

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)

(ім'я та прізвище)

« ___ » _____ лютого _____ 2024 р.

«До захисту допущено»

Завідувач кафедри

Віктор СТАБНІКОВ

(підпис)

(ім'я та прізвище)

« ___ » _____ 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: «Біосинтез глюконової кислоти культивуванням *Aspergillus niger*»

Виконала: здобувачка 5 курсу, групи 1

ГЕРАСИМЧУК Анастасія Вадимівна

(прізвище, ім'я, по батькові повністю)

(підпис)

Керівник СТАБНІКОВ Віктор Петрович

(прізвище, ім'я, по батькові повністю)

(підпис)

Консультанти

_____ (ім'я та прізвище)

_____ (підпис)

_____ (ім'я та прізвище)

_____ (підпис)

_____ (ім'я та прізвище)

_____ (підпис)

Рецензент Ярослав СМІТЮХ

(ім'я та прізвище)

_____ (підпис)

Я як здобувачка Національного університету харчових технологій розумію і підтримую політику університету з академічної доброчесності. Я не надавала і не одержувала незарядженої 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

ГЕРАСИМЧУК Анастасії Вадимівни

(прізвище, ім'я, по батькові)

1. Тема роботи «Біосинтез глюконової кислоти культивуванням *Aspergillus niger*»

керівник роботи СТАБНИКОВ Віктор Петрович, доцент.

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

затверджені наказом закладу вищої освіти від «6» листопада 2023 року № 915-кс

2. Строк подання здобувачем роботи 29.01.2024

3. Вихідні дані до роботи: біологічний агент: *Aspergillus niger*; цільовий продукт: глюконова кислота; геометричний об'єм ферментера: 10 м³; коефіцієнт заповнення: 0,5

4. Зміст пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно розробити)

Характеристика цільового продукту; обґрунтування вибору та характеристика

біологічного агента; техніко-економічне обґрунтування; обґрунтування вибору технологічної схеми; специфікація обладнання доферментаційних процесів та виробничого біосинтезу; опис технологічної схеми доферментаційних процесів та виробничого біосинтезу;

контроль виробництва;

5. Перелік графічного матеріалу

Технологічна схема біосинтезу глюконової кислоти - 1 аркуш формату А1

Апаратурна схема біосинтезу глюконової кислоти - 2 аркуші формату А1

6. Консультанти розділів роботи

Розділ	Прізвище, ініціали та посада консультанта	Підпис, дата	

7. Дата видачі завдання 30 жовтня 2023 року

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№	Назва етапів виконання кваліфікаційної роботи	Строк виконання етапів роботи	Примітка
1.	<i>Характеристика цільового продукту</i>	<i>30.10.2023– 07.11.2023</i>	
2.	<i>Обґрунтування вибору та характеристика біологічного агента</i>	<i>08.11.2023-30.11.2023</i>	
3.	<i>Техніко-економічне обґрунтування</i>	<i>31.11.2023-04.12.2023</i>	
4.	<i>Обґрунтування вибору технологічної схеми виробництва</i>	<i>05.12.2023-11.12.2023</i>	
5.	<i>Специфікація обладнання</i>	<i>12.12.2023-25.12.2023</i>	
6.	<i>Опис технологічної схеми</i>	<i>26.12.2023-31.12.2023</i>	
7.	<i>Контроль виробництва</i>	<i>01.01.2024-08.01.2024</i>	
8.	<i>Оформлення кваліфікаційної роботи</i>	<i>09.01.2024-15.01.2024</i>	
9.	<i>Оформлення графічної частини</i>	<i>16.01.2024-22.01.2024</i>	

Здобувач

_____ (підпис)

Анастасія ГЕРАСИМЧУК

_____ (ім'я та прізвище)

Керівник роботи

_____ (підпис)

Віктор СТАБНИКОВ

_____ (ім'я та прізвище)

РЕФЕРАТ

Кваліфікаційна робота присвячена проектуванню ділянки виробничого біосинтезу одержання глюконової кислоти за допомогою культивування *Aspergillus niger* SIIMM2 76. Кваліфікаційна робота складається із вступу, 8 розділів (1 – характеристика кінцевої продукції виробництва, 2 – обґрунтування вибору БА, 3 – техніко-економічне обґрунтування, 4 – обґрунтування вибору технологічної схеми, 5 – специфікація, 6 – опис технологічної схеми, 7 – контроль виробництва, 8 – охорона довкілля), графічної частини (включає у себе 1 аркуш формату А3 технологічної схеми та 2 аркуші формату А3 апаратурної схеми) та списку використаної літератури з 61 найменувань. Загальний обсяг кваліфікаційної роботи - 77 сторінок, 4 рисунків, 10 таблиць, 3 креслення формату А3.

У кваліфікаційній роботі викладено обґрунтування допоміжних робіт, які необхідно проводити для реалізації технологічного процесу культивування *Aspergillus niger* SIIMM2 76, передбаченого у розділі 6 (приготування та стерилізація композицій поживного середовища – композиції А, Б та С; приготування та стерилізація 6% розчинів соляної кислоти та гідроксиду натрію), описано поетапне вирощування культури у колбах на качалках, посівних апаратах (на 10 л, 100 л та 1000 л) та виробниче культивування у ферментері об'ємом 10 м³.

Новизна роботи полягає у використанні штаму *Aspergillus niger* SIIMM2 76 з виходом глюконової кислоти 105 г/л за 72 години культивування.

Ключові слова: *Aspergillus niger* SIIMM2 76, глюконова кислота, біосинтез, E574.

ЗМІСТ

ВСТУП	7
РОЗДІЛ 1. ХАРАКТЕРИСТИКА КІНЦЕВОЇ ПРОДУКЦІЇ ВИРОБНИЦТВА	9
1.1 Фізико-хімічні властивості глюконової кислоти	11
РОЗДІЛ 2. ОБГРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТА ХАРАКТЕРИСТИКА БІОЛОГІЧНОГО АГЕНТА	13
2.1. Обґрунтування вибору біологічного агента та поживного середовища для його культивування.....	13
2.2. Морфолого-культуральні та фізіолого-біохімічні ознаки біологічного агента	15
2.3. Таксономічний статус біологічного агента	17
РОЗДІЛ 3. ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБГРУНТУВАННЯ	18
3.1. Потреба у цільовому продукті	18
3.2. Розрахунок потужності виробництва	19
3.3. Розрахунок кількості виробничих циклів для отримання річної потреби продукту і геометричного об'єму ферментера.....	20
3.4. Розрахунок кількості стадій підготовки посівного матеріалу	21
3.5. Біосинтез цільового продукту	22
РОЗДІЛ 4. ОБГРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ	24
4.1. Обґрунтування способу культивування і типу ферментера	24
4.2. Обґрунтування вибору стадії підготовки повітря.....	25
4.3. Особливості підготовки та стерилізації поживного середовища.....	26
РОЗДІЛ 5. СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ	29
РОЗДІЛ 6. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ	36
РОЗДІЛ 7. КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА	48
7.1. Карта постадійного контролю доферментаційних процесів та процесу виробничого біосинтезу.....	48
7.2. Мікробіологічний контроль	57
7.3. Показники росту і синтезу цільового продукту	58
7.3.1. Концентрація цільового продукту.....	58

7.3.2. Концентрація джерела вуглецю та азоту.....	58
РОЗДІЛ 8. ОХОРОНА ДОВКІЛЛЯ	60
8.1. Аналіз технологічної схеми виробництва цільового продукту на місцях емісії твердих, рідких та газоподібних відходів.....	60
8.2. Перспективи впровадження системи екологізації виробництва.....	62
8.2.1. Система знешкодження та утилізації рідких відходів	62
8.2.2. Система знешкодження та утилізації газоповітряних відходів	68
8.2.3. Система знешкодження та утилізації твердих відходів.....	68
СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ.....	70

ВСТУП

Органічні кислоти широко використовуються в харчовій і фармацевтичній промисловості, в техніці і як хімічна сировина. Також прийнято вважати, що органічні кислоти, які були отримані шляхом мікробного синтезу, є набагато кращими для використання людиною, аніж синтетичні кислоти [1].

Основне призначення глюконової кислоти – це використання її, як харчової добавки Е 574. Кислота є натуральним елементом меду, вина, фруктових соків. Вона активує синтез АТФ, білків, нуклеїнових кислот. Є незамінним компонентом косметичних засобів, які використовуються в пілінгу.

В Україні щорічно виробляється понад 3000 т цієї кислоти, в той час, як загальна кількість у світі, що виробляється, складає 30 000 т на рік. Глюконова кислота – альдонова кислота, що утворюється внаслідок окиснення альдегідної групи глюкози. За органолептичними властивостями глюконова кислота це білий кристалічний порошок, що легко плавиться, прозорий, без запаху [2].

Глюконову кислоту найчастіше отримують, використовуючи гриби роду *Aspergillus*. Промислове виробництво глюконової кислоти було налагоджено ще на початку 20 століття. Процес отримання кислоти заснований на ферментації вуглеводневих середовищ штамми цвілевих грибів в аеробних умовах, при певній температурі, регламентованому складі середовища і пригніченні розвитку сторонньої мікрофлори [3]. Класичний спосіб отримання глюконової кислоти передбачає ферментацію протягом 24 годин у присутності глюкози як ростової речовини, джерела марганцю, рН близько 6. Після накопичення достатньої кількості кислоти в середовищі біомасу відокремлюють, фільтрат обробляють активованим вугіллям та фільтрують. Очищений розчин концентрують під вакуумом, далі

					НУХТ БТЕК 05.01.6 КР ПЗ			
Зм	Арк	№ докум.	Підпис	Дата				
Розробив		Герасимчук А.В.			ВСТУП	Лт.	Арк.	Аркушів
Перевірив		Стабніков В.П.						
Реценз.								
Н. контр.								
Затверд.		Стабніков В.П.						
						Кафедра БТМ		

повільно охолоджують. Виділені кристали відокремлюють та висушують. Таким способом отримують солі глюконової кислоти.

Отже, широке застосування глюконової кислоти в різних галузях промисловості та високий попит в якості харчової добавки робить цю тему досить актуальною.

РОЗДІЛ 1. ХАРАКТЕРИСТИКА КІНЦЕВОЇ ПРОДУКЦІЇ ВИРОБНИЦТВА

Глюконова кислота є продуктом окислення глюкози. Промислове виробництво глюконової кислоти за допомогою *A. niger* було налагоджено ще на початку ХХ років. Її також позначають E574. Глюконова кислота використовується у якості:

1. Регулятору кислотності
2. Розпушувача
3. Підкислювача
4. Комплексоутворювача
5. Підсилювача дії антиоксидантів

Вихід процесів ферментації (вільні клітини) з отриманням глюконової кислоти дорівнює 95%, концентрація глюкози - 150-200 г / л [4].

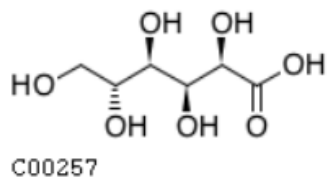


Рис.1.1. Структурна формула глюконової кислоти [5]

Глюконова кислота - альдонова кислота, що утворюється в залежаному винограді, внаслідок окислення альдегідної групи глюкози. Регулятор кислотності харчових продуктів. Хімічна формула - C₆H₁₂O₇. Молярна маса 196,16 г/моль, температура кипіння 417°C.

Зм	Арк	№ докум.	Підпис	Дата	НУХТ БТЕК 05.01.6 КР ПЗ			
Розробив		Герасимчук А.В.			РОЗДІЛ 1. Характеристика кінцевої продукції виробництва	Лт.	Арк.	Аркушів
Перевірив		Стабніков В.П.						
Реценз.								
Н. контр.								
Затверд.		Стабніков В.П.						
						Кафедра БТМ		

Солі глюконової кислоти - глюконати (глюконат заліза, глюконат кальція) застосовуються як:

- гель з метою лікування опіків плавикової кислоти - глюконат кальція;
- з метою внутрішньом'язового введення під час лікування малярії - хінін глюконат;
- для ін'єкції з метою кастрації псів - цинку глюконат;
- з метою лікування анемії - ін'єкції глюконату заліза [6,7].

У нижченаведеній в таблиці наведені кількісні дані щодо різних продуктів, які синтезуються мікроорганізмами, в ряду яких є глюконова кислота. Вона займає 5 місце серед усіх, тому ми можемо сказати, що цей цільовий продукт є досить вигідним і важливим на комерційному ринку.

Таблиця 1.1.

Масові

вироби

Продукт	Щорічне виробництво(тон)
L-Глутамінова кислота	1,500,000
Лимонна кислота	1,000,000
L-Лізин	1,000,000
Молочна кислота	150,000
Глюконова кислота	100,000
Вітамін С	80,000

біотехнологічних продуктів[4]

1.1 Фізико-хімічні властивості глюконової кислоти

1. Хімічна формула – $C_6H_{12}O_7$.
2. Молекулярна маса – 196,16.
3. Розчинність у воді – добре розчиняється у воді, утворюючи в'язкий розчин, якому притаманний світло-жовтий колір, гірше розчиняється у спиртах, в органічних рідинах НЕ розчиняється.
4. Синонім до назви – 2,3,4,5,6-пентагідроксигексанова кислота.
5. Кислотність(pK_a) – 3.7.
6. Зовнішній вигляд – білі, або жовтуваті кристали, які не мають запаху.
7. Температура плавлення – 125-131⁰С.
8. Щільність – 1,24 г/мл.
9. Смакові характеристики – має освіжаючий смак.
10. Ступінь кислотності (кислотність лимонної вважається, як 100) – 29-35.
11. рН 1%-го розчину -2.8 [8].

Білий кристалічний порошок (гігроскопічні кристали), що легко плавиться, прозорий, без запаху. Глюконова кислота (глюконат натрію) при додаванні до розчинів взаємодіє з кальцієм, утворюючи при цьому хелатні сполуки. ПАР, як правило, більш ефективні в демінералізованій або м'якій воді. Оскільки сам процес демінералізації дуже дорогий. Добре розчинна у воді - утворює світло-жовтий в'язкий розчин, середньо розчинна у спиртах, не розчиняється в інших органічних розчинниках [6,7].

Глюконова кислота міститься у натуральних соках та меді, у напоях, таких як вино, пиво, та бере участь в утворенні смаку готового продукту. Вона активує синтез АТФ, білків, нуклеїнових кислот, модулює кератинізацію і проліферацію клітин, підвищує бар'єрні властивості шкіри. Є незамінним компонентом косметичних засобів, які використовуються для пілінгу. Зазначений компонент без особливих зусиль долає шкірний бар'єр, проникає під шкіру і не викликає побічних явищ. Саме тому глюконова кислота - незамінний засіб по догляду за гіперчутливою і старіючою шкірою. Пілінг з використанням кислоти підвищує пружність шкіри, покращує овал обличчя, зменшує вираженість зморшок, відновлює бар'єрні функції шкіри.

Впливає на процеси меланогенеза, шляхом зв'язування іонів різних металів (міді, заліза, кальцію, алюмінію) утворюючи добре розчинні сполуки, цим самим проявляючи властивості синергізму з антиоксидантами [9].

Харчова добавка E574 легко засвоюється у травному тракті. Глюконова кислота активізує обмін речовин у організмі тим самим підвищуючи його працездатність.

Доза глюконової кислоти більше від 50 мг/кг є шкідливою для організму [4].

РОЗДІЛ 2. ОБГРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТА ХАРАКТЕРИСТИКА БІОЛОГІЧНОГО АГЕНТА

2.1. Обґрунтування вибору біологічного агента та поживного середовища для його культивування

Продуцентами глюконової кислоти вважаються певні штами грибів-*Aspergillus niger*, *Penicillium glaucum*, *Penicillium amagasakiense*, *Penicillium luteum purpurogenum*, *Penicillium chrysogenum*; бактерій - *Pseudomonas savastanoi*, *Gluconobacter oxydans* (облігатні аеробні бактерії), *Acetobacter diazotrophicus*, *Bacillus. methanolicus*, *Parabrimidius ovalis*, *Pseudomonas fluorescens* і *Zymomonas mobilis*, та певні види дріжджів, наприклад таких як *Aureobasidium pullulans*. Незважаючи на різноманіття біологічних агентів, що продукують глюконову кислоту ключовими промисловими продуцентами є *A. Niger* та *G. oxidans*, які мають високу продуктивність.

На початку XXI століття відбувся перегляд всієї таксономічної класифікації грибів. На основі мікроскопічної будови органів, що безпосередньо виробляють спори, вищі гриби ділять на два типи — аскоміцети (або сумчасті гриби) та базидіоміцети (або базидіальні гриби). У аскоміцетів спори виробляються всередині спеціальних клітин, які називаються сумками або асками, у базидіальних грибів формування спор відбувається зовнішніх структурах, які зветься базидіями. Сумчасті гриби, або аскоміцети, - один з найбільших класів грибів. У ньому понад 30 000 видів, що становить близько 30% всіх відомих видів грибів [10].

Згідно із філогенетичною систематикою гриби *Aspergillus niger* відноситься до домену еукаріоти (*Eukaryota*), царство гриби (*Fungi*), підцарство вищі гриби

					НУХТ БТЕК 05.01.6 КР ПЗ			
Зм	Арк	№ докум.	Підпис	Дата				
Розробив		Герасимчук А.В.			РОЗДІЛ 2. Обґрунтування вибору та характеристика біологічного агента	Лт.	Арк.	Аркушів
Перевірив		Стабніков В.П.						
Реценз.						Кафедра БТМ		
Н. контр.								
Затверд.		Стабніков В.П.						

(*Dikarya*), класу сумчастих грибів (*Ascomycetes*), сімейству аспергіллових (*Aspergillaceae*), роду *Aspergillus*, який в даний час налічує понад 120 видів [11].

Для характеристики *Aspergillus niger*, як продуцента глюконової кислоти, нижче буде наведено порівняльну характеристику 2-х штамів біологічних агентів.

Таблиця 2.1

Порівняльна таблиця біологічних агентів

Найменування показників для порівняння	<i>A.niger</i> ARNU-4 [12]	<i>Aspergillus niger</i> SIIMM2 76 [13]
Склад поживного середовища	Меяса – 200; (NH ₄) ₂ SO ₄ – 7,5; KH ₂ PO ₄ – 0,5; MgSO ₄ – 0,1;	Глюкоза – 100; MgSO ₄ – 0,3; KH ₂ PO ₄ – 0,2; (NH ₄) ₂ HPO ₄ – 0,9; MnSO ₄ – 0,06
Концентрація глюконової кислоти та біомаси бактерій у г/л	Концентрація глюконової кислоти – 73,2 г/л Концентрація сухої біомаси – 23,5 г/л	Концентрація глюконової кислоти - 105 г/л Концентрація сухої біомаси – 6,45 г/л
Час проведення	12 діб	72 години
Особливості технологічного процесу	Твердофазна ферментація t -30 ⁰ С	pH - 6,0 t – 30 ⁰ С. Для контролю pH у ферментерах використовували NaOH.

Проаналізувавши дані таблиці, можемо зробити висновок про те, що поживні середовища відрізняються лише деякими компонентами, а в загальному є схожими між собою. Також, ми можемо простежити те, що до складу входять сполуки, які містять головні мікроелементи, які потрібні для життя клітини, що робить ці середовища дуже доцільно правильними в аспекті використання їх для біотехнологічних процесів. Час культивування дуже різниця, у першого представника він займає аж 12 діб, а на противагу йому, інший агент культивується лише протягом 72 годин.

Також ми можемо простежити відмінності у виході і концентрації глюконової кислоти, у штаму *A.niger* SIIMM2 76 показник є вищим, аніж в *A.niger* ARNU-4. Особливості процесу культивування схожі між собою, маючи однаку температуру проведення в 30⁰С.

2.2. Морфолого-культуральні та фізіолого-біохімічні ознаки біологічного агента

Морфолого-культуральні ознаки. *Aspergillus niger* - вид вищих пліснявих грибів роду Аспергіл (*Aspergillus*). Досить часто зустрічається у вигляді чорної плісняви на стінах приміщень із підвищеною вологістю. Штами цього гриба використовують для виробництва лимонної кислоти(та інших органічних кислот) з сахаристих речовин та вітаміну В2 (рибофлавіну) [12].

Гриби виду *Aspergillus niger* мають розгалужений септований міцелій та одноклітинні кулястої форми нерозгалужені конідіеносії.

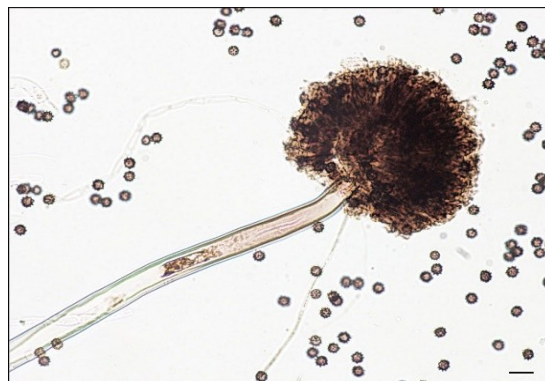


Рис.2.1. Зображення *Aspergillus niger* [14]

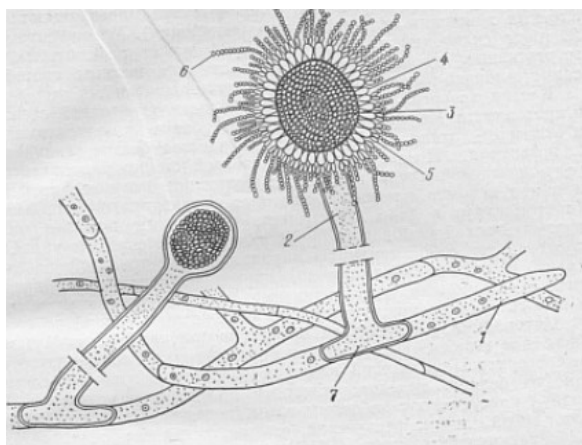


Рис.2.2. Будова *Aspergillus niger*. Позначення: 1 - гіфи; 2 - конідієносець; 3 - бульбашка; 4 – стеригми першого ряду; 5 - стеригми другого ряду; 6 - конідії; 7 - опорні клітини [15].

Тіло організму (рис. 2.2) складається з прозорих, сильно гілкованих і переплетених між собою тонких структур, які формують міцелій (грибниця). Ці структури, відомі як гіфи, розділені поперечними перегородками (септах), утворюючи окремі клітини. Діаметр гіф коливається від 3 до 6 мікрометрів. На основних структурах росту розташовані паралельно одна одній короткі стержнеподібні структури, від яких відділяються ланцюги конідій. Головна частина конідієноса схожа на дозрілу кульбабу. Конідії, які є чорними та круглими, також називають мітоспорами, що вказує на їхнє утворення через мітоз, відмінно від звичайних спор, які формуються під час мейозу. Коли конідії, так само як і інші спори, потрапляють у сприятливе середовище за визначених температурних та кислотних умов, вони проростають, поступово формуючи новий міцелій.

Розмножується вид грибів *Aspergillus niger* безстатевим шляхом. [12], [13].

Культуральні ознаки: край колонії – ворсистий; поверхня –ворсиста, шорстка; структура колонії – неоднорідна та волокниста, консистенція колоній даного продуцента– суха та пухка [13].

Фізіолого-біохімічні ознаки. *Aspergillus niger* є аеробом, прототрофом, що має оптимальну температуру зростання 30°C. Температурний діапазон зростання 28-36 °, діапазон рН 1,7-7,0.

Ставлення до джерел вуглецю. Добре засвоює вуглеводовмісні джерела і росте на мелясі, сахарозі, глюкозі, гідролізатах крохмалю, гідролізатах борошна із зерна (жита, рису) і гідролізатах зернових помелів (жита, пшениці, рису), що містять глюкозу, мальтозу, декстрозу [16].

2.3. Таксономічний статус біологічного агента

Домен: *Eukaryot*

Царство: *Fungi*

Підцарство: *Dikarya*

Тип: *Ascomycota*

Клас: *Ascomycetes*

Сім'я: *Aspergillaceae*

Рід: *Aspergillus*

Види: *niger* [17]

РОЗДІЛ 3. ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБГРУНТУВАННЯ

3.1. Потреба у цільовому продукті

Глюконат кальцію - хімічна сполука, кальцієва сіль глюконової кислоти, в медицині в основному використовується як мінеральна добавка при гіпокальціємії (ГКа). Часто ГКа діагностується при рутинному лабораторному дослідженні, а будь-які клінічні симптоми відсутні, але буває, що при ГКа розвиваються важкі, життєзагрозливі стани. Зниження рівня Ca^{2+} може бути гострим, так і хронічним. Хронічна ГКа часто безсимптомна. Для розуміння клінічних проявів цього порушення важливо пам'ятати, що рівень Ca^{2+} у позаклітинній рідині необхідний, зокрема, для нормального функціонування м'язової та нервової тканин. Отже, класичними симптомами ГКа є прояви нервово-м'язової збудливості – спазми м'язів, які дуже болючі.

Гостра ГКа може виявлятися також симптомами серцево-судинної системи: зниження рівня Ca^{2+} може призводити до порушень серцевого ритму, в т. ч. життєзагрозливим шлуночковим аритміям. Рідко можуть з'являтися симптоми серцевої недостатності. У випадках помірного зниження Ca^{2+} відновлення його рівня призводить до покращення серцевого викиду та підвищення толерантності до фізичних навантажень [18].

Розрахунок буде проведений згідно даних профілактики та лікування хронічної гіпокальціємії у дорослого населення та дітей від 14 років. Дефіцит кальцію у харчуванні чоловіків та жінок підтверджується дослідженнями його екскреції з сечею. Тільки у 69% обстежених осіб реєструвався рівень екскреції, який відповідав забезпеченості організму по цьому мінеральному елементу [19]. 4 746 224

					НУХТ БТЕК 05.01.6 КР ПЗ			
Зм	Арк	№ докум.	Підпис	Дата				
Розробив		Герасимчук А.В.			РОЗДІЛ 3. Техніко-економічне обґрунтування	Лт.	Арк.	Аркушів
Перевірив		Стабніков В.П.						
Реценз.						Кафедра БТМ		
Н. контр.								
Затверд.		Стабніков В.П.						

Отже, обстеження буде охоплювати конкретні області України, а саме Київ (2 950 702 населення), Київську область (1 795 552 населення) та Чернігівську область (898 938 населення) [20]. У сумі маємо приблизно 5 645 162 обстежених осіб, ГКа було виявлено у 31%, тобто кількість людей, які потребують профілактики складає 1 750 000.

3.2. Розрахунок потужності виробництва

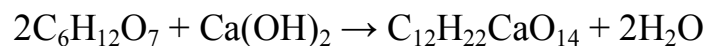
Розрахуємо кількість глюконату кальцію, яку необхідно виробити в рік, щоб забезпечити потреби населення, яке страждає від дефіциту кальцію. Спосіб застосування даного препарату становить – по 2 таблеток (1-3 г препарату) 3 рази на добу. Курс лікування становить – 14 днів [21]. Отже, $2 \times 3 \times 14 = 84$ табл. – кількість таблеток необхідна на один курс лікування або профілактики.

Оскільки 1 табл. містить 500 мг кальцій глюконату, то маємо, що 84×500 мг = 42 000 мг або 42 г – кальцій глюконату необхідно на один курс лікування.

З статистичних даних відомо, що щороку в Україні на дефіцит кальцію страждає 1,75 млн. осіб. Отже, зробимо розрахунок потреби кальцій глюконату в Україні на рік: $1\,750\,000 \times 0,042$ кг = 73 500 кг/рік.

Враховуючи, що виробництво кальцій глюконату у таблетках в Україні вже здійснюється кількома підприємствами (ПрАТ «Фармацевтична фірма Дарниця», ПАТ "Галичфарм", АТ "Лубнифарм", ПАТ "Монфарм", ПАТ "Хімфармзавод "Червона зірка", "Фармацевтична компанія "Здоров'я"), а імпорту цього препарату немає [22], то ми хочемо забезпечити 25% від річних потреб на ринку, для цього нам потрібно отримати: $73\,500$ кг \times 0,25 = 18 375 кг.

Глюконат кальцію одержують із глюконової кислоти:



Так ми бачимо, що співвідношення глюконової кислоти до глюконату кальцію 2:1. Тобто щоб отримати 18 375 кг глюконату кальцію, необхідно одержати 36 750 кг глюконової кислоти.

Оскільки вихід глюконової кислоти становить 105 г/л, а потреба в Україні складає 36 750 кг/рік, то розрахуємо об'єм культуральної рідини за рік:

$$V_{\text{к.р. рік}} = 36\,750 / 105 = 350 \text{ м}^3$$

Окрім цього, нам необхідно врахувати втрати, які можуть виникнути в процесі виробництва, вони становлять 20%, отже, з урахуванням втрат річний об'єм культуральної рідини становитиме:

$$V_{\text{к.р. рік}} = 350 \times 1,2 = 420 \text{ м}^3$$

3.3. Розрахунок кількості виробничих циклів для отримання річної потреби продукту і геометричного об'єму ферментера

1. Приймаємо кількість робочих днів на рік – 300.

Ефективний фонд робочого часу $N_{\text{еф}} = 300 \times 24 = 7200$ год.

2. Розрахуємо цикл роботи ферментера:

$$T_{\text{цф}} = T_{\text{ф}} + T_{\text{др}} = 72 + 14 = 86 \text{ (год)}, \text{ де}$$

$T_{\text{ф}}$ – тривалість виробничої ферментації (біосинтезу);

$T_{\text{др}}$ – тривалість допоміжних робіт (допоміжні роботи включають: миття та огляд (4 год), перевірка на герметичність (2 год), стерилізація (2 год), охолодження (1 год), завантаження середовища (2 год), засів (1 год), вивантаження культуральної рідини (1 год).

3. Кількість циклів за рік становитиме:

$$n_{\text{ц}} = N_{\text{еф}} / T_{\text{цф}} = 7200 / 86 = 83,7 \approx 84$$

4. Об'єм культуральної рідини, який треба одержати за цикл:

$$V_{\text{к.р. цикл}} = V_{\text{к.р. річ}} / n_{\text{ц}} = 420 / 84 = 5 \text{ м}^3$$

Обираємо ферментер об'ємом 10 м^3 із коефіцієнтом заповнення 0,5. Об'єм культуральної рідини становить $V_{\text{к.р.}} = 5 \text{ м}^3$.

3.4. Розрахунок кількості стадій підготовки посівного матеріалу

Для культивування *Aspergillus niger* з метою одержання глюконової кислоти використовують ферментер об'ємом 10 м^3 із коефіцієнтом заповнення 0,5.

Робочий об'єм ферментера становить:

$$V_{\text{роб}} = 10 \times 0,5 = 5 \text{ м}^3 \text{ або } 5000 \text{ л}$$

Кількість посівного матеріалу (доза) становить 10 % від об'єму поживного середовища. Отже, для одержання 5 м^3 культуральної рідини потрібно:

$$V_{\text{роб.1}} = 5 \times 0,1 = 0,5 \text{ м}^3 \text{ або } 500 \text{ л посівного матеріалу}$$

Таку кількість інокуляту можна одержати під час культивування бактерій у посівному апараті об'ємом 1 м^3 з коефіцієнтом заповнення 0,5.

Для засіву посівного апарату (одержання $0,5 \text{ м}^3$ культуральної рідини) необхідно:

$$V_{\text{роб.2}} = 0,5 \times 0,1 = 0,05 \text{ м}^3 \text{ або } 50 \text{ л посівного матеріалу}$$

Таку кількість посівного матеріалу можна одержати у процесі вирощування бактерій у посівному апараті об'ємом $0,1 \text{ м}^3$ з коефіцієнтом заповнення 0,5. $0,05 \text{ м}^3$ культуральної рідини можна одержати з використанням

$$V_{\text{роб.3}} = 0,05 \times 0,1 = 0,005 \text{ м}^3 \text{ або } 5 \text{ л посівного матеріалу}$$

Приготування такої кількості інокуляту здійснюють в інокуляторі об'ємом $0,01 \text{ м}^3$ з коефіцієнтом заповнення 0,5.

Для одержання $0,005 \text{ м}^3$ культуральної рідини потрібно мати:

$$V_{\text{роб.4}} = 0,005 \times 0,1 = 0,0005 \text{ м}^3 \text{ або } 0,5 \text{ л посівного матеріалу}$$

Таку кількість посівного одержують культивуванням біологічного агента в качалочних колбах.

Для одержання 500 мл посівного матеріалу необхідно провести культивування

у колбах на качалці об'ємом 750 мл та коефіцієнтом заповнення $K_{зк}=0,2$. Кількість колб становитиме:

$$N_{\text{колб}} = V_{\text{роб.4}} / (V_{\text{колб}} \times K_{зк}) = 500 / (750 \times 0,2) = 3,3 = 3 \text{ колби.}$$

Отже, процес одержання посівного матеріалу для забезпечення виробничого біосинтезу глюконової кислоти у ферментері об'ємом 10 м^3 з коефіцієнтом заповнення 0,5 буде проходити у чотири етапи, три з яких – одержання посівного матеріалу у інокуляторах, і один – отримання посівного матеріалу у колбах на качалках.

3.5. Біосинтез цільового продукту

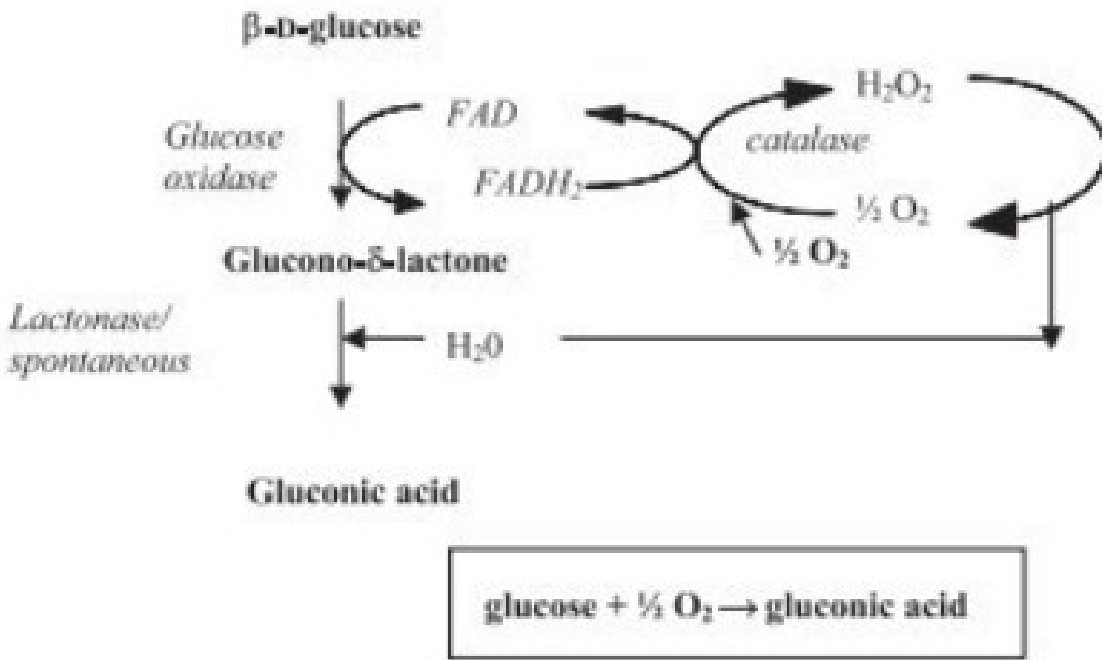


Рис. 3.3. Окиснення глюкози [23]

Ферменти, що беруть участь у реакції:

Глюкозооксидаза – каталізує окиснення глюкози молекулярним киснем.

Глюконолактоназа - фермент , який каталізує гідроліз глюконо- β -лактону до глюконової кислоти.

Каталаза - діє на перекис водню, виділяючи воду і кисень. В деякій мірі являє собою захист від підвищення концентрації перекису водню.

FAD та *FADH₂* - переносники атомів водню. *FAD* каталізує реакцію, під час якої глюкоза дегідратується до глюконо- β -лактону, а водень переходить до *FAD*. Отриманий *FADH₂* регенерується в *FAD* шляхом перетворення водню на кисень з утворенням перекису водню [23].

РОЗДІЛ 4. ОБГРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ

4.1. Обґрунтування способу культивування і типу ферментера

Глибинний метод дає змогу застосовувати широкий набір вуглецевмісної сировини. Також за глибинного методу ферментація ведеться в стерильних умовах, що є важливою передумовою для переходу на безперервний, повністю механізований процес. Швидкість ферментації є високою – в одному апараті одразу утворюється велика кількість культуральної рідини, а за поверхневого – вона збирається по численних кюветах. Також легко реалізовується контроль рН, температури, складу поживного середовища. Витрати на обслуговуючий персонал більші за поверхневого способу, оскільки підготовка камер і зняття міцелію з кювет потребує значних затрат ручної праці [24].

Таким чином, культивування *Aspergillus niger* SIIMM2 76 буде здійснюватися глибинним методом за аеробних умов із дотриманням асептичних умов біосинтезу. Оптимальне значення рН – 6 (для контролю рН використовують NaOH), температури – 30 °С, тривалість процесу культивування – 72 години. Показники синтезу за цих умов складають 105 г/л глюконової кислоти та 6,5 г/л сухої біомаси [25].

Виходячі із зазначених потреб, ферментер, у якому буде відбуватися культивування *Aspergillus niger* SIIMM2 76, має бути оснащений рубашкою для подачі теплої пари, яка необхідна для підтримки температури та забезпечення процесу стерилізації; приладами, які будуть здійснювати контроль тиску, рН, температури, розчиненого кисню; мішалкою для забезпечення рівномірного розподілення та барботером для подачі стерильного повітря.

Зм	Арк	№ докум.	Підпис	Дата	ЛУХТ БТЕК 05.01.6 КР ПЗ			
Розробив		Герасимчук А.В.			РОЗДІЛ 4. Обґрунтування вибору технологічної схеми	Лт.	Арк.	Аркушів
Перевірив		Стабніков В.П.						
Реценз.						Кафедра БТМ		
Н. контр.								
Затверд.		Стабніков В.П.						

Для задоволення річної потреби у глюконової кислоти, необхідний ферментер об'ємом 10 м³. Для реалізації вищезазначених умов підійде ферментер OLT-500 від виробника «Ollital Technology» [26]. Він включає у себе:

- Датчики PT100 для контролю рН, DO, температури та піноутворення;
- Вбудований перистальтичний насос для передачі культуральної рідини на наступну стадію технологічного процесу;
- Барботер для подачі повітря;
- Ротаметр;
- СІР-мийку;
- Сорочку для контролювання температури;
- Тип мішалки виробник надає на вибір, залежно від процесу культивування та в'язкості рідини. Для наших умов підійде турбінна мішалка, оскільки вона забезпечує ефективне диспергування повітря при найбільшому ступені турбулізації [27].

З використанням ферментеру OLT-500 можливо здійснити глибинне періодичне культивування *Aspergillus niger* SIIMM2 76 з дотриманням асептичних умов.

4.2. Обґрунтування вибору стадії підготовки повітря

Aspergillus niger є аеробом, тому весь процес культивування необхідно забезпечити підготовленим повітрям, яке є стерильним, задля дотримання асептичності процесу.

Забір атмосферного повітря. Забирають атмосферне повітря на висоті 20 – 30 м, оскільки концентрація мікроорганізмів у повітрі на зазначеному рівні є стабільно низькою.

Грубе очищення повітря. Зібране повітря передають на фільтри попередньої (чи грубої) очистки. Тут відбувається звільнення повітря від пилу і механічних домішок. Фільтри, що використовуються на цій стадії, виготовлені з волокнистих матеріалів. Фільтрування відбувається за рахунок того, що частинки рухаючись з певною швидкістю затримуються на поверхні волокна інерційним механізмом осадження з ефективністю $E = 90\%$.

Компресіювання повітря. Процес компресування повітря відбувається на компресорі при надлишковому тиску та підвищеній температурі для стабілізації термодинамічних показників.

Охолодження повітря та видалення вологи. Повітря охолоджують в теплообміннику- охолоджувачі. Під час цього процесу виділяється 50 – 70% вихідної вологи, яка у подальшому - відокремлюється волого-відділювачами. Повітря надходить у ресивер задля подальшої акумуляції і стабілізації.

Нагрівання повітря. Повітря підігривають теплообмінником- нагрівачем. Нагривають повітря задля забезпечення надійної та стабільної роботи головного та індивідуального повітряних фільтрів.

Очищення повітря у головному фільтрі. Повітря подається на стадію подальшого очищення у головному фільтрі. В середині фільтру знаходяться дві решітки, між якими розміщують фільтруючий матеріал. Заміну фільтрувального матеріалу проводять 2 рази на рік. Діаметр пор - 1 мкм.

Очищення повітря в індивідуальному фільтрі. Далі повітря від головного фільтра, через колектор, подається на індивідуальний фільтр з діаметром волокна 2,5 – 3 мкм та діаметром пор 0,2 мкм. Пористість мембран досягає 80 %. Вони встановлені безпосередньо перед посівним апаратом і ферментером.

4.3. Особливості підготовки та стерилізації поживного середовища

Культивування *Aspergillus niger* SIIMM2 76 здійснюється на поживному середовищі наступного складу:

Глюкоза – 100;

MgSO₄ – 0,3;

KH₂PO₄ – 0,2;

(NH₄)₂HPO₄ – 0,9;

MnSO₄ – 0,06

Для стерилізації поживного середовища його потрібно розділити на окремі композиції, враховуючи хімічні властивості окремих компонентів:

Композиція А: глюкоза (режим стерилізації: 112°C, 30 хв).

Композиція В: дигідрофосфат калію (KH₂PO₄), діамонійфосфат ((NH₄)₂HPO₄) (режим стерилізації: 131°C, 50 хв).

Композиція С: сульфат магнію (MgSO₄), сульфат мангану (MnSO₄) (режим стерилізації: 131°C, 50 хв) винесений у окрему композицію, оскільки за умови спільної стерилізації із іншими солями можливе утворення нерозчинного фосфату магнію.

Для першого етапу культивування у колбах необхідно 450 мл середовища (Композиція А – 346,715 мл, Композиція Б – 52,4775 мл, Композиція С – 50,81 мл). Це невеликі об'єми, тому для їх стерилізації можна використати автоклав. Композиція А буде простерилізована у колбі об'ємом 0,5 л за режиму t = 112°C, 30 хв. Композиція Б буде простерилізована у колбі об'ємом 100 мл за режиму t = 131°C, 0,15 МПа, впродовж 50 хв. Композиція С буде простерилізована у колбі об'ємом 100 мл за режиму t = 131°C, 0,15 МПа, впродовж 50 хв.

Для етапу культивування у інокуляторі на 10 л композиції стерилізують також у колбах. Композиція А складає об'єм 2,4 л та може бути простерилізована у автоклаві. Композиція Б (1 л) та Композиція С (1 л) також будуть простерилізовані у автоклаві, оскільки вони невеликі у об'ємі.

Культивування у інокуляторі об'ємом 100 л передбачає наступну підготовку композицій. Композиція А (42,96 л) буде простерилізована у окремому реакторі об'ємом 53 л за режиму $t = 112^{\circ}\text{C}$, 30 хв. Композиція Б (1 л) та Композиція С (1 л) будуть простерилізовані у автоклаві, оскільки вони невеликі у об'ємі, за режиму $t = 131^{\circ}\text{C}$, 0,15 МПа, впродовж 50 хв.

Для культивування у інокуляторі об'ємом 1 м^3 Композицію А стерилізують у окремому реакторі об'ємом 553 л за режиму $t = 112^{\circ}\text{C}$, 30 хв. Композиція Б (1,5 л) та Композиція С (1,180 л) будуть простерилізовані у автоклаві, оскільки вони невеликі у об'ємі, за режиму $t = 131^{\circ}\text{C}$, 0,15 МПа, впродовж 50 хв.

Приготування композицій для ферментеру об'ємом 10 м^3 буде здійснюватися у реакторі-змішувачі, встановленого перед УБС, а сама стерилізація буде здійснюватися за допомогою установки безперервної стерилізації.

10 м^3 поживного середовища стерилізують в УБС-10. Потужність цієї УБС складає, відповідно до назви, 10 м^3 на годину. Час, за який все поживне середовище повністю простерилізується становить $\tau = 10/10 = 1$ годину.

РОЗДІЛ 5. СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ

Специфікація обладнання, яке зображене на апаратурній схемі, наведена в табл. 5.1.

Таблиця 5.1

Позиція	Найменування	Кількість	Технічна характеристика
1	2	3	4
ПЗ-1	Повітрозабірник	1	Вентилятор круглий AirRoxy aRid 120 ВВ білий 01-045 Виробник: «AirRoxy»; Продуктивність: 158 м ³ /год; Швидкість обертання: 2200 об/хв; Габарити, мм: 167*167*85. [28]
Ф-2	Фільтр грубої очистки повітря	1	Повітряний карманний фільтр попередньої очистки повітря під замовлення Виробник: «Luftov»; Продуктивність: 860 м ³ /год; Клас очистки: G4; Кількість карманів – 3; Габарити, мм: 285*285*500. [29]
К-3	Компресор	1	Компресор серії DVK 100 Виробник: «Dalgakiran»; Продуктивність: 600 м ³ /год; Потужність: 75 кВт; Максимальний тиск: 10 бар;

					НУХТ БТЕК 05.01.6 КР ПЗ							
Зм	Арк	№ докум.	Підпис	Дата								
		Герасимчук А.В.			РОЗДІЛ 5. Специфікація обладнання			Лт.	Арк.	Аркушів		
		Стабніков В.П.										
		Реценз.										
		Н. контр.						Кафедра БТМ				
		Затверд.	Стабніков В.П.									

			Габарити: 2000*1200*1810. [30]
T-4	Теплообмінник-охолоджувач	1	Промислові осушувачі повітря рефрижераторного типу Виробник: «Hankison»; Продуктивність: від 20 до 1700 м ³ /год; Потужність: від 0,24 до 5,7 кВт; Максимальний тиск: до 16 атм; [31]
P-5	Ресивер	1	Повітрозбірник В-16-0,8 Виробник: «Монастирищенський завод котельного устаткування»; Продуктивність: 16 м ³ /год; Максимальний тиск: 0,785 МПа; Габарити, мм: 5520*2000; [32]
T-6	Теплообмінник-нагрівач	1	Водяной калорифер КСК 2-6 Виробник: «Промтехком»; Продуктивність: 2500 м ³ /год; Потужність: 32,9 кВт; Габарити, мм: 578*530*551. [33]
Ф-7	Фільтр головної очистки повітря	1	Фільтр для тонкої очистки повітря під замовлення Виробник: «Luftov»; Продуктивність: 800 м ³ /год; Клас очистки: F8; Кількість карманів – 3; Габарити, мм: 285*285*350. [29]
ІФ-8	Індивідуальний фільтр для інокулятора об'ємом 10 л	1	Індивідуальний фільтр очистки повітря під замовлення Виробник: «Luftov»; Продуктивність: 450 м ³ /год; Клас очистки: H14; Площа полотна: 9,9 м ² ;

			Габарити, мм: 500*500*75. [29]
I-9	Інокулятор об'ємом 10 л	1	Biostat Cplus RCP-C 10 L Виробник: «Satorius»; Матеріал: нержавіюча сталь AISI 316; Датчик рН, температури, тиску, DO (розчиненого кисню), швидкості подачі повітря. Оснащений сорочкою із лінією її живлення та зворотною лінією, 3х лопатевою мішалкою. Потужність мотору: 0,8 кВт; Габарити, м: 1,0*1,9*0,75; [34]
Д-10	Дозатор води	1	Дозатор рідин MixRite 3.5CL Виробник: «Tefen»; Робочий діапазон: 10 л/год; Робочий тиск води: 0,2-8 бар; [35]
ІФ-11	Індивідуальний фільтр для інокулятора об'ємом 100 л	1	Індивідуальний фільтр очистки повітря під замовлення Виробник: «Luftov»; Продуктивність: 450 м ³ /год; Клас очистки: H14; Площа полотна: 9,9 м ² ; Габарити, мм: 500*500*75. [29]
I-12	Інокулятор об'ємом 100 л	1	Biostat D-DCU MO 100 L Виробник: «Satorius»; Матеріал: нержавіюча сталь AISI 316; Датчик рН, температури, тиску, DO (розчиненого кисню), швидкості подачі повітря. Оснащений сорочкою із лінією її живлення та зворотною лінією, 6-лопатевою дисковою мішалкою. Потужність мотору: 4,9 кВт; Габарити, м: 1.95*2.56*1.57.

			[36]
P-13	Реактор об'ємом 53 л для приготування Композиції А	1	Single Jacketed Glass Reactor 55 L Виробник: «Valuen»; Матеріал: Боросилікатне скло; Швидкість обертання: 0-600 rpm; Температурний діапазон: -80 °C– +250 °C; Потужність мотору: 200 Вт; Габарити, м: 4,00*1,00; [37]
H-14	Перистальтичний насос від реактора до інокулятора об'ємом 100 л	1	Перистальтичний насос OPL100 100-00 80-260V PHARMED Виробник: «AQUA»; Продуктивність: 100 л/год; Потужність: 40 Вт; Габарити, мм: 230*138*186. [38]
ВД-15	Ваговий дозатор	1	Ваговий дозатор ВД-4н Виробник: «ABC TECH»; Діапазон зважування: до 50 кг; Габарити, мм: 500*930; [39]
Д-16	Дозатор води	1	Насос дозуючий SEKO MS1C165C41C4000 Виробник: «SEKO S.P.A.»; Продуктивність: 500 л/год; Максимальний тиск: 3 бар; Потужність: 0,37 Вт; [40]
ІФ-17	Індивідуальний фільтр для інокулятора об'ємом 1000 л	1	Індивідуальний фільтр очистки повітря під замовлення Виробник: «Luftov»; Продуктивність: 450 м ³ /год; Клас очистки: H14; Площа полотна: 9,9 м ² ;

			Габарити, мм: 500*500*75. [29]
I-18	Інокулятор об'ємом 1000 л	1	Bioreactor 1000 Liter під замовлення Виробник: «Lab1st»; Матеріал: нержавіюча сталь AISI 316; Датчик рН, температури, тиску, DO (розчиненого кисню), швидкості подачі повітря. Оснащений сорочкою із лінією її живлення та зворотною лінією, мішалкою. Габарити, м: 1,20*0,8; [41]
P-19	Реактор об'ємом 530 л для приготування Композиції А	1	КМС 600L Industrial Chemical Reactor під замовлення Виробник: «КМС»; Матеріал: нержавіюча сталь AISI 316; Потужність мотору: 7.5 кВт; Швидкість перемішування: 50 об/хв; Габарити, мм: 1600*2040*2200; [42]
H-20	Перистальтичний насос від реактора до інокулятора об'ємом 1000 л	1	Перистальтичний насос ALH20 Виробник: «Albin pump»; Продуктивність: 1 м ³ /год; Максимальний тиск: 10 бар; Діаметр шлангу: 25 мм; [43]
ВД-21	Ваговий дозатор	1	Ваговий дозатор ВД-4н Виробник: «ABC TECH»; Діапазон зважування: до 50 кг; Габарити, мм: 500*930; [44]
Д-22	Дозатор води	1	Насос дозуючий SEKO MS1C165C41C4000 Виробник: «SEKO S.P.A.»; Продуктивність: 500 л/год; Максимальний тиск: 3 бар;

			Потужність: 0,37 Вт; [40]
ІФ-23	Індивідуальний фільтр для ферментера об'ємом 10 м ³	1	Індивідуальний фільтр очистки повітря під замовлення Виробник: «Luftov»; Продуктивність: 450 м ³ /год; Клас очистки: Н14; Площа полотна: 9,9 м ² ; Габарити, мм: 500*500*75. [29]
Ф-24	Ферментер об'ємом 10 м³	1	Ферментер OLT-500 Виробник: «Ollital Technology»; Матеріал: нержавіюча сталь AISI 316; Датчик рН, температури, тиску, DO (розчиненого кисню), швидкості подачі повітря. Оснащений сорочкою із лінією її живлення та звратною лінією, мішалкою. Потужність мотору: 1,5 кВт; Габарити, мм: 1800*3900 [27]
ВД-25	Ваговий дозатор	1	Дозатор МД-500 під замовлення Виробник: «АгроВектор»; Діапазон зважування: до 500 кг; Матеріал: нержавіюча сталь [44]
Д-26	Дозатор води	1	Дозатор води під замовлення Виробник: «АгроТех»; Робочий тиск: 0,5 атм до 10 атм; Робоча напруга: 220В; Продуктивність: 5м ³ /год. [45]
Р-27	Реактор-змішувач об'ємом 5,6 м ³	1	Реактор 5,6 м ³ під замовлення Виробник: «JHENTEN»; Матеріал: нержавіюча сталь AISI 316;

			<p>Потужність мотору: 7.5 кВт; Швидкість перемішування: 50 об/хв; Габарити, мм: 1800*2200; [46]</p>
Н-28	Насос від реактора-змішувача до УБС	1	<p>Перистальтичний насос ALH20 Виробник: «Albin pump»; Продуктивність: 9,6 м3/год; Максимальний тиск: 15 бар; Фланець DN40/PN16 (1,5 дюйма); [43]</p>
УБС-29	УБС-10	1	<p>LXM-10 Продуктивність: 10 м³/год; Габарити, мм: 2500*2000*2500 [47]</p>
Н-30	Насос від УБС до ферментера	1	<p>Перистальтичний насос ALH20 Виробник: «Albin pump»; Продуктивність: 9,6 м3/год; Максимальний тиск: 15 бар; Фланець DN40/PN16 (1,5 дюйма); [35] LXM-10 Продуктивність: 10 м3/год; Габарити, мм: 2500*2000*2500 [43]</p>

РОЗДІЛ 6. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ

ДР 1. Підготовка аераційного повітря

ДР 1.1. Забір атмосферного повітря

Повітрозабірник (ПЗ-1) забирає атмосферне повітря, яке буде проходити стадії очищення.

ДР 1.2 Очищення повітря від пилу і механічних часток

Атмосферне повітря в першу чергу потрапляє на перший етап очистки – фільтр грубого очищення (Ф-2). Фільтр грубого очищення встановлений з метою усунення крупних механічних часток, пилу та бруду.

ДР 1.3. Компресіювання повітря

Процес компресування повітря відбувається на компресорі (К-3) при надлишковому тиску 0,35 – 0,5 МПа та температурі 120 – 150 °С.

ДР 1.4. Охолодження повітря та видалення вологи

В теплообміннику-охолоджувачу (Т-4) повітряю надається температура 25-40 °С, з метою виділення вологи, що міститься у повітрі. Конденсат, що виділився із повітря, стікає у краплевлловлювачі у ресивері (Р-5).

ДР 1.5. Нагрівання повітря

Надалі повітря треба знову нагріти, у теплообміннику-нагрівачі, до температури 40 – 50 °С.

ДР 1.6. Очищення повітря у головному фільтрі

					НУХТ БТЕК 05.01.6 КР ПЗ			
Зм	Арк	№ докум.	Підпис	Дата				
Розробив		Герасимчук А.В.			РОЗДІЛ 6. Опис технологічної схеми	Лт.	Арк.	Аркушів
Перевірив		Стабніков В.П.						
Реценз.								
Н. контр.								
Затверд.		Стабніков В.П.						
						Кафедра БТМ		

Повітря подається на стадію подальшого очищення у головному фільтрі (Ф-7). На головному фільтрі використовується вологостійке мікроскло з ефективністю $E = 99,93\%$, що має діаметр пор 1 мкм.

Друга стадія очищення відбувається у головному фільтрі (Ф-7), тут відбувається очищення від ще менших часток, діаметром приблизно 1 мкм.

ДР 1.7. Очищення повітря в індивідуальному фільтрі

Далі повітря від головного фільтра, через колектор, подається на індивідуальний фільтр (ІФ-8), які встановлені безпосередньо перед посівним апаратом і ферментером.

ДР 2. Приготування та стерилізація титрувальних розчинів

Об'єм середовища, л	HCl(6%)		NaOH (6%)	
	Вміст, мл	Особливість приготування	Вміст, мл	Особливість приготування
5	10	Колба на 50 мл	10	Колба на 50 мл
50	100	Колба на 500 мл	100	Колба на 500 мл
500	1000	Колба на 2000 мл	1000	Колба на 2000 мл
5 000	10 000	Реактор на 13 л	10 000	Реактор на 13 л

ДР 2.1. Приготування 6-% розчину NaOH на весь виробничий біосинтез

pH під час культивування біологічного агенту з метою одержання глюконої кислоти має бути на рівні pH 5,5 – 6,5. Для цього необхідно вносити у середовище 6% розчин NaOH з розрахунком 2 мл на 1 л поживного середовища.

Приготування 10 мл 6-% розчину NaOH здійснюється у 50 мл колбі шляхом додавання 0,6 г NaOH до 9,4 мл води, об'єми яких були попередньо виміряні за

допомогою мірних циліндрів. Розчин перемішується за допомогою скляної палички, колбу закривають, переміщують у автоклав та проводять стерилізацію за режиму $t = 131^{\circ} \text{C}$ (40-60 хв).

Приготування 100 мл 6-% розчину NaOH здійснюється у 500 мл колбі шляхом додавання 6 г NaOH до 94 мл води, об'єми яких були попередньо виміряні за допомогою мірних циліндрів. Розчин перемішується за допомогою скляної палички, колбу закривають, переміщують у автоклав та проводять стерилізацію за режиму $t = 131^{\circ} \text{C}$ (40-60 хв).

Приготування 1000 мл 6-% розчину NaOH здійснюється у 2000 л колбі шляхом додавання 60 г NaOH до 940 мл води, об'єми яких були попередньо виміряні за допомогою мірних циліндрів. Розчин перемішується за допомогою скляної палички, колбу закривають, переміщують у автоклав та проводять стерилізацію за режиму $t = 131^{\circ} \text{C}$ (40-60 хв).

Приготування 10 000 мл 6-% розчину NaOH здійснюється у реакторі шляхом додавання 600 г NaOH до 9400 мл води. Включають перемішуючий пристрій та стерилізація відбувається у реакторі об'ємом 12 л при $t = 131^{\circ} \text{C}$ (40-60 хв).

ДР 2.2. Приготування 6-% розчину HCl на весь виробничий біосинтез

Також у разі регуляції рН в цілях підкислення готується в такій самій кількості 6-% розчин HCl.

Приготування 10 мл 6-% розчину HCl здійснюється у 50 мл колбі шляхом додавання 2,5 мл 36-% розчину NaOH до 7,5 мл води, об'єми яких були попередньо виміряні за допомогою мірних циліндрів. Розчин перемішується за допомогою скляної палички, колбу закривають, переміщують у автоклав та проводять стерилізацію за режиму $t = 131^{\circ} \text{C}$ (40-60 хв).

Приготування 100 мл 6-% розчину HCl здійснюється у 500 мл колбі шляхом додавання 25 мл 36-% розчину NaOH до 75 мл води, об'єми яких були попередньо виміряні за допомогою мірних циліндрів. Розчин перемішується за допомогою скляної палички, колбу закривають, переміщують у автоклав та проводять стерилізацію за режиму $t = 131^{\circ} \text{C}$ (40-60 хв).

Приготування 1000 мл 6-% розчину HCl здійснюється у 2000 л колбі шляхом додавання 250 мл 36-% розчину NaOH до 750 мл води, об'єми яких були попередньо виміряні за допомогою мірних циліндрів. Розчин перемішується за допомогою скляної палички, колбу закривають, переміщують у автоклав та проводять стерилізацію за режиму $t = 131^{\circ} \text{C}$ (40-60 хв).

Приготування 10 000 мл 6-% розчину HCl здійснюється у реакторі шляхом додавання 2500 мл 36-% розчину NaOH до 7500 мл води. Включають перемішуючий пристрій та стерилізація відбувається у реакторі об'ємом 12 л при $t = 131^{\circ} \text{C}$ (40-60 хв).

ДР 3. Приготування та стерилізація поживних середовищ

Об'єм ферментера, м ³	Коефіцієнт заповнення	Робочий об'єм ферментера, м ³	Об'єм посівного матеріалу (10%), м ³	Конденсат (10%), м ³	Об'єм підготовки поживного середовища, м ³
10 (10 000 л)	0,5	5 (5 000 л)	0,5 (500 л)	0,5	4,5 (4 500 л)
1 (1 000 л)	0,5	0,5 (500 л)	0,05 (50 л)	0,05	0,45 (450 л)
0,1 (100 л)	0,5	0,05 (50)	0,005 (5 л)	0,005	0,045 (45 л)
0,01 (10 л)	0,5	0,005 (5 л)	0,0005 (0,5 л)	*	0,0045 (4,5)

*Конденсат не враховано, оскільки стерилізація композицій поживного середовища відбуватиметься у колбах в автоклаві.

ДР 3.1. Приготування та стерилізація поживного середовища для вирощування інокуляту у колбах на качалках

Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	Кількість для приготування 2, 250 л середовища, г	Композиції	Об'єм композиції V, л	Режим стерилізації
Глюкоза	100	225	А	346,715	112°C, 30 хв
Вода	-	121,715			
КН ₂ РО ₄	0,2	0,45	Б	52,475	131°C, 0,15 МПа, впродовж 50 хв
(NH ₄) ₂ НРО ₄	0,9	2,025			
Вода	-	50			
MgSO ₄	0,3	0,675	С	50,81	131°C, 0,15 МПа, впродовж 50 хв
MnSO ₄	0,06	0,135			
Вода	-	50			
Усього			0,45 л		

ДР 3.1.1. Приготування композиції А

На технічних терезах зважують 225 г глюкози, поміщають у колбу на 1 л додавши 121,715 г дистильованої води. Розчин перемішується за допомогою скляної палички, колбу закривають, переміщають у автоклав та проводять стерилізацію за режиму $t = 112^{\circ}\text{C}$, 30 хв.

ДР 3.1.2. Приготування композиції В

На технічних терезах зважують 0,45 г КН₂РО₄, 0,45 г (NH₄)₂НРО₄. Наважки поміщають у колбу об'ємом 200 мл, додають 50 мл дистильованої води. Розчин перемішується за допомогою скляної палички, колбу закривають, переміщають у автоклав та проводять стерилізацію за режиму $t = 131^{\circ}\text{C}$ (40 хв).

ДР 3.1.3. Приготування композиції С

На технічних терезах зважують 0,675 г MgSO₄, 0,135 г MnSO₄. Наважки поміщають у колбу об'ємом 200 мл, додають 50 мл дистильованої води. Розчин перемішується за допомогою скляної палички, колбу закривають, переміщають у автоклав та проводять стерилізацію за режиму $t = 131^{\circ}\text{C}$ (40 хв).

ДР 3.2. Приготування та стерилізація поживного середовища для інокулятора на 10 л

Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	Кількість для приготування 5 л середовища, г	Композиції	Об'єм композиції V, л	Режим стерилізації
Глюкоза	100	500	А	2,4927	112°C, 30 хв
Вода	-	1992,7			
КН ₂ РО ₄	0,2	1	Б	1,0055	131°C, 0,15 МПа, впродовж 50 хв
(NH ₄) ₂ НРО ₄	0,9	4,5			
Вода	-	1000			
MgSO ₄	0,3	1,5	С	1,0018	131°C, 0,15 МПа, впродовж 50 хв
MnSO ₄	0,06	0,3			
Вода	-	1000			
Усього			4,5 л		

ДР 3.2.1. Приготування композиції А

На технічних терезах зважують 500 г глюкози, поміщають у колбу на 4 л додавши 1992,7 г дистильованої води. Розчин перемішується за допомогою скляної палички, колбу закривають, переміщують у автоклав та проводять стерилізацію за режиму $t = 112^{\circ}\text{C}$, 30 хв.

ДР 3.2.2. Приготування композиції В

На технічних терезах зважують 1 г КН₂РО₄, 4,5 г (NH₄)₂НРО₄. Наважки поміщають у колбу об'ємом 2 л, додають 1000 мл дистильованої води. Розчин перемішується за допомогою скляної палички, колбу закривають, переміщують у автоклав та проводять стерилізацію за режиму $t = 131^{\circ}\text{C}$ (40 хв).

ДР 3.2.3. Приготування композиції С

На технічних терезах зважують 1,5 г MgSO₄, 0,3 г MnSO₄. Наважки поміщають у колбу об'ємом 2 л, додають 1000 мл дистильованої води. Розчин

перемішується за допомогою скляної палички, колбу закривають, переміщують у автоклав та проводять стерилізацію за режиму $t = 131\text{ }^{\circ}\text{C}$ (40 хв).

ДР 3.3. Приготування та стерилізація поживного середовища для інокулятора на 100 л

Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	Кількість для приготування 50 л середовища, г	Композиції	Об'єм композиції V, л	Режим стерилізації
Глюкоза	100	5 000	А	42,926	112°C, 30 хв
Вода	-	37 927			
КН ₂ РО ₄	0,2	10	Б	1,055	131°C, 0,15 МПа, впродовж 50 хв
(NH ₄) ₂ НРО ₄	0,9	45			
Вода	-	1000			
MgSO ₄	0,3	15	С	1,018	131°C, 0,15 МПа, впродовж 50 хв
MnSO ₄	0,06	3			
Вода	-	1000			
Усього			45 л		

ДР 3.3.1. Приготування композиції А

За допомогою вагового дозатору зважують 5 000 г глюкози. Стерилізація відбувається безпосередньо у інокуляторі на 100 л, додають 37,927 л дистильованої води, також відміряною за допомогою дозатору, включають перемішувач, і стерилізують при $t = 112\text{ }^{\circ}\text{C}$, 30 хв.

ДР 3.3.2. Приготування композиції В

На технічних терезах зважують 10 г КН₂РО₄, 45 г (NH₄)₂НРО₄. Наважки поміщають у колбу об'ємом 2 л, додають 1000 мл дистильованої води. Розчин перемішується за допомогою скляної палички, колбу закривають, переміщують у автоклав та проводять стерилізацію за режиму $t = 131\text{ }^{\circ}\text{C}$ (40 хв).

ДР 3.3.3. Приготування композиції С

На технічних терезах зважують 15 г MgSO₄, 3 г MnSO₄. Наважки поміщають у колбу об'ємом 2 л, додають 1000 мл дистильованої води. Розчин перемішується за допомогою скляної палички, колбу закривають, переміщують у автоклав та проводять стерилізацію за режиму t = 131 °C (40 хв).

ДР 3.4. Приготування та стерилізація поживного середовища для інокулятора на 1000 л

Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	Кількість для приготування 500 л середовища, г	Композиції	Об'єм композиції V, л	Режим стерилізації
Глюкоза	100	50 000	А	447,270	112°C, 30 хв
Вода	-	397 270			
КН ₂ РО ₄	0,2	100	Б	1,550	131°C, 0,15 МПа, впродовж 50 хв
(NH ₄) ₂ НРО ₄	0,9	450			
Вода	-	1000			
MgSO ₄	0,3	150	С	1,180	131°C, 0,15 МПа, впродовж 50 хв
MnSO ₄	0,06	30			
Вода	-	1000			
Усього			450 л		

ДР 3.4.1. Приготування композиції А

За допомогою вагового дозатору зважують 50 000 г глюкози. Стерилізація відбувається безпосередньо у інокуляторі на 1000 л, додають 397,270 л дистильованої води, також відміряною за допомогою дозатору, включають перемішувач, і стерилізують при t = 112°C, 30 хв.

ДР 3.4.2. Приготування композиції В

На технічних терезах зважують 100 г КН₂РО₄, 450 г (NH₄)₂НРО₄. Наважки поміщають у колбу об'ємом 2 л, додають 1000 мл дистильованої води. Розчин перемішується за допомогою скляної палички, колбу закривають, переміщують у автоклав та проводять стерилізацію за режиму t = 131 °C (40 хв).

ДР 3.4.3. Приготування композиції С

На технічних терезах зважують 150 г MgSO₄, 30 г MnSO₄. Наважки поміщають у колбу об'ємом 2 л, додають 1000 мл дистильованої води, перемішують, закривають ватно–марлевым корком і стерилізують в автоклаві при t = 131 °С (40 хв).

ДР 3.5. Приготування та стерилізація поживного середовища для виробничого біосинтезу у ферментері об'ємом 10 м³

Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	Кількість для приготування 5000 л середовища, г	Композиції	Об'єм композиції V, л	Режим стерилізації
Глюкоза	100	500 000	А	2 500	112°С, 30 хв
Вода	-	2 000 000			
КН ₂ РО ₄	0,2	1 000	Б	1 005,5	131°С, 0,15 МПа, впродовж 50 хв
(NH ₄) ₂ НРО ₄	0,9	4 500			
Вода	-	1 000 000			
MgSO ₄	0,3	1 500	С	994, 5	131°С, 0,15 МПа, впродовж 50 хв
MnSO ₄	0,06	300			
Вода	-	992 700			
Усього			4 500 л		

ДР 3.5.1. Приготування та стерилізація поживного середовища у реакторі – змішувачі об'ємом 5,5 м³

Приготування композицій буде здійснюватися у реакторі-змішувачі, встановленого перед УБС. Спочатку додається зважена на ваговому дозаторі глюкоза в об'ємі 500 кг, додається зважена ваговим дозатором вода в об'ємі 2 000 л, включаємо перемішуючий пристрій.

Після перемішування додаємо інші компоненти середовища, зважені на ваговому дозаторі 1кг КН₂РО₄, 4,5 кг (NH₄)₂НРО₄, 1,5 кг MgSO₄, 300 г MnSO₄, додаємо відповідну їм кількість води, вмикаємо перемішуючий пристрій та насосом перекачуємо у попередньо простерилізовану УБС.

ДР 3.5.2. Стерилізація поживного середовища в УБС

Поживне середовище проходить стерилізацію в УБС.

ТП 4. Підготовка посівного матеріалу

ТП 4.1. Підтримання колекційної культури

Колекційну культуру *Aspergillus niger* SIIMM2 76 зберігають у пробірках зі скошеним сусло-агаром за температури 3 – 4 °С. Роблять пересіви через кожні 3 – 4 місяці. При роботі з колекційною культурою необхідно строго дотримуватися правил асептики задля запобігання контамінації сторонньою мікрофлорою.

ТП 4.2. Одержання робочої культури

Колекційну культуру *Aspergillus niger* SIIMM2 76, що зберігається в пробірках з сусло-агаром, розсівають петлею окремі колонії на чашки Петрі з стерильним сусло-агаризованим поживним середовищем. Необхідно строго дотримуватися правил асептики та контролювати відсутність сторонньої мікробіоти на даному етапі роботи з культурою. Вирощують культуру 48 годин у термостаті при температурі 30 °С.

ТП 4.3. Одержання робочої культури на агаризованому середовищі

Окремі колонії з чашки Петрі (від ТП 4.2) пересівають у пробірки зі скошеним сусло-агаризованим поживним середовищем (згідно стандартів одна ізольована колонія використовується для засіву однієї пробірки). У пробірки пересівають колонії, які знаходяться на відстані не менше 1 см одна від одної. Вирощують культуру 48 годин у термостаті при температурі 30 °С.

ТП 4.4. Вирощування інокуляту в колбі

В асептичних умовах змішують композицію А від ДР 3.1.1, композицію Б від ДР 3.1.2 та композицію С від ДР 3.1.3 .) Перемішують і розливають по 150 мл у три качалочні колби об'ємом 750 мл.

У пробірку з робочою культурою (від ТП 4.3) вносять 5 мл фізіологічного розчину, суспендують клітини (змивають культуру), піпеткою відбирають одержану бактеріальну суспензію і вносять у качалочні колби з поживним середовищем. Для засіву однієї колби використовують бактеріальну суспензію, одержану з однієї пробірки. Культивують на качалках (200 об/хв) при $t = 35\text{ }^{\circ}\text{C}$ (48 год).

ТП 4.5. Вирощування культури в посівному апараті об'ємом 10 л

В інокуляторі на 10 л відбувається безпосередня стерилізація розчину глюкози, тобто цей розчин все є у інокуляторі. В асептичних умовах колбу об'ємом 2 л з композицією Б та колбу на 2 л з композицією С асептично через конектор передають у інокулятор. Вмикають перемішувач і доводять 6%-м розчином NaOH (від ДР 2.1.) рН середовища за показником датчика рН до 6. Через засівну колбу вносять посівний матеріал від ТП 4.4. Культивують до концентрації біомаси 6,45 г/л при $t = 30\text{ }^{\circ}\text{C}$, і постійною аерацією впродовж 24 год.

ТП 4.6. Вирощування культури в посівному апараті об'ємом 100 л

В інокуляторі на 100 л відбувається безпосередня стерилізація розчину глюкози, тобто цей розчин все є у інокуляторі. В асептичних умовах колбу об'ємом 2 л з композицією Б та колбу на 2 л з композицією С асептично через конектор передають у інокулятор. Вмикають перемішувач і доводять 6%-м розчином NaOH (від ДР 2.1.) рН середовища за показником датчика рН до 6. Через трубу перетискування перекачують з інокулятора інокулят від ТП 4.5. Культивують до концентрації біомаси 6,45 г/л при $t = 30\text{ }^{\circ}\text{C}$, і постійною аерацією впродовж 24 год.

ТП 4.7. Вирощування культури в посівному апараті об'ємом 1000 л

В інокуляторі на 1000 л відбувається безпосередня стерилізація розчину глюкози, тобто цей розчин все є у інокуляторі. В асептичних умовах колбу об'ємом 2 л з композицією Б та колбу на 2 л з композицією С асептично через конектор передають у інокулятор. Вмикають перемішувач і доводять 6%-м

розчином NaOH (від ДР 2.1.) рН середовища за показником датчика рН до 6. Через трубу перетискування перекачують з інокулятора інокулят від ТП 4.6. Культивують до концентрації біомаси 6,45 г/л при $t = 30\text{ }^{\circ}\text{C}$, і постійною аерацією впродовж 24 год.

ТП 5. Виробничий біосинтез

ТП 5.1. Виробниче культивування у ферментері об'ємом 10 м³

У попередньо простерилізований ферментер об'ємом 10 м³ перекачують простерилізоване поживне середовище від УБС (від ДР 3.4.2). Вмикають перемішуючий пристрій і доводять 6%-м розчином NaOH за допомогою перистальтичного насосу (від ДР 2.1.) рН середовища за показником датчика рН до 6. Через трубу перетискування перекачують з інокулятора інокулят від ТП 4.7. Культивують до концентрації біомаси 6,45 г/л при $t = 30\text{ }^{\circ}\text{C}$ і постійною аерацією впродовж 72 год.

РОЗДІЛ 7. КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА

7.1. Карта постадійного контролю доферментаційних процесів та процесу виробничого біосинтезу

Номер контрольної точки та назва стадії	Об'єкт контролю і показник, що визначається	Засоби та методи контролю	Періодичність перевірки та порядок відбору проб	Нормативна характеристика показника, що визначається
1	2	3	4	5
<i>Кт 1.2. Очищення повітря від пилу і механічних часток</i>	Ступінь чистоти повітря та кількість часток у повітрі	Манометр, перевірка ступеня очищення	Після проходження повітрям фільтру грубого очищення	E = 90 %;
<i>Кт 1.3. Компресіювання повітря</i>	Температура повітря та ступінь його стиснення	Манометр технічний, термометр	Після компресіонування повітря	P = 0,35 – 0,5 МПа; T = 120-250 °C
<i>Кт 1.4. Охолодження повітря та видалення вологи</i>	Температура, вологість	Термометр, гігрометр	Після охолодження повітря у теплообміннику	T = 40-50° C ; W = 50%
<i>Кт 1.5. Нагрівання повітря</i>	Температура, вологість	Термометр, гігрометр	Після нагрівання повітря у теплообміннику	T = 70-90° C ; W = 50%

НУХТ БТЕК 05.01.6 КР ПЗ				
Зм	Арк	№ докум.	Підпис	Дата
Розробив		Герасимчук А.В.		
Перевірив		Стабніков В.П.		
Реценз.				
Н. контр.				
Затверд.		Стабніков В.П.		
РОЗДІЛ 7. Контроль виробництва				
			Лт.	Арк.
			Аркушів	
Кафедра БТМ				

<i>Кт 1.6. Очищення повітря в головному фільтрі</i>	Ступінь чистоти повітря та кількість часток у повітрі	Манометр, перевірка ступеня очищення згідно паспорту фільтра	Після проходження повітрям головного фільтру	E = 99 %; Тиск згідно паспорту
<i>Кт 1.7. Очищення повітря в індивідуальному фільтрі</i>	Ступінь чистоти повітря та кількість часток у повітрі	Манометр, перевірка ступеня очищення згідно паспорту фільтра	Після проходження повітрям індивідуального фільтру	E = 99,9 %;
<i>Кт, Км, Кх 2.1. Приготування 6-% розчину гідроксиду натрію на весь виробничий біосинтез</i>	Розчин NaOH Стерильність розчину, час його стерилізації, тиск, температура	Термометр, годинник, технічний манометр, мікробіологічний контроль	Температура розчину і тиск контролюються протягом їх стерилізації, контроль стерильності розчину на відсутність мікроорганізмів проводять після стерилізації	C = 6 % T = 131 °C; P = 0,15 МПа; t = 40-60 хв, Відсутність мікробіоти
<i>Кт, Км, Кх 2.2. Приготування 6-% розчину соляної кислоти для нейтралізації екстракту на весь виробничий біосинтез</i>	Розчин HCl Стерильність розчину, час його стерилізації, тиск, температура	Термометр, годинник, технічний манометр, мікробіологічний контроль	Температура розчину і тиск контролюються протягом їх стерилізації, контроль стерильності розчину на відсутність мікроорганізмів проводять після стерилізації	C = 6 % T = 131 °C; P = 0,15 МПа; t = 40-60 хв, Відсутність мікробіоти
<i>Кт, Км 3.1.1. Приготування та стерилізація</i>	Композиція А Стерильність розчину, час його	Манометр, технічний, термометр	Температура композиції і тиск контролюються протягом їх стерилізації,	T = 112 °C; P = 0,05 МПа; t = 30 хв,

<i>композиції А</i>	стерилізації, тиск, температура	технічний, годинник, мікробіологічний контроль	контроль стерильності композиції на відсутність мікроорганізмів проводять після стерилізації	Відсутність мікробіоти
<i>Кт, Км 3.1.2. Приготування та стерилізація композиції Б</i>	Композиція Б Стерильність розчину, час його стерилізації, тиск, температура	Манометр технічний, термометр технічний, годинник, мікробіологічний контроль	Температура композиції і тиск контролюються протягом їх стерилізації, контроль стерильності композиції на відсутність мікроорганізмів проводять після стерилізації	T = 131 °C; P = 0,15 МПа; t = 40-60 хв, Відсутність мікробіоти
<i>Кт, Км 3.1.3. Приготування та стерилізація композиції С</i>	Композиція С Стерильність розчину, час його стерилізації, тиск, температура	Манометр технічний, термометр технічний, годинник, мікробіологічний контроль	Температура композиції і тиск контролюються протягом їх стерилізації, контроль стерильності композиції на відсутність мікроорганізмів проводять після стерилізації	T = 131 °C; P = 0,15 МПа; t = 40-60 хв, Відсутність мікробіоти
<i>Кт, Км 3.2.1. Приготування та стерилізація композиції А</i>	Композиція А Стерильність розчину, час його стерилізації, тиск, температура	Манометр технічний, термометр технічний, годинник, мікробіологічний контроль	Температура композиції і тиск контролюються протягом їх стерилізації, контроль стерильності композиції на відсутність мікроорганізмів проводять після стерилізації	T = 112 °C; P = 0,05 МПа; t = 30 хв, Відсутність мікробіоти
<i>Кт, Км 3.2.2. Приготування та стерилізація композиції Б</i>	Композиція Б Стерильність розчину, час його стерилізації, тиск,	Манометр технічний, термометр технічний,	Температура композиції і тиск контролюються протягом їх стерилізації, контроль стерильності	T = 131 °C; P = 0,15 МПа; t = 40-60 хв,

	температура	годинник, мікробіол огічний контроль	композиції на відсутність мікроорганізмів проводять після стерилізації	Відсутність мікробіоти
<i>Кт, Км 3.2.3. Приготування та стерилізація композиції С</i>	Композиція С Стерильність розчину, час його стерилізації, тиск, температура	Манометр технічний, термометр технічний, годинник, мікробіол огічний контроль	Температура композиції і тиск контролюються протягом їх стерилізації, контроль стерильності композиції на відсутність мікроорганізмів проводять після стерилізації	T = 131 °C; P = 0,15 МПа; t = 40-60 хв, Відсутність мікробіоти
<i>Кт, Км 3.3.1. Приготування та стерилізація композиції А</i>	Композиція А Стерильність розчину, час його стерилізації, тиск, температура	Манометр технічний, термометр технічний, годинник, мікробіол огічний контроль	Температура композиції і тиск контролюються протягом їх стерилізації, контроль стерильності композиції на відсутність мікроорганізмів проводять після стерилізації	T= 112 °C; P=0,05 МПа; t = 30 хв, Відсутність мікробіоти
<i>Кт, Км 3.3.2. Приготування та стерилізація композиції Б</i>	Композиція Б Стерильність розчину, час його стерилізації, тиск, температура	Манометр технічний, термометр технічний, годинник, мікробіол огічний контроль	Температура композиції і тиск контролюються протягом їх стерилізації, контроль стерильності композиції на відсутність мікроорганізмів проводять після стерилізації	T = 131 °C; P = 0,15 МПа; t = 40-60 хв, Відсутність мікробіоти
<i>Кт, Км 3.3.3. Приготування та стерилізація композиції С</i>	Композиція С Стерильність розчину, час його стерилізації, тиск, температура	Манометр технічний, термометр технічний, годинник,	Температура композиції і тиск контролюються протягом їх стерилізації, контроль стерильності композиції на відсутність	T = 131 °C; P = 0,15 МПа; t = 40-60 хв, Відсутність

		мікробіологічний контроль	мікроорганізмів проводять після стерилізації	мікробіоти
<i>Кт, Км 3.4.1. Приготування та стерилізація композиції А</i>	Композиція А Стерильність розчину, час його стерилізації, тиск, температура	Манометр технічний, термометр технічний, годинник, мікробіологічний контроль	Температура композиції і тиск контролюються протягом їх стерилізації, контроль стерильності композиції на відсутність мікроорганізмів проводять після стерилізації	T = 112 °C; P = 0,05 МПа; t = 30 хв, Відсутність мікробіоти
<i>Кт, Км 3.4.2. Приготування та стерилізація композиції Б</i>	Композиція Б Стерильність розчину, час його стерилізації, тиск, температура	Манометр технічний, термометр технічний, годинник, мікробіологічний контроль	Температура композиції і тиск контролюються протягом їх стерилізації, контроль стерильності композиції на відсутність мікроорганізмів проводять після стерилізації	T = 131 °C; P = 0,15 МПа; t = 40-60 хв, Відсутність мікробіоти
<i>Кт, Км 3.4.3. Приготування та стерилізація композиції С</i>	Композиція С Стерильність розчину, час його стерилізації, тиск, температура	Манометр технічний, термометр технічний, годинник, мікробіологічний контроль	Температура композиції і тиск контролюються протягом їх стерилізації, контроль стерильності композиції на відсутність мікроорганізмів проводять після стерилізації	T = 131 °C; P = 0,15 МПа; t = 40-60 хв, Відсутність мікробіоти
<i>Кт, Км 3.5.1. Приготування підготування поживного середовища у реакторі-</i>	Композиція А, Б, С Стерильність розчину, час його стерилізації, тиск, температура	Датчик температури, мікробіологічний контроль	Температура композиції і тиск контролюються протягом їх стерилізації, контроль стерильності композиції на відсутність мікроорганізмів	T = 112 °C; P = 0,05 МПа; t = 30 хв, Відсутність мікробіоти

змішувачі об'ємом 5,5 м ³			проводять після стерилізації	
<i>Кт, Км 3.5.2.</i> <i>Стерилізація поживного середовища в УБС</i>	Композиція А, Б, С Стерильність розчину, час його стерилізації, тиск, температура	Датчик температу ри, годинник, манометр, мікробіол огічний контроль	Температура композиції і тиск контролюються протягом їх стерилізації, контроль стерильності композиції на відсутність мікроорганізмів проводять після стерилізації	Т = 131 °С; Р = 0,15 МПа; t = 5-7 хв; Відсутність мікробіоти
<i>Кт, Км 4.1.</i> <i>Підтримання колекційної культури</i>	<i>Aspergillus niger</i> SIIMM2 76 Температура, мікробіологічна чистота культури	Холодиль ник, мікробіол огічний контроль	<ul style="list-style-type: none"> • t – фіксується та підтримується на протязі усього часу зберігання; • мікробіологічна чистота – перевіряється кожен раз при оновленні музейної культури 	Т = 3-4°С (в холодильни ку), Т = 30°С (у термостаті); t = 3-4 місяці; Відсутність сторонньої мікробіоти
<i>Кт, Км 4.2.</i> <i>Одержання робочої культури</i>	<i>Aspergillus niger</i> SIIMM2 76 Температура, мікробіологічна чистота культури	Термостат , мікробіол огічний контроль	<ul style="list-style-type: none"> • t – фіксується та підтримується на протязі усього часу вирощування; • мікробіологічна чистота – перевіряється після вирощування 	Т = 30°С; t = 48 год; Відсутність сторонньої мікробіоти
<i>Кт, Км 4.3.</i> <i>Одержання робочої культури на агаризованому середовищі</i>	<i>Aspergillus niger</i> SIIMM2 76 Температура, мікробіологічна чистота культури	Термостат , мікробіол огічний контроль	<ul style="list-style-type: none"> • t – фіксується та підтримується на протязі усього часу вирощування; • мікробіологічна чистота – перевіряється 	Т = 30°С; t = 48 год; Відсутність сторонньої мікробіоти

<p><i>Кт, Км 4.4.</i> <i>Вирощування інокуляту в колбах на качалках</i></p>	<p>Посівний матеріал, тривалість вирощування, температура, швидкість перемішування, мікробіологічна чистота культури</p>	<p>Термометр технічний, годинник, тахометр, мікробіологічний контроль</p>	<p>після вирощування</p> <ul style="list-style-type: none"> • t – фіксується та підтримується на протязі усього часу вирощування; • Швидкість перемішування - фіксується та підтримується на протязі усього часу вирощування; • рН - фіксується та підтримується на протязі усього часу вирощування; • мікробіологічна чистота – перевіряється після вирощування; • Концентрація продукту та біомаси – визначається після вирощування 	<p>T = 30 °C; t =48 год; n = 200 об/х; рН=6; C_{біомаси}= 6,45 г/л C_{пр}=105 г/л; Відсутність сторонньої мікробіоти</p>
<p><i>Кт, Км 4.5.</i> <i>Вирощування культури в посівному апараті об'ємом 10 л</i></p>	<p>Посівний матеріал, тривалість вирощування, температура, швидкість перемішування, мікробіологічна чистота культури</p>	<p>Термометр технічний, годинник, тахометр, мікробіологічний контроль</p>	<p>після вирощування</p> <ul style="list-style-type: none"> • t – фіксується та підтримується на протязі усього часу вирощування; • Швидкість перемішування - фіксується та підтримується на протязі усього часу вирощування; • рН - фіксується та 	<p>T = 30 °C; t =48 год; n = 200 об/х; рН=6; C_{біомаси}= 6,45 г/л C_{пр}=105 г/л; Відсутність сторонньої мікробіоти</p>

			<p>підтримується на протязі усього часу вирощування;</p> <ul style="list-style-type: none"> • мікробіологічна чистота – перевіряється після вирощування; • Концентрація продукту та біомаси – визначається після вирощування 	
<p><i>Кт, Км 4.6.</i> Вирощування культури в посівному апараті об'ємом 100 л</p>	<p>Посівний матеріал, тривалість вирощування, рівень аерації, температура, швидкість перемішування, мікробіологічна чистота культури</p>	<p>Термометр технічний, годинник, тахометр, мікробіологічний контроль</p>	<ul style="list-style-type: none"> • t – фіксується та підтримується на протязі усього часу вирощування; • Швидкість перемішування - фіксується та підтримується на протязі усього часу вирощування; • рН - фіксується та підтримується на протязі усього часу вирощування; • мікробіологічна чистота – перевіряється після вирощування; • Концентрація продукту та біомаси – визначається після вирощування 	<p>T = 30 °C; t = 48 год; n = 200 об/х; рН=6; C_{біомаси} = 6,45 г/л C_{пр} = 105 г/л; Відсутність сторонньої мікробіоти</p>
<p><i>Кт, Км 4.7.</i> Вирощування</p>	<p>Посівний матеріал,</p>	<p>Термометр</p>	<ul style="list-style-type: none"> • t – фіксується та підтримується на протязі 	<p>T = 30 °C; t = 48 год;</p>

<p><i>культури в посівному апараті об'ємом 1000 л</i></p>	<p>тривалість вирощування, рівень аерації, температура, швидкість перемішування, мікробіологічна чистота культури</p>	<p>технічний, годинник, тахометр, мікробіол огічний контроль</p>	<p>усього часу вирощування;</p> <ul style="list-style-type: none"> • Швидкість перемішування - фіксується та підтримується на протязі усього часу вирощування; • рН - фіксується та підтримується на протязі усього часу вирощування; • мікробіологічна чистота – перевіряється після вирощування; • Концентрація продукту та біомаси – визначається після вирощування 	<p>n = 200 об/х; рН=6; C_{біомаси}= 6,45 г/л C_{пр}=105 г/л; Відсутність сторонньої мікробіоти</p>
<p><i>Кт, Км 5.1. Виробниче культивування у ферментері об'ємом 10 м³</i></p>	<p>Культуральна рідина, температура, тривалість культивування, рівень аерації, швидкість перемішування, рівень рН, мікробіологічна чистота культури, концентрація біомаси, концентрація цільового продукту</p>	<p>Термометр, технічний, годинник, тахометр, рН – метр, мікробіол огічний контроль, визначення концентрації</p>	<ul style="list-style-type: none"> • t – фіксується та підтримується на протязі усього часу вирощування; • Швидкість перемішування - фіксується та підтримується на протязі усього часу вирощування; • рН - фіксується та підтримується на протязі усього часу вирощування; 	<p>T = 30 °С; t =48 год; n = 200 об/х; рН=6; C_{біомаси}= 6,45 г/л C_{пр}=105 г/л; Відсутність сторонньої мікробіоти</p>

		біомаси	<ul style="list-style-type: none"> • мікробіологічна чистота – перевіряється після вирощування та кожні 8-10 годин здійснюється відбір проб; • Концентрація продукту та біомаси – визначається після вирощування 	
--	--	---------	--	--

7.2. Мікробіологічний контроль

Мікробіологічний контроль чистоти культури. Мікробіологічний контроль для виявлення сторонньої мікрофлори здійснюється:

- 1) розсівом на чашки Петрі з агаризованим середовищами;
- 2) мікроскопіюванням.

Мікроскопіювання це експрес-метод контролю, який дає змогу виявити присутність клітин мікроорганізмів-контамінантів у зразку. Готується препарат «роздавлена крапля» в асептичних умовах - на чисте знежирене предметне скло наносять краплину культуральної рідини, яку потім накривають предметним склом та мікроскопіюють при збільшенні $\times 40$ з імерсійною системою [48].

При мікроскопіюванні препарату *A.niger*, верхня частина конідієносія вздута та утворює «пухирі»[49]. Вигляд *A.niger* під час мікроскопіювання наведено на рисунку 3.1.

Мікробіологічний контроль стерильності поживних середовищ. Простерилізоване поживне середовище також підлягає перевірці на присутність сторонньої мікрофлори. Для цього використовують сусло-агар, на якому виявляють гриби, та МПА – середовище для виявлення бактерій. У чашки Петрі із відповідним

поживним середовищем вносять розплавлене поживне середовище, що досліджується. Чашки витримують у термостаті протягом декількох діб при $t = 30^{\circ}\text{C}$. Якщо буде наявний ріст на досліджуваних чашках, це означає що середовище контаміноване.

7.3. Показники росту і синтезу цільового продукту

7.3.1. Концентрація цільового продукту

Глюконову кислоту визначають кількісно і якісно хроматографічним аналізом з використанням колонки Separon SGX C18, як описано. Ферментаційний бульйон пропускали через фільтр 0,2 мкл і 15 мкл відфільтрованого зразка вводили в ВЕРХ для аналізу. Елюювання проводили ізократичним розчинником зі швидкістю потоку 0,8 мл/хв, що складається з ацетонітрилу:води (3:7 об./об.) і глюконової кислоти, яка була виявлена при 210 нм. Кількісний аналіз глюконової кислоти, що утворилася у ферментаційному бульйоні, проводили шляхом вимірювання концентрації Са-глюконату в середовищі непрямим шляхом визначення кількості розчиненого кальцію в культуральному середовищі [50].

7.3.2. Концентрація джерела вуглецю та азоту

Визначення джерела вуглецю. Буде здійснюватися за допомогою методу редукуючих цукрів. Основною ідеєю цього методу є використання здатності глюкози та інших редукуючих цукрів здійснювати окислення в присутності луку за утворення червоного сполуки, яку можна виміряти колориметрично. До зразка додається реактив DNS (3,5-динітросаліцилова кислота), яка реагує з окисленою формою цукрів та утворює інтенсивно червоне забарвлення. Зразок з реагентом DNS залишається протягом певного часу для реакції, після чого колір сполуки вимірюється спектрофотометрично при відповідній довжині хвилі за допомогою спектрофотометру. Метод має високу чутливість, що дозволяє виміряти низькі концентрації цукрів [51].

Визначення концентрації азоту. Азот відіграє ключову роль у біологічних молекулах, таких як білки, нуклеїнові кислоти та інші важливі компоненти клітин. Тому концентрація джерела азоту в середовищі для культивування впливає на синтез вищезгаданих компонентів і, відповідно, на ріст та розвиток мікроорганізмів. Якщо концентрація азоту занадто низька, це може обмежити синтез білків та інших азотовмісних сполук, що призведе до уповільнення зростання мікроорганізмів

В якості джерела азоту в середовищі виступає сульфат амонію. Визначення відбувається за допомогою метода Несслера. Це метод заснований на додаванні до зразку фенолдисульфонілхлориду (PDSC), який реагує з аміаком або іншими амінами та утворює колірну сполуку. Отримана колірна сполука вимірюється спектрофотометрично при певній довжині хвилі, що відповідає максимальній поглинаності сполуки [52].

РОЗДІЛ 8. ОХОРОНА ДОВКІЛЛЯ

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

Виходячи із аналізу технологічної схеми, рідкі відходи в основному включають у себе відпрацьовані залишки мийних та дезінфікуючих засобів після миття приміщення та обладнання, що використовується у технологічних стадіях, що зазначені на рис. 1, залишки культуральної рідини після процесів виділення цільового продукту, що може містити у собі залишки біомаси, антибіотики, органічні кислоти, феноли, тощо [53].

Газоподібні відходи біотехнологічних виробництв становлять великі викиди вуглекислого газу і аерозолі бактеріальних або грибних спор [53]. Згідно ТС, це можуть бути відпрацьовані гази на етапі підготовки посівного матеріалу та після виробничого культивування (рис.8.1).

Об'єми аераційного повітря приблизно дорівнюють об'ємам відпрацьованого повітря, розраховано через підготовку аераційного повітря для виробничого ферментеру [53]. На один об'єм середовища припадає дві частини повітря, об'єм середовища для виробничого культивування становить 5 м^3 , тобто повітря необхідно $10 \text{ м}^3/\text{хв} = 600 \text{ м}^3/\text{год}$. Для таких об'ємів повітря логічним буде використати циклонний сепаратор, з продуктивністю не меншою за $600 \text{ м}^3/\text{год}$.

					НУХТ БТЕК 05.01.6 КР ПЗ			
Зм	Арк	№ докум.	Підпис	Дата				
Розробив		Герасимчук А.В.			РОЗДІЛ 8. Охорона довкілля	Лт.	Арк.	Аркушів
Перевірив		Стабніков В.П.						
Реценз.						Кафедра БТМ		
Н. контр.								
Затверд.		Стабніков В.П.						

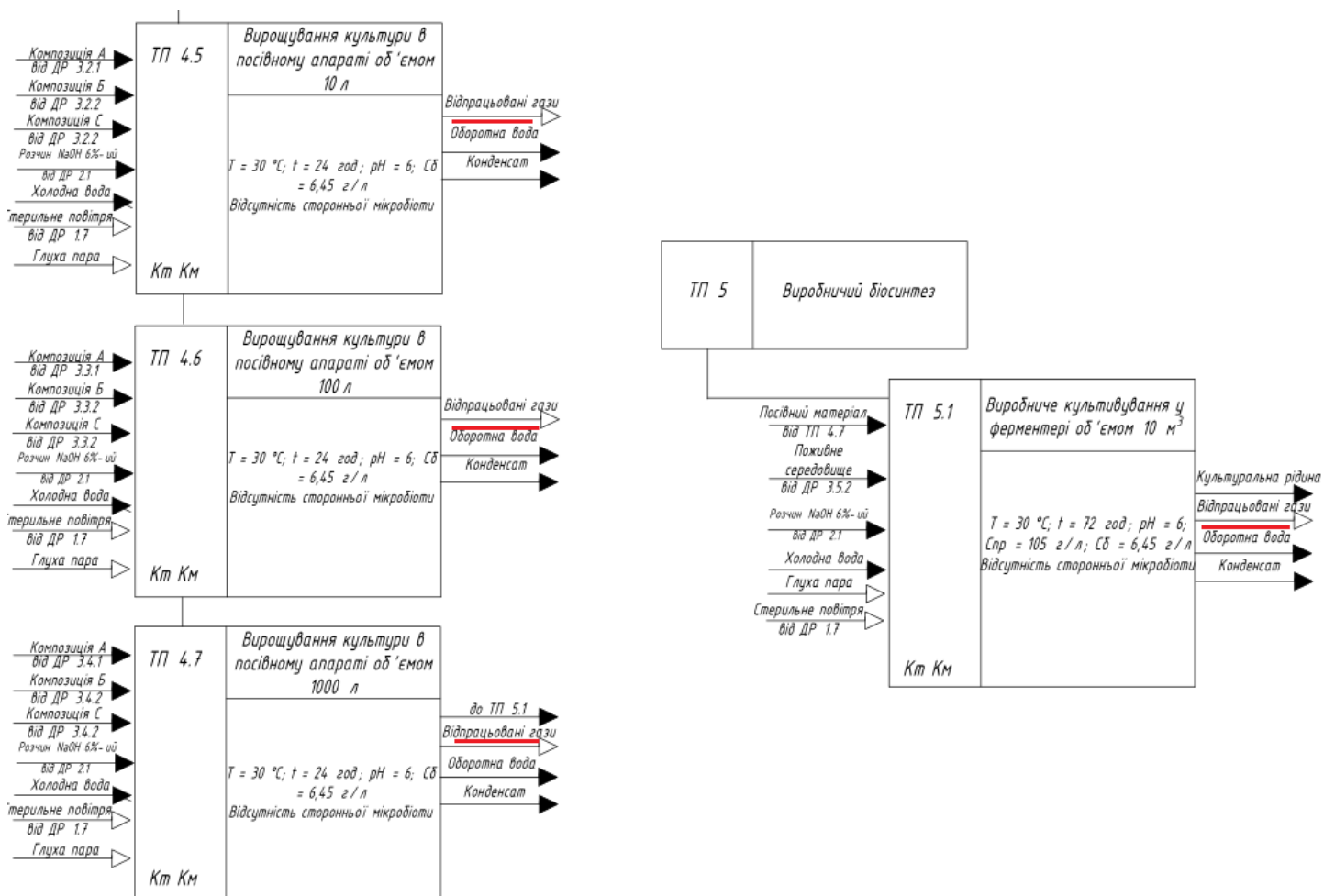


Рис.8.1. Фрагмент технологічної схеми із етапами вирощування культури та виробничим біосинтезом. Червоним підкреслені газоподібні відходи, що утворюються під час культивування

Тверді відходи, які можуть бути присутні на підприємстві, це побутове сміття персоналу (пляшки, пластиковий посуд, пакети), матеріал упаковки для сировини (пластикові контейнери, обгортувальний матеріал, картон, тощо), розбите лабораторне приладдя (піпетки, колби, пробірки, тощо), біомаса. Біотехнологічне підприємство здійснює лише сортування усіх твердих відходів, які потім відправляють на переробку відповідними спеціалізованими підприємствами. Щодо біомаси, повинна здійснюватися її інактивація, оскільки біомаса біологічного агента може нести потенційну небезпеку.

8.2. Перспективи впровадження системи екологізації виробництва

8.2.1. Система знешкодження та утилізації рідких відходів

На практиці використовують такі технології очищення стічних вод фармацевтичних виробництв:

1. Біологічне очищення із застосуванням мембранного біореактора.

Частою проблемою підприємств фармацевтики є чергування виробництва препаратів з різним складом, що ускладнює підбір схеми очищення. Особливо це впливає на ефективність біологічної очистки, коли відбувається зміна культур мікроорганізмів: одна культура вже гине, а інша не встигають вирости.

Крім того, надходять в стоки з'єднання, які мають високу стійкість до біорозкладання. Антибіотики, які навіть в малих дозах надходять в стоки, є токсичними для мікрофлори активного мулу, а тетрациклін може адсорбуватися на поверхні завантаження і, тим самим, впливати на роботу всієї технологічної схеми очисних споруд. Внаслідок чого біологічне очищення стоків стає неефективною.

Поєднання біологічного очищення з ультрафільтрацією дає найкращий ефект. В даному випадку застосовуються мембранні біореактори, які створюють нездоланну перешкоду не тільки для забруднюючих речовин, але і самого активного мулу.

Принцип роботи полягає при надходженні стічних вод після механічного очищення в аеротенки і проходженні розчину через мембранні модулі. При цьому зважені речовини і колоїдні частинки затримуються на ультрамембранах. Для подальшого очищення мембран проводиться їх промивання зворотним струмом рідини і аерація повітрям.

До переваг такого методу очищення стоків фармацевтичних підприємств слід віднести:

-відсутність в технологічній схемі вторинних відстійників і фільтрів, що дозволяє скоротити площі під очисні споруди;

-накопичення великої кількості активного мулу, близько 25 мг/л, що підвищує якість і швидкість очищення;

-мікроскопічний розмір мембран дозволяє очистити воду від мікроорганізмів та інших біологічних домішок;

-повна автоматизація процесу

2. Термічне знезараження.

При виробництві вакцин та інших препаратів, які містять в своєму складі біологічні матеріали, найбільш підходящим методом очищення стічних вод слід вважати термічне знезараження або стерилізація стоків.

Суть методу полягає у упорскуванні в струмінь гострого пара розчину і витримка його при заданій температурі 121 ° - 134 ° С протягом 15 - 20 хвилин. У деяких випадках час збільшується до 120 хвилин.

Після термічного знезараження очищені води фармацевтики проходять доочистку і можуть бути скинуті в міську мережу каналізації.

3. Обробка реактивом Фентона.

До складу реактиву Фентона входять пероксид водню і Fe^{2+} . Суть методу полягає у відновленні заліза (III) до заліза (II) за участю перекису водню. Утворилися окислювальні радикали, які нейтралізують забруднюючі речовини в розчині. Додавання ароматичних з'єднань прискорює процес відновлення заліза (III) і знижує його вміст у реакційному середовищі.

Реактив Фентона використовується для:

- видалення біонерозкладних з'єднань після біологічної очистки;

- очищення поверхневих вод від мікро забруднень лікарськими препаратами;

- очищення стоків від антибіотиків, зокрема, від амоксициліну, ампіциліну і клоксациліну.

4. Ефект кавітації.

Під час кавітації відбувається утворення, зростання і руйнування пухирців в рідині з підвищенням температури. Молекули води руйнуються і утворюють гідроксильні і пергідроксильні радикали, які окислюють домішки в розчинах стічних вод. За способом виникнення кавітація ділиться на дві групи:

- Акустична. Виникає при проходженні через розчин стічних вод високочастотних звукових сигналів.
- Гідродинамічна. Настає при перепаді тисків в потоці рідини.

Кожен із способів окремо не дає достатній мірі очищення стоків, тоді як при застосуванні обох способів одночасно приводить до найкращого ефекту. Ще більший ефект виникає при використанні додаткового окислювача (озону, перекису водню або їх спільного застосування) разом з кавітацією.

5. Фотокаталітичне окислення.

Фотокаталітичне окислення полягає в окисленні забруднюючих речовин при дії УФ- випромінювання за участю каталізатора - діоксиду титану. Застосування даного каталізатора має ряд переваг:

- невисокі матеріальні витрати;
- хороша фізико-хімічна стійкість;
- висока каталітична активність.

Застосування діоксиду титану в якості каталізатора дозволяє очистити стоки від більшості забруднюючих речовин фармацевтичного виробництва.

6. Спільна дія O_3 і $H_2 O_2$.

Використання тільки озону в якості окислювача не дає відчутних результатів при очищенні стічних вод підприємств фармацевтики. Деякі речовини стійкі до впливу озону, а для видалення інших необхідні високі концентрації O_3 .

Додавання в реакційне середовище перекису водню помітно підвищує якість очищення стоків завдяки освіті гідроксильних радикалів, які є сильними окислювачами органічних сполук.

Кількісні показники озону і перекису водню підбираються експериментальним шляхом і залежать від складу стоків і їх концентрації.

7. Окислення вологим повітрям.

Метод окислення вологим повітрям добре зарекомендував себе при концентрації забруднюючих органічних речовин до 20% мас. Процес окислення йде при температурі $200^{\circ} - 400^{\circ} C$ і тиску 3 - 30 МПа, тривалістю від 15 хв до 2 годин.

Метод має ряд недоліків, зокрема, освіту летючих органічних кислот, зміна кольоровості стічних вод і збільшення їх токсичності. Тому даний метод застосовують в сукупності з біологічним очищенням [54].

Обираємо метод біологічного очищення, оскільки:

- він дозволяє обробити великий об'єм стічних вод
- не потребує затрат реактивів (особливо враховуючи що приблизний об'єм стічних вод, їх може знадобитись дуже велика кількість, що є затратним, наприклад як у методі обробки реактивом Фентона, або дією озоном та перекисом водню)
- простий у реалізації (не такий специфічний метод, як, наприклад, фотокаталітичне окиснення, кавітації)
- надійний та нейтралізує органічні та неорганічні забруднення, на відміну від, наприклад, простого термічного знезараження.

Схема утилізації за цим методом наступна:

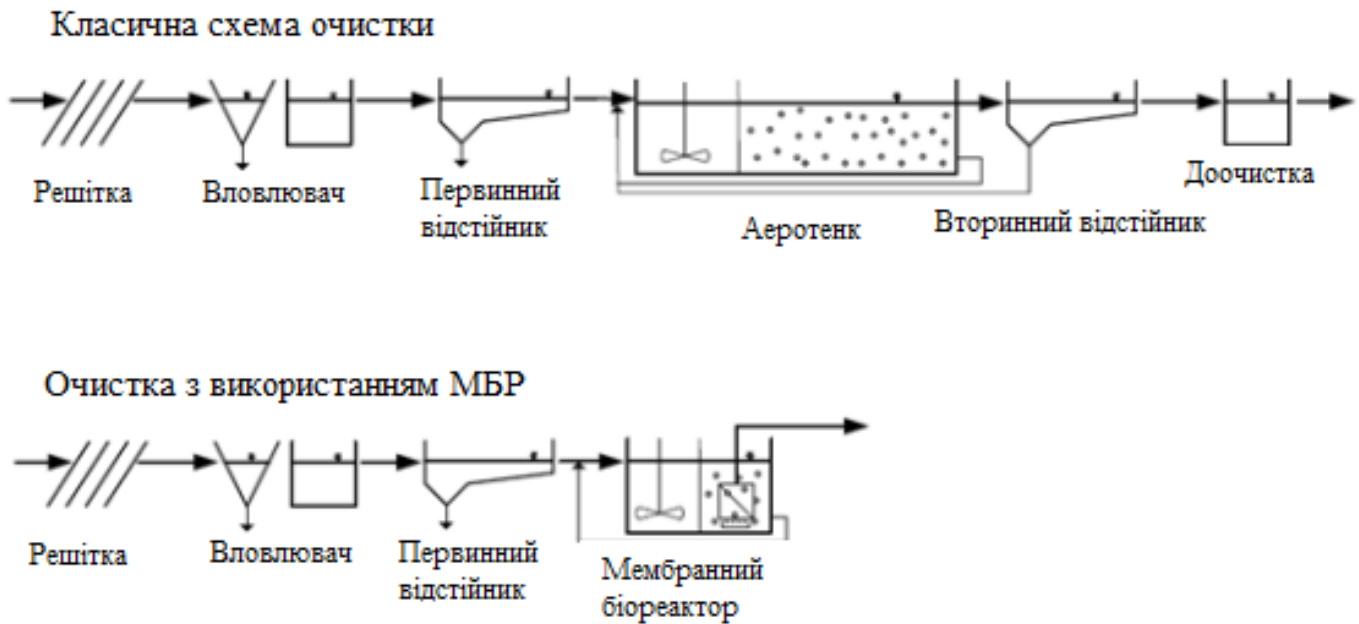


Рис. 8.2. Порівняльні схеми очистки

У очисних комплексах із застосуванням мембранних біореакторів відбуваються ті ж біохімічні процеси, що й у класичних очисних спорудах. Відмінність між очисними з МБР і класичною схемою полягає в тому, що вузол відділення активного мулу у вторинних відстійниках замінюється на фільтрацію через полімерні мембранні елементи, що гарантує відсутність механічних домішок в очищеній воді і не потребує додаткової доочищення.

Застосування МБР для очищення стічних вод в Україні дозволяє підвищити в аеротенці концентрацію активного мулу до 8-14 г/л (у класичній схемі 2-4). При цьому вік активного мулу може досягати 45 - 60 діб, що, у свою чергу, сприяє більш швидкому розкладанню складних органічних забруднень і значно знижує кількість надлишкового мулу. Таким чином, за рахунок збільшення концентрації активного мулу очисні споруди із застосуванням МБР вимагають у два-три рази менше площі, ніж класичні [55].

В якості прикладу такої очисної установки представлена очисна споруда модульного виконання БМК "БРАВО" з мембранним біологічним реактором (МБР) повної заводської готовності.

Споруди призначені для очищення стічних вод, до яких пред'являються особливі вимоги до якості, як за хімічними, так і за бактеріологічними показниками, при скиданні в докiлля або мiську каналiзацiю.

Економiчно доцiльним є застосування споруд БМК «БРАВО» для очищення стiчних вод iнфекцiйних вiддiлень лiкарень, диспансерiв, iнших медичних установ, стiчних вод, якi мають пiдвищений рiвень забрудненостi по вiдношенню до середньостатистичних побутових. У спорудженнях Блочно Модульний Комплекс «БРАВО» використовується мембранний модуль Sterapore SUR234L виробництва компанії Mitsubishi Rayon (Японiя) з розміром пори 0,4 мкм [56].



Рис. 8.3. МБР контейнерного виконання

8.2.2. Система знешкодження та утилізації газоповітряних відходів

Розглянемо метод із застосуванням сітчастих фільтрів. Фільтр складається з циліндричного корпусу з кришкою і днищем, усередині вміщено фільтрувальний елемент, виготовлений із металевих сіток трикотажного плетіння з дроту діаметром 0,28 мм із нержавіючої сталі. Повітря, проходячи через фільтр, звільнюється від крапель культуральної рідини з мікроорганізмами. Для підвищення ефективності очищення на ряді заводів функціонує схема, що складається з циклону і сітчастого фільтра. Ефективність цієї системи становить 99,97 % [57].

Обираємо метод із застосуванням циклону та сітчастого фільтра, оскільки він характеризується найвищою ефективністю, не потребує затрат реактивів та енергетичних затрат.

Прикладом обладнання є Циклон Ц-600 від Vent Alliance, з підходящою пропускною здатністю. Конструкція циклону є збірно-зварною конструкцією, яка має циліндричну форму зі звуженням в нижній частині. Складається циклон з корпусу конічної та корпусу циліндричної форми. Між собою вони з'єднуються фланцями. Також корпус має вхідний та вихідний патрубки, приєднувальні фланці.

Циклон Ц-600 має накопичувальний бункер, в якому і збирається пил, який циклон уловлює з повітря. Обсяг та розміри бункера визначаються самим замовником – виходячи з обсягів роботи, а також необхідної періодичності очищення. Очищати бункер потрібно регулярно, не допускаючи накопичення великої кількості пилу. У цьому випадку циклон може забитися, що негативно позначиться на продуктивності роботи пристрою [58].

8.2.3. Система знешкодження та утилізації твердих відходів

Відходи, які утворюються на підприємстві, піддаються утилізації згідно з чинними нормативними актами. Кожен вид відходів ідентифікується відповідно до ДК 005, і для кожного складається паспорт відповідно до вимог чинних нормативних документів. Норми та види тари для тимчасового зберігання відходів на території

підприємства регламентовані в чинних нормативних документах, що затверджені відповідно до законодавчих актів.

Підприємство-виробник самостійно або залучаючи спеціалізовані організації здійснює вивіз промислових відходів на спеціалізовані полігони (або ділянки для захоронення). [59].

Інактивація біомаси здійснюється шляхом її промивання і подальшого нагрівання при 45 °С [60,61].

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Локвуд Л.Б. Органические кислоты /Пер.с.англ.-Л.;Мир,2005.-157 с.
2. Кузьміна Н.А. Основи біотехнології: навч. Посіб. /Н.А.Кузьміна.- Омск:ОГПУ,2001.-256 с.
3. Штами гриба *Aspergillus niger* ВКПМ F-790 – продуцент глюконової и лимонной кислот: веб-сайт. URL: <https://patents.google.com/patent/RU2183218C2/ru>
4. Сарафанова Л.А. (сост.) Пищевые добавки : Энциклопедия .-СПб.: ИД Профессия, 2012,776 с.
5. D-Глюконова кислота [Електронний ресурс] Режим доступу https://www.genome.jp/dbget-bin/www_bget?cpd:C00257
6. . Польшалина Г.В., Чередниченко В.С., Римарева Л.В. Определение активности ферментов. Справочник. -- М.: ДеЛи принт, 2003. -- 375с
7. Рокусов Т.М. Лимонная и глюконовая кислоты :Пром. биотехнология., 2005, 298с.
8. SumitraRamachandran , PierreFontanille , Ashok Pandey and Christian Larroche. Gluconic Acid: Properties, Applications and Microbial Production // Food Technol. Biotechnol – 2006. – Vol. 44(2). – p 185 – 195. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63662-1.00026-9>
9. Павлова В. А., Титаренко Л. Д., Малигіна В. Д. Ідентифікація та фальсифікація продовольчих товарів: Навчальний посібник. - Київ: Центр навчальної літератури, 2006. - 192 с.
10. Douglas Harper (2001—2010). Mushroom: Online Etymology Dictionary (англійською). Архів оригіналу за 21 квітня 2013. Процитовано 16 вересня 2010.

11. Nilesh K.P., Shital K.S., Prajakta D.S. et al. Gluconic acid production from golden syrup by *Aspergillus niger* strain using semiautomatic stirred-tank fermenter // J. Microb. Biochem. Technol. - 2012. - V. 4, N 4. - P. 92-95.
12. Гудзь С.П. Мікробіологія: підручник: [для студ.вищ.навч.закл.]/ С.П. Гудзь, С.О.Гнатуш, І.С.Білінська.--Львів: Видавничий центр ЛНУ імені Івана Франка, 2009. 360 с. ISBN 978-966-613-697-1.
13. Герасименко В.Г., Герасименко М.О., Цвіліховський М.І. та ін. Біотехнологія. Підручник; Під общ. ред. Герасименко В.Г. К.: Фірма «ІНКОС», 2006. 647 с.
14. Аспергилл нигер. [електронний ресурс].- <https://www.jardineriaon.com/ru/аспергиллез-нигер.html>
15. *Aspergillus niger* (Filamentous fungi) [Електронний ресурс] режим доступу: <http://thunderhouse4-yuri.blogspot.com/2010/06/aspergillus-niger.html>
16. Пат. № 255822С2 РФ. ШТАММ *Aspergillus niger* - ПРОДУЦЕНТ ЛИМОННОЙ КИСЛОТЫ. Татьяна Владимировна Выборнова Наталья Юрьевна Шарова – Опубл. 2015-07-27
17. Nilesh K.P., Shital K.S., Prajakta D.S. et al. Gluconic acid production from golden syrup by *Aspergillus niger* strain using semiautomatic stirred-tank fermenter // J. Microb. Biochem. Technol. - 2012. - V. 4, N 4. - P. 92-95.
18. А.І. Лістратов, О.Д. Остроумова, М.В. Клепікова та ін. Лікарсько-індукована гіпокальціємія. –Медична порада. -2021. -14: 164-175. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2021-14-164-175>
19. Банковська Н.В. Гігієнічна оцінка стану фактичного харчування дорослого населення України та наукове обґрунтування шляхів його оптимізації. Автореферат дисертації на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук. Національний медичний університет імені О.О. Богомольця МОЗ України. -2008. – 26 с.

20. Вікіпедія. Чисельність населення України згідно 01.02.2022. [Електронний ресурс]. Режим доступу: https://uk.wikipedia.org/wiki/Чисельність_населення_України
21. Tabletki.ua. Кальція глюконат-Дарниця таблетки по 500 мг №10. [Електронний ресурс]. Режим доступу: https://tabletki.ua/Кальція-глюконат-дарниця/3316/#Спосіб_применения_и_дозы
22. Державний реєстр лікарських засобів України. Кальцію глюконат. Міністерство Охорони Здоров'я України. Фармацевтичне управління. Державний експертний центр Міністерства охорони здоров'я України. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <http://www.drlz.com.ua/ibp/ddsite.nsf/all/shlist?opendocument&query=%EA%E0%EB%FC%F6%B3%FE%20%E3%EB%FE%EA%EE%ED%E0%F2>
23. SumitraRamachandran , PierreFontanille , Ashok Pandey and Christian Larroche. Gluconic Acid: Properties, Applications and Microbial Production // Food Technol. Biotechnol – 2006. – Vol. 44(2). – p 185 – 195. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63662-1.00026-9>
24. Васильченко О.А., П'янкова О.О. біотехнологічні аспекти отримання лимонної кислоти. Національний лісотехнічний університет України, збірник науково-технічних праць. -2012. –с.: 100-110.
25. Hongsen Zhang, Jian Zhang, Jie Bao High titer gluconic acid fermentation by *Aspergillus niger* from dry dilute acid pretreated corn stover without detoxification // Bioresource technology. – 2016. - № 203. – p. 211 – 219.
26. Ollital Technology. Perfusion Agitator Tanque Bioreactor 30l 350l 3000l 10000L. . [Електронний ресурс]. Режим доступу: https://www.ollital.com/perfusion-agitator-tanque-bioreactor-30l-350l-3000l-10000l_p924.html
27. Данилов П.І., Самойленко С.І. Апарати біотехнологічної промисловості: Підручник – Харків: НТУ «ХПІ», 2008. – 271 с.

28. Вентилятор круглий AirRoxy aRid 120 ВВ білий 01-045. [Електронний ресурс].
Режим доступу: <https://prom.ua/ua/p1581229745-vytyazhnoj-kruglyj-ventilyator.html>
29. Фільтр грубої очистки повітря. [Електронний ресурс]. Режим доступу:
<http://luftov.com.ua/vozdushnye-filtry-dlya-ventilyatsii/>
30. Компресор. [Електронний ресурс]. Режим доступу:
<https://dalgakiran.ua/uk/products/kompresory-seriyi-dvk-60-430/>
31. Теплообмінник-охолоджувач. [Електронний ресурс]. Режим доступу:
<https://dalgakiran.ua/uk/products/promyslovi-osushuvachi-povitrya-hankison-refryzheratornogo-typu/>
32. Ресивер. [Електронний ресурс]. Режим доступу: https://prom.ua/p1318727074-vozduhosbornik-obem-mkub.html?utm_source=google_product&utm_medium=cpc&utm_content=pla&utm_campaign=KT_cpc_1&gclid=CjwKCAjw7oeqBhBwEiwALyHLM_-RsbMRiOLResw-Q_68J0B1Og2GFjlayDXDyukhYVpifgDZ75FoXRoCD6kQAvD_BwE
33. Теплообмінник-нагрівач. [Електронний ресурс]. Режим доступу:
<https://mpptk.com.ua/product/kalorifer-ksk/>
34. Інокулятор об'ємом 10 л. . [Електронний ресурс]. Режим доступу:
<https://www.sartorius.com/download/9612/broch-biostat-cplus-sbi1505-e-data.pdf>
35. Дозатор води. . [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://spilna-meta.com.ua/ua/p1626531085-dozator-zhidkoste-j-medikator.html>
36. Інокулятор об'ємом 100 л. [Електронний ресурс]. Режим доступу:
<https://www.sartorius.com/download/10102/broch-biostat-d-dcu-sbi1512-e-data.pdf>
37. Реактор об'ємом 53 л для приготування Композиції А. [Електронний ресурс].
Режим доступу:
<https://www.valuenlab.com/product/30l50l-single-jacketed-glass-reactor>

38. Перистальтичний насос від реактора до інокулятора об'ємом 100 л. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://sealing.com.ua/ua/pumps/peristaltic-pumps/peristaltichniy-nasos-opl100-100-00-80-260v-pharmed/>
39. Ваговий дозатор. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://abctech.com.ua/ua/p1435795602-vesovoj-dozator-dlya.html>
40. Дозатор води. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://dosingtech.com.ua/uk/product/nasos-dozyuchij-seko-ms1c165c41c4000-500-l-god-3-bar-pvdf-fpm/>
41. Інокулятор об'ємом 1000 л. [Електронний ресурс]. Режим доступу: https://www.alibaba.com/product-detail/Industrial-batch-fermentation-bioreactor-100l-300l_1600465021224.html?spm=a2700.galleryofferlist.normal_offer.d_title.1e7311b1k1kKR7
42. Реактор об'ємом 530 л для приготування Композиції А [Електронний ресурс]. Режим доступу: https://www.alibaba.com/product-detail/КМС-High-Pressure-600L-Industrial-Chemical_1600961146711.html?spm=a2700.galleryofferlist.p_offer.d_title.5cfd4559HSSvIR&s=p
43. Перистальтичний насос від реактора до інокулятора об'ємом 1000 л. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://macxa.vn/userdata2/8333/wp-content/uploads/2022/03/albin-pumptvpe.pdf>
44. Ваговий дозатор. [Електронний ресурс]. Режим доступу: https://agrovektor.com/physical_product/227618-dozator-md-50.html
45. Дозатор води. [Електронний ресурс]. Режим доступу: https://agro-teh.com.ua/p370228267-dozator-vody-zhidkostej.html?source=merchant_center&gclid=CjwKCAjw7oeqBhBwEiwALyHL

M8KL9g6mPLGIuIoeFefpPFE1GOausINT4I6FjSQ174XjjD02K0Zd-
hoCULMQAvD_BwE

46. Реактор-змішувач об'ємом 5,6 м³ . [Електронний ресурс]. Режим доступу: https://www.alibaba.com/product-detail/Chemical-Reactor-Mixing-Factory-Supplied-Stainless_60481946411.html?spm=a2700.galleryofferlist.p_offer.d_image.1be7455bpaOxv1&s=p
47. УБС-10. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <http://www.sdlcentrifuge.com/9-continuous-sterilization-system/192767/>
48. Красінько В.О. Методи контролю біотехнологічних, фармацевтичних і харчових виробництв [Електронний ресурс]: конспект лекцій для здобув. освіт. ступ. «бакалавр» спец. 162 «Біотехнології та біоінженерія» освіт.-проф. програми «Біотехнологія» ден. і заоч. форм навч. / В.О. Красінько. – К.: НУХТ, 2019. – 252 с.
49. *Aspergillus niger* (Filamentous fungi) [Електронний ресурс] режим доступу: <http://thunderhouse4-yuri.blogspot.com/2010/06/aspergillus-niger.html>
50. Amit Sharma, V. Vivekanand, Rajesh P. Singh Solid-state fermentation for gluconic acid production from sugarcane molasses by *Aspergillus niger* ARNU-4 employing tea waste as the novel solid support // *Bioresource Technology*. – 2008. – № 99. – p. 3444 – 3450.
51. Lang Q., Yin L., Shi J., Li L. Co-immobilization of glucoamylase and glucose oxidase for electrochemical sequential enzyme electrode for starch biosensor and biofuel cell // *Biosens Bioelectron*. – 2014. – Vol. 51. – P. 158-163.
52. Crosby, N. T. (1968). Determination of ammonia by the Nessler method in waters containing hydrazine. *The Analyst*, 93(1107), 406–. doi:10.1039/an9689300406
53. Програма переддипломної практики для здобувачів освітнього ступня «бакалавр» спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія» освітньо-

- професійної програми «Біотехнології: фармацевтична, промислова, харчова, природоохоронна» денної форми навчання [Електронний ресурс]/уклад.: В.О. Красінько, Ю.М. Резніченко, - К.: НУХТ, -2022. – 22с.
54. Энергетика. Екологія. Людина. Зб. наукових праць ІЕЕ, КПІ імені Ігоря Сікорського – Київ: ІЕЕ, 2021. – 192 с.
55. Utech 4 18. Союз технологій для води. Очищення стічних вод в Україні. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://utech418.com/ochistka-stochnyih-vod/>
56. Науково-інженерний центр «Потенціал-4». МБР контейнерного виконання. [Електронний ресурс]. Режим доступу: https://potential4.com.ua/ru/oborudovanie/mbr_kontejnernogo_ispolnenija.html
57. Ракс М. Культивування *Pseudomonas fluorescens* для одержання Планризу/ НУХТ. -К. -2021. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://dspace.nuft.edu.ua/jspui/bitstream/123456789/36479/1/Raks%20Myroslav.pdf>
58. Vent Alliance. Циклон-600. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://venta.com.ua/pr8039-ru/ciklon-c-600/>
59. Лаба І.Ю. Розроблення системи управління безпечністю виробництва томатів маринованих для оператора ринку ТОВ «Віджи Продакшн/НУХТ. -К. -2022. [Електронний ресурс]. Режим доступу: https://dspace.nuft.edu.ua/jspui/bitstream/123456789/38266/1/181_Laba%20Iryna%20Yuriiivna_260014.pdf
60. Machado M.D. Soares E.V. Soares H.M.V. Removal of heavy metals using a brewer's yeast strain of *Saccharomyces cerevisiae*: Chemical speciation as a tool in the prediction and improving of treatment efficiency of real electroplating effluents/*Journal of Hazardous Materials*. -2010. -180:347-353.
61. Verma A.K., Raghukumar C., Naik C.G. A novel hybrid technology for remediation of molasses-based raw effluents/*Bioresource Technology*. -2011. -102: 2411-2418.