

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ**  
**НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ**

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

«До захисту в ЕК»  
Директор інституту (декан факультету)

Наталія ГРЕГІРЧАК  
(підпис) (прізвище та ініціали)

«\_\_» \_\_ лютого 2024 р.

«До захисту допущено»  
Завідувач кафедри

Віктор СТАБНІКОВ  
(підпис) (прізвище та ініціали)

«\_\_» \_\_ лютого 2024 р.

**КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА**  
**НА ЗДОБУТТЯ ОСВІТНЬОГО СТУПЕНЯ БАКАЛАВРА**

зі спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія»  
(код та назва спеціальності)  
освітньо-професійної програми «Біотехнології: фармацевтична, промислова, харчова, природоохоронна»  
на тему: Культивування *Penicillium griseofulvum* з метою одержання гризеофульвіну

Виконав: здобувач V курсу, групи 1

НЕКРАСОВА Єлизавета Вікторівна  
(прізвище, ім'я, по батькові повністю) (підпис)

Керівник КАРЛАШ Юрій Васильович  
(прізвище, ім'я та по батькові повністю) (підпис)

Консультанти \_\_\_\_\_  
(прізвище та ініціали) (підпис)

Рецензент Вікторія СТОЙКО  
(прізвище та ініціали) (підпис)

Я, як здобувач(-ка) Національного університету харчових технологій, розумію і підтримую політику університету з академічної доброчесності. Я не надавав(-ла) і не одержував(-ла) недозволеної допомоги під час підготовки цієї роботи. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело.

Здобувач \_\_\_\_\_  
(підпис)

Київ – 2024 р.

# НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ

Інститут (факультет) Біотехнології та екологічного контролю

Кафедра біотехнології і мікробіології

Освітній ступінь бакалавр

Спеціальність 162 «Біотехнології та біоінженерія»  
(код і назва)

Освітньо-професійна програма « Біотехнології: фармацевтична  
промислова, харчова, природоохоронна»  
(назва)

**ЗАТВЕРДЖУЮ**

Завідувач кафедри біотехнології і  
мікробіології

Віктор СТАБНИКОВ

“ 30 ” жовтня 2023 року

## ЗАВДАННЯ

### НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ ЗДОБУВАЧА

НЕКРАСОВОЇ Єлизавети Вікторівни

(прізвище, ім'я, по батькові)

1. Тема роботи Культивування *Penicillium griseofulvum* з метою одержання  
гризеофульвіну

керівник роботи КАРЛАШ Юрій Васильович, к.т.н., доц.

(прізвище, ім'я, по батькові, науковий ступінь, вчене звання)

затверджені наказом закладу вищої освіти від 6 листопада 2023 року № 915-кв

2. Строк подання здобувачем роботи 29.01.2024

3. Вихідні дані до роботи біологічний агент *Penicillium griseofulvum*.,  
цільовий продукт: гризеофульвін, геометричний об'єм ферментеру 10 м<sup>3</sup>,  
коефіцієнт заповнення – 0,65.

4. Зміст пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно розробити)  
РОЗДІЛ1 Характеристика гризеофульвіну. РОЗДІЛ2 Характеристика  
біологічного агента. РОЗДІЛ3. Обґрунтування вибору технологічної схеми  
виробництва. РОЗДІЛ 4. Техніко-економічне обґрунтування.  
РОЗДІЛ5. Обґрунтування вибору стадій виробництва. РОЗДІЛ6. Опис  
технологічної схеми. РОЗДІЛ7. Специфікація обладнання. РОЗДІЛ8.  
Контроль виробництва. РОЗДІЛ9. Охорона довкілля.

5. Перелік графічного матеріалу

Технологічна схема виробництва гризеофульвіну 1 аркуш формату А1 та  
один аркуш формату А2. Апаратурна схема виробництва гризеофульвіну -2  
аркуші формату А1

## 6. Консультанти розділів роботи

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

7. Дата видачі завдання 06 листопада 2023 року

## КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№	Назва етапів виконання кваліфікаційної роботи	Строк виконання етапів роботи	Примітка
1	Характеристика гризеофульвіну	06.11.2023 – 11.11.2023	
2	Обґрунтування вибору та характеристика біологічного агента	11.11.2023 – 15.11.2023	
3	Техніко-економічне обґрунтування гризеофульвіну	16.11.2023 – 26.11.2023	
4	Обґрунтування вибору технологічної схеми виробництва гризеофульвіну	27.12.2023 – 02.01.2024	
5	Специфікація обладнання виробництва гризеофульвіну	03.01.2024 – 08.01.2024	
6	Опис технологічної схеми біосинтезу гризеофульвіну	09.01.2024 – 15.01.2024	
7	Контроль виробництва гризеофульвіну	16.01.2024 – 20.01.2024	
8	Охорона довкілля	20.01.2024 – 22.01.2024	
9	Оформлення пояснювальної записки	21.01.2024 – 23.01.2024	
10	Виконання графічної частини проекту	24.01.2024 – 31.01.2024	

Здобувач \_\_\_\_\_  
(підпис)

Єлизавета НЕКРАСОВА  
(ім'я та прізвище)

Керівник роботи \_\_\_\_\_  
(підпис) (ім'я та прізвище)

Юрій КАРЛАШ

## Реферат

Кваліфікаційна робота присвячена розробленню технології біосинтезу гризеофульвіну культивуванням *Penicillium griseofulvum* FH1816.

Здатність до синтезу гризеофульвіну виявлена у представників виду *Penicillium griseofulvum*. В процесі огляду представників даного роду було встановлено що *Penicillium griseofulvum* FH1816 є оптимальним біологічним агентом для синтезу гризеофульвіну в порівнянні з іншими продуцентами через найкращі показники, а саме найбільша кількість синтезованого гризеофульвіну (30,751 г/л) найбільша кількість синтезованого продукту за год (0,0915 г/год), та найменшу умовну вартість 1 г цільового продукту (0,45 грн/г).

Технологія отримання гризеофульвіну передбачає періодичне культивування глибинним способом з постійним внесенням повітря, а сам технологічний процес отримання гризеофульвіну складається з допоміжних робіт (приготування та стерилізація титрувальних агентів для регуляції рівня рН поживного середовища і приготування та стерилізація поживного середовища) та технологічного процесу (підготовка посівного матеріалу *Penicillium griseofulvum* FH1816 та виробничий біосинтез гризеофульвіну).

Кваліфікаційна робота складається з вступу, п'яти розділів та списку використаної літератури (22 найменувань). Загальний обсяг роботи – 43 сторінки, 4 рисунки та 9 таблиць.

**Ключові слова:** *Penicillium griseofulvum* FH1816, гризеофульвін, *Penicillium*.

## Зміст

Реферат .....	1
Вступ.....	5
Розділ 1. Характеристика гризеофульвіну.....	6
Розділ 2. Характеристика біологічного агента.....	9
2.1. Таксономічний статус.....	9
2.2. Морфолого-культуральні ознаки.....	9
2.3. Фізіолого-біохімічні ознаки.....	10
2.4. Схема біотрансформації ростового субстрату.....	10
Розділ 3. Обґрунтування вибору технологічної схеми виробництва.....	12
3.1. Обґрунтування вибору біологічного агента.....	12
3.2. Обґрунтування вибору умов культивування.....	17
3.3. Розрахунок кількості необхідних стадій підготовки посівного матеріалу.....	17
3.4. Наведення складу поживного середовища.....	21
3.5. Обґрунтування способу приготування і стерилізації поживного середовища для одержання інокуляту і виробничого біосинтезу.....	22
Розділ 4. Техніко-економічне обґрунтування.....	25
4.1. Потреба в гризеофульвіні.....	25
4.2. Розрахунок потужності виробництва гризеофульвіну.....	28
4.3. Розрахунок кількості виробничих циклів та геометричного об'єму ферментера.....	28
4.4. Розрахунок кількості стадій підготовки посівного матеріалу.....	29
Розділ 5. Обґрунтування вибору стадій виробництва.....	33
5.1. Обґрунтування способу культивування і типу ферментера.....	33
5.2. Обґрунтування стадій підготовки повітря.....	34
5.3. Вибір мийних та дезінфікуючих засобів.....	35
5.4. Особливості підготовки та стерилізації поживного середовища.....	36
5.5. Приготування титрувальних агентів.....	42

Розділ 6. Опис технологічної схеми .....	43
РОЗДІЛ 7. Специфікація обладнання	
Розділ 8. Контроль виробництва.....	59
8.1 Мікробіологічний контроль .....	59
8.2 Визначення концентрації джерела азоту та вуглецю .....	60
8.3 Визначення концентрації цільового продукту.....	61
Розділ 9. Охорона довкілля .....	73
9.1 Аналіз технологічної схеми виробництва цільового продукту на місцях емісії твердих, рідких та газоподібних відходів.....	73
9.2 Перспективи впровадження системи екологізації виробництва .....	73
9.2.1 Система знешкодження та утилізації рідких відходів .....	74
9.2.2 Система знешкодження та утилізації газоповітряних відходів .....	75
9.2.3 Система знешкодження та утилізації твердих відходів .....	76

ЛІТЕРАТУРА

ДОДАТКИ

## Вступ

Розвиток біотехнології та математики сприяли появі великої кількості нових лікарських засобів, або переосмисленню старих препаратів та знаходження нових можливих варіантів їх застосуванню, з меншою витратою часу в порівнянні з звичним методами. Так на сьогодні використання обчислювального та біоінформаційного аналізу призвело до революційних змін в наукових відкриттях.

Гризеофульвін це природний протигрибковий засіб затверджений Управлінням з продовольства і медикаментів США та використовується в клінічній практиці з 1959 року для лікування дерматрофітних інфекцій. Протягом останніх десятиліть цей фунгістатичний засіб набув все більшого інтересу для багатофункціонального застосування завдяки його потенціалу, за допомогою згаданих методів виявлено потенціал для лікування раку, гепатиту С і SARS-CoV-2, даний визначення є теоретичним а підтвердження даних властивостей на сьогодні знаходиться на стадії експериментальних досліджень. В результаті подальші дослідження даної речовини можуть виявити нові можливі застосування, або підтвердити вже встановлені за допомогою аналізів теоретичні застосування, а враховуючи що пошук перспективних продуцентів, або оптимізація синтезу припала на час початку клінічного застосування та майже в останні десятиліття не розглядалась, потрібно досліджувати можливі варіанти надсинтезу даної речовини.

Тому на сьогодні є актуальним пошук нових способів синтезу гризеофульвіну, для отримання збільшеного кількісного виходу даної речовини, а також впровадження різних варіантів для зменшення собівартості кінцевого продукту.

					<b>НУХТ БТЕК 05.01.28 КР ПЗ</b>			
<i>Зм</i>	<i>Дрк</i>	<i>№</i>	<i>Підпис</i>	<i>Ла</i>	<b>ВСТУП</b>	<i>Літер</i>	<i>Анквш</i>	<i>Анквшів</i>
<i>Розробни</i>	<i>Некрасова В</i>							
<i>Керівник</i>	<i>Капаш Ю.</i>						7	87
<i>Н. контп</i>								
<i>Консульт</i>								
<i>Зав. каф.</i>	<i>Стабніков</i>					<b>Кафедра БТМ <sup>7</sup></b>		

## Розділ 1. Характеристика гризеофульвіну

Гризеофульвін є природним протигрибковим полікетидним метаболітом, що виробляється переважно аскоміцетами, який вперше було виявлено та виділено з *Penicillium griseofulvum* у 1939 році. Структурне зображення даної речовини наведено на рис. 1.1, хімічна формула  $C_{17}H_{17}ClO_6$ , молекулярна маса 352,5 г/моль [1].

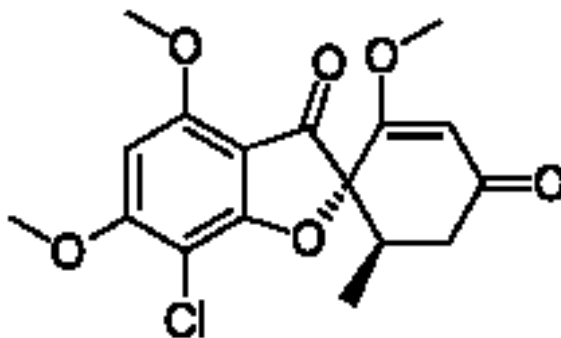


Рис. 1.1. Структурна формула гризеофульвіну

Гризеофульвін є грибковим вторинним метаболітом, який розчиняється в етанолі та метанолі, але погано розчиняється у воді [2]. Однією з помітних властивостей гризеофульвіну є його здатність переносити тепловий стрес і підтримувати свою функцію при високій температурі 121 °С без втрати функціональних властивостей [3].

### Фармакодинаміка та фармакінетика

Гризеофульвін є антибіотиком, що продукується пліснявим грибом *Penicillium griseofulvum*, фунгістатичним засобом, активним відносно різних дерматоміцетів (трихофітонів, мікроспорумів, епідермофітонів). Препарат інгібує ділення грибових клітин у метафазі, порушуючи структуру мітотичного веретена. Гризеофульвін різною мірою накопичується в клітинах шкіри, волосся, нігтів, забезпечуючи резистентність до грибової інфекції. З відмиранням ураженого кератину відбувається заміна його здоровим.

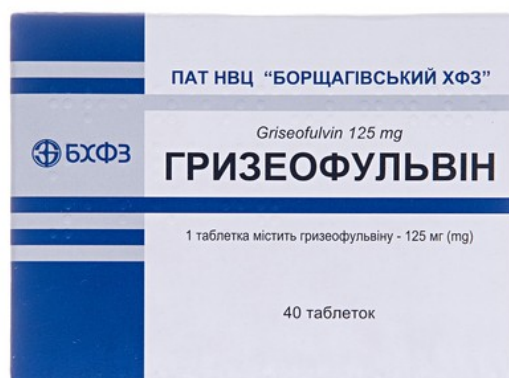
					<b>НУХТ БТЕК 05.01.28 КР ПЗ</b>		
Зм.	Арк.	№	Підпис	Да			
Розробник	Некрасова Є.				Ліценз.	Анкв.ш.	Анкв.літ.
Керівник	Каплай Ю.					8	87
Н. контр.					<b>РОЗДІЛ 1.</b> <b>ХАРАКТЕРИСТИКА</b> <b>Кафедра БТМ 8</b>		
Консульт.							
Зав. каф.	Стабніков						

Гризеофульвін зазвичай використовується перорально, хоча погане всмоктування в кишечнику може призвести до неефективності лікування. Деякі дослідження демонструють, що засвоєння та ефективність гризеофульвіну різко збільшуються при дієті з високим вмістом жирів [4], підвищення біодоступності може відбуватись за рахунок високої ефективності інкапсуляції препарату в невеликий розмір ліпосоми. Всмоктування гризеофульвіну є найбільшим у дванадцятипалій кишці та найменшим у шлунку, при потраплянні в товстий кишечник він майже не всмоктується [5].

При пероральному введенні спостерігається накопичення гризеофульвіну в печінці, в той час як використання внутрішньовенного введення призводить до зменшення накопичення в печінці та збільшення в легенях [6]. Час реакції залежить від товщини кератину в місці ін'єкції. Відповідно, лікування грибкових інфекцій нігтів може зайняти більше часу, ніж інфекцій волосся або шкіри. Біологічний період напіврозпаду гризеофульвіну становить від 9 до 21 години в крові, і він виводиться у вигляді метаболітів 6-десметилгризеофульвіну (6-DMG) і 4-десметилгризеофульвіну (4-DMG) із сечею та калом.

### **Застосування гризеофульвіну**

Гризеофульвін в основному використовується для лікування дерматрофітних інфекцій, а саме для лікування мікоз шкіри, волосся та нігтів, спричинені грибками роду *Trichophyton*, *Microsporum*, *Erydermophyton*: трихофітія, фавус, мікроспорія волоссяної частини голови та гладенької шкіри, епідермофітія шкірних покривів (у т.ч. пахова епідермофітія), дерматомікози стоп та кистей, оніхомікози [2, 7].



*Рис. 1.2. Препарати гризеофульвіну*

Також дана речовина може використовуватись у сільському господарстві в якості засобу для захисту рослин для запобігання колонізації грибків та інфекції [8]. У дослідженні раку гризеофульвін продемонстрував інгібіторну дію на поділ ракових клітин і може викликати загибель клітин через взаємодію з мікротрубочками мітотичного веретена [9]. Крім того, наявні дослідження демонструють що гризеофульвін може пригнічувати реплікацію вірусу гепатиту С, перешкоджаючи полімеризації мікротрубочок у клітинах людини [10].

## Розділ 2. Характеристика біологічного агента

### 2.1. Таксономічний статус

Таксономічний статус *Penicillium griseofulvum* FH1816 наведено згідно з [14]:

Домен: *Eukaryota*  
Царство: *Fungi*  
Відділ: *Ascomycota*  
Клас: *Eurotiomycetes*  
Порядок: *Eurotiales*  
Родина: *Trichocomaceae*  
Рід: *Penicillium*  
Вид: *Penicillium griseofulvum*  
Штам: *Penicillium griseofulvum* FH1816

### 2.2. Морфолого-культуральні ознаки

*Penicillium griseofulvum* FH1816 це вид мікроскопічних грибів роду *Penicillium*. Колонії на агарі Чапека досягають за 7 днів в діаметрі 1,8-2 см, пучкуваті, з середнім ступенем спороносіння з брудно-зеленим або сіро-зеленим забарвленням. Зазвичай присутні краплі безбарвного або жовтого ексудату. На звороті має від помаранчево-коричневого до червоно-коричневого забарвлення, іноді виділяється червонувато-коричневий розчинний пігмент. На СҮА колонії на 7 добу в діаметрі 2-3 см, зернисті, з кремовим, бежевим або коричневим реверсом, іноді з червонувато-коричневим розчинним пігментом. На агарі з солодовим екстрактом (МЕА) колонії інтенсивно спороносні, на зворотному боці спостерігається від білого до коричневого забарвлення. Колонії на агарі з дріжджовим екстрактом і сахарозою (ҮЕС) у діаметрі 3-4,5 см на 7 добу. [15].

					<b>НУХТ БТЕК 05.01.28 КР ПЗ</b>			
Зм	Арк.	№	Підпис	Ла				
Розробни	Некрасова Є				<b>РОЗДІЛ 2. ХАРАКТЕРИСТИКА БІОЛОГІЧНОГО АГЕНТА</b>	Літер	Арквнш	Арквншів
Керівник	Карлаш Ю.						11	87
Н. контр					<b>Кафедра БТМ<sub>11</sub></b>			
Консульт								
Зав. каф.	Стабніков							

Від головної осі спороносія вгору відгалужуються три послідовно коротші бічні осі, що несуть фіаліди. Головна вісь закінчується кінцевими фіалідами. Усі фіаліди мають форму пляшки (дуже короткі) і стоять на метулах. Кожна бічна вісь знаходиться трохи нижче перегородки, яка розділяє головну вісь. Конідіоспори округлі і утворюють довгі ланцюжки [16].

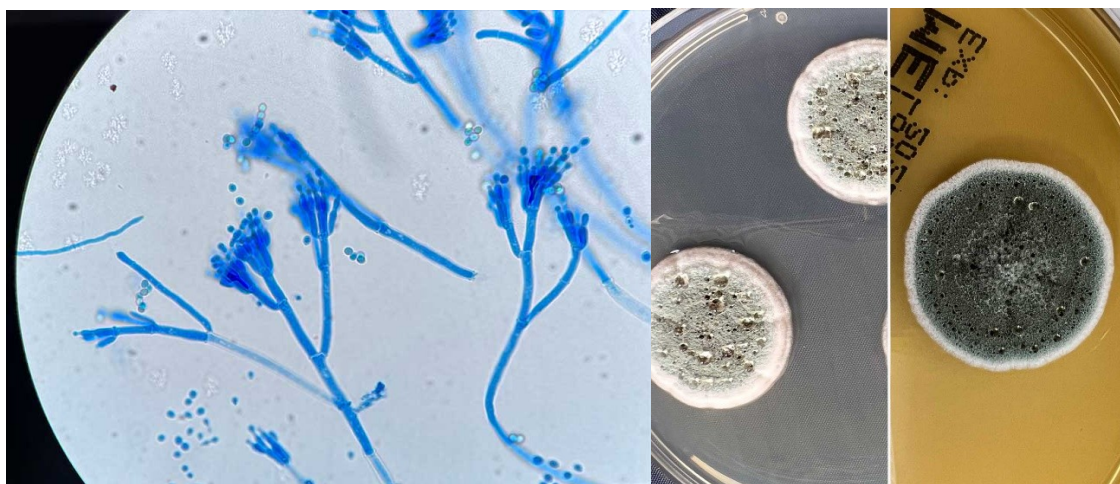


Рис. 2.1. Морфологічні (ліворуч) та культуральні (праворуч) ознаки

### *Penicillium griseofulvum* FH1816

#### 2.3. Фізіолого-біохімічні ознаки

*Penicillium griseofulvum* FH1816 може рости в діапазоні від 5 °С до 35 °С, з оптимальним значення для росту 23 °С. Даний представник спроможний синтезувати наступні метаболіти патулін, пеніфулвін А, циклопіазонову кислоту, рокфортин С, шикімову кислоту, іметилсаліцилову кислоту та гризеофульвін [14, 15].

#### 2.4. Схема біотрансформації ростового субстрату

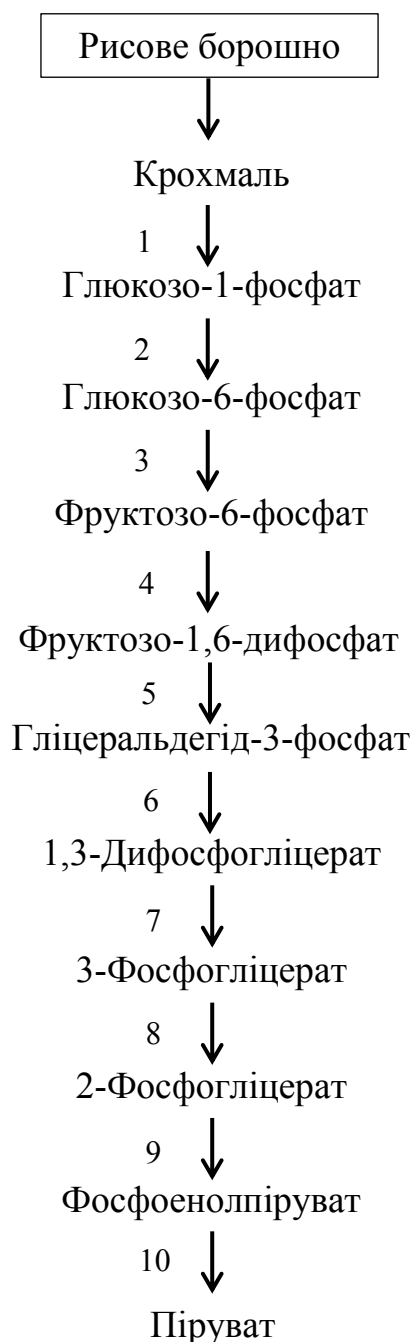
*Penicillium griseofulvum* FH1816 в якості джерела вуглецю може використовувати крохмаль. Схему метаболізму крохмалю *Penicillium griseofulvum* FH1816 у KEGG не наведено, тому розглянемо метаболізм спорідненого мікроорганізму – *Penicillium rubens* [17].

На початку катаболізму крохмаль під дією ферменту глікогенфосфорилази (КФ 2.4.1.1) перетворюється на глюкозо-1-фосфат – одну із проміжних сполук гліколізу [17]. Далі така речовина піддається ряду перетворень: на

глюкозо-6-фосфат під впливом фосфоглюкомутази (КФ 5.4.2.2), з якого синтезується фруктозо-6-фосфат за дії глюкозо-6-фосфат-ізомераз (КФ 5.3.1.9), а потім за рахунок активності 6-фосфотрикінази (КФ 2.7.1.11) перетворюється на фруктозо-1,6-дифосфат, який згодом перетворюється на гліцеральдегід-3-фосфат за впливу фруктозо-бісфосфатальдолази (КФ 4.1.2.13).

Далі синтез продовжується утворенням 1,3-дифосфогліцерату за рахунок дії гліцеральдегід-3-фосфатдегідрогенази (КФ 1.2.1.12), який перетворюється у подальшому на 3-фосфогліцерат за впливу фосфогліцераткінази (КФ 2.7.2.3). Відповідна сполука далі катаболізується у 2-фосфогліцерат під дією 2,3-бісфосфогліцератнезалежної фосфогліцератмутази (КФ 5.4.2.12), який далі перетворюється за дії енолази (КФ 4.2.1.11) на фосфоенолпіруват, з якого утворюється піруват за рахунок дії ферменту піруваткінази (КФ 2.7.1.40). Утворена сполука далі перетворюється під впливом альфа-субодиниці піруватферредоксиноксидоредуктази (КФ 1.2.7.1) на ацетил-КоА, що далі залучається до циклу трикарбонових кислот (ЦТК) [35]. Вищеописані перетворення зображено на рис. 2.2.

ЦТК у грибів *Penicillium tubens* функціонує наступним чином. Попередньо утворений ацетил-КоА під дією ферменту цитратсинтази (КФ 2.3.3.1) перетворюється на цитрат, з якого далі за використання аконітатгідратази (КФ 4.2.1.3) синтезується цис-Аконітат, який далі під дією того ж ферменту перетворюється на ізоцитрат, з якого за допомогою ізоцитратдегідрогенази (КФ 1.1.1.42) одержуємо 2-Оксоглутарат, який метаболізується на сукциніл-КоА за впливу 2-оксоглутаратдегідрогенази (КФ 2.3.1.61) [36].



**Рис.2.2 Шлях катаболізму крохмалю *Penicillium rubens***

Ферменти: 1 – глікогенфосфорилаза; 2 – фосфоглюкомутаза; 3 – глюкозо-6-фосфатна ізомераза; 4 – 6-фосфофруктокіназа; 5 – фруктоза-бісфосфатна альдолаза; 6 – Фосфогліцерат мутази; 7 – гліцеральдегід 3-фосфатдегідрогеназа; 8 – фосфогліцерат кіназа; 9 – енолаза; 10 – піруваткіназа.

З утвореної сполуки отримуємо сукцинат за рахунок активності сукциніл-КоА-синтетази (КФ 6.2.1.5). Згодом сукцинат під дією

сукцинатдегідрогенази (КФ 1.3.5.1) перетворюється на фумарат, з якого синтезується під впливом фумаратгідратази (КФ 4.2.1.2) малат, який потім перетворюється на оксалоацетат за дії малатдегідрогенази (КФ 1.1.1.37) (рис. 2.3) [36].

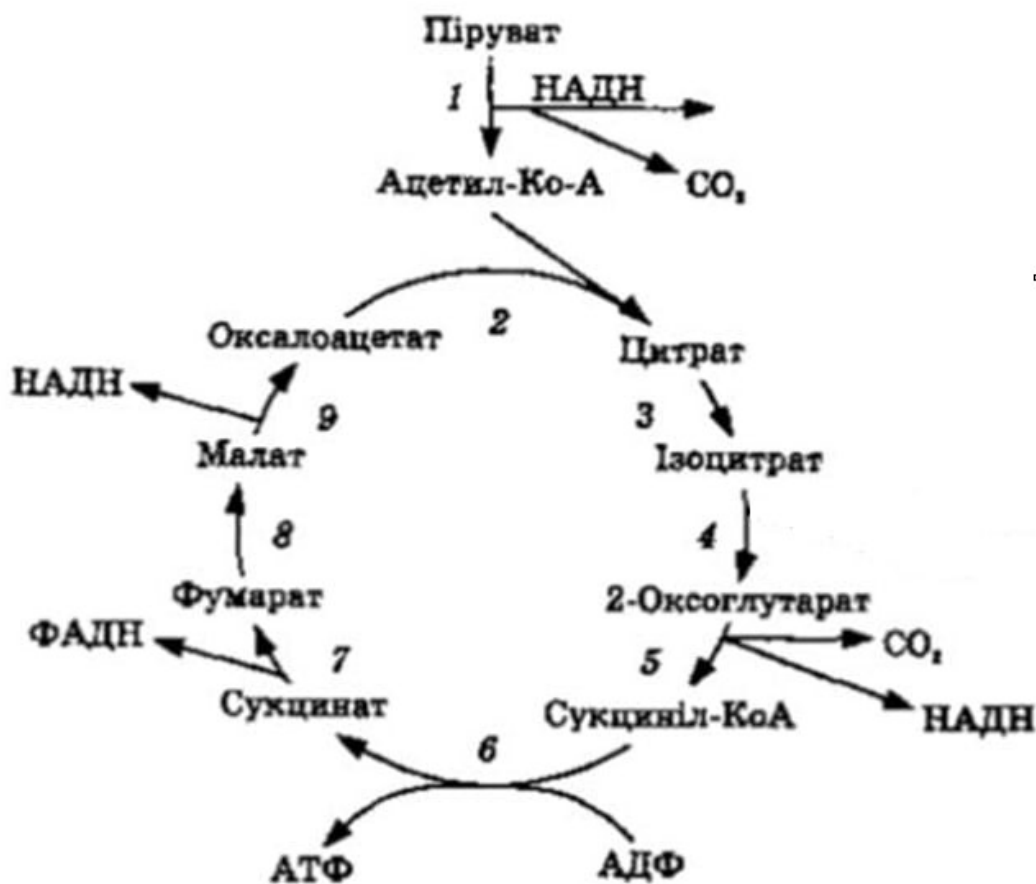


Рис. 2.3. Цикл трикарбонових кислот: ферменти: 1 – піруватдегідрогеназа; 2 – цитратсинтаза; 3 – аконітаза; 4 – ізоцитратдегідрогеназа; 5 – 2-оксоглутаратдегідрогеназа; 6 – сукцинаттіокіназа; 7 – сукцинатдегідрогеназа; 8 – фумараза; 9 – малатдегідрогеназа.

Варто зазначити, що попередньо утворений Ацетил-КоА є вихідною сполукою у синтезі антибіотику гризеофульвіну, а також залучається до синтезу ще однієї такої сполуки – Малоніл-КоА за дії ферменту ацетил-КоА-карбоксилази (КФ 6.4.1.2) [37].

Після одержання усіх необхідних компонентів далі відбувається і синтез самого гризофульвіну. Гризофульвін — це полікетид, отриманий з молекул-попередників ацетил- та малоніл-КоА з утворенням дегідрогризофульвіну. Кільцеві структури АВС гризофульвіну були вперше виявлені шляхом окисної деградації [38].

Процес синтезу такого полікетиду починається з утворення гептакетидного остіву, що ініціюється праймуванням ацетил-КоА, а потім проводиться послідовна конденсація шести молекул малоніл-КоА за допомогою першої метилтрансферази. Далі до процесу долучається метилаза, що бере участь у біосинтезі убіхінону/менахінону, та ще одна метилтрансфераза, яка сприяє синтезу гризофенону С. Наступним етапом є дія нуклеозид-дифосфат-цукрової дегідратази. Для формування проміжного продукту використовується комплекс з трьох метилтрансфераз, після чого в реакцію вступає коротколанцюгова дегідрогеназа. Завершальним етапом синтезу гризофульвіну є дія флавінзалежної галогенази [39].



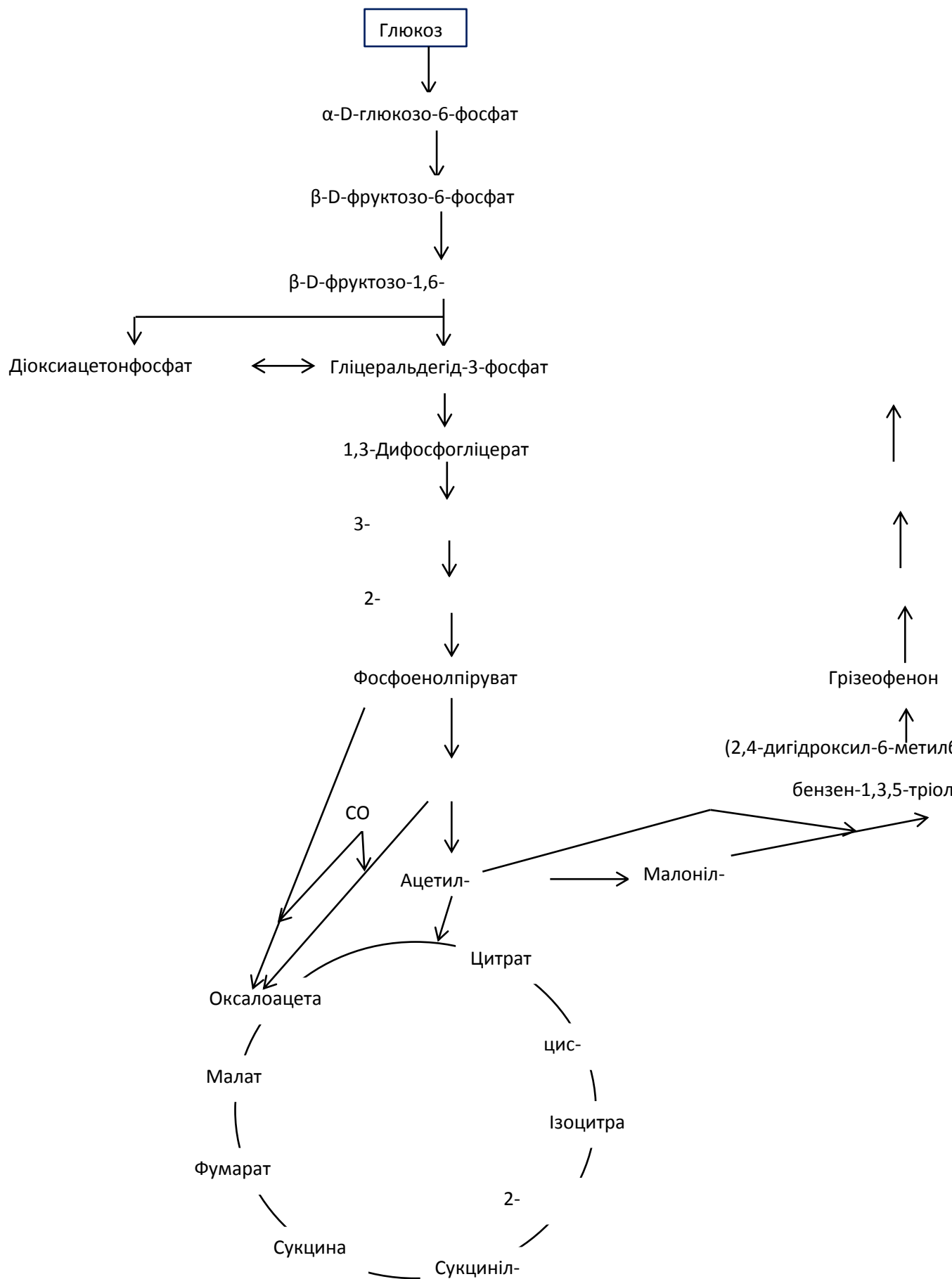


Рис 2.5. Схема біотрансформації рисового борошна *Penicillium griseofulvum* FH1816 у гризеофульвін

### Розділ 3. Обґрунтування вибору технологічної схеми виробництва

#### 3.1. Обґрунтування вибору біологічного агента

Гризеофульвін в основному синтезується представниками роду *Penicillium*, розглянемо декілька представників даного роду спроможних до синтезу даної речовини, порівняльна характеристика наведена в табл. 2.1.

*Penicillium griseofulvum* МТСС 1898 – вирощування даного представника відбувалось з використанням твердофазного методу культивування, в результаті синтезу було отримано найменшу кінцеву концентрацію гризеофульвіну (0,105 г/л) за відносно невеликий час культивування (216 год) [11].

Наявні статті, які демонструють що використання глибинного способу культивування гризеофульвіну є кращим в порівнянні з твердофазним. Так в статті [12] описано що представник *Penicillium griseofulvum* МТСС 1898 при вирощуванні за допомогою глибинного способу культивування характеризується меншим часом культивування (192 год), в порівнянні з твердофазним культивуванням, та в результаті синтезу кінцева концентрація гризеофульвіну приблизно в 7 разів вища (0,7432 г/л).

*Penicillium griseofulvum* FH1816 – мутантний штам, який характеризується найбільшою концентрацією синтезованого гризеофульвіну (30,751 г/л) в порівнянні з іншими розглянутими представниками, але недоліком даного біологічного агента є високий час культивування, необхідний для синтезу даної концентрації, (336 год) [13].

					<b>НУХТ БТЕК 05.01.28 КР ПЗ</b>		
<b>Зм</b>	<b>Дрк.</b>	<b>№</b>	<b>Підпис</b>	<b>Да</b>	<b>РОЗДІЛ 3. ОБґРУНТУВАННЯ ВИБОРУ</b>		
Розробни	Некрасова Є						
Керівник	Капаш Ю.						
Н. контп							
Консульта							
Зав. каф.	Стабніков				<b>Кафедра БТМ</b>		
					<b>Ліцен</b>	<b>Арквш</b>	<b>Арквшів</b>
						19	87
					19		

Розглянувши дані наведені в табл. 2.1, важко зробити вибір найкращого біологічного агента, так як у даних біологічних агентів показники концентрації гризеофульвіну, часу культивування та склад поживного середовища є різними. Опираючись на наведену інформацію можна зробити висновок, що для подальшого вибору біологічного агента для синтезу гризеофульвіну необхідно розглянути вартість поживного середовища (табл. 3.2).

## Порівняльна характеристика продуцентів гризеофульвіну

Продуцент	Склад поживного середовища, г/л	Концентрація гризеофульвіну, г/л	Тривалість культивування, год	Умови культивування	Література
<i>Penicillium griseofulvum</i> FH1816	Рисове борошно – 150; KН <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> – 6; FeSO <sub>4</sub> ×7H <sub>2</sub> O – 1; KCl – 8; NaCl – 10; (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> – 5; CaCO <sub>3</sub> – 3; MgSO <sub>4</sub> – 1.	30,751	336	pH 6,0, 30 °С, 15 % інокуляту, 180 об/хв	Pat. CN108823110B. Strain for producing griseofulvin and application thereof /吴松刚, 黄建忠, et all. Publ. 16.11.2018. <a href="https://patents.google.com/patent/CN108823110B/en?q=(griseofulvin+production)&amp;after=priority:20100101&amp;page=1">https://patents.google.com/patent/CN108823110B/en?q=(griseofulvin+production)&amp;after=priority:20100101&amp;page=1</a>
<i>Penicillium griseofulvum</i> MTCC 1898	Сахароза – 30; Дріжджовий екстракт – 5; K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> – 1; NaNO <sub>3</sub> – 3; KCl – 0,5; MgSO <sub>4</sub> ×7H <sub>2</sub> O – 0,5; FeSO <sub>4</sub> ×7H <sub>2</sub> O – 0,01.	0,7432	192	pH 6,0, 30 °С, 12 % інокуляту, 160 об/хв	Dasu V. V., Panda T. Optimization of microbiological parameters for enhanced griseofulvin production using response surface methodology. <i>Bioprocess Engineering</i> . 2000, 22(1): 45–49. doi:10.1007/pl00009099
<i>Penicillium griseofulvum</i> MTCC 1898	Рисові пластівці – 1 кг, Сахароза – 15; Дріжджовий екстракт – 2,5; NaNO <sub>3</sub> – 1,5; K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> – 0,5; KCl – 0,25; MgSO <sub>4</sub> – 0,25; FeSO <sub>4</sub> – 0,005.	0,105	216	pH 6,8, 30 °С, Твердофазне культивування	Saykhedkar S. S., Singhal, R. S. <i>Biotechnology Progress</i> . 2004, 20(4): 1280–1284. doi:10.1021/bp0343662

**Вартість компонентів поживного середовища для культивування  
*Penicillium griseofulvum* FH1816, *Penicillium griseofulvum* MTCC 1898 та  
*Penicillium griseofulvum* MTCC 1898<sub>т.к.</sub>**

Продуцент	Компонент поживного середовища	г/л	Ціна компонента, грн/кг	Вартість компонента (грн) на 1л середовища	Джерело інформації (1 – 9)*
<i>Penicillium griseofulvum</i> FH1816	Рисове борошно	150	80	12	1
	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	6	116	0,696	2
	FeSO <sub>4</sub> ×7H <sub>2</sub> O	1	30	0,03	3
	KCl	8	38	0,304	4
	NaCl	10	19	0,19	5
	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	5	49	0,245	6
	CaCO <sub>3</sub>	3	39	0,117	7
	MgSO <sub>4</sub>	1	95	0,095	8
Вартість 1 л середовища – 13,677 грн					
<i>Penicillium griseofulvum</i> MTCC 1898	Сахароза	30	90	2,7	9
	Дріжджовий екстракт	5	1 800	9	10
	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	1	116	0,116	2
	NaNO <sub>3</sub>	3	134	0,402	11
	KCl	0,5	38	0,019	4
	MgSO <sub>4</sub> ×7H <sub>2</sub> O	0,5	95	0,0475	8
	FeSO <sub>4</sub> ×7H <sub>2</sub> O	0,01	30	0,0003	3
Вартість 1 л середовища – 12,2848 грн					
<i>Penicillium griseofulvum</i> MTCC 1898 <sub>т.к.</sub>	Рисові пластівці	1 кг	48	48	12
	Сахароза	15	90	1,35	9
	Дріжджовий екстракт	2,5	1 800	4,5	10
	NaNO <sub>3</sub>	1,5	134	0,201	11
	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0,5	150	0,075	13
	KCl	0,25	38	0,0095	4
	MgSO <sub>4</sub>	0,25	95	0,02375	8
	FeSO <sub>4</sub>	0,005	30	0,00015	3
Вартість 1 кг середовища – 54,1594 грн					

**Примітка:** \* – Ціни вказано станом на серпень 2023 р.

- [https://shop.silpo.ua/product/boroshno-rysove-lavka-tradytsii-zhornovogo-pomelu-710764?gclid=CjwKCAjwivemBhBhEiwAJxNWN7dxMQLicNJOFSVMpeWBgfYFDnzjzdzFEamTOYFVHUBSy-FPAVyN3RoCNp0QAvD\\_BwE](https://shop.silpo.ua/product/boroshno-rysove-lavka-tradytsii-zhornovogo-pomelu-710764?gclid=CjwKCAjwivemBhBhEiwAJxNWN7dxMQLicNJOFSVMpeWBgfYFDnzjzdzFEamTOYFVHUBSy-FPAVyN3RoCNp0QAvD_BwE)
- <https://prom.ua/ua/p1885149593-monokalij-fosfat-kalij.html?&primelead=MC44>
- <https://www.systopt.com.ua/ru/item-zalizo-sirchanokysle-7-vodne>
- [https://rozetka.com.ua/ua/389073327/p389073327/?gclid=CjwKCAjwivemBhBhEiwAJxNWNwSbb8oBcNRbxvu2ncGdSdhHvMQI2LoCzJeXi3XzMxezuA73w08XmxoCLiwQAvD\\_BwE](https://rozetka.com.ua/ua/389073327/p389073327/?gclid=CjwKCAjwivemBhBhEiwAJxNWNwSbb8oBcNRbxvu2ncGdSdhHvMQI2LoCzJeXi3XzMxezuA73w08XmxoCLiwQAvD_BwE)
- [https://prom.ua/ua/p273983668-natrij-hloristyj.html?utm\\_source=google\\_pmax&utm\\_medium=cpc&utm\\_content=pmax&utm\\_campaign=Pmax\\_cpa\\_1\\_50\\_b2b&gclid=CjwKCAjwivemBhBhEiwAJxNWNz83e4PO78IDmT3ZIWZAaBNCQeUSfebXSoMQ6kilKOOobsBVQAIMxxoCeWAQAvD\\_BwE](https://prom.ua/ua/p273983668-natrij-hloristyj.html?utm_source=google_pmax&utm_medium=cpc&utm_content=pmax&utm_campaign=Pmax_cpa_1_50_b2b&gclid=CjwKCAjwivemBhBhEiwAJxNWNz83e4PO78IDmT3ZIWZAaBNCQeUSfebXSoMQ6kilKOOobsBVQAIMxxoCeWAQAvD_BwE)

6. [https://rozetka.com.ua/ua/381791766/p381791766/?gclid=CjwKCAjwivemBhBhEiwAJxNWNwvpTpuoEO9CTWQH2weGzYP2h-bHp7tMELfWhd1yFf-iRKsJqEppJhoCEqsQAvD\\_BwE](https://rozetka.com.ua/ua/381791766/p381791766/?gclid=CjwKCAjwivemBhBhEiwAJxNWNwvpTpuoEO9CTWQH2weGzYP2h-bHp7tMELfWhd1yFf-iRKsJqEppJhoCEqsQAvD_BwE)
7. [https://prom.ua/ua/p1261706371-kaltsij-karbonat-uglekislj.html?utm\\_source=google\\_product&utm\\_medium=cpc&utm\\_content=pla&utm\\_campaign=KT\\_cpc\\_1&gclid=CjwKCAjwivemBhBhEiwAJxNWN9RkADa2WAnWJffBxV3eeYa5yYz5snbTdS5lrE6Dm6dsA5R\\_FGp7jRoCm50QAvD\\_BwE](https://prom.ua/ua/p1261706371-kaltsij-karbonat-uglekislj.html?utm_source=google_product&utm_medium=cpc&utm_content=pla&utm_campaign=KT_cpc_1&gclid=CjwKCAjwivemBhBhEiwAJxNWN9RkADa2WAnWJffBxV3eeYa5yYz5snbTdS5lrE6Dm6dsA5R_FGp7jRoCm50QAvD_BwE)
8. [https://rozetka.com.ua/ua/269956381/p269956381/?gclid=CjwKCAjwivemBhBhEiwAJxNWNwfu\\_Uji4geitCCI55wc1OojnaoE-3HSj\\_sk-rVJ\\_32\\_Hd06zsWTdRoC-NIQAvD\\_BwE](https://rozetka.com.ua/ua/269956381/p269956381/?gclid=CjwKCAjwivemBhBhEiwAJxNWNwfu_Uji4geitCCI55wc1OojnaoE-3HSj_sk-rVJ_32_Hd06zsWTdRoC-NIQAvD_BwE)
9. <https://www.covalent.com.ua/ru/shop/sucrose/>
10. <https://prom.ua/ua/p1086437845-ekstrakt-drozhzhej.html>
11. [https://klebrig.com.ua/ua/p1365746226-natrievaya-selitra-klebrig.html?source=merchant\\_center&utm\\_source=google&utm\\_medium=cpc&utm\\_campaign=Perf\\_Max-Turboweb&gclid=Cj0KCQjwrfymBhCTARIsADXTabl99-xsX5dbMeRuqF2uA-x436uirry1-Rn9qd6CB2TtZ\\_7B5wMbvo8aAs2LEALw\\_wcB](https://klebrig.com.ua/ua/p1365746226-natrievaya-selitra-klebrig.html?source=merchant_center&utm_source=google&utm_medium=cpc&utm_campaign=Perf_Max-Turboweb&gclid=Cj0KCQjwrfymBhCTARIsADXTabl99-xsX5dbMeRuqF2uA-x436uirry1-Rn9qd6CB2TtZ_7B5wMbvo8aAs2LEALw_wcB)
12. [https://prom.ua/ua/p1760480623-risovaya-sechka-25kg.html?utm\\_source=google\\_pmax&utm\\_medium=cpc&utm\\_content=pmax&utm\\_campaign=Pmax\\_cpa\\_1\\_50\\_produkty\\_pitaniya&gclid=Cj0KCQjwrfymBhCTARIsADXTabkSUFkhAYS\\_AcjWpO11uPS8pbmCZ2D-5X6c4UcZ4DyBCHoXbfq\\_r4AQaAko4EALw\\_wcB](https://prom.ua/ua/p1760480623-risovaya-sechka-25kg.html?utm_source=google_pmax&utm_medium=cpc&utm_content=pmax&utm_campaign=Pmax_cpa_1_50_produkty_pitaniya&gclid=Cj0KCQjwrfymBhCTARIsADXTabkSUFkhAYS_AcjWpO11uPS8pbmCZ2D-5X6c4UcZ4DyBCHoXbfq_r4AQaAko4EALw_wcB)
13. <https://prom.ua/ua/p260995616-kalij-fosfornokislj-zameschennyj.html>

Згідно даних табл. 3.2, найдорожчою є вартість 1 л поживного середовища для вирощування *Penicillium griseofulvum* MTCC 1898 з використанням твердофазного методу культивування (54,16 грн/л), а при вирощуванні даного штаму за допомогою глибинного способу культивування вартість 1 л поживного середовища в 4,4 рази дешевше (12,28 грн/л). При вирощуванні *Penicillium griseofulvum* FH1816 вартість 1 л поживного середовища є меншою приблизно в 4 рази в порівнянні з *Penicillium griseofulvum* MTCC 1898<sub>т.к.</sub>, та в 1,1 рази більшою в порівнянні з *Penicillium griseofulvum* MTCC 1898 при глибинному вирощуванні.

Розглянувши вартість поживного середовища (табл. 3.2) та враховуючи порівняльну таблицю продуцентів гризеофульвіну (табл. 3.1), можна зробити припущення що кращим продуцентом буде *Penicillium griseofulvum* FH1816, так як концентрація синтезованого гризеофульвіну є найбільшою, а вартість відносно невеликою. Для підтвердження даного припущення слід розглянути умовну вартість 1 г синтезованого гризеофульвіну, порівняння умовної вартості синтезованого гризеофульвіну наведено в табл. 3.3.

**Умовна вартість 1 г гризеофульвіну, синтезованого при культивуванні  
*Penicillium griseofulvum* FH1816, *Penicillium griseofulvum* MTCC 1898 та  
*Penicillium griseofulvum* MTCC 1898<sub>т.к.</sub>**

Біологічний агент	Концентрація гризеофульвіну, г/л	Тривалість культивування, год	Кількість утвореного гризеофульвіну, г/год	Вартість 1 л середовища, грн/л	Умовна вартість 1 г гризеофульвіну, грн/г
<i>Penicillium griseofulvum</i> FH1816	30,751	336	0,0915	13,677	0,45
<i>Penicillium griseofulvum</i> MTCC 1898	0,7432	192	0,0039	12,2848	16,53
<i>Penicillium griseofulvum</i> MTCC 1898 <sub>т.к.</sub>	0,105	216	0,0005	54,1594	515,8

Переглянувши дані табл. 2.3, можна одразу зазначити що використання *Penicillium griseofulvum* MTCC 1898<sub>т.к.</sub> є недоцільним, так як через високу вартість поживного середовища та низьку концентрацію синтезованого цільового продукту, умовна вартість 1 г гризеофульвіну є найбільшою (515,8 грн/г). Значно меншою умовною вартістю 1 г синтезованого гризеофульвіну характеризується *Penicillium griseofulvum* MTCC 1898 при використанні глибинного способу культивування (16,53 грн/г), але дане значення майже в 36 разів більше в порівнянні з *Penicillium griseofulvum* FH1816, у якого умовна вартість 1 г гризеофульвіну становить (0,45 грн/г).

Отже, провівши детальний огляд деяких представників роду *Penicillium*, здатних синтезувати гризеофульвін, в якості біологічного агента для промислового виробництва даної речовини доцільно обрати *Penicillium griseofulvum* FH1816, так як даний штам володіє високою концентрацією синтезованого гризеофульвіну (30,751 г/л), відносно невеликою вартістю 1 л поживного середовища (13,68 грн/л), та в результаті найменшою умовною вартістю 1 г синтезованого продукту (0,45 грн/г), не зважаючи на найбільший час культивування (336 год).

### **3.2. Обґрунтування вибору умов культивування**

*Penicillium griseofulvum* FH1816 по відношенню до кисню є аеробом, отже, для виробничого синтезу необхідно забезпечити наявність повітря, для росту та розвитку даного мікроорганізму. Оптимальними показниками росту даного представника є 30 °С та рН 6,0, тобто даний біологічний агент є мезофільним ацидофілом, так як дані умови є оптимальними умовами для більшості мікроорганізмів, що може призвести до появи небажаної контамінуючої мікрофлори, необхідно передбачити проведення технологічного процесу в асептичних умовах.

Враховуючи що необхідно забезпечити асептичні умови, а також дані наведені в попередньому підрозділі, виробничий синтез буде відбуватись глибинним методом (як видно з попереднього розділу при глибинному методі вирощування біологічного агента з метою синтезу гризеофульвіну кінцева концентрація цільового продукту в рази більша).

Синтез гризеофульвіну відбувається в стаціонарній фазі росту, з чого можна зробити висновок, що для виробництва оптимальним варіантом буде використання періодичного способу культивування.

З огляду на вище наведені умови виробничого синтезу (необхідність аерації та культивування глибинним методом) необхідно передбачити встановлення барботера, для подачі в товщу культуральної рідини стерильного аераційного повітря, та встановлення перемішуючого пристрою над барботером для інтенсифікації процесу аерації, найкращим варіантом серед перемішуючих пристроїв буде використання турбінної мішалки закритого типу, через менший руйнівний вплив на клітини біологічного агента.

Підсумовуючи вище наведену інформацію, процес виробничого синтезу необхідно проводити періодично в асептичних умовах з внесенням повітря при постійному перемішуванні, глибинним методом.

### **3.3. Розрахунок кількості необхідних стадій підготовки посівного матеріалу**

Згідно завдання об'єм ферментера для культивування *Penicillium griseofulvum* FH1816 з метою синтезу гризеофульвіну становить  $10 \text{ м}^3$  з коефіцієнтом заповнення – 0,65.

$$V_{\text{роб1}} = V_{\text{г.ф.}} \times K_{\text{зап}}$$

$V_{\text{г.ф.}}$  – геометричний об'єм ферментера,  $\text{м}^3$ ,  $K_{\text{зап}}$  – коефіцієнт заповнення;

$$V_{\text{роб1}} = 10 \times 0,65 = 6,5 \text{ м}^3$$

Робочий об'єм ферментера це сума об'єму поживного середовища  $V_{\text{пс1}}$  та об'єму посівного матеріалу  $V_{\text{пм1}}$ .

Посівний матеріал готується в посівному апараті (ПА) та його об'єм дорівнює 15 % від об'єму поживного середовища який подається до ферментера:

$$V_{\text{пс1}} = V_{\text{роб1}} / (1 + X_{\text{пм1}}) = 6\,500 / (1 + 0,15) = 5\,652 \text{ л}$$

$$V_{\text{пм1}} = V_{\text{роб1}} - V_{\text{пс1}} = 6\,500 - 5\,652 = 848 \text{ л}$$

#### Розрахунок кількості ПС та ПМ для посівних апаратів

Посівний матеріал вирощують в посівному апараті з наступним робочим об'ємом  $V_{\text{роб2}}$

$$V_{\text{роб2}} = V_{\text{пм1}} / (1 - E_{\text{пм}}) = 848 / (1 - 0,13) = 975 \text{ л}$$

де  $E_{\text{пм}} = 0,13$  – втрати культуральної рідини при вирощуванні посівного матеріалу в посівному апараті за рахунок краплевиносу частини культуральної рідини під час аерації середовища.

Для одержання посівного матеріалу потрібно мати наступний об'єм поживного середовища  $V_{\text{пс2}}$  та кількість посівного матеріалу який становить 10% від об'єму поживного середовища  $V_{\text{пс2}}$

$$V_{\text{пс2}} = V_{\text{роб2}} / (1 + X_{\text{пм2}}) = 975 / (1 + 0,1) = 886 \text{ л}$$

Об'єм посівного матеріалу

$$V_{\text{пм2}} = V_{\text{роб2}} - V_{\text{пс2}} = 975 - 886 = 89 \text{ л}$$

Для визначення приблизного геометричного об'єму посівного апарата  $V_{\text{па1}}$  використовуємо  $V_{\text{роб2}}$  та  $K_{\text{зап}}$  – коефіцієнт заповнення = 0,65;

$$V_{\text{па1}} = V_{\text{роб2}} / K_{\text{зап}} = 975 / 0,65 = 1\,500 \text{ л}$$

Отже, таку кількість посівного матеріалу *Penicillium griseofulvum* FH1816 можна отримати при культивуванні в посівному апараті з геометричним об'ємом  $V_{па} = 1,6 \text{ м}^3$ .

Тоді дійсний коефіцієнт заповнення буде

$$K_{зап2} = V_{роб2} / V_{па} = 975 / 1\,600 = 0,61, \text{ що допустимо.}$$

Посівний матеріал для отримання 975 л посівного матеріалу в апарата об'ємом  $1,6 \text{ м}^3$  вирощують в посівному апараті з наступним робочим об'ємом  $V_{роб3}$

$$V_{роб3} = V_{пм2} / (1 - E_{пм}) = 89 / (1 - 0,13) = 102,3 \text{ л}$$

де  $E_{пм} = 0,13$  – втрати культуральної рідини при вирощуванні посівного матеріалу в посівному апараті за рахунок краплевиносу частини культуральної рідини під час аерації середовища.

Для одержання посівного матеріалу потрібно мати наступний об'єм поживного середовища  $V_{пс3}$  та кількість посівного матеріалу який становить 10% від об'єму поживного середовища  $V_{пс3}$

$$V_{пс3} = V_{роб3} / (1 + X_{пм3}) = 102,3 / (1 + 0,1) = 93 \text{ л}$$

Об'єм посівного матеріалу

$$V_{пм3} = V_{роб3} - V_{пс3} = 102,3 - 93 = 9,3 \text{ л}$$

Для визначення приблизного геометричного об'єму посівного апарата  $V_{па2}$  використовуємо  $V_{роб3}$  та  $K_{зап}$  – коефіцієнт заповнення = 0,65;

$$V_{па1} = V_{роб2} / K_{зап} = 102,3 / 0,65 = 157 \text{ л}$$

Отже, таку кількість посівного матеріалу *Penicillium griseofulvum* FH1816 можна отримати при культивуванні в посівному апараті з геометричним об'ємом  $V_{па} = 0,16 \text{ м}^3$ .

Тоді дійсний коефіцієнт заповнення буде

$$K_{зап2} = V_{роб2} / V_{па} = 102,3 / 160 = 0,64, \text{ що задовольняє наші вимоги.}$$

#### Розрахунок ПС та ПМ для інокулятора

Посівний матеріал для отримання 102,3 л посівного матеріалу в апарата об'ємом  $0,16 \text{ м}^3$  вирощують в інокуляторі з наступним робочим об'ємом  $V_{роб4}$

$$V_{роб4} = V_{пм4} / (1 - E_{пм4}) = 9,3 / (1 - 0,05) = 9,8 \text{ л,}$$

де  $E_{\text{пм4}} = 0,05$  – це втрати КР при вирощуванні посівного матеріалу в інокуляторі за рахунок краплевиносу частини КР під час аерації середовища.

Для одержання посівного матеріалу  $V_{\text{пс5}}$  потрібно мати наступний об'єм поживного середовища  $V_{\text{пс4}}$  та кількість посівного матеріалу, яка дорівнює 10% від об'єму поживного середовища  $V_{\text{пс4}}$

$$V_{\text{пс4}} = V_{\text{роб4}} / (1 + X_{\text{пм4}}) = 9,8 / (1 + 0,1) = 8,9 \text{ л}$$

Об'єм посівного матеріалу

$$V_{\text{пм4}} = V_{\text{роб4}} - V_{\text{пс4}} = 9,8 - 8,9 = 0,9 \text{ л}$$

Для визначення приблизного геометричного об'єму інокулятора  $V_{\text{ін1}}$  використовуємо  $V_{\text{роб4}}$  та  $K_{\text{зап}}$  – коефіцієнт заповнення = 0,65;

$$V_{\text{ін1}} = V_{\text{роб4}} / K_{\text{зап}} = 9,8 / 0,65 = 15,1 \text{ л}$$

Отже, таку кількість посівного матеріалу *Penicillium griseofulvum* FN1816 можна отримати при культивуванні в інокуляторі з геометричним об'ємом  $V_{\text{ін}} = 0,02 \text{ м}^3$ .

Тоді дійсний коефіцієнт заповнення буде

$$K_{\text{зап1}} = V_{\text{роб4}} / V_{\text{ін}} = 9,8 / 20 = 0,5, \text{ що допустимо.}$$

*Розрахунок кількості ПС та ПМ для качалочних колб*

Кількість посівного матеріалу, що готується в колбах на качалці  $V_{\text{пм4}} = 0,9 \text{ л}$ . Втратами при культивуванні в колбах нехтуємо, оскільки вони малі.

$$V_{\text{роб5}} = V_{\text{пм4}} = 0,9 \text{ л}$$

Для одержання посівного матеріалу потрібно мати наступний об'єм поживного середовища  $V_{\text{пс5}}$  та кількість посівного матеріалу, що дорівнює 10% від об'єму поживного середовища  $V_{\text{пс5}}$

$$V_{\text{пс5}} = V_{\text{роб5}} / (1 + X_{\text{пм5}}) = 0,9 / (1 + 0,1) = 0,82 \text{ л}$$

Об'єм посівного матеріалу

$$V_{\text{пм5}} = V_{\text{роб5}} - V_{\text{пс5}} = 0,9 - 0,82 = 0,08 \text{ л}$$

Для культивування використовуємо колби об'ємом  $V_{\text{кол}} = 0,75 \text{ л}$  та коефіцієнтом заповнення  $K_{\text{зап}} = 0,2$

Кількість колб

$$N_{\text{к}} = V_{\text{роб5}} / V_{\text{кол}} \times K_{\text{зап}} = 0,9 / 0,75 \cdot 0,2 = 6 \text{ колб}$$

З вище проведених розрахунків, можна зробити висновок що для синтезу гризеофульвіну в ферментері об'ємом  $10 \text{ м}^3$  з коефіцієнтом заповнення 0,65 необхідно провести 4 послідовні етапи отримання посівного матеріалу *Penicillium griseofulvum* FH1816. Узагальнені дані стадій отримання посівного матеріалу наведено в табл. 2.4.

Таблиця 3.4

**Об'єми апаратів для стадії підготовки посівного матеріалу  
*Penicillium griseofulvum* FH1816 та виробничого синтезу гризеофульвіну**

№ стадії	Геометричний об'єм ферментера, $V_{\text{г}}$ , л	Коефіцієнт заповнення, $K_{\text{зап}}$ , частка	Робочий об'єм ферментера, $V_{\text{роб}}$ , л	Об'єм поживного середовища, $V_{\text{пс}}$ , л	Об'єм посівного матеріалу, $V_{\text{пм}}$ , л
1	0,750 × 6 колб	0,2	0,9	0,82	0,08
2	20	0,5	9,8	8,9	0,9
3	160	0,64	102,3	93	9,3
4	1 600	0,61	975	886	89
5	10 000	0,65	6 500	5 652	848

**3.4. Наведення складу поживного середовища**

В патенті [13] наведено процес отримання гризеофульвіну при вирощуванні мутантного штаму *Penicillium griseofulvum* FH1816, згідно даних наведених в даному патенті для отримання посівного матеріалу та виробничого синтезу гризеофульвіну використовують різні поживні середовища.

Склад поживного середовища для отримання посівного матеріалу *Penicillium griseofulvum* FH1816, г/л:

Рисове борошно – 50;

$\text{NaNO}_3$  – 1;

$\text{NaCl}$  – 2;

$\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$  – 1;

$\text{KH}_2\text{PO}_4$  – 4;

$\text{KCl}$  – 1;

$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  – 5;

$\text{CaCO}_3$  – 1,8.

Склад поживного середовища для виробничого синтезу гризеофульвіну культивування *Penicillium griseofulvum* FH1816, г/л:

Рисове борошно – 150;

$\text{KH}_2\text{PO}_4$  – 6;

$\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$  – 1;

KCl – 8;

NaCl – 10;

$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  – 5;

$\text{CaCO}_3$  – 3;

$\text{MgSO}_4$  – 1.

### **3.5. Обґрунтування способу приготування і стерилізації поживного середовища для одержання інокуляту і виробничого біосинтезу**

Визначивши необхідну кількість стадій отримання посівного матеріалу та необхідний об'єм поживного середовища на дані стадії, можна визначити в який спосіб буде відбуватись приготування та стерилізації даних композицій.

Розглядаючи необхідні об'єми поживного середовища на окремі стадії отримання посівного матеріалу, які продемонстровані в табл. 2.4, можна зробити висновок що процес приготування та стерилізації поживного середовища на стадію отримання посівного матеріалу в колбах на качалці та в інокуляторі об'ємом 20 л не буде відрізнятись, так як необхідний об'єм поживного середовища на даних стадіях невеликий.

Для приготування та стерилізації поживного середовища необхідно врахувати відношення компонентів до температури, так термолабільні компоненти готують та стерилізуються при менш жорстких температурних умовах в порівнянні з солями.

Тому поділ компонентів на композиції на дані дві стадії буде виглядати наступним чином:

**Композиція А** – рисове борошно (112 °С, 30 хв);

**Композиція Б** – нітрат натрію, хлорид натрію, хлорид калію, сульфат заліза(III) семиводний та сульфат амонію (131°C,40 хв);

**Композиція В** – монофосфат калію (131°C,40 хв);

**Композиція Г** – карбонат кальцію (131°C,40 хв).

До термолабільних компонентів відноситься рисове борошно, тому приготування та стерилізація буде відбуватись окремо. Під час приготування рисове борошно необхідно розпарити для цього його заливають холодною водою та поміщають на водяну баню на 30 хв при температурі 70 °С. Фосфатні солі стерилізують окремо задля унеможливлення випадіння осаду, тому нітрат натрію, хлорид натрію, хлорид калію, сульфат заліза(III) семиводний та сульфат амонію, розчиняють та стерилізують в одній композиції (Композиція Б) а монофосфат калію окремо (Композиція В), режим стерилізації для даних композицій однаковий 40 хв при 131 °С.

Карбонат кальцію в поживному середовищі виступає регулятором рівня рН тому проводити його стерилізації необхідно окремо, режим стерилізації 40 хв при 131 °С.

#### Приготування та стерилізація поживного середовища для стадій

##### отримання посівного матеріалу в посівних апаратах

На дані стадії отримання посівного матеріалу необхідно значно більша кількість поживного середовища, тому процес приготування та стерилізації буде трохи відрізнятись від попереднього етапу. Основна відмінність полягає в об'єднанні композиції солей, а також проведені стерилізації не в колбах а в реакторах. Поділ компонентів на композиції виглядає наступним чином:

**Композиція А** – рисове борошно (112 °С, 30 хв);

**Композиція Б** – нітрат натрію, хлорид натрію, хлорид калію, сульфат заліза(III) семиводний, сульфат амонію та монофосфат калію (131°C,40 хв);

**Композиція В** – карбонат кальцію (131°C,40 хв).

Приготування та стерилізація термолабільного компоненту (рисового борошна) відбуватиметься як і на попередній стадій з попереднім

розварюванням в реакторі. Приготування композиції солей відбуватиметься в реакторі невеликого розміру, а в подальшому для унеможливлення випадіння осаду, під час стерилізації, рівень рН даної композиції необхідно зменшити, додавши до композиції 6% розчин хлоридної кислоти. Стерилізація отриманого розчину відбуватиметься в відповідному посівному апараті. Після стерилізації та об'єднання композицій рівень рН необхідно буде збільшити до оптимальних умов додавши 6% розчин гідроксиду натрію.

Приготування та стерилізація поживного середовища для синтезу  
гризеофульвіну в ферментері об'ємом 10 м<sup>3</sup>

На дану стадію необхідно приготувати приблизно 5,5 м<sup>3</sup> поживного середовища, враховуючи великий об'єм середовища процес стерилізації доцільно проводити в установці безперервної стерилізації (УБС). При стерилізації поживного середовища в УБС поділ компонентів на композиції не відбувається, а сам процес приготування та стерилізації виглядатиме наступним чином: для приготування в реактор спочатку завантажать рисове борошно проведуть його розварювання та в подальшому до нього додауть усі інші компоненти, завантаживши та перемішавши всі компоненти розчин подаватимуть в УБС-5 де відбуватиметься його стерилізації за температури 131 °С.

**Висновок:** Під час порівнянні біологічних агентів спроможних синтезувати гризеофульвін було обрано оптимального продуцента даної речовини, а саме *Penicillium griseofulvum* FH1816 через найменшу умовну вартість 1 г гризеофульвіну (0,0915 г/год) та найбільшу кількість синтезованого продукту за год (0,45 грн/г).

На основі оптимальних умов росту *Penicillium griseofulvum* FH1816, було обрано періодичний метод культивування в асептичних умовах з внесенням повітря, глибинним способом.

Під час розрахунку необхідної кількості стадій отримання посівного матеріалу, для виробничого синтезу гризеофульвіну в ферментері об'ємом 10 м<sup>3</sup> з коефіцієнтом заповнення 0,65, визначено що необхідно чотири стадії

(колби на качалці, інокулятор об'ємом 20 л, посівні апарати об'ємом 160 та 1600 л).

## Розділ 4. Техніко-економічне обґрунтування

### 4.1. Потреба в гризеофульвіні

Гризеофульвін є протигрибковим полікетидним метаболітом який виробляється в основному аскоміцетами виду *Penicillium griseofulvum*. Даний засіб в основному використовується для лікування дерматофітних інфекцій, але на сьогодні в даній речовині збільшився інтерес через виявлення нових можливих сфер застосування, наявні дослідження які повідомляють що він може зупиняти реплікацію вірусу гепатиту С а також сприяти судинній вазодилатації та покращувати капілярний кровоток [14]. Зважаючи на малу кількість досліджень спрямованих на вивчення впливу гризеофульвіну на організм людини при лікуванні перерахованих захворювань, на сьогоднішній день гризеофульвін застосовується лише для лікування грибкових інфекцій.

Згідно інструкції [15] гризеофульвін рекомендовано використовувати для лікування мікозів шкіри, волосся та нігтів, спричинених грибками роду *Trichophyton, Microsporum, Epydermophyton*:

Трихофітія;

Фавус;

Мікроспорія волосної частини голови та гладенької шкіри;

Епідермофітія шкірних покривів (у т.ч. пахова епідермофітія);

Дерматомікози стоп та кистей;

Онїхомікози.

					НУХТ БТЕК 05.01.28 КР ПЗ			
Зм	Анк	Но	Підпис	Ла				
Розробни	Некрасова Є				РОЗДІЛ 4. ТЕХНІКО- ЕКОНОМІЧНЕ ОБГРУНТУВАННЯ	Лімен	Анквіт	Анквітів
Керівник	Капланш Ю.						33	87
Н. контр						Кафедра БТМ <sup>34</sup>		
Консульт								
Зав. каф.	Стабніков							

Окремої статистики по даним типам захворювань немає, тому для визначення потреби препарату розглянемо статистичні дані Державної служби статистики України по кількості випадків хвороб шкіри [16]. Станом на 2017 рік було зафіксовано 1 564 434 випадків хвороби шкіри та підшкірної клітковини, враховуючи що не у всіх випадках гризеофульвін доцільно використовувати, прийmemo що 5 % від загальної кількості випадків захворювання це хвороби при яких доцільно використовувати гризеофульвін, тоді кількість захворювань становить:

$$1\,564\,434 \times 0,05 = 78\,220 \text{ випадок}$$

Враховуючи що від локалізації хвороби залежить термін використання препарату та зважаючи на відсутність статистики по локалізації захворювання прийmemo, що серед даної кількості захворювань, на кожену групу припадає по 20 % від розрахованої кількості випадків захворювань (узагальнені дані кількості випадків захворювання шкіри з урахуванням локалізації наведено в табл. 4.1).

*Таблиця 4.1*

**Кількість випадків хвороб шкіри та підшкірної клітковини при яких використовується гризеофульвін**

<b>Захворювання</b>	<b>Локалізація</b>	<b>Кількість</b>
Хвороби шкіри та підшкірної клітковини	Шкіра тіла	15 644
	Волосяна частина голови	15 644
	Шкіра стоп	15 644
	Нігті пальців рук	15 644
	Нігті пальців ніг	15 644

Також в інструкції препарату зазначено що гризеофульвін слід вживати у кількості 625 мг на добу при вазі пацієнта до 50 кг, а якщо вага пацієнта більше до даного дозування додають 125 мг на кожні 10 кг маси тіла. Так як неможливо точно визначити масу тіла пацієнта, для подальших розрахунків будемо використовувати середню вагу, згідно даних Державної служби статистики України [17], середня вага чоловіка становить 80 кг, а жінки – 71 кг, з огляду на те що неможливо визначити кількість жінок та чоловіків, беремо в подальшому загальну середню вагу чоловіків та жінок, тоді середня

маса пацієнта становить  $(71 + 80) / 2 = 75,5$ , прийемо 75 кг. Визначивши середню вагу пацієнта розрахуємо добову норму гризеофульвіну, враховуючи що на 10 кг маси починаючи з 50 кг слід використовувати додаткові 125 мг препарату (тобто  $75 - 50 = 25$ , необхідно додатково використати 2 рази по 125 мг):

$$625 \text{ мг} + 2 * 125 \text{ мг} = 875 \text{ мг (добове дозування гризеофульвіну)}$$

Розрахувавши добову дозу гризеофульвіну та знаючи кількість випадків захворювань розрахуємо річну потребу, узагальнені дані річної потреби препарату наведено в табл. 4.2.

Таблиця 4.2

**Потреба в гризеофульвіні для лікування хвороб шкіри з врахуванням локалізації захворювання**

Захворювання	Локалізація	Кількість випадків	Термін лікування	Кількість препарату на добу	Кількість, гризеофульвіну*, г
Хвороби шкіри та підшкірної клітковини	Шкіра тіла	15 644	2-4 тижні	875 мг	287 458,5
	Волосяна частина голови	15 644	4-6 тижні		479 097,5
	Шкіра стоп	15 644	4-8 тижні		574 917,0
	Нігті пальців рук	15 644	не менше 4 місяців		1 642 620,0
	Нігті пальців ніг	15 644	не менше 6 місяців		2 463 930,0
Разом					5 448 023 г

**Примітка:** \* для розрахунку було обрано середній показник терміну лікування

Підсумовуючи вищенаведену інформацію, можна зробити висновок що річна потреба гризеофульвіну для лікування хвороб шкіри становить 5 448 023 г, або 5,45 т.

**4.2. Розрахунок потужності виробництва гризеофульвіну**

Провівши розрахунок річної потреби гризеофульвіну (5,45 т), слід врахувати наявні на ринку зареєстровані лікарські засоби, щоб дізнатись можливий рівень конкуренції. Згідно даних Державного реєстру лікарських засобів України [18], нині зареєстровано два лікарські засоби які вміщують гризеофульвін в складі діючих речовин, дані наведено в табл. 4.3.

Таблиця 4.3

## Лікарські засоби з діючою речовиною гризеофульвін, зареєстровані в Україні

Назва препарату	Лікарська форма препарату	Склад діючих речовин	Компанія-виробник
ГРИЗЕОФУЛЬВІН	таблетки по 125 мг, по 20 таблеток у блістері; по 2 блістери у пачці з картону	1 таблетка містить гризеофульвіну 125 мг	Публічне акціонерне товариство "Науково-виробничий центр "Борщагівський хіміко-фармацевтичний завод", Україна
ГРИЗЕОФУЛЬВІН	порошок (субстанція) у подвійних поліетиленових пакетах для фармацевтичного застосування	гризеофульвіну не менше 97,0 % і не більше 102,0 %, в перерахунку на суху речовину	Чіфенг Фармас'ютікал Ко., Лтд, Китай

Серед наведених в табл. 1.3 лікарських засобів, один є вітчизняного виробництва, отже можна зробити висновок, що з врахуванням наявних лікарських засобів можна задовольнити приблизно 30 % річної потреби. Тоді необхідна кількість гризеофульвіну становитиме:

$$5,45 \text{ т} \times 0,3 = 1,635 \text{ т гризеофульвіну}$$

### 4.3. Розрахунок кількості виробничих циклів та геометричного об'єму ферментера

Річна потужність виробництва гризеофульвіну:  $G_{\text{гп}} = 1\,635 \text{ кг/рік}$ ;

Кількість робочих днів:  $T_{\text{рд}} = 230 \text{ трудоднів}$ ;

Частка сухих речовин в готовому продукті:  $СР_{\text{гп}} = 0,9$ ;

Концентрація гризеофульвіну в культуральній рідині: 30,751 г/л (синтез відбувається культивуванням *Penicillium griseofulvum* FH1816 [19]);

Час виробничого циклу:  $T_{\text{цф}} = 346 \text{ год}$  (336 год культивування + 10 год підготовка ферментера);

Коефіцієнт запасу нестерильних операцій:  $K_1 = 1,2$ ;

Коефіцієнт заповнення ферментера:  $K_3 = 0,65$ ;

Втрата продукту при виділенні:  $E_{\text{св}} = 0,35$ ;

Втрата культуральної рідини при краплевиносі:  $E_{\text{ф}} = 0,1$ .

Враховуючи заплановану кількість трудоднів та час виробничого циклу, кількість виробничих циклів за рік становитиме:

$$N_{\text{цк}} = 24 \times T_{\text{рд}} / T_{\text{цф}} = 24 \times 230 / 346 = 15,95 \text{ циклів, тобто } 16 \text{ цикл}$$

Визначивши кількість виробничих циклів, розрахуємо кількість продукту, яка утворюється за даний один виробничий цикл:

$$G_{\text{цк}} = G_{\text{гп}} / N_{\text{цк}} = 1\,635 / 16 = 102,19 \text{ кг/цикл}$$

Розрахувавши кількість гризеофульвіну яка отримується за один цикл, врахуємо кількість культуральної рідини з врахуванням втрат при виділенні, необхідної для отримання даної кількості продукту.

$$V_{\text{кр}} = K_1 \times G_{\text{цк}} \times C_{\text{гп}} / P_{\text{кр}} (1 - E_{\text{св}}) = 1,2 \times 102,19 \times 0,9 / (30,751 \times (1 - 0,35)) = 5,52 \text{ м}^3$$

За один виробничий цикл отримують  $5,52 \text{ м}^3$  культуральної рідини, так як під час ферментації відбуваються втрати культуральної рідини в результаті краплевиносу, кількість культуральної рідини з врахуванням даних втрат, становитиме:

$$V_{\text{ф}} = V_{\text{кр}} / (1 - E_{\text{ф}}) = 5,52 / (1 - 0,1) = 6,13 \text{ м}^3$$

З врахуванням коефіцієнту заповнення, приблизний геометричний об'єм ферментера становитиме:

$$V_{\text{пф}} = V_{\text{ф}} / K_3 = 6,13 / 0,65 = 9,43 \text{ м}^3$$

Приймаємо найближчий ферментер з стандартним геометричним об'ємом  $10 \text{ м}^3$ , тоді дійсний коефіцієнт заповнення становитиме:

$$K_{3\text{ф}} = V_{\text{кр}} / V_{\text{пф}} = 6,13 / 10 = 0,61$$

Дане значення коефіцієнту заповнення, знаходиться в допустимих межах для аеробного процесу ферментації, отже, обраний ферментер задовольняє наші вимоги.

#### **4.4. Розрахунок кількості стадій підготовки посівного матеріалу**

За один виробничий цикл отримуємо  $V_{\text{пц}} = 5,52 \text{ м}^3$  культуральної рідини. Під час отримання культуральної рідини необхідно передбачити втрати КР в результаті краплевиносу через колектор відпрацьованого повітря ( $E_{\text{ф}}$ ), які становлять 10%.

Отже, кількість поживного середовища та посівного матеріалу перед виробничим біосинтезом становитиме:

$$V_{\text{роб.1}} = \frac{V_{\text{пш}}}{1-E_{\phi}} = \frac{5,52}{1-0,1} = 6,13 \text{ м}^3$$

Робочий об'єм ферментера складається з суми об'єму поживного середовища (ПС)  $V_{\text{пс1}}$  та об'єму посівного матеріалу (ПМ)  $V_{\text{пм1}}$ .

Посівний матеріал готується в посівному апараті (ПА) та його об'єм дорівнює 15 % від об'єму поживного середовища [19] який подається до ферментера:

$$V_{\text{пс1}} = V_{\text{роб1}} / (1 + X_{\text{пм1}}) = 6\,130 / (1 + 0,15) = 5\,330 \text{ л}$$

$$V_{\text{пм1}} = V_{\text{роб1}} - V_{\text{пс1}} = 6\,130 - 5\,330 = 800 \text{ л}$$

#### *Розрахунок кількості ПС та ПМ для посівних апаратів*

Посівний матеріал для ферментера об'ємом 800 л готується у посівному апараті з робочим об'ємом  $V_{\text{роб2}}$

$$V_{\text{роб2}} = V_{\text{пм1}} / (1 - E_{\text{пм}}) = 800 / (1 - 0,13) = 919,5 \text{ л}$$

де  $E_{\text{пм}} = 0,13$  – втрати культуральної рідини при вирощуванні посівного матеріалу в посівному апараті за рахунок краплевиносу частини культуральної рідини під час аерації середовища.

Для одержання посівного матеріалу потрібно мати наступний об'єм поживного середовища  $V_{\text{пс2}}$  та кількість посівного матеріалу який становить 10% від об'єму поживного середовища  $V_{\text{пс2}}$

$$V_{\text{пс2}} = V_{\text{роб2}} / (1 + X_{\text{пм2}}) = 919,5 / (1 + 0,1) = 835,9 \text{ л}$$

Об'єм посівного матеріалу

$$V_{\text{пм2}} = V_{\text{роб2}} - V_{\text{пс2}} = 919,5 - 835,9 = 83,6 \text{ л}$$

Для визначення приблизного геометричного об'єму посівного апарата  $V_{\text{па1}}$  використовуємо  $V_{\text{роб2}}$  та  $K_{\text{зап}}$  – коефіцієнт заповнення = 0,65;

$$V_{\text{па1}} = V_{\text{роб2}} / K_{\text{зап}} = 919,5 / 0,65 = 1\,414,6 \text{ л}$$

Дану кількість посівного матеріалу *Penicillium griseofulvum* FH1816 можна отримати при культивуванні в посівному апараті з геометричним об'ємом  $V_{\text{па}} = 1,6 \text{ м}^3$ .

Тоді дійсний коефіцієнт заповнення буде

$$K_{\text{зап2}} = V_{\text{роб2}} / V_{\text{па}} = 919,5 / 1\,600 = 0,57, \text{ що допустимо.}$$

Посівний матеріал об'ємом 83,6 л готується у посівному апараті з робочим об'ємом  $V_{роб3}$

$$V_{роб3} = V_{пм1} / (1 - E_{пм}) = 83,6 / (1 - 0,13) = 96,1 \text{ л}$$

де  $E_{пм} = 0,13$  – втрати культуральної рідини при вирощуванні посівного матеріалу в посівному апараті за рахунок краплевиносу частини культуральної рідини під час аерації середовища.

Для одержання посівного матеріалу потрібно мати наступний об'єм поживного середовища  $V_{пс3}$  та кількість посівного матеріалу  $V_{пм3}$  який становить 10% від об'єму поживного середовища:

$$V_{пс3} = V_{роб3} / (1 + X_{пм3}) = 96,1 / (1 + 0,1) = 87,4 \text{ л}$$

Об'єм посівного матеріалу

$$V_{пм3} = V_{роб3} - V_{пс3} = 96,1 - 87,4 = 8,7 \text{ л}$$

Для визначення приблизного геометричного об'єму посівного апарата  $V_{па2}$  використовуємо  $V_{роб3}$  та  $K_{зап}$  – коефіцієнт заповнення = 0,65;

$$V_{па2} = V_{роб3} / K_{зап} = 96,1 / 0,65 = 147,8 \text{ л}$$

Дану кількість посівного матеріалу *Penicillium griseofulvum* FH1816 можна отримати при культивуванні в посівному апараті з геометричним об'ємом  $V_{па} = 0,16 \text{ м}^3$ .

Тоді дійсний коефіцієнт заповнення буде

$$K_{зап2} = V_{роб2} / V_{па} = 96,1 / 160 = 0,6, \text{ що задовольняє наші вимоги.}$$

#### *Розрахунок ПС та ПМ для інокулятора*

Посівний матеріал для посівного апарата  $0,16 \text{ м}^3$  готується в інокуляторі з робочим об'ємом  $V_{роб4}$

$$V_{роб4} = V_{пм3} / (1 - E_{пм4}) = 8,7 / (1 - 0,05) = 9,16 \text{ л ,}$$

де  $E_{пм4} = 0,05$  – це втрати КР при вирощуванні посівного матеріалу в інокуляторі за рахунок краплевиносу частини КР під час аерації середовища.

Для одержання посівного матеріалу  $V_{пм3}$  потрібно мати наступний об'єм поживного середовища  $V_{пс4}$  та кількість посівного матеріалу  $V_{пм4}$ , яка дорівнює 10% від об'єму поживного середовища

$$V_{пс4} = V_{роб4} / (1 + X_{пм4}) = 9,16 / (1 + 0,1) = 8,33 \text{ л}$$

Об'єм посівного матеріалу:

$$V_{\text{пм4}} = V_{\text{роб4}} - V_{\text{пс4}} = 9,16 - 8,33 = 0,83 \text{ л}$$

Для визначення приблизного геометричного об'єму інокулятора  $V_{\text{ін1}}$  використовуємо  $V_{\text{роб4}}$  та  $K_{\text{зап}}$  – коефіцієнт заповнення = 0,65;

$$V_{\text{ін1}} = V_{\text{роб4}} / K_{\text{зап}} = 9,16 / 0,65 = 14,1 \text{ л}$$

Дану кількість посівного матеріалу *Penicillium griseofulvum* FH1816 можна отримати при культивуванні в інокуляторі з геометричним об'ємом  $V_{\text{ін1}} = 15 \text{ л}$ .

Тоді дійсний коефіцієнт заповнення буде

$$K_{\text{зап1}} = V_{\text{роб3}} / V_{\text{ін}} = 9,16 / 15 = 0,61, \text{ що задовольняє наші вимоги.}$$

*Розрахунок кількості ПС та ПМ для качалочних колб*

Кількість посівного матеріалу, що готується в колбах на качалці  $V_{\text{пм4}} = 0,83 \text{ л}$ . Втратами при культивуванні в колбах нехтуємо, оскільки вони малі.

$$V_{\text{роб5}} = V_{\text{пм4}} = 0,83 \text{ л}$$

Для одержання посівного матеріалу потрібно мати наступний об'єм поживного середовища  $V_{\text{пс5}}$  та кількість посівного матеріалу  $V_{\text{пм5}}$ , що дорівнює 10% від об'єму поживного середовища

$$V_{\text{пс5}} = V_{\text{роб5}} / (1 + X_{\text{пм5}}) = 0,83 / (1 + 0,1) = 0,75 \text{ л}$$

Об'єм посівного матеріалу

$$V_{\text{пм5}} = V_{\text{роб5}} - V_{\text{пс5}} = 0,83 - 0,75 = 0,08 \text{ л}$$

Для культивування використовуємо колби об'ємом  $V_{\text{кол}} = 0,75 \text{ л}$  та коефіцієнтом заповнення  $K_{\text{зап}} = 0,2$

Кількість колб

$$N_{\text{к}} = V_{\text{роб4}} / V_{\text{кол}} \times K_{\text{зап}} = 0,83 / 0,75 \cdot 0,2 = 5,5 \text{ колб, тобто 6 колб}$$

Підсумовуючи можна зазначити, що процес одержання посівного матеріалу для синтезу гризеофульвіну у ферментері об'ємом  $10 \text{ м}^3$  і з коефіцієнтом заповнення 0,65 буде проходити у чотири етапи, узагальнені дані об'ємів апаратів на дані стадії наведено в табл. 4.4.

*Таблиця 4.4*

**Об'єми апаратів для стадії підготовки посівного матеріалу  
*Penicillium griseofulvum* FH1816 та виробничого біосинтезу  
 гризеофульвіну**

№ стадії	Геометричний об'єм ферментера, $V_f$ , л	Коефіцієнт заповнення, $K_{зап}$ , частка	Робочий об'єм ферментера, $V_{роб}$ , л	Об'єм ПС, $V_{пс}$ , л	Об'єм ПМ, $V_{пм}$ , л
1	0,750 × 6 колб	0,2	0,83	0,75	0,08
2	15	0,61	9,16	8,33	0,83
3	160	0,60	96,1	87,4	8,7
4	1 600	0,57	919,5	835,9	83,6
5	10 000	0,61	6 130	5 330	800

## Розділ 5. Обґрунтування вибору стадій виробництва

### 5.1. Обґрунтування способу культивування і типу ферментера

*Penicillium griseofulvum* FH1816 по відношенню до кисню є аеробом, отже, для виробничого синтезу необхідно забезпечити наявність повітря, для росту та розвитку даного мікроорганізму. Оптимальними показниками росту даного представника є 30 °С та рН 6,0, тобто даний біологічний агент є мезофільним ацидофілом, так як дані умови є оптимальними умовами для більшості мікроорганізмів, що може призвести до появи небажаної контамінуючої мікрофлори, необхідно передбачити проведення технологічного процесу в асептичних умовах.

Враховуючи що необхідно забезпечити асептичні умови, а також дані наведені в попередньому підрозділі, виробничий синтез буде відбуватись глибинним методом (як видно з попереднього розділу при глибинному методі вирощування біологічного агента з метою синтезу гризеофульвіну кінцева концентрація цільового продукту в рази більша).

Синтез гризеофульвіну відбувається в стаціонарній фазі росту, з чого можна зробити висновок, що для виробництва оптимальним варіантом буде використання періодичного способу культивування.

З огляду на вище наведені умови виробничого синтезу (необхідність аерації та культивування глибинним методом) необхідно передбачити встановлення барботера, для подачі в товщу культуральної рідини стерильного аераційного повітря, та встановлення перемішуючого пристрою над барботером для інтенсифікації процесу аерації, найкращим варіантом серед перемішуючих пристроїв буде використання турбінної мішалки закритого типу, через менший руйнівний вплив на клітини біологічного агента.

					<b>НУХТ БТЕК 05.01.28 КР ПЗ</b>			
<b>Зм.</b>	<b>Арк.</b>	<b>№</b>	<b>Підпис</b>	<b>Да</b>				
Розробник	Некрасова Є				<b>РОЗДІЛ 5. ОБґРУНТУВАННЯ ВИБОРУ СТАДІЙ</b>	Лімен	АнкVIII	АнкVIIIІв
Керівник	Каплаш Ю.						42	87
Н. контр.						<b>Кафедра БТМ<sub>43</sub></b>		
Консульт.								
Зав. каф.	Стабніков							

Підсумовуючи вище наведену інформацію, процес виробничого синтезу необхідно проводити періодично в асептичних умовах з внесенням повітря при постійному перемішуванні, глибинним методом.

Визначивши умови процесу біосинтезу необхідно визначити оптимальне ферментаційне обладнання, яке задовольнятиме всі вимоги. Виробничий біосинтез відбуватиметься в ферментері об'ємом  $10 \text{ м}^3$ , під час культивування необхідно вносити стерильне повітря, отже ферментер повинен оснащуватись датчиком розчиненого кисню, так процес повинен підтримуватись в певному температурному режимі, для цього необхідна наявність датчику температури, а також для рівномірного розподілу компонентів необхідне перемішування, що забезпечується перемішувачем. З огляду на зазначені потреби в якості ферментеру можна обрати ферментер INOFE-JS виготовлений на замовлення в «INNOVA», Китай [20], вигляд апарату продемонстровано на рис. 5.1.



**Рис. 5.1. Візуальний вигляд ферментера виготовленого на замовлення у «INNOVA»**

Даний ферментер місткістю  $10 \text{ м}^3$  виготовлений з нержавіючої сталі, має діапазон робочого об'єму 30-70 %, оснащується барботером, мішалкою та датчиками розчиненого кисню, температури, рН, швидкості обертання.

## **5.2. Обґрунтування стадій підготовки повітря**

Як зазначалось раніше *Penicillium griseofulvum* FH1816 є аеробом, отже для вирощування даного біологічного агента в посівних апаратах та ферментері необхідна постійна наявність кисню. Враховуючи що процес вирощування посівного матеріалу та виробничий синтез гризофульвіну необхідно проводити в асептичних умовах, необхідно забезпечити попередню підготовку аераційного повітря. Підготовка аераційного повітря складається з наступних етапів:

1. Забір атмосферного повітря (відбувається через повітрязабірник в найвищій точці виробничої будівлі)
2. Очищення на фільтрі грубого очищення (після забору повітря його пропускають крізь фільтр для видалення великих часточок пилу та бруду)
3. Стиснення повітря (для подолання гідродинамічного бар'єру повітря повинно подаватись під високим тиском, з цією метою його направляють в компресор)
4. Охолодження стиснутого повітря (В результаті стиснення повітря нагрівається до високих температур тому для подальшої роботи його охолоджують до точки роси, щоб в подальшому видалити надлишкову вологу)
5. Видалення конденсованої вологи (після охолодження проводять видалення надлишкової вологи повітря)
6. Стабілізація тиску та нагрівання повітря (для зменшення пульсаційної подачі повітря та його стабілізації повітря направляють в ресивер та в подальшому нагрівають до оптимальної температури )
7. Очищення в фільтрах тонкого очищення та індивідуальних фільтрах (після нагрівання повітря пропускають крізь фільтри для отримання необхідного ступеня очищення, спочатку в фільтр тонкого очищення де відбувається очищення до ступеню 95 %, а потім в індивідуальні фільтри які встановлюються перед кожним апаратом в який подається повітря)

### 5.3. Вибір мийних та дезінфікуючих засобів

На біотехнологічних виробництвах одним із важливих моментів є підтримання чистоти приміщень і обладнань, а також дезінфекція після виробничого циклу, для унеможливлення формування небажаних резистентних мікроорганізмів.

Для проведення дезінфекції слід використовувати декілька дезінфекційних засобів, що б використовувати їх з інтервалом 2 тижні для уникнення формування резистентності. Під час вибору даних засобів в основному порівнюють склад діючих речовин та вартість, для вибору розглянемо наявні препарати в реєстрі дезінфекційних засобів за 2021 рік. Серед переліку дезінфекційних засобів в реєстрі можна обрати «Dezaldum 20» та «Ексан Про Дез», так як вони мають найменшу вартість в порівнянні з усіма іншими. В якості мийного засобу найчастіше застосовують розчин каустичної соди, з робочою концентрацією 2 %, тому оберемо його.

Дані дезінфекційні засоби продаються у вигляді концентратів та перед застосуванням потребують приготування, отже необхідно передбачити стадію приготування дезінфекційних засобів, концентрація робочого розчину «Dezaldum 20» становить 1 % [21], а «Ексан Про Дез» - 1,5 % [22].

### 5.4. Особливості підготовки та стерилізації поживного середовища

В патенті [19] наведено процес отримання гризеофульвіну при вирощуванні мутантного штаму *Penicillium griseofulvum* FH1816, згідно даних наведених в даному патенті для отримання посівного матеріалу та виробничого синтезу гризеофульвіну використовують різні поживні середовища.

Склад поживного середовища для отримання посівного матеріалу *Penicillium griseofulvum* FH1816, г/л:

Рисове борошно – 50;

NaNO<sub>3</sub> – 1;

NaCl – 2;

FeSO<sub>4</sub>×7H<sub>2</sub>O – 1;

$\text{KH}_2\text{PO}_4$  – 4;

$\text{KCl}$  – 1;

$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  – 5;

$\text{CaCO}_3$  – 1,8.

Склад поживного середовища для виробничого синтезу гризофульвіну культивування *Penicillium griseofulvum* FH1816, г/л:

Рисове борошно – 150;

$\text{KH}_2\text{PO}_4$  – 6;

$\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$  – 1;

$\text{KCl}$  – 8;

$\text{NaCl}$  – 10;

$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  – 5;

$\text{CaCO}_3$  – 3;

$\text{MgSO}_4$  – 1.

Розглянемо більш детально спосіб приготування та стерилізації поживного середовища в залежності від стадії технологічного процесу.

#### *Вирощування ПМ в колбах на качалці*

На дану стадію необхідно приготувати невелику кількість поживного середовища (0,75 л), з огляду на це процес стерилізації доцільно проводити в автоклаві, тоді процес приготування композиції відбуватиметься в колбах. Поділ компонентів на композиції відбувається з врахуванням відношення їх до температури, та виглядає наступним чином:

**Композиція А** – рисове борошно (112 °С, 30 хв);

**Композиція Б** – нітрат натрію, хлорид натрію, хлорид калію, сульфат заліза(III) семиводний та сульфат амонію (131°С,40 хв);

**Композиція В** – монофосфат калію (131°С,40 хв);

**Композиція Г** – карбонат кальцію (131°С,40 хв).

Рисове борошно відноситься до термолабільних компонентів, тому приготування та стерилізація буде відбуватись окремо. Під час приготування рисове борошно необхідно розпарити для цього його заливають холодною

водою та поміщають на водяну баню на 30 хв при температурі 70 °С. Фосфатні солі стерилізують окремо задля унеможливлення випадіння осаду, тому нітрат натрію, хлорид натрію, хлорид калію, сульфат заліза(III) семиводний та сульфат амонію, розчиняють та стерилізують в одній композиції (композиція Б) а монофосфат калію окремо (композиція В), режим стерилізації для даних композицій однаковий 40 хв при 131 °С.

Карбонат кальцію в поживному середовищі виступає регулятором рівня рН тому проводити його стерилізації необхідно окремо, режим стерилізації 40 хв при 131 °С.

Розрахунок кількості компонентів необхідних для приготування ПС на стадію вирощування посівного матеріалу в колбах на качалці наведено в табл. 5.1.

*Таблиця 5.1*

**Склад композицій для вирощування посівного матеріалу в 6 качалочних колбах**

Компоненти поживного середовища	Вміст, г/л	Кількість для приготування 750 мл середовища, г	Композиції	Об'єм композиції, л
Рисове борошно	50	37,5	Композиція А	180
Вода		150 (мл)		
NaNO <sub>3</sub>	1	0,75	Композиція Б	300
NaCl	2	1,5		
FeSO <sub>4</sub> ×7H <sub>2</sub> O	1	0,75		
KCl	1	0,75		
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	5	3,75		
Вода		300 (мл)		
КН <sub>2</sub> РО <sub>4</sub>	4	3	Композиція В	100
Вода		100 (мл)		
CaCO <sub>3</sub>	1,8	1,35	Композиція Г	170
Вода		170 (мл)		
Разом:				0,75 л

*Вирощування ПМ в інокуляторі об'ємом 15 л*

Приготування та стерилізація ПС для вирощування посівного матеріалу в інокуляторі об'ємом 15 л відбуватиметься як і для попередньої стадії, а саме приготування композицій відбуватиметься в колбах а стерилізація в автоклаві, з врахуванням температурних режимів. Розрахунок кількості компонентів необхідних для приготування поживного середовища на стадію вирощування посівного матеріалу в інокуляторі об'ємом 15 л наведено в табл. 5.2.

Таблиця 5.2

**Склад композицій для вирощування посівного матеріалу в інокуляторі місткістю 15 л**

Компоненти поживного середовища	Вміст, г/л	Кількість для приготування 8,33 л середовища, г	Композиції	Об'єм композиції, л
Рисове борошно	50	416,5	Композиція А	2,5
Вода		2,1 (л)		
NaNO <sub>3</sub>	1	8,33	Композиція Б	2,4
NaCl	2	16,66		
FeSO <sub>4</sub> ×7H <sub>2</sub> O	1	8,33		
KCl	1	8,33		
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	5	41,65		
Вода		2,35 (л)		
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	4	33,32	Композиція В	2
Вода		2 (л)		
CaCO <sub>3</sub>	1,8	15	Композиція Г	1,43
Вода		1,43 (л)		
Разом:				8,33 л

*Вирощування ПМ в посівних апарат об'ємом 160 л та 1600 л*

Для даних стадій необхідно значно більша кількість поживного середовища, тому доцільно проводити процес стерилізації в реакторах, яких буде відбуватись їх приготування. Також з врахуванням економічної доцільності дві композиції солей об'єднують та розчиняють в реакторі невеликого об'єму з якого рідину в подальшому направляють в посівні апарати та доливають води для отримання необхідного об'єму композиції.

Поділ компонентів на композиції на стадії вирощування посівного матеріалу в посівних апаратах об'ємом 160 та 1600 л виглядає наступним чином:

**Композиція А** – рисове борошно (112 °С, 30 хв);

**Композиція Б** – нітрат натрію, хлорид натрію, хлорид калію, сульфат заліза(III) семиводний, сульфат амонію та монофосфат калію (131°С,40 хв);

**Композиція В** – карбонат кальцію (131°С,40 хв).

Розрахунок кількості компонентів необхідних для приготування поживного середовища на стадію вирощування посівного матеріалу в посівному апараті об'ємом 160 л наведено в табл. 5.3, а для посівного апарату об'ємом 1600 л наведено в табл. 5.4.

Таблиця 5.3

**Склад композицій для вирощування посівного матеріалу в посівному апараті місткістю 160 л**

Компоненти поживного середовища	Вміст, г/л	Кількість для приготування 87,4 л середовища, г	Композиції	Об'єм композиції, л
Рисове борошно	50	4 370	Композиція А	16,3
Вода		12 (л)		
Конденсат		1,2 (л)		
NaNO <sub>3</sub>	1	87,4	Композиція Б	56,7
NaCl	2	174,8		
FeSO <sub>4</sub> ×7H <sub>2</sub> O	1	87,4		
KCl	1	87,4		
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	5	437		
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	4	349,6		
Вода		55,6 (л)		
Конденсат		5,6 (л)		5,6
CaCO <sub>3</sub>	1,8	157,3	Композиція В	7,1
Вода		7 (л)		
Конденсат		0,7 (л)		
Разом:				87,4 л

**Склад композицій для вирощування посівного матеріалу в посівному апараті місткістю 1 600 л**

Компоненти поживного середовища	Вміст, г/л	Кількість для приготування 835,9 л середовища, г	Композиції	Об'єм композиції, л
Рисове борошно	50	41 795	Композиція А	161,8
Вода		120 (л)		
Конденсат		12 (л)		
NaNO <sub>3</sub>	1	835,9	Композиція Б	531,5
NaCl	2	1 671,8		
FeSO <sub>4</sub> ×7H <sub>2</sub> O	1	835,9		
KCl	1	835,9		
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	5	4 179,5		
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	4	3 343,6		
Вода		521 (л)		
Конденсат		52,1 (л)		
CaCO <sub>3</sub>	1,8	1 504,6	Композиція В	71,5
Вода		70 (л)		
Конденсат		7 (л)		
Разом:				835,9 л

*Виробничий синтез гризеофульвіну в ферментері об'ємом 10 м<sup>3</sup>*

На дану стадію необхідно приготувати приблизно 5,3 м<sup>3</sup> поживного середовища, враховуючи великий об'єм середовища процес стерилізації доцільно проводити в установці безперервної стерилізації (УБС). При стерилізації поживного середовища в УБС поділ компонентів на композиції не відбувається, а сам процес приготування та стерилізації виглядатиме наступним чином: для приготування в реактор спочатку завантажать рисове борошно проведуть його розварювання та в подальшому до нього додають усі інші компоненти, завантаживши та перемішавши всі компоненти розчин подаватимуть в УБС-5 де відбуватиметься його стерилізації за температури 131 °С. Розрахунок кількості компонентів необхідних для приготування поживного середовища на стадію виробничого синтезу гризеофульвіну в ферментері об'ємом 10 м<sup>3</sup> наведено в табл. 5.5.

**Склад композицій для виробничого синтезу гризеофульвіну в ферментері місткістю 10 м<sup>3</sup>**

Компоненти поживного середовища	Вміст, г/л	Кількість для приготування 5 330 л середовища, г	Композиції	Об'єм композиції, л
Рисове борошно	150	799 500	Композиція А	4 605
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	6	31 980		
FeSO <sub>4</sub> ×7H <sub>2</sub> O	1	5 330		
KCl	8	42 640		
NaCl	10	53 300		
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	5	26 650		
CaCO <sub>3</sub>	3	15 990		
MgSO <sub>4</sub>	1	5 330		
Вода		3 625 (л)		
Конденсат		725 (л)		
Разом:				5 330

### 5.5. Приготування титрувальних агентів

Враховуючи що процес приготування та стерилізація солей на стадії отримання посівного матеріалу в посівних апаратах об'ємом 160 та 1600 л відбувається разом, для уникнення утворення небажаного осаду під час нагрівання розчину, слід зменшити рівень рН до позначки 4,0-4,5. Для зменшення рівня рН необхідно передбачити приготування 6 % розчину хлоридної кислоти, яка дозволить підкислити поживне середовище до необхідного рівня рН. Також слід зазначити що оптимальне значення рН необхідне для росту біологічного агента становить 6,0 тому після стерилізації поживних середовищ необхідно передбачити наявність титрувального агента який дозволить збільшити рівень рН до необхідного значення. Для цього слід передбачити приготування та стерилізацію 6 % розчину гідроксиду натрію. Розрахунок необхідної кількості титрувальних агентів наведено в табл. 5.5.

Таблиця 5.6

**Розрахунок вмісту та особливості приготування титрувальних агентів**

Об'єм середовища, л	NaOH (6%)		HCl (6%)	
	Об'єм, мл	Особливість приготування	Об'єм, мл	Особливість приготування
87,4	175	у колбі об'ємом 2,5 л	175	у колбі об'ємом 2,5 л
835,9	1 672		1 672	

## Розділ 6. Опис технологічної схеми

Технологічна схема отримання гризеофульвіну за допомогою культури *Penicillium griseofulvum* FH1816 передбачає використання допоміжних робіт (приготування та стерилізація титрувальних агентів для регуляції рівня рН поживного середовища і приготування та стерилізація поживного середовища) та самого технологічного процесу (підготовка посівного матеріалу *Penicillium griseofulvum* FH1816 та виробничий біосинтез гризеофульвіну).

Технологічну схему отримання гризеофульвіну представлено в графічній частині проекту.

***ДР 1. Приготування титрувальних агентів для регулювання рівня рН поживного середовища***

***ДР 1.1. Приготування розчину 6% хлоридної кислоти для підкислення поживного середовища***

Для підкислення поживного середовища, на весь технологічний процес, необхідно приготувати 1,96 л 6 % хлоридної кислоти, для цього в колбу об'ємом 2,5 л наливають 1,63 л питної води та при постійному перемішуванні вносять 0,33 л 36%-ї хлоридної кислоти, яка попередньо відміряна мірним циліндром.

***ДР 1.2. Приготування і стерилізація 6 % розчину гідроксиду натрію***

Для підлучення поживного середовища на весь технологічний процес, необхідно приготувати 1,96 л 6 % розчину гідроксиду натрію. Для цього в колбу об'ємом 2,5 л поміщають наважку гідроксиду натрію масою 117 г та додають 1,96 л води питної, вміст колби ретельно перемішують та закривають ватно-марлевим корком. В подальшому колбу поміщають в автоклав де проводять стерилізацію впродовж 40 хв при 131 °С.

					<b>НУХТ БТЕК 05.01.28 КР ПЗ</b>			
<b>Зм</b>	<b>Дрк</b>	<b>№</b>	<b>Підпис</b>	<b>Да</b>	<b>РОЗДІЛ 6. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ВИРОБНИЦТВА</b>	<b>Літер</b>	<b>Арквш</b>	<b>Арквшів</b>
<b>Розробни</b>	<b>Керівник</b>	<b>Н. контп</b>	<b>Консульт</b>	<b>Зав. каф.</b>			52	87
	Некрасова Є					<b>Кафедра БТМ <sup>54</sup></b>		
	Капаш Ю.							
		Стабніков						

## *ДР 2. Приготування і стерилізація поживного середовища*

### *ДР 2.1. Приготування і стерилізація поживного середовища для вирощування посівного матеріалу в колбах на качалці*

Для отримання посівного матеріалу необхідно приготувати 820 мл поживного середовища. В табл. 6.1 наведено вміст компонентів для приготування даного об'єму поживного середовища.

*Таблиця 6.1*

#### **Склад композицій для вирощування посівного матеріалу в 6 качалочних колбах**

<b>Компоненти поживного середовища</b>	<b>Вміст, г/л</b>	<b>Кількість для приготування 820 мл середовища, г</b>	<b>Композиції</b>	<b>Об'єм композиції, л</b>
Рисове борошно	50	41	Композиція А	240
Вода		200 (мл)		
NaNO <sub>3</sub>	1	0,82	Композиція Б	250
NaCl	2	1,64		
FeSO <sub>4</sub> ×7H <sub>2</sub> O	1	0,82		
KCl	1	0,82		
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	5	4,1	Композиція В	200
Вода		240 (мл)		
КН <sub>2</sub> РО <sub>4</sub>	4	3,28		
Вода		200 (мл)	Композиція Г	130
CaCO <sub>3</sub>	1,8	1,476		
Вода		130 (мл)		
Разом:				0,82 л

#### *ДР 2.1.1. Приготування і стерилізація композиції А*

За допомогою технічних ваг формують наважку рисового борошна масою 41 г, отриману наважку переносять в колбу об'ємом 0,5 л, додають 200 мл, відміряної за допомогою мірного циліндра, холодної води та

розміщують колбу на водяній бані, де впродовж 30 хв відбувається розварювання борошна при температурі 70 °С. Після розварювання борошна колбу закривають ватно-марлевым корком та розміщують в автоклаві де відбувається стерилізації композиції впродовж 30 хв при 112 °С.

#### *ДР 2.1.2. Приготування і стерилізація композиції Б*

За допомогою технічних ваг формують наважки нітрату натрію масою 0,82 г, хлориду натрію – 1,64 г, хлориду калію – 0,82 г, сульфату заліза (III) семиводного – 0,82 г, сульфату амонію – 4,1 г. Отримані наважки переносять в колбу об'ємом 1 л, додають 240 мл, відміряної за допомогою мірного циліндра, води питної та перемішують до повного розчинення, після розчинення колбу закривають ватно-марлевым корком та поміщають в автоклав, де впродовж 40 хв відбувається стерилізація при тиску 0,15 МПа (131 °С).

#### *ДР 2.1.3. Приготування і стерилізація композиції В*

За допомогою технічних ваг формують наважку монофосфату калію масою 3,28 г. Отриману наважку переносять в колбу об'ємом 0,5 л, додають 200 мл, відміряної за допомогою мірного циліндра, води питної та перемішують до повного розчинення, після розчинення колбу закривають ватно-марлевым корком та поміщають в автоклав, де впродовж 40 хв відбувається стерилізація при тиску 0,15 МПа (131 °С).

#### *ДР 2.1.4. Приготування і стерилізація композиції Г*

За допомогою технічних ваг формують наважку карбонату кальцію масою 1,476 г. Отриману наважку переносять в колбу об'ємом 0,25 л, додають 100 мл, відміряної за допомогою мірного циліндра, води питної та перемішують, після рівномірного розподілу вмісту колби її закривають ватно-марлевым корком та поміщають в автоклав, де впродовж 40 хв відбувається стерилізація при тиску 0,15 МПа (131 °С).

***ДР 2.2. Приготування і стерилізація поживного середовища для вирощування посівного матеріалу в інокуляторі місткістю 20 л***

Для отримання посівного матеріалу необхідно приготувати 8,9 л поживного середовища. В табл. 6.2 наведено вміст компонентів для приготування даного об'єму поживного середовища.

Таблиця 6.2

**Склад композицій для вирощування посівного матеріалу в інокуляторі місткістю 20 л**

Компоненти поживного середовища	Вміст, г/л	Кількість для приготування 8,9 л середовища, г	Композиції	Об'єм композиції, л
Рисове борошно	50	445	Композиція А	2,5
Вода		2 (л)		
NaNO <sub>3</sub>	1	8,9	Композиція Б	2,5
NaCl	2	17,8		
FeSO <sub>4</sub> ×7H <sub>2</sub> O	1	8,9		
KCl	1	8,9		
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	5	44,5		
Вода		2,4 (л)	Композиція В	2
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	4	35,6		
Вода		2 (л)		
CaCO <sub>3</sub>	1,8	16,02	Композиція Г	1,9
Вода		1,9 (л)		
Разом:				8,9 л

*ДР 2.2.1. Приготування і стерилізація композиції А*

За допомогою технічних ваг формують наважку рисового борошна масою 445 г, отриману наважку переносять в колбу об'ємом 5 л, додають 2 л, відміряної за допомогою мірного циліндра, холодної води та розміщують колбу на водяній бані, де впродовж 30 хв відбувається розварювання борошна при температурі 70 °С. Після розварювання борошна колбу

закривають ватно-марлевым корком та розміщують в автоклаві де відбувається стерилізації композиції впродовж 30 хв при 112 °С.

#### *ДР 2.2.2. Приготування і стерилізація композиції Б*

За допомогою технічних ваг формують наважки нітрату натрію масою 8,9 г, хлориду натрію – 17,8 г, хлориду калію – 8,9 г, сульфату заліза (III) семиводного – 8,9 г, сульфату амонію – 44,5 г. Отримані наважки переносять в колбу об'ємом 5 л, додають 2,4 л, відміряної за допомогою мірного циліндра, води питної та перемішують до повного розчинення, після розчинення колбу закривають ватно-марлевым корком та поміщають в автоклав, де впродовж 40 хв відбувається стерилізація при тиску 0,15 МПа (131 °С).

#### *ДР 2.2.3. Приготування і стерилізація композиції В*

За допомогою технічних ваг формують наважку монофосфату калію масою 35,6 г. Отриману наважку переносять в колбу об'ємом 5 л, додають 2 л, відміряної за допомогою мірного циліндра, води питної та перемішують до повного розчинення, після розчинення колбу закривають ватно-марлевым корком та поміщають в автоклав, де впродовж 40 хв відбувається стерилізація при тиску 0,15 МПа (131 °С).

#### *ДР 2.2.4. Приготування і стерилізація композиції Г*

За допомогою технічних ваг формують наважку карбонату кальцію масою 16,02 г. Отриману наважку переносять в колбу об'ємом 5 л, додають 1,9 л, відміряної за допомогою мірного циліндра, води питної та перемішують, після рівномірного розподілу вмісту колби її закривають ватно-марлевым корком та поміщають в автоклав, де впродовж 40 хв відбувається стерилізація при тиску 0,15 МПа (131 °С).

### ***ДР 5.3. Приготування і стерилізація поживного середовища для вирощування посівного матеріалу в посівному апараті місткістю 160 л***

Для отримання посівного матеріалу на даній стадії необхідно приготувати 93 л поживного середовища. Через стерилізацію гострою парою потрібно врахувати конденсат який становить 10 %, тому початковий об'єм

води, необхідний на приготування поживного середовища, буде становити 85 л. В табл. 6.3 наведено вміст компонентів для приготування даного об'єму поживного середовища.

Таблиця 6.3

**Склад композицій для вирощування посівного матеріалу в посівному апараті місткістю 160 л**

Компоненти поживного середовища	Вміст, г/л	Кількість для приготування 93 л середовища, г	Композиції	Об'єм композиції, л
Рисове борошно	50	4 650	Композиція А	14,6
Вода		10 (л)		
Конденсат		1 (л)		1
NaNO <sub>3</sub>	1	93	Композиція Б	65,3
NaCl	2	186		
FeSO <sub>4</sub> ×7H <sub>2</sub> O	1	93		
KCl	1	93		
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	5	465		
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	4	372		
Вода		64 (л)		
Конденсат		6,5 (л)		6,5
CaCO <sub>3</sub>	1,8	167,4	Композиція В	5,1
Вода		5 (л)		
Конденсат		0,5 (л)		0,5
Разом:				93 л

*ДР 2.3.1. Приготування і стерилізація композиції А*

За допомогою технічних ваг формують наважку рисового борошна масою 4 650 г, отриману наважку переносять в реактор об'ємом 20 л, додають 10 л, холодної води та вмикають перемішуючий пристрій (50 об/хв),

в сорочку реактора подають глуху пару для нагріву розчину до 70 °С, щоб впродовж 30 хв провести розварювання борошна. Після розварювання борошна в реакторі за допомогою гострої пари проводять стерилізацію впродовж 30 хв при 112 °С.

#### *ДР 2.3.2. Приготування і стерилізація композиції Б*

За допомогою технічних ваг формують наважки нітрату натрію масою 93 г, хлориду натрію – 186 г, хлориду калію – 93 г, сульфату заліза (III) семиводного – 93 г, сульфату амонію – 465 г та монофосфату калію – 372 г. Отримані наважки переносять в колбу об'ємом 5 л, додають 3 л, відміряної за допомогою мірного циліндра, води питної та перемішують до повного розчинення, після розчинення в колбу вносять 6 % розчин хлоридної кислоти (від ДР 1.1), для досягнення рівня рН 4,0, та перемішують. Після перемішування вміст колби переливають в посівний апарат об'ємом 160 л, та за допомогою лічильника вносять 61 л води питної, вмикають перемішуючий пристрій (50 об/хв) для рівномірного розміщення компонентів, та в подальшому проводять стерилізацію гострою парою впродовж 40 хв при 131 °С.

#### *ДР 2.3.3. Приготування і стерилізація композиції В*

За допомогою технічних ваг формують наважку карбонату кальцію масою 167,4 г. Отриману наважку переносять в реактор об'ємом 10 л, додають 5 л води питної та вмикають перемішуючий пристрій (50 об/хв). Після перемішування в реакторі проводять стерилізацію подаючи гостру пару впродовж 40 хв при 131 °С.

#### ***ДР 2.4. Приготування і стерилізація поживного середовища для вирощування посівного матеріалу в посівному апараті місткістю 1 600 л***

Для отримання посівного матеріалу на даній стадії необхідно приготувати 886 л поживного середовища. Через стерилізацію гострою парою потрібно врахувати конденсат який становить 10 %, тому початковий об'єм води, необхідний на приготування поживного середовища, буде

становити 810,4 л. В табл. 6.4 наведено вміст компонентів для приготування даного об'єму поживного середовища.

Таблиця 6.4

**Склад композицій для вирощування посівного матеріалу в посівному апараті місткістю 1600 л**

Компоненти поживного середовища	Вміст, г/л	Кількість для приготування 886 л середовища, г	Композиції	Об'єм композиції, л
Рисове борошно	50	44 300	Композиція А	174
Вода		130 (л)		
Конденсат		13 (л)		
NaNO <sub>3</sub>	1	886	Композиція Б	629,8
NaCl	2	1 772		
FeSO <sub>4</sub> ×7H <sub>2</sub> O	1	886		
KCl	1	886		
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	5	4 430		
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	4	3 544		
Вода		618 (л)		
Конденсат		62 (л)		
CaCO <sub>3</sub>	1,8	1 594,8	Композиція В	6,6
Вода		6 (л)		
Конденсат		0,6 (л)		
Разом:				886 л

*ДР 2.4.1. Приготування і стерилізація композиції А*

За допомогою дозатора в реактор об'ємом 200 л вносять рисове борошно масою 44,3 кг та через лічильник подають 130 л, холодної води та вмикають перемішуючий пристрій (50 об/хв), в сорочку реактора подають глуху пару для нагріву розчину до 70 °С, щоб впродовж 30 хв провести

розварювання борошна. Після розварювання борошна в реакторі за допомогою гострої пари проводять стерилізацію впродовж 30 хв при 112 °С.

#### *ДР 2.4.2. Приготування і стерилізація композиції Б*

За допомогою технічних ваг формують наважки нітрату натрію масою 886 г, хлориду натрію – 1 772 г, хлориду калію – 886 г, сульфату заліза (III) семиводного – 886 г, сульфату амонію – 4 430 г та монофосфату калію – 3 544 г. Отримані наважки поміщають в реактор об'ємом 40 л, через лічильник додають 23 л води питної та перемішують до повного розчинення, після розчинення вміст реактора подають в посівний апарат об'ємом 1 600 л та через лічильник вносять 595 л води питної і додають 6 % розчин хлоридної кислоти (від ДР 1.1), для досягнення рівня рН 4,0, та перемішують. Після перемішування проводять стерилізацію гострою парою впродовж 40 хв при 131 °С.

#### *ДР 2.4.3. Приготування і стерилізація композиції В*

За допомогою технічних ваг формують наважку карбонату кальцію масою 1 594,8 г. Отриману наважку переносять в реактор об'ємом 10 л, додають 6 л води питної та вмикають перемішуючий пристрій (50 об/хв). Після перемішування в реакторі проводять стерилізацію подаючи гостру пару впродовж 40 хв при 131 °С.

#### ***ДР 2.5. Приготування і стерилізація поживного середовища для біосинтезу гризеофульвіну в ферментері місткістю 10 м<sup>3</sup>***

Для біосинтезу гризеофульвіну в ферментері місткістю 10 м<sup>3</sup> необхідно приготувати 5 652 л поживного середовища. Через стерилізацію в установці безперервної стерилізації за допомогою гострої пари потрібно врахувати конденсат, який становить 20 %, тому початковий об'єм води, необхідний на приготування поживного середовища, буде становити 3 843-л.

**Склад композицій для виробничого синтезу гризеофульвіну в  
ферментері місткістю 10 м<sup>3</sup>**

<b>Компоненти поживного середовища</b>	<b>Вміст, г/л</b>	<b>Кількість для приготування 5 652 л середовища, г</b>	<b>Композиції</b>	<b>Об'єм композиції, л</b>
Рисове борошно	150	847 800	Композиція А	4 883
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	6	33 912		
FeSO <sub>4</sub> ×7H <sub>2</sub> O	1	5 652		
KCl	8	45 216		
NaCl	10	56 520		
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	5	28 260		
CaCO <sub>3</sub>	3	16 956		
MgSO <sub>4</sub>	1	5 652		
Вода		3 843 (л)		
Конденсат		769 (л)		
Разом:				5 652

*ДР 2.5.1. Приготування композиції А*

За допомогою об'ємно-вагового дозатора в реактор-змішувач об'ємом 6,3 м<sup>3</sup>вносять 847,8 кг рисового борошна та через лічильник додають 2 м<sup>3</sup> води холодної, вмикають перемішуючи пристрій (50 об/хв) та в сорочку реактора подають глуху пару для нагріву розчину до 70 °С, щоб впродовж 30 хв провести розварювання борошна. Після розварювання борошна в реактор за допомогою об'ємно-вагового дозатора вносять монофосфат калію масою 33,912 кг, хлорид натрію – 56,52 кг, хлорид калію – 45,216 кг, сульфат заліза (III) семиводний – 5,652 кг, сульфат амонію – 28,26 кг, карбонат кальцію – 16,956 кг та сульфат магнію – 5,652 кг, через лічильник додають 1,843 м<sup>3</sup>

води питної та вмикають перемішуючий пристрій (50 об/хв) для рівномірного розподілу компонентів.

#### **ДР 2.5.2. Стерилізація композиції А в УБС**

Отриманий розчин (від ДР 2.5.1) перекачують відцентровим насосом в УБС-5, де відбувається стерилізація гострою парою за температури 131°C упродовж 5 хвилин. На виході з УБС стерилізований розчин поступає в ферментер об'ємом 10 м<sup>3</sup>.

### ***ТП 3. Підготовка посівного матеріалу *Penicillium griseofulvum* FH1816***

#### ***ТП 3.1. Підтримання колекційної культури***

Зберігання колекційної культури *Penicillium griseofulvum* FH1816 відбувається на скошеному картопляно декстрозному агарі (КДА) при 5 °С. Кожні 3 місяці проводять пересіви, всі роботи з культурою проводять в строго асептичних умовах.

#### ***ТП 3.2. Одержання робочої культури***

В асептичних умовах за допомогою бактеріологічної петлі колекційну культуру розсівають методом виснажувального штриха на чашки Петрі з агаризованим середовищем (КДА) для отримання ізольованих колоній. Чашки ставлять у термостат, інкубують упродовж 72 год при 28 °С.

#### ***ТП 3.3. Вирощування посівного матеріалу на агаризованих поживних середовищах***

В асептичних умовах ізольовані колонії, отримані на попередній стадії (від ТП 3.2), пересівають бактеріологічною петлею у пробірки з агаризованим середовищем КДА (одна ізольована колонія використовується для засіву однієї пробірки). В пробірки пересівають ізольовані колонії, що знаходяться на відстані не менше 1 см. Інкубування здійснюється в термостаті при 28 °С впродовж 72 год.

### ***ТП 3.4. Вирощування посівного матеріалу в колбах на качалці***

В колбу з композицією Б в асептичних умовах вносять стерильну композицію А, композицію В та композицію Г, перемішують та розливають по 137 мл в шість стерильні качалочні колби об'ємом 750 мл.

В пробірку з робочою культурою *Penicillium griseofulvum* FH1816 в асептичних умовах вносять 5 мл фізіологічного розчину для суспендування клітин. За допомогою піпетки відбирають одержану суспензію клітин і вносять у колби з поживним середовищем. Для засіву однієї колби використовують суспензію клітин, одержану з однієї пробірки.

Вирощування культури відбувається в колбі на качалці (220 об/хв) при 31 °С упродовж 48 год. Після завершення процесу культивування відбирають пробу для здійснення мікробіологічного контролю та визначення концентрації біомаси. В асептичних умовах посівний матеріал з шести колб переливають в стерильну засівну колбу об'ємом 1 л.

### ***ТП 3.5. Вирощування посівного матеріалу в інокуляторі місткістю 20 л***

В інокулятор об'ємом 20 л вносять стерильну композицію А об'ємом 2,5 л, стерильну композицію Б об'ємом 2,5 л, стерильну композицію В об'ємом 2 л, стерильну композицію Г об'ємом 1,9. Об'єднавши композиції, через засівну колбу вносять посівний матеріал (від ТП 3.4).

Вирощування посівного матеріалу здійснюють при температурі 31 °С впродовж 48 год з витратою аераційного повітря 1 л/(л·хв) та частоті обертання мішалки 220 об/хв. Кожні 8 год, а також після завершення процесу культивування, відбирають пробу для здійснення мікробіологічного контролю та визначення концентрації біомаси.

### ***ТП 3.6. Вирощування посівного матеріалу в посівному апараті місткістю 160 л***

В посівний апарат об'ємом 160 л з простерилізованою композицією Б, в асептичних умовах, вносять стерильні композиції А та В. Після об'єднання композицій в посівний апарат вносять 6% розчин гідроксиду натрію

(від ДР1.2) для збільшення рівня рН до 6,0 та в подальшому через трубу перетискування в посівний апарат подають посівний матеріал, отриманий на попередній стадії (від ТП 3.5).

Вирощування посівного матеріалу здійснюють при температурі 31 °С впродовж 48 год з витратою аераційного повітря 1 л/(л·хв) та частоті обертання мішалки 220 об/хв. Кожні 8 год, а також після завершення процесу культивування, відбирають пробу для здійснення мікробіологічного контролю та визначення концентрації біомаси.

### ***ТП 3.7. Вирощування посівного матеріалу в посівному апараті місткістю 1 600 л***

У посівний апарат об'ємом 1,6 м<sup>3</sup> з стерильною композицією Б за допомогою перистальтичного насоса подають стерильну композицію А, а також самоплином подають стерильну композицію В. Після об'єднання композицій в посівний апарат вносять 6% розчин гідроксиду натрію (від ДР1.2) для збільшення рівня рН до 6,0 та в подальшому через трубу перетискування в посівний апарат подають посівний матеріал (від ТП 3.6).

Вирощування посівного матеріалу здійснюють при температурі 31 °С впродовж 48 год з витратою повітря 1 л/(л·хв) та при частоті обертання мішалки 220 об/хв. Кожні 8 год, а також після завершення процесу культивування відбирають пробу для здійснення мікробіологічного контролю та визначення концентрації біомаси.

### ***ТП 4. Виробничий біосинтез гризеофульвіну***

#### ***ТП 4.1. Виробничий біосинтез в ферментері місткістю 10 м<sup>3</sup>***

У виробничий ферментер об'ємом 10 м<sup>3</sup> з стерильною композицією А за допомогою труби перетискування подають посівний матеріал (від ТП 3.7), та проводять виробничий синтез.

Вирощування культури відбувається до досягнення концентрації гризеофульвіну 30,751 г/л, при температурі 30 °С, постійному перемішувані 180 об/хв, впродовж 336 год.

Кожні 12 год, а також після закінчення процесу культивування, відбирають проби культуральної рідини для визначення концентрації джерел вуглецю та азоту, біомаси, гризеофульвіну та для здійснення мікробіологічного контролю.

## Розділ 7. Специфікація обладнання

Таблиця 7.1

Позиція	Найменування	Кількість	Технічна характеристика (виробник)
ПЗ-1	Повітрязабірник	1	Обладнаний металевою сіткою, яка забезпечує видалення забруднюючих частинок
Ф-2	Фільтр грубого очищення	1	Фільтр сітчастий, фільтроматеріал – гофровані ткани сітки з високолегованих сталей, корпус – із високолегованої сталі. Продуктивність – 1100 м <sup>3</sup> /год, стартовий опір – 50 Па. Розміри: 495*247*48 (мм). Клас очищення: G2/G3 (E = 90 %) [10]
К-3	Компресор	1	Компресор гвинтовий Tidy 4. Максимальний тиск – 7,5 бар, потужність – 3 кВт, продуктивність 410 л/хв [11]
Т-4	Теплообмінник-охолоджувач	1	Кожухотрубний теплообмінник ОРЕКС-3-ST з нержавіючої сталі. Робочий тиск – від 6 до 40 бар, діапазон робочих температур – від -60 до 400 °С [12]
Рс-5	Ресивер	1	Ресивер з нержавіючої сталі об'ємом 200 л (постачається разом з компресором) [13]
Т-6	Теплообмінник-нагрівач	1	Паровий калорифер з нержавіючої сталі, виконаний на замовлення у фірми ОПЕКС (Україна), продуктивність за повітрям – 400 л/хв [14]
Ф-7	Фільтр тонкого очищення	1	Фільтр кишенькового типу, фільтроматеріал – поліестер і мікрОВОлокно, корпус – із оцинкованої або нержавіючої сталі. Продуктивність – 800 м <sup>3</sup> /год, стартовий опір – 55 Па. Розміри: 287*287*600 (мм). Клас очищення: G4/F9 (E = 92 %) [15]
Р-8	Реактор 20 л	1	Реактор JSR-20, об'ємом 20 л виготовлений з нержавіючої сталі, датчиком температури (-20-200 °С), перемішувачем пристроєм та сорочкою [16].
Р-9 Р-10	Реактор 10 л	2	Реактор JSR-10, об'ємом 10 л виготовлений з нержавіючої сталі, датчиком температури (-20-200 °С), перемішувачем пристроєм та сорочкою [16].

<b>НУХТ БТЕК 05.01.28 КР ПЗ</b>				
Зм	Арк.	№	Підпис	Ла
Розробник	Некрасова Є			
Керівник	Карлаш Ю.			
Н. контр.				
Консульт.				
Зав. каф.	Стабніков			
<b>РОЗДІЛ 7. СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ</b>			Літень	Анквіт
			65	87
			<b>Кафедра БТМ</b> <sup>67</sup>	

ІФ-11 ІФ-13 ІФ-21 ІФ-28	Індивідуальний фільтр	4	Фільтр НЕРА, фільтроматеріал – мікроскловолокно, корпус – із пластику, алюмінію, оцинкованої або нержавіючої сталі. Продуктивність – 1000 м <sup>3</sup> /год, стартовий опір – 250 Па, кінцевий опір – 650 Па. Розміри: 610*610*78 (мм). Клас очищення: Е10-12/Н13/Н14/У15-17 (Е = 99,995 %) [17]
Ін-12	Інокулятор	1	Ферментер об'ємом 15 л, виготовлений з нержавіючої сталі, оснащений мішалкою (70-1000 об/хв), сорочкою, датчиком температури (5-65 °С), рН (2-12) та розчиненого кисню. Габаритні розміри 1200*700*1600 мм [18].
ПА-14	Посівний апарат	1	Ферментер об'ємом 160 л, виготовлений з нержавіючої сталі, оснащений мішалкою (50-1000 об/хв), сорочкою, датчиком температури (5-65 °С), рН (2-12) та розчиненого кисню [19].
Р-15	Реактор	1	Реактор об'ємом 50 л, виготовлений з нержавіючої сталі, оснащений перемішувачем пристроєм датчиком температури та сорочкою [20]
ДЗ-16 ДЗ-24	Дозатор	2	Дозатор сипучих матеріалів ДВ-06, максимальна межа дозування 50 кг, дискретність: 0,005 г [21].
Р-17	Реактор 200 л	1	Реактор JSR-200, об'ємом 200 л виготовлений з нержавіючої сталі, обладнаний датчиком температури (-20-200 °С), перемішувачем пристроєм та сорочкою [16].
Н-18	Насос перистальтичний	1	Насос перистальтичний HELIOS AS 20 FX-453, з продуктивністю 453 л/год [22].
Р-19	Реактор	1	Реактор JSR-100, об'ємом 100 л виготовлений з нержавіючої сталі, обладнаний датчиком температури (-20-200 °С), перемішувачем пристроєм та сорочкою [16].
Н-20	Насос перистальтичний	1	Насос перистальтичний HELIOS AS 15 VX-221, з продуктивністю 221 л/год [23].
ПА-22	Посівний апарат	1	Ферментер об'ємом 1600 л, виготовлений з нержавіючої сталі, обладнаний мішалкою (50-1000 об/хв), сорочкою, датчиком температури (5-65 °С), рН (2-12) та розчиненого кисню [24].
ДЗ-23	Дозатор	1	Дозатор сипучих матеріалів СБ-100, максимальна межа дозування 320 кг, дискретність: 0,2 % [21].

## Закінчення табл. 3.1

P-25	Реактор	1	Реактор об'ємом 5 м <sup>3</sup> виготовлений з нержавіючої сталі, обладнаний датчиком температури, перемішуючим пристроєм та сорочкою, габаритні розміри 2000*2000*4400 мм [25].
H-26	Насос	1	Насос відцентровий, з продуктивністю 3,6 м <sup>3</sup> /год [26].
УБС-27	УБС	1	Установка безперервної стерилізації, продуктивністю 5 м <sup>3</sup> .
Фр-29	Ферментер	1	Ферментер об'ємом 10 м <sup>3</sup> , виготовлений з нержавіючої сталі, оснащений мішалкою, сорочкою, датчиком температури, рН та розчиненого кисню [27].
H-30	Насос перистальтичний	1	Насос перистальтичний, з продуктивність 60 м <sup>3</sup> /год [28]
ПЄ-31 ПЄ-32 ПЄ-33	Пересувна ємність	3	Реактор об'ємом 20 л, з нержавіючої сталі, оснащений мішалкою, габаритні розміри 450*450*1150 (мм) [29].

## Розділ 8. Контроль виробництва

### 8.1 Мікробіологічний контроль

Контроль мікробіологічної чистоти культури проводиться шляхом висіву зразка на чашку Петрі методом виснажувального штриха або мікроскопіюванням. Для аналізу мікробіологічної чистоти культуральну рідину розсівають на чашки Петрі з м'ясо–пептонним агаром для виявлення бактерій (інкубують 24 год за температури 37 °С), і на чашки з сусло–агаром для виявлення дріжджів і грибів (інкубують 7 діб за температури 30 °С). Колонії *Penicillium griseofulvum* FH1816 утворюють білий опуклий край з сіруватим забарвленням у центрі (рис. 4.1) [23].

Мікроскопіювання здійснюють, використовуючи препарат «роздавлена крапля», підготовлений наступним чином: на знежирене предметне скло наносять краплю культуральної рідини, накривають покривним скельцем та мікроскопіюють, використовуючи об'єктив 40х. Міцелій *Penicillium griseofulvum* FH1816 (рис. 8.1) добре розвинутий, від головної осі спороносія до верхівки відгалужуються три послідовно коротші бічні осі, що містять фіаліди, які мають циліндричну форму, невеликого розміру, наявні конідіоспори округлі і утворюють довгі ланцюжки [24].

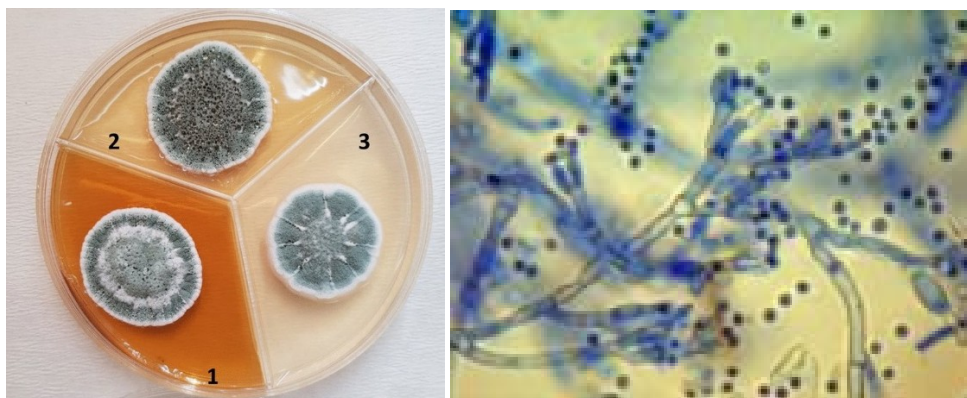


Рис. 8.1. Культуральні ознаки (зліва 1. Мальтозний агар, 2. Картопляно-декстрозний агар, 3. Середовище Чапека) та морфологія клітин (справа)

### *Penicillium griseofulvum* FH1816

					<b>НУХТ БТЕК 05.01.28 КР ПЗ</b>			
Зм	Анк	№	Підпис	Ла	<b>РОЗДІЛ 8. КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА</b>	Лімен	Анквш	Анквшів
Розробни	Некрасова Є							
Керівник	Капаш Ю						68	87
Н. контр						<b>Кафедра БТМ<sup>70</sup></b>		
Консульт								
Зав. каф.	Стабніков							

Контроль стерильності поживного середовища здійснюють наступним чином : відбирають пробу простерилізованого поживного середовища об'ємом 20 мл, висівають 0,1 мл з цієї кількості на чашки Петрі з сусло-агаром (так виявляють гриби та дріжджі), з м'ясо-пептонним агаром (виявляють бактерії). Чашки з посівами загортають у папір і поміщають у термостат для інкубації за температури 33 °С протягом 2 діб (бактерії) та за 25 °С протягом 4 діб (гриби, дріжджі). На поверхні поживних середовищ відзначають відсутність ознак росту мікроорганізмів [26].

## **8.2 Визначення концентрації джерела азоту та вуглецю**

**Концентрація джерела вуглецю.** В якості джерела вуглецю в поживному середовищі виступає рисове борошно вміст крохмалю в якому приблизно 80 %. Враховуючи, що крохмаль перед споживанням розкладається амілазами з утворенням глюкози, аналіз здійснюють так: пробу культуральної рідини об'ємом 20 мл ділять на дві частини по 10 мл – одну частину використовують для аналізу концентрації глюкози, іншу – для аналізу концентрації крохмалю шляхом його кислотного гідролізу до глюкози. Концентрацію глюкози вимірюють глюкозооксидазним методом, суттю якого є окиснення глюкози з утворенням пероксиду водню, який окиснює ортотолуїдин з утворенням забарвленої сполуки, оптичну густину якої визначають на фотоелектроколориметрі за довжини хвилі 625 нм [27]. Концентрацію крохмалю визначають так: до проби додають розчин хлоридної кислоти, після чого утворену суміш нагрівають на водяній бані за 100 °С протягом 30 хв для гідролізу крохмалю до глюкози. Нагрітий розчин охолоджують, після чого додають еквівалентний об'єм динітросаліцилового реактиву (суміш динітросаліцилової кислоти, солі Рошеля, натрію гідроксиду) та витримують отриманий розчин на водяній бані за 100 °С протягом 5 хв для проходження реакції. Оптичну густину суміші після її охолодження визначають фотометрично за довжини хвилі 540 нм, після чого визначають концентрацію глюкози за калібрувальним графіком [28]. Концентрацію крохмалю розраховують, віднявши від концентрації глюкози,

вимірної колориметрично, значення концентрації, отримане глюкозооксидазним методом.

**Концентрація джерела азоту.** В якості джерела азоту в поживному середовищі виступає  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , визначення якого відбувається за допомогою колориметричного методу з використанням реактиву Несслера.

*Принцип методу.* Метод заснований на властивості реактиву Несслера давати кольорову реакцію з іонами амонію.

### **8.3 Визначення концентрації гризеофульвіну**

Ідентифікація гризеофульвіну відбуватиметься колориметричним методом при довжині хвилі 266 нм, та подальшим співставленням з значеннями на калібрувальному графіку стандартного розчину гризеофульвіну [30].

#### **Приготування реактивів.**

*Стандартний розчин гризеофульвіну:* 100 г чистого гризеофульвіну розчиняють в 100 мл етилацетату.

*2N Метан сульфорова кислота (2N-МСК):* 19,2 г метансульфорової кислоти розчиняють в 100 мл метанолу.

#### **Побудова калібрувального графіку.**

Для побудови калібрувального графіку беруть дві групи колб по 5 шт, об'ємом 100 мл, в кожену групу поміщають 0,5, 1, 2, 3, та 4 мл стандартного розчину гризеофульвіну та в подальшому об'єм кожної колби доводять до позначки 5,0 мл вносячи етилацетат. Потім в кожену колбу першої групи (стандартних розчинів) вносять 5,0 мл 2N-МСК, перемішують та залишають на 30 хв при кімнатній температурі. В подальшому в кожену колбу двох груп вносять метанол, до позначки 100 мл перемішують та проводять вимірювання на спектофотометрі при довжині хвилі 266 нм. Після вимірювання будують калібрувальний графік.

#### **Аналіз зразку.**

Для початку відбирають 2,5 мл культуральної рідини в 150 мл колбу та додають 5,0 мл метанолу та 2 г натрію сульфату, після внесення компонентів колбу закривають та ретельно перемішують для рівномірного розподілу компонентів. В подальшому до отриманого розчину додають 45 мл етилацетату, перемішують впродовж 2 хв та фільтрують. З отриманого фільтрату відбирають пробу об'ємом 5 мл та поміщають в колбу об'ємом 100 мл і додають 5 мл 2N-МСК перемішують, та залишають розчин на 30 хв при кімнатній температурі відстоятись. В подальшому в колбу вносять метанол до позначки 100 мл перемішують та проводять виміри при довжині хвилі 266 нм. Отримані данні співставляють калібрувальним графіком.

## РОЗДІЛ 9. ОХОРОНА ДОВКІЛЛЯ

### 9.1. Аналіз технологічної схеми виробництва цільового продукту на місцях емісії твердих, рідких та газоподібних відходів

1) Рідкі відходи утворюються на етапах технологічного процесу ТП 3.5, 3.6, 3.7, 4.1 і включають у себе:

- Залишки культуральної рідини, яка містить клітини продуценту *Penicillium griseofulvum*;
- Залишки мийних та дезінфікуючих розчинів, якими обробляють приміщення (поверхні, підлогу, стіни, тощо), обладнання та емнісне обладнання (реактори, інокулятори, ферментер);
- Конденсат;

2) Газоповітряні відходи утворюються також на етапах технологічного процесу ТП 3.5, 3.6, 3.7, 4.1 і включають у себе:

- Відпрацьоване стерильне повітря, яким аерувалося середовище для культивування продуценту *Penicillium griseofulvum*;
- Клітини продуценту *Penicillium griseofulvum* у відпрацьованому повітрі;
- Частки та волога у стерильному повітрі, що можуть містити у собі речовини, які були у культуральному середовищі.

3) Тверді відходи утворюють не тільки протягом реалізації технологічного процесу культивування біологічного агента, а і включають у себе:

					<b>НУХТ БТЕК 05.01.28 КР ПЗ</b>			
<b>Зм</b>	<b>Анк</b>	<b>№</b>	<b>Підпис</b>	<b>Да</b>	<b>РОЗДІЛ 9. ОХОРОНА ДОВКІЛЛЯ</b>	<b>Літер</b>	<b>Анквш</b>	<b>Анквшів</b>
Розробни	Некрасова							
Керівник	Карлаш Ю.						68	87
Н. контр						<b>Кафедра БТМ 74</b>		
Консульт								
Зав. каф.	Стабніков							

- Побутові тверді відходи персоналу;
- Відпрацьований активний мул;
- Тверді відходи, що використовувалися для транспортування та пакування, тари;
- Відпрацьована біомаса продуценту *Penicillium griseofulvum*;

## 9.2. Перспективи впровадження системи екологізації виробництва

### 9.2.1. Система знешкодження та утилізації рідких відходів

Очищення даних вод може відбуватися механічним чи фізико - хімічним способами, але вони не забезпечують достатнього рівня очищення від органічних забруднювальних речовин. Більш популярними та розповсюдженими є біологічні способи очищення. Так, для очищення висококонцентрованих стічних вод доцільно застосовувати схему анаеробно-аеробного очищення.

Спочатку відбувається попереднє механічне очищення стічних вод – на ґратках та піскоуловлювачах з вилученням завислих крупнодисперсних часток (осаду та піску) на утилізацію. Після цього стічні води направляються на очищення у метатенк, де відбувається вилучення основної маси забруднюючих речовин в анаеробних умовах під впливом організмів активного мулу. При цьому утворюється біогаз, який може бути використаний для забезпечення енергетичних потреб очисної станції.

Для остаточного вилучення забруднюючих речовин із стічної рідини застосовуються аеротенки I та II ступенів. Після аеробного очищення з аеротенків відводиться муловодяна суміш у вторинні відстійники, де відокремлюється активний мул від стічних вод. Надлишковий активний мул подається в метатенк на збродження для отримання додаткового біогазу. Циркулюючий активний мул після регенерації повертається в аеротенк для

підтримання у ньому постійної концентрації. Перед скиданням у природні водойми очищення стічні води необхідно дезінфікувати [32].

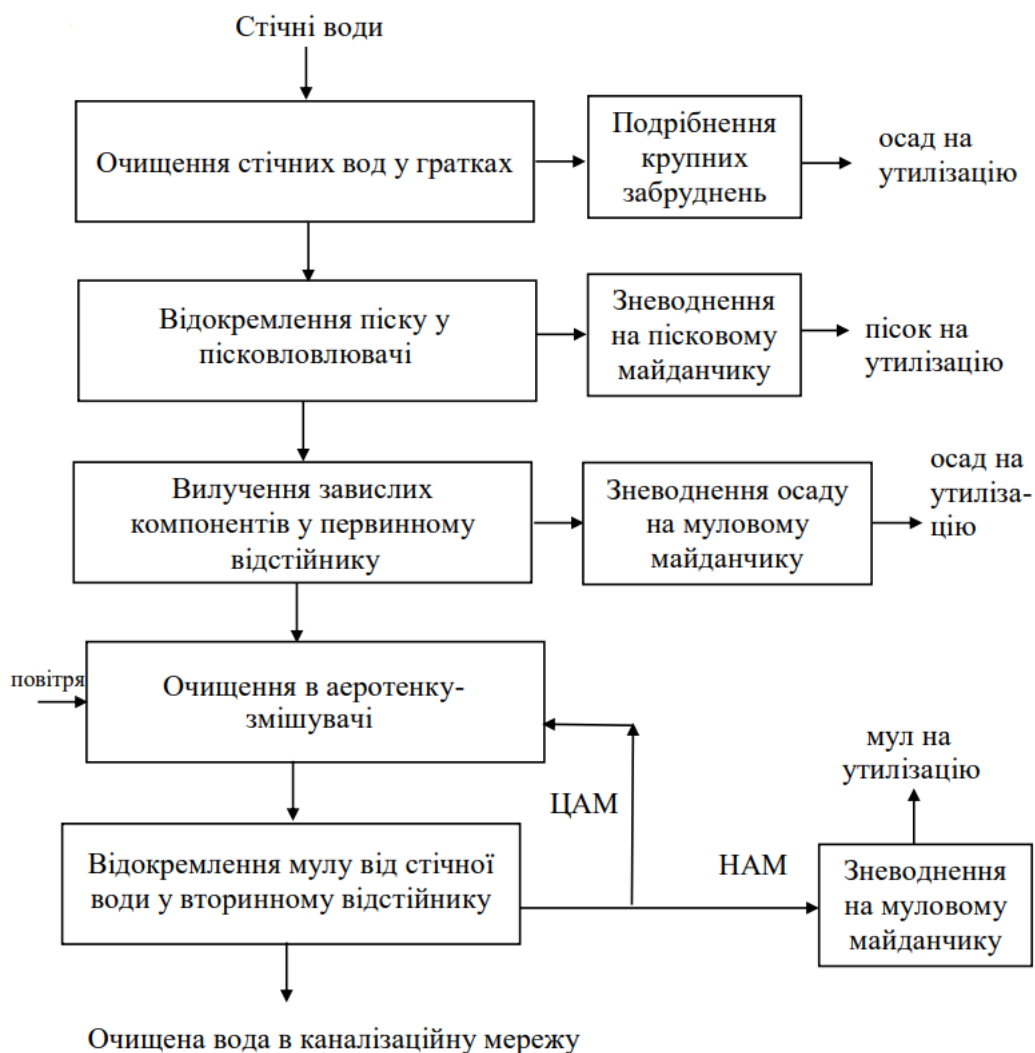


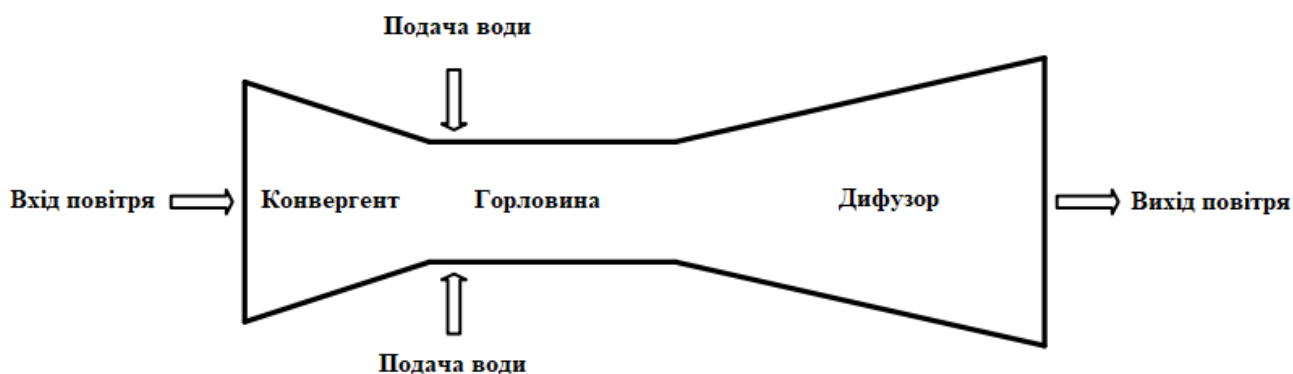
Рис. 8.1. Принципова схема знешкодження стічних вод. ЦАМ – циркулюючий активний мул, НАМ – надлишковий активний мул.

### 9.2.2. Система знешкодження та утилізації газоповітряних відходів

У багатьох галузях промисловості та на електростанціях викиди широкого спектру твердих часток і газоподібних забруднювачів викликають головну глобальну проблему через їх шкідливий вплив. Скрубер Вентурі є одним із найкомпетентніших пристроїв для збору твердих частинок і газоподібних забруднювачів із газового потоку.

Класичний скрубєр Вєнтурі складається з трьох основних частин: конвєргєнта, горловини та дифузєра, як показано на рис. 8.2. Конвєргєнтна частина вкористовується для прискорєння газу для розпилення рїдини для очищення. Горловина знаходиться мїж конвєргєнтом і дифузєром, який вкористовується для взаємодїї рїдини та газу, тодї як дифузєр вкористовується для уповільнення газу, щоб дозволити деяке вїдновлення тиску. Геометричний поперечний перерїз скрубєра Вєнтурі може бути круглим або прямокутним. Рїдина вводиться в скрубєр Вєнтурі двома способами; метод примусової подачї через насоси або метод самовсмоктування через рїзницю тиску, що складається з гїдростатичного тиску рїдини та статичного тиску газу. Рїдина вводиться в вєнчурний скрубєр через три рїзні форми; плївка, струмїнь або спрей.

Перевагами скрубєрїв Вєнтурі є їх проста конструкцїя, легкїсть встановлення, вїдсутнїсть рухомих частин у скрубєрї, низькї витрати на технїчне обслуговування та початковї інвестицїї, вони можуть працювати з легкозаймистим та вибухонебезпечним пилом, забезпечують охолодження гарячих газїв, корозїйнї гази та пил можна нейтралїзувати та ефектївнїсть збору може бути рїзною. Основним недолїком є потужнїсть, необхїдна для



його роботи [33].

Рис. 8.2. Схема скрубєра Вєнтурі

### 9.2.3. Система знешкодження та утилізацїї твердих вїдходїв

Одним із найбільш поширених способів переробки твердих відходів є їх спалювання у спеціальних сміттєспалювальних пристроях. Це дозволяє зменшити об'єм спалювальних речовин до 90% від початкового, але і також отримувати важкі та токсичні метали в концентрованому виді, що негативно впливає на стан навколишнього природного середовища.

В Україні розроблена технологія високотемпературної (1500) утилізації твердих відходів з отриманням піролізного газу та електроенергії. Вона характеризується комплексністю використання корисних складових та практично безвідходного виробництва. Отриманні після переплаву екологічно чисті засклені шлаки можуть використовуватися в дорожньому будівництві, будівельній індустрії для виробництва дорого стоячих матеріалів. Ця технологія дозволяє переробляти відходи будь-якої калорійності та вологості, одночасно з твердими димовими відходами є можливість переробки деяких видів промислових відходів. Одержана енергія для власних потреб та продаж користувачам в 2 рази дешевше ніж зазвичай отримувана енергія.

Доцільність та ефективність технології високотемпературного піролізу підтверджує той факт, що провідні Європейські країни заробляють великі гроші на переробці сміття, отримуючи з нього енергію для опалення. Для прикладу завод у Відні утилізує майже 260 тисяч тон сміття за рік, отримуючи майже 460 МВт тепла, яке опалює близько 60 тисяч квартир, з продуктів спалювання сміття там же виготовляють шлакоблоки для будівництва, а генератор холодної води обслуговує систему кондиціонування найбільшої лікарні в Австрії [34].

### Список використаної літератури

1. Petersen, A. B., Rønneest, M. H., Larsen, T. O., & Clausen, M. H. (2014). The Chemistry of Griseofulvin. *Chemical Reviews*, 114(24), 12088–12107. doi:10.1021/cr400368e
2. Oxford, A. E., Raistrick, H., & Simonart, P. (1939). Studies in the biochemistry of micro-organisms. *Biochemical Journal*, 33(2), 240–248. doi:10.1042/bj0330240
3. Wright, j. M. (1955). The production of antibiotics in soil: ii. Production of griseofulvin by penicillium nigricans. *Annals of applied biology*, 43(2), 288–296. Doi:10.1111/j.1744-7348.1955.tb02477.x
4. CROUNSE, R. G. (1963). Effective Use of Griseofulvin. *Archives of Dermatology*, 87(2), 176. doi:10.1001/archderm.1963.01590140038006
5. Ong, S., Ming, L., Lee, K., & Yuen, K. (2016). Influence of the Encapsulation Efficiency and Size of Liposome on the Oral Bioavailability of Griseofulvin-Loaded Liposomes. *Pharmaceutics*, 8(3), 25. doi:10.3390/pharmaceutics8030025
6. BEDFORD, C. (1960). Studies on the Biological Disposition of Griseofulvin, an Oral Antifungal Agent. *Archives of Dermatology*, 81(5), 735. doi:10.1001/archderm.1960.03730050091016
7. Lambert, D. R., Siegle, R. J., & Camisa, C. (1989). Griseofulvin and Ketoconazole in the Treatment of Dermatophyte Infections. *International Journal of Dermatology*, 28(5), 300–304. doi:10.1111/j.1365-4362.1989.tb01348.x
8. Dayan, F. E., Cantrell, C. L., & Duke, S. O. (2009). Natural products in crop protection. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 17(12), 4022–4034. doi:10.1016/j.bmc.2009.01.046

<b>НУХТ БТЕК 05.01.28 КР ПЗ</b>				
Зм	Анк	№	Підпис	Ла
Розробни		Некрасова Є		
Керівник		Карлаш Ю.		
Н. контп				
Консульт				
Зав. каф.		Стабніков		
<b>СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ</b>			Літер	Анквш
			77	85
<b>Кафедра БТМ<sup>79</sup></b>				

9. Rebacz, B., Larsen, T. O., Clausen, M. H., Ronnest, M. H., Loffler, H., Ho, A. D., & Kramer, A. (2007). Identification of Griseofulvin as an Inhibitor of Centrosomal Clustering in a Phenotype-Based Screen. *Cancer Research*, 67(13), 6342–6350. doi:10.1158/0008-5472.can-07-0663
10. Jin, H., Yamashita, A., Maekawa, S., Yang, P., He, L., Takayanagi, S., ... Ito, M. (2008). Griseofulvin, an oral antifungal agent, suppresses hepatitis C virus replication in vitro. *Hepatology Research*, ???–??? doi:10.1111/j.1872-034x.2008.00352.x
11. Saykhedkar, S. S., & Singhal, R. S. (2004). *Biotechnology Progress*, 20(4), 1280–1284. doi:10.1021/bp0343662
12. Dasu V. V., Panda T. Optimization of microbiological parameters for enhanced griseofulvin production using response surface methodology. *Bioprocess Engineering*. 2000, 22(1): 45–49. doi:10.1007/pl00009099
13. Pat. CN108823110B. Strain for producing griseofulvin and application thereof /吴松刚, 黄建忠, et all. Publ. 16.11.2018.  
[https://patents.google.com/patent/CN108823110B/en?q=\(griseofulvin+production\)&after=priority:20100101&page=1](https://patents.google.com/patent/CN108823110B/en?q=(griseofulvin+production)&after=priority:20100101&page=1).
14. Aris P., Wei Y. Griseofulvin: An Updated Overview of Old and Current Knowledge. *Molecules*. 2022, 27(20), 7034. doi: 10.3390/molecules27207034
- 15 . Гризеофульвін таблетки по 125 мг №40 (20x2) [Електронний ресурс] // Режим доступу: <https://tabletki.ua/uk/%D0%93%D1%80%D0%B8%D0%B7%D0%B5%D0%BE%D1%84%D1%83%D0%BB%D1%8C%D0%B2%D0%B8%D0%BD/6947/#productCardInstructions>
16. ЗАКЛАДИ ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я ТА Державна служба статистики України ЗАХВОРЮВАНІСТЬ НАСЕЛЕННЯ УКРАЇНИ у 2017 році [Електронний ресурс] // Режим доступу: [https://ukrstat.gov.ua/druk/publicat/kat\\_u/2018/zb/06/zb\\_zoz\\_17.pdf](https://ukrstat.gov.ua/druk/publicat/kat_u/2018/zb/06/zb_zoz_17.pdf)

17. . Starch and sucrose metabolism - *Penicillium rubens*. [Електронний ресурс] – режим доступу: <https://www.genome.jp/pathway/pcs00500>.

18. Державний реєстр лікарських засобів України [Електронний ресурс] // Режим доступу: <http://www.drlz.com.ua/ibp/ddsite.nsf/all/shlist?opendocument&sklad=%E3%F0%E8%E7%E5%EE%F4%F3%EB%FC%E2%B3%ED>

19. Pat. CN108823110B. Strain for producing griseofulvin and application thereof /吴松刚, 黄建忠, et all. Publ. 16.11.2018. [https://patents.google.com/patent/CN108823110B/en?q=\(griseofulvin+production\)&after=priority:20100101&page=1](https://patents.google.com/patent/CN108823110B/en?q=(griseofulvin+production)&after=priority:20100101&page=1).

20. Stainless Steel Microbial Fermenter [Електронний ресурс] // Режим доступу: <https://www.innovabiomed.com/stainless-steel-microbial-fermenter.html>

21. DEZALDUM 20 [Електронний ресурс]. Режим доступу: [https://aveal.com.ua/item\\_N3789.htm?gclid=Cj0KCQiA4NWrBhD-ARIsAFCKwWsn4IOhc-n48xWQK\\_Dz1tvXkTizAr5EnEFUmKIIAqsA9vaQ2X1B0qIaAiEeEALw\\_wcB](https://aveal.com.ua/item_N3789.htm?gclid=Cj0KCQiA4NWrBhD-ARIsAFCKwWsn4IOhc-n48xWQK_Dz1tvXkTizAr5EnEFUmKIIAqsA9vaQ2X1B0qIaAiEeEALw_wcB)

22. ЕКСАН ПРО ДЕЗ [Електронний ресурс]. Режим доступу: [http://www.zineko.com.ua/index.php/2010-07-18-10-18-44?page=shop.product\\_details&flypage=flypage.tpl&product\\_id=2251&category\\_id=70](http://www.zineko.com.ua/index.php/2010-07-18-10-18-44?page=shop.product_details&flypage=flypage.tpl&product_id=2251&category_id=70)

23. *Penicillium griseofulvum* [Електронний ресурс] // Режим доступу: [https://en.wikipedia.org/wiki/Penicillium\\_griseofulvum](https://en.wikipedia.org/wiki/Penicillium_griseofulvum)

24. *Penicillium griseofulvum* [Електронний ресурс] // Режим доступу: [https://books.google.com.ua/books?id=-B1s6GhOlzkC&pg=PA246&lpg=PA246&dq=Penicillium+griseofulvum&source=bl&ots=LckB\\_4BLi0&sig=ACfU3U3ssyOINmY-\\_B1xD\\_zG\\_I6VDxZUA&hl=uk&sa=X&ved=2ahUKEwjOspyJofOAAxXVHxAIHSYZBEYQ6AF6BAgCEAM#v=onepage&q=Penicillium%20griseofulvum&f=false](https://books.google.com.ua/books?id=-B1s6GhOlzkC&pg=PA246&lpg=PA246&dq=Penicillium+griseofulvum&source=bl&ots=LckB_4BLi0&sig=ACfU3U3ssyOINmY-_B1xD_zG_I6VDxZUA&hl=uk&sa=X&ved=2ahUKEwjOspyJofOAAxXVHxAIHSYZBEYQ6AF6BAgCEAM#v=onepage&q=Penicillium%20griseofulvum&f=false)

25. Schimmelpilz des Monats Juli: *Penicillium griseofulvum* [Електронний ресурс] // Режим доступу: <https://www.gba-group.com/blog/environment/schimmelpilz-penicillium-griseofulvum/>

26. KEGG [Електронний ресурс] // Режим доступу: [https://www.kegg.jp/kegg-bin/search\\_pathway\\_text?map=pcs&keyword=starch&mode=1&viewImage=true](https://www.kegg.jp/kegg-bin/search_pathway_text?map=pcs&keyword=starch&mode=1&viewImage=true)

27. Красінько, В. О. Методи контролю біотехнологічних, фармацевтичних і харчових виробництв [Електронний ресурс] : конспект лекцій для здобувачів освіт. ступ. "Бакалавр" спец. 162 "Біотехнології та біоінженерія" освіт.-проф. програми "Біотехнологія" ден. і заоч. форм навч. / В. О. Красінько ; Нац. ун-т харч. технол. – Київ: НУХТ – 2019. – 252 с.

28. Пирог Т.П., Антонюк М.М., Ігнатенко С.В. Лабораторний практикум для студ. напряму підготовки 6.051401 "Біотехнологія" ден. форми навч. — Київ : НУХТ, 2010. — 127 с.

29. Garriga M., Almaraz M., Marchiaro A. Determination of reducing sugars in extracts of *Undaria pinnatifida* (harvey) algae by UV-visible spectrophotometry (DNS method). *Actas de Ingenieria*. 2017, 3: 173-179.

30. Polley J. R. Colorimetric Determination of Nitrogen in Biological Materials. *Analytical Chemistry*. 1954, 26(9): 1523–1524. doi: 10.1021/ac60093a039

31. Holbrook, A., Bailey, F., & Bailey, G. M. (1963). A RAPID METHOD FOR THE DETERMINATION OF GRISEOFULVIN IN FERMENTER BROTH. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 15(S1), 270T–273T. doi:10.1111/j.2042-7158.1963.tb11222.x

32. Левандовський Л.В. Природоохороонні технології та обладнання: Підручник./Л.В. Левандовський, Н.О. Бублієнко, О.І. Семенова. –К.: НУХТ, 2013. -243 с.

33. M Ali, YC Qi, K Mehboob. A Review of Performance of a Venturi Scrubber. *Res. J. Appl. Sci. Eng. Technolog.*, 4(19): 3811-3818, 2012. [Електронний ресурс] // Режим доступу:

[https://www.researchgate.net/profile/Khurram-Mehboob-2/publication/267264335\\_A\\_Review\\_of\\_Performance\\_of\\_a\\_Venturi\\_Scrubber/links/5c65069092851c48a9d26507/A-Review-of-Performance-of-a-Venturi-Scrubber.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Khurram-Mehboob-2/publication/267264335_A_Review_of_Performance_of_a_Venturi_Scrubber/links/5c65069092851c48a9d26507/A-Review-of-Performance-of-a-Venturi-Scrubber.pdf)

34. Очеретяна Т.С., Ветвицький І.Л., Колесник І.О. Від знешкодження відходів до «зеленої енергетики». Безпека життєдіяльності в ХХІ столітті. XVI Міжвузівська студентська науково-практична конференція, ДВНЗ ПДАБА, 16–17 квітня 2020 р.

35. Glycolysis / Gluconeogenesis - *Penicillium rubens*. [Електронний ресурс] – режим доступу: <https://www.genome.jp/pathway/pcs00010>.

36. Citrate cycle (TCA cycle) - *Penicillium rubens*. [Електронний ресурс] – режим доступу: <https://www.genome.jp/pathway/pcs00020>.

37. Fatty acid biosynthesis - *Penicillium rubens*. [Електронний ресурс] – режим доступу: <https://www.genome.jp/pathway/pcs00061>.

38. Aris P., Wei Y., Mohamadzadeh M., Xia X. Griseofulvin: An updated overview of old and current knowledge. *Molecules*. 2022, 27 (20): 7034. doi: 10.3390/molecules27207034.

# ДОДАТКИ

## Додаток 1

