

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

**Факультет біотехнології і біотехніки
Кафедра промислової біотехнології**

"На правах рукопису"
УДК 615.355

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 тест-смужок для напівкількісного визначення
глюкози в крові на основі глюкозооксидази

Виконала:

студентка 2 курсу, групи БТ-91мп
Чубук Анастасія Олександрівна

(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 Шибецький 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: Заступник директора ТОВ «УКРМЕДСЕРТ»;
експерт GMP/GDP/ISO 13485, консультант ВООЗ (WHO);
член Європейської GDP асоціації

Гуржій Роман Олександрович

(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)

**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

Тетяна ТОДОСІЙЧУК

(підпис)

(ініціали, прізвище)

“16” вересня 2020 р.

ЗАВДАННЯ

на магістерську дисертацію студентці

Чубук Анастасії Олександрівні

1. Тема дисертації Виробництво тест-смужок для напівкількісного визначення глюкози в крові на основі глюкозооксидази

науковий керівник дисертації Поліщук Валентина Юрївна
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 технологія виробництва тест-смужок для напівкількісного визначення глюкози в крові на основі глюкозооксидази

4. Вихідні дані призначення продукту - медичний виріб для діагностики in vitro, призначений для самоконтролю; форма випуску – тест-смужки, по 10 шт у контейнерах;

потужність виробництва - 5,6 млн. тест-смужок/рік; виріб повинен відповідати Технічному регламенту щодо медичних виробів для діагностики in vitro, затвердженого постановою Кабінету Міністрів України №754 від 02 жовтня 2013 року.

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

6. Орієнтовний перелік графічного (ілюстративного) матеріалу
плакати формату А1: технологічна схема, апаратурна схема, план цеху

7. Орієнтовний перелік публікацій 4 тези 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	01.11-03.11.2020	
2	Техніко-економічне обґрунтування	04.11-06.11.2020	
3	Розробка технологічної схеми	06.11-16.11.2020	
4	Розробка апаратурної схеми	17.11-20.11.2020	
5	Технологічна частина	20.11-28.11.2020	
6	Старт-ап	28.11-30.11.2020	
7	Будівельна частина	30.11-02.12.2020	
8	Розробка будівельної схеми	02.12-05.12.2020	
9	Оформлення магістерської дисертації	05.12-11.12.2020	

Студентка

Анастасія ЧУБУК

Науковий керівник

Валентина ПОЛІЩУК

РЕФЕРАТ

Магістерська дисертація містить 118 с., 6 рис., 37 табл., 1 додаток, 52 посилання. Проект складається з вступу, п'яти розділів, висновку, списку використаних джерел, технологічної, апаратурної та будівельної схем.

Дисертацію присвячено вдосконаленню технології виробництва виробництва тест-смужок для напівкількісного визначення глюкози в крові, з використанням глюкозооксидази, продуцентом якої виступає *Aspergillus niger* van Tieghem ATCC 16888. Актуальність роботи полягає у нестачі на ринку України власних виробництв тест-систем при значній кількості хворих на цукровий діабет.

У роботі запропонована технологія виробництва, що складається з допоміжних робіт, стадій біосинтезу, виділення та очистки глюкозооксидази та виробництва тест-смужок.

Наведена специфікація обладнання, яке застосовується при виробництві продукції. Наведено список застосованих НТД, проект маркування готового виробу, перелік контрольних точок виробництва.

Розроблена технологія відповідає санітарно-гігієнічним та екологічним нормам, а також вимогам техніки безпеки та охорони праці.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: ТЕСТ-СМУЖКИ, МЕДИЧНІ ВИРОБИ ДЛЯ ДІАГНОСТИКИ *IN VITRO*, *ASPERGILLUS NIGER* VAN TIEGHEM ATCC 16888, ГЛЮКОЗООКСИДАЗА, ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ, ГЛЮКОЗА.

					<i>МД 162.БТ-5123. 00.00 ПЗ</i>			
<i>Зм.</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>	<i>Реферат</i>	<i>Стадія</i>	<i>Арк.</i>	<i>Аркушів</i>
<i>Розроб.</i>	<i>Чудрук А.О.</i>					<i>Д</i>	<i>4</i>	<i>118</i>
<i>Конс.</i>								
<i>Керівник</i>	<i>Поліщук В.Ю.</i>					<i>КПІ ім. Ігоря Сікорського ФБТ</i>		
<i>Затверд.</i>								

ABSTRACT

Masters dissertation project contains: 118 pages, 6 figures, 37 tables, 1 annex, 52 references. The project consists of an introduction, five sections, a conclusion, a list of sources used, technological, hardware and construction schemes.

The dissertation is dedicated to improving the technology of production of test strips for semi-quantitative determination of blood glucose, using glucose oxidase, the producer of which is *Aspergillus niger* van Tieghem ATCC 16888. The relevance of the work lies in the lack of own production of test systems in the Ukraine with a significant number of patients with diabetes.

The production technology is proposed in the project, which consists of ancillary works, stages of biosynthesis, isolation and purification of glucose oxidase and production of test strips.

The specification of the equipment used in production is given. The list of reference documentation, the project of marking, the list of control points of production are given.

The developed technology meets the sanitary, hygienic and environmental standards, as well as the requirements of safety and labor protection.

TEST STRIPS, IVD MEDICAL DEVICES, *ASPERGILLUS NIGER* VAN TIEGHEM ATCC 16888, GLUCOSE OXIDASE, DIABETES MELLITUS, GLUCOSE.

					<i>МД 162.БТ-5123. 00.00 ПЗ</i>			
<i>Зм.</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>	<i>Abstract</i>	<i>Стадія</i>	<i>Арк.</i>	<i>Аркушів</i>
<i>Розроб.</i>	<i>Чудрук А.О.</i>					<i>Д</i>	<i>5</i>	<i>118</i>
<i>Конс.</i>						<i>КПІ ім. Ігоря Сікорського ФБТ</i>		
<i>Керівник</i>	<i>Поліщук В.Ю.</i>							
<i>Затверд.</i>								

ЗМІСТ

ВСТУП	8
РОЗДІЛ 1. НОРМАТИВНО-ТЕХНІЧНА ДОКУМЕНТАЦІЯ НА СИРОВИНУ, ДОПОМІЖНІ МАТЕРІАЛИ ТА НА ГОТОВУ ПРОДУКЦІЮ	10
РОЗДІЛ 2. ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ	15
РОЗДІЛ 3. ТЕХНОЛОГІЧНА ЧАСТИНА	22
3.1 Склад підприємства та режим його роботи	22
3.2 Характеристика кінцевої продукції виробництва	23
3.3 Обґрунтування вибору технологічної схеми виробництва	27
3.4 Технологічна схема виробництва	32
3.5 Характеристика біологічного агенту та процесу біосинтезу виробництва	32
3.6 Апаратурна схема виробництва	36
3.7 Характеристика сировини, матеріалів та напівпродуктів	42
3.8 Опис технологічного процесу	47
3.9 Матеріальний баланс	63
3.10 Контроль виробництва	66
3.11 Відходи виробництва: технологічні та вентиляційні, їх використання та знешкодження	73
РОЗДІЛ 4. БУДІВЕЛЬНА ЧАСТИНА	75
4.1 Генеральний план цеху	75
4.2 Теплопостачання	76
4.3 Вентиляція	77
4.4 Водопостачання	78
4.5 Каналізація	78
4.6 Електропостачання	79

					<i>МД 162.БТ-5123.00.00 ПЗ</i>			
<i>Зм.</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>	<i>Зміст</i>	<i>Стадія</i>	<i>Арк.</i>	<i>Аркушів</i>
<i>Розроб.</i>	<i>Чудюк А.О.</i>						6	118
<i>Конс.</i>								
<i>Керівник</i>	<i>Поліщук В.Ю.</i>					<i>КПІ ім. Ізоря Сікорського ФБТ</i>		
<i>Затверд.</i>								

РОЗДІЛ 5. СТАРТАП ПРОЕКТ	80
ВИСНОВКИ	109
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	111
ДОДАТОК А	118

					<i>МД 162.БТ-5123.00.00 ПЗ</i>	<i>Арк.</i>
<i>Зм.</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>		7

ВСТУП

Цукровий діабет – одне з найбільш розповсюджених ендокринних захворювань у світі. В Україні наразі проживає більше мільйона хворих на діабет. На жаль, не дивлячись на розвиток медицини, досі відсутня можливість вилікувати дане захворювання повністю. Єдиним способом продовжити життя хворим є постійний моніторинг рівня цукру в крові і своєчасна компенсація нестачі інсуліну за рахунок прийому інсуліновмісних препаратів.

З метою моніторингу рівня глюкози в крові застосовується такий вид медичних виробів, як тест-смужки. В основі дії таких виробів лежить ферментативне окислення глюкози з наступною реєстрацією утворення електрохімічного сигналу або ж зміни забарвлення смужки.

Тест-смужки для самодіагностики повинні бути легкими у використанні, мати високу точність та доступну ціну. В Україні наразі наявне лише одне власне виробництво тест-смужок, яке не випускає дані вироби у необхідних обсягах і застосовує застарілі технології. Отже, актуальність дипломного проекту полягає у тому, що на фоні збільшення кількості хворих на цукровий діабет в Україні, існуючі в країні виробництва тест-смужок не задовольняють потреби споживачів.

Проектована продукція, а саме тест-смужки для напівкількісного визначення глюкози в крові є медичним виробом для діагностики *in vitro*, призначеним для самоконтролю. Виріб призначений для візуального напівкількісного визначення глюкози в цільній крові людини.

Метою даної магістерської дисертації є вдосконалення технології виробництва тест-смужок для напівкількісного визначення глюкози в крові на

					МД 162.БТ-5123.00.00 ПЗ			
<i>Зм.</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>	Вступ	<i>Стадія</i>	<i>Арк.</i>	<i>Аркушів</i>
<i>Розроб.</i>		<i>Чудрук А.О.</i>				<i>Д</i>	8	118
<i>Конс.</i>								
<i>Керівник</i>		<i>Поліщук В.Ю.</i>						
<i>Затверд.</i>								<i>КПІ ім. Ізоря Сікорського ФБТ</i>

основі глюкозооксидази від продуценту *Aspergillus niger* van Tieghem ATCC 16888.

Для цього необхідно виконати наступні завдання:

- навести нормативно-технічну документацію на готову продукцію, сировину, проміжні продукти;
- здійснити аналіз ринку продукту та обґрунтування потужності виробництва;
- розглянути особливості кінцевого продукту і методи його виробництва;
- скласти матеріальний баланс, обрати технологічну і апаратурну схему виробництва, скласти перелік контрольних точок виробництва;
- здійснити проектування та креслення виробничих приміщень;
- здійснити розрахунки показників та характеристик стартап проекту.

					МД 162.БТ-5123.00.00 ПЗ	Арк.
						9
Зм.	Арк.	№ докцм.	Підпис	Дата		

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

Нормативно-технологічна документація щодо готової продукції вказана в табл. 1.1:

Таблиця 1.1

Нормативно-технологічна документація щодо готової продукції [1]

Позначення стандарту	Назва стандарту	Дата затвердження/надання презумпції відповідності
-	Технічний регламент щодо медичних виробів для діагностики in vitro, затверджений Постановою КМУ від 02.10.2013 № 754	02.10.2013
ДСТУ EN ISO 13485:2018	Медичні вироби. Система управління якістю. Вимоги до регулювання	31.03.2019
ДСТУ EN 13532:2015	Медичні вироби для діагностики in vitro для самотестування. Загальні вимоги.	17.12.2002
ДСТУ EN 13612:2015	Оцінка характеристик медичних виробів для діагностики in vitro	02.12.2009
ДСТУ EN ISO 14971:2015	Вироби медичні. Настанови щодо управління ризиком	30.08.2012

					<i>МД 162.БТ-5123. 00.00 ПЗ</i>			
<i>Зм.</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>	РОЗДІЛ 1. НОРМАТИВНО-ТЕХНІЧНА ДОКУМЕНТАЦІЯ НА СИРОВИНУ, ПРОМІЖНІ ПРОДУКТИ ТА НА ГОТОВУ ПРОДУКЦІЮ	<i>Стадія</i>	<i>Арк.</i>	<i>Аркушів</i>
<i>Розроб.</i>	<i>Чудук А.О.</i>					<i>д</i>	<i>10</i>	<i>118</i>
<i>Конс.</i>						<i>КПІ ім. Ігоря Сікорського ФБТ</i>		
<i>Керівник</i>	<i>Поліщук В.Ю.</i>							
<i>Затверд.</i>								

ДСТУ EN ISO 15193:2015	Вироби медичні для діагностики in vitro. Вимірювання величин у зразках біологічного походження. Вимоги до суті і подання контрольних процедур вимірювання.	07.07.2010
ДСТУ EN ISO 15223-1:2018	Засоби медичної техніки. Умовні позначки на етикетках засобів медичної техніки, маркування та обов'язкові відомості. Частина 1. Загальні вимоги	31.07.2017
ДСТУ EN ISO 18113-1:2011	Вироби медичні для діагностики in vitro. Інформація, яку надає виробник (маркування). Частина 1. Словник термінів та загальні вимоги	30.04.2019
ДСТУ EN ISO 18113-4:2018	Вироби медичні для діагностики in vitro. Інформація, яку надає виробник (маркування). Частина 4. Реактиви для діагностики in vitro для самоконтролю	30.04.2012

Нормативно-технологічна документація щодо вимог до виробничого середовища вказана в табл. 1.2:

					<i>МД 162.БТ-5123. 00.00 ПЗ</i>	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		11

Нормативно-технологічна документація щодо вимог до виробничого середовища

Позначення стандарту	Назва стандарту	Дата затвердження
ДСанПіН №400 від 12.05.2010	Вода питна. Гігієнічні вимоги до якості води централізованого господарсько-питного водопостачання	12.05.2010
ДСТУ ISO 3696:2003 (ISO 3696:1987, IDT)	Вода для застосування в лабораторіях. Вимоги та методи перевірки.	11.06.2003
ДСТУ 7525:2014	Вода питна. Вимоги та методи контролю якості.	23.10.2014
ДСТУ ISO 14698-1:2008 (ISO 14698-1:2003, IDT)	Якість повітря. Чисті приміщення і відповідні контрольовані умови. Контроль біозабруднень. Частина 1. Загальні принципи і методи.	30.12.2008
ДСТУ ISO 14698-2:2009 (ISO 14698-2:2003, IDT)	Чисті приміщення і пов'язані з ними контрольовані умови. Контроль рівня біологічного забруднення. Частина 2. Оцінювання та інтерпретація даних про біологічне забруднення	14.12.2009
ДСТУ ISO 14644-1:2009 (ISO 14644-1:1999, IDT)	Чисті приміщення і пов'язані з ними контрольовані середовища. Частина 1: Класифікація чистоти повітря	29.12.2009
ДСТУ ISO 14644-2:2009 (ISO 14644-2:2000, IDT)	Чисті приміщення і пов'язані з ними контрольовані середовища. Частина 2: Вимоги до контролю та моніторингу для підтвердження постійної відповідності вимогам стандарту ISO 14644-1	29.12.2009
ISO 14644-3:2005	Чисті приміщення і пов'язані з ними контрольовані середовища. Частина 3: Методи тестування	15.12.2005

ДСТУ ISO 14644-4:2012 (ISO 14644-4:2001, IDT)	Чисті приміщення і пов'язані з ними контрольовані середовища. Частина 4: Проектування, будівництво і введення в експлуатацію	28.11.2012
ДСТУ ISO 14644-5:2012 (ISO 14644-5:2004, IDT)	Чисті приміщення і пов'язані з ними контрольовані середовища. Частина 5: Експлуатація	28.11.2012

Інформація щодо класів чистоти виробничих приміщень вказана у розділі 4. Будівельна частина.

Нормативно-технологічна документація щодо основної сировини та проміжних продуктів вказана в табл. 1.3:

Таблиця 1.3

Нормативно-технологічна документація щодо сировини та проміжних продуктів

Позначення стандарту	Назва стандарту	Дата затвердження
ДСТУ 4464:2005	Глюкоза кристалічна гідратна. Технічні умови	16.09.2005
ГОСТ 17206-96	Агар мікробіологічний. Технічні умови	15.10.1996
ДСТУ ГОСТ 30333:2009	Паспорт безпеки хімічної продукції. Общі вимоги	01.01.2010
ГОСТ 4168-79	Натрій азотнокислий. Технічні умови	01.01.1980
ДСТУ 4457:2005	Препарати ферментні. Загальні технічні умови	16.09.2005
ТУ У 24.1-32813696-016:2008	Препараты ферментные для пищевой промышленности	03.08.2008
ГОСТ 13805-76	Пептон сухой ферментативный для бактериологических целей. Технічні умови	01.01.1977
ГОСТ 4530-76	Кальцій углекислый. Технічні умови	01.07.1977

						<i>МД 162.БТ-5123. 00.00 ПЗ</i>	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата			13

ТУ У 23455985-001-97	Контейнери пластмасові для лікарських засобів та харчових добавок	03.12.2010
----------------------	---	------------

Повний перелік сировини, матеріалів та напівпродуктів наведено в розділі 3.7 Характеристика сировини, матеріалів та напівпродуктів.

					<i>МД 162.БТ-5123. 00.00 ПЗ</i>	<i>Арк.</i>
<i>Зм.</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ докцм.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>		14

РОЗДІЛ 2. ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ

Цільовим продуктом проєктованого виробництва є тест-смужки для напівкількісного визначення рівня глюкози в крові.

Цукровий діабет – найпоширеніше хронічне ендокринне захворювання різної етіології, яке викликає важкі наслідки для всіх систем організму і спричиняє інвалідизацію та ранню смертність. Люди з цукровим діабетом є більш схильними до смерті через неінфекційні та інфекційні захворювання (інфаркти, вірусну пневмонію тощо).

Поширеність цукрового діабету має стійку динаміку зростання. У різних країнах світу цукровим діабетом хворіє від 4% до 11% населення. Станом на 2018 рік у світ було зареєстровано 350 млн хворих на діабет, очікується подвоєння цієї кількості до 2040 року [2]. У 2016 р. в Україні діабетом хворіло понад 1,2 млн осіб. Згідно з дослідженнями, за 10 років (з 2004 по 2013 рр.) темп приросту показника захворюваності на цукровий діабет по Україні склав 43% [3].

За визначенням ВООЗ цукровий діабет є глобальною медико-соціальною проблемою і боротьба з ним має бути пріоритетним завданням національних систем охорони здоров'я. У зв'язку з цим важливим є забезпечення систем охорони здоров'я та пацієнтів засобами для своєчасної діагностики діабету та моніторингу рівня цукру в крові.

На сьогоднішній день на основі біосенсорів створено такий тип медичних виробів, як тест-системи для визначення в крові глюкози. В основі функціонування таких біосенсорів – реакція глюкози з ферментом глюкозооксидазою (див. рис. 2.1):

					<i>МД 162.БТ-5123. 00.00 ПЗ</i>			
<i>Зм.</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>	<i>РОЗДІЛ 2. ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ</i>	<i>Стадія</i>	<i>Арк.</i>	<i>Аркушів</i>
<i>Розроб.</i>		<i>Чудук А.О.</i>				<i>Д</i>	<i>15</i>	<i>118</i>
<i>Конс.</i>						<i>КПІ ім. Ігоря Сікорського ФБТ</i>		
<i>Керівник</i>		<i>Поліщук В.Ю.</i>						
<i>Затверд.</i>								

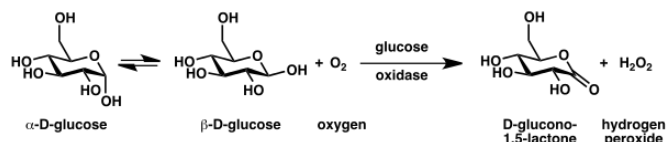


Рис. 2.1. Реакція, що каталізується глюкозооксидазою

Біосенсор для вимірювання глюкози вперше був створений вченими Clark та Lyons, які скомбінували електрод з глюкозооксидазою, включеною в діалізну мембрану для вимірювання концентрації глюкози в розчині. Наразі на ринку України представлені наступні види тестів на основі глюкозооксидази:

- Тест-смужки для кількісного визначення глюкози в крові з використанням глюкометрів;
- Тест-смужки для якісного або напівкількісного визначення глюкози у сечі;
- Тест-смужки для візуального напівкількісного визначення глюкози у крові.

Розглянемо дані типи тест-смужок детальніше.

1. В загальному випадку сучасні електрохімічні глюкометри складаються власне з глюкометра (апарата з дисплеєм, який виконує функцію реєструвального пристрою) та замінних текст-смужок з глюкозооксидазою мікробіологічного походження. Будова тест-смужок наведена на рис. 2.2.

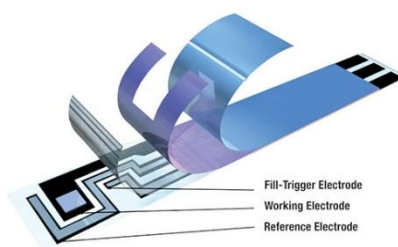


Рис. 2.2. Схематична будова ферментної тест-стрічки

Кров наноситься пацієнтом на поверхню тест-смужки (яка містить фермент-посередник, стабілізатор, ПАР та зв'язувальні агенти на селективній мембрані), перетворення сигналу відбувається у електродах тест-смужки. Загальний механізм дії тест-смужки наведений на рис. 2.3.

					МД 162.БТ-5123. 00.00 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докцм.	Підпис	Дата		16

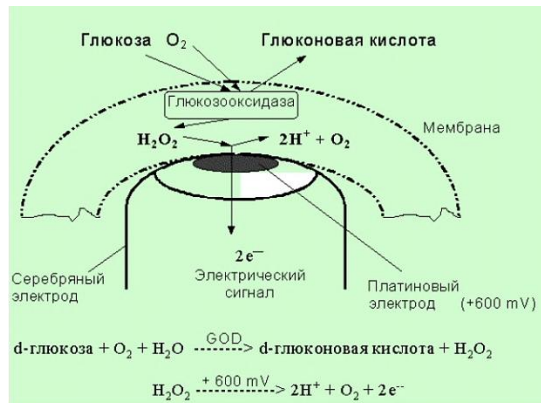


Рис. 2.3. Механізм утворення аналітичного сигналу у амперметричній тест-смужці [4]

Описаний тип смужок має ряд переваг, а саме: високу точність визначення, надійність, високий ступінь автоматизованості виробництва (збірка готової смужки здебільшого виконується на одному апараті). Але при цьому недоліками є висока вартість, необхідність використання реєструвального пристрою – глюкометра, сумісність смужок з обмеженою кількістю глюкометрів.

Звісно, при наявності встановленого діагнозу «цукровий діабет» застосування глюкометрів з тест-смужками для кількісного визначення є необхідним. Але для пацієнтів, які знаходяться в групі ризику і мають проходити періодичний моніторинг, співвідношення ціна тесту – точність визначення часто є недоцільною. Висока вартість таких тестів також не дозволяє повноцінно укомплектовувати ними малі відділення закладів охорони здоров'я (шкільні та санаторні медичні кабінети, соціальні центри тощо). В умовах поліклінік та стаціонарів застосування глюкометрів призводить до підвищеного ризику поширення інфекцій, що передаються через кров [5]. З огляду на це для періодичної самодіагностики можуть бути застосовані тести для напівкількісного визначення.

2. Сучасні тест-смужки для якісного або напівкількісного визначення глюкози у сечі також містять глюкозооксидазу, оскільки саме даний фермент дає специфічну реакцію на аналіт. Стандартний індикаторний елемент містить ферменти глюкозооксидазу і пероксидазу, а також хромогенну систему, яка за наявності реакції з глюкозою окислюється з утворенням продуктів певного

									Арк.
									17
Зм.	Арк.	№ докцм.	Підпис	Дата	МД 162.БТ-5123. 00.00 ПЗ				

кольору, що можна зафіксувати візуально. Хоча наявність глюкози в сечі (глюкозурія) здебільшого вказує саме на цукровий діабет, даний симптом може проявлятися і за певних інших патологій ендокринної або сечовидільної системи. Дослідження показують, що тест-смужки для визначення глюкозурії часто дають як і хибнопозитивний результат (наявність глюкозурії при нормальному рівні глюкози в крові), так і хибнонегативний (реакція на глюкозурію не спостерігається при завищеному рівні глюкози в крові) [6]. Також дані смужки менш зручні в застосуванні у неспеціалізованих закладах в порівнянні з тестами для крові.

3. Тест-смужки для візуального напівкількісного визначення глюкози у крові містять фермент глюкозооксидазу (або глюкозооксидазу в поєднанні з пероксидазою) та хромогенну систему (один або комбінацію барвників). Внаслідок окислення хромогенна система набуває певного кольору пропорційно до концентрації глюкози, що прореагувала з глюкозооксидазою.

Кілька десятків років тому дія тестів для кількісного визначення глюкози в крові також базувалась на окисненні барвників, але для встановлення чіткої концентрації глюкози потребувалось лабораторне обладнання (фотометри). Тому для кількісного визначення концентрації при самодіагностиці наразі використовується більш точний метод амперметричного визначення (описаний вище).

У випадку напівкількісного визначення забарвлення тест-смужки порівнюється з кольоровою шкалою в інструкції візуально, при цьому крок між показниками в середньому становить 1-5 ммоль/л (в залежності від барвників, ферменту тощо). Даний метод є недостатньо точним для хворих на діабет, але цілком підходить для періодичного моніторингу пацієнтів з ризиком розвитку діабету.

Технологія виробництва напівкількісних тест-смужок передбачає наступні етапи:

					<i>МД 162.БТ-5123. 00.00 ПЗ</i>	<i>Арк.</i>
<i>Зм.</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ докцм.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>		18

З огляду на це, одним з варіантів є налагодження виробництва на базі вже існуючого виробника з наявними протоколами виробництва мікробіологічної сировини, зацікавленого у виході на ринок медичних виробів та товарів для хворих на діабет. Наприклад, одним з найбільш відомих та крупних виробників лікарських засобів (в тому числі з АФІ біотехнологічного походження) в Україні є ПрАТ "Фармацевтична фірма «Дарниця»". Хоча даний виробник володіє значною часткою ринку виробів фармацевтичного призначення, одним з досі незадіяних напрямків розширення є виробництво медичних виробів. При цьому ПрАТ "Фармацевтична фірма «Дарниця»" вже має розвинуту інфраструктуру та налагоджене постачання багатьох типів сировини. Інші відомі виробники (ПрАТ «ІНДАР», АТ «ФАРМАК») мають лінійки товарів та лікарських засобів для хворих на діабет, що надає їм конкурентну перевагу на ринку. Таким чином, виробництво глюкоозоксидази і тест-смужок для напівкількісного визначення глюкози в крові може бути новим перспективним напрямком для впровадження на ПрАТ "Фармацевтична фірма «Дарниця»".

Очікувану потужність виробництва можна розрахувати виходячи з кількості потенційних споживачів. Групу ризику для розвитку діабету складають люди похилого віку, хворі на діабет, жінки що перенесли гестаційний діабет при вагітності.

Біля 15% населення України має ожиріння [7], що становить майже 5,5 млн. чоловік. Захворювання на гестаційний діабет спостерігається в середньому у 10% вагітних (у близько 30 000 жінок щорічно). Кількість людей похилого віку (старше 65 років) в Україні складає близько 5,7 млн. чоловік. Якщо з даної кількості вирахувати 5% потенційних споживачів, отримана кількість становитиме 560 000 чол/рік.

Пацієнтам з групи ризику рекомендується раз на шість місяців проходити тест на рівень глюкози. В домашніх умовах доцільно проводити моніторинг не одиничним тестом, а з повтором протягом дня (зранку до їжі, за дві години після їжі тощо). Тому для зручності використання продукту планується випуск тестів в пакуванні по 10 штук. Якщо кожен з потенційних споживачів куплятиме

										Арк.
										20
Зм.	Арк.	№ докцм.	Підпис	Дата	<i>МД 162.БТ-5123. 00.00 ПЗ</i>					

принаймні одну упаковку тестів на рік, то очікувана потужність виробництва становитиме 5,6 млн тестів на рік або 15,3 тисячі тестів на день.

					<i>МД 162.БТ-5123. 00.00 ПЗ</i>	<i>Арк.</i>
<i>Зм.</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ докцм.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>		21

РОЗДІЛ 3. ТЕХНОЛОГІЧНА ЧАСТИНА

3.1. Склад підприємства та режим його роботи

Виробництво представлено наступними складовими:

- Офісні приміщення – розташовані у окремій будівлі, в рамках даної роботи не розглядаються;
- Випробувальна лабораторія;
- Склад сировини та матеріалів – має безпосередній доступ до вулиці (для полегшення процесу постачання сировини), має визначені карантинну зону, зону браку та зону сировини та матеріалів, що пройшли вхідний контроль;
- Допоміжні дільниці, а саме: дільницю підготовку повітря, води очищеної та води дистильованої, отримання теплоносіїв, дільницю підготовки миючих розчинів та дезінфектантів, підготовки робочого одягу;
- Приміщення для персоналу (чоловіча та жіноча вбиральні та роздягальні). Перед входом до чистих приміщень додатково розміщені перехідні шлюзи, кімнати перевдягання;
- Виробничі дільниці, а саме: ділянка біосинтезу, ділянка виділення та очистки глюкозооксидази, ділянка виготовлення тест-смужок (є чистими приміщеннями);
- Приміщення маркування та упаковки;
- Склад готової продукції – розділений на карантинну зону, зону браку та зону готової продукції.

З метою забезпечення безперервності функціонування чистих приміщень встановлений безперервний режим роботи підприємства – у 3 зміни по 8 годин. Підприємство працює 365 днів на рік, з яких 25 днів виділяється на планові

					<i>МД 162.БТ-5123. 00.00 ПЗ</i>			
<i>Зм.</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>	РОЗДІЛ 3. ТЕХНОЛОГІЧНА ЧАСТИНА	<i>Стадія</i>	<i>Арк.</i>	<i>Аркушів</i>
<i>Розроб.</i>		<i>Чудук А.О.</i>				<i>Д</i>	<i>22</i>	<i>118</i>
<i>Конс.</i>								
<i>Керівник</i>		<i>Поліщук В.Ю.</i>				<i>КПІ ім. Ігоря Сікорського ФБТ</i>		
<i>Затверд.</i>								

ремонтно - профілактичні роботи. До таких робіт відносяться зокрема ревалідація (систем кондиціонування та чистих приміщень), генеральне прибирання, планове обслуговування апаратів, модернізація ділянок тощо [8].

3.2 Характеристика кінцевої продукції виробництва

Назва продукції. Для проекрованої продукції пропонується торгова назва Gluco visual.

Основне призначення продукції, класифікація. Проектована продукція є медичним виробом для діагностики *in vitro*, призначеним для самоконтролю (для самостійного використання особами без медичної освіти в домашніх умовах). Відповідно до Додатку 2 Технічного регламенту щодо медичних виробів для діагностики *in vitro* виріб відноситься до Переліку Б (Вироби для самоконтролю, призначені для вимірювання рівня цукру в крові) [9].

Тест-смужки Gluco visual призначені для візуального напівкількісного визначення глюкози в цільній крові людини. Вони можуть бути використані для орієнтовної оцінки рівня глюкози в крові при підозрі на діабет (наприклад, при наявності факторів ризику), при необхідності екстреної діагностики в медичних установах, а також для самоконтролю.

НТД. На виріб Gluco visual поширюється дія Технічного регламенту щодо медичних виробів для діагностики *in vitro*, затвердженого постановою Кабінету Міністрів України №754 від 02 жовтня 2013 року. Основним НТД для продукції є ДСТУ EN 13532:2015. Медичні вироби для діагностики *in vitro* для самотестування. Загальні вимоги.

Характеристика продукту і склад. Смужка індикаторна є смужкою з пластика розміром 7 x 70 мм, на якій розташована індикаторна зона. Індикаторна зона розміром 5 x 10 мм містить ферменти глюкозооксидазу (≥ 5 U) і пероксидазу (≥ 5 U), барвник (Тетраметилбензидин) і стабілізатор. Зона розташована на відстані 1-2 мм від краю підкладки, забезпечує протікання ферментативних реакцій окислення глюкози і хромогену і утворення забарвленого комплексу.

					МД 162.БТ-5123. 00.00 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докцм.	Підпис	Дата		23

Тест-смужки поставляються у вигляді комплекту: 10 смужок індикаторних, упакованих в герметичний контейнер з кришкою, що містить пакетик з силікагелем. Кожен комплект смужок забезпечений етикеткою і інструкцією із застосування. Контейнер із інструкцією постачаються в коробці. Комплект не містить ланцетів, секундоміру та чистих серветок або фільтрувального паперу, які необхідні для проведення аналізу. Етикетка містить кольорову шкалу, що складається з ряду колірних полів, поруч з кожним з яких вказана відповідна концентрація глюкози.

Спосіб застосування та інтерпретація результатів. Для застосування виробу виконуються наступні дії:

1. Підготовка до аналізу: необхідно підготувати стерильний ланцет, чисту серветку, годинник з секундною стрілкою або секундомір. Якщо тест-смужки зберігаються в холодильнику, попередньо контейнер треба вийняти і дочекатись нагрівання до кімнатної температури.
2. Необхідно вимити руки з милом, за можливості продезінфікувати їх, висушити. Для аналізу необхідна капілярна кров з пальця, але за умови погіршеного кровообігу можливе використання крові з мочки вуха.
3. Тест-смужка розміщується на чистій, сухій, рівній поверхні індикаторною зоною догори. Перед використанням колір індикаторної зони порівнюється зі значенням нуля на кольоровій шкалі. Контейнер з залишком смужок обов'язково герметично закривається кришкою відразу після діставання однієї смужки. Вийняту тест-смужку необхідно застосувати протягом 30 хвилин.
4. Для отримання краплі крові використовується стерильний ланцет, або скарифікатор, або інсулінова голка у відповідності до інструкції з використання. Після проколу необхідно дочекатися появи крупної краплі крові (тримаючи палець проколом донизу), нанести кров на індикаторну зону. Кров має покрити всю індикаторну зону, забороняється розтирати кров або торкатися пальцем тест-смужки. Негайно після нанесення ввімкнути секундомір.

					<i>МД 162.БТ-5123. 00.00 ПЗ</i>	<i>Арк.</i>
<i>Зм.</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ докцм.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>		24

5. Рівно через 30 секунд після нанесення крові необхідно обережно стерти кров з індикаторної зони чистою, сухою серветкою. Зона має бути повністю чистою, оскільки надлишок крові вплине на результат. Через 30 секунд після витирання індикаторної зони (60 секунд від нанесення крові) порівнюють зону тестування з кольоровою шкалою на етикетці виробу.

Використана тест-смужка придатна для інтерпретації результатів протягом 5 хвилин. Для інтерпретації результатів тест-смужку підносять до кольорової шкали на етикетці і порівнюють інтенсивність забарвлення візуально. Якщо кольори тестової зони лежать між двома значеннями на етикетці, то результатом вважається середнє арифметичне між двома значеннями.

Аналітичні характеристики. Діапазон можливих до визначення концентрацій глюкози в крові становить 0,0-800 мг% (0,0-44,4 ммоль / л). Кольорова шкала на етикетці містить 10 колірних полів, відповідних концентраціям глюкози в мг% (ммоль / л): 0,0 (0,0); 20,0 (1,1); 40,0 (2,2); 70,0 (3,9); 110 (6,1); 150,0 (8,3); 200 (11,1); 300,0 (16,7); 600,0 (33,3) і 800,0 (44,4). Візуальний діапазон визначення становить 20,0 – 800,0 мг% (1,1-44,4 ммоль / л).

Умови зберігання, експлуатації та транспортування. Тест-смужки повинні зберігатися в упаковці виробника в сухому місці при температурі від +2 до +25 °С протягом всього терміну придатності (2 роки). Не допускається зберігання поруч з леткими речовинами, такими як кислоти, луги, розчинники. Не допускається пряме попадання сонячних променів, підвищена вологість.

Визначення вмісту глюкози слід проводити при температурі від +18 до +30 °С. Не допускається використання не свіжої крові. Забороняється повторне використання тест-смужки, а також використання для аналізів смужок з видимими дефектами і кольором, відмінним від нульової позначки на кольоровій шкалі. Забороняється терти індикаторну зону смужки, торкатися до неї руками, оскільки це може призвести до окислення барвника.

Після відкриття упаковки тест-смужки повинні бути використані протягом часу не більше 6 місяців. Витягнута з упаковки смужка повинна бути використана

					МД 162.БТ-5123. 00.00 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докцм.	Підпис	Дата		25

для проведення аналізу протягом не більше 30 хвилин. Щоразу після виймання тест-смужки з упаковку останню слід негайно і щільно закрити кришкою.

Для отримання надійних результатів необхідно суворе дотримання інструкції по застосуванню.

Оскільки кольорові шкали різних партій або комплектів смужок можуть відрізнятися за забарвленням, необхідно порівнювати забарвлення індикаторної зони смужки тільки зі шкалою тієї упаковки, з якої була взята смужка.





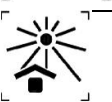
Зберігання та транспортування не передбачає застосування холодового ланцюга. Транспортувати при температурі від +2 до +25 °С, при нормальній вологості, транспортування здійснюється у груповій тарі, промаркованій відповідними символами («Крихке», «Температурне обмеження», «Оберігати від вологи»).

Маркування. Маркування розміщується на етикетці виробу, наклеєній на контейнер зі смужками, дублюється на коробці, відповідні символи розшифровані у інструкції до використання.

Обов'язкові для нанесення на етикетку символи наведені у табл. 3.1:

Таблиця 3.1

Символи для передачі інформації, яка необхідна для належного використання виробу Gluco visual [10-11]

Номер за ДСТУ EN ISO 15223-1:2018	Символ	Назва символу
5.1.1		Виробник
5.1.3		Дата виготовлення
5.1.4		Використати до
5.1.5		Номер партії
5.3.2		Оберігати від сонячного світла

У таких ферментів, як PQQ GDH-A, PQQ GDH-B, NAD(P) GDH тощо спостерігається вища активність в порівнянні з класичною глюкозооксидазою. Деякі з них знайшли своє застосування у електрохімічних та колориметричних біосенсорах. Однак до їх недоліків можна віднести вищу складність виділення та широку субстратну специфічність [12]. З огляду на це, доцільним є застосування у технології стандартної β -D-глюкозо:оксиген 1-оксидоредуктази, яка нині і використовується в переважній більшості промислових біосенсорів [13].

Обґрунтування вибору продуценту та процесу біосинтезу. До продуцентів глюкозооксидази відносяться наступні організми:

- р. *Aspergillus*: *A. niger*, *A. tubingensis*, *A. flavus*, *A. terreus*, *A. oryzae*, *A. carbonarius*, *A. nidulans*;
- р. *Penicillium*: *P. amagasakiense*, *P. variable*, *P. chrysogenum*, *P. notatum*, *P. funiculosum*, *P. adametzii*, *P. pinophilum*, *P. canescens*, *P. fellutanum*, *P. glaucum*, *P. vitale*;
- *Talaromyces flavus*, *Phanerochaete chrysosporium*, *Alternaria alternata*, *Pleurotus ostreatus*, *Rycnoporus cinnabarinus*, *Rhizopus stolonifer*, *Flavodon flavus*;
- продуценти рекомбінантного білка: *Saccharomyces cerevisiae*, *Hansenula polymorpha*, *Pichia pastoris*, *Escherichia coli*.

Найпершим введеним в промисловість природнім продуцентом глюкозооксидази є *A. niger*, що має наступні переваги:

- значні темпи росту і більше накопичення цільового ферменту в порівнянні з іншими мікроміцетами;
- можливість застосування глибинного культивування (що не завжди можливо для продуцентів роду *Penicillium*);
- висока активність і специфічність виділеного ферменту.

Продуценти рекомбінантної глюкозооксидази мають ряд критичних недоліків. Так, для виду *Saccharomyces cerevisiae* характерне гіперглікозилювання ферменту і відповідне зниження його активності [14]. Біосинтез рекомбінантного білку в клітинах *Escherichia coli* вимагає його подальшого виділення з тілець

										Арк.
										28
Зм.	Арк.	№ докцм.	Підпис	Дата	МД 162.БТ-5123. 00.00 ПЗ					

включень. Найбільш багатообіцяючим є застосування клітин *Pichia pastoris*, однак застосування даного продуценту вимагає проведення генетичних маніпуляцій, використання у виробництві метанолу. Також спостерігається певна нестабільність біосинтезу глюкозооксидази через її нестійкість до дії протеаз продуценту [15].

Таким чином, оптимальним є використання продуценту *A. niger*. Для даного продуценту можливе застосування поверхневого та глибинного культивування, при цьому кінцева активність ферменту не залежить від способу культивування. Оптимальним для регулярного виробництва є глибинне культивування, оскільки воно характеризується можливістю автоматизації, простішим забезпеченням необхідного рівня чистоти, компактністю виробництва тощо.

Оптимальна температура, тривалість біосинтезу, режим аерації та перемішування обирається відповідно до оптимальних параметрів, характерних для обраного продуценту. Під час біосинтезу застосовується механічне піногасіння (обертними роторними піногасниками). Механічне піногасіння потребує збільшення енергозатрат та збільшує ризик утворення вторинної піни. Однак даний тип піногасіння є оптимальним для проєктованого виробництва, оскільки хімічні піногасники знижують показники масообміну, мають значну вартість і можуть виявляти токсичність по відношенню до продуценту і кінцевого продукту [16].

Виділення та очистка ферменту. Глюкозооксидаза обраного штаму *A. niger* є інтрацелюлярною. Певна кількість ферменту виділяється в позаклітинне середовище, але характеризується нижчою активністю. З метою виділення ферменту здійснюють сепарацію біомаси (шляхом фільтрації), дезінтеграцію клітин. Пропонованими методами дезінтеграції є цикл заморожування-відтаювання (з використанням азоту) або механічна дезінтеграція. Механічна дезінтеграція є більш оптимальним варіантом, враховуючи меншу тривалість процесу та відсутність ризику температурного пошкодження ферменту.

Історично найпершими методами екстрагування глюкозооксидази була екстракція ізопропіловим спиртом або сумішшю ізопропілового, метилового та

					МД 162.БТ-5123. 00.00 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докцм.	Підпис	Дата		29

інших спиртів, даний метод застосовувався у промисловості різних країн, включаючи СРСР [17-18]. Наразі застосовуються такі методи, як послідовне екстрагування у двофазній системі з ПЕГ та фосфату калію [19], екстракція з утворенням зворотних міцел [20], осадження з водного екстракту сульфатом амонію [21]. Осадження сульфатом амонію є найбільш економічно вигідним. Оскільки осадження зумовлене зниженням розчинності, а не денатурацією, гранульований білок може бути легко ресольобілізований за допомогою стандартних буферів. Після концентрування білок добре підходить для гель-фільтрації, завдяки чому легко видалити залишок сульфату амонію [22]. Для остаточної очистки в залежності від потреб виробництва може застосовуватися гель-фільтрація, фільтрація на Q-сефарозі та DEAE сефарозі, іонний обмін на DEAE-целюлозі та хроматографія на Sephadex G-200.

Імобілізація ферменту. Використання ферменту для виготовлення біосенсорів в нативній формі пов'язане з такими труднощами, як легка інактивація під дією фізичних і хімічних чинників, малий термін зберігання біосенсору тощо. Найбільш поширеним способом стабілізації ферменту є його імобілізація [23]. Сутність імобілізації ферменту на гетерогенний носій полягає в приєднанні вихідного ферменту до підкладки, здійснюване адсорбційно, через хімічний зв'язок або шляхом механічного включення ферменту в гель, капсулу тощо. Цільові біомолекули, зокрема ферменти, можуть бути імобілізовані різними фізичними та хімічними методами. До *фізичних методів* належать:

- фізична адсорбція на нерозчинній у воді матриці на основі гідрофобних, електростатичних та сил Ван дер Ваальса;
- капсуляція у гелі, мікрокапсуляція;
- утворення ферментативних плівок або самозбірних моношарів, які є спонтанними структурними перебудовими, що утворюються з неупорядкованої системи.

Методи *хімічної імобілізації* включають:

- ковалентне зв'язування в мембранну матрицю або безпосередньо на поверхню перетворювача;

					МД 162.БТ-5123. 00.00 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докцм.	Підпис	Дата		30

- зшивка;
- утворення міцел [24].

Враховуючі значні обсяги виробництва і необхідність здешевлення кінцевого продукту при незмінній ефективності напівкількісного визначення, пропонується застосування комбінованої іммобілізації на основі фізичної адсорбції та утворення зшивок.

Фізична адсорбція або фізична абсорбція є результатом міжмолекулярних сил, включаючи гідрофобні сили, іонні взаємодії, сили Ван дер Ваальса та водневий зв'язок. Вона полягає у адсорбції білку на поверхню пластмасової тест-смужки.

У загальному розумінні метод зшивки передбачає встановлення хімічного зв'язку («зшивок») між декількома різними групами біомолекул за допомогою реагентів, які містять дві або більше реакційноздатні функціональні групи. Метод зшивки застосовується у поєднанні з іншими методами і має на меті збільшення стабільності шару біомолекул, збільшення ефективності детекції завдяки оптимізації просторового розміщення біомолекул, також даний метод дозволяє збільшити стійкість елементів до негативних факторів (впливу температури, рН тощо). Серед безлічі реагентів, використовуваних для утворення зшивок, найбільшого розповсюдження в практиці набув глутаральдегід, що зумовлено його доступністю на ринку та невисокою вартістю. Зазвичай його реакція з білками передбачає утворення основ Шиффа між двома карбонільними кінцями глутаральдегіду та позитивно зарядженими аміногрупами на поверхні білка. Крім того, мономерний глутаральдегід легко полімеризується при конденсації, утворюючи суміші подовжених сполук, які, у свою чергу, також можуть неспецифічно зшивати внутрішньомолекулярні або міжмолекулярні залишки лізину [25].

Пакування та маркування. З метою захисту готових тест-смужок від впливу сонячного світла і вологи здійснюється пакування у герметичні контейнери з бар'єрним типом замикавання і контролем першого розкриття з непрозорого пластику. У контейнер додатково поміщають пакетик з вологопоглиначем

					МД 162.БТ-5123. 00.00 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докцм.	Підпис	Дата		31

(силікагелем). На етикетці контейнеру, в інструкції та на індивідуальній коробці наносять відповідні символи («Оберігати від вологи», «Оберігати від сонячного світла»).

3.4. Технологічна схема виробництва

Технологічну схему виробництва тест-смужок для напівкількісного визначення глюкози в крові представлено на кресленнях № 1 та № 2 формату А1.

3.5 Характеристика біологічного агенту

Характеристика продуценту. В якості продуценту глюкозооксидази (критичного компоненту кінцевого виробу) застосовується мікроміцет *Aspergillus niger* van Tieghem ATCC 16888. Систематичне положення продуценту наведено у таблиці 3.2 [26].

Таблиця 3.2

Систематичне положення виду *Aspergillus niger*

Ранг	Найменування
Надцарство	<i>Eukaryota</i>
Царство	<i>Fungi</i>
Підцарство	<i>Dikarya</i>
Відділ	<i>Ascomycota</i>
Підтип	<i>Pezizomycotina</i>
Клас	<i>Eurotiomycetes</i>
Підклас	<i>Eurotiomycetidae</i>
Порядок	<i>Eurotiales</i>
Сімейство	<i>Trichocomaceae</i>
Рід	<i>Aspergillus</i>
Вид	<i>Aspergillus niger</i>

Колонії *Aspergillus niger* характеризуються швидким ростом (4,5-6,5 см за 10 днів при кімнатній температурі), пласкі, часто мають радіальні борозди, зернисті. Спочатку колонії біло-жовті, поступово набувають чорного кольору міцелію з кремовим або блідо-жовтим кольором зі звороту колонії. Конідіальні

					МД 162.БТ-5123. 00.00 ПЗ	Арк.
						32
Зм.	Арк.	№ докцм.	Підпис	Дата		

головки великі (750-850 мкм в діаметрі) і чорні, радіальні, розпадаються на окремі нитки з часом. Конідіофори дуже довгі (1,5-3,0 мм), товстостінні, гладкі з великими круглими або кулястими пухирцями (45-75 мкм). Конідії бурі, товстостінні, кулясті або півсферичні, діаметром 2,5-10 мкм. з помітними нерівностями поверхні [27]. При мікроскопії чорний або темно-коричневий колір спор (а також конідій) використовується для відрізнення *A. niger* від інших видів цього ж роду. Фото характерних колоній *A. niger* наведені на рис. 3.1.

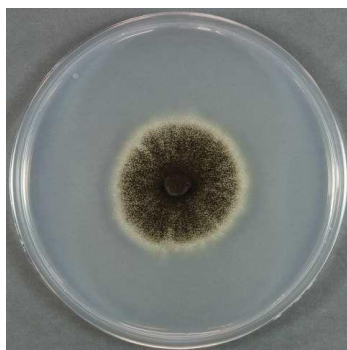


Рис. 3.1. Колонія *Aspergillus niger* [28]

Наразі *A. niger* є основним промисловим продуцентом лимонної кислоти та широкого ряду ензимів (оксидаз, дегідрогеназ, гідролаз, целюлаз та пектиназ). Найбільш відомими виробниками глюкосооксидази з *A. niger* є Amano Enzyme Co. Ltd. (Японія), DSM (Нідерланди), Dupont IB (Нідерланди), Dyadic (США), Megazyme (США), Roche (Франція) [29], в Україні – ТОВ «Ензим».

Умови зберігання та оживлення культури. Зберігання компетентних клітин *Aspergillus niger* van Tieghem ATCC 16888 у ампулах з кріопротектором здійснюється при температурі -80°C і нижче, у ліофілізованому вигляді допускається зберігання від $+2^{\circ}\text{C}$ до $+8^{\circ}\text{C}$. Передбачається пряма закупка ліофілізованих компетентних клітин у виробника (ATCC). Протокол оживлення культури передбачає наступні стадії [30]:

- З пробірки стерильної дистильованої води (5-6 мл) відбирають стерильною піпеткою приблизно 0,5-1,0 мл і наносять безпосередньо на ліофілізовану культуру.
- Переміщують культуру з водою до утворення суспензії, асептично переносять суспензію назад у пробірку з стерильною дистильованою

									МД 162.БТ-5123. 00.00 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докцм.	Підпис	Дата						33

водою.

- Пробірку витримують при кімнатній температурі (+25 °C) від 2 до 8 годин.
- Здійснюють контроль інокуляту та засів твердого поживного середовища. Інкують при +24°C - +26°C.
- Після пророщування посівного матеріалу можливе подальше використання культури в науково-дослідницьких цілях або для приготування інокуляту для подальшого біосинтезу.

З первинної культури отримують окремі робочі культури, які зберігаються в пробірках зі скошеним агаризованим середовищем.

Параметри біосинтезу. Максимальний вміст цільової сполуки спостерігається через 36-48 год культивування в залежності від штаму. Більшість досліджень вказують, що оптимальний діапазон початкового рН для біосинтезу глюкозооксидази становить 5,5-6,0. Оптимальною температурою для біосинтезу є 30 °C (+/- 2 °C), перемішування 120-150 об / хв., аерація $D_{O_2}=30\%$ [31]. Зменшення рН, як і суттєве збільшення чи зменшення температури культивування призводить до зменшення виходу продукту. Збільшення терміну культивування призводить до незначного збільшення обсягів продукту, тому є недоцільним з огляду співвідношення виходу до витрат.

Склад поживного середовища. Для отримання робочої культури рекомендується використання солодового агару за Блекслі наступного складу (на 1000 мл дистильованої води): солодовий екстракт – 20,0 г; глюкоза – 20,0 г; пептон – 1,0 г; агар – 20,0 г. Стерилізація середовища здійснюється автоклавуванням при +121 °C.

При підборі поживного середовища для біосинтезу важливою інформацією є те, які сполуки є інгібіторами та індукторами біосинтезу цільової сполуки. Відомими інгібіторами є: H_2O_2 , йони Ag^+ , Hg^{2+} , Cu^{2+} , Mg^{2+} , $CaCl_2$, арсеніт, гуанідину гідрохлорид та сечовина. Однак додавання певної кількості солей магнію є необхідним для забезпечення активного росту міцелію. Індукторами є глюкоза, карбонат кальцію, марганець, кобальт, тіогліколева кислота та глюконова кислота, ЕДТА та деякі іони металів, такі як Zn^{2+} та Fe^{2+} . У якості

					МД 162.БТ-5123. 00.00 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докцм.	Підпис	Дата		34

джерел вуглецю застосовуються такі сполуки, як глюкоза, сахароза, фруктоза, патока, меляса, н-додекан, н-гексадекан та соєва олія; в якості джерел нітрогену – пептон і кукурудзяний лікер, фосфат амонію, холін та Твін 80 [32]. Додавання в середовище глюкози в якості джерела вуглецю забезпечує найвищі показники виходу кінцевої сполуки [33].

Для проведення біосинтезу з високим виходом ензиму при збереженні його активності оптимальним є наступний склад поживного середовища (на 1000 мл води): глюкоза 80,0; пептон 3,0, NaNO_3 5,0, KH_2PO_4 1,0, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,01, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,5 та CaCO_3 35,0.

Характеристика цільової сполуки. Глюкозооксидаза (GOD; β -D-глюкозо:оксиген 1-оксидоредуктаза; глюкозо аеродегідрогеназа; E.C. 1.1.3.4.) – це голофермент, що складається з двох однакових 80 кДа субодиниць в активному центрі, що містять кофактор флавін-аденин-динуклеотид (FAD). Ці субодиниці діють як окислювально-відновний носій при каталізі. GOD належить до сімейства глюкозо / метанол / холін (GMC) оксидоредуктаз, що включає численні промислові каталізатори, наприклад, холестериноксидазу, холіноксидазу, метанолова оксидазу, алкоголь оксидазу тощо [34]. Всі перелічені ферменти мають спільний гомологічний структурний кістяк, що включає аденін-динуклеотид-фосфат, що зв'язує β - α - β -фолди близько до їх аміно-кінця, та п'ять інших сегментів консервативних послідовностей. Серин, гліцин, глютамінова кислота, аспарагінова кислота та аланін складають понад 60% загальної кількості амінокислот ензиму.

Глюкозооксидаза каталізує окислення β -D-глюкози в D-глюконо- δ -лактон у своїй першій гідроксильній групі, використовуючи атомарний кисень (O_2) як акцептор електронів із синхронним утворенням пероксиду водню (H_2O_2) [35]. Обидва кінцеві продукти розпадаються як спонтанно, так і каталітично. Для стабілізації цього процесу у багатьох біосенсорах на основі глюкозооксидази застосовується пероксидаза. Глюкозооксидаза каталізує окислення глюкози згідно з механізмом пінг-понгу, схема реакції наведена на рис. 3.2.

					МД 162.БТ-5123. 00.00 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докцм.	Підпис	Дата		35

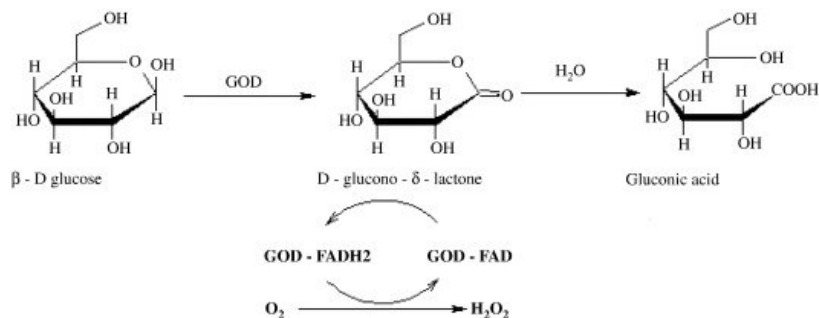


Рис. 3.2. Реакція, що каталізується глюкозооксидазою [36]

Серед усіх ферментів, що окислюють глюкозу, глюкозооксидаза є найзручнішою для використання в діагностичних системах з огляду на її високу специфічність (фермент не каталізує окислення α -аномеру глюкози і інших моносахаридів).

Ліофілізований препарат глюкозооксидази залишається стабільним протягом мінімум 6 місяців при $-20^\circ C$. Очікувана активність ферменту 300 од/мг. У клітинах продуценту глюкозооксидаза накопичується інтрацелюлярно, але певна кількість ферменту виділяється у позаклітинне середовище, що може бути застосовано для моніторингу біосинтезу.

3.6. Апаратурна схема виробництва

Обладнання виробництва обране відповідно до технологічної схеми та запланованих обсягів виробництва. Специфікація з характеристиками основного обладнання наведена у табл. 3.3.

										МД 162.БТ-5123. 00.00 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ док.м.	Підпис	Дата							36

Специфікації обладнання та КВП

Індекс та № за апаратурною схемою	Найменування	Кількість одиниць	Технічна характеристика
1	2	3	4
Ф-2, Ф-3, Ф-5, Ф-6, Ф-7	Фільтр	5	Установка підготовки, зберігання та розподілу чистої води, виробництва AUSTAR Group. Продуктивність установки очищеної води складає 4,7 м ³ /год. Включає п'ять фільтрів (вугільний та чотири фільтри з іонообмінними смолами). Збірник для зберігання з циркуляцією. Потужність 380 В, 50 Гц.
Зб-8	Збірник	1	
Вп-14	Випарювач	1	Промисловий дистиллятор Aqualux, потужність 100 л/год. Включає випарювач та конденсатор. Збірник для зберігання з циркуляцією. Потужність 2,1 кВт.
К-15	Конденсатор	1	
Ф-9, Ф-17, Ф-33, Ф-39, Ф-41, Ф-43, Ф-47, Ф-48, Ф-60, Ф-62	Фільтр	10	ФВМ-1 фільтро-вентиляційний модуль з функцією тонкої очистки і дезінфекції повітря, виробництва AWTech Фільтрувальні блоки виробництва Ecotep з НЕРА-фільтрами розмірами 575x575x78 мм і 575x287x78 мм

					МД 162.БТ-5123. 00.00 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		37

Р-20, Р-24, Р-28, Р-52, Р-66, Р-70, Р-74, Р-79	Реактор-змішувач	8	Вакуумний хімічний реактор, 75 л, виробництва «ХімМікс», Україна. Матеріал – сталь AISI 304. Оснащений теплоізолююваною сорочкою нагріву, приводом обертання, вузлом ущільнення, валом з рамною мішалкою і щитом управління. Ємність реактора має герметичні вузли завантаження та вивантаження. Діапазон робочих температур від +20 °С до +160 °С.
СК-55	Сушильна камера	1	Шафа сушильна СП-730, діапазон температур від 5 °С до 300 °С. Виробництво ТВО Укроргсинтез. Розміри полиць 899×549 мм. Матеріал полиць AISI 304. Облананий двома вентиляторами. Потужність 380 В, 50 Гц.
Ав-30, Ав-31, Ав-50	Автоклав	3	Автоклав горизонтальний автоматичний Sterident 20. Діапазон робочих температур 121-134 °С. Об'єм камери 20 л, Максимальне навантаження 10 кг. Габарити, мм – 465×725×425. Потужність 2,6 кВт. Вага 66 кг.

					МД 162.БТ-5123. 00.00 ПЗ	Арк.
						38
Зм.	Арк.	№ докцм.	Підпис	Дата		

Ін-58	Інокулятор	1	<p>Пілотний ферментер, загальний об'єм 60 л, виробництва BioTechno Group, РФ. Матеріал – сталь 316L, 304L. Оснащений теплоізолюваною сорочкою нагріву, кільцевим барботером, верхнім приводом з одинарним торцевим ущільненням. Забезпечений асептичний відбір проб, СІР, стерильні фільтри для газів і рідин, аерація повітрям і / або газовою сумішшю, механічне піногасіння, стандартні датчики: температура, тиск, рН, рО₂, піна, додаткові датчики: оптична щільність (каламутність), ОВП (Redox), вага, витратоміри для газів і рідин тощо. Тиск до 3,0 кг/см³ (ємність), 4,0 кг/см³ (сорочка), температура до 143 °С (ємність), 151 °С (сорочка). Перемішування: швидкість 40-500 об/хв (управління інвертором), регульована лопатева мішалка, три приварені перегородки.</p>
-------	------------	---	---

					МД 162.БТ-5123. 00.00 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докцм.	Підпис	Дата		39

НФ-64	Закритий нутч-фільтр	1	Нутч-фільтр виробництва «Русредмет», РФ. Марка НФП-1,0-1200 ПП. Проща поверхні фільтрування 1,0 м ³ . Приймач суспензії 400 л, приймач фільтрата 700 л. Габаритні розміри, мм 1250x1360x1415. Вага 200 кг.
НФ-67		1	Нутч-фільтр виробництва «Русредмет», РФ. Марка НФП-0,25-630 ПП. Проща поверхні фільтрування 0,25 м ³ . Приймач суспензії 100 л, приймач фільтрата 140 л. Габаритні розміри, мм 740x840x1150. Вага 60 кг.
Ц-64, Ц-71	Центрифуга	2	Універсальна фільтруюча центрифуга Rousselet Robatel RC40. Діаметр барабану 400 мм, висота 250 мм. Максимальне завантаження 20 л (25 кг). Максимальні оберти – 3000 об/хв. ($g = 4500$). Розділення систем тверде-рідина, рідина-рідина, тверде-рідина-рідина. Забезпечений процес СІР.
Іо-76, Іо-77	Іонообмінна колона	2	Промислова система Prochrom Varicol, тип 6-600, діаметр колони 600 мм. Продуктивність 15 л/год.
Сш-78	Сушарка сублімаційна	1	Пілотна ліофільна сушарка LP10R, виробництва iLShin (Корея). Габарити, мм: 1490x910x1650. Габарити піддонів 400 (Ш)×500 (Г)×40 (В) мм. Параметри живлення 220 В, 50/60 Гц, 3-фаз, 10кВт. Температурний режим від -45 до +75 °С.

					МД 162.БТ-5123. 00.00 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ док.м.	Підпис	Дата		41

Ал-83	Автоматична лінія для виробництва тест-смужок	1	Автоматизована лінія виробництва Xiamen Jeari Automation Equipment Co., Ltd., КНР, модель WM-401 (modified). Подача рідини шляхом наплення або печаті (встановлений п'єзоелектричний керамічний клапан). Точність подачі рідини 0.5 нг/л для однієї смужки. Похибка координування $\pm 0,02$, похибка наплення 0,5%. Продуктивність до 120 тест-смужок/сек. Тиск повітря для сушки 0,6-0,7 МПа. Вага ≥ 160 кг. Потужність AC220V / 50, 60HZ. Забезпечує нанесення рідини, сушку, різку заготовок, перевірку фізичних показників.
МН-86	Машина для нанесення написів	1	Автоматизована упаковочна лінія Christ Packaging Line. Продуктивність до 15 контейнерів/сек. Габаритні розміри, мм 1250x1360x5450. Вага 200 кг. Параметри живлення 220 В, 50/60 Гц, 3-фаз, 10кВт. Забезпечує фасування смужок у контейнери, нанесення етикеток на контейнери, пакування контейнерів у індивідуальні коробки, фасування коробок у групову тару.
ПК-87	Апарат для пакування в коробки	1	
ОК-88	Апарат для оклеювання коробок стрічками	1	
ПЯ-89	Апарат для пакування в ящики	1	

Апаратурна схема виробництва наведена на кресленнях № 3 та № 4 формату А1.

3.7 Характеристика сировини, матеріалів та напівпродуктів

Відомості про сировину й матеріали, що використовуються при виробництві продукту наведено в табл. 3.4.

					МД 162.БТ-5123. 00.00 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докцм.	Підпис	Дата		42

Характеристика сировини та матеріалів

Найменування	Категорія і номер НТД	Сорт, артикул тощо	Показник НТД обов'язкові для перевірки	Функціональне призначення
1	2	3	4	5
<u>Основна сировина</u>				
Солодовий екстракт	Sigma-Aldrich кат. № 70167	Sigma-Aldrich кат. № 70167	Згідно документації виробника	Компонент ПС
Глюкоза	ДСТУ 4464:2005	кристалічна гідратна	Згідно ДСТУ	Компонент ПС
Пептон сухий	ГОСТ 13805-76	сухий для бактеріологічних цілей	Масова доля пептону не менше 70%; вологість не більше 7%; масова доля загального азоту не менше 14%; рН 6,5-7,5	Компонент ПС
Агар мікробіологічний	ГОСТ 17206-96	мікробіологічний	Масова доля золи (в перерахунку на суху речовину) не менше 2%; не допускається присутність йоду і важких металів	Компонент ПС
Вода дистильована	ГОСТ 2874-82	—	Згідно вимогам ГОСТу	Компонент ПС, для екстракції ферменту

Натрій азотнокислий	ГОСТ 4168-79	чистий	Масова доля натрію азотнокислого не менше 99,8%	Компонент ПС
Калій фосфорнокислий	ГОСТ 4198-75	однозаміщений, чистий	Масова доля калію фосфорнокислого не менше 98,0%	Компонент ПС
Залізо (II) сірчаноокисле семиводне	ГОСТ 4148-78	чисте	Згідно вимогам ГОСТу	Компонент ПС
Магній сірчаноокислий семиводний	ГОСТ 4523-77	чистий	Згідно вимогам ГОСТу	Компонент ПС
Кальцій вуглекислий	ГОСТ 4530-76	чистий	Масова доля кальцію вуглекислого не менше 99%	Компонент ПС
Вода питна	ДСТУ 7525:2014	—	Згідно вимогам ДСТУ	Компонент ПС
Пероксидаза	ДСТУ 4457:2005	ДИА-М кат. № 3328.0000 5	Згідно вимогам ДСТУ, документації виробника	Компонент кінцевого продукту
Тетраметилбензидин	Sigma-Aldrich кат. № T0440	Sigma-Aldrich кат. № T0440	Згідно документації виробника	Компонент кінцевого продукту
Гліцерин	ГОСТ 6824-96	—	Вміст зважених часток н/б 0,5%, вміст води н/б 1,0%, стерильність	Для іммобілізації ферментів

Глутаральдегід	BASF кат. № 50434679	BASF кат. № 50434679	Масова доля глутарового альдегіду не менше 50%	Для іммобілізації ферментів
<u>Допоміжна сировина</u>				
Гембар	ТУУ21643506.002-01	—	Прозора безбарвна рідина з опалесценцією	Дезинфікуючий засіб
Етиловий спирт	ГОСТ 18300-87	перший	Об'ємна доля етилового спирту, не менше 96%	Дезинфікуючий засіб
Миючий засіб «SUPRA»	ТУ У 20-4-38279634-002.2014	—	Згідно ТУ	Миючий та дезинфікуючий засіб
Тест-культури	—	—	Згідно виробничого регламенту	Для визначення ефективності стерилізації і дезінфекції, для оцінки ростових властивостей середовища
Сульфат амонію	ДСТУ ГОСТ 30333:2009	—	Згідно вимогам ДСТУ	Для осадження ферменту
Фосфатний буфер	Amresco кат. № Am-E404-100	кат. № Am-E404-100	Відповідність до зразків	Для ресуспендування ферменту
Буфер соляний	Applichem, кат. № A0964,9010	кат. № A0964,9010	Відповідність до зразків	Буфер для іонообмінної хроматографії
<u>Матеріали</u>				
Етикетки	Виробничий регламент	—	Відповідність зразкам	Для маркування

Зм.	Арк.	№ докцм.	Підпис	Дата

МД 162.БТ-5123. 00.00 ПЗ

Арк.

45

Інструкції	Виробничий регламент	—	Відповідність зразкам	Для маркування
Коробки	Виробничий регламент	—	Відповідність зразкам	Упаковка
Електроди для рН-метра	ГОСТ 4277-77	—	Зовнішній вигляд, цілісність	Для вимірювання рН
Іонообмінна смола Q-Sepharose FF	Сутива кат. № GE17-0510-01	кат. № GE17-0510-01	Відповідність зразкам	Для іонообмінної хроматографії
Колби Ерленмейера	ГОСТ 25336-82	—	Згідно вимогам ГОСТу	Для культивування, в якості лабораторного посуду
Лійки скляні	ГОСТ 25336-82	—	Згідно вимогам ГОСТу	Лабораторний посуд
Мірні колби	ГОСТ 25336-82	—	Згідно вимогам ГОСТу	Лабораторний посуд
Мірні стакани	ГОСТ 25336-82	—	Згідно вимогам ГОСТу	Лабораторний посуд
Мірні циліндри	ГОСТ 25336-82	—	Згідно вимогам ГОСТу	Лабораторний посуд
Пробірки	ГОСТ 25336-82	—	Згідно вимогам ГОСТу	Лабораторний посуд
Чашки Петрі	ГОСТ 25336-82	—	Згідно вимогам ГОСТу	Лабораторний посуд
Рукавички гумові	ГОСТ 20010-74	—	Зовнішній вигляд, цілісність	Для персоналу
Спецодяг	ДСТУ 64-9-2000	—	Зовнішній вигляд, цілісність	Для персоналу

Пластикові смужки	—	—	Зовнішній вигляд, цілісність	Основа кінцевого виробу
Контейнери пластмасові для лікарських засобів та харчових добавок	ТУ У 23455985-001-97	—	Зовнішній вигляд, цілісність	Первинна упаковка
<u>Напівпродукти</u>				
Посівний матеріал	—	—	Згідно виробничого регламенту	Матеріал для засіву інокулятора
Глюкозооксидаза	—	ліофілізована	Згідно виробничого регламенту	Компонент кінцевого продукту

3.8 Опис стадій технологічного процесу

ДР 1. Санітарна підготовка виробництва

Метою даного етапу є проведення робіт санітарно-гігієнічного призначення. Основними цілями санітарної підготовки виробництва є мінімізація ризику контамінації сировини, напівпродуктів, продукції. Роботи санітарно-гігієнічного призначення також впливають на створення безпечних умов праці і охорону здоров'я виробничого персоналу.

ДР 1.1. Підготовка води

У виробництві тест-смужок використовується вода наступних категорій:

- Питна вода – застосовується для приготування миючих засобів, мийки приміщень, первинної мийки обладнання і тари. Отримується з водопровідної іонообмінним шляхом.
- Дистильована вода – застосовується для кінцевого промивання обладнання, тари. Отримується шляхом дистиляції та іонного обміну з питної води.

					МД 162.БТ-5123. 00.00 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докцм.	Підпис	Дата		47

ДР 1.1.1. Підготовка пом'якшеної води

Водопровідна вода проходить через очисну установку, яка містить вугільний фільтр (Ф-2), та чотири фільтри пом'якшення та очистки води (Ф-3, Ф-5, Ф-6, Ф-7), всередині яких засипані іонообмінні смоли. На подальші етапи робіт пом'якшена вода подається через трубопровід, зберігається у збірнику з циркуляцією (Зб-8).

ДР 1.1.2. Дистиляція води

Для виготовлення дистильованої води застосовується вода пом'якшена. Дистиляція відбувається у дистиляційній установці, яка містить випарювач (Вп-14) та конденсатор (К-15). Вода поступає у випарювач, де доводиться до кипіння. Водяний пар переходить у конденсатор, звідки при охолодженні направляється у збірник з циркуляцією (Зб-16).

ДР 1.2. Підготовка дезінфікуючих розчинів

Метою даного етапу є приготування розчинів, призначених для використання їх для санітарної обробки (миття та дезінфекції) приміщень, технологічного обладнання, комунікацій, тари, інвентарю а також антисептичної обробки рук.

Дезінфікуючі розчини і миючі засоби, які застосовуються у чистих приміщеннях, мають бути стерильними. Приготування розчинів здійснюється компетентним персоналом у відповідності до розроблених інструкцій і протоколів. Дезінфектанти і миючі розчини мають зберігатися протягом визначеного терміну в попередньо очищених контейнерах. Не допускається повторне застосування відпрацьованих розчинів. Відпрацьовані та невикористані розчини підлягають утилізації як потенційно контаміновані відходи.

ДР 1.2.1. Приготування розчину миючого засобу

Миючі засоби повинні виявляти високу миючу здатність, забезпечувати повне змочування поверхонь з різних конструкційних матеріалів, забезпечувати повне видалення механічного, білкового та жирового забруднення шляхом їх диспергування та емульгування, виявляти низьку агресивність щодо конструкційних матеріалів тощо [37].

					<i>МД 162.БТ-5123. 00.00 ПЗ</i>	<i>Арк.</i>
<i>Зм.</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ док.м.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>		48

Вибір миючого засобу заснований на оцінці також таких факторів, як токсичність, активність по відношенню до мікроорганізмів, ефективність проти різних типів забруднень, легкість змивання та стабільність при зберіганні [38].

В якості миючого засобу у виробництві застосовується лужний миючий засіб, що виявляє антибактеріальну активність «SUPRA» концентрацією 1%. Приготування полягає у розведенні концентрату відповідним об'ємом питної води з температурою 40 ± 5 °С у реакторі-змішувачі (Р-20). При застосуванні миючого засобу обов'язкове застосування засобів індивідуального захисту (рукавичок, масок або респіраторів, окулярів).

ДР 1.2.2. Приготування розчину етилового спирту

Процедура використання дезінфектанту має бути детально описана у відповідних інструкціях для персоналу. У якості дезінфектанту для рук персоналу з огляду на універсальність і доступність застосовується водний розчин спирту етилового.

Оптимальним для антисептичної обробки рук персоналу є 76% розчин етилового спирту. Розчин готують у реакторі-змішувачі (Р-24), розводячи 96% спирт очищеною водою. Для приготування 1 л спирту етилового (об'ємна частка 76%) потрібно відміряти 800 мл спирту етилового (об'ємна частка 96%) та 221 мл води очищеної.

ДР 1.2.3. Приготування розчину Гембар

Для приготування робочого розчину використовують питну воду температурою 40 ± 5 °С, приготування розчину здійснюють у реакторі-змішувачі (Р-28). Розчин з концентрацією 1% застосовують для дезінфекції обладнання та інструментів.

ДР 1.3. Підготовка виробничих приміщень

Санітарна підготовка приміщень реалізується виконанням робіт по щоденному позмінному та генеральному прибиранні виробничих приміщень. Виробничі приміщення обробляються мийними, дезінфікуючими та мийно-дезінфекційними засобами для зниження рівня забруднення та мікробної контамінації.

					<i>МД 162.БТ-5123. 00.00 ПЗ</i>	<i>Арк.</i>
<i>Зм.</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ докцм.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>		49

ДР 1.3.1. Щоденне прибирання

Прибирання проводиться щоденно в кінці зміни. Обробка приміщень здійснюється миючим розчином від ДР 1.2.1. На початку наступної зміни здійснюють дезінфекцію обладнання розчином від ДР 1.2.3 та опромінення приміщення бактерицидними лампами (кварцування).

ДР 1.3.2. Генеральне прибирання

Генеральне прибирання проводиться раз на тиждень після закінчення зміни і включає в себе миття всіх поверхонь. Обробка здійснюється розчинами від ДР 1.2, по завершенню прибирання здійснюється кварцування приміщень.

ДР 1.4. Підготовка обладнання, інвентарю та комунікацій

Підготовка обладнання забезпечує необхідний рівень чистоти та асептичності у ході виробничого процесу.

ДР 1.4.1. Мийка та дезінфекція обладнання

Спочатку обладнання миють питною водою (гарячою) упродовж кількох хвилин. Частини обладнання, що безпосередньо контактують з продуктами, необхідно мити в розчині миючого засобу від ДР 1.2 при температурі 40-50⁰С та ополіскувати кілька разів водою очищеною з обов'язковим контролем якості відмивки. Залишок миючого засобу може суттєво знизити якість дезінфекції через зміну рН та реакцію з дезінфектантом, тому проміжне ополіскування є обов'язковим кроком. Після миття використовують дезінфектант від ДР 1.2. З'ємні частини обладнання попередньо розбирають і дезінфікують у автоклаві (Ав-30) окремо. Зовнішні поверхні обладнання обробляють як і виробничі приміщення.

ДР 1.4.2. Ополіскування обладнання

Проводиться ретельне ополіскування демінералізованою (дистильованою) водою.

ДР 1.4.3. Стерилізація обладнання

Основним визнаним стерилізаційним прийомом є обробка обладнання та комунікацій насиченою водяною парою. Безпосередньо перед стерилізацією апаратуру і комунікації промивають водою температурою 100⁰С. Перевіряють

					МД 162.БТ-5123. 00.00 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докцм.	Підпис	Дата		50

герметичність вузлів. Апаратуру стерилізують введенням перегрітої пари при температурі 121°C, тиску 0,2 МПа, протягом однієї години. Обрана конструкція ферментеру має окремі виводи для миття та стерилізації. Застосовуються також автоматизовані програми очистки та стерилізації.

ДР 1.5. Підготовка робочого персоналу та одягу

Персонал є один з основних джерел контамінації у виробничому процесі, тому підготовка персоналу є важливою складовою частиною санітарної підготовки.

ДР 1.5.1. Підготовка технологічного одягу

Технологічний одяг призначений для захисту матеріалів, напівпродуктів або готової продукції від контамінації мікроорганізмами або частками, які виділяються персоналом. Комплект одягу повинен відповідати вимогам ДСТУ 64-9-2000 "Належна виробнича практика. Комплект одягу для працюючих у чистих приміщеннях виробництв медичної та мікробіологічної промисловості. Види і комплектність».

Для виробничих приміщень застосовуються одноразові комплекти захисного одягу і засобів індивідуального захисту, включаючи халат, рукавички гумові, шапочку, опціонально окуляри, маску, бахіли. Для постійних робітників використовується змінне взуття, яке регулярно обробляється дезінфікуючими розчинами.

Комплект для тимчасових виробників та робітників складських приміщень може бути багаторазового використання (за умови повторної стерилізації після кожного використання). В такий комплект технологічного одягу входять комбінезон або куртка і брюки, шапочка.

Підготовка комплекту одягу складається з огляду перед пранням, прання, сушіння, термічної обробки (в паровому стерилізаторі або прасування) одягу; миття, сушіння та термічної обробки рукавичок; вологої і дезінфекційної обробки взуття. Сушку та прасування одягу, і сушку рукавичок рекомендується проводити в спеціально призначеному ізольованому приміщенні, клас чистоти якого повинен

					<i>МД 162.БТ-5123. 00.00 ПЗ</i>	<i>Арк.</i>
<i>Зм.</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ докцм.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>		51

бути не нижче класу чистоти виробничого приміщення, в якому вони будуть використовуватися [37].

Стерилізацію чистого одягу здійснюють в автоклаві (Ав-31) при $t=121^{\circ}\text{C}$, $P=0,2$ МПа протягом години.

ДР 1.5.2. Навчання персоналу та періодична перевірка знань

Персонал повинен регулярно проходити інструктажі та навчання відповідно до їх кваліфікації. Необхідне ознайомлення персоналу з посадовими інструкціями, інструкціями з техніки безпеки, методиками і процедурами діючої системи менеджменту якості тощо.

Персонал, який не пройшов навчання, не має права знаходження в виробничій зоні або в зоні контролю. Працівники чистих приміщень повинні бути ознайомлені з правилами поведінки у чистих приміщеннях.

ДР 1.5.3. Санітарна підготовка персоналу

При влаштуванні на роботу персонал повинен пройти медичний огляд згідно з наказом Міністерства охорони здоров'я України № 45 від 31.03.94 року «Про затвердження Положення про порядок проведення медичних оглядів працівників різних категорій.» Персонал, задіяний безпосередньо у виробництві, включаючи тимчасових робочих, повинен регулярно проходити медичні огляди. До роботи не допускається персонал з інфекційними захворюваннями, відкритими ранами на шкірі і носії патогенної мікрофлори, поки їх стан здоров'я не нормалізується [37].

Для забезпечення ефективності виконання санітарно-гігієнічних заходів (правильної дезінфекції рук тощо) необхідне ознайомлення персоналу з відповідними інструкціями, контроль їх виконання, поступова розробка і введення у виробництво СОП (стандартних операційних процедур).

ДР 2. Підготовка повітря

Підготовку повітря здійснюють для його очистки від контамінантів і доведення показників до відповідних кожному класу приміщень. За ДСТУ ISO 14644-1:2009 виділені дев'ять класів чистоти, інформація про них наведена у табл. 3.5.

					<i>МД 162.БТ-5123. 00.00 ПЗ</i>	<i>Арк.</i>
<i>Зм.</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ докцм.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>		52

Класи чистоти за ДСТУ ISO 14644-1:2009 [39]

Класи чистоти	Гранично припустиме число часток в 1 м ³ повітря з розмірами, рівними або не перевищують, мкм					
	0,1	0,2	0,3	0,5	1	5
1 ISO	10	2				
2 ISO	100	24	10			
3 ISO	1 000	237	102	35		
4 ISO	10 000	2 370	1020	352	83	
5 ISO	100 000	23 700	10200	3520	832	
6 ISO	1 000 000	237 000	102000	35200	8320	293
7 ISO				352000	83200	2930
8 ISO				3520000	832000	29300
9 ISO				35200000	8320000	293000

Клас 9 ISO відповідає звичайним офісним, виробничим та інших приміщенням, які не є чистими приміщеннями.

Відповідність класу чистоти ISO перевіряється за методикою випробувань за ДСТУ ISO 14644-1:2009 з подальшим оформленням результатів і умов випробувань. Перевірка відповідності в побудованому або оснащеному станах виконується періодично з урахуванням оцінки ризиків для даної галузі застосування, як правило, один раз на рік. Вимоги до поточного контролю (моніторингу) чистих приміщень, чистих зон і ізолюючих пристроїв встановлені ДСТУ ISO 14644-2:2009.

У приміщеннях також здійснюється контроль біозабруднень відповідно до ДСТУ ISO 14698-1:2008 (ISO 14698-1:2003, IDT) та ДСТУ ISO 14698-2:2009 (ISO 14698-2:2003, IDT).

ДР 2.1. Підготовка вентиляційного повітря

ДР 2.1.1. Забір повітря з атмосфери

					МД 162.БТ-5123. 00.00 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		53

Забір повітря здійснюють за допомогою труб з повітряних шарів з найменшою кількістю пилу (на висоті 6-15 м). Повітря з атмосфери забирають повітрозбірником (Пз-32), а потім транспортують через забірну шахту.

ДР 2.1.2. Видалення механічних забруднень

Для видалення крупних механічних забруднень і захисту подальших фільтрів від пошкодження використовують сітки та фільтри попередньої очистки (Ф-33). Вони встановлюються перед компресором. Дані фільтри дозволяють видалити частки розміром більше 5 мкм. Таке очищення дозволяє позбутися пилу, крапель вологи та частково мікроорганізмів. Ефективність очистки становить 60%.

ДР 2.1.3. Компресування повітря

Повітря, очищене від механічних часток пилу стискають і направляють у систему повітропостачання. Нагнітання повітря здійснюється за допомогою компресора (турбокомпресора) (Кп-34). Компресор здійснює адіабатне стискання повітря до тиску 0,2 МПа.

ДР 2.1.4. Охолодження повітря

В наслідок компресування повітря може розігріватися до 120 – 200 °С. Для охолодження повітря при виході з компресора встановлений теплообмінник трубчастого типу (То-35). Здійснюють охолодження до 20-25°С.

ДР 2.1.5. Стабілізація термодинамічних показників повітря

Для стабілізації потоку повітря його направляють у ресивер (Рс-36).

ДР 2.1.6. Очистка на головному фільтрі

Від ресивера повітря на головний фільтр подається за допомогою вентилятора через конденсатор для уловлення крапельної вологи (конденсату). За конструкцією головний фільтр представляє собою герметичний посуд з решіткою. На решітку вкладається шар скловати, шар гранульованого активованого вугілля (до 1 см), другий шар скловати. Перед роботою фільтр стерилізують гострою парою і підтримують тиск в фільтрі на рівні 0,12 – 0,15 кПа.

Ступінь очистки повітря після головного фільтра в межах 85%. Після головного фільтру повітря можна подавати у приміщення класу 8 ISO.

					<i>МД 162.БТ-5123. 00.00 ПЗ</i>	<i>Арк.</i>
<i>Зм.</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ докцм.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>		54

ДР 2.1.7. Очистка на фільтрах тонкої очистки

Фільтри тонкої очистки необхідні для уловлювання основної маси біологічних забруднень, пропущених іншими фільтрами.

Застосовуються послідовно розміщені фільтри НЕРА. Ці фільтри призначені для тонкої очистки, тобто стерилізації повітря зі ступеню очистки від мікроорганізмів та їх спор 99,9999999%.

ДР 2.2. Підготовка стерильного аераційного повітря

Відбувається очистка повітря від дрібних частинок пилу та мікроорганізмів, які попали в систему після проходження фільтрів попередньої очистки та компресора [40].

ДР 2.2.1 Механічна очистка повітря

Для попереднього очищення повітря використовують вугільні фільтри, в яких з повітря вилучають механічні частки розміром більше 5 мкм. Для досягнення необхідних температурних характеристик після фільтру грубої очистки встановлені компресор, теплообмінник, ресивер.

ДР 2.2.2 Очистка на головному фільтрі

Повітря подається на головний фільтр, після якого проходить очищення на змінному фільтрі.

ДР 2.2.3. Очищення на індивідуальному фільтрі

Повітря проходить очистку на індивідуальному фільтрі. Ефективність очистки 99,9999 %.

ДР 3. Вхідний контроль сировини

Сировина від постачальників направляється в карантинну зону. Застосування сировини у виробництві дозволяється лише після проходження вхідного контролю. Здійснюється щонайменше візуальний контроль (у випадку значних обсягів сировини – вибірковий), оцінка паспортів та сертифікатів аналізу якості від постачальників. У відповідності до вимог до кожних окремих типів сировини може здійснюватися періодичний вибірковий контроль показників у лабораторії. Після проходження контролю сировина переміщується у відповідні промарковані зони, контейнери на складі. Кожна партія сировини має бути

					<i>МД 162.БТ-5123. 00.00 ПЗ</i>	<i>Арк.</i>
<i>Зм.</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ докцм.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>		55

ідентифікована для подальшої простежуваності у протоколах виробництва. У випадку браку сировина невідповідної якості (а також напівпродукти і кінцеві продукти невідповідної якості) переноситься у окрему промарковану зону складу, подальші дії з такою сировиною визначені процедурами і методиками по управлінню невідповідною продукцією.

ДР 4. Приготування та стерилізація поживних середовищ

Способи приготування поживних середовищ залежать від складу компонентів, типу поживного середовища. Для отримання робочих культур застосовується щільне поживне середовище, для подальшого приготування інокуляту – рідке ПС на основі глюкози.

ДР 4.1. Приготування ПС для отримання робочої культури

ДР 4.1.1. Приготування композиції компонентів ПС

Для отримання субкультури з закупленої музейної культури використовують солодовий агар за Блекслі, склад якого наведений у табл. 3.6.

Таблиця 3.6

Склад поживного середовища солодовий агар за Блекслі

Компонент	Вміст
Солодовий екстракт	20 г/л
Глюкоза	20 г/л
Пептон	1 г/л
Агар	20 г/л
Вода дистильована	1 л

Середовище готують у стерильних колбах при температурі 50°C.

ДР 4.1.2. Стерилізація ПС

Стерилізація здійснюється у автоклаві (Ав-50) при $P=0,05$ МПА $t = 121$ °С протягом 15 хв. Повна стерилізація може бути гарантована тільки у випадку, якщо з камери автоклава повністю видалені повітря і газу. Це досягається шляхом пропускання великого обсягу вільного пара через автоклав, наприклад, з відкритим клапаном на початку фази нагрівання. Якщо не все повітря витіснене, з'являються «холодні плями» (недостатній прогрів) і «гарячі плями» (перегрів).

					<i>МД 162.БТ-5123. 00.00 ПЗ</i>	<i>Арк.</i>
<i>Зм.</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ докцм.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>		56

ДР 4.1.3. Розлив ПС

Простерилізовані колби с середовищем охолоджують при кімнатній температурі до приблизно 50 °С. Розлив здійснюють в асептичних умовах в стерильні просушені чашки Петрі та пробірки, по 15-20 мл, після чого встановлюють пробірки на скошену підставку для отримання скошеного агару. Чашки Петрі, закриті кришками, охолоджують на рівній поверхні. Кожну партію середовища вибірково перевіряють на ростову здатність та стерильність.

ДР 4.2. Приготування основного ПС

ДР 4.2.1. Приготування композиції компонентів ПС

Для приготування інокуляту та промислового біосинтезу глюкозооксидази клітинами *Aspergillus niger* van Tieghem ATCC 16888 використовують середовище, склад якого наведений у таблиці 3.7.

Таблиця 3.7

Склад поживного середовища

Компонент	Вміст
Глюкоза	80 г/л
Пептон	3 г/л
NaNO ₃	5 г/л
KH ₂ PO ₄	1 г/л
FeSO ₄ ·7H ₂ O	0,01 г/л
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0,5 г/л
CaCO ₃	35 г/л
Вода питна	1 л

Змішування компонентів живильного середовища здійснюють в реакторі-змішувачі з сорочкою (Р-52) номінальним об'ємом 1 м³ з турбінною мішалкою (коефіцієнт заповнення – 0,75) до утворення гомогенної суспензії при температурі 40°С.

ДР 4.2.2. Стерилізація ПС

Стерилізацію здійснюють безпосередньо у реакторі-змішувачі. Для стерилізації використовують періодичний процес стерилізації насиченою паром. Процес проводять при P= 0,2 МПа, τ= 55 хв, t = 121° С.

					МД 162.БТ-5123. 00.00 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докцм.	Підпис	Дата		57

ДР 4.2.3. Охолодження ПС

Охолодження здійснюють до температури 30 °С у реакторі-змішувачі, в якості теплоносія використовують холодну воду. Значення рН повного середовища доводять до 5,5-6,0 додаванням стерильного 28% розчину гідроксиду амонію. Кожну партію середовища вибірково перевіряють на ростову здатність та стерильність.

ДР 5. Підготовка тари

Контейнери для тест-смужок повинні бути цілими, герметичними, відповідати зазначеним у НТД розмірам і формі. Перевірка даних параметрів здійснюється на стадії ДР 3. Вхідний контроль сировини. Задля забезпечення чистоти кінцевого продукту необхідна промивка та сушіння контейнерів.

ДР 5.1. Мийка контейнерів

Мийку контейнерів здійснюють в мийній машині (М-54) з миючим засобом протягом 10 хв.

ДР 5.2. Сушка контейнерів

Після ополіскування контейнери сушать у сушильній шафі (Ск-55) при + 50 °С 1 годину.

*ТП 6. Підготовка посівного матеріалу *Aspergillus niger**

Музейну культуру штаму-продуценту (*Aspergillus niger* van Tieghem ATCC 16888) отримують від виробника у ліофілізованому вигляді. Для отримання робочих культур проводять оживлення музейної культури на чашках Петрі, отриманий матеріал висіюють у пробірки зі скошеним агаром та зберігають при +2 - +8 °С до місяця. Для отримання інокуляту культуру з пробірок вирощують послідовно у колбах Ерленмейера та інокуляторі глибинним способом.

ТП 6.1. Отримання робочої культури

Музейна культура зберігається при від +2°С до +8°С у ліофілізованому стані. Для оживлення культури вона розбавляється стерильною дистильованою водою (0,5-1,0 мл), переноситься у пробірку з водою (5-6 мл) і витримується при +25 °С протягом двох годин. Здійснюють засів чашок Петрі від ДР 4.1.3 отриманою суспензією, культивують в термостаті при +24°С - +26°С протягом 5

					<i>МД 162.БТ-5123. 00.00 ПЗ</i>	<i>Арк.</i>
<i>Зм.</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ докцм.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>		58

діб. Отриману культуру розсівають на пробірки зі скошеним агаром від ДР 4.1.3 (кількість пробірок – з урахуванням виробничих потреб на поточний місяць). Пробірки утримують в термостаті при +24°C - +26°C протягом 4-5 діб. В подальшому зберігання невикористаних пробірок з робочою культурою дозволяється при +2 - +8 °С до місяця.

ТП 6.2. Вирощування культури у колбах

Культуру вносять у колби Ерленмейера на 125 мл з 50 мл середовища від ДР 4.2.3. Культуру інкубують в орбітальному струшувачі при 220 об/хв, при температурі $t = 30\text{ }^{\circ}\text{C}$ протягом 12 год.

ТП 6.3. Культивування в інокуляторі

Інокулят у кількості 50 мл переміщують в інокулятор – біореактор (Ін-58) об'ємом 0,5 м³, що містить основне поживне середовище. Культивування здійснюють протягом 12 год при рН=5,5-6,0, температурі $t = 30\text{ }^{\circ}\text{C}$, $D_{O_2} = 30\%$

ТП 7. Промисловий біосинтез

Ферментер (Фр-61) інокують 5% посівного матеріалу. На початку ферментації встановлюють такі параметри: рН=5,5, $t = 30\text{ }^{\circ}\text{C}$ (+/- 2 °С), перемішування 120-150 об / хв., $D_{O_2} = 30\%$. Культивування проводять в умовах автоматичного контролю температури, рівня рН, діапазону розчиненого кисню. Культивування триває 36 год (+/- 2 год). Кінцева концентрація біомаси (сухої) – 18 г/л. Очікувана активність ферменту після етапів виділення і очистки 300 од/мг.

ТП 8. Сепарація біомаси

Основна маса ферменту накопичується у клітинах продуценту, для його подальшого виділення є необхідною сепарація біомаси. Для цього здійснюють фільтрацію з використанням закритого нутч-фільтра (НФ-64) при тиску 93 КПа.

ТП 9. Дезінтеграція клітин

З метою вивільнення ензиму і полегшення його подальшого виділення здійснюють дезінтеграцію клітин. До біомаси додають дистильовану воду в співвідношенні 1:1. Отриману масу дезінтегрують механічно (3000 об / хв) при 4 °С протягом 15 хв у камері (Ц-65), що містить скляні кульки діаметром 0,5 мм у співвідношенні 1:1 [41]. Отриману суспензію відстоюють протягом 1-2 год у

					МД 162.БТ-5123. 00.00 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докцм.	Підпис	Дата		59

реакторі з періодичним перемішуванням (Р-66). По завершенню здійснюють фільтрацію з використанням закритого нутч-фільтра (НФ-67) при тиску 93 КПа.

ТП 10. Виділення глюкозооксидази

Виділення здійснюють у реакторі-змішувачі (Р-70) осадженням сульфатом амонію при насиченні 60-85%. протягом 2 годин [42]. По завершенню здійснюють центрифугування (Ц-72) протягом 30 хвилин при 3000 об / хв. Осад ферменту ресуспендують в 20 мМ фосфатному буфері у реакторі-змішувачі (Р-74).

ТП 11. Очистка глюкозооксидази

Очистка необхідна для позбавлення від супутніх речовин (залишків солей, каталази тощо). Розчин пропускають через катіонообмінну колону типу Q-Sepharose FF, колонку для хроматографії промивають натрій-фосфатним буфером. Елюція виконується за рахунок збільшення концентрації солі буфера елюції від 0,1 до 1 М NaCl, задля відділення основних сторонніх речовин. Чистота отриманого ферменту знаходиться в межах 90%. Очистку здійснюють на автоматизованій установці, яка містить дві послідовно розміщені іонообмінні колонки (Іо-76, Іо-77).

ТП 12. Сушіння глюкозооксидази

Суспензію ферменту переносять в піддони установки для ліофільної сушарки (Сш-78). Тривалість процесу в середньому складає 14-16 год, при $t = -30-15^{\circ}\text{C}$. кінцева вологість кристалів – 1%.

ТП 13. Стандартизація глюкозооксидази

Активність ферменту після етапів очистки і сушки має становити 300 од/мг. Активність глюкозооксидази визначається методом зв'язаної ферментативної реакції, в якій глюкозооксидаза окислює D-глюкозу, в результаті чого утворюється пероксид водню (H_2O_2), який реагує з пробою, що містить пероксидазу та хромоген, утворюючи колориметричний (570 нм) продукт, пропорційний присутній глюкозооксидазі. Одна одиниця глюкозооксидазної активності визначається як кількість ферменту, який утворює 1,0 мкмоль H_2O_2 за хвилину при 37 °С. За умови значного перевищення чи пониження активності (більше +/- 30 од/мг) готовий фермент доводять до необхідного значення шляхом

					<i>МД 162.БТ-5123. 00.00 ПЗ</i>	<i>Арк.</i>
<i>Зм.</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ докцм.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>		60

змішування відповідних партій. Висушений стандартизований фермент зберігається на складі.

ТП 14. Збірка тест-смужки

Заготовками для тест-смужок є листи пластика розміром 700 x 70 мм з відповідними відмітками для подальшого розрізання на смужки. Задля збереження функціональності ферментів є необхідним проведення іммобілізації цільових біомолекул. Обробка заготовок тест-смужок можлива як і з застосуванням окремих апаратів (лінії для наплення, сушильних шаф тощо), так і на автоматизованих лініях. Застосування автоматизованих ліній (Ал-83) суттєво збільшує швидкість виробництва, при цьому зменшуючи витрати та кількість проміжних контрольних точок.

ТП 14.1. Приготування суміші реагентів

Для приготування «ферментної мембрани» у реакторі-змішувачі (Р-79) готують розчин, що містить 10% глюкозооксидази, 10% пероксидази, 20% гліцерину в 20 мМ фосфатному буфері, рН 7,0. Розчин змішують з 2% водним розчином глутаральдегіду у співвідношенні 1: 1.

ТП 14.2. Іммобілізація

Суміш розчину ферменту з глутаральдегідом наноситься шляхом наплення на зону на кінці пластикової смужки. Час іммобілізації становить 5 сек. Глутаральдегід утворює міцні ковалентні зв'язки між сполуками біоселективної мембрани [43-44].

ТП 14.3. Відмивання тест-смужок

Після іммобілізації тест-смужки автоматизовано промивають 20 мМ фосфатним буфером, щоб змити незв'язаний фермент і надлишок глутаральдегіду.

ТП 14.4. Сушіння тест-смужок

Сушіння здійснюють при температурі +40 °С в режимі конвекції протягом 5 сек.

ТП 14.5. Наплення барвника

					МД 162.БТ-5123. 00.00 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докцм.	Підпис	Дата		61

В якості хромогенної системи виступає барвник тетраметилбензидин (ТМБ). Барвник дозовано наносять на індикаторну зону шляхом напилення.

ТП 14.6. Сушіння тест-смужок

Сушіння здійснюють при температурі +40 °С в режимі конвекції протягом 5 сек.

ТП 14.7. Розрізання тест-смужок

Оброблені листи-заготовки розрізають на смужки розміром 7 x 70 мм.

ТП 15. Контроль якості продукції

По завершенню виробництва готова продукція направляється у карантинну зону до отримання результатів контролю якості. Процедура контролю якості готової продукції включає три послідовні етапи: відбір проб відповідно до вибірки; проведення досліджень; документування та видачу дозволів на реалізацію (оформлення паспорту якості партії).

ПМВ 16. Пакування і маркування

Готові тест-смужки розфасовують у контейнери по 10 штук. На контейнери наклеюють етикетку, пакують контейнер у коробку. Коробки комплектують відповідними інструкціями і етикетками та відвантажують на склад готової продукції.

ПВ 17. Переробка відходів

Переробці підлягають відходи, які не містять токсичних сполук, не контактували з біомасою продуцента (конденсат від підготовки повітря тощо). Такі відходи збираються в проміжний збірник, розводяться питною водою до допустимої концентрації і зливаються в каналізацію.

Проводять реактивацію і регенерацію можливих виробничих матеріалів: очистку і стерилізацію фільтрувальних матеріалів, регенерацію колонок для хроматографії. Відпрацьовані теплоносії направляються на рекуперацію тепла.

ЗВ 18. Знешкодження відходів

Знешкодженню підлягають виробничі стоки, повітря, некондиційні матеріали, напівпродукти, відбракований кінцевий продукт, залишки матеріалів.

					<i>МД 162.БТ-5123. 00.00 ПЗ</i>	<i>Арк.</i>
<i>Зм.</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ докцм.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>		62

Перед утилізацією рідкі відходи виробництва знешкоджуються шляхом розведення водопровідною водою і автоклавування даної суміші при 130°C протягом 2,5 годин. Знезараженню підлягають всі технологічні і господарчо-побутові стоки, тобто стоки після миття і дезінфекції приміщень і обладнання, робочі розчини миючих та дезінфікуючих засобів після їх застосування робітниками тощо. Першим етапом очистки є груба очистка (відділення механічних забруднень розміром більше 100 мкм за рахунок фільтрації і відстоювання), надалі здійснюють тонку очистку (фільтрацію через активоване вугілля, хлорування) [45]. Всі одноразові матеріали (рукавички тощо) відразу після використання поміщають у дезінфікуючий розчин.

Для знезараження відпрацьованого повітря необхідна його очистка від механічних часток. Очищення повітря на біотехнологічних виробництвах зазвичай досягається шляхом уловлювання аерозолів за допомогою тканинних фільтрів і апаратів мокрого очищення (абсорберів Вентурі) з ефективністю близько 99% [46]. Відпрацьоване повітря подається вентилятором у трубу Вентурі й змішується з водою. Вловлені частки коагулюють та з дрібними крапельками води й газу надходять в інерційний апарат, де газ частково відокремлюється від рідини. Остаточне відділення рідини від газу здійснюється у відцентровому скрубєрі. Вода з коагульованими частками направляється у збірник на подальше знезараження, очищене повітря повертають в атмосферу.

Продезинфіковані тверді відходи, які не можуть бути розведені до безпечної концентрації і злиті як стічні води, передаються на утилізацію відповідним кваліфікованим організаціям.

3.9. Матеріальний баланс виробництва

Матеріальний баланс на один виробничий потік наведено у таблиці 3.8.

					<i>МД 162.БТ-5123. 00.00 ПЗ</i>	<i>Арк.</i>
<i>Зм.</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ докцм.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>		63

Матеріальний баланс на один виробничий потік

Використано				Отримано			
Назва	Кількість			Назва	Кількість		
	кг	л	шт		кг	л	шт
1	2	3	4	6	7	8	9
Стадія ТП 6							
Пробірки з робочою культурою <i>Aspergillus niger</i>			3	Пробірки			3
Стерильна колба Ерленмейера			1	Колба Ерленмейера			1
Основне поживне середовище		36		Посівний матеріал		35	
Технологічне стерильне повітря		5000		Відпрацьоване повітря		5000	
				Втрати (3%)		1	
Всього:		5040		Всього:		5040	
Стадія ТП 7							
Посівний матеріал		35		Культуральна рідина		665	
Основне поживне середовище		665		Відпрацьоване повітря		50000	
Технологічне стерильне повітря		50000		Втрати (5%)		35	
Всього:		50700		Всього:		50700	
Стадія ТП 8							
Культуральна рідина		665		Відпрацьована культуральна рідина (включаючи втрати 5%)		639,5	
				Біомаса <i>Aspergillus niger</i>	25,5		
Всього:		665		Всього:		665	
Стадія ТП 9							
Біомаса <i>Aspergillus niger</i>	25,5			Екстракт глюкозооксидази		33	

						МД 162.БТ-5123. 00.00 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докцм.	Підпис	Дата			64

Дистильована вода		25,5		Дезінтегрована біомаса (включаючи втрати 10%)	18		
Всього:		51		Всього:		51	
Стадія ТП 10							
Екстракт глюкозооксидази		33		Рідкі відходи (включаючи втрати 5%)		49	
Сульфат амонію	14			Розчин глюкозооксидази		34	
20 мМ фосфатний буфер		36					
Всього:		83		Всього:		83	
Стадія ТП 11							
Розчин глюкозооксидази		34		Очищений розчин глюкозооксидази		3,2	
Буфер соляний		55		Рідкі відходи (включаючи втрати 5%)		100,8	
Розчин NaCl		15					
Всього:		104		Всього:		104	
Стадія ТП 12							
Очищений розчин глюкозооксидази		3,2		Висушені кристали глюкозооксидази	0,39		
				Конденсат		2,81	
Всього:		3,2		Всього:		3,2	
Стадія ТП 13							
Висушені кристали глюкозооксидази	0,39			Стандартизована глюкозооксидаза	0,45		
Наповнювач (гліцин)	0,06						
Всього:		0,45		Всього:		0,45	
Стадія ТП 14							
Стандартизована глюкозооксидаза	0,45			Оброблені тест-смужки		0,7	675000

					<i>МД 162.БТ-5123. 00.00 ПЗ</i>			Арк.
Зм.	Арк.	№ док.м.	Підпис	Дата				65

Пероксидаза	0,45			Рідкі відходи (включаючи втрати 15%)		688,6	
Гліцерин		1		Відпрацьоване повітря		2000	
20 мМ фосфатний буфер		5					
Розчин глутаральдегіду		7					
20 мМ фосфатний буфер для промивання		675					
Тетраметилбензид ин		0,4					
Смужки			67500 0				
Технологічне стерильне повітря		2000					
Всього:		677 689,3		Всього:		677 689,3	
Стадія ТП 15							
Оброблені тест- смужки			67500 0	Тест-смужки, що пройшли контроль			66150 0
				Відбраковані тест- смужки			13500
Всього:		675000		Всього:		675000	

3.10. Контроль виробництва

Інформація щодо контрольних точок виробництва, показників, методів та об'єктів контролю наведені у таблиці 3.9.

					МД 162.БТ-5123. 00.00 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докцм.	Підпис	Дата		66

Контрольні точки виробництва

Назва стадії та номер контрольної точки	Об'єкт контролю та показник, що визначається	Метод контролю	Періодичність перевірки	Нормативна характеристика показника
1	2	3	4	5
ДР 1.1.1. Підготовка пом'якшеної води Кт 1.1.1	Вміст часток	Фотоколориметрія	Кожний цикл	Кольоровість води н/б 20 ⁰
ДР 1.1.2. Дистиляція води Кт 1.1.2	Вміст іонів	Питома електропровідність	Кожний цикл	н/б 0,5 мСм/м
ДР 1.2.1. Приготування розчину миючого засобу Кх 1.2.1.	Концентрація миючого засобу	Ваговий	Кожний цикл	C=1%
ДР 1.2.2. Приготування розчину етилового спирту Кх 1.2.2.	Концентрація етилового спирту	Ваговий	Кожний цикл	C=76%
ДР 1.2.3. Приготування розчину Гембар Кх 1.2.3.	Концентрація дезинфікуючого розчину	Ваговий	Кожний цикл	C=1%
ДР 1.3. Підготовка виробничих приміщень Кт 1.3.1. Кмб 1.3.2.	Запиленість	Фільтр-гравіметричний	Щодня	н/б 200 од/м ³
	Концентрація бактерій	Висів на чашки Петрі		н/б 3,5 · 10 ⁶
ДР 1.4.1. Мийка та дезінфекція обладнання Кт 1.4.1.	Чистота обладнання	Візуально	Кожну операцію	Відсутність забруднень

МД 162.БТ-5123. 00.00 ПЗ

Арк.

67

ДР 1.4.2. Ополіскування обладнання Кт 1.4.2.	Чистота обладнання	Візуально	Кожну операцію	Відсутність забруднень, залишків миючих засобів
ДР 1.4.3. Стерилізація обладнання Кт 1.4.3.	Режим стерилізації Температура Тривалість	Регулятор Термометр Годинник	Кожну операцію	$P = 0,2 \text{ МПа}$ $t = 120^\circ\text{C}$ $T=1 \text{ год}$
ДР 1.4.3. Стерилізація обладнання Кмб 1.4.4.	Концентрація бактерій	Висів на чашки Петрі	Кожну операцію	Відсутність сторонньої мікрофлори
ДР 1.5.1. Підготовка технологічного одягу Кт 1.5.1.	Цілісність, чистота	Візуально	Кожну операцію	Відсутність забруднень, пошкоджень
ДР 1.5.1. Підготовка технологічного одягу Кмб 1.5.2.	Концентрація бактерій	Висів на чашки Петрі	Кожну операцію	Відсутність сторонньої мікрофлори
ДР 2.1.4. Охолодження повітря Кт 2.1.4.	Температура повітря	Термометр	Постійно	$t = 20-25^\circ\text{C}$
ДР 2.1.5. Стабілізація термодинамічних показників повітря Кт 2.1.5.	Температура Тиск Вологість	Термометр Манометр Гігрометр	Постійно	$t = 30^\circ\text{C}$ $P=0,08 \text{ МПа}$ $W=60\%$
ДР 2.1.6. Очистка на головному фільтрі Кмб 2.1.6.	Концентрація бактерій	Седиментація на чашки Петрі	Щодня	н/б 100 КУО/4год

ДР 2.1.7. Очистка на фільтрах тонкої очистки Кмб 2.1.7.	Концентрація бактерій	Седиментація на чашки Петрі	Щодня	Відсутність сторонньої мікрофлори
ДР 2.2.2. Очистка на головному фільтрі Кмб 2.2.2.	Концентрація бактерій	Седиментація на чашки Петрі	Щодня	н/б 100 КУО/4год
ДР 2.2.3. Очистка на індивідуаль ному фільтрі Кмб 2.2.3.	Концентрація бактерій	Седиментація на чашки Петрі	Щодня	Відсутність сторонньої мікрофлори
ДР 4. Приготуван ня та стерилізація поживних середовищ Кт 4.1 Кмб 4.2 Кх 4.3	рН	рН-метр	Кожний цикл	5,5-6,0
	Склад поживного середовища	Лабораторні методи		Відповідає розрахованим вмістам
	Мікробіоло гічна чистота	Висів на чашки Петрі		Відсутність сторонньої мікрофлори
	Режим стерилізації	Термометр		t=+121° С
	Тиск	Манометр		P=0,2 МПа
	Час стерилізації	Годинник		T=55 хв
ДР 5.1. Мийка контейнерів Кт 5.1	Час мийки	Годинник	Кожний цикл	T=10 хв
ДР 5.2. Сушка контейнерів Кт 5.2.1 Кт 5.2.2	Час сушки	Годинник	Кожний цикл	T=60 хв
	Температура	Термометр		t=+50° С

ТП 6.1. Отримання робочої культури Кт 6.1.1 Кт 6.1.2 Кмб 6.1.3	Час	Годинник	Кожний цикл	T=10 діб
	Температура	Термометр		t=+24 ... +26 °С
	Контамінація чужорідною мікрофлорою	Мікроскопіювання		Відсутність сторонньої мікрофлори
ТП 6.2. Вирощуван ня культури у колбах Кт 6.2.1 Кт 6.2.2 Кмб 6.2.3	Час	Годинник	Кожний цикл	T=12 год
	Температура	Термометр		t=+30 °С
	Контамінація чужорідною мікрофлорою	Мікроскопіювання		Відсутність сторонньої мікрофлори
ТП 6.3. Культивува ння в інокуляторі Кт 6.3.1 Кт 6.3.2 Кт 6.3.3 Кмб 6.3.4	Час	Годинник	Кожний цикл	T=12 год
	Температура	Термометр		t=+30 °С
	pH	pH-метр		5,5-6,0
	Контамінація чужорідною мікрофлорою	Мікроскопіювання		Відсутність сторонньої мікрофлори
ТП 7. Промислов ий біосинтез Кт 7.1 Кт 7.2 Кт 7.3 Кт 7.4 Кт 7.5 Кт 7.6 Кт 7.7	pH	pH-метр	Постійно	5,5±0,1
	Температура	Термометр		30±2 °С
	Тиск	Манометр		0,1 МПа
	Час культивуванн я	Годинник		T=36±2 год
	Концентрація біомаси	Фотоколоримет- ричний метод		Наприкінці культивування 18-20 г/л
	Інтенсивність аерації	Спірометр		D _{O2} =30-35%
	Піноутворен- ня	Візуально		Відсутність викиду піни в лінію виходу повітря
ТП 8. Сепарація біомаси Кт 8	Режим сепарації	Манометр	Кожний цикл	93 КПа

ТП 9. Дезінтеграція клітин Кт 9.1 Кт 9.2 Кт 9.3 Кт 9.4 Кт 9.5	Режим дезінтеграції	Регулятор центрифуги	Кожний цикл	3000 об / хв
	Температура	Термометр		t=+4 °С
	Час дезінтеграції	Годинник		T=15 хв
	Час відстоювання	Годинник		T=1-2 год
	Режим сепарації	Манометр		93 КПа
ТП 10. Виділення глюкозооксидази Кт 10.1 Кт 10.2 Кт 10.3	Час осадження	Годинник	Кожний цикл	T=2 год
	Режим центрифугування	Регулятор центрифуги		3000 об / хв
	Час центрифугування	Годинник		T=30 хв
ТП 11. Очистка глюкозооксидази Кт 11.1 Кт 11.2 Кт 11.3	Ступінь очистки білка	Електрофорез у поліакриламідному гелі	Кожний цикл	90%
	Швидкість потоку супернатанту	Ротаметр		60 - 100 см/год
	Вміст компонентів буферу	Ваги, мірний посуд рН метр		0,1 - 1 М NaCl рН = 3-6
ТП 12. Сушіння глюкозооксидази Кт 12.1 Кт 12.2 Кт 12.3	Вологість	Ваговий метод	Кожну операцію	1%
	Тиск	Манометр		50-70 Па
	Температура	Термометр		-34÷36°С
ТП 13. Стандартизація глюкозооксидази Кт 13.1	Активність глюкозооксидази	Лабораторні методи	Кожну операцію	300 од/мг

ТП 14.1. Приготування суміші реагентів Кт 14.1	Вміст компонентів розчину	Ваги, мірний посуд рН метр	Кожну операцію	Відповідно до регламенту
ТП 14.2. Імобілізація Кт 14.2	Час іммобілізації	Датчик автоматизованої лінії	Кожну операцію	T=5 с
ТП 14.3. Відмивання тест-смужок Кт 14.3	Час	Датчик автоматизованої лінії	Кожну операцію	T=5 с
ТП 14.4. Сушіння тест-смужок Кт 14.4.1 Кт 14.4.2	Час Температура	Датчик автоматизованої лінії	Кожну операцію	T=5 с t=+40°C
ТП 14.5. Напилення барвника Кт 14.5	Точність напилення	Датчик автоматизованої лінії	Кожну операцію	-
ТП 14.6. Сушіння тест-смужок Кт 14.6.1 Кт 14.6.2	Час Температура	Датчик автоматизованої лінії	Кожну операцію	T=5 с t=+40°C
ТП 14.7. Розрізання тест-смужок Кт 14.7	Точність розрізання	Датчик автоматизованої лінії	Кожну операцію	-

					МД 162.БТ-5123. 00.00 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докцм.	Підпис	Дата		72

ТП 15. Контроль якості продукції Кт 15.1 Кх 15.2 Кмб 15.3	Зовнішній вигляд	Візуально	Кожну серію	Відповідно до регламенту
	Чутливість визначення	Контроль за стандартизованим и зразками		Візуальний діапазон визначення 20,0 – 800,0 мг% (1,1-44,4 ммоль / л).
	Контроль бактеріальної контамінації	Висів на чашки Петрі		Відповідно до регламенту

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

До відходів виробництва відносяться наступні речовини:

1. Матеріали, що не мали безпосереднього контакту з мікроорганізмом і можуть бути використані повторно: фільтри, смоли для іонообмінної хроматографії, скляні культи для дезінтеграції. Здійснюють очистку, знезараження та регенерацію даних матеріалів кожного циклу. Заміна даних матеріалів на нові здійснюється у відповідності до розрахованого терміну експлуатації. Після заміни відходи обеззаражуються передаються на утилізацію у компетентні організації.

2. Одноразові матеріали (рукавички тощо) одразу після використання піддаються обеззараженню і передаються на утилізацію.

3. Вентиляційні відходи – відпрацьоване повітря. До числа забруднюючих атмосферу компонентів належать: фурфурол, метанол, окиси азоту, сірчистий ангідрид, пари бензину, деякі органічні кислоти (у невеликій кількості), живі мікроорганізми й білковий пил [47]. Для попередження контамінації мікроорганізмами на виході з інокулятора та ферментеру відпрацьоване повітря проходить через додаткові фільтри. Відпрацьоване аераційне повітря направляється на знешкодження (за допомогою фільтрів та абсорберів Вентурі), після досягнення допустимого рівня чистоти повертається в атмосферне повітря.

					МД 162.БТ-5123. 00.00 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докцм.	Підпис	Дата		73

Технологічне повітря з приміщень опускається до повторного застосування (рециркуляції) після проходження відповідних фільтрів.

4. Стічні води та тверді відходи. Продезинфіковані тверді відходи, які не можуть бути розведені до безпечної концентрації і злиті як стічні води, передаються на утилізацію відповідним кваліфікованим організаціям. Промислові стічні води мікробіологічного виробництва до надходження в каналізацію необхідно нейтралізувати, очистити від масел, смоли і інших шкідливих сполук на очисних спорудах. З метою очистки проводять механічне очищення: проціджування крізь сітки, фільтрування, відстоювання, оброблення в циклонах, флотацію. До води в якості кінцевої стадії очистки можуть застосовувати хімічне оброблення вапном, хлорування, озонування. Злив промислових стічних вод в каналізаційну мережу може проводитися тільки у відповідності до «Санітарних норм проектування» СНіП.

					<i>МД 162.БТ-5123. 00.00 ПЗ</i>	<i>Арк.</i>
<i>Зм.</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>		74

РОЗДІЛ 4. БУДІВЕЛЬНА ЧАСТИНА

4.1. Генеральний план цеху

Задля забезпечення ефективного виробництва і належної якості кінцевої продукції виробництво здійснюється у будівлі, що містить необхідні виробничі приміщення, допоміжні ділянки, випробувальну лабораторію. Конструкція приміщень та вибір матеріалів для будівництва мають забезпечувати можливість ефективної очистки, стабільність показників виробничого мікроклімату. Переміщення матеріалів та персоналу в будівлі та приміщеннях повинно бути передбачене таким чином, щоб попередити контамінацію. Планування виробничих будівель повинне забезпечувати: потоковість процесу з найкоротшими відстанями між технологічно пов'язаними приміщеннями; максимальне угруповання приміщень з однаковим ступенем чистоти; повне дотримання умов санітарно-гігієнічного режиму; захист від забруднень при переміщенні вихідної сировини, деталей, вузлів і виробів всередині будівель і з однієї будівлі в іншу; дотримання норм і правил техніки безпеки та пожежної безпеки [48].

Для забезпечення ефективної роботи персоналу у будівлі передбачені приміщення для підготовки персоналу. До них відносяться переодягальні, вбиральні з душовими [49], наявне окреме приміщення для підготовки та зберігання спецодягу.

До допоміжних ділянок відносяться приміщення підготовки води, підготовки повітря та приміщення підготовки поживних середовищ та робочих розчинів.

					<i>МД 162.БТ-5123. 00.00 ПЗ</i>			
<i>Зм.</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>	<i>РОЗДІЛ 4. БУДІВЕЛЬНА ЧАСТИНА</i>	<i>Стадія</i>	<i>Арк.</i>	<i>Аркушів</i>
<i>Розроб.</i>		<i>Чудук А.О.</i>				<i>Д</i>	<i>75</i>	<i>118</i>
<i>Конс.</i>						<i>КПІ ім. Ігоря Сікорського ФБТ</i>		
<i>Керівник</i>		<i>Поліщук В.Ю.</i>						
<i>Затверд.</i>								

У будівлі наявні окремі склади для сировини і матеріалів та для готової продукції. Відповідно до вимог ДСТУ EN ISO 13485:2018 Медичні вироби. Система управління якістю. Вимоги до регулювання склади розділені на зону карантину, зону браку та зону продукції, що пройшла контроль.

Для попередження контамінації виробничі приміщення не мають безпосереднього доступу зі сходового майданчику. Приміщення біосинтезу, виділення та очистки глюкозооксидази, а також приміщення виробництва тест-смужок є чистими приміщеннями класу ISO 8. Клас чистоти обґрунтований у аналізі ризиків виробництва. Вхід до чистих виробничих приміщень організований через повітряні шлюзи та приміщення для перевдягання. Матеріали для стін, стелі та підлоги не повинні обсипатися, кришитися, не виділяти пилу, мають допускати вологе прибирання дезінфікуючими розчинами. Стіни, стелі, двері повинні бути рівними, гладкими, без тріщин, мати якомога менше заглиблень, кишень і горизонтальних поверхонь, що сприяють осіданню пилу. Не допускається відшаровування оздоблювальних матеріалів. Стіни і перегородки допускається виготовляти з скло-алюмінієвих панелей, склоблоків та інших індустріальних матеріалів, щілини і шви слід герметизувати. Підлоги повинні бути гладкими, міцними, з мінімальною кількістю швів.

На проектованому виробництві застосовується безшовне епоксидне покриття для підлоги, перегородки, обшивка стін та підвісна стеля виробництва GEA, Чехія. Стики та шви герметизуються силіконом [50].

4.2. Теплопостачання

Основними споживачами тепла є виробничі ділянки, оскільки стерилізація апаратів та матеріалів потребує перегрітої пари. В якості теплоносіїв на підприємстві використовуються перегріта пара (+121 °C), гаряча вода (початкова температура +90 °C). Гаряча вода також постачається у радіатори опалення. Генерація теплоносіїв здійснюється в окремо розташованій власній котельні. Використання котельні дозволяє збільшити стабільність термодинамічних

					<i>МД 162.БТ-5123. 00.00 ПЗ</i>	<i>Арк.</i>
<i>Зм.</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ докцм.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>		76

показників носіїв (за рахунок скорочення транспортного шляху), регулювати обсяги подачі в залежності від потреб підприємства.

4.3. Вентиляція

У виробничих і побутових приміщеннях передбачена припливно-витяжна вентиляція з механічним спонуканням. Система повітропостачання працює безперервно. Виробничі приміщення, а також приміщення з постійним перебуванням персоналу забезпечені кондиційованим повітрям [51]. Продуктивність припливних систем вентиляції та кондиціонування повітря визначаються, виходячи з умов забезпечення необхідних параметрів повітря в робочій зоні з урахуванням прийнятої схеми організації повітрообміну і класу чистоти приміщення. Повітрозабірні пристрої припливної вентиляції розташовані в місцях з максимальною чистотою повітря з урахуванням напрямку панівних вітрів.

Очищення припливного повітря, що подається в приміщення класу чистоти ISO 8 є двоступеневим. Системи підготовки вентиляційного повітря повинні забезпечувати його чистоту в чистих приміщеннях і підтримувати позитивний перепад тиску по відношенню до оточуючих приміщень більш низького класу чистоти. На проектуваному підприємстві тиск у чистих приміщеннях вищий на 15-20 Па, даний показник контролюється манометрами.

У виробничих приміщеннях підтримуються наступні внутрішні мікрокліматичні умови: – температура $(21\pm 2)^{\circ}\text{C}$ (взимку $19-23^{\circ}\text{C}$, влітку – $20-24^{\circ}\text{C}$); - відносна вологість не більше 60 % (40-60 %); – шум від вентиляційного устаткування не перевищує 70 дБ(А).

Відпрацьоване повітря виводиться через змінні пилові фільтри і через кінцеві фільтри EU-12 вентилятором відпрацьованого повітря в навколишнє середовище. До 80% повітря в виробничих приміщеннях є циркуляційним. Задля забезпечення безпеки виробництва для оточуючого середовища, на виході з

					<i>МД 162.БТ-5123. 00.00 ПЗ</i>	<i>Арк.</i>
<i>Зм.</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ докцм.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>		77

апаратів, що можуть виділяти шкідливі речовини (окис вуглецю, спори продуценту тощо) встановлені додаткові індивідуальні НЕРА-фільтри.

4.4. Водопостачання

Джерелом водопостачання є мережа водопроводу підприємства з тиском у мережі 30-35 м. вод. ст. Гаряче водопостачання забезпечується котельною.

Для виробництва продукції використовується вода пом'якшена та вода дистильована. Їх виробництво здійснюється у окремому приміщенні.

Для пом'якшення застосовується установка підготовки, зберігання та розподілу чистої води, виробництва AUSTAR Group. Продуктивність установки очищеної води складає 4,7 м³/год. Установка містить п'ять фільтрів (вугільний та чотири фільтри з іонообмінними смолами). Зберігання та розподіл води здійснюється зі збірника для зберігання з циркуляцією.

Дистиляція здійснюється у промисловому дистиляторі Aqualux, потужністю 100 л/год, шляхом дистиляції та конденсації.

4.5. Каналізація

Для забезпечення безпечності виробництва кожен каналізаційний стік обладнаний пристроями для попередження зворотного потоку (зворотними клапанами). У виробничих приміщеннях у сільфонах каналізаційних труб регулярно змінюють дезінфікуючий розчин.

Каналізаційні система для виведення стоків зроблена зі сталевих труб, відповідно до ГОСТ 10704-91 [52].

Перед утилізацією рідкі відходи виробництва знешкоджуються шляхом розведення водопровідною водою і автоклавування даної суміші при 130°C протягом 2,5 годин. Знезараження технологічних і господарчо-побутових стоків здійснюється у окремих будівлях. Першим етапом очистки є груба очистка (відділення механічних забруднень розміром більше 100 мкм за рахунок

					<i>МД 162.БТ-5123. 00.00 ПЗ</i>	<i>Арк.</i>
<i>Зм.</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ докцм.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>		78

фільтрації і відстоювання), надалі здійснюють тонку очистку (фільтрацію через активоване вугілля, хлорування).

4.6. Електропостачання

Енергопостачання будівлі здійснюється через магістральні лінії, потужність струмоприймачів у межах 10-80 мВ·А. На підприємстві також наявна система аварійного освітлення та живлення критичних апаратів (холодильників для зберігання тощо).

Основними споживачами електроенергії є виробничі автоматизовані лінії, ферментер, насоси, системи повітропостачання. Також постійних енерговитрат вимагає освітлення виробничих приміщень, яке є постійним, інтенсивністю не менше 500 лк [48].

					<i>МД 162.БТ-5123. 00.00 ПЗ</i>	<i>Арк.</i>
<i>Зм.</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ докцм.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>		79

РОЗДІЛ 5. СТАРТАП ПРОЕКТ

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

Бізнес-ідея: розробка і впровадження технології виробництва тестів для напівкількісного визначення глюкози в крові.

Мета проекту: впровадження у виробництво технології виробництва тестів для напівкількісного визначення глюкози в крові, отримання прибутку.

Об'єкт дослідження: виробництво тест-смужок для визначення рівня глюкози.

Місце розробки у інноваційному ланцюжку цінності: впровадження технології у виробництво.

Матеріали розробки стартап-проекту систематизовано і представлено в таблиці 5.1.

Таблиця 5.1

Резюме стартап-проекту

Показник	Характеристика
1. Сутність ідеї	Виробництво тест-смужок для напівкількісного визначення глюкози в крові
2. Наявність аналогів або прототипів ідеї	Аналоги – Betachek visual (виробник Австралія), Диаглюк (виробник РФ), прототип - Гемоглан (Україна)
3. Основна потреба, яку задовольнить реалізований стартап	Потреба у швидкій діагностиці рівня цукру в крові
4. Ступінь розробленості технології реалізації	Описана технологія, яку можна використовувати

					<i>МД 162.БТ-5123. 00.00 ПЗ</i>			
<i>Зм.</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>	<i>РОЗДІЛ 4. БУДІВЕЛЬНА ЧАСТИНА</i>	<i>Стадія</i>	<i>Арк.</i>	<i>Аркушів</i>
<i>Розроб.</i>	<i>Чудук А.О.</i>					<i>Д</i>	80	118
<i>Конс.</i>	<i>Ткаченко Т.П.</i>							
<i>Керівник</i>	<i>Поліщук В.Ю.</i>							
<i>Затверд.</i>						<i>КПІ ім. Ігоря Сікорського ФБТ</i>		

34. Методи просування результатів розробки на ринок	Стимулювання збуту, реклама
---	-----------------------------

5.2. Аналіз зовнішнього та внутрішнього середовища стартапу

Дані щодо аналізу загроз та можливостей наведені в таблиці 5.2.

Таблиця 5.2

Аналіз загроз і можливостей зовнішнього середовища

	Загрози	Можливості
Економіка		
1. Зростання фармацевтичного сектору	- Збільшення кількості конкурентів;	+ Збільшення кількості поставників сировини та матеріалів;
2. Конкуренція	- Зменшення обсягів продажів; - Необхідність додаткових витрат для просування товару на ринку;	+ Вдосконалення товару задля конкурентоспроможності;
Політика		
1. Переорієнтація зі співпраці з СНД на співпрацю з ЄС	- Ускладнення процесу сертифікації товарів; - Висока конкурентоспроможність товарів з ЄС;	+ Можливість виходу на ринок ЄС; + Зменшення конкуренції з боку РФ на фармацевтичному ринку;
2. Підтримка виробників соціально значимих товарів	- Збільшення кількості конкурентів; - Необхідність постійного підтвердження соціальної значимості товару для отримання пільг;	+ Зниження витрат на оплату податків;

					МД 162.БТ-5123. 00.000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докцм.	Підпис	Дата		83

Аналіз факторів зовнішнього оперативного середовища

Фактор	Переваги	Недоліки
Конкуренти:	Необхідність постійного вдосконалення виробництва	Зменшення попиту на продукт, додаткові витрати на рекламу
Постачальники:	Можливість вибору сировини та матеріалів з оптимальним співвідношенням ціна-якість	Витрати на логістику, необхідність періодичної переоцінки постачальників
Споживачі:	Попит на товар дозволяє збільшувати обсяги продажів	Необхідність вивчення ринку та цільової аудиторії, витрат на рекламу
Посередники:	Полегшення процесу продажу товару, допомога у просуванні товару на ринок	Додаткові витрати на посередників, необхідність заохочення продажів

Провівши аналіз факторів зовнішнього оперативного середовища, можемо сформулювати перелік зацікавлених сторін з метою визначення потенційних загроз у процесі впровадження розробки та при формуванні ризиків стартап-проекту (таблиця 5.4).

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	Прямий вплив на розробку та виробництво продукту	Отримання прибутку, виготовлення якісного товару	45 %

					<i>МД 162.БТ-5123. 00.000 ПЗ</i>	Арк.
Зм.	Арк.	№ докцм.	Підпис	Дата		85

Постачальник	Забезпечення виробництва сировиною та матеріалами	Зацікавлені у регулярності поставок	10 %
Споживачі	Забезпечують рівень продажів продукту	Зацікавлені у оптимальному співвідношенні ціна-якість	10 %
Посередники	Забезпечують розповсюдження та просування продукту на ринку	Зацікавлені у збільшенні попиту на продукт і отриманню прибутку	10 %
Зовнішнє середовище			
Політичні структури	Забезпечують законодавче регулювання процесу виробництва та реєстрації	Зацікавлені у виході на ринок продуктів належної якості	5 %
Суб'єкти економічного середовища (інвестори)	Надають кредитні кошти	Зацікавлені в збільшенні прибутку	5 %
Власники географічних об'єктів	Не беруть участі в реалізації стартап-проекту, тому не впливають на його розвиток		
Суб'єкти демографії	Впливають на попит на продукцію серед населення	Зацікавлені у оптимальному співвідношенні ціна-якість	5 %
Суб'єкти культурного середовища	Впливають на попит на продукцію серед населення	Зацікавлені у оптимальному співвідношенні ціна-якість	5 %

сучасного, більш продуктивного обладнання, що дозволить зменшити собівартість, збільшити прибуток та забезпечити доступну ціну на продукт.

5.3. Визначення ключових факторів успіху проекту

На підставі аналізу факторів зовнішнього та зовнішнього оперативного середовищ, проведемо визначення ключових факторів успіху ідеї. Для цього використаємо діаграму Шонфільда. Оцінювання показників наведено у таблиці 5.6.

Таблиця 5.6

Оцінка характеристик продукту

Характеристика	Коефіцієнт вагомості характеристики	Оцінка характеристик		
		Наша продукція	Конкурент А	Конкурент Б
Ціна	0,4	5	5	3
Пакування	0,1	4	3	4
Точність визначення	0,3	4	2	5
Дотримання вимог нормативно-технічної документації	0,2	5	3	4

Визначимо бальну оцінку з урахуванням коефіцієнту вагомості кожної характеристики:

Характеристика	Бальна оцінка характеристик		
	Наша продукція	Конкурент А	Конкурент Б
Ціна	2	2	1,2
Пакування	0,4	0,3	0,4
Точність визначення	1,2	0,6	1,5
Дотримання вимог нормативно-технічної документації	1	0,6	0,8

На підставі отриманих даних будуємо графік, представлений на рис. 5.1.

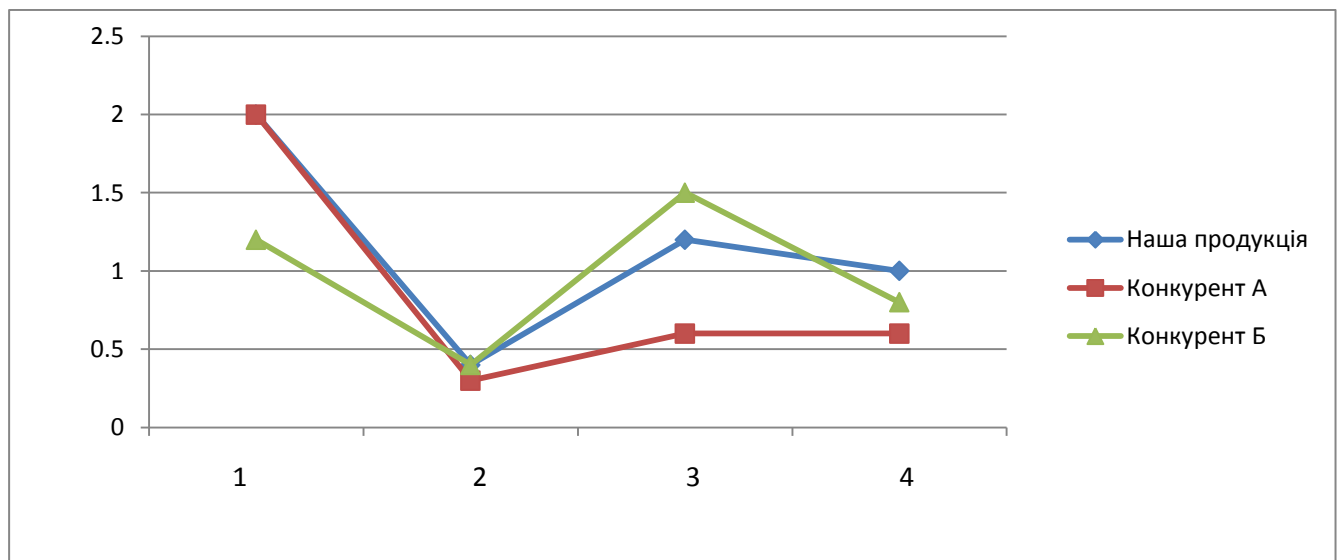


Рис. 5.1. Порівняння конкурентних переваг підприємства з конкурентами

Можна дійти висновку, що сильною стороною нашої продукції є ціна та дотримання вимог нормативно-технічної документації, водночас такі показники, як точність визначення та пакування потребують вдосконалення. Базуючись на отриманих даних можемо сформувані можливий варіант розвитку інноваційної ідеї та визначити перспективний напрям її розвитку у вигляді таблиці 5.7.

Таблиця 5.7

Варіант розвитку ідеї стартапу

Варіант	Стислий опис можливого розвитку
1. Розширення продажів на заклади охорони здоров'я	Перехід з продажів через аптеки споживачам до продажів у лікарські заклади дозволить збільшити обсяги продажів, забезпечить більш стабільні замовлення
2. Вдосконалення технології виробництва	Впровадження нових технологій дозволить підвищити якість продукції з потенційним зменшенням витрат на виробництво

5.4. Визначення потенційних споживачів

У таблиці 5.8 наведено класифікацію потенційних споживачів продукту.

					МД 162.БТ-5123. 00.000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докцм.	Підпис	Дата		89

Класифікація потенційних споживачів

Критерій	Значення
1. Юридична особа	
1. Форма власності	Приватні, державні
2. КВЕД	Секція Q «Охорона здоров'я на надання соціальної допомоги», Група 86.10 «Діяльність лікарняних закладів»; Група 86.90 «Інша діяльність у сфері охорони здоров'я»
3. За потужністю	Малі, середні, великі
4. За масштабом виробництва	Серійні, масові
5. За рівнем спеціалізації	Вузькопрофільні, багатoproфільні
6. За ресурсами, що споживаються	Матеріаломісткі, праце місткі, інформаційно місткі
7. За чисельністю персоналу	Малі, середні, великі
8. За сферою діяльності	Невиробничі, комерційні, некомерційні
9. За приналежністю капіталу і контролю	Національні
10. За географічним розташуванням	Територія України
11. За віддаленістю органів управління	Національні
12. За характером господарської діяльності	Заклади охорони здоров'я
13. За рівнем технологічної цілісності	Провідні, філії
14. За часткою іноземного капіталу	З іноземними інвестиціями більше 10%
15. За формуванням статутного капіталу	Корпоративні
16. За організацією виробничих процесів	Безперервні
17. За роботою протягом року	Позасезонні
18. За географічним розташуванням на території України	Київська, Львівська, Харківська, Одеська
19. За наявністю вільних ОБЗ	Наявні

20. За динамікою розвитку регіону розташування юридичної особи: - Регіон - Чисельність населення - Динаміка росту регіону - Структура регіону - Правові обмеження торгівлі	- Київська, Львівська, Харківська, Одеська області - 9,5 млн осіб - Зменшення кількості населення - Великі та малі міста - Сертифікат відповідності, декларація відповідності на продукцію
2. Фізична особа	
1. Вік	Будь-який вік
2. За платоспроможністю	До 60 грн / упаковка
3. За соціальним рівнем споживачів	Малозабезпечені споживачі, рівень заробітної плати – від 4800 грн
4. За способом життя	Будь-який спосіб життя
5. Тип особистості споживачів	Будь-який із типів особистості
6. За ставленням до товару - Мотивація придбання - Пошук вигоди - Ставлення до товару - Інформованість про товар - Інтенсивність споживання товару	- Потреба у періодичній діагностиці - Своєчасна діагностика захворювання - Нейтральне - Повна інформованість - Періодичне (орієнтовно 1-2 рази на рік)
7. За сімейними цінностями	Будь-який склад сім'ї, життєвий цикл сім'ї та традиції
8. За співвідношенням бажання придбати і цінової межі	4800 грн / 60 грн
9. За інтенсивністю споживання товару	Періодичне придбання
10. За інформованістю	Самоосвіта, ЗМІ, спеціальні джерела

Головними споживачами тест-смужок для визначення глюкози в крові є фізичні особи, заклади охорони здоров'я. Основні групи споживачів наведені в таблиці 5.9.

					МД 162.БТ-5123. 00.000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докцм.	Підпис	Дата		91

Таблиця 5.9

Основні групи потенційних споживачів і їх потреби

Категорія клієнтів	Потреби, які він задовольняє за допомогою Вашого продукту
1. Фізична особа	Діагностика захворювань
2 Заклади охорони здоров'я (лікарні, поліклініки, санаторії, медпункти)	Діагностика захворювань
Відкоригована ідея стартап проекту	
Вдосконалення технології виробництва тест-смужок для напівкількісного визначення глюкози в крові для забезпечення населення України якісним продуктом за доступною ціною	

Для потенційних клієнтів, а саме: заклади охорони здоров'я, формуємо паспорт, наведений в таблиці 5.10.

Таблиця 5.10

Паспорт потенційного клієнта

Характеристика	Значення
Організаційно-правова форма	Юридичні особи
Класифікація - за потужністю - за чисельністю персоналу - за обсягом виробництва - за сезонністю виробництва	- середні, великі - середні, великі - середні, великі - позасезонні
Розташування	м.Київ, м.Львів, м.Харків, м.Одеса
Вид продукту, який потрібен даному споживачеві	Тест-смужки для напівкількісного визначення глюкози в крові
Призначення придбаної розробки	Діагностування цукрового діабету
Кваліфікація персоналу підприємства	Висококваліфікований та малокваліфікований персонал
Потенційний обсяг споживання розробки	Серія

Згідно з плановим річним обсягом випуску тест-смужок, який становить 5,6 млн тест-смужок на рік (560 000 упаковок), сформуємо плановий обсяг виробництва продукції за місяцями (наведений у таблиці 5.11).

					МД 162.БТ-5123. 00.000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ док.м.	Підпис	Дата		92

Таблиця 5.11

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, шт. тест-смужок	466 670	466 670	466 670	466 670	466 670	466 670	466 670	466 670	466 670	466 670	466 670	466 670

5.5 Ціна інноваційної пропозиції на ринку

Таблиця 5.12

Найменування товару	Планові обсяги продажу		Аналоги, прототипи	
	Кількість, од	Ціна, грн/од	Кількість, од	Ціна, грн/од
Тест-смужка для визначення глюкози у крові	5 600 000	5,9		8,0

1. Розрахунок ціни продукції витратним методом.

Для цього методу розрахунку ціна включає в себе 3% від собівартості, що є мінімальним рівнем рентабельності. Очікувану собівартість стартап-продукту встановимо на рівні 3,0 грн.

$$Ц = С + \text{фіксований відсоток прибутку (від собівартості)} \left[\frac{\text{грн}}{\text{од}} \right], \quad (5.1)$$

де Ц – прогнозована ціна, товару

С – розрахована автором ідеї очікувана собівартість товару, грн/од.

$$Ц = 3,0 + 3\% \cdot 3,0 = 3,36 \text{ (грн/од)}$$

Така ціна на продукт зможе покрити витрати на виробництво, однак не принесе достатнього прибутку, що не може задовольнити нас у повній мірі.

2. Розрахунок ціни продукції агрегатним методом.

Розрахуємо вартість продукту з урахуванням вартості складових частин, доступних на ринку: основа для смужки (0,05 грн), глюкозооксидаза (0,5 грн),

																			Арк.	
																				93
Зм.	Арк.	№ док.м.	Підпис	Дата	МД 162.БТ-5123. 00.000 ПЗ															

пероксидаза (0,25 грн), тетраметилбензидин (0,5 грн), глутаральдегід (0,07 грн), упаковка (0,2 грн).

$$C = C_1 + C_2 \dots \dots + C_i, [\text{грн/од}], \quad (5.2)$$

де C – ціна ідеї, технології, розробки, за якою автор пропонуватиме її на ринку, грн/од.;

C_i – ціна i -того компоненту багатокomпонентного товару, грн/од.

$$C = 0,05 + 0,5 + 0,25 + 0,5 + 0,07 + 0,2 = 1,57 \text{ (грн/од.)}$$

3. Параметричний метод.

Враховує вагомість якісних матеріалів товару і оцінку цих параметрів споживачем:

$$C_{\text{нovoї моделі}} = C_{\text{базової моделі}} \times \frac{\text{Балова оцінка нової моделі}}{\text{Балова оцінка базової моделі}}, [\text{грн/од.}], \quad (5.3)$$

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

Ціну розрахуємо на основі продукту-аналогу підприємства з ціною 8,0 грн/од та представимо у таблиці 5.13.

Таблиця 5.13

Розрахунок ціни стартап-проекту параметричним методом

Продукт	Параметри						Ціна, грн
	1		2		3		
	Бали	Коефіцієнт вагомості	Бали	Коефіцієнт вагомості	Бали	Коефіцієнт вагомості	
Аналог	70	0,4	30	0,2	60	0,4	8,0
Новий	80	0,4	35	0,2	70	0,4	9,24

Розрахуємо ціну нового продукту на наступною формулою:

$$C_n = C_b \cdot \frac{B_n}{B_b}, [\text{грн/од}], \quad (5.4)$$

де C_n – ціна нової моделі, ідеї, технології, розробки, за якою автор пропонуватиме її на ринку, грн/од.,

C_b – ціна базової моделі - прототипу, аналогу, які вже існують на ринку, грн/од.,

B_n – балова оцінка нової моделі – експертна оцінка характеристик нової ідеї, технології, методики; виставляється з урахуванням коефіцієнту вагомості даної характеристики у переліку ключових характеристик товару,

B_b – балова оцінка базової моделі – експертна оцінка характеристик аналогу, прототипу, які вже існують на ринку з урахуванням коефіцієнту вагомості даної характеристики у переліку ключових характеристик товару.

$$C_{\text{нovoї моделі}} = 8,0 \cdot \frac{80 \cdot 0,4 + 35 \cdot 0,2 + 70 \cdot 0,4}{70 \cdot 0,4 + 30 \cdot 0,2 + 60 \cdot 0,4} = 8,0 \cdot \frac{67}{58} = 9,24 \text{ (грн/од)}$$

Розрахована ціна є занадто великою, існує значний ризик зменшення обсягів продажів.

4. Метод на основі аналізу точки беззбитковості.

При такому методі розрахунку прибуток підприємства прирівнюють до 0, тоді ціна дорівнюватиме очікуваній собівартості і визначатиметься як:

$$C = C_{\text{од}} = 3,0 \text{ (грн/од)} \quad (5.5)$$

Хоча ціна повністю покриває виробництво, але не приносить жодного прибутку, тому такий метод є не вигідним і не може використовуватися.

5. Метод ціноутворення на основі поточних цін або конкурентний метод.

Залежно від цін продуктів-аналогів, які є прийнятними для споживачів, розраховуємо ціну на продукт:

$$C = \frac{C_{\text{к1}} + C_{\text{к2}} + C_{\text{к3}}}{3} = \frac{8,0 + 7,1 + 2,6}{3} = 5,9 \text{ (грн/од)} \quad (5.6)$$

Розраховану ціну можемо вважати оптимальною, оскільки вона повністю покриває витрати на виробництва та принесе прибуток.

Відпускна ціна продукту без врахування торгової надбавки (10% для медичних виробів) становить:

$$C_{\text{відп.}} = 5,9 - (5,9 \cdot 0,1) = 5,31 \text{ (грн)} \quad (5.7)$$

Ціна виробника без врахування ПДВ (для виробів медичного призначення 7%):

$$C_{\text{вир}} = 5,31 - (5,31 \cdot 0,07) = 4,94 \text{ (грн)} \quad (5.8)$$

Ціна виробника включає прибуток підприємства та собівартість виробництва.

Мінімальний прибуток підприємства встановлюємо на рівні 15% на 1 тест-смужку, тоді собівартість продукції буде становити:

									Арк.
									95
Зм.	Арк.	№ докцм.	Підпис	Дата	МД 162.БТ-5123. 00.000 ПЗ				

	Реактори для приготування розчинів	130 000	10	«ХімМікс»	
Основний процес	Ферментер	1 100 000	15	«BioTechno Group»	
	Інокулятор	305 000	15	«BioTechno Group»	
	Збірники	20 000	10	«Інвестпром»	
	Ліофільна сушарка	150 000	10	«iLShin»	
	Центрифуги	128 000	10	«Rousselet Robatel»	
	Фільтри	43 000	10	«Русредмет»	
	Автоматизована лінія виробництва	950 000	10	«Xiamen Jeari Automation Equipment Co., Ltd»	
	Пакувальна лінія	60 000	15	«Xiamen Jeari Automation Equipment Co., Ltd»	
Всього		3 266 000		Амортизаційні відрахування:	288 767

Таблиця 5.16

Амортизаційні відрахування підприємства

Назва об'єкту	Вартість, грн	Норма амортизації, %	Сума амортизації, грн/рік
1. Будівлі та споруди			
Споруда	1 400 000	5	70 000
2. Обладнання			
Виробниче обладнання	1 300 000	20	260 000
Інструменти	61 000	5	3050
Всього	2 761 000		333 050

Загальна сума амортизаційних відрахувань підприємства за рік становить 621 817 грн/рік.

В таблиці 6.17 представлена забезпеченість стартап-проекту оборотними фондами.

Таблиця 5.17

Забезпеченість проекту оборотними фондами

Група Об	Назва	Норма витрат на рік	Ціна, грн	Очікуваний постачаль-ник	Джере-ло фінанс у-вання
Сировина і матеріали	1. Глюкозооксидаза	5 кг	-	Власне в-во	Отриманий підприємством прибуток, інвестиції
	2. Пероксидаза	5 кг	3 500	ТОВ ДИА-М	
	3. Тетраметилбензидин	4 кг	38 000	ЧП Хинон	
	4. Розчин глутаральдегіду	80 л	3 360	ТОВ Хім-плюс	
	5. Основи для смужок	5 600 000 шт	70 000	ТОВ BALCo	
	6. Пластикові футляри	560 000 шт	280 000	ТОВ BALCo	

Арк.

МД 162.БТ-5123. 00.000 ПЗ

98

Зм. Арк. № докцм. Підпис Дата

	7. Інструкції	560 000 шт	140 120	Типографія nPrint	
	8. Упаковка картонна	560 000 шт	208 500	Типографія nPrint	
	9. Етикетки	560 000 шт	55 000	Типографія nPrint	
Паливо	Паливо	19 000 л	515 000	Amic Energy	Отриманий підприємством прибуток, інвестиції
Електроенергія	Електроенергія	170 315 кВт/год	352 284,3	ПЕК Київські електромережі	
Водопостачання	Водопостачання	1 150 м ³	74 250,7	ПрАТ «АК «Київводоканал»	
Теплова енергія	Теплова енергія	243,5 Гкал	343 420	КП «Київтеплоенерго»	
Всього:			2 083 435		

Забезпечення стартап-проекту трудовими ресурсами наведена в таблиці 5.18. Загальна чисельність персоналу на підприємство становить 21 особу – адміністративно-технічний та виробничий персонал.

Таблиця 5.18

Забезпеченість проекту трудовими ресурсами

Категорія кадрів	Назва посади	Чисельність за списком на посаді	Кваліфікаційні вимоги	Плановий рівень заробітної плати	Джерело фінансування ФОП
Керівники	Начальник виробничого цеху	1	Висока	16000	Прибуток
	Начальник відділу контролю якості (ВКЯ)	1	Висока	16000	
Спеціалісти	Хімік	2	Висока	10000	
	Бухгалтер	2	Висока	10000	
	Мікробіолог	2	Висока	10000	
	Технолог	1	Висока	15000	

Молодші спеціалісти	Лаборант	3	Середня	8000	
Робочі	Апаратник	2	Висока	13000	
	Інженер	1	Висока	13000	
	Слюсар	1	Середня	8000	
	Електрик	1	Середня	8000	
	Прибиральник	2	Некваліфікована	6000	
	Вантажник	2	Некваліфікована	6000	

Всього за рік 2 520 000 грн.

Відрахування до пенсійного фонду 22 % 554 400 грн.

ФОП_{заг} 3 074 400.

Таблиця 5.19

Калькуляція річної собівартості виробництва стартап-проекту

№п/п	Назва показника	Вартість на рік, грн
1	Оборотні засоби	2 083 435
2	Амортизаційні відрахування	621 817
3	ФОП _{заг}	3 074 400
4	Собівартість виробництва	5 779 652

Собівартість виробництва становить 5 779 652 грн, що не перевищує, встановленого під час визначення ціни продукції, значення – 23 520 000 грн.

Собівартість на етапі розробки визначається як сума вартості сировини (1 209 700 грн.), необхідної для проведення НДР і заробітної плати працівників залучених до етапу розробки (начальник виробничого цеху, технолога, мікробіолога – 41000 грн) та складає 1 250 700 грн.

Капіталовкладення на етапі розробки 3 503 000 грн.

Капіталовкладення складаються з вартості основних та оборотних засобів і становлять 5 349 435 грн.

										Арк.
										100
Зм.	Арк.	№ докцм.	Підпис	Дата	МД 162.БТ-5123. 00.000 ПЗ					

Для повної оцінки вартісних показників стартап-проекту, розрахуємо його за техніко-економічними показниками (таблиця 5.20).

Таблиця 5.20

Техніко-економічні показники проекту

Показники	Одиниці виміру	Умовне позначення, формула розрахунку	Значення	
			Етап розробки	Етап реалізації
1.Річний обсяг реалізації ідеї	Од.	В	5 600 000	
2.Ціна на продукцію	Грн.	Ц	5,9	
3.Середньорічна чисельність персоналу за списком	Осіб	$Ч_{сп}$	3	21
4.Середньорічний виробіток працівника	Од./особу	$ПП_{с.р.}=В/Ч_{сп}$	266 666,67	
5.Капіталовкладення у проект -всього -на одиницю продукції	Грн Грн./од	$К=ОФ+ОбК$	3 503 000 0,63	5 349 435 0,96
6.Повна собівартість -всього -на одиницю продукції	Грн Грн./од	$С=А+ОбК$	2 144 353 0,38	8 126 235 1,45
7.Відосний прибуток	Грн./од	$П=Ц-С$	5,52	4,45
8. Рентабельність	%	$P=(П/С) \times 100$	1452	306,9
9.Період повернення капіталовкладень	Років	$T_{пов}=К/П$	0,11	0,23
10.Фондовідача виробничих фондів	Грн./грн	$ФВ=(Ц \times В)/ОФ$	83,3	42,8
11.Фондоємність	Грн./грн.	$ФЄ=1/ФВ$	0,012	0,023
12.Коефіцієнт економічної ефективності		$Е=П/К$	8,82	4,65

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

Карта бізнес-процесів наведена в таблиці 5.21.

Таблиця 5.21

Карта бізнес-процесів виконання стартап-проекту

Стадія реалізації стартап проекту	Бізнес-процеси	Характеристики		
		Задіяні ресурси	Орієнтовна тривалість процесу	Верхня межа фінансових витрат, грн
Розробка ідеї стартапу	Аналіз джерел, патентний пошук, розробка технології, розробка плану виробництва, пошук обладнання та постачальників	Трудові	1 місяць	60000
Реалізація ідеї	Розрахунок показників потужності виробництва. Підбір та навчання кадрів. Закупка обладнання, сировини.	Трудові	4 місяці	4 000 000

Впровадження у виробництво	Встановлення обладнання, запуск виробництва з виробництвом пробних партій. Перевірка якості продукції та коригування параметрів за необхідності.	Трудові, сировина та матеріали	4 місяці	3 000 000
Масова реалізація	Випуск продукту та його вивід на ринок	Трудові, сировина та матеріали	4 місяці	6 000 000

Визначені елементи в кадрових потребах процесів наведено в таблиці 5.22.

Таблиця 5.22

Системний аналіз бізнес-процесів стартапу

Функції	Елементи												
	Начальник виробничого підрозділу	Начальник відділу маркетингу	Хімік	Бухгалтер	Мікробіолог	Технолог	Лаборант	Апаратник	Інженер	Слюсар	Електрик	Прибиральник	Вантажник
Розробка технології	+				+	+							
Пошук обладнання	+				+	+			+				

Реалізація ідеї	Розрахунок показників потужності виробництва. Підбір та навчання кадрів. Закупка обладнання, сировини.	Витрати на обладнання та сировину, їх низька якість, складність підбору кадрів	Низький рівень підготовки кадрів
Впровадження у виробництво	Встановлення обладнання, запуск виробництва з виробництвом пробних партій. Перевірка якості продукції та коригування параметрів за необхідності.	Проблеми з постачанням сировини та матеріалів	Необхідність ремонту обладнання, збільшення відходів, неналежна якість продукту
Масова реалізація	Випуск продукту та його вивід на ринок	Низький рівень продажів	Проблеми з матеріалами, сировиною, обладнанням

У таблиці 5.24 розрахуємо імовірність настання ризиків та впливу на очікуваний результат і методи управління ризиками.

Таблиця 5.24

Ризики інноваційної розробки та ймовірність їх настання

Види ризиків	Назва ризику	Ймовірність настання	Вплив на очікуваний результат
Зовнішні ризики			
Товарний ризик	Відсутність сировини та матеріалів належної якості та вартості	3	3
Закупівельний ризик	Збої в постачанні сировини та матеріалів (в якості та термінах)	1	2
Інфляційний ризик	Інфляція, криза	2	2

Податковий ризик	Зростання рівня державного оподаткування медичних виробів	1	2
Природно-економічний	Стихійне лихо, епідемія	1	3
Інвестиційний	Зменшення інвестування у виробництво	1	2
Ринковий ризик	Зниження рівня купівельної спроможності споживачів	2	2
Внутрішні ризики			
Інформаційний ризик	Відсутність необхідної інформації стосовно технологічного процесу	1	3
Транспортний ризик	Збої в постачанні готової продукції на ринок	1	2
Організаційний ризик	Недостатня ефективність виробництва через недосконалість організаційних заходів	1	2
Виробничий ризик	Недостатній рівень кваліфікації персоналу	1	2
	Погіршення якості продукту	1	3

Після проведення аналізу ризиків та ймовірності їх настання визначимо за матрицею оцінки ризику, що знаходяться у червоній та жовтій зонах. Обрані методи управління такими ризиками наведені у таблиці 5.25.

Таблиця 5.25

План заходів з управління ризиками

Назва ризику	Назва методу управління ризиком	Відповідальні виконавці	Період виконання/ застосування методу	Очікувані результати від впровадження
Відсутність сировини та матеріалів належної якості та вартості	Пошук нових постачальників	Начальник виробничого цеху, технолог	Постійно	Залучення постачальників з якісною сировиною та матеріалами

5.8. Висновки

Під час виконання даного стартап-проекту було розглянуто можливість комерціалізації ідеї щодо масового виробництва тест-смужок для напівкількісного визначення глюкози у крові.

В процесі виконання стартап-проекту було розглянуто та проаналізовано основні зовнішні та внутрішні ризики в процесі впровадження стартапу, здійснено порівняння продукту з ринковими аналогами, проведено аналіз потенційних споживачів стартап-продукту.

Було проведено розрахунок ціни продукту, проаналізовано ризики стартап-проекту та визначено основні методи управління ними.

Отже, за результатами розрахунків проєктований стартап-проект може бути реалізованим, за техніко-економічними показниками він є вигідним і принесе прибуток.

					<i>МД 162.БТ-5123. 00.000 ПЗ</i>	<i>Арк.</i>
<i>Зм.</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ докцм.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>		108

ВИСНОВКИ

1. Наведено основну нормативно-технічну документацію на сировину, проміжні продукти та на готову продукцію. Основними НТД для продукції є ДСТУ EN 13532:2015. Медичні вироби для діагностики *in vitro* для самотестування. Загальні вимоги та Технічний регламент щодо медичних виробів для діагностики *in vitro*.
2. Здійснено аналіз ринку продукту та обґрунтування потужності виробництва. Очікувана потужність виробництва становить 5,6 млн тестів на рік.
3. Наведена характеристика кінцевої продукції виробництва. Проектований виріб призначений для візуального напівкількісного визначення глюкози в цільній крові людини. В основі дії продукту лежить реакція ферментативного окислення глюкози до глюконової кислоти з утворенням пероксиду водню та окисленням барвника. Діапазон можливих до визначення концентрацій глюкози в крові становить 0,0-800 мг% (0,0-44,4 ммоль / л).
4. Наведене обґрунтування технології виробництва продукту, зокрема вибір основного ферменту, продуценту, параметрів біосинтезу, методів виділення та очистки ферменту. У процесі виробництва застосовується глибинне культивування продуценту *Aspergillus niger* van Tieghem ATCC 16888, з подальшим фільтруванням, механічною дезінтеграцією клітин продуценту, осадженням ферменту сульфатом амонію та очисткою іонообміною хроматографією. Обґрунтовано спосіб іммобілізації ферменту (поєднання фізичної адсорбції та утворення глутаральдегідових зшивок).

<p style="font-size: 1.2em; margin: 0;">МД 162.БТ-5123.00.00 ПЗ</p>							
					<p style="font-size: 1.2em; margin: 0;">Висновки</p>		
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата			
Розроб.		Чудрук А.О.			Д	109	118
Конс.					<p style="font-size: 1.2em; margin: 0;">КПІ ім. Ізгоря Сікорського ФБТ</p>		
Керівник		Поліщук В.Ю.					
Затверд.							

5. Наведено характеристику продуценту *Aspergillus niger* van Tieghem ATCC 16888, характеристику цільової сполуки та параметри біосинтезу.
6. Розроблено апаратурну схему виробництва та специфікацію з характеристиками основного обладнання.
7. Складено матеріальний баланс виробництва на один виробничий потік (повне завантаження ферменту на 1000 л), наведено перелік контрольних точок виробництва.
8. Наведено перелік відходів виробництва, методів їх знешкодження.
9. Здійснено проектування та креслення виробничих приміщень.
10. Здійснено розрахунки показників та характеристик стартап проекту. За результатами розрахунків проєктований стартап-проект може бути реалізованим, за техніко-економічними показниками він є вигідним і принесе прибуток.

					<i>МД 162.БТ-5123.00.00 ПЗ</i>	Арк.
Зм.	Арк.	№ докцм.	Підпис	Дата		110

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Наказ МОЗ України від 11.10.2017 № 1242 "Про затвердження переліку національних стандартів, відповідність яким надає презумпцію відповідності медичних виробів для діагностики in vitro вимогам Технічного регламенту щодо медичних виробів для діагностики in vitro". [Електронний ресурс]. URL: <https://moz.gov.ua/article/ministry-mandates/nakaz-moz-ukraini-vid-11102017--1242-pro-zatverdzhennja-pereliku-nacionalnih-standartiv-vidpovidnist-jakim-nadae-prezumpciju-vidpovidnosti-medichnih-virobiv-dlja-diagnostiki-in-vitro>
2. Резолюція зсідання «круглого столу» на тему: «Цукровий діабет. Міжнародний досвід. Проблеми та можливості в Україні». [Електронний ресурс]. URL: <http://komzdrav.rada.gov.ua/uploads/documents/30887.pdf>
3. Ткаченко В. І. Аналіз поширеності та захворюваності на цукровий діабет і його ускладнення серед населення України та у Київській області за 2004–2013 рр. / В. І. Ткаченко, Н. В. Видиборець, О. Ф. Коваленко // Здобутки клінічної і експериментальної медицини. - 2014. - № 2. - С. 177-182.
4. Схема принципа действия датчика АД-2 для анализаторов глюкозы "Эксан-Г", "EKSAN-G"с использованием ферментной мембраны. [Електронний ресурс]. URL: <https://www.laboway.ru/shablon.html?service/ad-2.html>
5. Брико Н.И. Глюкометры как факторы риска передачи инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи. / Брико Н.И., Дудукина Е.А. // Поликлиника, - 2015. - №3. - с. 111-115.

					<i>МД 162.БТ-5123. 00.00 ПЗ</i>			
<i>Зм.</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>				
<i>Розроб.</i>		<i>Чудук А.О.</i>			<i>Список використаних джерел</i>	<i>Стадія</i>	<i>Арк.</i>	<i>Аркушів</i>
<i>Конс.</i>						<i>Д</i>	111	118
<i>Керівник</i>		<i>Поліщук В.Ю.</i>			<i>КПІ ім. Ігоря Сікорського ФБТ</i>			
<i>Затверд.</i>								

6. Nar, Rukiye. Can we trust the positivity of semi-quantitative glucose measurement in the urine? / Nar, Rukiye & Avci, Bahattin // Journal of Experimental and Clinical Medicine. – 2018 - №34. 10.5835/jecm.omu.34.03.004.
7. Козак Х. І. Поширеність аліментарного ожиріння і фактори, що сприяють його розвитку / Х. І. Козак, М. І. Марущак // Медсестринство. – 2013. – No 3. – С. 27-29.
8. Whyte W. Cleanroom Technology: Fundamentals of Design, Testing and Operation. / Whyte W. – Wiley – 2011 – 384 p. - ISBN: 978-1-119-96559-6.
9. Постанова Кабінету Міністрів України від 2 жовтня 2013 р. № 754 Про затвердження Технічного регламенту щодо медичних виробів для діагностики in vitro. [Електронний ресурс]. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/754-2013-%D0%BF#Text>
10. ДСТУ EN ISO 15223-1:2018 Засоби медичної техніки. Умовні позначки на етикетках засобів медичної техніки, маркування та обов'язкові відомості. Частина 1. Загальні вимоги (EN ISO 15223-1:2016, IDT; ISO 15223-1:2016, Corrected version 2017-03, IDT) – Київ.: ДП «УкрНДНЦ», 2018. – 42 с.
11. ДСТУ EN ISO 18113-4:2018 Вироби медичні для діагностики in vitro. Інформація, яку надає виробник (маркування). Частина 4. Реактиви для діагностики in vitro для самоконтролю. – Київ.: ДП «УкрНДНЦ», 2018. – 36 с.
12. Ferri S. Review of glucose oxidases and glucose dehydrogenases: a bird's eye view of glucose sensing enzymes. / Ferri S, Kojima K, Sode K. // *J Diabetes Sci Technol.* – 2011. – 5(5). – 1068-1076. doi:10.1177/193229681100500507
13. Hu, Jamie. The evolution of commercialized glucose sensors in China. / Hu, Jamie. – *Biosensors & bioelectronics.* – 2008 – 24. – 1083-9. 10.1016/j.bios.2008.08.051.
14. Romanos M.A. Foreign gene expression in yeast: a review. / Romanos M.A., Scorer C.A., Clare J.J. // *Yeast.* - 1992 - Jun; 8(6):423-88.

										МД 162.БТ-5123. 00.00 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата							112

15. Belyad F. Expression, characterization and one step purification of heterologous glucose oxidase gene from *Aspergillus niger* ATCC 9029 in *Pichia pastoris*. / Belyad F, Karkhanei AA, Raheb J. // *EuPA Open Proteom.* 2018;19:1-5. Published 2018 Sep 3. doi:10.1016/j.euprot.2018.09.001
16. Ветошкин А.Г. методы и аппаратура для гидродинамического пеногашения в процессах микробиологического синтеза. / Ветошкин А.Г. – Химико-фармацевтический журнал, 2004.-N 10.-С.32-34
17. Патент США US2926122A. Метод отримання глюкозооксидази. [Электронный ресурс]. URL: <https://patents.google.com/patent/US2926122A/en>
18. Патент СРСР 212945. Способ получения ферментного препарата глюкозооксидази. [Электронный ресурс]. URL: <https://findpatent.ru/patent/21/212945.html>
19. Singh, Jagdish. Partition of glucose oxidase from *Aspergillus niger* in aqueous two-phase systems based on salt and polyethylene glycol. / Singh, Jagdish, Verma, Neelam // *Braz. arch. biol. technol.* – 2010. - vol.53,. - n.5 pp.1051-1056.
20. Ferreira, L.F.P. Purification of Glucose Oxidase from *Aspergillus niger* by Liquid—Liquid Cationic Reversed Micelles Extraction. / Ferreira, L.F.P., Taqueda, M.E., Converti, A., Vitolo, M. and Pessoa, A., Jr. // *Biotechnol Progress*, - 2005 - 21: 868-874. doi:[10.1021/bp049623x](https://doi.org/10.1021/bp049623x)
21. Zia MA. Biosensor Fabrication for the Blood Glucose Level Determination. / Zia MA, Riaz N, Ahmed I // *Electronic J Biol*, - 2016 - 12:2
22. Wingfield P. Protein precipitation using ammonium sulfate. / Wingfield P. - *Curr Protoc Protein Sci.* - 2001; Appendix 3: Appendix-3F. doi:10.1002/0471140864.psa03fs13
23. Голикова Е.П. Синтез стабильных биокатализаторов на основе глюкозооксидазы, иммобилизованной на неорганические носители. [Электронный ресурс]. URL: https://diss.muotr.ru/media/dissertations/2019/02/Golikova_dis_17_02_19.pdf

						МД 162.БТ-5123. 00.00 ПЗ	Арк. 113
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата			

24. Wang, Xiuyun & Uchiyam, Shunichi. Polymers for Biosensors / Wang, Xiuyun & Uchiyam, Shunichi. // Construction. – 2013 - 10.5772/54428.
25. Salem M. Revisiting glutaraldehyde cross-linking: the case of the Arg-Lys intermolecular doublet. / Salem M, Mauguen Y, Prangé T. // Acta Crystallogr Sect F Struct Biol Cryst Commun. 2010;66(Pt 3):225–228. doi:10.1107/S1744309109054037
26. *Aspergillus niger* taxonomy. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.uniprot.org/taxonomy/5061>
27. Gugnani, Harish. Ecology and taxonomy of pathogenic *Aspergilli*. / Gugnani, Harish. - Frontiers in bioscience : a journal and virtual library. – 2003 - 8. s346-57. 10.2741/1002.
28. *Aspergillus niger* Tieghem. JCM Catalogue. [Электронный ресурс]. URL: https://www.jcm.riken.jp/cgi-bin/jcm/jcm_keyword?AN=Aspergillus&BN=niger&CN=&DN=
29. Cairns TC. How a fungus shapes biotechnology: 100 years of *Aspergillus niger* research. / Cairns TC, Nai C, Meyer V. // *Fungal Biol Biotechnol.* - 2018; - 5:13. Published 2018 May 24. doi:10.1186/s40694-018-0054-5
30. *Aspergillus niger* van Tieghem (ATCC® 16888™). [Электронный ресурс]. URL: https://www.lgcstandards-atcc.org/Products/All/16888.aspx?geo_country=ua#generalinformation
31. T. Jithendaret al. Enrichment of Glucose oxidase production by *Aspergillus niger* PIL7 insubmerged cultivation based on Conventional Optimization Approach / Journal of Pharmacy Research 2014,8(10),1462-1466
32. Sarrafzadeh M. H. Use of cheap media to enhance glucose oxidase production during batch cultivation of *Aspergillus niger*. / Sarrafzadeh M. H., Jafari A. R. // Pak. J. Biotechnol. - 5, - 2008 - 1812–1837.
33. Ahmad, Irshad. Propagation of *Aspergillus niger* in Stirred Fermentor for the Production of Glucose Oxidase. / Ahmad, Irshad & Islam, Zia Ul & Yu, Zhisheng & Javed, Muhammad // Journal of Pure and Applied Microbiology. – 2014 - 8.

					МД 162.БТ-5123. 00.00 ПЗ	Арк.
Эм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		114

- 34.Ferri, S. Review of glucose oxidases and glucose dehydrogenases: a bird's eye view of glucose sensing enzymes. / Ferri, S., Katsuhiko, K., and Koji, S. // *J. Diabetes Sci. Technol.* – 2011 - 5, 1068–1076. doi: 10.1177/193229681100500507
- 35.Dubey MK. Improvement Strategies, Cost Effective Production, and Potential Applications of Fungal Glucose Oxidase (GOD): Current Updates. / Dubey MK, Zehra A, Aamir M, et al. // *Front Microbiol.* - 2017;8:1032. Published 2017 Jun 13. doi:10.3389/fmicb.2017.01032
- 36.Sandip B. Glucose oxidase — An overview. / Sandip B. Bankar, Mahesh V. Bule, Rekha S. Singhal, Laxmi Ananthanarayan // *Biotechnology Advances*, Volume 27, Issue 4, 2009, Pages 489-501
- 37.Наказ Міністерства охорони здоров'я України від 14 грудня 2001 року № 502 "Про затвердження методичних рекомендацій щодо виконання санітарно-гігієнічних вимог та проведення мікробіологічного контролю у виробництві нестерильних лікарських засобів". [Електронний ресурс]. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/rada/show/v0502282-01#Text>
- 38.Силаев А.В. Микробиологическая безопасность и стабильность продукции-основа успеха производителя / Силаев А.В., Громова П.В. // *Пиво и напитки.* 2005. №3.
- 39.ДСТУ ISO 14644-1:2009 (ISO 14644-1:1999, IDT). Чисті приміщення і пов'язані з ними контрольовані середовища. Частина 1: Класифікація чистоти повітря – Київ.: ДП «УкрНДНЦ», 2009. – 16 с.
- 40.Новоселов А.Г. Разработка и проектирование ферментационного оборудования для аэробного культивирования одноклеточных микроорганизмов: Учеб.-метод. пособие. / А.Г. Новоселов, Ю.Н. Гуляева, А.Б. Дужий, А.В. Сивенков. – СПб.: НИУ ИТМО; ИХиБТ, 2014. – 91 с.
- 41.Kilikian, B. V. Liquid-liquid extraction by reversed micelles in biotechnological processes. / Kilikian, B. V., Bastazin, M. R., Minami, N. M., Gonçalves, E. M. R., & Junior, A. P.. // *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, - 2000 - 17(1), 29-38.

						МД 162.БТ-5123. 00.00 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ док.м.	Підпис	Дата			115

42. Zia M. A. Evaluation of antimicrobial activity of glucose oxidase from *Aspergillus niger* EBL-A and *Penicillium notatum*. / Zia M. A., Riaz A., Rasul S., Abbas R. Z. // Braz. Arch. Biol. Technol. – 2013 - 56, 956–961. 10.1590/S1516-89132013005000010
43. V. N. Pyeshkova Application of silicalite for improvement of enzyme adsorption on the stainless steel electrodes / V. N. Pyeshkova, O. Y. Dudchenko, O. O. Soldatkin, I. S. Kucherenko, B. Ozansoy Kasap, B. Akata Kurc, S. V. Dzyadevych // Biopolymers and Cell. 2014. Vol. 30. N 6. P. 462–468
44. House JL. Immobilization techniques to avoid enzyme loss from oxidase-based biosensors: a one-year study. / House JL, Anderson EM, Ward WK. // *J Diabetes Sci Technol*. 2007;1(1):18-27. doi:10.1177/193229680700100104
45. Елинов Н.П. Основы биотехнологии для студентов институтов; аспирантов и практических работников. / Елинов Н.П. - СПб: Издательская фирма "Наука", 1995. - 600 с.
46. Перушкина Е.В., Хабибуллина А.Р., Александровский С.А. Выбор способа очистки отработанного воздуха при культивировании спорообразующих бактерий // Вестник Казанского технологического университета – 2014. – vol. 17, no. 19 – pp. 237-239.
47. Щелкунов, С.Н. Генетическая инженерия: учеб.-справ. пособие. – 2-е, изд., испр. и доп. – Новосибирск: Сиб. унив. изд-во, 2004. – 496 с.; ил.
48. Правила организации чистых производств и контроля качества изделий медицинского назначения из полимеров, тканых и нетканых материалов, имеющих контакт с кровью. [Электронный ресурс]. URL: <https://files.stroyinf.ru/Data2/1/4294815/4294815188.pdf>
49. Абдрасилова Г.С. Проектирование фармацевтических предприятий / Г.С. Абдрасилова, А.Ш. Баракова, Э.Т. Мурзагалиева, А.К. Туякаева // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2017. – № 5 (часть 2) – С. 362-366.



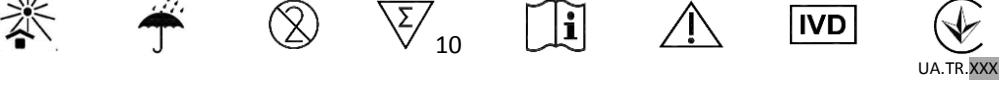


					МД 162.БТ-5123. 00.00 ПЗ	Арк.
Эм.	Арк.	№ докум.	Подпис	Дата		116

50. Азембаев А.А. Инженерно-технические характеристики чистой комнаты согласно требованиям стандарта GMP / А.А. Азембаев, Р.А. Утеев, Г.К. Адибаева, А.С. Калыкова // Фармацевтические науки. – 2012. – 201-206 с.
51. Чиркіна М.А. проектування хімічних виробництв: методичні вказівки до вивчення дисципліни та контрольні завдання / Укладачі: М. А. Чиркіна. – Х: НУЦЗУ, 2015. – 32 с.
52. ГОСТ 10704-91 Трубы стальные электросварные прямошовные. Сортамент (с Изменениями N 1, 2). – Москва.: Стандартинформ, 2007. – 22 с.

					<i>МД 162.БТ-5123. 00.00 ПЗ</i>	<i>Арк.</i>
<i>Зм.</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>		117

ДОДАТОК А

Проект етикетки виробу

	<p align="center">Gluco visual / Глюко візуал</p> <p align="center">Тест-смужки для візуального напівкількісного визначення глюкози в цільній крові</p> <p>10 тест-смужок для самоконтролю. Візуальний діапазон визначення 1,1-44,4 ммоль / л.</p> <p>Увага! Тільки для in vitro діагностики Зберігати при температурі +2 - +25 °С. Уникати підвищеної вологості та прямого сонячного проміння. Перед застосуванням ознайомитися з інструкцією.</p>										
											
	<p>Назва виробника _____ Адреса виробництва _____</p>										
<p>партія</p> <p>LOT</p>											
<p align="center">Концентрація глюкози, мг% (ммоль / л)</p> <table border="1"> <tr> <td>0,0 (0,0)</td> <td>20,0 (1,1)</td> <td>40,0 (2,2)</td> <td>70,0 (3,9)</td> <td>110 (6,1)</td> </tr> <tr> <td>150,0 (8,3)</td> <td>200 (11,1)</td> <td>300,0 (16,7)</td> <td>600,0 (33,3)</td> <td>800,0 (44,4)</td> </tr> </table>		0,0 (0,0)	20,0 (1,1)	40,0 (2,2)	70,0 (3,9)	110 (6,1)	150,0 (8,3)	200 (11,1)	300,0 (16,7)	600,0 (33,3)	800,0 (44,4)
0,0 (0,0)	20,0 (1,1)	40,0 (2,2)	70,0 (3,9)	110 (6,1)							
150,0 (8,3)	200 (11,1)	300,0 (16,7)	600,0 (33,3)	800,0 (44,4)							

					<i>МД 162.БТ-5123. 00.00 ПЗ</i>		
<i>Зм.</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>	<i>ДОДАТОК А</i>		
<i>Розроб.</i>	<i>Чудук А.О.</i>				<i>Стадія</i>	<i>Арк.</i>	<i>Аркушів</i>
<i>Конс.</i>					<i>Д</i>	118	118
<i>Керівник</i>	<i>Поліщук В.Ю.</i>				<i>КПІ ім. Ігоря Сікорського ФБТ</i>		
<i>Затверд.</i>							