

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
СУМСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
Факультет агротехнологій та природокористування
Кафедра біотехнології та хімії

До захисту допускається

Завідувач кафедри

Владислав КОВАЛЕНКО

" ____ " _____ р.

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

за першим (бакалаврським) рівнем вищої освіти

на тему: «Одержання колагену методом ферментативного гідролізу»

Виконав (-ла):

Олег ЛЯХ

Ім'я ПРІЗВИЩЕ

Група:

БІО 2101

Науковий керівник

Володимир ДУБОВИК

Ім'я ПРІЗВИЩЕ

Рецензент

Наталія КАНДИБА

Ім'я ПРІЗВИЩЕ

СУМИ -2025

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
СУМСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Факультет агротехнологій та природокористування

Кафедра біотехнології та хімії

Ступень вищої освіти – бакалавр

Спеціальність – 162 «біотехнології та біоінженерія»

ЗАТВЕРДЖУЮ:

Завідувач кафедри

Владислав КОВАЛЕНКО

« ____ » _____ 2025 р.

ЗАВДАННЯ

НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ

Ляху Олегу Володимировичу

Тема роботи: **Одержання колагену методом ферментативного гідролізу**

1. Керівник бакалаврської роботи **Дубовик Володимир Іванович, к. с.-г. н., доцент**

2. Строк подання здобувачем закінченої роботи _____

3. Вихідні дані до кваліфікаційної роботи – _____

4. Зміст розрахунково-пояснювальної записки (перелік питань, які необхідно опрацювати) _____

5. Перелік графічного матеріалу (з точною вказівкою обов'язкових креслень) _____

Керівник кваліфікаційної роботи _____ / Володимир ДУБОВИК _____
підпис *Ім'я, ПРИЗВИЩЕ*

Завдання прийняв до виконання _____ / Олег ЛЯХ _____
підпис *Ім'я, ПРИЗВИЩЕ*

Дата отримання завдання « ____ » _____ 20__ р.

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№ п/п	Назви етапів кваліфікаційної роботи	Строк виконання етапів роботи	Примітки
1.	Вибір теми і об'єкта досліджень	5-й семестр	
2.	Розробка завдання до кваліфікаційної роботи; складання календарного плану; формування змісту розрахунково-пояснювальної записки (формування переліку питань, які необхідно опрацювати в роботі). Підбір методик для проведення досліджень	5-й семестр	
3.	Виконання кваліфікаційної роботи	8-й семестр	
3.1.	Підбір та аналіз літературних джерел з теми кваліфікаційної роботи	5-й семестр	
3.2.	Збір вихідних даних (проведення польових досліджень) для написання експериментальної частини кваліфікаційної роботи	6-й семестр	
3.3.	Підготовка загального варіанту кваліфікаційної роботи (розділ 1-3, висновки)	7-й семестр	
3.4.	Апробація результатів дослідження	За 40 днів до дати захисту	
4.	Перевірка роботи науковим керівником і допуск до попереднього захисту	За 35 днів до дати захисту	
5.	Перевірка кваліфікаційної роботи на унікальність	За 30 днів до захисту	
6.	Рецензування	За 15 днів до захисту	
7.	Попередній захист кваліфікаційної роботи	За 10 днів до захисту	
8.	Прилюдний захист кваліфікаційної роботи перед екзаменаційною комісією	Відповідно наказу ректора	

Керівник кваліфікаційної роботи _____ / Володимир ДУБОВИК

підпис

Ім'я, ПРИЗВИЩЕ

Здобувач _____ / Олег ЛЯХ

підпис

Ім'я, ПРИЗВИЩЕ

АНОТАЦІЯ

Лях Олег Володимирович

ОДЕРЖАННЯ КОЛАГЕНУ МЕТОДОМ ФЕРМЕНТАТИВНОГО ГІДРОЛІЗУ

162 Біотехнології та біоінженерія

СУМСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Суми – 2025

У роботі визначено ключові напрямки використання колагену, зокрема перспективи його застосування у виробництві косметичних засобів. Проведене маркетингове дослідження ринку підтвердило доцільність промислового виробництва колагену, зважаючи на зростаючий попит і економічну вигідність цього процесу.

Для виготовлення колагену ми обрали сировину тваринного походження – шкури ВРХ. Біологічним агентом запропоновано використовувати лужну протеазу мікробного походження. Трипсин, застосований у технологічному процесі, отримано шляхом культивування високопродуктивного штаму DMN6 бактерії *B. licheniformis*. Застосування трипсину мікробного походження забезпечує проведення гідролізу за низьких температур із збереженням тілопептидів у цільовому продукті.

Методика виробництва включає підготовчі етапи, реалізацію безпосереднього технологічного процесу, а також утилізацію і знешкодження відходів. Розроблено блок-схему технології виготовлення колагену. Виробничому процесу запропоновано обладнання, зокрема кутер марки SPM 50 LT 2-SPD OZT, реактори STS Group, центрифугу Alfa Laval Culturefuge 200 з мембранними фільтрами, а також вакуум-випарну установку ВВУ-500.

Значну увагу приділено питанням якості виробництва. Описано вимоги охорони і безпеки навколишнього середовища, проведено аналіз технічних характеристик обладнання. Визначено необхідність обов'язкового контролю якості як сировини, так і кінцевого продукту.

Ключові слова: крем косметичний, колаген, лужні протеази, ферментативний гідроліз, якість, безпечність.

ABSTRACT

Lyakh Oleg Volodymyrovych

PRODUCTION OF COLLAGEN BY ENZYMATIC HYDROLYSIS

162 Biotechnology and bioengineering

SUMY NATIONAL AGRARIAN UNIVERSITY

Sumy - 2025

The paper identifies key areas of collagen use, in particular, the prospects for its application in the production of cosmetics. A market research study has confirmed the feasibility of industrial collagen production, given the growing demand and economic profitability of this process.

For the production of collagen, we chose raw materials of animal origin - cattle skins. We proposed to use an alkaline protease of microbial origin as a biological agent. The trypsin used in the technological process was obtained by cultivating a highly productive strain of DMN6 of the bacterium *B. licheniformis*. The use of trypsin of microbial origin ensures hydrolysis at low temperatures with the preservation of telopeptides in the target product.

The production methodology includes preparatory stages, the implementation of the direct technological process, as well as waste disposal and neutralisation. A flow chart of collagen production technology has been developed. The equipment proposed for the production process includes an SPM 50 LT 2-SPD OZT cutter, STS Group reactors, an Alfa Laval Culturefuge 200 centrifuge with membrane filters, and a VVU-500 vacuum evaporator.

Considerable attention is paid to production quality issues. The requirements for environmental protection and safety are described, and the technical characteristics of the equipment are analysed. The necessity of mandatory quality control of both raw materials and the final product is identified.

Keywords: cosmetic cream, collagen, alkaline proteases, enzymatic hydrolysis, quality, safety.

ЗМІСТ

ВСТУП	6
РОЗДІЛ 1. ЗНАЧЕННЯ КОЛАГЕНУ ДЛЯ ЛЮДИНИ (Огляд літератури)	8
1.1 Біологічне значення колагену	8
1.2 Джерела виробництва колагена	13
1.3 Різноманітні колагенові препарати	15
1.4 Аналіз ринку колагенових косметичних засобів	16
РОЗДІЛ 2. ХАРАКТЕРИСТИКА БІОЛОГІЧНОГО АГЕНТА	19
2.1. Характеристика цільового продукту	19
2.2. Особливості біологічного агенту	22
РОЗДІЛ 3. ТЕХНОЛОГІЧНИЙ ПРОЦЕС ВИРОБНИЦТВА І КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ КОЛОГЕНУ	27
3.1. Технологія виробництва колагену	27
3.2. Вибір устаткування для забезпечення виробництва колагену	30
3.3. Контроль якості виробничих процесів	34
ВИСНОВКИ ТА ПРОПОЗИЦІЯ	37
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	38
ДОДАТКИ	42

ВСТУП

У сучасному світі косметична індустрія зазнає значного розвитку і постійних інновацій, спрямованих на створення ефективних і безпечних засобів для догляду за шкірою. Одним із ключових компонентів таких продуктів є колаген – білок, що відіграє важливу роль у забезпеченні структури та еластичності шкіри. Однак отримання якісного колагену для застосування в косметичних кремах ставить перед дослідниками складні завдання, які вимагають серйозних наукових підходів і впровадження новітніх технологій.

Актуальність теми дослідження обґрунтовується комерційною привабливістю технологій виробництва високоякісної косметичної продукції.

Мета і завдання дослідження полягає в аналізі та визначенні технології отримання колагену методом ферментативного гідролізу для подальшого використання у виробництві косметичних кремів. Ферментативний гідроліз — це перспективний метод, що дає змогу отримувати високоякісний колаген із природної сировини.

Основні завдання роботи:

1. Вивчити сфери застосування колагену та проаналізувати виробників косметичних засобів, які у складі містять колаген, для підтвердження практичної значущості дослідження.
2. Обґрунтувати вибір біологічного агента для ефективного здійснення ферментативного гідролізу.
3. Здійснити вибір оптимальної методики отримання колагену та визначити необхідне обладнання для її реалізації.
4. Скласти технологічну карту контролю та якості сировини, процесу виробництва та кінцевого продукту.

Об'єкт дослідження: технологія виготовлення ферментативного гідролізу колагену.

Предмет дослідження: регламент технологічного процесу реалізації

ферментативного гідролізу.

Методи дослідження, застосовані у роботі, включають відбір і аналіз інформації та експериментальне тестування з використанням лужної протеази.

Наукова новизна полягає у використанні лужної протеази трипсину, що виділяється під час культивування висопродуктивного штаму *Bacillus licheniformis* DMN6, у процесі ферментативного гідролізу колагену.

Практичне значення здобутих результатів полягає у створенні ефективної та екологічно безпечної технології отримання колагену, що може бути впроваджена у виробництво високоякісної косметичної продукції. Застосування ферментативного гідролізу з використанням лужної протеази трипсину забезпечує м'які умови обробки сировини, зберігаючи біологічну активність колагену. Це дозволить здешевити виробництво, підвищити якість кінцевого продукту та розширити асортимент косметичних засобів з природними компонентами. Визначені параметри технологічного процесу й підібране обладнання корисні підприємствам для оптимізації виробничих ліній. Результат дослідження є корисним для дослідників і технологів у сфері біотехнології та косметології. Практична цінність також полягає у можливості створення вітчизняних інноваційних кремів, що сприятиме імпортозаміщенню і розвитку локального ринку.

Особистий внесок здобувача. Брав участь у проведенні досліджень, у збиранні та обробці результатів дослідження.

Структура і обсяг роботи. Кваліфікаційна робота викладена на 36 сторінках тексту. До видання входять вступ, три основні розділи, висновки, список використаної літератури (27 джерел) та додатки.

РОЗДІЛ 1

ЗНАЧЕННЯ КОЛАГЕНУ ДЛЯ ЛЮДИНИ (Огляд літератури)

1.1. Біологічне значення колагену

Колаген є білком, що характеризується трьома ключовими компонентами: гліцином, проліном та гідроксипроліном. Він синтезується більшістю клітин організму, забезпечуючи еластичність шкіри, здоров'я волоссин, нігтяної пластинки та міцність зубів і кісток. Враховуючи ці властивості, його часто називають «будівельним клеєм» організму. До речі, слово «колаген» у перекладі з латини буквально означає «клей».

До найважливіших функцій колагену належать:

- загоєння шкіри після ушкоджень;
- підтримка гнучкості суглобів;
- стимулювання омолодження шкіри;
- зміцнення нігтів, зубів та волосся.

Відомо 28 типів колагену, проте лише три з них вважаються основними для підтримки здоров'я організму:

Перший тип: відповідає за пружність і водний баланс шкіри, а також за міцність кісток. Найвний у багатьох тканинах організму та сприяє ефективному засвоєнню речовин.

Другий тип: виконує роль захисту для хрящів і суглобів, перешкоджаючи старінню опорно-рухового апарату та розвитку артрити.

Третій тип: забезпечує молодість організму. Його важливість полягає в підтримці здоров'я серцевих клітин та профілактиці серцево-судинних захворювань. У косметології цей тип покращує фізіологічний стан шкіри, робить міцнішим волосся та нігті.

Колаген розділяють також за джерелами його отримання:

Тваринний колаген – найбільш доступний і популярний варіант. Його отримують із шкір та хрящових тканин тварин. Організм добре засвоює цей вид колагену.

Морський колаген – менш поширений і дорожчий через складність виробництва. Його джерелами є риб'яча шкіра та луска. Морський колаген добре засвоюється організмом, але потрібно ретельно дотримуватись вимог збереження.

•Синтетичний колаген – найдорожчий різновид, що виготовляється на основі амінокислот. Його переваги включають однорідність, стабільність, зручність транспортування і зберігання. Водночас синтетичний колаген, як і натуральний, може спричиняти алергічні реакції чи подразнення.

Амінокислотний склад колагену включає 19 амінокислот, серед яких близько 10% становить гідроксипролін – рідкісний компонент, характерний лише для цього білка. Унікальний склад колагену відзначається високою концентрацією гліцину (близько 33%) і проліну (14%), тоді як цистеїн в ньому відсутній. Завдяки високому вмісту гліцину (амінокислоти з найменшою бічною групою), колаген легко утворює циклічні структури. Крім того, пролін та гідроксипролін здатні формувати водневі зв'язки між поліпептидними ланцюгами, що надає волокнам колагену міцності та стійкості до зовнішніх впливів [1].

Колаген застосовують для відновлення молодості шкіри та її зволоження. Основний механізм дії препаратів і кремів на основі колагену полягає у створенні захисної плівки на поверхні шкіри, яка сприяє збереженню водного балансу. Подібні косметичні засоби підходять для щоденного використання.

1.2. Структура та види колагену

Колаген є білком, що становить основну складову волокон сполучної тканини в організмі людини та тварин. Його структура має декілька характерних особливостей порівняно з іншими білками:

- Триплетна структура: кожна молекула складається з трьох взаємозв'язаних α -ланцюгів, формуючи спіральну структуру. Це забезпечує високу міцність колагенових волокон.

- Високий вміст гліцину: завдяки значній кількості цієї амінокислоти, колаген залишається гнучким. Гліцин також відіграє ключову роль у формуванні стабільної потрійної спіралі α -ланцюгів.

- Міжланцюгові зв'язки: вони забезпечують додаткову стабільність і міцність волокон.

- Геліксна структура: завдяки їй колаген здатний витримувати напругу, демонструвати стійкість до розтягування та зберігати свою форму після деформацій.

Основним компонентом колагену є триполіпептидний ланцюг у формі потрійної спіралі, що складається з двох ідентичних $\alpha 1$ -ланцюгів і одного відмінного ($\alpha 2$). Це гетерополімер, який включає 1050 амінокислот, довжиною 300 нм і діаметром близько 1,5 нм. Молекулярна маса становить приблизно 290 тисяч. Колагенові волокна "упаковуються" в шестикутні форми, що створюють фібрилярні структури. Така упаковка може бути листовою або мікрофібрилярною [2].

На даний час ідентифіковано близько 28 типів колагену, які утворені з 46 різних поліпептидних ланцюгів. Попри спільну потрійну спіральну структуру, довжина, розміри та неспірально ділянки різних типів істотно різняться. З них основними є п'ять типів [2] :

I тип: наявний у шкірі, кістках, зубах, сухожиллях, зв'язках, кровоносних судинах і органах; це ключовий елемент органічної частини кісткової тканини.

II тип: головний компонент хряща і тканини очей.

III тип: формує сітчасті волокна, зустрічається у шкірі, м'язах і кровоносних судинах.

IV тип: створює базальну мембрану та пластинки, що секретуються епітеліальними клітинами.

V тип: міститься на поверхнях клітин та в плаценті.

Колаген підтримує структуру більшості тканин у позаклітинному матриці, забезпечуючи клітинам опору до розривів і еластичність. Завдяки

його присутності в сухожиллі, кістці та хрящах тканини стають міцними та пружними. У шкірі колаген перешкоджає проникненню токсичних речовин та патогенних організмів, сприяє її захисту та відновленню після пошкоджень. Також він відіграє важливу роль у загоєнні поранень та регенерації м'якої тканини та судини [1].

Вчені свідчать, що 90% колагена організму людей відноситься до перших трьох типів. Найбільша частка колагена першого типу пов'язана з його розповсюдженістю у сполучній тканині.

Базою колагена першого типу є потрійна спіраль довжиною 300 нм, вона містить три паралельні поліпептидні ланцюги. Потрійні спіралі формують фібрили, розташовані у специфічній конфігурації: N-кінець 2-х осьових спіралей віддалені на 67 нм (D), а колатеральні на $0,54D$. Ця структура утворює чергування областей білку високої та низької щільності вдовж фібрил, яке повторюється з періодом D (див. рис. 1.1.).

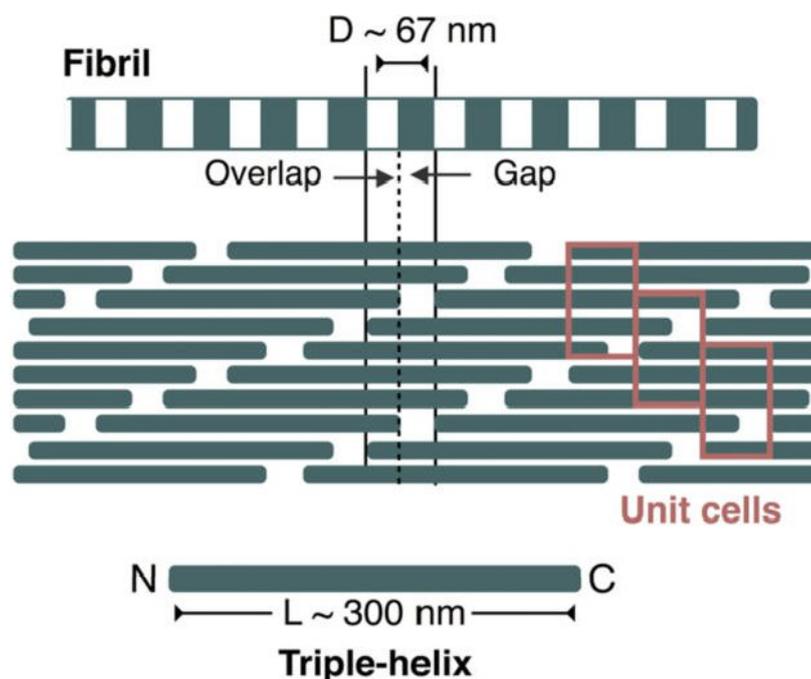


Рис. 1.1. Структура фібрил першого типу

D-періоди є характерними для декількох типів колагену, їх добре видно

за використання ТЕМ «трансмісійної електронної мікроскопії» чи АСМ «атомно-силової мікроскопії». Фібрили в подальшому об'єднуються з іншими молекулами, включаючи протеоглікан, утворює пучки фібрил та волокон, вони утворюють каркаси тканин [3].

Механічна властивість колагена у цій структурній ієрархії узагальнено в таблиці 1.1, яка демонструє показники потрійних спіралей та фібрил/пучків фібрил на основі результатів моделей молекулярної динаміки (МД) та дослідів.

Таблиця 1.1.

Структурні рівні колагена першого типу та їх характеристика

Структурний рівень	r (нм)	l p (нм)	Y (ГПа)	Методика досліджень	T (К)
Тройна спіраль	0,62	83,2	2,9	Рентгенівська	293
	-	14.5	4,5	Оптичним пінцетом	298
	-	12-25	3,7–7,8	АСМ	298
	0,78	-	1.3–2.4	Зменшення енергії	NA
	0,36	12,9	4.2	Збільшений МД	310
Колаген подібна тройна спіраль	-	22,3	4,8	Керув. МД	300
	0,36	12,7	7.0	Керув. МД	300
	0,36	5.1–6.5	4.0	Керув. МД	310
	0,35		1.8–2.3	МД (сила-розтягування)	300
Ядро фібрили	1.75	$4,0 \cdot 10^3$	2.34	МД (деформація)	310
Фібрила або їх пучок	-	-	0,43	SAXS	293
	280–426	$0,8–10,7 \cdot 10^1$	$0,07–0,17$	АСМ	-
	220–570	$0,6–24,7 \cdot 10^1$	0,123	MEMS	-
	116–200	$0,03–1,1 \cdot 10^1$	$0,1–0,36$	Оптичним пінцетом	298

Доведено, що потрійні спіралі менш стійкі порівняно з фібрилами або

їхніми пучками. Ця різниця обумовлена тим, що температурні коливання впливають більше на гнучкіші потрійні спіралі, скорочуючи їхню довжину порівняно з грубішими фібрилами. Потрійні спіралі мають вищий модуль Юнга, внаслідок чого розтягнення фібрили чи пучка спрощується, особливо при невеликих деформаціях [3].

1.3. Джерела виробництва колагена

У виробництві колагену використовуються тваринні або морські джерела. У промислових масштабах найпрактичнішим вибором залишається тваринний колаген. Сировиною для отримання є шкіра, кістки, сухожилля й інші тваринні тканини. Властивості одержуваного колагену такі, як тип, маса молекулярна, вихід – залежать від джерела сировини.

Основним джерелом тваринного колагену є ВРХ, головним чином шкіра і сухожилля. Однак ризики захворювань, таких як BSE «губчастоподібна енцефалопатія» ВРХ чи ящур, спонукають до пошуку безпечніших альтернатив. Також проблемою є алергічність: близько 3% людей мають алергію на тваринний колаген. Наприклад, щоб отримати колаген першого типу використовують переважно ахіллове сухожилля ВРХ. Четвертий тип виготовляють з ворсинок плаценти. Другий тип – з хрящів носа або суглобових хрящів [2].

Колаген зі свинячої сировини також використовується завдяки схожості зі структурою людського колагену, що мінімізує ризик сильної алергії. Його виготовляють зі шкіри та кісток свиней і знаходять застосування у зміцненні сухожиль, відновленні грижі чи загоєнні ран. Однак релігійні вірування обмежують активне використання свинячого колагену [2].

За останнє десятиліття інновації у сфері "зеленої" біотехнології не лише орієнтовані на зниження забрудненості морських екосистем, пошук нових джерел енергії та продуктів харчування, але й спрямовані на створення матеріалів з біомедичним застосуванням. Морське біорізноманіття визнано

безпечним джерелом біологічно активних речовин, серед яких особливе місце займає колаген. Зокрема, риб'ячий колаген, що отримали з луски, шкіри та кісток, широко використовується як основа для різних розробок завдяки своїм унікальним властивостям — біосумісності, низькій антигенності, високій біодеградації та здатності стимулювати ріст клітин. Зараз він поступово витісняє колаген тваринного походження у багатьох сферах.

Однак системи, побудовані на основі морського колагену, мають свої недоліки, пов'язані зі змінністю складу залежно від джерела сировини та відносно низькою температурою плавлення. Тому удосконалення фізико-хімічних і біологічних характеристик морського колагену за допомогою біофізичних методів може значно підвищити його ефективність. Це відкриває потенціал для використання морського колагену як замітника тваринного колагену у виробництві продуктів харчування, косметики та матеріалів для біомедицини [4]. Таблиця 1.2 ілюструє порівняння між тваринним і морським колагеном.

Таблиця 1.2.

Порівняння колагену отриманого з морських та сухопутних тварин

Показники	Походження колагену	
	тваринний	морський
Вартість продукту	дорогий	дешевий
Особливості вилучення	складне (низька доступність)	легке (велика кількість)
Температура плавлення	висока	низька
Ризики застосування для людей	є ризик перенесених захворювань	відсутній ризик перенесених захворювань
В'язкість	висока	низька
Здатність розчинності	в органічному розчиннику	у воді
Амінокислотний склад	низький вміст glx і ala з високим pro	високий вміст glx і ala з низьким pro

Колаген є ключовим структурним білком, який формує еластичні молекулярні сітки, підтримуючи цілісність шкіри й внутрішніх органів у різних живих організмах. Шкірні покриви риб і морських істот також містять цей білок із високою молекулярною масою, подібним до колагену ссавців. Наприклад, у складі колагену медузи високий вміст глутаміну (glx) і аланіну (ala), тоді як проліну (pro) значно менше (78–83 залишки на 1000) в порівнянні з колагеном ВРХ (122 залишки на 1000). Крім того, характерною особливістю медузового колагену є наявність цистеїну та цистину (10–13 залишків на 1000), які не зустрічаються в шкірному колагені великої рогатої худоби. У свою чергу, колаген риби переважно представлений типом І і має три поліпептидні ланцюги довжиною близько 1000 амінокислот кожний. Основна різниця між морським та тваринним колагеном полягає у термічній стабільності: температурний діапазон денатурації морського колагену є нижчою через менший вміст амінокислоти пролін або гідроксипролін. Морський колаген менш стабільний за високих температур, але покращити його властивості можна завдяки спеціальним методам екстракції та гібридним технологіям [4].

1.4. Різноманітні колагенові препарати

Колагенові продукти мають широке застосування у підтримці здорового шкірного чи волосяного покриву, суглобів. Гідролізат колагену є продуктом розщеплення колагену на менші молекулярні фрагменти шляхом фізичної чи хімічної обробки. Він містить значну кількість амінокислот, таких як гліцин, пролін і гідроксипролін, які сприяють зміцненню тканин. Харчова й фармацевтична промисловість активно використовує гідролізат.

Найбільш поширеним видом препарату колагену у харчовій промисловості є білкова речовина та желатин, вона містить усі незамінні амінокислоти й виробляється з колагену шляхом гідролізу. Гідрогель і модифікований композит, створений на базі желатину, застосовуються в харчовій, біомедичній та фармацевтичній галузях, а також у виробництві

пакувальних матеріалів. Їхнім головним перевагами є біосумісність, здатність до біодеградації та стимулювання адгезії клітини. Желатини можуть поглинути воду в 10 раз більше від своєї маси, тому він широко використовується для виготовлення м'яких або жорстких капсул. За температур вище 30°C желатин плавиться й ефективно вивільняє у травному тракті біоактивні, поживні сполуки або активні компоненти лікарських засобів. У своїй структурі желатин має послідовності аргінін-гліцин-аспарагін (RGD), які забезпечують антиоксидантні, антимікробні, регенеративні властивості (підтримка загоєння ран, стимуляція утворення кісткових тканин), корисні у протипухлинній терапії [5].

Желатин є базовим інгредієнтом у багатьох продуктах біомедичного та косметичного призначення. Його застосовують для виготовлення капсул, ранових пов'язок, покриттів для таблеток та мікрочастинок, стабілізації емульсій і доставки ліків (у мікросферах, наносферах, гідрогелях чи мікроголках). Крім того, желатин використовується у генній терапії, тканинній інженерії й для створення імплантатів та замінників кісткової тканини.

Особливо перспективним стає використання риб'ячого желатину. Він імунологічно безпечний, виключає ризик зараження зоонозними хворобами і підходить для людей із релігійними харчовими обмеженнями, зокрема мусульман, іудеїв чи індуїстів. Завдяки унікальним реологічним властивостям риб'ячий желатин навіть перевершує желатин тваринного походження в окремих застосуваннях. Його легко модифікують для поліпшення механічних характеристик [5].

Ще одним видом колагенових препаратів є екстрагований колаген. Це очищена від домішок речовина, отримана зі шкіри, хрящів чи інших тканин тварин (зазвичай свиней, великої рогатої худоби) або риби. Завдяки своїм властивостям екстрагований колаген знаходить застосування в харчовій, медичній і косметичній промисловості. У харчовій галузі він є складовою напоїв, кондитерських виробів та інших продуктів. У фармацевтиці він

служить складником кремів, таблеток чи капсул. У косметиці колаген використовують для догляду за шкірою й волоссям – він робить шкіру еластичнішою, розгладжує зморшки та запобігає старінню. Додаючи цей компонент у шампуні й кондиціонери, можна також суттєво зміцнити волосся.

1.5. Аналіз ринку колагенових косметичних засобів

Щодо косметики з колагеном, ринок цих засобів демонструє стрімке зростання й значний потенціал. Колаген відіграє ключову роль у підтримці здоров'я шкіри, волосся і нігтів, тому різні креми, лосьйони, маски та сироватки на основі цієї речовини завойовують дедалі більшу популярність серед споживачів.

Колаген може виступати ключовим компонентом косметичних продуктів або додатковим інгредієнтом їх складу. Тож не дивно, що виробники косметики дедалі частіше додають його до своєї продукції. Аналіз косметичного ринку з колагеном, зроблений фірмою «Grand View Research» у 2022 році, спрогнозували, що обсяги цього сегмента зростуть із 4,2 до 6,5 мільярда доларів у 2027 році. Це напряму пов'язано зі збільшенням популярності здорового способу життя, збалансованого харчування та попиту на натуральні й екологічно чисті засоби для догляду. Більшість таких продуктів містять гідролізований колаген, який добре засвоюється організмом, а кількість інноваційних розробок, таких як маски, креми для обличчя чи зволожуючі засоби для волосся з колагеном, постійно зростає.

Ринок пропонує різноманіття категорій косметики з колагеном: креми для обличчя, сироватки, засоби для догляду за очима, маски, шампуні й кондиціонери для волосся, засоби для нігтів тощо. До складу цих продуктів входять різні форми колагену – гідролізований колаген, пептидні сполуки або колагенова емульсія.

Щодо каналів дистрибуції, косметика з колагеном поширюється через роздрібні та онлайн магазини, спеціалізовані косметичні бутики, аптеки й

супермаркети. Онлайн-продажі демонструють особливо швидкий ріст.

На розвиток ринку впливають такі чинники, як високий попит на органічну продукцію, обізнаність споживачів про користь колагену для здоров'я та краси, а також популярність азійської косметики. Серед провідних брендів можна виділити L'Oreal, AmorePacific, Kao Corporation, Shiseido, Unilever, Procter & Gamble, Estee Lauder, Avon Johnson & Johnson, та інші. В Україні також представлений широкий асортимент косметики з колагеном (Дод. А).

Висновки першого розділу:

1. Колаген – це білок із унікальним амінокислотним складом (гліцин, пролін та гідроксипролін), важливий для забезпечення міцності та еластичності шкіри, нігтів і суглобів. Його синтезує сам організм людини.

2. Залежно від походження сировини виділяють три основних види колагену: тваринний, морський і синтетичний. Використання цього білка охоплює фармацевтику, косметологію, харчову й біомедичну індустрію тощо.

3. Сфера застосування включає доглядову та декоративну косметичку, лікарські препарати для шкіри, косметологічну продукцію та навіть біологічно активні добавки.

4. Косметика з колагеном покращує стан шкіри, бореться з віковими змінами й захищає шкіру від негативних зовнішніх факторів. Однак ефективність таких засобів залежить від концентрації колагену та інших складників. Важливо враховувати індивідуальні особливості людини та можливість виникнення алергічної реакції.

РОЗДІЛ 2

ХАРАКТЕРИСТИКА БІОЛОГІЧНОГО АГЕНТА

2.1. Характеристика цільового продукту

Найпоширеніший вид колагену в людському організмі, який відіграє важливу структурну роль у кількох тканинах. Це колаген типу I і належить до фібрилярних типів колагену. Колаген цього типу є основним компонентом зрілого сухожилля та зв'язок, він надає міцність та стійкість до ваги. Фібрили колагена першого типу формуються шляхом пакування потрійних спіральних структур поліпептидів. Більш складні утворення, пучок фібрил чи волокон, формуються з інших колагенових молекул чи не колагенових [11-12].

Косметична промисловість випускає колаген у формі порошків та гелів. У цій роботі пропонується використовувати гелевий колаген. При виробництві косметичних кремів може застосовуватися різна сировина тварин: шкіри, кістки та хрящі, також морський колаген. При виробництві колагену для косметичної галузі дотримуються вимог зазначені в першому додатку пункт 7 підпункт 8 Регламенту Європейського Союзу № 853 від 29. 04. 2004 року [12]. Проте вимоги до косметичних кремів із колагеном можуть відрізнятися залежно від країни виробника.

Як правило, у виробництві косметичних продуктів застосовується сировина, яка є безпечною, високоякісною та дозволеною до використання. У цій роботі передбачається екстрагування колагену з шкіри ВРХ.

Косметичний крем створюється із суміші натуральних і синтетичних компонентів: жир, віск, олія, вода, емульгатор, трав'яний екстракт або настої, вітамін, барвник, антиоксидант, консервант, ароматизатор. Усі ці інгредієнти визначають функціональні властивості кінцевого продукту. Косметичні креми поділяють на три основні види: емульсійні креми, жирові креми та креми на гелієвій основі [16].

Основні вимоги показників якості косметичного крему із колагеном

включають:

- Безпеку продукту: Крем не повинен містити шкідливої чи забороненої речовини та повинні бути безпечними для користування.

- Показники якості та стабільності: Крем повинен відповідати нормативному документу й залишатися стабільним протягом заявленого терміну придатності.

- Маркування: Упаковка крему вміщує інформацію про його склад та інструкцію з використання; має бути зазначений термін придатності.

- Перелік барвників (за потреби) подається окремо наприкінці списку інгредієнтів.

- Документація: Виробник зобов'язаний мати документацію щодо колагену, використаного в кремі, характеристик самого продукту та підтвердження його безпечності.

- Стандарти якості: Продукція має відповідати національним стандартам чи міжнародним ISO.

Зазначимо, що з 01 січня 2009 року в Україні діяв стандарт «Крем косметичний» (ДСТУ 4765:2007). Проте його скасували 01 жовтня 2019 року у зв'язку з приєднанням України до міжнародних організацій зі стандартизації CEN та CENELEC, а також отриманням статусу партнера в IAF. Це дозволило узгодити українські стандарти із вимогами ЄС.

З метою підтримання максимального рівня безпечності косметичної продукції КМУ 20 січня 2021 року затвердив Технічний регламент на косметичну продукцію. Документ розроблений на основі Регламенту Європейського Союзу № 1223/2009 і встановлює вимоги до косметичних засобів, що продають.

Органолептичні та фізико-хімічні показники косметичних кремів також мають відповідати вимогам, викладеним у таблиці 2.1. Значення окремих характеристик для конкретного продукту зазначаються у його технічних вимогах.

Косметичні креми за мікробіологічними показниками повинні

відповідати вимогам, зазначеним у таблиці 2.2 [16-17]. Від 20 січня 2021 року КМУ ухвалив Постанову про затвердження Технічного регламенту косметичної продукції, вона визначає низку вимог до косметичних виробів, що представлені на ринку [17]. Основна мета регламенту – забезпечення високого рівня захисту здоров'я людини. Цей документ розроблено на основі Регламенту Європейського Союзу косметичної продукції, затвердженого 30 листопада 2009 року (№ 1223/2009) Європейським Парламентом.

Таблиця 2.1.

Фізико-хімічні та органолептичні показники косметичних кремів

Показник	Характеристика		
Вигляд	Однорідна маса, не має сторонніх домішок		
Запах	Властивий запаху, який встановлений у технічних вимогах		
Колір	Властивий кольору, який встановлений у технічних вимогах		
Масова частка води та речовин летких, %	5,0 — 98,0	—	5,0 — 98,0
Водневий показник (рН)	5,0 — 9,0		
Колоїдна стабільність	Стабільна	—	Стабільна
Температурна стабільність	Стабільна		Стабільна
Температура при краплепадинні, °С	—	39 — 55	—

Косметичні креми також повинні відповідати вимогам ДСанПіН 2.2.9.027-99 «Державні санітарні правила і норми безпеки продукції парфумерно-косметичної промисловості», затверджених МОЗ. Оцінка безпечності косметичної продукції згідно з технічним регламентом передбачає аналіз таких показників:

1. Кількісний і якісний склад продукту.

2. Фізико-хімічні властивості та стабільність за умов стандартного зберігання.

3. Мікробіологічна якість.

4. Вміст домішок.

5. Умови застосування та їхній вплив на споживачів.

6. Токсикологічний профіль складників (за потреби).

Таблиця 2.2.

Мікробіологічні показники косметичних кремів

Показник	Характеристика і рівень показника
Кількість наявних аеробних і факультативно анаеробних мікроорганізмів, КУО/г (см ³)	1000
<i>Enterobactereaceae</i> в 1 г (см ³)	Немає
<i>Staphylococcus aureus</i> в 1 г (см ³)	Немає
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> в 1 г (см ³)	Немає
Наявність дріжджів та пліснявих грибів, КУО/г (см ³), не більше ніж	100

2.2. Особливості біологічного агенту

Під час гідроліза колагену за допомогою ферментів використовують ферменти - ензими, зокрема ліпази, амілази і протеази [20-20]:

Ліпази є універсальними ферментами, отримання яких можливе з тваринної, рослинної або мікробної сировини. Для мікробного синтезу використовуються такі мікроорганізми, як *Achromobacter* spp., *Aspergillus* spp., *Bacillus* spp., *Arthrobacter* spp., *Alcaligenes* spp., *Penicillium* spp., *Pseudomonas* spp., *Fusarium* spp. Знаходять широке застосування ліпази в

харчовій, фармацевтичній промисловостях та у виготовленні засобів косметики.

Фермент амілаза сприяє розщепленню вуглеводів і переважно утворюється у слинних та підшлункових залозах [18]. Для промислового мікробного синтезу амілази використовують *Saccharomyces cerevisiae* чи *Escherichia coli*.

Пепсин – протеаза, яка розщеплює білки, каталізуючи гідроліз пептидних зв'язків див. рис. 2.1. [18]. Його активно застосовують у харчовій, фармацевтичній та інших галузях.

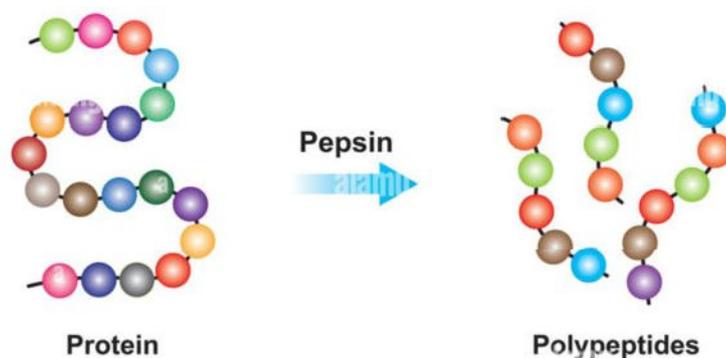


Рис. 2.1. Дія протеази на протеїн

При ферментативному гідролізі колагена використовують окремий фермент чи їх поєднання зі спеціальними речовинами, які створюють оптимальний рівень рН. Пепсини і інші протеїнази активні при рН 2,0–3,5; такі ферменти, як трипсин чи папаїн, діють при нейтральному рН 6,0–8,0; лужні протеїнази проявляють активність при рН вище 8[20].

Наразі найчастіше для гідролізу використовують мікробні протеази. Організми роду *Bacillus* проявляють високу ефективність у різних біотехнологічних процесах завдяки своєму багатофункціональному потенціалу.

Штами *Bacillus licheniformis*, отримані методом мутагенезу, виділяються високою продуктив. Їх активно застосовують для одержання ферментів, антибіотиків і пробіотиків.

Сучасні дослідження активно вивчають можливості використання

продуктивних штамів *Bacillus licheniformis*, які отримують за допомогою методу мутагенезу. Продукти життєдіяльності таких штамів, зокрема отримані протеази, демонструють активність у широкому діапазоні рН від 5,5 до 12,0 та температур від 30 до 70°C. Завдяки цьому вони здатні виконувати гідроліз колагеновмісної сировини з ефективністю до 99 % від її маси протягом 24 годин.

Коротка характеристика *Bacillus licheniformis*: грампозитивна бактерія паличкоподібної форми, належить до мезофільних організмів. Вона широко розповсюджена у ґрунтових та водних екосистемах. Ця універсальна бактерія здатна продукувати різноманітні ферменти, такі як протеази, амілази та ліпази. Важливо зазначити, що *Bacillus licheniformis* не патогенний мікроорганізм.

Морфологічні особливості:

- бактерії є грампозитивними і спороутворюючими,
- розміри клітин становлять в діаметрі 0,5–1,2 мкм і у довжину 2–4 мкм.
- форма клітин циліндрична.

Фізіолого-біохімічні характеристики:

- Аеробний організм.
- Здатний рости при температурі від 10 до 55 °С, оптимальна температура культивування – 37 °С.
- Поєднані значення рН середовища варіюються від 5 до 10, оптимальний діапазон — 7,3–7,8.
- Висока швидкість гідролізу казеїну та розрідження желатину.
- Може розвиватися на середовищах із азотним джерелом у вигляді амонійних солей.
- Росте на середовищі, у складі яких є дріжджові клітини.

Процес вирощування *Bacillus licheniformis* з метою забезпечення ферментами складається з кількох ключових етапів:

1. Підготовка поживного середовища.

2. Культивування мікроорганізму.

3. Збір ферментів із використанням методів ультрафільтрації, гель-фільтрації та електрофорезу.

У дослідженнях застосовується високопродуктивна бактерія *Bacillus licheniformis* DMN6, яка синтезує трипсин [19]. Ферментна активність, отримана мікробним шляхом, дорівнює 140 Од/мл, це значно вище порівняно з початковими показниками (20 Од/мл). Після очищення методами електрофорезу активність досягає 350 Од/мг. Оптимальні умови для функціонування ферменту: температура 65 °С і рН 9,0. Синтезований трипсин демонструє високу стабільність (рН>8) й активність навіть за знижених температур.

Розроблений штам *B. licheniformis* DMN6 пропонуємо для промислового застосування у таких сферах:

- - Екстракція колагену.
- - Тканинна інженерія.
- - Переробна та хімічна промисловість.

Особливості штама *B. licheniformis* DMN6 :

- Грам-позитивна паличкоподібна бактерія.
- Зовнішній вигляд колонії – плоска, суха, непрозора з нерівними краями на LB середовищі.
- За використання середовища з знежиреного молока колонія має світло-жовтий колір.
- Наявність джгутиків, підтверджена трансмісійною електронною мікроскопією.

Оптимальні умови для культивування штаму:

Максимальна активація трипсина досягається за 84 годин культивування за температури 37 °С і початкового рН 6,0. Знижені температури або надто кисле чи лужне середовище пригнічують активність фермента.

В складі поживного середовища мається по 15 г/л кукурудзяне

борошно, як джерело вуглецю, та соєвий пептон, як джерело азоту. Перебільшення концентрації цих компонентів стимулює клітиноутворення, при цьому падає ферментна активність.

Щоб активізувати синтезований трипсин рекомендується додавати до середовища 5 мМ Fe^{3+} або Mg^{2+} . Іони магнію сприяють росту клітин, але у великих концентраціях пригнічують ферментативну активність.

Після культивування проводять такі процедури:

1. Центрифугування культурального бульйону за температури 4 °С впродовж 20 хвилин за швидкості 18000 об/хв.
2. Очищення супернатанту.
3. Концентрування неочищеного ферменту з подальшим діалізом Tris-HCl у 50 мМ буфері (рН 8,0) протягом 8–10 годин.

Процес очищення трипсину здійснюється за допомогою кількох методів:

1. Іонно-обмінна хроматографія, яка базується на розділенні білків відповідно до їхнього заряду. У цьому методі застосовується поліакриламідний сорбент, модифікований етилендіаміном.

2. Гель-фільтрація, вона розділяє білки за розміром, використовуючи поліакриламідний сорбент із порами розміром 10–300 Å.

У очищеного трипсину питома активність складає 350,0 Од/мг. Його молекулярна маса дорівнює приблизно 44 кДа.

Понад 70% максимальної активності фермент має за температурного діапазону 5–25 °С. Завдяки таким властивостям синтезований трипсин може бути використаний для розщеплення пептидів в шкірах тварин, сприяючи отриманню високого виходу колагену під час ферментативного гідролізу.

Очищений трипсин відноситься до лужних протеаз із активністю в межах рН 8,0–10,0, при цьому оптимальний рівень рН складає 9,0. Каталітична ефективність ферменту, яка демонструє здатність трипсину каталізувати хімічні реакції, становить $491,9 \text{ мМ}^{-1} \text{ хв}^{-1}$.

РОЗДІЛ 3

ТЕХНОЛОГІЧНИЙ ПРОЦЕС ВИРОБНИЦТВА І КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ КОЛОГЕНУ

3.1. Технологія виробництва колагену

Виробництво починається з проведення підготовчих заходів, які включають санітарну підготовку виробництва. Ця стадія охоплює кілька етапів: підготовку персоналу, приміщень, обладнання, а також повітря і води.

Виробництво колагену передбачає використання шкір ВРХ. Перед початком процесу гідролізу шкіра зберігається в морозильних камерах. З огляду на те, що використовується тваринна сировина, цикл підготовки передбачає такі операції: розморожування та промивання сировини, розрізання на шматочки, дегідратацію (ферментативне і механічне), повторне промивання, подрібнення й гомогенізацію.

Розморожену сировину промивають водою чотири рази. Велику шкуру ріжуть шматками 30 см². Дегідратація здійснюється із застосуванням ферментного препарату, отриманого шляхом вирощування бактерії *B. licheniformis* DMN6, при температурі 25 °С. Витрати препарату становлять 0,03–0,1% сировиної маси. Коли шерсть легко відділяється, що зазвичай триває 6–8 годин, процес завершується. Після цього шматочки шкіри добре промивають у змінній воді три рази.

Очищену від шерсті сировину грубо подрібнюють і гомогенізують. Для видалення баластних речовин гомогенізовану сировину очищують протягом доби за допомогою хімічного реактора об'ємом у п'ять разів більшим за об'єм 0,1 М фосфатний буфер рН 7,9±0,1. Після завершення цього етапу сировина промивається, віджимається за допомогою центрифуги та стерилізується, після чого перекачують у реактор для проведення гідролізу ферментативного.

При ферментативному гідролізі використовують трипсин, який отримують способом культивування штама бактерії *B. licheniformis* DMN6. Екстрагування відбувається в процесі перемішування і аерації за трикратного

об'єму робочого розчину. Температурний інтервал становить 22–25 °С, показник рН – 8,7–9,2. Гідроліз триває 36 год. з регулярним контролем кількості азоту загального, рівня рН і температури. Якщо необхідно, в процесі можна додати ферментний препарат у співвідношенні колагенвмісна сировина до препарату як 150:1.

Очищують гідролізат використовуючи гель-фільтрацію, ультрафільтрацію після, за допомогою сепаратора, ділять на фракції. Мембранна фільтрація (додаткова) здійснюється використовуючи принцип осмоса: через трубчасті або пласкі мембранні фільтри проходять лише пептиди. Залишок сировини повторно гідролізують. Концентрування гідролізату проводять шляхом випарювання вакуумного.

Колаген у формі гелів фасують у флакони зі скла чи пластика на фасувальній лінії, маркують і відправляють зберігання.

Технологічна лінія містить нейтралізацію та утилізацію твердих, рідких і газоподібних відходів. Графічна схема процесу наведена на рисунку 3.1.

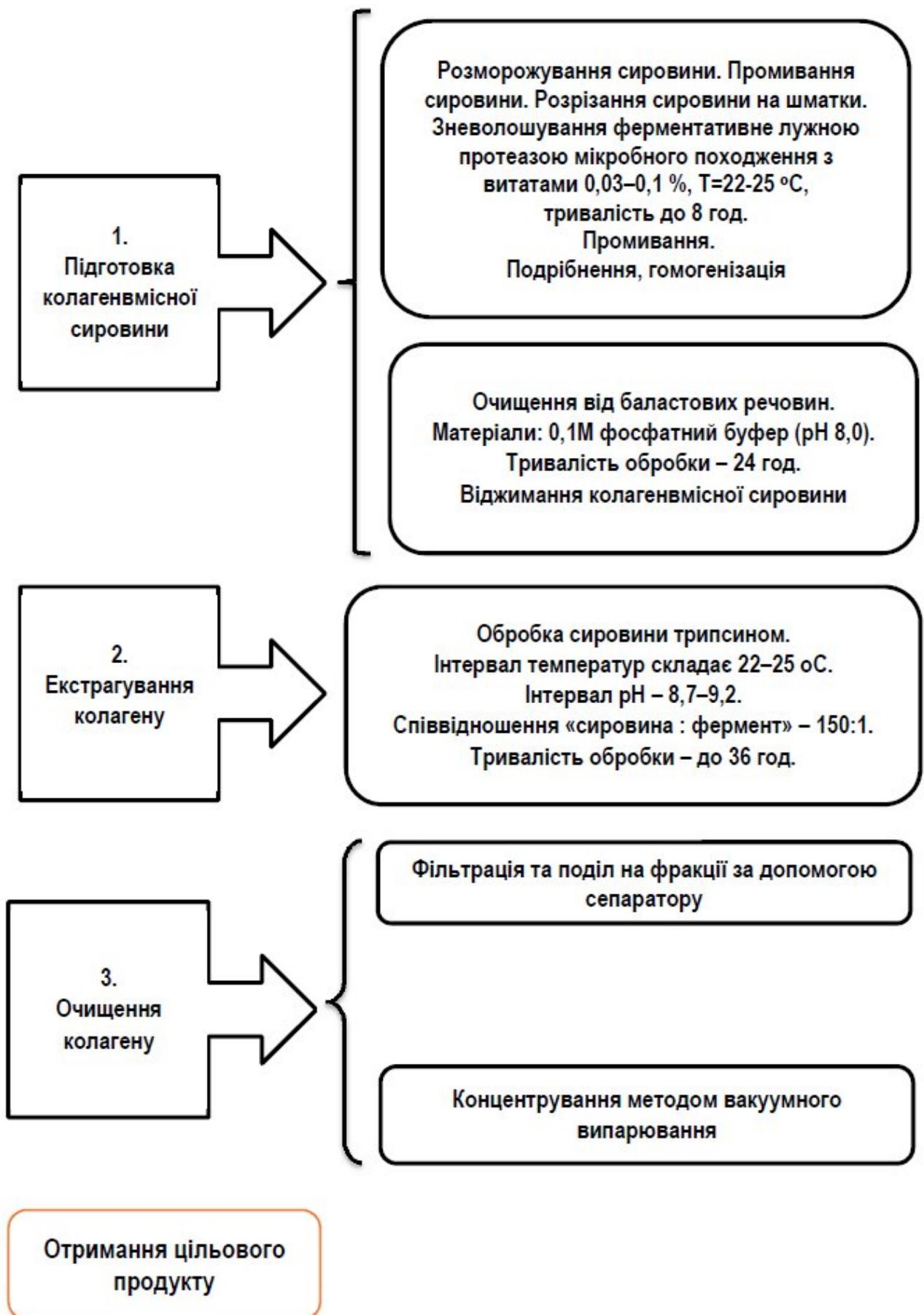


Рис. 3.1. Отримання колагену

3.2. Вибір устаткування для забезпечення виробництва колагену

Для успішного гідролізу колагена ферментативного здійснюють процес подрібнення або гомогенізації сировини на етапі підготовчих операцій. Це дозволяє збільшити питому поверхню матеріалу під час екстрагування. У цій роботі пропонується використовувати промисловий кутер, зображений на рисунку 3.2 [22], а його технічні характеристики представлені у таблиці 3.1.



Рис. 3.2. Зовнішній вид кутера SPM 50 LT 2-SPD OZTI

Серед основних параметрів, що обумовлюють вибір даного кутера:

1. Наявність налаштувань швидкості;
2. Панель електронна для роботи в безперервному або імпульсному режимах;
3. Система магнітна для безпечної роботи;

Таблиця 3.1.

Показники кутера SPM 50 LT 2-SPD OZTI

Показники	Рівень показників
Матеріал	нержавіюча сталь
Матеріал ножів	загартована нержавіюча сталь AISI 42 0
Швидкість обертання ножів, об / хв.	1500–3000
Об'єм кутера, л	50

Загальна потужність кутера, кВт	4,7–6,0
---------------------------------	---------

4. Висока продуктивність;
5. Здатність витримувати інтенсивну експлуатацію;
6. Робота без значної вібрації;
7. Простота очищення завдяки легкому розбиранню всіх деталей;
8. Леза ріжучі високої якості, а саме з нержавіючої загартованої сталі, які можна заточувати.

Для виконання рідинних процесів запропонували застосувувати технологічний реактор - стандарт GMP від української компанії STS Group [21], див. рис. 3.3.



Рис. 3.3. Технологічний реактор STS Group

Даний реактор використовується у галузях: косметична, фармацевтична і хімічна та має об'єм 500 літрів. Він герметичний, має водяну сорочку, мішалку і гомогенізатор. Поверхня, що контактує із продуктами, виготовлена зі сталі нержавіючої марка AISI 316L, конструкція відповідно вимозі GMP. Гомогенізатор, розташований на дні реактора створює гомогенну структуру продукту, використовуючи рухому фрезу і стаціонарну решітку. Детальні технічні характеристики реактора наведені у таблиці 3.2.

Таблиця 3.2.

Характеристика показників реактору

Показник реактору	Характеристика показників
Об'єм, л	500
Форма кришки реактору	Еліптична
Форма дна реактору	Конічна
Матеріал деталей, які контактують з продуктом	нержавіюча сталь марки AISI 316L
Матеріал деталей, які не контактують з продуктом	нержавіюча сталь марки AISI 316L
Шорсткість обробки поверхні, яка контактує та не контактує з продуктом	Ra 0,6. Полірування
Потужність реактору, кВт	27
Потужність мішалки з скребками, кВт	3
Потужність елемента сорочки - тен, кВт	2 x 9 = 18
Потужність дисольвера, кВт	5.5
Частота обертання дисольвера, об/хв.	0-3000
Частота обертання якірної мішалки, об/хв.	0-60
Люк завантажувальня DN 300, шт.	1
Оглядове віконце DN 80, шт.	1
Лампа всередині реактора, шт.	1
Технологічний штуцер підведення продукту Clamp DN 40, шт.	2
Технологічний штуцер підведення продукту Clamp DN 25, шт.	5
Зливний кран DN 50, шт.	1

Для концентрування високомолекулярних сполук із одночасним очищенням від низькомолекулярних компонентів застосовується метод ультрафільтрації. Процес проводять під тиском 7–8 МПа, використовуючи

мембрани з розміром пор близько 0,1 мкм, виготовлені з полімерів, таких як складний ефір целюлози, поліуретан, полівініловий спирт [24]. Для цього використовують центрифугу (рис. 3.4.), що має середню продуктивність Alfa Laval Culturefuge 200 і вакуум-випарної установки ВВУ-500 [25] виробництва української компанії "ПВ" (Черкаси), наведена на рисунку 3.5.



Рис. 3.4. Центрифуга Alfa Laval Culturefuge 200

Дана центрифуга застосовується в біофармацевтичній промисловості для відбору клітин чи білків. Устаткування виготовлене відповідно до стандартів GMP і оснащено комп'ютерною системою для управління та моніторингу процесів. Центрифуга має герметичну конструкцію з можливістю стерильного введення матеріалів, а також підтримує безрозбірну мийку, що гарантує її ефективну стерилізацію.

Вакуум-випарна установка ВВУ-500 (рис. 3.5) відповідає стандартам GMP EU і дозволяє концентрувати розчини нелетких речовин у процесі кипіння рідини за умов відсутності повітря. Установка складається з:

- Реактора-випарника об'єм 500 л;
- Теплообмінника з площею теплообміну 2,2 м²;
- Збірник, робочий об'єм 500 л.

Блок управління обладнано частотним регулятором для контролю обертів мішалки, регулятором температурного режиму та дисплеєм для відображення даних із вакуумного сенсора. Автоматизована система управління забезпечує підтримання встановленої глибини вакууму, контроль і налаштування параметрів технологічного процесу, а також має функцію збереження параметрів для різних технологічних регламентів.



Рис. 3.5. Вакуум-випарна установка ВВУ-500

Готовий продукт фасують у герметично закриті флакони, які зберігаються в холодильних умовах протягом не більше ніж 6 місяців.

3.3. Контроль якості виробничих процесів

Контроль проводиться на всіх етапах, включаючи підготовку, технологічні стадії та оцінку якості кінцевого продукту. Особливу увагу приділяють контролю тваринної сировини та екстрактованого колагену. Відстежується також діяльність персоналу на всіх етапах виробництва.

Охорона та безпека навколишнього середовища. Виробничі приміщення підприємства повинні відповідати вимогам до вентиляції, опалення та водопостачання, зокрема нормативам ДСТУ Б А.3.2-12:2009, ДСанПіН 2.2.4-171-10 і ДБН В.2.5-67:2013. Контроль повітря робочої зони проводять згідно з ДСТУ-Н Б А.3.2-1:2007 [26]..

До процесу технологічного виробництва застосовуються вимоги відповідно до ДСТУ 3273-95. Пожежна безпека гарантується через виконання положень стандартів ДСТУ 8828:2019 і НАПБ А.01.001-2014. Для ліквідації пожеж застосовуються вогнегасники порошкового типу, вода у формі дрібнодисперсного розпилення, піногенератори та рідкого діоксиду вуглецю [23].

Робітників забезпечують індивідуальними засобами захисту, серед яких захисний одяг за ДСТУ EN ISO 13688:2016, окуляри за ДСТУ 7239:2011, гумові рукавиці за ДСТУ EN 420:2017 тощо відповідно до чинної нормативної документації.

Контролювання викидів ШР у повітря роблять відповідно до санітарних регламентів, а охорону ґрунту проводять згідно з нормами тримання території населеного пункту (Наказ №145 від 17.03.2011). Утилізація промислових відходів здійснюється за нормативами ДСТУ 2195-99.

Технічний контроль устаткування. Охоплює процедури перевірки, вимірювань, аналізу та оцінювання параметрів систем і машин для забезпечення їхньої безпеки, стабільності та ефективності роботи. Сюди входять регулярні технічні огляди та обслуговування ключових вузлів (насос, дозуючий пристрій, конвеєр) для своєчасного виявлення й усунення несправностей або недоліків у роботі. Крім того, контроль дозволяє перевіряти точність дозування, стан окремих компонентів і відповідність устаткування встановленим стандартам безпеки.

Контроль сировини цільового продукту. Реалізовується через гістолого-бактеріологічний аналіз із застосуванням мікроскопії зрізів структури дерми шкіри. Використання матеріалів із ознаками бактеріального ураження категорично заборонено.

Для перевірки якості готового продукту використовується хроматографія, яка дозволяє ідентифікувати амінокислотний склад колагену й оцінити його кількісний вміст. Дослідження амінокислотного складу

цільового продукту виконуються за допомогою секвенсора (рис. 3.6).



Рис. 3.6. Секвенатор PPSQ (Японія)

Застосовуваний секвенатор серії PPSQ забезпечує автоматичну деградацію білків і пептидів за методом Едмана, поєднану з розділенням продуктів реакції та високочутливим виявленням, а також використовує потужне програмне забезпечення для аналізу результатів. Це гарантує швидке й точне визначення амінокислотних послідовностей. Моделі PPSQ відрізняються кількістю реакторів: один реактор у PPSQ-51A або три реактори у PPSQ-53A [27].

Чистота гелів колагену оцінюється методом електрофорезу в поліакриламідному гелі. Це дозволяє виявити наявність сторонніх білкових структур чи колагену інших типів у зразках екстрагованого колагену.

Лабораторний мікробіологічний аналіз цільового продукту включає перевірку на:

- наявність *E. Coli*,
- наявність *Staphylococcus*,
- наявність *Pseudomonas aeruginosa*.

ВИСНОВКИ ТА ПРОПОЗИЦІЯ

1. У роботі визначено ключові напрямки використання колагену, зокрема перспективи його застосування у виробництві косметичних засобів. Проведене маркетингове дослідження ринку підтвердило доцільність промислового виробництва колагену, зважаючи на зростаючий попит і економічну вигідність цього процесу.

2. Для виготовлення колагену ми обрали сировину тваринного походження — шкури ВРХ. Біологічним агентом запропоновано використовувати лужну протеазу мікробного походження. Трипсин, застосований у технологічному процесі, отримано шляхом культивування високопродуктивного штаму DMN6 бактерії *V. licheniformis*. Застосування трипсину мікробного походження забезпечує проведення гідролізу за низьких температур із збереженням тілопептидів у цільовому продукті.

3. Методика виробництва включає підготовчі етапи, реалізацію безпосереднього технологічного процесу, а також утилізацію і знешкодження відходів. Розроблено блок-схему технології виготовлення колагену. Виробничому процесу запропоновано обладнання, зокрема кутер марки SPM 50 LT 2-SPD OZT, реактори STS Group, центрифугу Alfa Laval Culturefuge 200 з мембранними фільтрами, а також вакуум-випарну установку ВВУ-500.

4. Значну увагу приділено питанням якості виробництва. Описано вимоги охорони і безпеки навколишнього середовища, проведено аналіз технічних характеристик обладнання. Визначено необхідність обов'язкового контролю якості як сировини, так і кінцевого продукту.

ПРОПОЗИЦІЯ

У технології ферментативного гідролізу колагену використовувати лужну протеазу трипсин, отриманого при культивуванні високопродуктивного штаму *Bacillus licheniformis* DMN6.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Gauza-Włodarczyk M., Kubisz L., Włodarczyk D. Amino acid composition in determination of collagen origin and assessment of physical factors effects. *Int J Biol Macromol.* 2017. № 104. P. 987–991. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.07.013>
2. Silvipriya K. S., Krishna Kumar K., Bhat A. R., Dinesh Kumar B., Anish J. Panayappan lakshmanan – Collagen: Animal Sources and Biomedical Application. *Journal of Applied Pharmaceutical Science.* 2015. Vol. 5(03). P. 123–127. <http://dx.doi.org/10.7324/JAPS.2015.50322>
3. Varma S., Orgel J.P., Schieber J.D., Biophys J. Nanomechanics of Type I Collagen. *Biophys J.* 2016. Vol. 111(1). P. 50–56. <https://doi.org/10.1016%2Fj.bpj.2016.05.038>
4. Subhan F., Ikram M., Shehzad A., Ghafoor A. Marine Collagen: An Emerging Player in Biomedical applications. *J Food Sci Technol.* 2015. Vol. 52(8). P. 4703–
7. <https://doi.org/10.1007/s13197-014-1652-8>
5. Al-Nimry S.; Dayah A. A.; Hasan I.; Daghmash R. Cosmetic, Biomedical and Pharmaceutical Applications of Fish Gelatin/Hydrolysates. *Mar. Drugs.* 2021. Vol. 19(3). P. 145. <https://doi.org/10.3390/md19030145>
6. Нічний крем з колагеном. URL: <https://zajashop.com.ua/> (дата звернення 02.08.2023).
7. Ліфтинг крем для обличчя з колагеном. URL: <https://hollyskin.com.ua/> (дата звернення 02.08.2023)
8. Сироватка для обличчя з колагеном. URL: <https://bielenda.ua/> (дата звернення 02.08.2023).
9. Альгінатна маска з ліфтинг ефектом та колагеном. URL: <https://www.jokoblend.ua/> (дата звернення 02.08.2023).
10. Шампунь з колагеном. URL: <https://xiaomoxuan.ua/> (дата звернення 02.08.2023).

11. Маска для обличчя з колагеном. URL: <https://hollyskin.com.ua/> (дата звернення 02.08.2023).
12. Відновлююча сироватка з колагеном і шовком для контуру очей. URL: <https://ua.pielcosmetics.com/> (дата звернення 02.08.2023).
13. К. Henriksen, M.A. Karsdal, Chapter 1 - Type I Collagen, Editor(s): Morten A. Karsdal, Biochemistry of Collagens, Laminins and Elastin, Academic Press, 2016 P. 1–11. <https://www.researchgate.net/publication/316188904>
14. Varma S, Orgel JP, Schieber JD. Nanomechanics of Type I Collagen. *Biophys J.* 2016 Jul 12 ;111(1):50-6. <https://doi:10.1016/j.bpj.2016.05.038>
15. Регламент Європейського Парламенту і Ради (ЄС) № 853/2004 від 29 квітня 2004 р. Про встановлення спеціальних гігієнічних правил для харчових продуктів тваринного походження. URL: https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/994_a99#Text (дата звернення 10.10.2023)
16. ДСТУ 4765:2007. Креми косметичні. Загальні технічні умови. Видання офіційне (затверджено та надано чинності: наказ Держспоживстандарту України від 28 квітня 2007 р., уведено вперше), Національний стандарт України, Київ ДЕРЖСПОЖИВСТАНДАРТ УКРАЇНИ, 2008.
17. Постанова «Про затвердження Технічного регламенту на косметичну продукцію» URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/65-2021-%D0%BF#Text> (дата звернення 10.10.2023).
18. Chandra, P., Enespa, Singh, R. et al. Microbial lipases and their industrial applications: a comprehensive review. *Microb Cell Fact.* 2020. 19(169). <https://doi.org/10.1186/s12934-020-01428-8>
19. Akinfemiwa O, Zubair M, Muniraj T. Amylase. In: StatPearls. *StatPearls Publishing, Treasure Island (FL)*. 2022. PMID: 32491670 <https://europepmc.org/article/nbk/nbk557738>
20. I. Michael Samloff, Peptic Ulcer: The Many Proteinases of Aggression, *Gastroenterology.* 1989. Vol.96, Issue 2, Part 2. P. 586–595..

[https://doi.org/10.1016/S0016-5085\(89\)80054-X](https://doi.org/10.1016/S0016-5085(89)80054-X)

21. Gong J-S, Li W, Zhang D-D, Xie M-F, Yang B, Zhang R-X, Li H, Lu Z-M, Xu Z-H, Shi J-S. Biochemical Characterization of An Arginine-Specific Alkaline Trypsin from *Bacillus licheniformis*. *International Journal of Molecular Sciences*. 2015. 16(12). P. 30061–30074. <https://doi.org/10.3390/ijms161226200>
22. Технологічне обладнання КУТЕР SPM 50 LT 2-SPD OZTI URL: <https://technofood.com.ua/ua/shop/product/kutter-spm-50-lt-2-spd-ozti> (дата звернення 25.10.2023)
23. Технологічне обладнання Хімічний Реактор 500 літрів герметичний із водяною сорочкою, мішалкою і гомогенізатором. URL: <https://stprom.com.ua/ua/p1719401925-himicheskij-reaktor-500.html> (дата звернення 25.10.2023)
24. Технологічне обладнання Alfa Laval Culturefuge 200. URL: <https://www.alfalaval.com/globalassets/documents/products/separation/centrifugal-separators/disc-stack-separators/culturefuge-200.pdf> (дата звернення 25.10.2023)
25. Вакуум-випарна установка ВВУ-500. URL: <https://promvit.com.ua/vakuum-vyparnaya-ustanovka-vvu-500/> (дата звернення 25.10.2023).
26. Сервіс документів «Будстандарт» URL: <http://online.budstandart.com/ua/> (дата звернення 10.10.2023.)
27. Секвенатори білків для лабораторій. URL: <https://www.shimadzu.com.ua/other-equipment/ppsq-51a-53a> (дата звернення 25.10.2023)