

**НАЦІОНАЛЬНИЙ ТЕХНІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ УКРАЇНИ
“КИЇВСЬКИЙ ПОЛІТЕХНІЧНИЙ ІНСТИТУТ
імені ІГОРЯ СІКОРСЬКОГО ”**

Факультет біотехнології і біотехніки

Кафедра промислової біотехнології

"На правах рукопису"

УДК 663.16:577.164.16

До захисту допущено

Завідувач кафедри

_____ Тетяна ТОДОСІЙЧУК

(підпис)

(ініціали, прізвище)

“ 18 ” листопада 2020 р.

Магістерська дисертація

на здобуття ступеня магістра

зі освітньо-професійною програмою 162 – Біотехнології та біоінженерія

на тему: Виробництво вітаміну B₁₂ розчину для ін'єкцій

Виконала:

студентка 2 курсу, групи БТ-91мп

Солоня Тетяна Володимирівна

(прізвище, ім'я, по батькові)

_____ (підпис)

Керівник: доцент кафедри промислової

біотехнології, к.т.н. Поліщук Валентина Юріївна

(посада, науковий ступінь, вчене звання, прізвище та ініціали)

_____ (підпис)

Консультант по апаратурній схемі виробництва:

к.т.н., доцент Шибєцький Владислав Юрійович

(науковий ступінь, вчене звання, прізвище, ініціали)

_____ (підпис)

Консультант з старт-апу

к.е.н., доцент Ткаченко Тетяна Петрівна

(науковий ступінь, вчене звання, прізвище, ініціали)

_____ (підпис)

Рецензент: керівник групи реєстрації та стандартизації,

ПраТ Фармацевтична фірма «Дарниця»

Школоберда Олег Васильович

(посада, науковий ступінь, вчене звання, прізвище та ініціали)

_____ (підпис)

Засвідчую, що у цій магістерській дисертації
немає запозичень з праць інших авторів без
відповідних посилань.

Студент _____
(підпис)

Київ – 2020

Національний технічний університет України
«Київський політехнічний інститут
імені Ігоря Сікорського»
Факультет біотехнології і біотехніки
Кафедра промислової біотехнології

Рівень вищої освіти - другий (магістерський)

Спеціальність 162 – Біотехнології та біоінженерія

Освітньо-професійна програма Біотехнології

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри промислової
біотехнології

(підпис) Тетяна ТОДОСІЙЧУК
(ініціали, прізвище)

“16” вересня 2020 р.

ЗАВДАННЯ

на магістерську дисертацію студентці

Солоній Тетяні Володимирівні

1. Тема дисертації Виробництво вітаміну В₁₂ розчину для ін'єкцій

науковий керівник дисертації Поліщук Валентина Юріївна

к.т.н., доцент

затверджені наказом по університету від “12” листопада 2020 р. № 3294-с

2. Термін подання студенткою дисертації “12” грудня 2020 р.

3. Об'єкт дослідження виробництво вітаміну В₁₂ розчину для ін'єкцій на основі біотехнології отримання субстанції

4. Вихідні дані призначення продукту - препарат для лікування анемії, пов'язаних з дефіцитом вітаміну В₁₂; форма випуску – розчин для ін'єкцій; потужність виробництва – 7,8 млн. ампул/рік;

5. Перелік завдань, які потрібно розробити
основна частина

- обґрунтувати вибір продуценту, технології та обладнання для її реалізації;

- обрати технологічну та апаратурну схеми;

- скласти матеріальний баланс виробництва;

- навести методи і точки контролю виробництва;

- розробити будівельну схему виробництва

економічна частина

розробити старт-ап проект на створення в Україні біотехнологічного виробництва вітаміну В₁₂ розчину для ін'єкцій

6. Орієнтовний перелік графічного (ілюстративного) матеріалу

плакати формату A1: технологічна схема, апаратурна схема, план цеху

7. Орієнтовний перелік публікацій 2 тез конференцій

8. Консультанти розділів дисертації

Розділ	Прізвище, ініціали та посада консультанта	Підпис, дата	
		завдання видав	завдання прийняв
Апаратурна схема виробництва	к.т.н., доц. Шибецький В. Ю.		
Старт-ап	к.е.н., доц. Ткаченко Т.П.		

7. Дата видачі завдання 16 вересня 2020 року

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№ з/п	Назва етапів виконання дисертації	Термін виконання етапів	Примітка
1	Нормативно-технічна документація на сировину, проміжні продукти та на готову продукцію	26.10-01.11.2020	
2	Техніко-економічне обґрунтування	02.11-08.11.2020	
3	Розробка технологічної схеми	09.11-15.11.2020	
4	Розробка апаратурної схеми	16.11-22.11.2020	
5	Технологічна частина	16.11-22.11.2020	
6	Старт-ап	23.11-26.11.2020	
7	Будівельна частина	27.11-03.12.2020	
8	Розробка будівельної схеми	01.12-06.12.2020	
9	Оформлення магістерської дисертації	07.12-10.12.2020	

Студентка

Тетяна СОЛОНА

Науковий керівник

Валентина ПОЛІЩУК

РЕФЕРАТ

Магістерська дисертація містить 115 с., 5 рис., 29 табл., 6 креслень, 51 посилання.

Метою дисертації є вдосконалення обґрунтованої біотехнології виробництва вітаміну В₁₂ розчину для ін'єкцій.

Дисертація описує технологію, обрану в результаті літературного та патентного пошуку, з оновленим апаратурним оформленням виробництва, що має позитивний вплив на техніко-економічні показники. В якості продуцента використано високопродуктивний штам *Pseudomonas fluorescens* ВКМ В-2224Д. А також, запропоновано стадію нанофільтрації в якості очистки та концентрування продукту.

Дисертація містить стартап проект, в якому наведені відповідні розрахунки на введення описаної технології у виробництво та будівельну частину, що відповідає особливостям технології.

У дисертації представлені технологічна та апаратурна схеми, а також будівельна схема виробництва лікарського засобу вітаміну В₁₂ розчину для ін'єкцій, які відповідають вимогам ДСТУ та ЄСКД.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: НОРМАТИВНО-ТЕХНІЧНА ДОКУМЕНТАЦІЯ, ЛІКАРСЬКИЙ ЗАСІБ, ІН'ЄКЦІЇ, ВІТАМІНИ, ВІТАМІН В₁₂, ЦІАНОКОБАЛАМІН, КОРИНОВЕ КІЛЬЦЕ, АНЕМІЯ, PSEUDOMONAS FLUORESCENS ВКМ В-2224Д

					МД 162. БТ-5119. 00.00 ПЗ		
	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата	РЕФЕРАТ		
Розроб.		Солона Т.В.					
Конс.							
Керідн.		Поліщук В.Ю.					
Затв.							
					Стадія	Арк.	Аркушів
						4	115
					КПІ ім. Ігоря Сікорського, ФБТ		

ABSTRACT

The master dissertation contains 115 p., 5 fig., 29 tab., 6 drawings, 51 references.

The aim of the dissertation is improve the sound biotechnology of production of vitamin B12 solution for injection.

The dissertation describes the technology selected as a result of literary and patent search, with updated hardware design of production, which has a positive impact on technical and economic indicators. A high-yielding strain *Pseudomonas fluorescens* BKM B-2224D was used as a producer. In addition, the stage of nanofiltration as a purification and concentration of the product is proposed.

The dissertation contains a startup project, which provides appropriate calculations for the introduction of the described technology in the production and construction part, which corresponds to the features of the technology.

The dissertation presents technological, hardware schemes and construction scheme of production of the drug vitamin B₁₂ solution for injection, which meet the requirements of DSTU and ESKD.

KEY WORDS: REGULATORY AND TECHNICAL DOCUMENTATION, MEDICINE, INJECTIONS, VITAMINS, VITAMIN B12, CYANOCOBALAMINE, CORRINE RING, ANEMIA, PSEUDOMONAS FLUORESCENS BKM B-2224Д

					МД 162. БТ-5119. 00.00 ПЗ	Арк.
						5
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

ЗМІСТ

ВСТУП.....	8
РОЗДІЛ 1. НОРМАТИВНО-ТЕХНІЧНА ДОКУМЕНТАЦІЯ НА СИРОВИНУ, ПРОМІЖНІ ПРОДУКТИ ТА НА ГОТОВУ ПРОДУКЦІЮ.....	10
РОЗДІЛ 2. ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ.....	13
РОЗДІЛ 3. ТЕХНОЛОГІЧНА ЧАСТИНА.....	19
3.1. Склад підприємства та режим роботи.....	19
3.2. Характеристика кінцевої продукції виробництва.....	20
3.3. Обґрунтування вибору технологічної схеми виробництва.....	23
3.4. Технологічна схема виробництва.....	27
3.5. Характеристика біологічного агенту та процесу біосинтезу продукту.....	27
3.6. Апаратурна схема виробництва.....	32
3.7. Характеристика сировини, матеріалів та напівпродуктів.....	37
3.8. Опис технологічного процесу.....	41
3.9. Матеріальний баланс виробництва.....	59
3.10. Контроль виробництва.....	61
3.11. Відходи виробництва: технологічні, вентиляційні, їх використання та знешкодження.....	70
РОЗДІЛ 4. БУДІВЕЛЬНА ЧАСТИНА.....	72
4.1. Генеральний план цеху.....	72
4.2. Теплопостачання.....	75
4.3. Вентиляція.....	75
4.4. Водопостачання.....	77
4.5. Каналізація.....	78
4.6. Електропостачання.....	79
РОЗДІЛ 5. СТАРТАП ПРОЕКТ.....	81

					<i>МД 162. БТ-5119. 00.00 ПЗ</i>		
	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата	<i>ЗМІСТ</i>		
Разроб.		Солона Т.В.					
Канс.							
Керідн.		Поліщук В.Ю.					
Затв.							
					Стадія	Арк.	Аркушів
						6	115
					<i>КПІ ім. Ігоря Сікорського, ФБТ</i>		

5.1. Резюме: конкретизація бізнес-ідеї, мети стартапу, об'єкту дослідження, місце розробки у інноваційному ланцюжку цінностей.....	81
5.2 Аналіз зовнішнього та внутрішнього середовища стартапу.....	
5.3 Визначення ключових факторів успіху проекту.....	85
5.4 Визначення потенційних споживачів.....	91
5.5 Ціна інноваційної пропозиції на ринку.....	95
5.6 Концепція бізнес-моделі проекту та карта бізнес-процесів реалізації проекту.....	103
5.7 Ризики стартап-проекту та методи управління ними.....	105
ВИСНОВКИ.....	109
СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ.....	110

ВСТУП

Вітаміни відіграють в житті людини величезну роль, будучи незамінними факторами харчування. Вони необхідні для всіх систем нашого організму. Вітаміни групи В активують білковий, жировий і вуглеводний обмін, тим самим беручи участь в кровотворенні і нормальному функціонуванні нервової тканини [1]. Вітамін В₁₂ має величезне значення в медицині, а також харчові та кормовій промисловості і представлений декількома спорідненими сполуками (ціанокобаламін, метилкобаламін і аденозилкобаламін), однак, як правило, під вітаміном В₁₂ мають на увазі ціанокобаламін [2]. Ціанокобаламін (α - (5,6-діметілбензімідазоліл) кобамідціанід) найбільш широко використовується в медичній практиці в якості лікарського препарату, так як характеризується стабільністю при зберіганні, на відміну від метилкобаламіна і 5 -дезоксіаденозилкобаламіна, які нестабільні, але є коферментами в життєво важливих біохімічних реакціях. Ціанокобаламін біологічно неактивний і використовується тканинами тільки після перетворення його в коферментні форми [3].

Вітамін В₁₂ (ціанокобаламін) має велике значення в життєдіяльності людини. Вітамін В₁₂ відновлює запаси заліза в організмі людини, є регулятором основних обмінних процесів, сприяє підняттю імунного статусу, необхідний при діленні клітин, синтезі дезоксирибонуклеїнової і рибонуклеїнової кислот, регулює жировий і амінокислотний обмін, впливає на якість крові. При взаємодії вітаміну В₁₂ з молекулами фолієвої кислоти виробляється достатня кількість холіну для забезпечення стійкості організму до щоденних стресів. Вітамін В₁₂ разом з вітаміном А бере участь в синтезі тканин тіла, забезпечуючи вступ каротиноїдів (провітаміни А) в обмін речовин і перетворення їх в активний вітамін А [2, 4].

					МД 162. БТ-5119. 00.00 ПЗ			
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата	ВСТУП	Стадія	Арк.	Аркушів
Розроб.		Солона Т.В.					8	115
Конс.						КПІ ім. Ігоря Сікорського, ФБТ		
Керівн.		Поліщук В.Ю.						
Затв.								

Вітамін В₁₂ виробляється мікроорганізмами в травному тракті тварини і людини як продукт життєдіяльності мікрофлори. З огляду на те, що синтез вітаміну В₁₂ кишковою флорою недостатній, вітамін повинен надходити в організм з їжею [4].

Вітамін В₁₂ був виділений з печінки в 1948 році, а в 1973 році синтезований в лабораторних умовах. Варто зауважити, що хімічний синтез вітаміну складний, складається з 70 стадій, тому економічно доцільно отримувати вітамін В₁₂ мікробіологічними способом. В даний час для біосинтезу вітаміну В₁₂ в промисловості використовують в основному штами представників родів бактерій: *Propionibacterium*, *Pseudomonas* і *Methanobacteria* (для кормового виробництва) [5]. Тому при проектуванні виробництва вітаміну В₁₂ варто серйозно підходити до вибору продуцента, оскільки від продуктивності штаму буде залежати ефективність виробництва. Для підвищення продуктивності наявних продуцентів використовують генетичні підходи, а саме селекцію.

Метою магістерської дисертації є вдосконалення обґрунтованої біотехнології виробництва вітаміну В₁₂ розчину для ін'єкцій за повним циклом. Тема дисертації є актуальною, оскільки серед українських виробників вітаміну В₁₂ для медичного використання відсутній власний мікробіологічний синтез субстанції. Особливої уваги заслуговують вибір високопродуктивного штаму, вибір оптимального методу виділення та очистки цільового продукту, що вплине на техніко-економічні показники виробництва.

РОЗДІЛ 1. НОРМАТИВНО-ТЕХНІЧНА ДОКУМЕНТАЦІЯ НА СИРОВИНУ, ПРОМІЖНІ ПРОДУКТИ ТА НА ГОТОВУ ПРОДУКЦІЮ

Нормативно-технічним документом на вітамін В₁₂ (Ціанокобаламін) є Державна фармакопея України перше видання друге доповнення 2008 року видання, де міститься монографія на дану речовину.

Для процесу ферментації закупають компоненти поживного середовища, які мають відповідати діючим нормативно-технічним документам. У виробництві готового лікарського засобу - Вітаміну В₁₂ розчину для ін'єкцій використовуються допоміжні речовини. Натрій хлорид – ізотонічний компонент, якість якого контролюється за монографією ДФУ (ДФУ - 1.1. - 2004) або за ЄФ. Натрій ацетат тригідратат – компонент буферної системи, контролюється ДФУ (ДФУ - 1.1. - 2004) або ЄФ. Оцтова кислота – компонент буферної системи, монографія ДФУ та вода для ін'єкцій як розчинник, монографія ДФУ [6].

У виробництві використовуються ампули, які виготовляються зі світлозахисного скла марки УСП-1-сз у відповідності до ТУ У 00480945-005-96 «Ампули скляні. Технічні умови». Перед використанням ампули проходять державну санітарно-епідеміологічну експертизу щодо показників безпеки та відповідності технічним умовам.

Для того, щоб створити підприємство з виробництва лікарського засобу - вітаміну В₁₂, необхідно дотримуватись нормативних вимог у цій галузі. Відповідно до ст.10 Закону України "Про лікарські засоби" (чинна редакція від 14 жовтня 2020 р.) Виробництво лікарських засобів здійснюють фізичні або юридичні особи на підставі ліцензії. Відповідно до статті 11 Закону України "Про лікарські засоби" виробництво лікарських засобів повинно здійснюватися відповідно до технологічних регламентів з дотриманням вимог фармакопейних монографій та державних стандартів,

					<i>МД 162. БТ-5119. 00.00 ПЗ</i>		
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата			
Розроб.		Солона Т.В.			РОЗДІЛ 1. НОРМАТИВНО- ТЕХНІЧНА ДОКУМЕНТАЦІЯ НА СИРОВИНУ, ПРОМІЖНІ ПРОДУКТИ ТА НА ГОТОВУ ПРОДУКЦІЮ	Стадія	Арк.
Конс.							10
Керівн.		Поліщук В.Ю.				КПІ ім. Ізгоря Сікорського, ФБТ	
Затв.							
						Аркушів	115

технічних умов з урахуванням міжнародних стандартів фармацевтичного виробництва [7]. Отже, процес виробництва ліків повинен бути розроблений відповідно до міжнародних вимог GMP, які гарантують ефективність, безпеку та якість. В Україні діє Настанова МОЗУ СТ-Н МОЗУ 42-4.0:2020 «Лікарські засоби. Належна виробнича практика» як гармонізований GMP. Відповідно до Наказу № 1130 «Про затвердження Порядку перевірки відповідності виробничих умов лікарських засобів вимогам належної виробничої практики» створене підприємство повинно підтвердити відповідність виробничих умов діючим вимогам GMP, що в свою чергу доводять, що лікарський засіб постійно виробляється та контролюється стандартами якості [8].

При виробництві вітаміну В₁₂, як стерильного лікарського засобу, висуваються суворі вимоги. Особливе значення має забезпечення якості. При виробництві стерильних лікарських засобів необхідно ретельно слідувати способам приготування та методикам, які чітко визначені та пройшли валідацію. Необхідне створення чистих приміщень відповідно до вимог НВП. В настанові прописані чотири класи приміщень, які використовуються при виробництві стерильних лікарських засобів. Чисті приміщення та устаткування з чистим повітрям класифікують відповідно до стандарту EN ISO 14644-1 та/або ДСТУ ГОСТ ИСО 14644-1:2004. У СТ-Н МОЗУ 42-4.0:2020 прописані рекомендовані межі мікробіологічної контамінації для кожного класу приміщення, а також вимоги до моніторингу. Так як препарат випускається в ампулах, їх заповнення здійснюється у приміщенні із зоною класу А задля максимального захисту від контамінації. Така зона має оточувати приміщення з класом чистоти В. Також для підготовчих та фінальних стадій пакування необхідні приміщення з класом чистоти С та D. При переходах між приміщеннями різних класів чистоти обов'язково наявні повітряні шлюзи. Такі приміщення та обладнання в них піддаються постійному контролю. Персонал, який працює в таких приміщеннях проходить навчання, інструктаж, має спецодяг. Чисті приміщення висувають

					МД 162. БТ-5119. 00.00 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		11

вимоги і до повітря, воно має бути стерильним при виробництві вітаміну В₁₂. Для приміщень проходить підготовку спеціальне вентиляційне повітря для цього відповідно до НВП застосовують спеціальні НЕРА фільтри, в якості системи очистки повітря. Типи фільтрів, які використовуються: ULPA 99,9999; НЕРА 99,999; НЕРА 99,997; НЕРА 99,97; 95 [8].

Також, виробництво лікарського засобу потребує особливої підготовки води, яка використовується. Слід зважати на рекомендації Настанови СТ-Н МОЗУ 42-3.7:2013 «Лікарські засоби. Якість води для застосування у фармації». При цьому варто враховувати, що при виробництві готового лікарського засобу вітаміну В₁₂ необхідна вода для ін'єкцій. Найефективнішим способом отримання такої води визнано (Комісією Європейської Фармакопеї у 1999 році) дистиляцію [9].

На сировину, пакувальні матеріали (в даному випадку ампули), напівпродукт, а також готову продукцію розробляються специфікації, які є частиною реєстраційного досьє. В них зазначено показники та значення, яким вони повинні відповідати для забезпечення якості препарату.

Отже, біотехнологічне підприємство фармацевтичного напрямку має бути спроектоване відповідно чинним нормативно-технічним документам.

					МД 162. БТ-5119. 00.00 ПЗ	Арк.
						12
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

РОЗДІЛ 2. ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ

Якщо проаналізувати ринок вітамінних лікарських засобів, то найбільшу частку мають у ньому полівітаміни з добавками – 49 позицій, що займає третину асортименту. Друге місце – це препарати вітаміну В₁, а також комбінації В₁, В₆ і В₁₂ – 30 позицій, 18% асортименту. На третьому місці одночасно дві групи – ЛЗ аскорбінової кислоти та прості препарати вітамінів – 20 позицій кожна, що становить по 12%. З 2019 року спостерігається зростання кількості вітамінних ЛЗ. При аналізі виробників даних препаратів спостерігається наступне: на початок 2019 р. 21 український виробник пропонував 84 вітамінні ЛЗ (часта яких 49,4%). Ще 86 позицій вітамінів (51,6%) представлені 30-ма виробниками з 18 країн світу. Лідером вітчизняного виробництва вітамінних ЛЗ є ПАТ «Київський вітамінний завод», а серед іноземних виробників - Unipharm, США [10].

Українськими виробниками Ціанкобаламіну (вітаміну В₁₂) є три підприємства: ПрАТ "Фармацевтична фірма "Дарниця", Приватне акціонерне товариство "Лекхім - Харків", ПАТ "Галичфарм". Але, при цьому, вони є виробниками неповного циклу і не використовують біотехнологічні прийоми у виробництві даного вітаміну. Субстанцію в Україну поставляє: Санофі Хімі, Франція; ХЕБЕЙ ЮЙСІН БІО-ІНЖІНІРІНГ КО., ЛТД, Китай; Норт Чайна Фармасьютікал Віктор Ко., ЛТД., Китай; Хебей Хуаронг Фармасьютікал Ко., Лтд., Китай. Розробок власного виробництва біотехнологічним способом ціанкобаламіну українські виробники поки не мають[11].

Вітамін В₁₂ є цікавим для вибору його як продукту виробництва, оскільки має ряд важливих функцій: він приймає участь в утворенні еритроцитів, розвитку нейронів та синтезу ДНК. Одним з головних завдань вітаміну В₁₂ є виробництво метіоніну - незамінної амінокислоти. Вченими

					<i>МД 162. БТ-5119. 00.00 ПЗ</i>		
<i>Зм.</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>			
<i>Розроб.</i>		<i>Солона Т.В.</i>			<i>РОЗДІЛ 2. ТЕХНІКО- ЕКОНОМІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ</i>	<i>Стадія</i>	<i>Арк.</i>
<i>Конс.</i>							<i>13</i>
							<i>115</i>
<i>Керівн.</i>		<i>Поліщук В.Ю.</i>				<i>КПІ ім. Ізгоря Сікорського, ФБТ</i>	
<i>Затв.</i>							

були отримані дані про те, що вітамін В₁₂ має важливе значення і для утворення кісток [12].

Дефіцит вітаміну В₁₂ найбільш виражений: в літньому віці, після операцій зі зменшення шлунку, зниженій кислотності шлунку або прийому препаратів для її зниження, при прийомі препаратів від печії, при захворюваннях шлунково-кишкового тракту (наприклад, хвороби Крона), у разі веганської дієти [13].

Згідно з деякими повідомленнями, поширеність дефіциту вітаміну В₁₂ може досягати 40% серед загальної популяції та 60% серед людей похилого віку. Виявилося, що у пацієнтів з гострим інфарктом міокарда рівень вітаміну В₁₂ у крові значно нижчий за середнє значення. Дефіцит вітаміну В₁₂ також широко поширений серед людей старше 65 років з ішемічною хворобою серця (86,7%), що значно вище, ніж у загальній популяції (16,5%). Тобто важлива роль вітаміну В₁₂ у зменшенні ризику розвитку, прогресування та ускладнень серцево-судинних захворювань. [14].

Світове виробництво вітаміну В₁₂ складає близько 10 т/рік, з яких 6,5 т - на медичні цілі. Для розрахунку потужності виробництва вітаміну В₁₂ в Україні приймемо до уваги статистичні данні кількості захворювань на анемію, як основне показання для застосування. За даними МОЗ України, поширеність і захворюваність на залізодефіцитну анемію та латентний дефіцит заліза становить 1570 на 100 000 населення. В Україні проживає майже 42 млн населення. Маємо 659 400 хворих. Припустимо, що 50% з них куплять препарат нашого виробництва, це 329 700 пацієнти [15]. Рекомендована доза 0,2 мг до досягнення ремісії. Тоді розрахована потужність становить:

$$N = 329\,700 \cdot 0,2 \text{ мг} \cdot 30 \text{ діб} = 2 \text{ кг/рік}$$

Потужність нового підприємства визначається необхідною потребою суспільства у цільовому продукті не менше ніж на 5 років. Тоді мінімальна кількість препарату, вироблена за цей період, буде становити:

$$N = 2 \text{ кг/рік} \cdot 5 = 10 \text{ кг}.$$

					МД 162. БТ-5119. 00.00 ПЗ	Арк.
						14
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Тривалість одного біосинтезу приблизно 120 годин, режим виробництва буде періодичним – 12 культивувань в рік. Отже, з одного виробничого циклу отримаємо:

$$N = 2 \text{ кг/рік} : 12 = 0,16 \text{ кг}$$

Вихід ціанокобаламіну становить приблизно 150 мкг/ мл (0,15 г/л). Отже, в 1м³ культуральної рідини буде знаходитись 0,15 кг антибіотика.

Якщо дана продукція користуватиметься попитом та буде конкурентоспроможною на українському ринку вітамінних ЛЗ, то потужність виробництва можна буде збільшити за рахунок придбання нового обладнання.

Спочатку вітамін В₁₂ отримували виключно з природної сировини, але з 1 тони печінки можна було виділити лише 15 мг вітаміну. Також, вітамін В₁₂ був отриманий як побічний продукт ферментації *Streptomyces* при виробництві деяких антибіотиків (стрептоміцину, хлорамфеніколу, неоміцину). Але вихід вітаміну був низьким тож такий спосіб не став популярним. Також можливий хімічний синтез вітаміну В₁₂, але він складається з 70 стадій тому є економічно не вигідним. Єдиний спосіб отримання вітаміну В₁₂ на даний час – мікробіологічний синтез. Активно продукують вітамін В₁₂ представники роду *Propionibacterium*, *Pseudomonas* та *Methanobacteria*. Можливе отримання вітаміну В₁₂ за допомогою *B. subtilis*, але є технологічна складність необхідності чергування аеробних та анаеробних фаз, тому таке використання недоцільне. Найбільш поширеним є використання мутантних штамів *Propionibacterium shermanii* [16] і *Propionibacterium freudenreichii*, які здатні синтезувати більше 10 мг/л цільового продукту. Культивування пропіоновокислих бактерій здійснюється періодичним способом на складних поживних середовищах, що містять кукурудзяний екстракт, глюкозу, солі кобальту, сульфат амонію. Обов'язковою умовою високого виходу вітаміну є наявність в середовищі попередника вітаміну - 5,6-диметилбензimidazole (5,6-ДМБ). Виділення

					МД 162. БТ-5119. 00.00 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		15

цільового продукту здійснюється екстракцією розчинником, сорбцією на іонітах, осадженням або поєднанням цих способів [17].

В американському патенті сказано про можливість використовувати іммобілізовані клітини для отримання вітаміну B₁₂. Наприклад, YongSmith та ін. представив виробництво вітаміну B₁₂ з іммобілізованими клітинами *Propionibacterium sp.* штам arl AKU1251. Максимальна концентрація вітаміну B₁₂ знаходиться в межах 14-16 мг/кг. При цьому необхідні додаткові витрати на обладнання для іммобілізації, а також сам матеріал для іммобілізації. Вихід продукту не виправдовує такий спосіб [18].

В Японії виробництво вітаміну здійснюють за допомогою бактерій *Acinetobacterium*, *Rhizobium* *Colalaminogenum* FERMBP-4429, *Propionibacterium shermanii* або *freundenreiichii*, стійких до пропіонової кислоти. Це дозволяє отримувати вітамін B₁₂ з концентрацією в культуральній рідині 60-70 мкг / мл. У ряді країн (Франція, Китай, Корея та ін.) Для промислового отримання кобаламінів в аеробних умовах використовуються штами бактерії *Pseudomonas denitrificans*, трансформовані плазмідною. Застосування рекомбінантних штамів *Pseudomonas denitrificans* дозволяє підвищити продуктивність біосинтезу вітаміну B₁₂ [19].

На теперішній момент найкращим варіантом, що дозволив оптимізувати процес виробництва вітаміну B₁₂, серед продуцентів можна вважати штам бактерій *Pseudomonas fluorescens* ВКМ В-2224Д, отриманий шляхом багатоступінчастої селекції [20]. Зазначений штам має продуктивність 120 – 150 мкг/мл. При отриманні вітаміну за допомогою *Propionibacterium shermanii* або *freundenreiichii* ферментація проходить у 2 стадії: спочатку в анаеробних умовах відбувається утилізація глюкози, а потім в аеробних йде процес утворення вітаміну B₁₂. При використанні *P. fluorescens* процес повністю йде в аеробних умовах. Тобто, при використанні даного продуценту є можливість застосування одного ферментера з аерацією, що дозволяє знизити витрати на покупку і експлуатацію устаткування. Крім того, продуцент *Pseudomonas fluorescens* ВКМ В-2224Д в якості джерела

					МД 162. БТ-5119. 00.00 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		16

вуглецю використовує гідролізат меляси. Дослідження показали, що фруктоза, яка міститься в гідролізаті меляси збільшує вихід вітаміну B₁₂. Також, меляса не є дорогим компонентом для поживного середовища.

Виділення вітаміну B₁₂ можливе з використанням таких стадій як адсорбції вітаміну на активованому вугіллі, десорбції з вугілля водним розчином ізопропілового спирту, відгону ізопропілового спирту і упарювання водного концентрату. Проте запатентований більш економічно вигідний спосіб виділення без зазначених вище стадій, що дозволяє підвищити вихід і якість препарату, спростити технологічний процес, знизити сировинні та енергетичні витрати [21]. Мета такого спрощення досягається за рахунок того, що аміачний елюат після десорбції з смоли СГ-1 направляють на стадію нанофільтрації, де відбувається очищення від домішок і концентрування розчину до необхідної активності. Вихід на стадії нанофільтрації 97,4%.

При проектування виробництва вітаміну B₁₂ необхідно враховувати світлочутливість продукту, тому для попередження розкладання вітаміну B₁₂ необхідно забезпечити затемненні умови або червоне світло.

Сировину та матеріали для повного циклу виробництва вітаміну B₁₂ можливо придбати в Україні від вітчизняних та закордонних виробників. Так, мелясу можна закупити в української фірми ED&F Man. Деякі компоненти поживного середовища, допоміжних речовин можливо придбати у підприємства «Фармхім», що знаходиться в Сумській області або завести з закордону. Ампули виготовляє АО «Полтавський завод медичного скла», що є лідером на українському ринку з виробництва ампул для лікарських засобів. Ферментери, наприклад, можна придбати німецького виробника B.Braun Biotech International або Sartorius Stedim Systems GMBH. Фільтрматеріали для вентиляційного очищення повітря випускає українська компанія NEW FILTER. Американська компанія NORLAND International випускає обладнання для багатоступеневої дистиляції води, а також в її каталозі є лінії автоматичного наповнення ампул. Ще одним виробником

					МД 162. БТ-5119. 00.00 ПЗ	Арк.
						17
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

обладнання багатоступеневої дистиляції є Finn AQWA. Виробниками хроматографічних колон є Данія (Peak Biotech A/S), США (Valco Instruments Company Inc. (VICI)), Японія (Tosoh Bioscience) тощо. Так само є широкий вибір виробників іншого необхідного обладнання.

Щоб обрати місце будівництва виробництва вітаміну B₁₂ необхідно проаналізувати розташування вже існуючих виробників. Так Київська та Харківська області мають відповідні підприємства. Взагалі для місця розташування виробництва краще обрати центральну Україну для кращої логістики в усі області. Наприклад, це може бути Черкаська, Полтавська або Кіровоградська області.

					МД 162. БТ-5119. 00.00 ПЗ	Арк.
						18
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

РОЗДІЛ 3. ТЕХНОЛОГІЧНА ЧАСТИНА

3.1. Склад підприємства та режим роботи

Біотехнологічне виробництво вітаміну В₁₂, як стерильного лікарського засобу має бути оснащено всіма необхідними дільницями. По-перше, має бути цех підготовки повітря вентиляційного для приміщень та технологічного для реакторів культивування продуценту. По-друге, цех підготовки води очищеної та води для ін'єкцій, до якої висуваються особливі вимоги прописані в Настанові СТ-Н МОЗУ 42-3.7:2013 [9]. По-третє, цехи приготування дезінфікуючих та миючих розчинів, які будуть використані при підготовці обладнання та приміщень перед початком процесу. А також, цех підготовки технологічного одягу, який буде використаний працівниками підприємства для збереження асептичності. До допоміжних дільниць також відносяться підготовка необхідних допоміжних речовин для приготування готового лікарського засобу та іншої сировини, яка буде використана на виробництві; підготовка ампул та посівного матеріалу. Серед основних підрозділів: цех виробничого культивування, виділення та очистки вітаміну В₁₂, кристалізації, приготування та стерилізації розчину для ін'єкцій, наповнення та запайки ампул, стерилізації та перевірки ампул на герметичність, перевірки на механічні вклучення та цех пакування, маркування у вторинну упаковку. Також, виробництво оснащено складом для зберігання готової продукції, складом для сировини/матеріалів та лабораторією контролю якості проміжної продукції та готового лікарського засобу.

Режим роботи передбачено змінний. При цьому, так як культивування періодичне та заплановано 12 культивувань (одне культивування приблизно 120 годин) в рік, враховуючи час на допоміжні роботи (приблизно 72 години) та можливий ремонт кількість робочих днів в рік 110. При розширенні

					МД 162. БТ-5119. 00.00 ПЗ			
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата	РОЗДІЛ 3. ТЕХНОЛОГІЧНА ЧАСТИНА	Стадія	Арк.	Аркушів
Разроб.		Солона Т.В.					19	115
Конс.						КПІ ім. Ігоря Сікорського, ФБТ		
Керівн.		Поліщук В.Ю.						
Затв.								

підприємства можливе (збільшення серій, введення виробництва інших лікарських засобів) збільшення робочих днів та в перспективі переведення на безперервний режим.

3.2. Характеристика кінцевої продукції виробництва

Назва препарату: Ціанокобаламін (Вітамін B₁₂)

Міжнародна непатентована назва: Cyanocobalamin

Реєстраційне посвідчення: UA/3471/01/01

АТС код: B03BA01

Фармакотерапевтична група: Група вітаміну B₁₂

Форма в якій випускається: розчин для ін'єкцій

Основні фізико-хімічні властивості: прозора рідина яскраво-червоного кольору [22].

Фармакологічні властивості:

Вітамін B₁₂ підтримує стимуляцію функцій і є фактором росту кісткового мозку, який є важливим для еритропоезу. Вітамін B₁₂ важливий у метаболізмі ліпідів, білків та вуглеводів, використовується при синтезі метильних груп, а також метіоніну, холіну, нуклеїнових кислот та креатину, забезпечує накопичення сполук із сульфгідрильними групами в еритроцитах. Він нормалізує функції печінки та нервової системи, активізує систему згортання крові, високі дози вітаміну B₁₂ підвищують активність протромбіну та тромбопластичну активність [1, 2, 5, 23].

Метаболізм вітаміну B₁₂ відбувається в тканинах, де він переходить у форму коферменту - аденозилкобаламіну, який є активною формою. Виводиться з організму з жовчю і сечею [5].

Структура вітаміну B₁₂ (рис 1.):

1. Коринове, кільце, пов'язане з атомом кобальту чотирма координаційними зв'язки через атоми азоту.

2. Ціаногрупа виступає верхнім координаційним лігандом кобальту в молекулі. Також можливі інші замінники неорганічної та органічної природи, серед яких NO₂₂⁻, SO₂₂⁻, OH, H₂O, CH₃.

					МД 162. БТ-5119. 00.00 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		20

3. Нижній ліганд кобальту – нуклеотидне ядро, яке пов'язане з кобальтом за допомогою азотистої основи. Нуклеотидне ядро містить в собі азотисту основу, рибозу і залишок фосфорної кислоти. [24, 25].

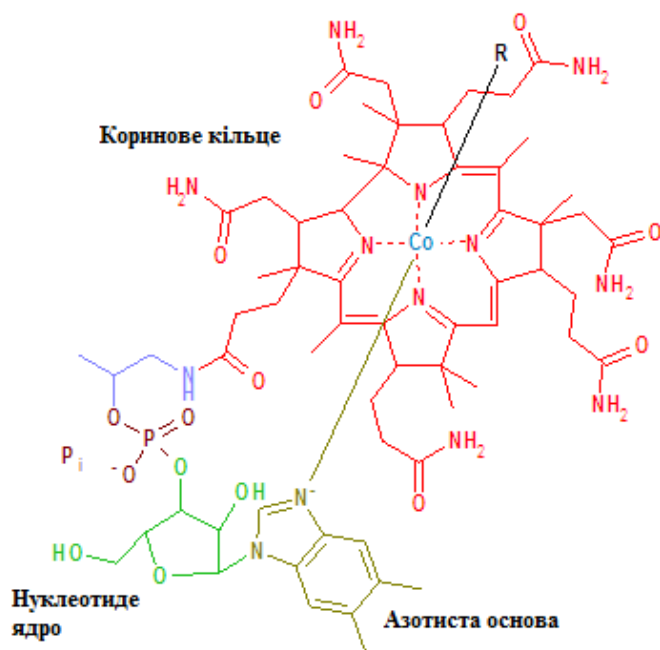


Рисунок 1. Хімічна структура вітаміну B₁₂ [24]

Показаннями до застосування є:

- хронічні анемії, що супроводжуються дефіцитом ціанокобаламіну;
- порушення в нервовій системі (радикуліти, травми периферичних нервів, дитячий церебральний параліч, хвороба Дауна та ін.);
- псоріаз та дерматит;
- хвороби печінки (хронічний гепатит, цироз печінки, печінкова недостатність);
- гостра променева хвороба [5].

СПЕЦИФІКАЦІЯ

Найменування показника	Допустимі межі	Методи контролю
Опис	Прозора рідина, яскраво-червоного кольору.	За п. 1, ДФУ візуально.
Ідентифікація	Ультрафіолетовий спектр поглинання розчину препарату в області від 250 нм до 600 нм,	За п. 2, ДФУ

Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата	МД 162. БТ-5119. 00.00 ПЗ	Арк.
						21

	максимальне поглинання при довжині хвилі 278 нм, 361 нм та в області від 547 нм до 559 нм. Препарат дає реакцію на хлориди	2.2.25 СФ-метод ДФУ, 2.3.1
Прозорість	Має бути прозорим	За п.3, ДФУ 2.2.1
pH	Від 3,8 до 5,5	За п. 4, ДФУ, 2.2.3.
Домішки	Не більше 6,0%.	За п. 5, ДФУ, 2.2.29.
Механічні включення	Повинен відповідати вимогам РД 42У-001-93	За п. 6
Кількісне визначення	Ціанокобаламіну в 1 мл препарату від 0,00018 г до 0,00022 г Натрію хлориду в 1 мл 0,009 г	За п. 7, ДФУ 2.2.25 ДФУ 2.2.20
Стерильність	Має бути стерильним.	За п. 8, ДФУ 2.6.1.
Пірогени	Має бути апірогенним.	За п. 9, ДФУ 2.6.8.
Бактеріальні ендотоксини	Концентрація ендотоксинів не більше 70 ЕО/мл	За п.10 ДФУ 2.6.14

Маркування зазначається в МКЯ на готову продукцію у реєстраційному досьє. Вимоги до маркування прописані в Додатку 22 Наказу МОЗ № 426 «Про порядок проведення експертизи реєстраційних матеріалів на лікарські засоби» [26].

Ампули і флакони з лікарськими засобами для ін'єкцій повинні бути упаковані в: картонні коробки по ГОСТ 12301 або по нормативно-технічній документації; картонні пачки по ГОСТ 12303 або по нормативно-технічній документації; контурну упаковку з подальшим укладанням в картонні пачки або коробки.

Транспортування: Відповідно до вимог ГОСТ 17768-90

Умови зберігання: При температурі не вище 25 °С

Термін придатності: 2 роки

					МД 162. БТ-5119. 00.00 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		22

3.3. Обґрунтування вибору технологічної схеми виробництва

Так як продуцент вітаміну В₁₂ є аеробний мікроорганізм необхідно підготувати аераційне стерильне повітря. В атмосферному повітрі наявна різноманітна мікрофлора в концентрації 10³-10⁴ клітин/м³. Процес очистки повітря починається з забору повітря на найменш забруднених ділянках заводу через спеціальні повітрозабірники висота яких досягає 15 метрів. Першим ступенем є груба очистка повітря, що дозволяє видалити часточки розмір яких більше 5 мкм. Раніше використовувалися масляні фільтри зараз вони вже не актуальні. Широко поширене використання скловолокна з відповідним діаметром пор. Після цього повітря потрапляє на компресор для стискання до потрібного тиску, що забезпечить відповідний об'єм подачі повітря. Для цього можливо використати компресори, газодувки або вентилятори. Зараз відають перевагу турбокомпресорам, які є компактними та забезпечують рівномірну подачу повітря. Після компресору необхідно охолодити повітря, що одночасно видаляє частину вологи. Для цього використовують звичайні теплообмінники трубчастого типу. Для стабілізації повітря та згладження пульсації необхідно встановлювати ресивери. Вертикальний, наземний апарат об'ємом 5 м³. За ресивером встановлюють набивні головні фільтри зі скловолокном діаметром 1,5 – 3 мкм. Заключним етапом є індивідуальні фільтри, встановлені безпосередньо перед ферментерами, діаметр пор фільтрувального матеріалу 0,5 мкм [27, 28].

Виробництво вітаміну В₁₂ розчину для ін'єкцій має бути забезпечене водою для ін'єкцій, яка буде відповідати показникам, що прописані в Настанові СТ-Н МОЗУ 42-3.7:2013 «Лікарські засоби. Якість води для застосування у фармації» [9]. На першій стадії грубої фільтрації необхідно видалити частки розміром більше 100 мкм. Для цього використовують фільтри з піщаним матеріалом. Вибір сорту матеріалу (піску, гравію тощо) залежить від результатів аналізу води з урахуванням сезонних змін [29]. Далі використовують вугільний фільтр в апараті патронного типу для зниження концентрації органічних речовин і хлору [30]. За вугільним

					МД 162. БТ-5119. 00.00 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		23

фільтром встановлюють систему ультрафільтраційних мембран з діаметром пор 0,001 - 0,05 мкм. Речовини, що затримуються мембранами розташовуються в області молекулярних мас від 10 000 до 1 000 000. Щоб очистити воду від заряджених часток іонів здійснюють процес деіонізації. Використовують колонковий апарат з іонообмінними смолами, що складаються з сферичних кульок діаметром 0,5-1,2 мм. Останнім етапом отримання води для ін'єкцій є дистиляція. Основними вузлами будь-якого дистиляційного апарату є випарник, конденсатор і збірник. Особливі вимоги висуваються і до збірнику в якому буде зберігатися вода для ін'єкцій. Необхідно забезпечити постійну циркуляцію води та підтримання температури води 85-90 °С. У якості матеріалу усіх поверхонь, що знаходяться у контакті з водою для ін'єкцій, рекомендується використовувати нержавіючу сталь 02Х17Н 13М2 з шорсткістю поверхні не більше 0,8 мкм [9, 31].

Для промислового біосинтезу необхідно попередньо наростити посівний матеріал. Це багатоступінчастий процес. Музейну культуру відновлюють розсіваючи в пробірки, що містять агаризоване середовище відповідного складу. Нарощений матеріал у стерильних умовах переносять в колби об'ємом 750 мл, що містять рідке поживне середовище. Посівний матеріал з колб використовують для нарощення культури в інокуляторі об'ємом 0,63 м³. Протягом всього етапу отримання посівного матеріалу важливий мікробіологічний контроль. Так як об'єм виробничого ферментеру не великий (5 м³) достатньо одного інокулятора [32].

Приготування та стерилізацію поживних середовищ для стадій приготування посівного матеріалу та виробничого біосинтезу доцільно здійснювати безпосередньо в реакторах. Це обумовлено невеликим об'ємом апаратів, та періодичністю біосинтезу.

Вітамін В₁₂ накопичується в клітинах продуценту, тому після завершення процесу ферментації необхідно відділити біомасу від культуральної рідини. Для цього можна використовувати фільтрування або

					МД 162. БТ-5119. 00.00 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		24

сепарацію [17]. Інші способи не використовуються через розмір клітин продуцента. При фільтруванні поступово на поверхні фільтрувального матеріалу утворюється шар осаду і фільтрування йде через нього, що уповільнює процес. Швидкість фільтрування можна збільшити підвищуючи перепад тиску. Зазвичай короточасне збільшення продуктивності за рахунок підвищення тиску супроводжується наступним падінням продуктивності. Так як цільовим продуктом є сама біомаса краще використати сепарацію. Розділення відбувається за рахунок центробіжної сили. Біомаса відкидається до бокових частин корпусу апарату, збирається там, а потім вивантажується. Сепарація має високу продуктивність та хорошу ступінь концентрування. Для даного виробництва вистачить продуктивності сепаратору 5000 л/год [33].

Так як вітамін V_{12} виділяється з клітин продуценту без дезінтеграції, достатньо провести екстракцію вітаміну з біомаси. Для цього використовують воду підкислену сірчаною кислотою до pH 5,8 [17]. Для процесу необхідний реактор з сорочкою оскільки необхідна температура процесу 90 ± 10 °C та з перемішуючим пристроєм. Перемішуючий пристрій потрібен оскільки в цьому ж реакторі буде проводитися операція додавання KCN. Достатній об'єм такого реактору 5 м³. Матеріалом реактору є нержавіюча сталь стійка до кислот.

Далі необхідно відділити водний екстракт від осаджених домішок. Запропоновано використати патронний фільтр. Він простий у використуванні, є можливість виймати патрон змінювати фільтрувальний матеріал, стерилізувати для підтримання асептичності виробництва [33].

Водорозчинні вітаміни є досить складними органічними сполуками, що включають в свій склад насичені і ненасичені гетероцикли і різноманітні полярні функціональні групи. Це дозволяє виділяти їх на іонообмінних смолах. Для виділення ціанокобаламіну з водного екстракту фільтрат сорбують на іонообмінній смолі СГ-1 (слабокислий макропористий катіоніт з поліакриловою матрицею, що містить функціональні карбоксильні групи).

					МД 162. БТ-5119. 00.00 ПЗ	Арк.
						25
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Розмір гранул катіоніту складає 0,315-1,25 мм. Після цього здійснюють елюцію водним розчином аміаку. Для даної операції використовується іонообмінна колона, що представляє собою циліндричну колону висотою 5 м з діаметром 2,8 м. Рідина потрапляє зверху колони під тиском. У днища колони встановлений колпачковий фільтр з прорізами 0,2-0,3 мм, через який проходить рідина, але затримуються гранули іоніту [21].

Аміачний елюат після десорбції з смоли СГ-1 підкислюється розчином соляної кислоти (37%) до рН 7,0 і направляється на стадію нанофільтрації, де відбувається очищення від домішок і концентрування розчину. Використання нанофільтрації виключає необхідність використання таких стадій: адсорбції вітаміну на активованому вугіллі, десорбції з вугілля водним розчином ізопропілового спирту, відгону ізопропілового спирту і упарювання водного концентрату. Це дозволяє підвищити вихід і якість готового препарату, спростити технологічний процес, знизити сировинні та енергетичні витрати. Нанофільтрацію здійснюють на мембранному рулонному елементі, мембрана якого є пористою полімерною плівкою. Процес нанофільтрації здійснюють при величині трансмембранного тиску від 0,02 до 0,05 МПа. Номінальний поріг затримання в фільтрувальному елементі 400 Да, що обумовлює практично повну затримку вітаміну, молекулярна маса якого становить 1355,4 [21].

Для очистки ціанокобаламіну від інших кориноїдів доцільно використовувати хроматографію, яка дає можливість розділити близькі за складом речовини. Використовується твердо-рідкісна хроматографія, в якості адсорбенту використовується оксид алюмінію [34]. Для елюції ціанокобаламіну використовують суміш 2% оцтової кислоти з метанолом. Хроматографічна очистка здійснюється в циліндричному апараті висотою 4,6 м, діаметром 2,6 м.

Заключним етапом отримання субстанції ціанокобаламіну є процес кристалізації. Даний процес використовують для очистки та концентрування.

					МД 162. БТ-5119. 00.00 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		26

Процес відбувається при 3-4°C в окремому реакторі з рубашкою, в якості холодоагента використовується спеціальний розсіл.[35].

3.4. Технологічна схема виробництва

Технологічну схему виробництва вітаміну B₁₂ розчину для ін'єкцій представлено на кресленні № 1 та № 2 формату А1.

3.5. Характеристика біологічного агенту та процесу біосинтезу продукту

У даній магістерській дисертації для виробництва вітаміну B₁₂ пропонується використовувати високопродуктивний штам *Pseudomonas fluorescens* ВКМ В-2224Д, який був отриманий методом багатоступеневої селекції з колекційного штаму *Pseudomonas fluorescens* В98. Продуктивність штаму *Pseudomonas fluorescens* ВКМ В-2224Д складає 120-150 мкг/мл.

Культурально-морфологічні ознаки штаму такі: це грампозитивні палички, розмір 0,45 – 0,85 мкм, які спор не утворюють. На агаризованих середовищах формують колонії круглої форми 1-2 мм, клітини у скупченнях, поодиноких майже немає. Колір колоній – білий. Температурний оптимум 30°C, рН 7 – 7,2. Відношення до кисню – факультативний аероб [20].

Фізіолого-біохімічні ознаки включають такі характеристики: не гідролізує желатин, крохмаль, гідролізує лецитин. Джерелом вуглецю є сахароза, бетаїн. Штам не здатний засвоювати глюкозу, асимілює глютамінову та пропіонову кислоти.

Штам зберігається у ліофільно-висушеному стані за температури 4°C 2-3 роки або на агаризованих середовищах з необхідністю постійного пересівання.

Культура *Pseudomonas fluorescens* ВКМ В-2224Д росте в аеробних умовах та протягом всього процесу ферментації накопичує цільовий продукт [20].

Природний шлях біосинтезу кобаламіну мікроорганізмами добре вивчений та описаний в літературі. Взагалі у бактерій існує два шляхи

					МД 162. БТ-5119. 00.00 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		27

синтезу кобаламіну. Аеробний шлях, який вимагає кисню і в якому кобальт вставляється в кінці шляху та анаеробний шлях, в якому впровадження кобальту є першим обов'язковим кроком на шляху до синтезу кобаламіну. Так як продуцент вітаміну B₁₂ у даній роботі аеробний мікроорганізм, то буде розглянуто аеробний шлях біосинтезу [37].

На ранніх стадіях біосинтезу тетрапіроловий структурний каркас створюється ферментами дезаміназою і косинтетазою, які перетворюють амінолевулінову кислоту через порфобіліноген і гідроксиметілбілан в уропорфіриноген III. Останній є першим макроциклічним проміжним продуктом (Рис.2), загальним для гема, хлорофілу, сірогома і самого кобаламіну. Біосинтез кобаламіну відрізняється від біосинтезу гема і хлорофілу в уропорфіриногені III: його трансформація включає послідовне додавання метильних (CH₃) груп з утворенням проміжних продуктів, яким надані тривіальні назви відповідно до кількості груп, які були включені. Отже, першим проміжним продуктом є прекорин-1, наступним - прекорин-2 і так далі. Взагалі вивчення повної послідовності метилування та інших етапів біосинтезу здійснювалося за допомогою генно-інженерного штаму *Pseudomonas denitrificans*, в якому вісім генів *cob*, що беруть участь в біосинтезі вітаміну, були суперекспресованими [38].

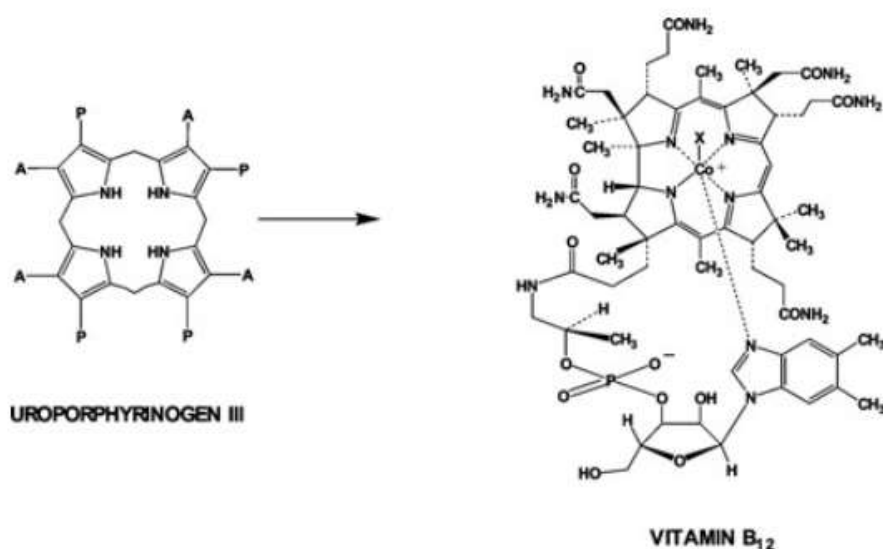


Рисунок 2. Вихідний і кінцевий елемент біосинтезу [38]

Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата

МД 162. БТ-5119. 00.00 ПЗ

Арк.

28

1. Фермент CobA каталізує дві реакції з утворенням прекорину-1 та прекорину-2:

Уропорфіриноген III + S-аденозилметіонін $\rightleftharpoons$ прекорин-1 + S-аденозил-L-гомоцистеїн;

Прекорин-1 + S-аденозилметіонін $\rightleftharpoons$ прекорин-2 + S-аденозил-L-гомоцистеїн

2. Фермент CobI каталізує реакцію:

Прекорин-2 + S-аденозилметіонін $\rightleftharpoons$ прекорин-3A + S-аденозил-L-гомоцистеїн

3. Фермент CobG каталізує реакцію:

Прекорин-3A + NADH + H⁺ + O₂ $\rightleftharpoons$ прекорин-3B + НАД⁺ + H₂O

Цей фермент є оксидоредуктазою, якій потрібний кисень, і тому реакція може протікати тільки в аеробних умовах.

4. Фермент CobJ продовжує введення метильної групи і каталізує реакцію:

Прекорин-3B + S-аденозилметіонін $\rightleftharpoons$ прекорин-4 + S-аденозил-L-гомоцистеїн

Важливо відзначити, що на цьому етапі кільце макроциклу стискається, так що продукт вперше містить ядро корину, яке характеризує кобаламін [37].

5. Фермент CobM каталізує реакцію:

Прекорин-4 + S-аденозилметіонін $\rightleftharpoons$ прекорин-5 + S-аденозил-L-гомоцистеїн

6. Фермент CobF каталізує реакцію:

Прекорин-5 + S-аденозилметіонін + H₂O $\rightleftharpoons$ прекорин-6A + S-аденозил-L-гомоцистеїн + ацетат

Це перетворення видаляє ацетильну групу, розташовану в положенні 1 кільцевої системи прекорину-4, і замінює її введеною метильною групою. Назва продукту, прекорин-6A, відображає той факт, що до цього моменту до уропорфіриногену III було додано всього шість

					МД 162. БТ-5119. 00.00 ПЗ	Арк.
						29
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

метильних груп. Однак, оскільки одна з них була видалена з ацетатною групою, структура прекорину-6А містить тільки п'ять метильних груп.

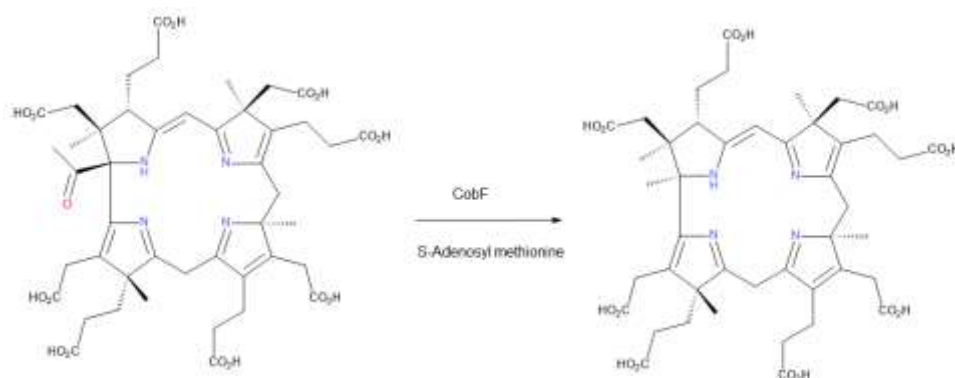
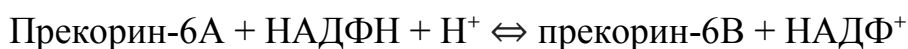


Рисунок 3. Утворення прекорину 6А [39]

7. Фермент CobK тепер відновлює подвійний зв'язок в кільці D, каталізуючи реакцію:



Таким чином, прекорин-6В відрізняється за структурою від прекорину-6А тільки наявністю додаткових двох атомів водню.

8. Фермент CobL має два активних центри, один з яких каталізує приєднання двох метильних груп, а інший декарбоксилює групи CH_2COOH на кільці D, так що цей замінник стає простою метильною групою [39]:

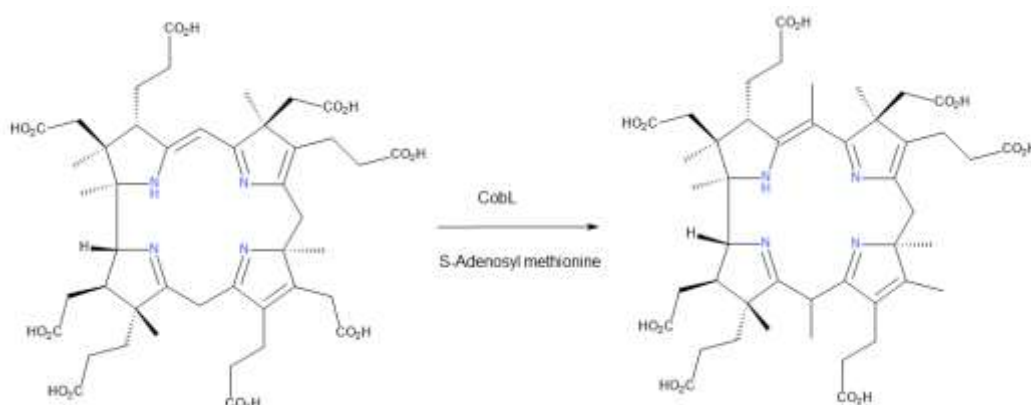
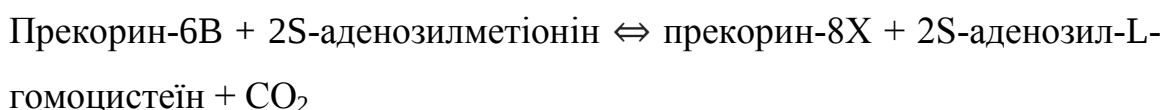
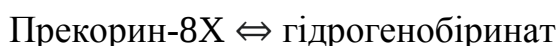


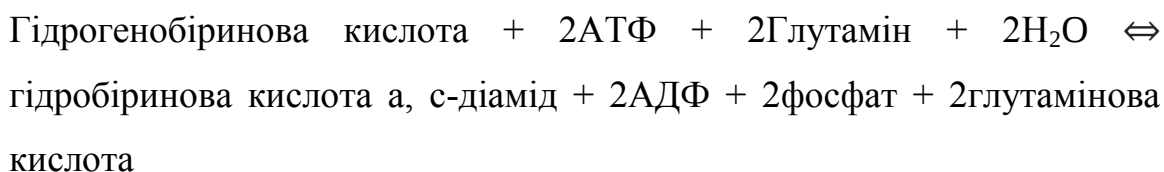
Рисунок 4. Утворення прекорин-8Х [39]

9. Фермент CobH каталізує реакцію перегрупування:

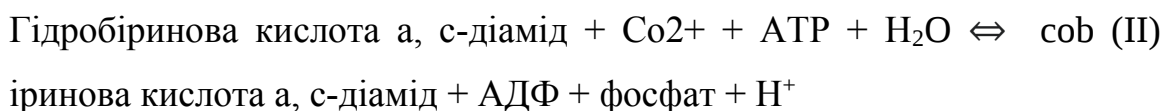


В результаті метильна група, яка була додана до кільця С, ізомеризується до свого кінцевого місця розташування, що є прикладом внутрішньомолекулярного перенесення.

10. Наступний фермент на цьому шляху, CobV, перетворює дві з восьми груп карбонових кислот в їх первинні амід в реакції:



11. Вбудовування кобальту (II) в макроцикл каталізується ферментом кобальтхелатазою (CobNST) в реакції [40]:



Саме на цьому етапі аеробний та анаеробний шляхи зливаються. Тобто більш пізні етапи біосинтезу хімічно ідентичні.

12. Кобальт (II) відновлюється до кобальту (I) ферментом CobR, а потім ферментом COBO приєднує аденозилкобаламін ліганд з металом. Після цього фермент CobQ перетворює всі карбонові кислоти, за винятком пропіонової кислоти в кільці D, в їх первинні амід.

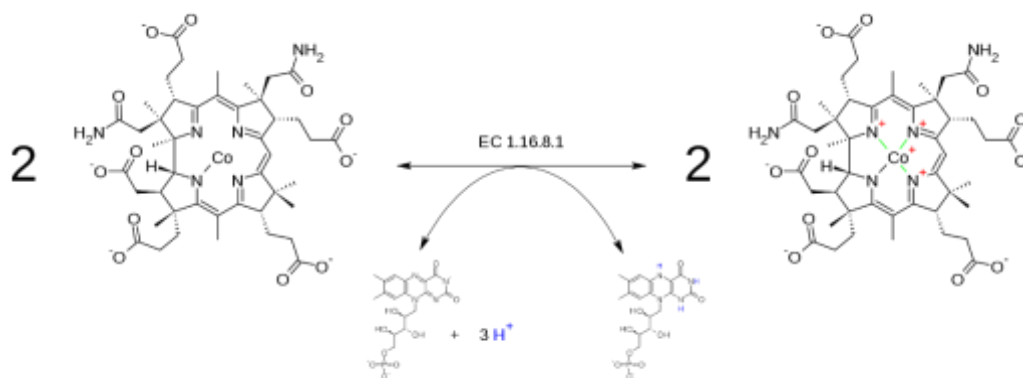
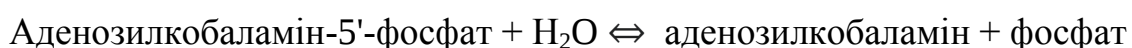


Рисунок 5. Відновлення Кобальт (II) до Кобальт (I) [39]

13. В аеробних організмах фермент CobCD приєднує (R)-1-аміно-2-пропанол (отриманий з треоніну) до пропіонової кислоти, утворюючи аденозилкобінамід і фермент CobU фосфорилує кінцеву гідроксигрупу з утворенням аденозилкобінамідфосфату.

14.Окремим відгалуженням цього шляху шляху 5,6-диметилбензимидазол синтезується з флавінмононуклеотиду ферментом 5,6-диметилбензимидазолсинтазою і перетворюється CobT в альфа-рибазол 5-фосфат. Потім фермент CobU активує аденозилкобінамідфосфат шляхом утворення аденозилкобіаміду-GDP і CobV пов'язує два субстрати з утворенням аденозилкобаламін-5-фосфату [41].

15.На останньому етапі коферменту CobC видаляє 5 '-фосфатну групу і каталізує реакцію [42]:



Отже, біосинтез продукту мікроорганізмом це довгий лінійний шлях хімічних перетворень, який вимагає участі близько 25 ферментів.

Власне ціанокобаламін (Co- α - [α - (5,6-диметил-бензимидазолу)] - (3- β -ціано) кобамід; CN-Cbl; $\text{C}_{63}\text{H}_{89}\text{O}_{14}\text{N}_{14}\text{PCo}$) в якому з кобальтом зв'язується CN^- група, синтезується або утворюється при штучному виділення з живих організмів, в природних умовах не зустрічається. Проте є найбільш стійким утворенням порівняно з іншими кобаламінами.

3.6. Апаратурна схема виробництва

Апаратурна схема виробництва вітаміну B_{12} розчину для ін'єкцій представлена на креслені № 3, № 4 та № 5 формату А1.

У табл. номер 3.1 наведена специфікація необхідного обладнання для даного виробництва.

Загальна кількість апаратів з урахуванням запасу потужності становить:

$$n = \frac{V_1 \cdot K_1 \cdot T_{\text{ц}}}{24 \cdot V_2 \cdot K_2} = \frac{0,104 \cdot 1,5 \cdot 180}{24 \cdot 5 \cdot 0,5} = 0,5$$

де V_1 - добовий об'єм рідкої маси, який відповідає матеріальному балансу, м3/добу; K_1 - коефіцієнт резерву потужності ($K_1 = 1,1-1,15$); $T_{\text{ц}}$ - тривалість циклу, яка включає підготовчі операції і операції технологічного процесу, год; V_2 -геометрична місткість апарата, м3; K_2 - коефіцієнт заповнення.

					МД 162. БТ-5119. 00.00 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		32

Тобто, на розраховану потужність виробництва вистачить одного ферментера для біосинтезу.

Таблиця 3.1

Специфікації обладнання та КВП

Індекс та № за апаратурною схемою	Найменування	Кількість одиниць	Технічна характеристика
1	2	3	4
Пм-1	Пральна машина	1	ASKO (Швеція, Словенія) Завантаження 9 кг, віджим 1400 об/хв, об'єм барабану 64 л, нержавіюча сталь
Сш-2	Сушильна машина	1	ASKO (Швеція, Словенія) Завантаження 9 кг, 3,5 кВт, продуктивність 50 кг на зміну
Ав-4	Автоклава	1	Робочий тиск 0,11 МПа, температура (120±1) °С
Д-5, Д-54, Д-58, Д-83, Д-91	Дозатор для сипких речовин	5	VENTILUS Romasco Pharmatechnik (Німеччина) Діапазон 80-700 кг, 1000 кг/год, клас точності 0,5
Д-7, Д-10, Д-12, Д-15, Д-17, Д-64, Д-69, Д-72, Д-77, Д-80, Д-87, Д-92	Об'ємний дозатор для рідких речовин	12	VENTILUS Romasco Pharmatechnik (Німеччина) 1000 л/год, клас точності 0,5
Н-8, Н-13, Н-18, Н-45, Н-51, Н-55, Н-57, Н-60, Н-62, Н-65, Н-68, Н-70, Н-73, Н-76, Н-78, Н-82, Н-88, Н-92	Насос	19	Раско (Бельгія) Продуктивність 115 м³/год, потужність електродвигуна 10 кВт, нержавіюча сталь
Р-6, Р-11, Р-16	Реактори	3	ХімМікс (Україна) Об'єм 1300 л, пропелерна мішалка, потужність електродвигуна з редуктором 7 кВт, частота обертання вала мішалки 1с ⁻¹
Зб-9, Зб-14, Зб-19	Збірники	3	ХімМікс (Україна) Збірники миючих та дезінфікуючих розчинів. Об'єм 2 м³, нержавіюча сталь

Продовження Табл. 3.1

Пв-20, Пв-30	Повітрозбірник	2	Висота 15 м, діаметр 300 мм.
Ф-21, Ф-31	Фільтр	2	Alter Air (Україна) Фільтр попереднього очищення повітря запиленістю до 5мг/м ³ . Часточки більше 5 мкм. Ефективність очистки 75%. Фільтрматеріал скловолокно
В-22	Центробіжний вентилятор	1	SOLER&PALAU CMB (Іспанія) 500 м ³ /год, сталь, двигун 20 кВт
Ф-24	Головний фільтр	1	Alter Air (Україна) Клас фільтрації М5-М6. Тиск 450 Па. Ефективність 80%
Ф-25, Ф-26, Ф-27	Фільтр тонкої очистки вентиляційного повітря	3	Alter Air (Україна) Клас фільтрації F5-F9 (EU5-EU9). Ефективність 99,9%
К-32	Компресор	1	Gardner Denver (США) 5 м ³ /хв, двигун 30 кВт, тиск 0,7 МПа
Т-33	Теплообмінник	1	Кожухотрубний теплообмінник для охолодження повітря, об'єм 5 м ³
Рс-34	Ресивер	1	Центррезервуарсервис (Україна) Сталь, об'єм 5 м ³ , тиск 8 МПа, вертикальний, наземний
Ф-35	Головний фільтр	1	Фільтр глибинного типу з сорочкою, фільтрматеріал скловата, об'єм 5 м ³ . Часточки 1,5 мкм
Ф-55, Ф-59	Фільтр тонкої очистки повітря	2	ФТО-60. Продуктивність 60 м ³ , коефіцієнт проскоку – 0,001, часточки 0,5 мкм, ефективність очистки 99,9999%
Ф-36	Фільтр грубої очистки води	1	Ecosoft (Україна) Пісчаний фільтр, корпус з нержавіючої сталі
Ф-37	Фільтр вугільний	1	Патронний фільтр з активованим вугіллям, об'єм 800 л
Ф-39, Ф-40	Мембранні фільтри	2	Мембранна ультрафільтрація, розмір пор 1-300 кД, тиск 0,6 МПа

Продовження Табл. 3.1

Ф-41	Іонообмінна колонка	1	Колонка заповнена сферичними кульками, діаметром 0,5-1,2 мм
Ф-43	Установка зворотного осмосу	1	EUROWATER (Велика Британія) Витрата: до 9,6 м³/год. Горизонтальний корпус з нержавіючої сталі з мембранами в 4". Відцентровий насос в корпусі з нержавіючої сталі, фільтр попереднього очищення на 1 μ, панель управління з датчиком електропровідності і автоматичним контролером якості, витратомір з PVC, і клапан промивки
ВА-46, ВА-47, ВА-48, Кс-49	Установка для дистиляції		Finn Aqua "Фінн-аква" (Фінляндія) Трикорпусна випарна колонка та конденсатор, робочий тиск 0,6 до 0,8 МПа, температура 160°C
Пр-52	Пробірки	10	Об'єм 10 мл, борсилікатне скло
Кп-53	Колба	5	Колба для рідкофазного культивування, об'єм 750 мл
I-56	Інокулятор	1	Sartorius (Німеччина) Об'єм 0,63 м³, 1000*470, коефіцієнт заповнення 0,5, турбінна мішалка, подача повітря через барботер, рубашка, тиск 0,3 МПа
P-60	Виробничий ферментер	1	Sartorius (Німеччина) Об'єм 5 м³, коефіцієнт заповнення 0,5, турбінна мішалка, барботер, рубашка, тиск 0,25 МПа, електродвигун 8 кВт
C-62	Сепаратор	1	SEITAL (Італія) Продуктивність 5000 л/год, кількість обертів 5000 об/хв, потужність електродвигуна 9 кВт

Продовження Табл. 3.1

ПФ-67 ПФ-95, ПФ-96	Патронний фільтр	3	CF 05 (Росія) Нержавіюча сталь, продуктивність 10 м ³ /год, кількість фільтруючих елементів 5*20
К-70	Колона іонообмінна	1	Metrosep (Швейцарія) Колона циліндрична, 5 м в висоту, діаметр 2,8 м, робочий тиск 0,6 МПа, швидкість фільтрування 10-100 м/год
Зб-73, Зб-78, Зб-88	Збірник перемішуючим пристроєм	3	Нержавіюча сталь, об'єм 2 м ³ , тиск 0,5 МПа, датчики, пробовідбірник, лопатева мішалка, частота обертів 14-200 об/хв, електродвигун 3 кВт
Ф-75	Рулонний фільтр	1	Sartorius Stedim Biotech (Франція) Продуктивність 4000 л/год, робочий тиск 0,02 - 0,05 МПа
К-81	Колона Хроматографічна	1	Metrosep (Швейцарія) Колона циліндрична, 4,6 м в висоту, діаметр 2,6 м, робочий тиск 0,6 МПа, швидкість фільтрування 10-100 м/год
Кр-84	Кристалізатор	1	Нержавіюча сталь, об'єм 4,8 м ³ , робочий тиск 0,3 МПа, датчики температури, тиску, рівня
ДФ-86, ДФ-90	Друк-фільтр	2	Еврохиммах (Росія) Об'єм 2 м ³ , тиск 0,04 МПа, діапазон температур -20 до +130 °С, поверхня фільтрування 1,8 м ²
Зб-97	Збірник	1	Нержавіюча сталь, об'єм 1000 л, тиск 0,4 МПа, датчики тиску, пробовідбірник, мембранний клапан
Р-93	Реактор для приготування розчину для ін'єкцій	1	ХімМікс (Україна) Об'єм 1000 л, пропелерна мішалка, рубашка, датчики тиску та температури, пробовідбірник, електродвигун 7 кВт

Продовження Табл. 3.1

ГФ-99	Машина наповнення та запайки ампул	1	Bosch (США) Автоматична лінія шпринцевого наповнення, Продуктивність 24000 ампули/год, потужність 4 кВт
ГФ-101	Обладнання контролю механічні включення на	1	Bosch (США) Автоматична інспекційна машина для контролю ампули на механічні вставки, Продуктивність 24000 ампули/год, потужність 3 кВт
ГФ-102	Обладнання упаковки ампул	1	Трансмедтех (Україна) Автоматична лінія упаковки ампул об'ємом 1 мл та 2 мл, продуктивність 1200 уп/год, потужність 3 кВт

3.7. Характеристика сировини, матеріалів та напівпродуктів

Виробництво лікарського засобу має бути забезпечено всією необхідною сировиною та матеріалами високої якості, відповідно до існуючих нормативно-технічних документів.

Таблиця 3.2

Характеристика сировини матеріалів та напівпродуктів

Найменування	Категорія і номер НТД	Сорт, артикул, тощо	Показники НТД обов'язкові для перевірки	Функціональне призначення
1	2	3	4	5
1. Основна сировина:				
1.1 Агар мікробіологічний	ГОСТ 17206-96	Білий або світло-кремовий, без стороннього запаху	Масова доля сухого агару 85%, інші показники згідно ГОСТ	Компонент поживного середовища для підтримання штаму
1.2 Амоній фосфорнокислий двозаміщений	ГОСТ 3772-74	Кристалічний	Масова доля двозаміщеного фосфорнокислого амонію не менше 99 %, інші показники згідно ГОСТ	Компонент поживного середовища для підтримання штаму

Продовження Табл. 3.2

1.3 Ацетон безводний	ГОСТ 2603-79	Чистий	ГОСТ 2603-79асова доля ацетону 99,75 %, інші показники відповідно до ГОСТ	Для промивки кристалів
1.4 Вода для ін'єкцій	СТ-Н МОЗУ 42-3.7:2013		Згідно Настанови	Допоміжна речовина ГЛЗ
1.5 Водний розчин аміаку	ГОСТ 9-92	Марка А	Всі показники згідно ГОСТ	Для десорбції
1.6 Гліцерин	ГОСТ 6824-96	Дистильований	Всі показники згідно ГОСТ	Компонент поживного середовища для ферментації
1.7 Двоосновний фосфат амонію	ГОСТ 3772-74	Хімічночистий	Всі показники згідно ГОСТ	Компонент поживного середовища для отримання посівного матеріалу
1.8 Катіоніт СГ-1	ТУ У 24.1-30168850-031-2003	СГ-1М-1	Всі показники відповідно до ТУ	Матеріал для іонообмінної сорбції
1.9 Кобальт хлористий	ГОСТ 4525-77	Хімічночистий	Масова частка 6-водного хлористого кобальту 99,0 %, інші показники згідно ГОСТ	Компонент поживного середовища для отримання посівного матеріалу, ферментації
1.10 Марганець сірчаноокислий	ГОСТ 435-77	Кристалічний	Масова доля 5-водного сірчаноокислого марганцю 98%, інші показники згідно ГОСТ	Компонент поживного середовища для отримання посівного матеріалу, ферментації
1.11 Магній оксид	ГОСТ 4526-75	Білий порошок	Масова доля оксиду магнію 98%, інші показники згідно ГОСТ	Компонент поживного середовища для ферментації

Продовження Табл. 3.2

1.12 Магній сірчаноокислий	ГОСТ 4523-77	Кристалічний	Масова доля 7- водного сірчаноокислого магнію 99,5%, інші показники згідно ГОСТ	Компонент поживного середовища для отримання посівного матеріалу, ферментації
1.13 Меляса	ДСТУ 3696-98	Густа, в'язка	Масова доля сухих речовин не менше 75,0%, інші показники згідно ДСТУ	Компонент поживного середовища для підтримання штаму, отримання посівного матеріалу, ферментації
1.14 Метанол	ДСТУ 3057-95	Марка А	Всі показники згідно ДСТУ	Для розчинення вітаміну перед очисткою на хроматографічній колонці
1.15 Натрію ацетат тригідрат	ДФУ 1.1.- 2004	Кристалічний	Натрію ацетат тригідрат містить не менше 99,0 % і не більше 101,0 % натрію етаноату тригідрату, у перерахунку на суху речовину	Допоміжна речовина ГЛЗ
1.16 Оксид алюмінію	ТУ 6-09- 3916-75	Кваліфікації чистий	Всі показники відповідно до ТУ	Для заповнення хроматографічної колонки
1.17 Оцтова кислота	ГОСТ 61- 75	Хімічночиста	Масова доля оцтової кислоти 99,5 %, інші показники відповідно ГОСТ	Допоміжна речовина ГЛЗ
1.18 Пропінол Б- 400	ТУ 6-14- 300-80		Всі показники згідно ТУ	Піногасник
1.19 Сахароза	ГОСТ 5833-75	Дрібнокристалічний порошок	Всі показники згідно ГОСТ	Компонент поживного середовища для ферментації

Продовження Табл. 3.2

1.20 Сірчана кислота	ГОСТ 4204-77	Концентрована	Всі показники згідно ГОСТ	Для підкислення
1.21 Сульфат амонію	ГОСТ 9097-82	Кристалічний	Масова доля основної сировини не менше 99 %, інші показники згідно ГОСТ	Компонент поживного середовища для підтримання штаму
1.22 Тетрахлорметан	ГОСТ 4-84	Вищий сорт	Показники згідно ГОСТ	Перевірка обладнання на герметичність
1.23 Цинк сірчаноокислий	ГОСТ 4174-77	Кристалічний	Масова доля 7-водного сірчаноокислого цинку 99,5%, інші показники згідно ГОСТ	Компонент поживного середовища для отримання посівного матеріалу, ферментації
1.24 Цинк хлористий	ГОСТ 4529-78	Чистий	Масова доля хлористого цинку 98 %, інші показники згідно ГОСТ	Для коагуляції білків
1.25 Хлорид натрію	ДФУ 1.1.-2004	Кристалічний	Натрію хлорид містить не менше 99,0 % і не більше 100.5 % NaCl. у перерахунку на суху речовину.	Допоміжна речовина ГЛЗ
1.26 Холінхлорид		Кристалічний	Масова часта 99 %	Компонент поживного середовища для ферментації
1.27 Штам <i>Pseudomonas fluorescens</i> ВКМ В-2224Д			Морфологія, характерна для даного продуценту, без присутності сторонньої мікрофлори	Посівний матеріал
1.28 5,6-диметил-бензімідазол	ТУ 64-5-36-83	Порошок	Всі показники згідно ТУ	Компонент поживного середовища для отримання посівного матеріалу, ферментації

Продовження Табл. 3.2

2. Допоміжна сировина:				
2.1 Вода питна	ГОСТ 2874-82		pH 6,0-9,0; хлориди - не більше 350 мг/дм ³ ; жорсткість загальна - не більше 7 моль/дм ³	Холодо- та теплоагент, мийка та ополіскування обладнання
2.2 Вода очищена	СТ-Н МОЗУ 42-3.7:2013		Згідно Настанови	Для приготування поживних середовищ
2.3 Хлорамін	ТУ 9392-031-00203306-97	Хлорамін Б	Вміст показники відповідно ТУ	Для мийки обладнання, приміщень
2.4 Натр їдкий технічний	ГОСТ 2263-79		Масова частка гідроксиду натрію не менше 42%	Для нейтралізації стічних вод
3. Матеріали:				
3.1. Фільтри повітряні	ДСТУ 3493-96	НЕРА	Усі показники у відповідності з ДСТУ	Підготовка вентиляційного повітря
3.2. Високоєфективні і повітряні фільтри	ДСТУ EN 1822-1-2001	ФТО-60	Усі показники у відповідності з ДСТУ	Підготовка аераційного повітря
3.3. Ампули	ТУ У 00480945-005-96	ВО-1	Усі показники відповідно з ТУ	Розлив препарату
3.4. Картонні коробки	ГОСТ 12301-2006	Тип І	Маркування, цілісність	Вторинна упаковка по 6 флаконів
4. Напівпродукти:				
4.1. Посівний матеріал	Згідно виробничого регламенту		Мікробіологічна чистота	Засів ферментера
4.2. Субстанція ціанокобаламіну	Розроблена специфікація	Порошкоподібна	Всі показники відповідно до специфікації	Отримання розчину для ін'єкцій

3.8. Опис технологічного процесу

ДР 1. Санітарна підготовка виробництва

					МД 162. БТ-5119. 00.00 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		41

Санітарна підготовка виробництва здійснюється відповідно до розроблених технічних регламентів на підприємстві задля дотримання вимог НВП. Даний етап виключає контамінацію кінцевого продукту на всіх стадіях виробництва. Реалізується щоденним, позмінним, генеральним прибираннями, підготовкою обладнання тощо.

ДР 1.1 Підготовка персоналу

При влаштуванні на роботу та потім один раз на рік всі працівники біотехнологічного виробництва проходять обов'язковий медогляд. Також підготовка персоналу включає інструктаж з техніки безпеки, стажування та періодичне проходження професійних лекцій. Персонал виробництва забезпечується комплектом спеціального одягу та має бути наявне змінне взуття. Персонал відповідний за особисту гігієну та дотримання санітарних норм на виробництві [8].

ДР 1.2 Підготовка технологічного одягу

Чисті приміщення виробництва стерильних лікарських засобів висувають вимоги до технологічного одягу працівників. У приміщеннях зони А, класу В необхідно мати стерильний костюм, бахіли, маску, шапочку на голову, гумові рукавички. У приміщенні класу чистоти С –костюм, бахіли, маска [8].

ДР 1.2.1 Прання технологічного одягу

Здійснюється в пральній машині Пм-1 за допомогою миючого засобу, за температури 60 – 90 °С, тривалість 60 хвилин. Після цього одяг ополіскується 30 хвилин. Здійснюється контроль температури та часу (Кт 1.2.1.1).

ДР 1.2.2 Сушіння технологічного одягу

Процес здійснюється в сушильній шафі Сш-3 до якої надходить очищене повітря, температурою 110 °С, тривалість 60 хвилин. Далі одяг

					МД 162. БТ-5119. 00.00 ПЗ	Арк.
						42
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

прасують в П-3, після цього складають в паперові пакети для подальшої стерилізації. Здійснюється контроль температури та часу (Кт 1.2.2.1).

ДР 1.2.3 Стерилізація технологічного одягу

Проводиться в автоклаві Ав-4, підтримується температура 120 °С протягом 45 хвилин. Здійснюється контроль температури та часу (Кт 1.2.3.1).

ДР 1.3 Приготування миючих та дезінфікуючих розчинів

Необхідні розчини готують у відповідних реакторах реакторах та застосовують для підготовки приміщень та обладнання до роботи.

ДР 1.3.1 Приготування миючого засобу

1 %-ий розчин хлораміну готується у реакторі Р-6 з перемішуючим пристроєм (40 об/хв) куди вноситься через дозатор Д-5 10 г хлораміну та 990 мл води. Зберігається такий розчин не більше 5 діб. Здійснюється контроль дозування, кількості обертів та часу процесу (Кт 1.3.1.1), а також контролюють термін зберігання розчину.

ДР 1.3.2 Приготування розчину перекису водню

У реактор Р-11 з перемішуючим пристроєм (40 об/хв) вноситься через дозатор Д-10 30%-вий перекис водню та вода. Перемішується протягом 60 хвилин. Отриманий 6%-вий розчин перекису водню може зберігатися 5 діб та використовуватися для дезінфекції приміщень й обладнання. Здійснюється контроль дозування, кількості обертів та часу процесу (Кт 1.3.2.1) та контроль терміну зберігання розчину.

ДР 1.3.3 Приготування 76%-го розчину спирту етилового

Приготування відбувається у реакторі Р-16 з перемішуючим пристроєм куди вноситься через дозатор Д-15 96%-вий розчин етилового спирту та вода в розрахованих кількостях. Зберігається отриманий розчин протягом 1 місяці в герметичній тарі. Використовується для дезінфекції рук та поверхні приладів. Здійснюється контроль дозування, кількості обертів та часу

					МД 162. БТ-5119. 00.00 ПЗ	Арк.
						43
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

процесу (Кт 1.3.3.1), а також контролюють термін зберігання розчину, герметичність збірника.

ДР 1.4 Підготовка приміщень

З метою підготовки приміщень проводять вологе прибирання, дезінфекцію поверхонь тощо. Виділяють щоденне прибирання задля видалення відходів, відпрацьованих розчинів, здійснюють обробку технологічного обладнання та генеральне прибирання, яке проводять раз на тиждень миючими засобами. Відпрацьовані розчини після прибирання направляють на знезараження [43].

ДР 1.5 Підготовка обладнань та комунікацій

Підготовка обладнання та комунікацій необхідний етап санітарної підготовки виробництва для забезпечення асептичності.

ДР 1.5.1 Миття та ополіскування обладнання

Спочатку обладнання миють водою протягом 2 хвилин, яку передають на нейтралізацію перед скидом в каналізацію. Після цього обладнання миють розчином лугу протягом 40 хвилин при температурі 40° С або миючим засобом при температурі 60° С. Після цього обладнання ополіскують водою очищеною. Миючі розчини та використана вода відправляються на нейтралізацію, а потім до каналізації. Здійснюється контроль температури, часу (Кт 1.5.1.1).

ДР 1.5.2 Перевірка на герметичність

Сучасні технології на даному етапі пропонують галоїдні течешукачі, які направлені на фіксацію галогенопохідних алканів. У обладнання та комунікації, які були герметично закритими, закачують тетрахлорметан до тиску 0,5 МПа, після цього датчиком здійснюють обстеження всіх з'єднань. Особливо уважним треба бути до фланцевих з'єднань та ущільнень кришок обладнання [44]. Контролюють тиск в системі (Кт 1.5.2.1).

					МД 162. БТ-5119. 00.00 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		44

ДР 1.5.3 Стерилізація обладнання

Стерилізацію обладнання та прилеглих комунікацій здійснюють гострою парою при температурі 140 °С, та тиску 0,2 МПа, тривалість операції одна година [43]. Здійснюється контроль температури, тиску та часу процесу (Кт 1.5.3.1), а також мікробіологічний контроль (Кмб 1.5.3.2).

ДР 2. Підготовка повітря

ДР 2.1 Підготовка вентиляційного повітря

Необхідне для вентиляції приміщень з метою запобігання контамінації лікарського засобу.

ДР 2.1.1 Забір повітря

Необхідно враховувати висоту з якої забирається повітря задля уникнення газоподібних забруднень [27]. Здійснюється повітрозбірником Пв-20, висота якого 15 м, діаметр 300 мм, тиск 0,8 МПа, працює в діапазоні температур від -40 °С до +120 °С.

ДР 2.1.2 Механічна очистка повітря

Видаляється основна маса механічних часток великих розмірів (більше 5 мкм) на фільтрі попередньої очистки Ф-21. Фільтр представляє собою розбірну алюмінієву раму з касетою в яку вставляється фільтрувальний матеріал [43]. Ефективність близько 60%. Здійснюється контроль тиску (Кт 2.1.2.1).

ДР 2.1.3 Стиснення повітря

Від Ф-21 повітря направляється до вентилятору В-22. Тут відбувається стискання повітря до 0,35 МПа, за температури 200 °С [43]. Здійснюється контроль тиску і температури (Кт 2.1.3.1).

ДР 2.1.4 Кондиціонування та стабілізація параметрів повітря

Операція здійснюється у кондиціонері К-23. На цьому етапі стабілізуються фізико-хімічні параметри повітря [43]. Температура становить

					<i>МД 162. БТ-5119. 00.00 ПЗ</i>	Арк.
						45
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

20°C, а вологість від 40 до 60%. Здійснюється контроль температури та відносної вологості (Кт 2.1.4.1).

ДР 2.1.5 Очищення повітря на фільтрі 2-го ступеня

Від К-23 повітря подається на головний фільтр Ф-24. Діаметр фільтруючого елементу становить 1,5 мкм. Таке повітря подається в приміщення класу чистоти D з допустимою концентрацією часток 3 520 000 част/м³. До приміщень класу чистоти C (концентрація часток 352 000 част/м³) повітря проходить ще один фільтр Ф-25 типу тонкої очистки з діаметром пор 1 мкм [8]. Здійснюється контроль тиску та вмісту механічних часток у повітрі (Кт 2.1.5.1).

ДР 2.1.6 Очищення повітря на фільтрі 3-го ступеня

Для приміщень класу B та зони класу A ще використовуються фільтри HEPA Ф-26, Ф-27. До зони класу A повітря подається ламінарним потоком зі швидкістю повітря в діапазоні 0,36-0,54 м/с [8]. Здійснюється контроль тиску, вмісту механічних часток у повітрі та швидкість потоку повітря (Кт 2.1.6.1).

ДР 2.2. Підготовка стерильного повітря

Використовується у процесі ферментації та підготовці посівного матеріалу при використанні аеробного продуценту.

ДР 2.2.1 Забір повітря

Так само, як в ДР 2.1.1

ДР 2.2.2 Механічна очистка та стиснення повітря

Механічну очистку проводять на гофрованому фільтрі Ф-31. Розмір пор 5 мкм. Після цього повітря стискають у турбогазодувці К-32 до тиску 0,2 МПа і при цьому відбувається нагрівання повітря до 100-120 °C. Такий тиск

					МД 162. БТ-5119. 00.00 ПЗ	Арк.
						46
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

дозволяє забезпечити гідродинамічний опір в системі транспортування повітря [43]. Здійснюється контроль тиску та температури (Кт 2.2.2.1).

ДР 2.2.3 Охолодження повітря

Операція здійснюється в теплообміннику Т-33, відбувається охолодження повітря до 20 °С. Теплообмінник представляє собою конструкцію з нерухомими трубними решітками, працює під тиском. Здійснюється контроль температури (Кт 2.2.3.1).

ДР 2.2.4 Стабілізація термодинамічних показників

Після теплообмінника повітря потрапляє у ресивер Рс-34 для вирівнювання тиску та видалення масляного туману [43]. Апарат має циліндричну форму з еліптичними днищами. Робочий тиск 1,2 МПа. Повітря після ресиверу має тиск 0,2 МПа та температуру 30 °С. Здійснюється контроль тиску та температури (Кт 2.2.4.1).

ДР 2.2.5 Очищення на головному фільтрі

На головному фільтрі Ф-35 з діаметром пор до 1,5 мкм видаляється основна маса контамінантів. Фільтрувальний матеріал підлягає циклічній стерилізації гострою та глухою парою протягом 4 годин при тиску 0,12-0,15 кПа. Фільтрувальний матеріал – скловата та шар гранульованого активованого вугілля [43]. Здійснюється контроль тиску (Кт 2.2.5.1).

ДР 2.2.6 Очищення на індивідуальному фільтрі

Здійснюється на фільтрі ФТО-60 Ф-55 та Ф-59, які встановлюються безпосередньо перед інокулятором та реактором для виробничого біосинтезу, з діаметром пор до 0,5 мкм. Фільтрувальний матеріал – базальтове супертонке волокно, або базальтове мікротонке волокно, або синтетичне волокно, які не потребують створення додаткового тиску. Здійснюється контроль тиску (Кт 2.2.6.1).

ДР 3. Підготовка води очищеної та води для ін'єкцій

					МД 162. БТ-5119. 00.00 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		47

Для виробництва стерильного лікарського засобу вітаміну В₁₂ необхідна підготовка води для ін'єкцій належної якості. Воду для ін'єкцій отримують з води очищеної багатократною дистиляцією [9].

ДР 3.1 Очистка на механічному фільтрі

Вода насосом потрапляє на перший ступінь очистки від домішок розміром більше 80-100 мкм та захистити систему подальшої очистки. Така очистка здійснюється на фільтрі Ф-36 з пісчаною набивкою. Здійснюється контроль тиску (Кт 3.1.1), вміст оксиду заліза, колоїдних сполук (Кх 3.1.1).

ДР 3.2 Очищення на вугільних фільтрах

У вугільному фільтрі Ф-37 вода проходить очистку від органічних речовин та хлору. Обладнання – патронний фільтр з активованим вугілля. Контролюється тиск води на вході та на виході з фільтру. Здійснюється контроль тиску (Кт 3.2.1), вмісту хлору (Кх 3.2.2).

ДР 3.3 Ультрафільтрація

Здійснюється на системі мембран Ф-39, Ф-40. Ультрафільтраційні мембрани з діаметром пор 0,001 - 0,05 мкм затримують речовини молекулярні маси яких від 10 000 до 1 000 000. Здійснюється контроль тиску (Кт 3.3.1) та органічних сполук, важких металів (Кх 3.3.2)

ДР 3.4 Деіонізація

Операція відбувається на іонообмінній смолі Ф-41, що складаються з сферичних кульок, діаметром 0,5-1,2 мм. Контроль на цій стадії здійснюється за рахунок вимірювання питомої електричної провідності води на виході з системи. Здійснюється контроль тиску (Кт 3.4.1), вмісту іонів кальцію, магнію (Кх 3.4.2).

ДР 3.5 Зворотній осмос

Операція зворотного осмосу забезпечує видалення розчинних солей, неорганічних та органічних молекул з молекулярною масою більше 100 та мікроорганізмів, пірогенних речовин. Використовується установка

					МД 162. БТ-5119. 00.00 ПЗ	Арк.
						48
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

зворотного осмосу Ф-43. Очищена вода збирається у збірник Зб-44, який містить ультрафіолетову лампу, а також здійснюється постійна циркуляція води. Здійснюється контроль тиску та температури (Кт 3.5.1), органічних сполук (Кх 3.5.2).

ДР 3.6 Дистиляція

На цій стадії вода проходить процес багатократної дистиляції. Використовуються установка, яка складається з випарних апаратів ВА-46, ВА-47, ВА-48 та конденсатору Кс-49. Температура нагріву 160 °С гострою парою, тиск не менше 0,4 МПа. Вода для ін'єкцій потрапляє в збірник Зб-50, де підтримується температура 85-90 °С, наявна ультрафіолетова лампа та постійна циркуляція води. Збірник перед використанням обов'язково стерилізується гострим паром при температурі від 120 - 130 °С, тиску 0,12 - 0,18 МПа, протягом 20 – 30 хвилин. На стадії здійснюють контроль тиску, температури, питому електропровідність (Кт 3.6.1), мікробіологічний моніторинг (Кмб 3.6.2), хімічний контроль відповідно до вимог до води для ін'єкцій (Кх 3.6.3).

ДР 4. Підготовка ампул

Наповнення ампул буде відбуватися на автоматичній лінії касетного типу. Але перед наповненням ампули обов'язково проходять підготовчий етап.

ДР 4.1 Мийка ампул

Ампули отримані від виробника вкладають в касети. Укладання ампул в одну і ту ж касету здійснюють тільки одного типорозміру по діаметру кульки, тобто одночасно відбувається відбракування ампул. Далі ампули поступають на мийку, здійснюється мийка очищеною водою 35 - 45 секунд при температурі води очищеної 65 - 75 °С та ополіскуються водою для ін'єкцій. Здійснюють контроль температури та часу процесу (Кт 4.1.1).

ДР 4.2 Сушка та стерилізація ампул

					<i>МД 162. БТ-5119. 00.00 ПЗ</i>	Арк.
						49
<i>Зм.</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>		

Касети з чистими ампулами після мийки встановлюють на транспортерну стрічку тунельної печі «Лер» для сушки і стерилізації ампул.

Сушку ампул здійснюють при температурі $(180 \pm 20) ^\circ \text{C}$ протягом (25 ± 1) хвилин з наступним охолодженням ампул повітрям, фільтрованим на фільтрі «Лайк». Швидкість руху транспортерної стрічки $(0,7 \pm 0,01)$ м/хв. Здійснюють контроль температури, часу, тиску процесу (Кт 4.2.1) та контроль на стерильність (Кмб 4.2.2).

ДР 5. Підготовка поживного середовища

ДР 5.1 Підготовка поживного середовища для отримання посівного матеріалу

Підготовка відбувається безпосередньо в інокулятор І-56. Через дозатор Д-54 завантажують необхідні компоненти. Середовище включає: меляса 18 л, двуосновний фосфат амонія 0,3 кг, кобальт хлористий 0,003 кг, магній сірчаноокислий 0,3 кг, марганець сірчаноокислий 0,03 кг, цинк сірчаноокислий 0,006 кг, 5-6-диметилбензилімідазол 0,009 кг, вода 270 л. Мелясу попередньо розчиняють у гарячій воді ($105 - 108 ^\circ \text{C}$). Готують водні розчини солей (концентрація 10-12 %). Операція перемішування триває 30 хвилин. Здійснюється контроль точності дозування, температури та часу процесу (Кт 5.1.1).

ДР 5.2 Стерилізація поживного середовища для отримання посівного матеріалу

Операцію здійснюють «гострою» парою при тиску 0,3 МПа та температурі $125 ^\circ \text{C}$, тривалість 15 хв, після цього середовище необхідно охолодити до температури $30 ^\circ \text{C}$. Для охолодження подають холодну воду в рубашку реактора. Здійснюється контроль температури, тиску, часу (Кт 5.2.1) та контроль на стерильність (Кмб 5.2.2).

ДР 5.3. Підготовка поживного середовища для виробничого біосинтезу

					МД 162. БТ-5119. 00.00 ПЗ	Арк.
						50
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Готується середовище наступного складу: м'яса 350 л, сахароза 50 кг, гліцерофосфорна кислота 5 л, кобальт хлористий 0,25 кг, холінхлорид 25 кг, магній сірчаноокислий 2,5 кг, магній оксид 1,25 кг, сірчаноокислий амоній 5 кг, цинк сірчаноокислий 1,25 кг, 5-6-диметилбензилімідазол 0,5 кг, гліцерин 2,5 л, вода 2100 л. Так само, як і для посівного матеріалу м'ясу розчиняють, готують розчини солей. Через дозатор Д-58 всі компоненти завантажують у реактор для біосинтезу Р-60 з перемішуючим пристроєм, тривалість перемішування 30 хвилин. Здійснюється контроль точності дозування, температури та часу процесу (Кт 5.3.1).

ДР 5.4 Стерилізація поживного середовища для виробничого біосинтезу

Стерилізують за допомогою «гострої» пари при тиску 0,3 МПа та температурі 125°C, тривалість операції 15 хвилин. По завершенню стерилізації подають холодну воду в рубашку реактору для охолодження до температури культивування. Здійснюється контроль температури, тиску, часу (Кт 5.4.1) та контроль на стерильність (Кмб 5.4.2).

ДР 6. Підготовка допоміжних речовин, сировини

Необхідно підготувати розчини солей натрій хлор та натрію ацетат тригідрат. Готують в окремих реакторах з перемішуючим пристроєм до повного розчинення субстанцій не менше 10 хвилин.

Також, підготовки потребує піногасник, який необхідно простерилізувати перед використанням.

ДР 7. Підготовка посівного матеріалу

ДР 7.1 Відновлення музейної культури

Музейну культуру висівають у пробірки Пр-52 з агаризованим середовищем. Процес здійснюють в термостаті при температурі 30 °C протягом 120 годин. По завершенню процесу контролюють культуральні властивості, виконують мікроскопію продуценту. Пробірки, які будуть

					МД 162. БТ-5119. 00.00 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		51

використані у даному процесі стерилізують в автоклаві при температурі 121° С. Здійснюють контроль температури, часу процесу (Кт 7.1.1), мікробіологічний контроль (Кмб 7.1.2).

ДР 7.2 Одержання посівного матеріалу в колбах на качалках

У колби Ерленмейера Кп-53, об'ємом 750 мл з рідким поживним середовищем, об'ємом 50 мл вносять нарощену культуру з пробірок. Процес відбувається при температурі 30 °С протягом 48 годин, на орбітальній качалці при 200 об/хв. Колби, які будуть використані у даному процесі стерилізують в автоклаві при температурі 121° С. Здійснюють контроль температури, часу процесу, кількість обертів (Кт 7.2.1), мікробіологічний контроль (Кмб 7.2.2).

ДР 7.3 Одержання посівного матеріалу в інокуляторі

З попереднього етапу культуру в дозі не менше 0,1 % переносять в реактор І-56 з перемішуючим пристроєм, з рідким поживним середовищем. Умови процесу: температура 30 °С, подача повітря 0,2 – 0,5 л/л середовища, протягом 40 – 60 годин. Контролюється оптична щільності (має бути більше 0,2), відсутність контамінації. Здійснюють контроль температури, часу процесу, кількості обертів, тиску (Кт 7.3.1), мікробіологічний контроль (Кмб 7.3.2).

ТП 8. Виробничий біосинтез

По завершенню процесу отримання посівного матеріалу, його за рахунок різниці тисків в реакторах направляють у виробничий ферментер. Біосинтез проходить у реакторі Р-60 при таких умовах: температура 28 – 32° С, постійне перемішування, надлишковий тиск 0,05 МПа, витрата повітря 0,2 л/л за одну хвилину. Тривалість біосинтезу 72 годин. В кінці процесу кількість цільового продукту в культуральній рідині складає 120 – 150 мкг/мл, показник визначається мікробіологічним методом за допомогою тест-культури E.coli 113-3 або спектрофотометрією. Здійснюють контроль

					МД 162. БТ-5119. 00.00 ПЗ	Арк.
						52
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

температури, тиску, часу процесу, кількості обертів, (Кт 8.1), мікробіологічний контроль (Кмб 8.2).

ТП 9. Відділення біомаси

Біомасу відділяють на сепараторі С-62. Продуктивність сепаратору 5000 л/год. Кількість обертів 5000 об/хв. Рідка фаза йде на знешкодження, а біомаса на подальшу екстракцію. Здійснюють контроль кількості обертів (Кт 9.1).

ТП 10. Екстракція

Операцію проводять у реакторі Р-65 з перемішуючим пристроєм. Вітамін В₁₂ екстрагується з біомаси при температурі 90 ± 10 °С водою, підкисленою сірчаною кислотою до рН 5,8, з інтенсивністю перемішування 170 об/хв протягом 3 годин. Здійснюють контроль температури, кількості обертів, часу процесу (Кт 10.1), рН (Кх 10.2).

ТП 11. Додавання KCN

Перед додаванням KCN необхідне охолодження водного екстракту до 25 °С, для цього подають холодну воду в рубашку реактора Р-65, потім рН доводять до 8,5 розчином лугу. Додавання KCN здійснюється з перемішуванням протягом 16 год. Після цього додають ZnCl₂ (для осадження домішок), та доводять рН до 8,0 з перемішуванням. Здійснюють контроль температури, кількості обертів, часу процесу (Кт 11.1), рН (Кх 11.2).

ТП 12. Фільтрування

Фільтрація розчину на патронному фільтрі ПФ-67 з діаметром пор 0,5 мкм, тривалість операції 3 години. Здійснюють контроль часу процесу, тиску (Кт 12.1).

ТП 13. Виділення вітаміну В₁₂ з водного екстракту

ТП 13.1 Іонообмінна сорбція

					МД 162. БТ-5119. 00.00 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		53

Для виділення вітаміну В₁₂ з водного екстракту фільтрат сорбують на іонообмінній смолі СГ-1(слабокислотний макропористий катіоніт з поліакриловою матрицею, що містить функціональні карбоксильні групи). Іонообмінна сорбція здійснюється на апараті періодичної дії К-70 з робочим тиском 0,6 МПа, швидкістю фільтрування 10-100 м/год. Гранулометричний склад катіоніту: розмір зерен в набряклому стані 0,315-1,25 мм, об'ємна частка робочої фракції 98%, коефіцієнт однорідності 1,7. Здійснюється контроль тиску, швидкості фільтрування (Кт 13.1).

ТП 13.2 Десорбція

В якості розчину для елюції використовують водний розчин аміаку, який пропускають через іонообмінну колонку. Елюент збирають у збірник 36-73.

ТП 14. Підкислення

Аміачний елюат після десорбції з смоли СГ-1 подкислюється у збірнику 36-68 розчином соляної кислоти (37%) до рН 7,0 і направляється на стадію нанофільтрації. Здійснюється контроль рН (Кх 14.1).

ТП 15. Нанофільтрація

Операцію здійснюють в апараті Ф-75 на мембранному рулонному елементі, мембрана якого є пористу полімерну плівку. Процес нанофільтрації здійснюється в режимі тангенціальної (проточною) фільтрації при величині трансмембранного тиску від 0,02 до 0,05 МПа і температурі 45-50 °С. Номінальний поріг затримання в нанофільтруючому елементі 400 Да. Так, обумовлюється практично повна затримку вітаміну, молекулярна маса якого становить 1355,4. Вихід на стадії нанофільтрації 94,7%. Здійснюється контроль тиску, температури (Кт 15.1).

ТП 16. Очистка вітаміну В₁₂ на хроматографічній колонці

Від органічних домішок вітамін В₁₂ очищають методом рідинної хроматографії.

					МД 162. БТ-5119. 00.00 ПЗ	Арк.
						54
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

ТП 16.1 Розчинення в метанолі

Даний етап проводять у збірнику 3б-78 з перемішуючим пристроєм (30/40 об/хв), куди через дозатор додають метанол. Операція триває 10 хвилин. Здійснюється контроль точності дозування, кількості обертів, часу процесу (Кт 16.1.1).

ТП 16.2 Наповнення хроматографічної колонки

Попередньо оксид алюмінію прожарюють 5 годин при 600 ° С, потім охолоджують, та додають дистильовану воду в кількості 4% від маси оксиду алюмінію [45]. Використовують через добу. Таким оксидом алюмінію заповнюють хроматографічну колонку К-81, діаметр якої 2,6, а довжина 4,6 м. Здійснюється контроль температури, тиску, часу (Кт 16.2.1).

ТП 16.3 Фракціонування розчину

Розчин вітаміну В₁₂ в метанолі із 3б-78 надходить до хроматографічної колонки К-81 за допомогою насосу Н-79 по 100 мкл, всього має пройти 500 л розчину. Елюція продукту здійснюється сумішшю 2% оцтової кислоти з метанолом, яка подається у колонку зі швидкістю 10 мл/хв через дозатор Д-80. Очищений продукт надходить на стадію кристалізації. Здійснюється контроль швидкості подачі сумішші для елюції (Кт 16.3.1).

ТП 17. Кристалізація

Процес кристалізації відбувається в апараті з сорочкою Кр-84 за температури 3-4 °С протягом 24-48 годин. Здійснюється контроль температури, часу процесу (Кт 17.1).

ТП.18 Фільтрація

Отримані кристали необхідно відфільтрувати в апараті друк-фільтр ДФ-86 протягом 24 годин. Кристали затримуються на фільтрувальному матеріалі, а потім передаються на стадію вакуумного висушування. Здійснюється контроль тиску, часу процесу (Кт 18.1).

					МД 162. БТ-5119. 00.00 ПЗ	Арк.
						55
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

ТП 19. Промивка кристалів

Після фільтрації кристали необхідно промити, операцію здійснюють у збірнику з перемішуючим пристроєм Зб-88, куди через дозатор Д-87 подають безводний ацетон з ефіром. Операція триває 60 хвилин. Після цього кристали знов відфільтровують на друк-фільтрі ДФ-90 протягом 24 годин. Здійснюється контроль точності дозування, тиску, часу процесу (Кт 19.1).

ТП 20. Фільтрація кристалів

Після промивки кристали знов відфільтровують на друк-фільтрі ДФ-90 протягом 24 годин. Здійснюється контроль тиску, часу процесу (Кт 20.1).

ТП 21. Приготування розчину вітаміну В₁₂ для ін'єкцій

В реактор Р-93 завантажується 650 л води для ін'єкцій через дозатор Д-92 температурою 85 ± 5 °С, подачею холодної води в сорочку реактора охолоджують в реакторі воду для ін'єкцій до температури 20 ± 5 °С. Потім через дозатор Д-91 завантажують натрій хлор 55 кг, натрій ацетат тригідрат 4 кг та перемішують протягом 10 хвилин. Після цього завантажують кислоту оцтову до значення рН 4,5 та перемішують ще 10 хвилин. Далі у реактор завантажують субстанцію ціанокобаламіну в кількості 0,2 кг та перемішують розчин до повного розчинення протягом 30 хвилин. Концентрація отриманого розчину 0,02%. По завершенню процесу відбирають пробу розчину на аналіз. Здійснюється контроль точності дозування, температури, тиску, часу процесу (Кт 21.1).

ТП 22. Фільтрація розчину

Фільтрація розчину ціанокобаламіну відбувається в два етапи. Спочатку попередня фільтрація розчину на патронному фільтрі ПФ-95 з діаметром пор 0,5 мкм та фінішна фільтрація розчину на патронному фільтрі ПФ-96 з діаметром пор 0,22 мкм. Розчин ціанокобаламіну з реактора, за допомогою насоса надходить на установку попередньої фільтрації, що складається з насоса і пересувного візка на якій закріплений фільтротримач з патронним фільтруючим елементом з діаметром пор 0,5 мкм. Попередньо

					МД 162. БТ-5119. 00.00 ПЗ	Арк.
						56
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

профільтрований розчин за допомогою насоса надходить в пересувну ємність. З пересувної ємності розчин за допомогою насоса через сполучний шланг надходить на фільтр фінішної фільтрації розчину. Здійснюється контроль тиску (Кт 22.1).

ТП 23. Ампулювання розчину вітаміну В12 для ін'єкцій

Чистий розчин зі збірника за допомогою насоса надходить в автоматичний апарат для наповнення та запаювання ампул ГФ-99. Розчин наповнюють в ампули по 1 мл шприцевим методом на автоматичній лінії касетного ампулювання. Даний метод дозволяє дотримуватися точного дозування. Залишки розчину з ємності апарату для наповнення ампул самопливом надходять в збірку відпрацьованого розчину. Здійснюється контроль об'єму, що витягається (Кт 23.1).

ТП 24. Запаювання ампул

Наповнені розчином ампули запаюють на машині для наповнення та запаювання ампул ГФ-99 з використанням природного газу і стисненого повітря. Запаювання ампул здійснюється при тиску стисненого повітря 0,3 – 0,35 МПа і тиску газу 4 – 4,5 кПа. Здійснюється контроль тиску, якості запаювання (Кт 24.1).

ТП 25. Стерилізація розчину, контроль на герметичність

Стерилізацію розчину в ампулах виконують на обладнанні ГФ-100 для стерилізації та контролю ампул на герметичність. Режим стерилізації – насиченою водяною парою при надмірному тиску 0,011 МПа і температурі $(101 \pm 1) ^\circ \text{C}$ протягом 30 хвилин. На герметичні перевіряють, використовуючи розчин метиленового синього 0,025%, який завантажується у спеціальний відсік обладнання. Тривалість процесу стерилізації і перевірки ампул на герметичність одного завантаження складає 2 години. Здійснюється контроль тиску, режиму стерилізації (Кт 25.1) та контроль на стерильність (Кмб 25.2).

					МД 162. БТ-5119. 00.00 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		57

ТП 26. Контроль на механічні включення

Касети з ампулами на перегляд на наявність механічних включень на автоматичному апараті ГФ-101. Ампули з механічними включеннями відбраковують. Здійснюється контроль на пірогени, бактеріальні ендотоксини (Кт 26.1).

ПМВ 27. Пакування, маркування, відвантаження готового продукту

Маркування та пакування ампул в індивідуальну упаковку здійснюється на автоматичній лінії ГФ-102 по 10 ампул в кожну. Індивідуальні упаковки складають в коробку з гофрокартону та передають на склад. Здійснюється контроль на якість маркування (Кт 27.1).

ЗВ 28. Знешкодження відходів

Знешкодженню підлягає відпрацьоване повітря на фільтрі тонкої очистки. Використані розчини миючих засобів спочатку нейтралізують (доводять рН до 7), використовуючи 85% ортофосфорну кислоту чи 20% розчин їдкого натру та зливають у каналізацію. Знешкоджують браковані, биті ампули

Також знешкодженню підлягає некондиційний посівний матеріал та культуральна рідина. Процедура здійснюють термічною обробкою за температури 130-132°C, тиску 0,3 МПа, протягом (40±5) хвилин. рН розчину доводять до 7 та зливають в каналізацію [46]. Здійснюється контроль концентрації відходів (Кт 28.1).

ПВ 29. Переробка відходів

На переробку потрапляють фільтрувальні елементи від стадій підготовки повітря та води. Також, переробляється відпрацьована пара. Регенерація іонообмінних смол водопідготовки виконується розчинами кислоти хлористоводневої (для Н⁺-форми) і натрію гідроксиду (для ОН⁻-форми) [46].

					МД 162. БТ-5119. 00.00 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		58

Залишок розчину від наповнення субстанції ціанокобаламіну також підлягає повторному використанню у свіжоприготовленому розчині вітаміну, але при попередній перевірці показників якості.

На переробку потрапляють відбраковані ампули, що мають механічні вclusions.

Здійснюється контроль забруднення хімічними речовинами (Кх 29.1), мікробіологічного забруднення (Кмб 29.2).

3.9. Матеріальний баланс виробництва

Виробничий біосинтез буде здійснюватися у ферментері 5 м³ з коефіцієнтом заповнення 0,5. Тобто, буде отримано 2500 л культуральної рідини в якій міститься 0,3 кг вітаміну (продуктивність штаму 150 мкг/мл). Враховуючи втрати етапів виділення та очистки (35 %) отримаємо 0,19 кг вітаміну. Така кількість достатня для приготування розчину для ін'єкцій у обладнання на 1 м³ в якому буде міститися 650 літрів готового препарату.

Посівний матеріал буде отримано у ферментері місткістю 0,63 м³ з коефіцієнтом заповнення 0,5, урахування втрат 5%.

Таблиця 3.3

Матеріальний баланс виробництва однієї серії розчину 0,02%
вітаміну В₁₂
(650 тисяч ампул)

Використано				Отримано			
Назва	Кількість			Назва	Кількість		
	кг	л	шт		кг	л	шт
1	2	3	4	5	6	7	8
Основна сировина				Продукт			
Меляса		368		Вітамін В ₁₂ розчин для ін'єкцій		650	
Двуосновний фосфат амонія	0,2						
Кобальт хлористий	0,257						
Магній сірчаноокислий	2,8						

Продовження Табл. 3.3

Марганець сірчаноокислий	0,003						
Цинк сірчаноокислий	1,24						
5-6-диметилбензилімідазол		0,5					
Сахароза		50					
Гліцерофосфорна кислота		5					
Холінхлорид	25						
Оксид магнію	1,5						
Сірчаноокислий амоній	5						
Гліцерин		2,5					
KCN	2						
Метанол		10					
Вода очищена		5250					
Вода для ін'єкцій		650					
Натрій хлор	55						
Натрій ацетат тригідрат	4						
Оцтова кислота		10		Втрати		5420	
Допоміжна сировина				Відходи			
Вода питна		75000		Промивні води		60100	
Хлорамін Б	10			Відпрацьовані розчини		15140	
Перекис водню		200					
Натрію гідрооксид технічний		30					
Матеріали							
Фільтрувальні матеріали			12	Відпрацьовані фільтрувальні матеріали			12
Іонообмінна смола для очищення води		35		Відпрацьовані іонообмінні смоли		60	
Катіоніт СГ-1		25		Відпрацьований оксид алюмінію		30	

Продовження Табл. 3.3

Оксид алюмінію		30		Розфасовані ампули			650000 0
Ампули			650005	Препарат у вторинній упаковці			65000
Картонна упаковка			65005	Продукт у картонних коробках			1295
Картонні коробки			1300	Втрати			15
Всього:		797722		Всього:		797722	

3.10. Контроль виробництва

Контрольні точки виробництва вітаміну В₁₂ представлені в табл. 3.4

Таблиця 3.4

Контрольні точки

Назва стадії та номер контрольної точки	Об'єкт контролю та показник, що контролюється	Метод контролю	Періодичність перевірки	Нормативна характеристика показника
1	2	3	4	5
ДР 1.2.1 Прання технологічного одягу Кт 1.2.1.1	Температура	Термометр	Кожну операцію	60-90 °С
	Тривалість	Годинник	Кожну операцію	60 хвилин
ДР 1.2.2 Сушіння технологічного одягу Кт 1.2.2.1	Температура	Термометр	Кожну операцію	110 °С
	Тривалість	Годинник	Кожну операцію	60 хвилин
ДР 1.2.3 Стерилізація технологічного одягу Кт 1.2.3.1 Кмб 1.2.3.2	Температура	Термометр	Кожну операцію	120 °С
	Тривалість	Годинник	Кожну операцію	45 хвилин

Продовження Табл. 3.4

	Мікробіологічний контроль	Мікробіологічний	Кожну операцію	Стерильно
ДР 1.3.1 Приготування миючого засобу Кт 1.3.1.1 Кх 1.3.1.2	Кількість активного хлору	Титрування	Кожну операцію	20-25%
	Кількість внесеного хлораміну та води	Ваговий	Кожну операцію	10 г та 990 мл відповідно
ДР 1.3.2 Приготування розчину перекису водню Кт 1.3.2.1 Кх 1.3.2.2	Кількість внесеного розчину 30% перекису водню та води	Ваговий	Кожну операцію	6:1
	Кількість H_2O_2 в розчині	Йодометричний	Кожну операцію	6 %
ДР 1.3.3 Приготування 76%-го розчину спирту етилового Кт 1.3.3.1	Визначення концентрації спирту етилового	Рефрактометричний	Кожну операцію	76%
ДР 1.5.1 Миття та ополіскування обладнання Кт 1.5.1.1	Температура	Термометр	Кожну операцію	40 °С
	Тривалість	Годинник	Кожну операцію	40 хвилин
ДР 1.5.2 Перевірка на герметичність Кт 1.5.2.1	Тиск	Манометр	Кожну операцію	0,5 МПа
ДР 1.5.3 Стерилізація обладнання Кт 1.5.3.1 Кмб 1.5.3.2	Тиск	Манометр	Кожну операцію	0,2 МПа
	Температура	Термометр	Кожну операцію	140 °С
	Мікробіологічний контроль	Мікробіологічний	Кожну операцію	Стерильно

Продовження Табл. 3.4

ДР 2.1.3 Стиснення повітря Кт 2.1.3.1	Тиск	Манометр	Протягом процесу	0,35 МПа
ДР 2.1.4 Конденціювання та стабілізація параметрів повітря Кт 2.1.4.1	Температура	Термометр	Протягом процесу	20 °С
	Вологість	Гігрометр	Протягом процесу	60 %
ДР 2.1.5 Очищення повітря на фільтрі 2-го ступеня Кт 2.1.5.1	Вміст механічних часток у повітрі, част/м ³	Оптичний лічильник часток	Кожну операція	352 000 част/м ³
ДР 2.1.6 Очищення повітря на фільтрі 3-го ступеня Кт 2.1.6.1	Вміст механічних часток у повітрі, част/м ³	Оптичний лічильник часток	Кожну операція	3 520 част/м ³
ДР 2.2.2 Механічна очистка та стиснення повітря Кт 2.2.2.1	Тиск	Манометр	Протягом процесу	0,2 МПа
ДР 2.2.3 Охолодження повітря Кт 2.2.3.1	Температура	Термометр	Протягом процесу	15 °С
ДР 2.2.4 Стабілізація термодинамічних показників Кт 2.2.4.1	Тиск	Манометр	Кожну операцію	0,2 МПа
	Температура	Термометр	Кожну операцію	25 °С
ДР 2.2.6 Очищення на індивідуальному фільтрі Кт 2.2.6.1 Кмб 2.2.6.2	Мікробіологічна контамінація	Седиментаційний	Кожну операцію	<1 КУО

Продовження Табл. 3.4

ДР 3.4 Деіонізація Кт 3.4.1	Електрична провідність	Кондуктометричний	Протягом процесу	не більше 1.1 мкСм·с' ($\mu\text{S}/\text{cm}$)
ДР 3.6 Дистиляція Кт 3.6.1 Кмб 3.6.2	Температура	Термометр	Кожну операцію	160 °С
	Тиск	Манометр	Кожну операцію	0,4 МПа
	Загальний органічний вуглець	Як прописано в ДФУ 1.1-2004 (2.2.44)	Кожну операцію	Не більше 0,5 мг/л
	Питома електропровідність	off-line або in-line	Протягом процесу	2,7 мкСм·см ⁻¹
	Мікробіологічний моніторинг	Мембранна фільтрація	Протягом процесу	10 КУО/100 мл
ДР 4.1 Мийка ампул Кт 4.1.1	Температура	Термометр	Кожну операцію	65-75 °С
	Час	Годинник	Кожну операцію	35-45 секунд
ДР 4.2 Сушка та стерилізація ампул Кт 4.2.1 Кмб 4.2.2	Температура	Термометр	Кожну операцію	(180±20) °С
	Час	Годинник	Кожну операцію	(25±1) хвилин
	Швидкість руху стрічки	Автоматично	Протягом процесу	(0,7±0,01) м/хв
	Мікробіологічний контроль	Мікробіологічний	Кожну операцію	Стерильно

Продовження Табл. 3.4

ДР 5.1 Підготовка поживного середовища для отримання посівного матеріалу Кт 5.1.1	Дозування компонентів	Ваговий метод	Кожну операцію	За технологією
	Час	Годинник	Кожну операцію	30 хвилин
ДР 5.2 Стерилізація поживного середовища для отримання посівного матеріалу Кт 5.2.1 Кмб 5.2.2	Температура	Термометр	Кожну операцію	125 °С
	Час	Годинник	Кожну операцію	15 хвилин
	Тиск	Манометр	Кожну операцію	0,3 МПа
	Мікробіологічна чистота	Мікробіологічний метод	Кожну операцію	Відсутність мікрофлори
ДР 5.3 Підготовка поживного середовища для виробничого біосинтезу Кт 5.3.1	Дозування компонентів	Ваговий метод	Кожну операцію	За технологією
	Час	Годинник	Кожну операцію	30 хвилин
ДР 5.4 Стерилізація поживного середовища для виробничого культивування Кт 5.4.1 Кмб 5.4.2	Температура	Термометр	Кожну операцію	125 °С
	Час	Годинник	Кожну операцію	15 хвилин
	Тиск	Манометр	Кожну операцію	0,3 МПа
	Мікробіологічна чистота	Мікробіологічний метод	Кожну операцію	Відсутність мікрофлори
ДР 6.1 Відновлення музейної культури Кт 6.1.1 Кмб 6.1.2	Температура	Термометр	Кожну операцію	30 °С

Продовження Табл. 3.4

	Час	Годинник	Кожну операцію	120 годин
	Мікробіологічна чистота	Мікробіологічний метод	Кожну операцію	Відсутність сторонньої мікрофлори
ДР 6.2 Одержання посівного матеріалу в колбах на качалках Кт 6.2.1 Кмб 6.2.2	Температура	Термометр	Кожну операцію	30 °С
	Час	Годинник	Кожну операцію	48 годин
	Кількість обертів	Тахометр	Кожну операцію	180 об/хв
	Мікробіологічна чистота	Мікробіологічний метод	Кожну операцію	Відсутність сторонньої мікрофлори
ДР 6.3 Одержання посівного матеріалу в реакторі Кт 6.3.1 Кмб 6.3.2	Температура	Термометр	Кожну операцію	30 °С
	Час	Годинник	Кожну операцію	40-60 годин
	Подача повітря	Автоматично	Кожну операцію	0,2 -0,5 л/л середовища
	Оптична щільність	Спектрофотометричний	Кожну операцію	0,2 і більше
	Мікробіологічна чистота	Мікробіологічний метод	Кожну операцію	Відсутність сторонньої мікрофлори
ДР 7. Підготовка допоміжних речовин Кт 7.1	Час	Годинник	Кожну операцію	10 хвилин
ТП 8. Виробничий біосинтез Кт 8.1 Кх 8.2 Кмб 8.3	Температура	Термометр	Кожну операцію	28-32 °С

Продовження Табл. 3.4

	Час	Годинник	Кожну операцію	120 годин
	Тиск	Манометр	Кожну операцію	0,05 МПа
	pH	pH-метр	Кожну операцію	7,0
	Подача повітря	Автоматично	Кожну операцію	0,2 л/л середовища
ТП 9. Відділення біомаси Кт 9.1	Тиск	Манометр	Кожну операцію	0,3 МПа
ТП 10. Екстракція Кт 10.1 Кх 10.2	Температура	Термометр	Кожну операцію	90±10 °С
	Час	Годинник	Кожну операцію	3 годин
	pH	pH-метр	Кожну операцію	5,8
	Кількість обертів	Тахометр	Кожну операцію	170 об/хв
ТП 11. Додавання KCN Кт 11.1 Кх 11.2	Температура	Термометр	Кожну операцію	25 °С
	Час	Годинник	Кожну операцію	16 годин
	pH	pH-метр	Кожну операцію	8,5
ТП 13.2 Десорбція Кт 13.2.1	Швидкість подачі елюента	Візуально	Кожну операцію	10 л/хв

Продовження Табл. 3.4

ТП 14. Підкислення Кх 14.1	pH	pH-метр	Кожну операцію	7,0
ТП 15. Нанофільтрація Кт 15.1	Температура	Термометр	Кожну операцію	45-50 °C
	Тиск	Манометр	Кожну операцію	0,02-0,05 МПа
ТП 16.1 Розчинення в метанолі Кт 16.1.1	Кількість метанолу	Ваговий	Кожну операцію	Згідно регламенту
	Час	Годинник	Кожну операцію	10 хвилин
	Кількість обертів	Тахометр	Кожну операцію	30-40 об/хв
ТП 16.3 Фракціонування розчину Кт 16.3.1	Швидкість подачі елюента	Витратомір	Кожну операцію	10-100 мкл
	Коефіцієнт заломлення фракції	Рефрактометричний	Кожну операцію	540-550 нм
ТП 17. Кристалізація Кт 17.1	Температура	Термометр	Кожну операцію	3-4 °C
	Час	Годинник	Кожну операцію	24-48 годин
ТП 18. Фільтрування Кт 18.1	Тиск	Манометр	Кожну операцію	0,03 МПа
ТП 20. Фільтрування кристалів Кт 20.1	Тиск	Манометр	Кожну операцію	0,03 МПа
ТП 21. Приготування розчину вітаміну В ₁₂ для ін'єкцій Кт 21.1 Кх 21.2	Прозорість та колір розчину	Візуально	Кожну операцію	Мас бути прозорим, безкольорова або зеленувато-жовтувата рідина

Продовження Табл. 3.4

	Кількість ціано-кобаламіну	СФ-метод	Кожну операцію	0,00018 – 0,00022 г/л
	Кількість натрію хлориду	Титрометрично	Кожну операцію	0,009 – 0,01 г/л
	pH розчину	Потенціометрично	Кожну операцію	4,0 – 5,5
ТП 23. Ампулювання розчину вітаміну В ₁₂ для ін'єкцій Кт 23.1	Об'єм, що витягається	ДФУ вид 1, 2.9.17	Кожну операцію	1,0 мл – 1,1 мл
ТП 24. Запаювання ампул Кт 24.1	Тиск	Манометр	Протягом процесу	0,3-0,35 МПа
	Якість запайки ампул	Візуально	Кожну операцію	Відсутність здуття, отворів
ТП 25. Стерилізація розчину, контроль на герметичність Кт 25.1 Кмб 25.2	Режим стерилізації	Фізично	Кожну операцію	Температура 100 ± 1 °C Час – 15 хвилин
	Стерильність	Мембранна фільтрація	Кожну операцію	Стерильний
	Пірогени або бактеріальні ендотоксини	Біологічно, ДФУ вид 1, 2.6.8., 2.6.14	Кожну операцію	Витримує випробування
ТП 26. Контроль на механічні включення Кт 26.1	Наявність механічних часток	Автоматично	Кожну операцію	Відсутні
ПМВ 27. Пакування, маркування, відвантаження готового продукту Кт 27.1	Домішки	ДФУ вид 1, 2.2.29	Кожну операцію	Не більше 0,1 %
ЗВ 28. Знешкодження відходів Кт 28.1	Концентрація відходів	Кількісний хімічний аналіз	Кожну операцію	Відповідно до санітарних норм
ПВ 29. Переробка відходів Кх 29.1 Кмб 29.2	Наявність хімічних забруднень	Кількісний хімічний аналіз	Кожну операцію	Відповідно НТД
	Мікробіологічні забруднення	Мікробіологічний	Кожну операцію	Відсутнє

3.11. Відходи виробництва: технологічні, вентиляційні, їх використання та знешкодження

Будь-яке біотехнологічне виробництво має відходи відпрацьованої води, повітря, а також відходи культуральної рідини або біомаси та іншої сировини індивідуальної для кожного підприємства.

По-перше, приділяється увага очистці стічних вод. Спочатку здійснюють очистку в цеху. Це можуть бути такі методи як відстоювання, флотація, екстракція, адсорбція, іонний обмін тощо. Також, існує загальна очистка, що поділяється на механічну, біологічну та доочистку стічних вод. Доочистка необхідна у випадку отримання води, яка може бути повторно використана. В мікробіологічній промисловості широко використовується для очистки стічних вод гідроциклони. Таке обладнання є простим у використанні та компактним [46]. Наприклад, на даному виробництві буде використана вода для ін'єкцій, якщо термін придатності її закінчився, вона може бути повторно використана на стадії мийки обладнання. Взагалі, стічні води, які направляються в каналізацію мають відповідати санітарним нормам, не мати механічних забруднень, мати температуру не вище 40 °С.

По-друге, увага приділяється очистці повітря. Взагалі, для попередження забруднення необхідно контролювати герметичність промислового обладнання, особливо сушилок. Також, використовується таке обладнання як циклони, різні типи фільтрів. Вентиляційне повітря може очищатися в адсорберах або абсорберах перед викидом в атмосферу. В адсорберах повітря проходить через зернисту речовину (активоване вугілля, силікагель) [47]. Загалом, на даному підприємстві передбачене повторне використання вентиляційного повітря, яке після використання знов проходить всі етапи допоміжної стадії підготовки вентиляційного повітря. Повітря на виході з ферментерів проходить також фільтр тонкої. Після регламентованих циклів використання фільтрувальних матеріалів очистки повітря, вони піддаються стерилізації та йдуть на знешкодження.

					МД 162. БТ-5119. 00.00 ПЗ	Арк.
						70
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

По-третє, відходом даного виробництва є культуральна рідина, оскільки цільовий продукт накопичується в біомасі. Культуральна рідина проходить термічну обробку, нейтралізацію до рН 7,0 та скидається в каналізацію [33].

Також, піддаються переробці ампули, відбраковані на стадії "Пакування, маркування, відвантаження готового продукту" мають механічні вclusions, кулясті здуття капілярів або неповний об'єм. Ампули розкривають вручну і укладають в касету. Касету встановлюють в апарат для вилучення розчину з ампул. За допомогою вакууму розчин витягується з ампул і через тканину фільтрувальну капронову зливається в ємність. Ємність ідентифікують етикеткою, де вказують найменування препарату і дату. Відбирають пробу на аналіз. Після отримання позитивного результату аналізу щодо відповідності проби розчину вимогам прозорості, наявності сторонніх домішок, рН і вмісту основної речовини в 1 мл розчину, останній передають на стадію приготування розчину вітаміну В₁₂ для ін'єкцій. Склобій вивозять в приймальну ємність склобою та вивозять з виробництва.

					МД 162. БТ-5119. 00.00 ПЗ	Арк.
						71
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

РОЗДІЛ 4. БУДІВЕЛЬНА ЧАСТИНА

4.1. Генеральний план цеху

Спроектовані промислові будівлі повинні відповідати вимогам технології, забезпечувати необхідні санітарно-гігієнічні умови для робітників, бути простим в упорядкуванні, забезпечувати можливість зміни технологічного процесу, відповідати економічним вимогам.

Промислові будівлі, споруди та приміщення повинні проектуватися з дотриманням будівельних норм та вимог ДСТУ Б В.2.2-29: 2011 "Будинки підприємств. Параметри". Промислові будівлі необхідно проектувати і будувати таким чином, щоб мінімізувати запилення, забруднення та запобігти потраплянню комах та тварин.

Фармакологічні підприємства повинні розташовуватися за межами житлових районів та на достатній відстані від промислового виробництва, відходи якого можуть негативно позначитися на якості продукції [48]. Заплановане підприємство повинно розташовуватися в одній або декількох виробничих будівлях, розміри, конструкція та розміщення яких забезпечать раціональне здійснення необхідного виробничого процесу. У проектах промислових підприємств виділяють передвиробничу, виробничу, підсобну і складську зони. Передвиробничу зону може включати адміністративну будівлю, їдальню, та інші будівлі загальнозаводського значення. Виробничу зону зазвичай розташовують в центральній частині майданчика. Виробничі будівлі і обслуговуючі їх споруди в межах цієї зони мають розташовувати виходячи з технологічної взаємозв'язку, пожежо- та вибухонебезпечності виробництва, видів зовнішнього та міжцехового транспорту. Будівлі належить орієнтувати торцями до магістральних проїздів, уздовж яких проектують магістральні траси комунікацій [49].

					<i>МД 162. БТ-5119. 00.00 ПЗ</i>		
<i>Зм.</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>			
<i>Розроб.</i>		<i>Солона Т.В.</i>			<i>РОЗДІЛ 4. БУДІВЕЛЬНА ЧАСТИНА</i>	<i>Стадія</i>	<i>Арк.</i>
<i>Конс.</i>							<i>115</i>
						<i>КПІ ім. Ігоря Сікорського, ФБТ</i>	
<i>Керіdn.</i>		<i>Поліщук В.Ю.</i>					
<i>Затв.</i>							

При плануванні виробничих будівель слід передбачати:

- виключення перетину шляхів руху персоналу та технологічних потоків;
- максимальне групування приміщень, що мають однаковий ступінь чистоти;
- доцільне розміщення обладнання для попередження змішуванню різних видів та серій сировини,
- додержання санітарно-гігієнічного умов;
- належне зберігання, а також переміщення сировини, пакувальних та етикетних матеріалів, напівфабрикатів та готових лікарських засобів в середині будівель, а також від однієї будівлі до іншої;
- забезпечення всіх норм техніки безпеки та пожежної безпеки.

Спроектовані будівлі повинні мати [49]:

- енергопостачання, освітлення, вентиляція, сантехніка, каналізація, утилізація відходів та інших систем, що необхідні для забезпечення чистоти приміщень, обладнання та готової продукції;
- системи кондиціонування повітря для підтримки температури та відносної вологості в приміщеннях, що впливає на якість лікарського засобу під час виробництва та зберігання, для комфортної роботи персоналу, а також відповідної роботи обладнання;
- чисті і комфортні санітарні приміщення, які розміщуються поруч з виробничими приміщеннями.

Вимоги, що висуваються до приміщень виробництва стерильного лікарського засобу [8]:

- відкриті поверхні повинні бути гладкими, непроникними і непошкодженими для мінімізації утворення і накопичення часток або мікроорганізмів;
- стики поміж стін, підлогою і стелею повинні бути округлої форми;
- підвісні стелі слід ретельно герметизувати;

					МД 162. БТ-5119. 00.00 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		73

- фільтри тонкого повітря мають бути закриті та розміщені в місці подачі повітря в чисте приміщення або якомога ближче до нього;
- чисте повітря має забезпечити підвищений тиск щодо навколишніх зон із нижчим класом чистоти;
- труби, канали необхідно встановлювати так, щоб не утворювалися заглиблення;
- перенесення готового продукту з приміщення вищого класу чистоти в приміщення нижчого класу передбачає використання конвеєрів, що проходять через стіни;
- вхід персоналу та передача матеріалів до чистих приміщень повинні здійснюватися через повітряні шлюзи.

Для зберігання одягу різних типів (вуличних та спеціальних - перехідних та технологічних) передбачені шафи для одягу. Душові, рукомийники та туалети ізольовані від виробничих та складських приміщень. Їдальня розташовується в адміністративній будівлі або в окремому [8].

Очікується, що виробництво вітаміну B₁₂ здійснюватиметься у прямокутній будівлі розміром 72х42 м заввишки 8 м з кроком колони 6 м. Структура будівлі каркасна. Для несучих конструкцій будівлі застосовуються уніфіковані залізобетонні конструкції, огорожувальні конструкції цегляні.

Приміщення пристосовані та обслуговуються відповідно до їх функціонального призначення та пов'язані між собою в логічній послідовності. Рішення щодо планування враховують вимоги мінімізації будь-якого забруднення продукції та створення оптимальних умов для захисту виробничого процесу.

При облаштуванні виробничого обладнання були дотримані всі необхідні вимоги для забезпечення його ефективної роботи та обслуговування, а також для уникнення перетину перехреснування матеріальних потоків.

Тобто, планування виробництва має відповідати вимогам належної виробничої практики, що забезпечить високу якість продукту.

					МД 162. БТ-5119. 00.00 ПЗ	Арк.
						74
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

4.2. Теплопостачання

Теплопостачання виробництва здійснюється за рахунок власної котельні. В якості теплоносіїв використовується водяна пара (130 °С) або перегріта вода (150 °С). Проектування опалення виробництва відповідає ДБН В.2.5-67:2013. Опалення, вентиляція та кондиціонування. Систему опалення та вид теплоносія необхідно обирати відповідно до класу приміщення. Найбільш поширені водяні системи. Температура на поверхні опалювальних приладів у приміщеннях категорії В не повинна перевищувати 110 °С, категорії С -115°С, інших – 150 °С, у побутових і допоміжних приміщеннях – 105 °С. Такі системи проектуються одно- або двотрубними. Основними приладами для нагрівання є радіатори, реєстри, повітряно-опалювальні агрегати. Введення теплоносія у приміщення здійснюється через тепловий пункт. Трубопроводи слід проектувати відкритими (по стінках, колонах, інших конструкціях). При проектуванні теплопостачання варто враховувати можливість вторинного використання тепла [50].

4.3. Вентиляція

При проектуванні НТД використовувалися: ДБН І.2.5-67 діє до: 2013 «Опалення, вентиляція і кондиціонування», СП 245-71 «Санітарні норми проектування промислових підприємств», «Правила техніки безпеки на виробництві мікробіологічної промисловості».

У виробничих приміщеннях застосовується примусова, природна і змішана вентиляція. Природна вентиляція призначена для приміщень, в яких, в першу чергу, відсутні значні тепловиділення і на одного робітника припадає понад 40 м³ об'єму приміщення. У всіх інших випадках застосовується примусова або змішана вентиляції [47].

Примусова вентиляція складається з двох вентиляційних пристроїв: припливної, яка подає в приміщення свіже повітря, і витяжної, яка відсмоктує повітря з приміщення і видуває його.

Потужність припливних систем вентиляції та кондиціонування слід

					МД 162. БТ-5119. 00.00 ПЗ	Арк.
						75
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

визначати виходячи з умов забезпечення необхідних параметрів повітря в приміщенні. Припливні пристрої припливної вентиляції слід розміщувати в місцях з максимальною чистотою повітря з урахуванням напрямків вітру [51].

Однією з вимог при організації чистого виробничого приміщення, в першу чергу, згідно вимогою стандартів GMP є використання фільтрів. Поступаюче повітря фільтрується за допомогою фінішних HEPA-ULPA-фільтрів з ефективних фільтрації від 99,99% по частинкам 0,3-0,5 мкм, або за допомогою ULPA-фільтрів, забезпечується ефективність фільтрації 99,999% по частинкам 0,12 мкм [8].

У приміщеннях, де високі вимоги до стерильності, застосовується триступенева фільтрація [8]:

- Фільтр першого ступеня; призначений для забезпечення чистоти установки обробки повітря, розміщується у вхідній секції цієї установки (клас F4-F5).
- Фільтр другого ступеня; застосовується в якості кінцевого елемента (клас F7-F9).
- Фільтр третього ступеня; ставиться на вході в чисте приміщення для забезпечення гігієнічних умов (клас H13-H14).

Чисті приміщення повинні відповідати наступним вимогам:

- направляючі потоки панелі, робочі поверхні повинні бути виконані з гладкого і міцного матеріалу;
- фільтри попереднього очищення повинні регенеруватися або замінюватися на нові;
- остаточна фільтрація повітря повинна здійснюватися через попередньо випробувані і герметично встановлені фільтри тонкого очищення;
- швидкість ламінарного потоку повинна бути в межах 0,45 м/с;
- робота установок з ламінарним потоком стерильного повітря повинна постійно контролюватися.

					МД 162. БТ-5119. 00.00 ПЗ	Арк.
						76
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

При необхідності виробничі приміщення повинні бути обладнані припливною системою кондиціонування, яка повинна [50]:

- забезпечити відповідний ступінь очищення повітря від механічних частинок і мікроорганізмів;
- автоматично налаштовувати кліматичні параметри (температуру і відносну вологість) для створення максимально сприятливих умов для технологічного і обслуговуючого персоналу;
- мають високу аеродинамічній стабільністю для підтримки оптимального розподілу тиску та інших параметрів повітря в приміщенні і його окремих приміщеннях;
- виключити виникнення статичної електрики і пов'язане з ним накопичення пилу;
- характеризуватися низьким рівнем шуму при роботі;
- проектуватися з використанням матеріалів і антикорозійного покриття, стійких до дезінфікуючих засобів.

Повітря, що подається від безмасляних компресорів, не повинен містити домішок або парів масла.

4.4. Водопостачання

Вода, яка використовується у виробництві, повинна бути чистою і контролюватися як на вміст домішок, так і за мікробіологічними показниками. Оскільки вода може використовуватися на різних стадіях виробництва і в різних цілях, існує кілька типів води, які відрізняються за вимогами до її чистоті [51]. Це вода очищена, вода для ін'єкцій, які відповідають показникам відповідно Настанові 42-3.7:2013 «Лікарські засоби. Якість води для застосування у фармації» [9]. Також виробництво повинно мати питну воду та протипожежний водопровід. Виробництво при будівництві закладає власну скважину з якої потім вода поступає на відповідні стадії очистки.

Для охолодження апаратури на біотехнологічних виробництвах

					МД 162. БТ-5119. 00.00 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		77

проектують систему зворотного водопостачання. Такі підприємства не повинні мати перерви у постачанні води, адже це може порушити технологічний процес. Водопроводи проектують кільцевими із закільцьованими введеннями або з двома тупиковими трубопроводами.

В системі водопостачання в трубопроводах при необхідності ставляться фільтри. У місцях перетину різних систем має використовуватися пристрій, що запобігає зворотний потік рідин.

Глибину закладання труб обирають на 0,5 м нижче від розрахункової глибини промерзання ґрунтів. Водопроводи усередині будівель роблять відкритими (у накритих лотках). Лише підведення води до обладнання проходить під підлогою. Відстані між введенням питного водопроводу та випуском каналізаційних вод не менше 1,5 м [47].

За вимогами НВП трубопроводи системи водопідведення та подачі газів повинні:

- бути зроблені з нержавіючої сталі або інших матеріалів стійких до корозії з можливістю стерилізації паром;
- бути чітко промарковані із зазначенням їх вмісту, а в разі потреби, крім того, напрямки руху потоку;
- мати надійні з'єднання або сполучні пристрої (перехідники, адаптори), особливо для деяких газів і рідин.

Трубопроводи системи водопостачання, крім того, повинні:

- мати нахил вниз для повного стікання рідини;
- не містити ділянок, в яких може застоюватися вода (У-образні вигини, "тупики", погано сконструйовані вентилі) [50].

4.5. Каналізація

При проектуванні біотехнологічного виробництва закладають три типи каналізаційних трубопроводів для побутових, виробничих та зливових вод. Побутові стічні води займають невагому частку. Зазвичай, вони об'єднуються з виробничими водами та направляються на очистку.

Виробничі води включають: умовно чисті, водяний конденсат, кислі або лужні, забруднені органічними чи мінеральними речовинами. Водяний конденсат використовують на потреби технологічного характеру або у парогенераторах. Підкислені або лужні води нейтралізують та направляють на очисні споруди. Воду забруднену органічними речовинами стерилізують та нейтралізують реагентами. Визначають показники хімічного поглинання кисню та біологічного поглинання кисню. Тобто, такі води повинні бути достатньо розбавлені для подальшої очистки [47].

Зливні води направляються в окремий каналізаційний трубопровід і одразу потрапляють у загальну каналізацію. На будівлі встановлюють стояки діаметр яких 100 мм, а також лійки відстань між якими не більше 48 м.

Насосні станції для перекачування виробничих вод проектує окремо або в блоці з виробничою будівлею. На таких станціях мають бути резервні насоси. Місткість резервуарів стічних вод не вище 10 % об'єму середньо годинного притоку.

Глибина закладання каналізаційних труб на 0,3 – 0,5 м вища відмітки промерзання ґрунту. Використовуються залізобетонні, бетонні, керамічні труби [50].

4.6. Електропостачання

Біотехнологічні підприємства споживають велику кількість електроенергії. Установлена потужність струмоприймачів виробництва від 10 до 80 мВ·А. Основними споживачами електроенергії – двигуни реактору, компресорів, насоси, які використовують напругу 10 кВт. Освітлювальна мережа використовує струм від трансформаторів з напругою 380/220, 36 і 12 В. Всі споживачі застосовують трифазний струм нормальної промислової частоти.

Постачання електроенергії на підприємство здійснюється від мережі району з напругою 220, 110 або 35 кВ [50].

					МД 162. БТ-5119. 00.00 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		79

Усі виробничі, санітарно-побутові приміщення і приміщення для зберігання, а особливо ті, де здійснюється візуальний контроль, повинні бути забезпечені належним освітленням з достатньою інтенсивністю світла.

В чистих приміщеннях освітлювальні прилади повинні [8]:

- мати конструкцію, що не припускає накопичення пилу і полегшує прибирання;
- бути закритими, що необхідно для запобігання падіння осколків у випадку поломки.

Освітлення виробничих та допоміжних приміщень повинно забезпечити нормальне ведення і контроль технологічного процесу для здійснення відповідних санітарних норм. Для цього користуються СНіП 11-4-79 «Природне та штучне освітлення».

					МД 162. БТ-5119. 00.00 ПЗ	Арк.
						80
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

РОЗДІЛ 5. СТАРТАП ПРОЕКТ

5.1. Резюме: конкретизація бізнес-ідеї, мети стартапу, об'єкту дослідження,
місце розробки у інноваційному ланцюжку цінностей

Таблиця 5.1.

Резюме стартап-проекту

Показник	Характеристика
1. Сутність ідеї	Введення в Україну біотехнології виробництва вітаміну В ₁₂ , створення виробництва лікарського засобу
2. Наявність аналогів або прототипів ідеї	Ціанокобаламін-Дарниця (Вітамін В ₁₂) - ПрАТ "Фармацевтична фірма "Дарниця", Україна; Ціанокобаламін (Вітамін В ₁₂) - ПАТ "Галичфарм", Україна
3. Основна потреба, яку задовольнить реалізований стартап	Насичення ринку вітаміном В ₁₂
4. Ступінь розробленості технології реалізації	На стадії впровадження технології у виробництво
5. Класифікація продукту стартапу за міжнародною класифікацією товарів	Вітаміни для використання у виробництві фармацевтичних продуктів
6. КВЕД, до якого може належати дане виробництво	Секція G Оптова та роздрібна торгівля; Секція М професійна, наукова та технічна діяльність Секція С Переробна промисловість (клас 21.10 Виробництво основних фармацевтичних продуктів)
7. Очікувана потужність стартапу	50% до загальної частки ринку
8. За масштабом виробництва	Масове
9. За рівнем спеціалізації	Вузькопрофільне
10. За ресурсами, що споживатимуться	Матеріаломістке, капіталомістке, інформаційномістке
11. За чисельністю персоналу	Середнє
12. Органи управління при реалізації стартапу	Національні

					МД 162. БТ-5119. 00.00 ПЗ			
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата	РОЗДІЛ 5. СТАРТАП ПРОЕКТ	Стадія	Арк.	Аркушів
Розроб.		Солона Т.В.					81	115
Конс.								
Керівн.		Поліщук В.Ю.					КПІ ім. Ігоря Сікорського,	
Затв.						ФБТ		

Продовження Табл. 5.1

13. Бажане географічне розташування - потужностей стартапу - офісу стартапу - збутової мережі - постачальник обладнання, сировини	-Україна -Україна -Україна, ближнє зарубіжжя -Європа, Україна
14. Місце ідеї у ланцюжку цінностей інноваційного процесу	Впровадження
15. Гранична корисність ідеї стартапу	Задоволення потреби населення у вітаміні В ₁₂ як протианемічному засобі
16. Бізнес-модель стартапу	B2B, B2C
17. Конкуренти вітчизняні (ціна, етап реалізації, переваги, фактори успіху)	Ціанокобаламін-Дарниця (Вітамін В ₁₂) - ПрАТ "Фармацевтична фірма "Дарниця", Україна – ціна 34 грн за 10 ампул, впроваджене у виробництва Ціанокобаламін (Вітамін В ₁₂) - ПАТ "Галичфарм", Україна – ціна 23 грн за 10 ампул, впроваджене у виробництво Перевагою для обох випадків є те, що препарат вже реалізований на українському ринку і відомий споживачам
18. Конкуренти іноземні (ціна, етап реалізації, переваги, фактори успіху)	На вітчизняному ринку відсутні
19. Ключові фактори успіху стартапу	Якість
20. Споживачі (основні на етапі впровадження, групи, чисельність)	Люди з дефіцитом вітаміну В ₁₂ , готові довіритися новому виробнику
21. Планова кількість продукту розробки першого етапу реалізації	65000 ампул
22. Мінімальна кількість виробництва за методом точки беззбитковості	8,2 грн./од.
23. Споживачі на етапі розвитку	Пацієнти з анемією
24. Споживачі на етапі зрілості	Пацієнти з анемією, вегетаріанці, пацієнти з нестачею вітаміну В ₁₂ з інших причин
25. Конкурентна ціна на продукт стартапу	35 грн/упаковку 10 ампул
26. Плановий рівень рентабельності при реалізації продукту	173 %
27. Капіталовкладення в проект	13 млн. грн.
28. Період повернення капіталовкладень у проект	0,8
29. Джерела фінансування	Власні + запозичені

Продовження Табл. 5.1

30. Основні компоненти продукції стартапу (їх доля у готовому товарі, ступінь готовності компонентів у наявному виробництві)	Сировина (компоненти поживного середовища, допоміжні речовини, фільтрувальний матеріал, ампули, картонні коробки), обладнання
31. Потенційні постачальники складових компонентів розробки	Українські та європейські виробники
32. Планове місце реалізації результату розробки (місце, планова доля реалізації продукту через це місце)	Аптеки, інтернет
33. Наявність посередників при реалізації (так, ні, орієнтовані посередники, форми оплати їх діяльності)	Так, оплата - відсоток з продажу
34. Методи просування результатів розробки на ринок	Реклама, агітація

5.2 Аналіз зовнішнього та внутрішнього середовища стартапу

Аналіз зовнішнього середовища включає такі фактори: політика, економіка, географія, демографія, культура, науково-технічний прогрес.

Таблиця 5.2

Аналіз загроз і можливостей зовнішнього середовища

	Загрози	Можливості
Географічний фактор	1.Області, в яких частка людей похилого віку (70+)	
	Менша кількість аптек та мала зацікавленість людей похилого віку у прийомі вітамінів, як ліків що не є першою необхідністю	Можливість додаткового збуту продукції.
	2. Невелика кількість аптек у селах та смт	
	Відсутність місця збуту	Співпраця з лікарями, фельдшерами
	3. Нестача кваліфікованих лікарів у селах та невеликих містах	
	Зменшення кількості споживачів через необізнаність	Семінари для мед працівників щодо важливості отримання добової норми вітаміну B ₁₂

Продовження Табл. 5.2

Науково-технічний прогрес	1. Застосування високопродуктивного штаму продуценту	
	Необхідність підтримання штаму продуценту, загроза втрати його продуктивності	Можливість отримання більшої кількості цільового продукту за один цикл біосинтезу
	2. Застосування нанофільтрації для виділення ціанокобаламіну	
	Пошук кваліфікованого технолога	Підвищення виходу і якості готового препарату, спрощення технологічного процесу, зниження сировинних і енергетичних затрат
	3. Застосування сучасних установок на таких допоміжних стадіях як підготовка повітря, підготовка води для ін'єкцій	
	Більші затрати, потреба в кваліфікованих працівниках для обслуговування ліній	Автоматизований процес, кращі показники якості, використання ефективних фільтрувальних матеріалів, скорочення процесу
	4. Механізація та автоматизація якомога більшої кількості процесів та відділів	
	Скорочення робочих місць, обслуговування складних комп'ютеризованих систем	Автоматизований склад з лікарським засобом, облік
Економічний фактор	1. Зростання заробітної плати населення	
	Збільшення витрат на працівників	Збільшення купівельної спроможності населення
	2. Високі витрати на перевезення	
	Необхідність забезпечення транспортування сировини та готової продукції за відповідними нормами	Локалізація на певному ринку, залучення експертів з логістики для розроблення вигідних транспортних шляхів
	3. Низька ринкова частка	
	Низька рентабельність	Залучення споживачів шляхом формування оптимальної ціни
	4. Стимулювання виробничого потенціалу	
	Необхідність капіталовкладень	Розвиток біотехнологічного виробництва субстанцій в нашій країні, впровадження сучасних технологій для оптимізації виробництва
	5. Залучення іноземних інвестицій	
	Трансфер частини прибутку закордон	Привернення додаткових капіталовкладень та залучення зарубіжної наукової бази для розвитку біотехнології в Україні

Продовження Табл. 5.2

Соціально-культурна сфера	1.Значна кількість постійних клієнтів	
	Конкуренція з іншими виробниками вітаміну В ₁₂	Наявність категорій людей з постійним дефіцитом вітаміну В ₁₂ та пацієнтів з анемією
	2. Популяризація вегетаріанства	
	Недосвідченість вегетаріанців у необхідності збалансованого надходження вітамінів з їх раціоном	Збільшення кількості вегетаріанців, які страждають на нестачу вітаміну В ₁₂ і є потенційними споживачами
	3. Мода на вживання вітамінів	
	Передбачено випускати препарат в ін'єкційній формі, тобто з лікувальною метою; потребує залучення молодшого мед персоналу	Збільшення зацікавлених споживачів у вітаміні В ₁₂ (так як впливає на психологічний стан, заспокоює нервову систему)
	4. Рівень кваліфікації персоналу	
	Відсутність бажання працівників вдосконалювати свої знання	Створення програм навчання працівників, постійні тренінг та семінари щодо зарубіжного досвіду
Демографічний фактор	1.Збільшення частки населення похилого віку	
	Необізнаність щодо необхідності вітаміну В ₁₂	За статистикою значна частка людей похилого віку потребує додаткового надходження вітаміну В ₁₂ ; також через незбалансоване харчування даної групи населення також можлива нестача вітаміну В ₁₂
	2. Збільшення рівня урбанізації	
	Відсутність покупців в деяких районах	Збільшення серії поставки в аптеки густозаселених міст
Політичний фактор	1. Державне регулювання цін на препарат	
	Низька рентабельність виробництва, якщо ціна буде занижена	Збільшення серії виробництва та постачання в усі регіони
	2. Недосконалість податкового законодавства	
	Втрата значної частини доходу	Пошук нових ринків збуту, участь в соціальних проектах
	3. Блокування розвитку нового виробника	
	Корупція на державному рівні	Співпраця з іноземними виробництвами біотехнологічного напрямку залучення їх наукової бази; залучення іноземних капіталовкладень

Також, при розробці стартап проекту необхідно проаналізувати зовнішнє оперативне середовище.

Таблиця 5.3

Аналіз зовнішнього оперативного середовища

Фактор	Переваги	Недоліки
Конкуренти 1. ПраТ «Фармацевтична фірма Дарниця» 2. ПАТ "Галичфарм"	В цілому, в Україні відсутнє біотехнологічне виробництво ціанокобаламіну як субстанції для лікарського засобу. Зазначені виробники закуповують її у іноземного виробника (Китай). Цей фактор формує переваги нового виробництва, можливість стати монополістом нового напрямку – виробника повного циклу	Дві фармацевтичні фірми, що вже випускають даний продукт можуть скласти конкуренцію новому виробнику
Постачальники 1. Україна 2. Європа, США	Не дивлячись на те, що обладнання закуповується в іноземних компаній, необхідна сировина може бути українського походження (наприклад «Фармхім» сумської області), ампули також виробляє українське підприємство в Полтаві. Це вигідно в плані строків постачання та ціни.	Постачальники необхідного обладнання (установки очищення води, фільтри, ферментери, сублімаційна сушка, автоматична лінія наповнення ампул) переважно європейські фірми (Німеччина, Франція), може бути США. Це формує вищу ціну даного обладнання, також необхідно враховувати терміни поставки та введення в роботу такого обладнання.
Посередники 1. Аптеки	Посередники є важливими для виведення товару на ринок. Оскільки зараз ми спостерігаємо велику кількість аптек, особливо у великих містах не має бути проблеми зі збутом нашого товару.	Варто оцінити яким мережам аптек надають перевагу споживачі та постачати більше товару в такі мережі.
Споживачі 1. Пацієнти, що страждають на анемію 2. Вегетаріанці 3. Пацієнти, у яких нестача вітаміну В ₁₂ з інших причин	Споживачі є основою для подальшого розвитку виробництва, вдосконалення технології та підвищення якості..	Не всі споживачі відвідують відповідних спеціалістів для встановлення діагнозу. Також, вегетаріанці можуть бути необізнаними, що без споживання м'яса вони не отримують достатньо вітаміну В ₁₂ .

Базуючись на аналізі факторів зовнішнього та зовнішнього оперативного середовища, необхідно провести аналіз зацікавлених сторін.

Аналіз зацікавлених сторін

Зацікавлена сторона	Вплив її на реалізацію проекту	Цікавість її до проекту	Загальний коефіцієнт впливу на проект
Суб'єкти зовнішнього оперативного середовища			
Виробник (конкуренти)	Наявні: 1. ПраТ «Фармацевтична фірма Дарниця» 2. ПАТ "Галичфарм" Але на даних підприємствах відбуваються кінцеві етапи отримання вітаміну В12. Але продукт той самий, тому є конкурентами	Не зацікавлені у виробнику з новими технологіями	0,2
Постачальник	Дуже значний, оскільки від постачання обладнання та сировини залежить безперебійна діяльність виробництва	Зацікавлені, оскільки формуємо їх дохід, ти при цьому виробляємо препарат який їм може бути цікавий як споживачам	0,35
Споживачі	Споживачі, що потребують вітаміну В12 високої якості є рушійною силою розвитку проекту	Зацікавлені	0,25
Посередники	Є гарантією виходу товару на ринок Вихід на ринок без великих затрат на рекламу	Помірно зацікавлені	0,20
Зовнішнє середовище			
Політичні структури	Мають бути зацікавленими у інтеграцію біотехнології як сучасного напрямку в Україну, що підвищує статус країни, сприяє розвитку економіки, співпраці з іншими країнами у даній сфері	Помірно зацікавлені	0,25
Суб'єкти економічного середовища	Можливість співпраці для вирішення економічних питань	Помірно зацікавлені	0,15

Продовження Табл. 5.4

Власники географічних об'єктів	Регіони з меншим споживанням м'яса, також з переважаючою часткою людей похилого віку є першими споживачами	Відсутня	0,05
Суб'єкти демографії	Залежність від умов життя населення, а не від кількості	Відсутня	0,1
Суб'єкти культурного середовища	Популяризація біодобавок, в тому числі вітаміну В ₁₂	Відсутня	0,05
Суб'єкти НТП	Співпраця з метою вдосконалення технології, зменшення її вартості з тими самими показниками якості; автоматизація всіх можливих стадій виробництва	Зацікавлені	0,4

Таблиця 5.5

Переваги та недоліки внутрішнього середовища

	Переваги	Недоліки
Організаційна структура	Кожен з членів команди, що розробляє технологію та сприяє її впровадженню у виробництво робить вклад у стартап проект Наявність кваліфікованих технологів	Можливі суперечливі ситуації у тому, як кожен технолог бачить реалізацію даного виробництва
Виробництво	Наявність власного виробництва та виробничого приміщення, а також регуляторного відділу Власне виробництво повного циклу підвищує довіру споживачів Наявність науково-технічної бази технології виробництва	Відсутність досвіду роботи на біотехнологічному виробництві Повільні темпи виконання роботи на етапі впровадження технології, оскільки необхідні відповідні розрахунки, підбір обладнання

Продовження Табл. 5.5

Маркетинг	Висока якість препарату, відповідно до вимог Належної виробничої практики Можлива телевізійна та інтернет реклама Розробка маркетингових планів та програми	Не достатня фінансова забезпеченість на початковому етапі існування виробництва
Фінанси	Наявність кваліфікованих кадрів для ведення фінансового та бухгалтерського обліку	Не достатньо великий бюджет компанії на ранніх етапах існування

5.3 Визначення ключових факторів успіху проекту

Ключовими факторами успіху є ті, на які дане підприємство зможе впливати під час виробництва продукту та його збуту.

Конкурент А – ПраТ Фармацевтична фірма «Дарниця»

Конкурент Б – ПАТ «Галичфарм»

Таблиця 5.6

Оцінка характеристики за методом Шонфільда

№	Характеристика	Коефіцієнт вагомості характеристики	Оцінка характеристик		
			Наша продукція	Конкурент А	Конкурент Б
1	Ціна	0,3	3 (35 грн)	4 (34 грн)	5 (24 грн)
2	Пакування	0,1	5	2	4
3	Дотримання вимог належної виробничої практики та іншим нормативно-технічним документам	0,5	4	5	3

З урахуванням коефіцієнту вагомості характеристики визначається бальна оцінка кожної характеристики для нашої продукції і для конкурентів.

Таблиця 5.7

Бальна оцінка кожної характеристики

№	Характеристика	Бальна оцінка характеристик		
		Наша продукція	Конкурент А	Конкурент Б
1	Ціна	$0,3 \cdot 3 = 0,9$	$0,3 \cdot 4 = 1,2$	$0,3 \cdot 5 = 1,5$
2	Пакування	$0,1 \cdot 5 = 0,5$	$0,1 \cdot 2 = 0,2$	$0,1 \cdot 4 = 0,4$
3	Дотримання вимог належної виробничої практики та іншим нормативно-технічним документам	$0,5 \cdot 4 = 2$	$0,5 \cdot 5 = 2,5$	$0,5 \cdot 3 = 1,5$

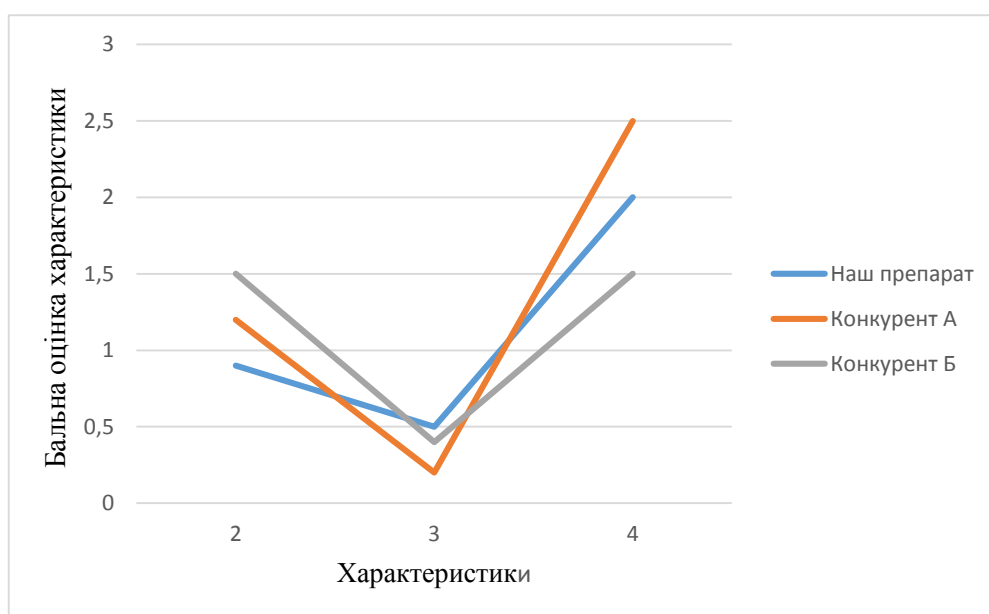


Рисунок . Порівняння конкурентних переваг підприємства з конкурентами

Далі необхідно обміркувати та сформулювати можливі варіанти розвитку ідеї.

Таблиця 5.8

Варіанти розвитку ідеї

Варіант	Стислий опис можливого розвитку
Робота над підвищенням продуктивності штаму продуценту	Залучення працівників науково-дослідного інституту генної інженерії для співпраці з вдосконаленням штаму

Продовження Табл. 5.8

Використання нанофільтрації в процесі виділення продукту	Нове технологічне рішення, що скорочує технологічний процес, та є більш економічно-вигідним
Робота над рецептурою	Можливий випуск окремого варіанту комбінації в препараті ще вітамінів групи В окрім В ₁₂
Співпраця з іноземними біотехнологічними підприємствами	Пошук наукової бази, партнерів для здобуття нового досвіду, розширення підприємства

5.4 Визначення потенційних споживачів

Таблиця 5.9

Класифікація потенційних споживачів

Критерій	Значення
1. Юридична особа	
1. Форма власності (державне, приватне, колективне...)	Приватне, державне
2. КВЕД	Є оптова та роздрібна торгівля Q87 охорона здоров'я
3. За потужністю (малі, середні, великі)	середні
4. За масштабом виробництва	масові
5. за рівнем спеціалізації (вузькопрофільні, багатoproфільні, комбіновані)	вузькопрофільні
6. за ресурсами, що споживаються (працемісткі, матеріаломісткі, капіталомісткі, інформація)	працемісткі
7. За чисельністю персоналу (малі, середні, великі)	середні
8. за сферою діяльності (виробничі, комерційні, фінансові, посередницькі, страхові)	Посередницькі
9. за приналежністю капіталу та контролю (національні, іноземні, спільні...)	Національні
10. за географічним розташуванням	Україна
11. за віддаленістю органів управління (національні, міжнародні, офшорні...)	Національні
12. За характером господарської діяльності (промислові, с/г...)	Торгівельні, охорона здоров'я
13. За рівнем технологічної цілісності (провідні, дочірні...)	Провідні, філії
14. За долею іноземного капіталу	З іноземними інвестиціями
15. За формуванням статутного капіталу (унітарні, корпоративні)	Унітарні, корпоративні

Продовження Табл. 5.9

16. За організацією виробничих процесів (періодичні, безперервні)	Безперервні
17. За роботою протягом року (сезонні, позасезонні)	позасезонні
18. За географічним розташуванням на території України	По всій території України
19. За наявністю вільних ОБЗ (коштів)	наявні
20. за динамікою розвитку регіону розташування юридичної особи • регіон • чисельність населення • динаміка росту регіону • структура регіону • правові обмеження торгівлі	• Міста • густонаселені • висока • наявні аптеки, лікарні • немає
2. Фізична особа	
1. Вік	18-80
2. За сплатоспроможністю	30-70 грн
3. За соціальним рівнем споживачів	Люди з середнім достатком
4. За способом життя (звички, традиції, стереотипи поведінки) • фізичні • психологічні • емоційні • духовні • соціальні • інтелектуальні	• помірний спосіб життя • зі стресом • роздратовані • бажання психологічної стабільності • постійно в колективі • освіченість
5. Тип особистості споживачів (традиціоналіст, ідеаліст, фрустрант, реаліст, гедоніст)	Фрустрант, реаліст,

Продовження Табл. 5.9

6. За ставленням до товару • мотивація придбання • пошук вигоди • ставлення до товару • інформованість про товар • інтенсивність споживання товару	• Покращення власного самопочуття • Гарне самопочуття основа продуктивності в усіх інших сферах • позитивне • середня • середня
7. за сімейними цінностями (склад сім'ї, рівень сімейного доходу, етап життєвого циклу сім'ї, традиції)	Велика сім'я, середній дохід, не заперечують вживання вітамінів у вигляді лікарського засобу
8. за співвідношенням бажання придбати та цінової межі	Дохід - 12000грн вартість — 25 грн
9. за інтенсивністю споживання товару • разове придбання • періодичне придбання • систематичне придбання	Разове або періодичне
10. за інформованістю • самоосвіта • ЗМІ • спеціальні джерела	Від кваліфікованих працівників медичних закладів, інтернет

Таблиця 5.10

Основні групи потенційних споживачів і їх потреби

Категорія клієнтів	Потреби, які він задовольняє за допомогою вашого продукту
1. Фізична особа	Покращення самопочуття за рахунок поповнення потреби організму у вітаміні В ₁₂
2. Аптеки	Отримання прибутку, збільшення позицій товару
3. Лікарні	Підвищення комфорту для пацієнтів у стаціонарі, адже їм не потрібно буде бігати по аптекам

Таблиця 5.11

Паспорт потенційного клієнта

Юридична особа - Аптека

Характеристика	Значення
Організаційно-правова форма	Юридична особа
Класифікація - за потужністю - за чисельністю персоналу - за обсягом виробництва - за сезонністю виробництва	- середнє - середнє - середнє - позасезонне
Розташування - місто - смт - село	- міста, смт
Вид продукту, який потрібен даному споживачеві	Вітамін В ₁₂
Призначення придбаної розробки - за призначенням - для продажу - інше	- для продажу
Кваліфікація персоналу підприємства - робочі - службовці - керівники	- директор - бухгалтер - фармацевт
Потенційний обсяг споживання розробки - одиниця - 1-5 - 6-10 - більше 10	- більше 10
Хто приймає рішення про придбання розробки	Директор мережі аптек з метою розширення асортименту.

Таблиця 5.12

Запланований обсяг реалізації стартап-продукту

	Січень 2021	Лютий 2021	Березень 2021	Квітень 2021	Травень 2021	Червень 2021	Липень 2021	Серпень 2021	Вересень 2021	Жовтень 2021	Листопад 2021	Грудень 2021
Запланований обсяг	65 тис	65 тис	65 тис	65 тис	65 тис	65 тис	71,5 тис	78,6 тис	86,5 тис	95,2 тис	114 тис	137 тис

Враховуючи специфіку підприємства, за пів року передбачений моніторинг збуту продукції, оцінка підвищення попиту. Подальший приріст запланований на 10% та після цього на 20 %.

5.5 Ціна інноваційної пропозиції на ринку

Таблиця 5.13

Проектні ціни продажу ідеї, технології, методики, програми

Найменування товару	Планові обсяги продажу		Аналоги, прототипи №1 (ПраТ Фармацевтична фірма «Дарниця»)		Аналоги, прототипи №2 (ПАТ «Галичфарм»)	
	Кількість, од	Ціна, грн/од*	Кількість, од	Ціна, грн/од	Кількість, од	Ціна, грн./од
Вітамін В12	65 000	35	70 000	34	60 000	24

* - одна упаковка

65000 од з однієї серії (один біосинтез) на рік заплановано 12 ферментацій (780 000 од)

Основні методи ціноутворення:

1. Метод, орієнтований на витрати (витратний метод):

$$Ц = С + \text{фіксований відсоток прибутку (від собівартості)} [\text{грн/од}]$$

(або середня норма прибутку по даному виду товару), де Ц – прогнозована ціна товару, грн/од, С – розрахована автором ідеї, технології, методики очікувана собівартість товару, грн/од.

Розрахунок:

Собівартість складається з

плата за сировину – 2,50 грн/шт

плата за упаковку – 3 грн грн./шт

заробітна плата робітникам – 4 грн/шт

ремонт і утримання основних засобів – 2 грн/шт.

					МД 162. БТ-5119. 00.00 ПЗ	Арк.
						95
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

плата комунальних послуг – 3 грн/шт

амортизація оборотних фондів – 2 грн/шт

витрати на вдосконалення виробництва – 1 грн/шт

$$\Sigma_{\text{собівартість}} = 17,5 \text{ грн}$$

Нехай фіксований відсоток прибутку від собівартості - 100%. Тоді

$$Ц = 17,5 + 17,5 = 35 \text{ грн}$$

2. Агрегатний метод – застосовується до товарів із складових елементів:

$$Ц = Ц_1 + Ц_2 + \dots + Ц_i, [\text{грн/од}],$$

де $Ц$ – ціна ідеї, технології, розробки, за якою автор пропонуватиме її на ринку, грн/од., $Ц_i$ – ціна i -того компоненту багатокomпонентного товару, грн/од.

Розрахунок:

$$Ц_{\text{сировина}} = 6$$

$$Ц_{\text{ампула}} = 4$$

$$Ц_{\text{упаковка}} = 5$$

$$Ц_{\text{на виробництво}} = 20$$

$$\text{Тоді, ціна} = 6 + 4 + 5 + 20 = 35 \text{ грн}$$

3. Параметричний метод – враховує вагомість якісних параметрів товару і оцінку цих параметрів споживачем:

$$Ц_{\text{нової моделі}} = Ц_{\text{базової моделі}} \cdot (\text{балова оцінка нової моделі} / \text{балова оцінка базової моделі}), [\text{грн/од}],$$

де $Ц_{\text{нової моделі}}$ – ціна ідеї, технології, розробки, за якою автор пропонуватиме її на ринку, грн/од., $Ц_{\text{базової моделі}}$ – ціна прототипу, аналогу, які вже існують на ринку, грн/од.,

					МД 162. БТ-5119. 00.00 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		96

Розрахунок:

$$Ц_{\text{базової моделі}} = 34$$

Таблиця 5.14

Розрахунок ціни

Продукт	Параметри						Ціна
	1		2		3		Одного балу= 34/(45*0,2+0,4*70+0,4*80)=
	Бали	Коефіцієнт вагомості	Бали	Коефіцієнт вагомості	Бали	Коефіцієнт вагомості	
Аналог	45	0,2	70	0,4	80	0,4	34
Новий	50	0,2	83	0,4	80	0,4	0,49*(50*0,2+0,2*83+80*0,4) =28,70

4.Метод ціноутворення на основі поточних цін

Враховуючи, що діапазон цін на товари-аналоги становить 24 - 46 грн, вирішено обрати середню цінову категорію – 35 грн.

5.Метод на основі аналізу точки беззбитковості

Для розрахунку точки беззбитковості визначаємо, що амортизація становить 6000 грн./рік, вартість сировини 6 грн/од., комунальні плати – 10000грн/міс., витрати на заробітну плату – 100 тис грн./міс. Враховуючи основні рівняння, маємо:

$$Ц \cdot n = V_{\text{пост}} + V_{\text{змін}} \cdot n$$

$$Ц \cdot 65\,000 = (6000 + 100\,000 + 10000) + 6 \cdot 65\,000$$

$$Ц = 8,2 \text{ грн./од.}$$

Розрахунок собівартості

Перехід від ціни до собівартості здійснюється з урахуванням законодавства України щодо ціноутворення.

Собівартість виробництва товарів та послуг	Прибуток виробника	Мито	Акциз	ПДВ	Посередницька надбавка			Торгова надбавка		
					Витрати посередника	Прибуток посередника	ПДВ посередника	Витрати торгівлі	Прибуток торгівлі	ПДВ торгівлі

Формування ціни в процесі руху товарів до споживача

					МД 162. БТ-5119. 00.00 ПЗ					Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата						97

Таблиця 5.15

Калькуляція собівартості стартап-продукту

№ п/п	Етап розробки/елемент собівартості	Кількісний показник	Вартісний показник
1	Етап розробки ідеї -сировина, матеріали -амортизація -заробітна плата і нарахування (ЄСВ) -елктроенергія, паливо -інше	300 кВт	1000 500 5000 500
2	Етап ринкового дослідження -сировина, матеріали -амортизація -заробітна плата і нарахування (ЄСВ) -елктроенергія, паливо -інше	500 кВт	2000 1000 10000 800
3	Етап впровадження -сировина, матеріали -амортизація -заробітна плата і нарахування (ЄСВ) -елктроенергія, паливо -інше	50 5000 кВт	40 тис 3 тис 50 тис 6 тис
4	Етап виходу на планову потужність -сировина, матеріали -амортизація -заробітна плата і нарахування (ЄСВ) -елктроенергія, паливо -інше	6500 л сировини, 65 тис ампул 10 10000 кВт	100 тис 6 тис 100 тис 12 тис

Таблиця 5.16

Забезпеченість проекту основними засобами

Місце ОЗ у технологічному процесі	Назва ОЗ	Повна початкова вартість ОЗ	Очікувальний постачальник	Джерело фінансування придбання
Виробничий процес	Приміщення	1 млн	Фізична особа, Україна	Грант, інвестиції
Виробничий процес	Обладнання	5 млн	Європа	Грант, інвестиції
Транспортування товару	Транспортні засоби	50 тис	Фізична/юридична особа, Україна	Грант, інвестиції

Таблиця 5.17

Забезпеченість проекту оборотними засобами

Група ОБФ	Назва	Норма витрат на рік	Ціна грн./од	Очікуваний постачальник	Джерело фінансування
Сировина і матеріали	Сировина:	40000 од	50	Україна	Інвестиції, прибуток, одержаний від попередньої діяльності
	Матеріали (ампули, картонні коробки, фільтрувальні матеріали):	15000 Од	50	Україна	Інвестиції, прибуток, одержаний від попередньої діяльності
Паливо, електроенергія	Паливо:	1200л	33 за л	Україна	Інвестиції, прибуток, одержаний від попередньої діяльності
	Електроенергія:	100000 кВт	1,68 за кВт	Україна	Інвестиції, прибуток, одержаний від попередньої діяльності
Напівфабрикати, запасні частини	Фільтрувальні матеріали:	4000	65	Європа	Інвестиції, прибуток, одержаний від попередньої діяльності
	Запасні частини обладнання	1000	40	Європа	Інвестиції, прибуток, одержаний від попередньої діяльності

Забезпеченість проекту трудовими ресурсами

Категорія кадрів	Назва посади	Чисельність за списком на посаді	Кваліфікаційні вимоги	Плановий рівень заробітної плати	Джерело фінансування ФОП
Робочі основні	Апаратник	4	Не повна вища освіта відповідного напрямку підготовки. Здатність керувати автоматичним обладнанням, слідкувати за процесом на відповідному обладнанні	6000	прибуток, одержаний від попередньої діяльності;
Робочі допоміжні	Слюсар	1	Вища освіта. Ремонтні заходи та обслуговування обладнання, забезпечення безперебійності обладнання.	7000	прибуток, одержаний від попередньої діяльності;
	Електрик	1	Вища освіта. Відповідальний за електромережу виробництва	7000	прибуток, одержаний від попередньої діяльності;
Спеціалісти	Інженер-технолог	1	Вища освіта відповідного напрямку підготовки. Здатність забезпечити: дослідження ринку, розробку фінансового плану, пошук і оренду приміщення, виробничий процес, оформлення звітності, забезпечення продажів	9000	прибуток, одержаний від попередньої діяльності;

Продовження Табл. 5.18

	Технік-технолог	4	Вища освіта відповідного напрямку підготовки. Відповідальний за виконанням технологічного процесу	9000	прибуток, одержаний від попередньої діяльності;
	Менеджер з продажу	1	Вища освіта відповідного напрямку підготовки. Відповідальний за дистрибуцію препарату	7000	прибуток, одержаний від попередньої діяльності;
Молодший персонал обслуговування	Лаборант	2	Вища освіта відповідного напрямку підготовки. Виконання досліджень якості препарату на всіх етапах виробництва	6000	прибуток, одержаний від попередньої діяльності;
Керівники	Начальник зміни	1	Вища освіта відповідного напрямку підготовки. Контроль виконання всіх етапів виробництва за зміну	12000	прибуток, одержаний від попередньої діяльності;
	Начальник цеху	1	Вища освіта відповідного напрямку підготовки. Відповідальний за дотримання технологічного процесу	12000	прибуток, одержаний від попередньої діяльності;

Таблиця 5.19

Техніко економічні показники проекту

Показники	Одиниця виміру	Умовне позначення, формула розрахунку
1. Річний обсяг реалізації ідеї, технології, методики	Од./рік	$B = 780\,000$
2. Середньорічна чисельність персоналу за списком (окремо на процес розробки і на процес реалізації проекту)	Осіб	Розробка: $Ч_{сп} = Ч_{яв} \times К_{пер} = 6 \times 1 = 6$ особи Реалізація: $Ч_{сп} = Ч_{яв} \times К_{пер} = 16 \times 1 = 16$ особи

Продовження Табл. 5.19

3. у тому числі - основних - допоміжних - інженерно-технічного персоналу	Осіб	7 2 7
4. Середньорічний виробіток робітника (окремо на процес розробки і на процес реалізації проекту)	Од/особу	Розробка: $ППс.p. = B/Чсп = 7800 / 6 = 1300$ Реалізація: $ППс.p. = B/Чсп = 780\,000 / 16 = 48\,750$
5. Капіталовкладення у проект (окремо на процес розробки і на процес реалізації проекту): - всього - на одиницю продукції	Грн Грн/од	На розробку Всього: $K = OF + OBK = 200 \text{ тис} + 30 \text{ тис} = 230 \text{ тис}$ На одиницю: 29,5 На реалізацію Всього: $K = 7 \text{ млн} + 6 \text{ млн} = 13 \text{ млн}$ На одиницю продукції: 16,7
6. Повна собівартість (окремо на процес розробки і на процес реалізації проекту): - всього - на одиницю продукції	Грн Грн/од	На розробку: Всього: $C = A + OBK = 50 \text{ тис} + 30 \text{ тис} = 80\,000$ На одиницю: 10,3 На реалізацію: Всього: $C = A + OBK = 4 \text{ млн.} + 6 \text{ млн.} = 10 \text{ млн.}$ На одиницю: 12,8
7. Відносний прибуток (окремо на процес розробки і на процес реалізації проекту)	Грн/од	На розробку: $P = Ц - C = 35 - 10,3 = 24,7$ На реалізацію: $P = Ц - C = 35 - 12,8 = 22,2$
8. Рентабельність (окремо на процес розробки і на процес реалізації проекту)	%	На розробку: $P = (P/C) \times 100 = (24,7/11,5) \times 100 = 215$ На реалізацію: $P = (P/C) \times 100 = (22,2/12,8) \times 100 = 173$
9. Період повернення капіталовкладень (окремо на процес розробки і на процес реалізації проекту)	Років	На розробку: $T_{пов} = K/P = 29,5/24,7 = 1,2$ На реалізацію: $T_{пов} = K/P = 16,7/22,2 = 0,8$
10. Фондовіддача виробничих фондів (окремо на процес розробки і на процес реалізації проекту)	Грн/грн.	На розробку: $ФВ = (Ц \times B) / OF = (35 \times 7800) / 200 \text{ тис} = 1,4$ На реалізацію: $ФВ = (Ц \times B) / OF = (35 \times 780 \text{ тис}) / 7 \text{ млн} = 13,6$

Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата

МД 162. БТ-5119. 00.00 ПЗ

Арк.

102

Продовження Табл. 5.19

11. Фондоємкість (окремо на процес розробки і на процес реалізації проекту)	Грн/грн.	На розробку: $\Phi\epsilon = 1/\Phi B = 1/1,4 = 0,7$ На реалізацію: $\Phi\epsilon = 1/13,6 = 0,07$
12. Продуктивність праці (окремо на процес розробки і на процес реалізації проекту)	Грн/особу	На розробку: $\Pi\Pi = B/(\text{Чсп} \times T) = 7800/(6 \times 450) = 2,8$ На реалізацію: $\Pi\Pi = B/(\text{Чсп} \times T) = 780\text{тис}/(16 \times 2002) = 24$
13. Коефіцієнт економічної ефективності (окремо на процес розробки і на процес реалізації проекту)		На розробку: $E = \Pi/K = 24,7/29,5 = 0,9$ На реалізацію: $E = \Pi/K = 22,2/16,7 = 1,3$

5.6 Концепція бізнес-моделі проекту та карта бізнес-процесів реалізації проекту

Бізнес-модель характеризує етапи, які проходить стартап проект для впровадження технології.

Таблиця 5.20

Карта бізнес-процесів виконання стартап-проектів

Стадія реалізації стартап проекту	Бізнес процеси	Характеристики		
		Задіяні ресурси	Орієнтовна тривалість процесу	Верхня межа фінансових витрат
Розробка ідеї стартапу	Дослідження ринку, споживачів та наявних конкурентів. Визначення основного напрямку та економічної доцільності.	Технолог, науковий співробітник, хімік, комп'ютер, канцелярія, інтернет.	2 місяць	90 000 грн
Реалізація ідеї	Пошук капіталу. Закупівля обладнання, сировини.	Комплектуючі складові, обладнання, людська праця.	3 місяці	2 000 000 грн

Продовження Табл. 5.20

Впровадження у виробництво	Облаштування цехів, валідація технології, оформлення технічної документації	Цехи, лабораторія, обладнання, сировина, робітники, склад.	4 місяці	3 000 000 грн
Масова реалізація	Введення технологічного процесу, дистрибуція товару в аптеки	Виробничі лінії, склад, транспорт, менеджер з продажу	1 місяць	9500 грн
Закриття або продаж проекту	Пошук покупців	Офіс, юрист, директор.		7000 грн

Таблиця 5.21

Системний аналіз бізнес-процесів стартапу

Функції	Елементи							
	Розробник	Інженер-технолог	Технік-технолог	Лаборант	Апаратник	Електрик	Слюсар	Менеджер з продажу
Дослідження ринку	+	+	+					+
Розробка технології	+	+	+	+				
Пошук персоналу	+							
Валідація технології		+		+				
Облаштування цехів, виробничої лінії	+	+	+	+	+	+	+	
Забезпечення виробничого процесу	+	+	+	+	+	+	+	+
Контроль якості продукту		+	+	+				
Забезпечення продажів	+							+

5.7 Ризики стартап-проекту та методи управління ними

Таблиця 5.22

Ризики інноваційної розробки

Назва процесу/стадії реалізації стартап проекту	Бізнес-процеси	Зовнішні ризики	Внутрішні ризики
Розробка ідеї стартапу	Дослідження ринку, ідея створення біотехнологічного виробництва вітаміну B ₁₂	Наявність конкурентів	Науковий пошук особливостей технології
Реалізація ідеї	Закупівля сировини, обладнання, пошук робітників, облаштування та валідація виробничої лінії	Відсутність ресурсів на ринку	Сировина поганої якості, несправне обладнання, некваліфіковані працівники
Впровадження у виробництво	Налаштування технологічної лінії, підтримання всіх необхідних умов	Вихід з ладу обладнання, порушення режиму стерильності	Збій в процесі виробництва, отримання продукту не відповідної якості
Масова реалізація	Постачання препарату в аптеки	Затримки в поставці	Моніторинг актуальності реєстраційного досьє, що дає право на продаж

Таблиця 5.23

Ризики інноваційної розробки та ймовірність їх настання

Види ризиків	Назва ризику	Ймовірність настання	Вплив на очікуваний результат
Зовнішні ризики			
Культурно-соціальний, демографічний	Не популярність вживання вітамінів, особливо серед людей похилого віку, неobізнаність	Середня	Середній
Географічний	Невелика кількість аптек у селах, смт, деяких містах	Середня	Середній

Продовження Табл. 5.23

Науково-технічний	Втрата продуктивності штаму	Низька	Високий
	Вихід з ладу елементу технологічної лінії	Низька	Високий
Економічний	Низька рентабельність	Низька	Середній
Внутрішні ризики			
Науковий	Неправильна розробка технології	Низька	Високий
Виробничий	Збій в роботі обладнання, некваліфіковані працівники	Середня	Високий
Організаційний	Оформлення всіх необхідних технічних документів, збій в реалізації препарату на ринку	Середня	Середній

Таблиця 5.24

Матриця оцінки ризиків

За впливом ризиків на очікуваний результат		За ймовірністю настання ризиків		
Критерій ризику	Числове значення	Низька ймовірність	Середня ймовірність	Висока ймовірність
		1	2	3
Високий рівень впливу	3	3* Втрата продуктивності штаму Вихід з ладу елементу технологічної лінії Неправильна розробка технології	6* Збій в роботі обладнання, некваліфіковані працівники	9*

Продовження Табл. 5.24

Середній рівень впливу	2	2* Низька рентабельність	4* Не популярність вживання вітамінів, особливо серед людей похилого віку, необізнаність Невелика кількість аптек у селах, смт, деяких містах Оформлення всіх необхідних технічних документів, збій в реалізації препарату на ринку	6*
Низький рівень впливу	1	1*	2*	3*

Таблиця 5.25

План заходів з управління ризиками

Назва ризику	Назва методу управління ризиком	Відповідальні виконавці	Період виконання / застосування методу	Очікувані результати від впровадження методів управління
Непопулярність вживання вітамінів	Активний цілеспрямований маркетинг	Менеджер з продажів	Реалізації ідеї	Збільшення зацікавленості споживачів та їх обізнаності
Вихід з ладу елементу технологічної лінії	Стратегічне планування діяльності	Технік-технолог, інженер-технолог, слюсар	Впровадження у виробництво та масова реалізація	Швидке відновлення виробництва
Втрата продуктивності штаму	Стратегічне планування діяльності	Технік-технолог, лаборант	Впровадження у виробництво та масова реалізація	Підтримання постійної продуктивності

Продовження Табл. 5.25

Низька рентабельність	Стратегічне планування діяльності	Розробник, технік-технолог, інженер-технолог	Впровадження у виробництво	Отримання достатнього прибутку
Некваліфіковані працівники	Зменшення розміру збитку	Директор	Впровадження у виробництво та масова реалізація	Підвищення кваліфікації
Оформлення технічних документів	Стратегічне планування діяльності	Розробник, технік-технолог, інженер-технолог	Реалізація	Підтвердження якості препарату та можливість продажу
Дистрибуція	Моніторинг соціально-економічного та правового середовища	Менеджер з продажу	Масове виробництво	Збут препарату та отримання максимального прибутку

Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата

МД 162. БТ-5119. 00.00 ПЗ

Арк.

108

ВИСНОВКИ

1. В магістерській дисертації вдосконалено технологію виробництва вітаміну В₁₂ для ін'єкцій. Визначені основні нормативно-технічні документи, яких необхідно дотримуватися при розробці виробництва лікарського засобу.

2. Проаналізовано ринок вітамінів в Україні та розраховано річну потребу населення в лікарському засобі та, відповідно до цього, визначено річну потужність виробництва, що становить 7,8 млн ампул на рік.

3. Надано характеристику готового продукту вітаміну В₁₂ розчину для ін'єкцій, наведено вимоги до основних показників.

4. Проведено аналіз існуючих технологічних процесів при виробництві вітаміну В₁₂ та обґрунтовано вибір технології, запропоновано використовувати процес нанофільтрації для очистки продукту від домішок і для концентрування замість адсорбції на активованому вугіллі.

5. Обрано та надано характеристику продуценту *Pseudomonas fluorescens* ВКМ В-2224Д, який був отриманий методом багатоступеневої селекції з колекційного штаму *Pseudomonas fluorescens* В98. Продуктивність штаму *Pseudomonas fluorescens* ВКМ В-2224Д складає 120-150 мкг/мл. Наведено послідовність перетворень при біосинтезі ціанокобаламіну продуцентом.

6. У відповідності до вимог до готової форми та якості продукту, розроблено технологічну і апаратурну схеми виробництва, складено специфікацію необхідного обладнання.

7. Представлено будівельну схему виробництва, яка дозволяє забезпечити раціональний рух людських та матеріальних потоків. Спроектована будівля прямокутної форми розміром 72х42 м.

8. Розраховано старт-ап проект першого біотехнологічного виробництва вітаміну В₁₂ в Україні, рентабельність якого складає 173%.

					МД 162. БТ-5119. 00.00 ПЗ			
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата	ВИСНОВКИ	Стадія	Арк.	Аркушів
Розроб.		Солона Т.В.					109	115
Конс.						КПІ ім. Ігоря Сікорського, ФБТ		
Керівн.		Поліщук В.Ю.						
Затв.								

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Ребров В. Витамины, макро- и микроэлементы / Г.В. Г. Ребров. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. – 128 с.
2. Перекатова Т.Н., Остроумова М.Н.Т.Н. Еще раз о дефиците витамина В12 / Перекатова, М.Н. Остроумова // Клиническая онкогематология, 2009. – Т. 2. № 1. – 185–195 с.
3. Спиричев В.Б., Барашнев Ю.И. Врожденные нарушения обмена витаминов / В.Б. Спиричев, Ю.И. Барашнев. – М.: Медицина, 1977. 216 с.
4. Луцкий И.С. Витамины группы В в неврологической практике / И.С. Луцкий, Л.В. Лютикова, Е.И. Луцкий // Международный неврологический журнал, 2008. – № 2. – 89–93 с.
5. Сахибгараева Л.Ф. Характеристика витамина В₁₂ и основные продуценты при его получении / Л.Ф. Сахибгараева, А.И. Марахова, Д.К. Смагулова, И.Е. Станишевская // Разработка и регистрация лекарственных средств, 2015. – № 3 (12). – 104 – 107 с.
6. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Харків: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2001.
7. Закон України від 25.10.2020 «Про лікарські засоби». Електронний ресурс: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/123/96-%D0%B2%D1%80#Text>
8. Настанова МОЗУ СТ-Н МОЗУ 42-4.0:2020 «Лікарські засоби. Належна виробнича практика» Міністерство охорони здоров'я, Київ, 2020. – 356 с.
9. Настанова МОЗУ від 18.05.2013 СТ-Н МОЗУ 42-3.7:2013 «Лікарські засоби. Якість води для застосування у фармації». Електронний

					<i>МД 162. БТ-5119. 00.00 ПЗ</i>		
<i>Зм.</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>			
<i>Розроб.</i>		<i>Солона Т.В.</i>			СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ		
<i>Конс.</i>							
<i>Керівн.</i>		<i>Поліщук В.Ю.</i>					
<i>Затв.</i>							
						<i>Стадія</i>	<i>Арк.</i>
							<i>110</i>
							<i>115</i>
						КПІ ім. Ігоря Сікорського, ФБТ	

ресурс: <https://zakon.rada.gov.ua/rada/show/v0398282-13#Text>

10. Городецька І.Я. Дослідження сучасного стану ринку вітамінних засобів в Україні / І.Я. Городецька, О.Б. Блавацька // Фармацевтичний журнал, 2019. – Т. 74. – № 5. – с. 3 – 11
11. Державний реєстр лікарських засобів України. Електронний ресурс: <http://www.drlz.com.ua/>
12. Кобаламины. Витамины группы В12 // Экспериментальная витаминология: Справочное руководство / Под ред. Ю. М. Островского. – Минск: Наука и техника, 1979. – С. 438—468.
13. Hughes C. F., Ward M., Hoey L. et al. Vitamin B12 and ageing: current issues and interaction with folate // Ann. Clin. Biochem. – 2013. – 50, № 4. – P. 315—329.
14. Гавалко Ю.В. Дефіцит вітаміну В12 у людей літнього та старечого віку / Ю.В. Гавалко // Пробл. Старения и долголетия, 2015. – Т.24. – № 1
15. Третьяк Н.М. Гематологія: навч. Посібник / Н.М. Третьяк. – К.: Зовнішня торгівля, 2005. – 240 с.
16. Патент 1737915 РФ. Штамм бактерий *Propionibacterium shermanii* – продуцент вітаміна В12 / Т.В. Ганичева, В.Д. Грузина, Г.М. Пароникян и др.; Курганский комбинат медицинских препаратов и изделий «Синтез». – №4806695; Заяв. 26.03.1990; Опубл. 30.11.1994; Бюл. № 13.
17. Краснопольский Ю.М. Фармацевтическая биотехнология: Производство биологически активных веществ: учеб. Пособие: в 2 ч. – Ч. 1 / Ю.М. Краснопольский, Н.Ф. Клещев. – Харьков: НТУ «ХПИ», 2013. – 304 с. – на рус. яз.
18. US Patent US 6,492,141 B1. PROCESS FOR THE PRODUCTION OF VITAMIN B12 /Jan Hendik Hunik, Rodenrijs; DSM N.V., Te Heerlen - PCT Pub. Date:Jun. 29, 2000; Date of Patent: Dec. 10, 2002

19. Patent 4,544,633. PROCESS FOR PRODUCING VITAMIN B12 BY THE FERMENTATION TECHNIQUE, AND VITAMIN B12 PRODUCING MICROORGANISM / Ichiro Kojima, Yokosuka; Kouji Komiya, Yokohama; Hiroshi Sato, Kawasaki; Yutaka Oguchi, Tokyo, all of Japan ; Nippon Oil Company, Ltd., Tokyo, Japan - Filed: Feb. 23, 1983; Date of Patent: Oct. 1, 1985
20. Патент 2180001 РФ. Штамм бактерий *Pseudomonas fluorescens* ВКМ В2224Д продуцент витамина В12 / А. И. Пахтуев, Ф. Н. Чегодаев; Бердский завод биологических препаратов — Заяв. 15.02.2000; Оpubл. 27.02.2002; БИ: 05/2006.
21. Способ выделения витамина В12: пат. 2215788С2 Российская Федерация, МПК С12Р 19/42, В01D 61/14 / В. Г. Пшеничников, М. И. Каминская, И. Ю. Устюжанина, Г. А. Вахрамеева; заявитель Акционерное курганское общество медицинских препаратов и изделий "Синтез". № 2001114531; заявл. 28.05.2001; опубл. 10.11.2003
22. Державний реєстр лікарські засобів: Ціанокобаламін-Дарниця (Вітамін В₁₂-Дарниця). Електронний ресурс: <http://www.drlz.com.ua/ibp/ddsite.nsf/all/shlz1?opendocument&stype=6A42751F56AD52F3C2258599003D9841>
23. Ю.А. Старчина. Витамины группы В в лечении заболеваний нервной системы // Неврология, нейропсихиатрия, психоматика. 2009. - № 2. С. 84–87.
24. Филимонова В.В., Тарабрин В.В. Производство витамина В₁₂ / В.В. Филимонова, В.В. Тарабрин // Молодой ученый, 2017. - № 17. – с. 8-10
25. Промышленная микробиология: Учеб. пособие для вузов П 81 по спец. «Микробиология» и «Биология» / З. А. Аркадьева, А. М. Безбородов, И. Н. Блохина и ДР.; Под ред.. Н. С. Егорова. — М.: Высш. шк., 1989.

26. Наказ МОЗУ № 426 від 26.08.2005 «Про затвердження Порядку проведення експертизи реєстраційних матеріалів на лікарські засоби, що подаються на державну реєстрацію (перереєстрацію), а також експертизи матеріалів про внесення змін до реєстраційних матеріалів протягом дії реєстраційного посвідчення». Електронний ресурс: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z1069-05#Text>
27. Процессы и аппараты биотехнологии в химико-фармацевтической промышленности / К.Г. Федосеев: Учебное пособие для вузов. – М.: Медицина, 1969. – 196 с.
28. Гапонов К.П. Процессы и аппараты микробиологических производств. – М.: Легкая и пищевая пром-сть, 1981. – 240 с.
29. D.R. Keer, Ultrapure Water, July-August, 40-44 (1993).
30. «Приготовление, хранение и распределение воды очищенной и воды для инъекций», МУ-78-113, Москва, 1998.
31. Приходько А.Е., Валевко С.А. Методы предварительной подготовки и получения воды для фармацевтических целей / А.Е. Приходько, С.А. Валевко // Химико-фармацевтический журнал, 2002. – Т. 36. - № 10
32. Ручай Н.С. Технология микробного синтеза: электронный курс лекций для студентов специальности 1-48 02 01 «Биотехнология» / Н. С. Ручай, И. А. Гребенчикова. – Минск: БГТУ, 2014. – 167 с.
33. Бирюков В.В. Основы промышленной биотехнологии / В.В. Бирюков: Учебное пособие для вузов. М.: КолосС, 2004. – 296 с.
34. Ланин С.Н. и др. Сорбция водорастворимых витаминов на сорбентах различной природы / С.Н. Ланин, С.А. Рычкова, А.Е. Виноградов, М.Б. Виряов, И.А. Востров, И.А. Шаталов // Портлаб. – 2015. – Т15. - № 2.
35. EUROPEAN PATENT EP 0 976 757 B1 A method of purifying vitamin B12 and/or derivatives thereof / Hirayama, Takayuki, c/o Nippon Mitsubishi Oil Corp Yokohama-shi, Kanagawa-ken (JP); Representative:

					МД 162. БТ-5119. 00.00 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		113

Avellan-Hultman, Olle et al Ehrner & Delmar Patentbyra AB Box 10316
100 55 Stockholm (SE); Date of Patent: 02.02.2000

36. Huan Fang, Jie Kang & Dawei Zhang Microbial production of vitamin B12: a review and future perspectives / Microbial Cell Factories volume, 2017. - № 15
37. Debussche, L.; Thibaut, D.; Cameron, B.; Crouzet, J.; Blanche, F. Biosynthesis of the corrin macrocycle of coenzyme B12 in *Pseudomonas denitrificans* / Journal of Bacteriology, 1993.
38. A. Ian Scott, Neal J. Stolowich and others Biosynthesis of vitamin B12: Factor IV, a new intermediate in the anaerobic pathway / PNAS, 1996.
39. Warren, Martin J.; Raux, Evelyne; Schubert, Heidi L.; Escalante-Semerena, Jorge C The biosynthesis of adenosylcobalamin (Vitamin B12) / Natural Product Reports, 2002.
40. Debussche, L.; Thibaut, D.; Cameron, B.; Crouzet, J.; Blanche, F. Purification and characterization of cobyrinic acid a,c-diamide synthase from *Pseudomonas denitrificans* / Journal of Bacteriology, 1990.
41. Fang, H; Kang, J; Zhang, D Microbial production of vitamin B12: a review and future perspectives / Microbial Cell Factories, 2017.
42. R. Caspi Pathway: adenosylcobalamin biosynthesis from adenosylcobinamide-GDP I / MetaCyc Metabolic Pathway Database, 2007.
43. Калуняц К.А. Оборудование микробиологических производств / К. А. Калуняц, Л.И. Голгер, В.Е. Балашов: Учебное пособие для вузов. – М.: Агропромиздат, 1987. – 398 с.
44. Матвеев, В.Е. Основы асептики в технологии чистых микробиологических препаратов / В.Е. Матвеев. — М.: Легкая и пищ. пром-ть, 1981.-312с.
45. Касаткин, А.Г. Основные процессы и аппараты химической технологии / А.Г. Касаткин. — М.: Химия, 1971. — 784 с.

46. Мосичев М.С. Общая технология микробиологических производств / М.С. Мосичев, А.А. Складнев, В.Б. Котов. – М.: Легкая промышленность, 1982. – 264 с.
47. Основы проектирования предприятий микробиологической промышленности / Кантере В.М., Мосичев М.С., Дорошенко М.И. и др.: Учебное пособие для вузов. – М.: Агропромиздат, 1990. – 304 с.: ил.
48. Баракова А.Ш., Мурзагалиева Э.Т., Остапенко И.И. ОСОБЕННОСТИ ПРИ ПРОЕКТИРОВАНИИ ЧИСТЫХ ПОМЕЩЕНИЙ НА ПРИМЕРЕ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ ПРЕДПРИЯТИЙ // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2017. – № 7-1. – С. 7-10
49. Чуешов В.И. Оборудование и основы проектирования химико-фармацевтических производств. Учебное пособие для студентов дневной и заочной формы обучения/ В.И. Чуешов, Л.А. Мандрыка, П.Д. Пашнев и др. - Х.: НФАУ, 2001. -206 с.
50. Процеси і апарати мікробіологічної та фармацевтичної промисловості. Технологічні розрахунки. Приклади і задачі. Основи проектування / Сидоров Ю.І., Влязло Р.Й., Новіков В.П.: Навчальний посібник. - Львів: "Інтелект-Захід", 2008, - 736 с.
51. Кусниева А.Е., Азембаев А.А. Факторы, влияющие на производственные процессы производства лекарственных средств // Вестник КазНМУ, 2013. - № 5(3). – с. 182 - 185