust.2024.100965>

Pakharuddin, N. H., Fazly, M. N., Sukari, S. A., Tho, K., & Zamri, W. F. H. (2021, October). Water treatment process using conventional and advanced methods: A comparative study of Malaysia and selected countries. In *IOP conference series: earth and environmental science* (Vol. 880, No. 1, p. 012017). IOP Publishing.

<https://doi.org/10.1088/1755-1315/880/1/012017>

Parkins, D. A., & Lashmar, U. T. (2000). The formulation of biopharmaceutical products. *Pharmaceutical science & technology today*, 3(4), 129-137. [https://doi.org/10.1016/S1461-5347\(00\)00248-0](https://doi.org/10.1016/S1461-5347(00)00248-0)

Philippoussis, A. N. (2009). Production of mushrooms using agro-industrial residues as substrates. In *Biotechnology for agro-industrial residues utilisation: Utilisation of agro-residues* (pp. 163-196). Dordrecht: Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-9942-7_9

Podgornik, R., & Ličer, M. (2006). Polyelectrolyte bridging interactions between charged macromolecules. *Current opinion in colloid & interface science*, 11(5), 273-279. <https://doi.org/10.1016/j.cocis.2006.08.001>

Pu, S., Ma, H., Deng, D., Xue, S., Zhu, R., Zhou, Y., & Xiong, X. (2018). Isolation, identification, and characterization of an *Aspergillus niger* bioflocculant-producing strain using potato starch wastewater as nutriline and its application. *PloS one*, 13(1), e0190236. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0190236>

Qiao, N., Gao, M., Zhang, X., Du, Y., Fan, X., Wang, L., ... & Yu, D. (2019). *Trichosporon fermentans* biomass flocculation from soybean oil refinery wastewater using bioflocculant produced from *Paecilomyces* sp. M2-1. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 103(6), 2821-2831. <https://doi.org/10.1007/s00253-019-09643-z>

Rasulov, B. A., Li, L., Liu, Y. H., Mohamad, O. A., Xiao, M., Ma, J. B., & Li, W. J. (2017). Production, characterization and structural modification of exopolysaccharide-based bioflocculant by *Rhizobium radiobacter* SZ4S7S14 and media optimization. *3 Biotech*, 7(3), 179. <https://doi.org/10.1007/s13205-017-0811-9>

Ratiu, I. A., Al-Suod, H., Ligor, M., Ligor, T., Krakowska, A., Górecki, R., & Buszewski, B. (2019). Simultaneous determination of cyclitols and sugars following a comprehensive investigation of 40 plants. *Food Analytical Methods*, 12(6), 1466-1478. <https://doi.org/10.1007/s12161-019-01481-z>

Ricker, J. V., Tsvetkova, N. M., Wolkers, W. F., Leidy, C., Tablin, F., Longo, M., & Crowe, J. H. (2003). Trehalose maintains phase separation in an air-dried binary

lipid mixture. *Biophysical journal*, 84(5), 3045-3051. [https://doi.org/10.1016/S0006-3495\(03\)70030-7](https://doi.org/10.1016/S0006-3495(03)70030-7)

Righini, H., Francioso, O., Martel Quintana, A., & Roberti, R. (2022). Cyanobacteria: a natural source for controlling agricultural plant diseases caused by fungi and oomycetes and improving plant growth. *Horticulturae*, 8(1), 58. <https://doi.org/10.3390/horticulturae8010058>

Rodrigues, A. C., Boroski, M., Shimada, N. S., Garcia, J. C., Nozaki, J., & Hioka, N. (2008). Treatment of paper pulp and paper mill wastewater by coagulation–flocculation followed by heterogeneous photocatalysis. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 194(1), 1-10.

Roussy, J., Van Vooren, M., Dempsey, B. A., & Guibal, E. (2005). Influence of chitosan characteristics on the coagulation and the flocculation of bentonite suspensions. *Water research*, 39(14), 3247-3258. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2005.05.039>

Salem, A. T., & AL-Musawi, N. O. (2021). Water treatment with conventional and alternative coagulants: a review. *Journal of Engineering*, 27(9), 20-28. <https://doi.org/10.31026/j.eng.2021.09.02>

Selepe, T. N., & Maliehe, T. S. (2024). Bioflocculation of pollutants in wastewater using flocculant derived from *Providencia huaxiensis* OR794369. 1. *BMC microbiology*, 24(1), 39. <https://doi.org/10.1186/s12866-023-03144-w>

Semblante, G. U., Lee, J. Z., Lee, L. Y., Ong, S. L., & Ng, H. Y. (2018). Brine pre-treatment technologies for zero liquid discharge systems. *Desalination*, 441, 96-111. <https://doi.org/10.1016/j.desal.2018.04.006>

Shahadat, M., Teng, T. T., Rafatullah, M., Shaikh, Z. A., Sreekrishnan, T. R., & Ali, S. W. (2017). Bacterial bioflocculants: A review of recent advances and perspectives. *Chemical Engineering Journal*, 328, 1139-1152. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2017.07.105>

Sharma, A. K., Jaryal, S., Sharma, S., Dhyani, A., Tewari, B. S., & Mahato, N. (2025). Biofuels from microalgae: A review on microalgae cultivation, biodiesel

- production techniques and storage stability. *Processes*, 13(2), 488. <https://doi.org/10.3390/pr13020488>
- Sharma, M., Tellili, N., Kacem, I., & Rouissi, T. (2024). Microbial biopolymers: from production to environmental applications—a review. *Applied Sciences*, 14(12), 5081. <https://doi.org/10.3390/app14125081>
- Sharma, R. S., Rana, A., & Panthari, D. (2020). Wastewater pollution induced detrimental impacts on aquatic biodiversity: A review. *Advances in Environmental Pollution Management: Wastewater Impacts and Treatment Technologies*, 1, 113-127. <https://doi.org/10.26832/aesa-2020-aepm-08>
- Shende, A., & Hiwarale, S. V. (2025). A systematic review on fungal bioflocculant for safe and sustainable environmental remediation. *Journal of Hazardous Materials Advances*, 100868. <https://doi.org/10.1016/j.hazadv.2025.100868>
- Shivatara, S. S., Shivatara, V. S., & Wong, C. H. (2022). Glycoconjugates: synthesis, functional studies, and therapeutic developments. *Chemical reviews*, 122(20), 15603-15671. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.1c01032>
- Shivraj, S., Quraishi, W., & Basu, S. (2023). A comprehensive review on the progress of coagulation for natural organic matter removal in water treatment. *Jurnal Penelitian dan Pengkajian Ilmu Pendidikan: e-Saintika*, 7(2), 185-216. <https://doi.org/10.36312/ESAINTIKA.V7I2.1342>
- Sivasankar, P., Poongodi, S., Lobo, A. O., & Pugazhendhi, A. (2020). Characterization of a novel polymeric bioflocculant from marine actinobacterium *Streptomyces* sp. and its application in recovery of microalgae. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 148, 104883. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2020.104883>
- Sun, J., Zhang, X., Miao, X., & Zhou, J. (2012). Preparation and characteristics of bioflocculants from excess biological sludge. *Bioresource technology*, 126, 362-366. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.08.042>

Tiwari, O. N., Khangembam, R., Shamjetshabam, M., Sharma, A. S., Oinam, G., & Brand, J. J. (2015). Characterization and optimization of bioflocculant exopolysaccharide production by cyanobacteria *Nostoc* sp. BTA97 and *Anabaena* sp. BTA990 in culture conditions. *Applied biochemistry and biotechnology*, 176(7), 1950-1963. <https://doi.org/10.1007/s12010-015-1691-2>

Tokumoto, Y., Nomura, N., Uchiyama, H., Imura, T., Morita, T., Fukuoka, T., & Kitamoto, D. (2009). Structural characterization and surface-active properties of a succinoyl trehalose lipid produced by *Rhodococcus* sp. SD-74. *Journal of oleo science*, 58(2), 97-102. <https://doi.org/10.5650/jos.58.97>

Tsilo, P. H., Basson, A. K., Ntombela, Z. G., Maliehe, T. S., & Pullabhotla, R. V. (2021). Isolation and optimization of culture conditions of a bioflocculant-producing fungi from Kombucha tea SCOBY. *Microbiology Research*, 12(4), 950-966. <https://doi.org/10.3390/microbiolres12040070>

Tsilo, P. H., Basson, A. K., Ntombela, Z. G., Maliehe, T. S., & Pullabhotla, V. R. (2022). Production and characterization of a bioflocculant from *Pichia kudriavzevii* MH545928. 1 and Its Application in Wastewater Treatment. *International journal of environmental research and public health*, 19(6), 3148. <https://doi.org/10.3390/ijerph19063148>

Vasylykivskyi, I., Ishchenko, V., Sakalova, H., Ullianodt, G. C. H., & Polyvanyi, S. (2023). Municipal wastewater management in Ukraine. *Desalination and water treatment*, 288, 159-164. <https://doi.org/10.5004/dwt.2023.29379>

Wang, C., Hu, C., Li, X., Shen, R., Yin, L., Wu, Q., & Hu, T. (2025). Effects of *Rhizopus oligosporus*-Mediated Solid-State Fermentation on the Protein Profile and α -Glucosidase Inhibitory Activity of Selenium-Biofortified Soybean Tempeh. *Foods*, 14(16), 2899. <https://doi.org/10.3390/foods14162899>

Wang, L., Ma, F., Qu, Y., Sun, D., Li, A., Guo, J., & Yu, B. (2011). Characterization of a compound bioflocculant produced by mixed culture of *Rhizobium radiobacter* F2 and *Bacillus sphaericus* F6. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 27(11), 2559-2565. <https://doi.org/10.1007/s11274-011-0726-2>

Xia, M., Zhou, H., Amanze, C., Hu, L., Shen, L., Yu, R., ... & Zeng, W. (2022). A novel polysaccharides-based bioflocculant produced by *Bacillus subtilis* ZHX3 and its application in the treatment of multiple pollutants. *Chemosphere*, 289, 133185. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.133185>

Yang, M., & Zheng, S. (2014). Pollutant removal-oriented yeast biomass production from high-organic-strength industrial wastewater: A review. *Biomass and Bioenergy*, 64, 356-362. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2014.03.020>

Yang, Y., Guo, W., Ngo, H. H., Zhang, X., Liang, S., Deng, L., ... & Zhang, H. (2024b). Bioflocculants in anaerobic membrane bioreactors: A review on membrane fouling mitigation strategies. *Chemical Engineering Journal*, 486, 150260. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2024.150260>

Yang, Y., Jiang, C., Wang, X., Fan, L., Xie, Y., Wang, D., ... & Zhuang, X. (2024a). Unraveling the potential of microbial flocculants: preparation, performance, and applications in wastewater treatment. *Water*, 16(14), 1995. <https://doi.org/10.3390/w16141995>

Zaki, N., Hadoudi, N., Charki, A., Bensitel, N., Ouarghi, H. E., Amhamdi, H., & Ahari, M. H. (2023). Advancements in the chemical treatment of potable water and industrial wastewater using the coagulation–flocculation process. *Separation Science and Technology*, 58(15-16), 2619-2630. <https://doi.org/10.1080/01496395.2023.2219381>

Zaki, S., Farag, S., Elreesh, G. A., Elkady, M., Nosier, M., & El Abd, D. (2011). Characterization of bioflocculants produced by bacteria isolated from crude petroleum oil. *International Journal of Environmental Science & Technology*, 8(4), 831-840.

Zaman, B., Hardyanti, N., Budiharjo, M. A., Prasetyo, S. B., Ramadhandi, A., & Listiyawati, A. T. (2020, July). Natural flocculant vs chemical flocculant where is better to used in wastewater treatment. In *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering* (Vol. 852, No. 1, p. 012014). IOP Publishing. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/852/1/012014>

Zhang, L., Cao, G., Liu, H., Wu, Z., Gong, D., Ru, X., ... & Yang, Q. (2022). Application of *Aspergillus niger* in practical biotechnology of industrial recovery of potato starch by-products and its flocculation characteristics. *Microorganisms*, 10(9), 1847. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10091847>

Zhao, H., Zheng, Y., Zhou, S., Liu, L., Zhou, J., & Sun, S. (2020). Characteristics of methane and bioflocculant production by *Methanosarcina spelaei* RK-23. *International Journal of Hydrogen Energy*, 45(20), 11569-11576. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2020.02.088>

Zhao, H., Zhong, C., Chen, H., Yao, J., Tan, L., Zhang, Y., & Zhou, J. (2016). Production of bioflocculants prepared from formaldehyde wastewater for the potential removal of arsenic. *Journal of environmental management*, 172, 71-76. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2016.02.024>

Ziadi, M., Bouzaiene, T., M'Hir, S., Zaafour, K., Mokhtar, F., Hamdi, M., & Boisset-Helbert, C. (2018). Evaluation of the efficiency of ethanol precipitation and ultrafiltration on the purification and characteristics of exopolysaccharides produced by three lactic acid bacteria. *BioMed Research International*, 2018(1), 1896240. <https://doi.org/10.1155/2018/1896240>

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.