

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)

(підпис)

Грегірчак Н.М.

(прізвище та ініціали)

«__» _____ 2020 р.

«До захисту допущено»

Завідувач кафедри

(підпис)

Пирог Т.П.

(прізвище та ініціали)

«__» _____ 2020 р.

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА
НА ЗДОБУТТЯ ОСВІТНЬОГО СТУПЕНЯ БАКАЛАВРА

зі спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія»

(код та назва спеціальності)

освітньо-професійної програми «Біотехнологія»

на тему: Культивування *Bacillus pulvifaciens* для одержання
Ендобактерину

Виконав: здобувач IV курсу, групи 2

Піддубняк Катерина Сергіївна

(прізвище, ім'я, по батькові повністю)

(підпис)

Керівник Карлаш Юрій Васильович

(прізвище, ім'я та по батькові повністю)

(підпис)

Консультанти Клименко О.М.

(прізвище та ініціали)

(підпис)

(прізвище та ініціали)

(підпис)

Рецензент Стойко В.І.

(прізвище та ініціали)

(підпис)

Засвідчую, що в цій кваліфікаційній
роботі немає запозичень із праць
інших авторів без відповідних
посилань.

Здобувач _____
(підпис)

Київ – 2020 р.

НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ

Інститут (факультет) біотехнології та екологічного контролю
Кафедра біотехнології і мікробіології
Освітній ступінь бакалавр
Спеціальність 162 «Біотехнології та біоінженерія»
(код та назва спеціальності)
Освітньо-професійна програма «Біотехнологія»
(шифр і назва)

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри біотехнології і мікробіології

Пирог Т.П.

«17» березня 2020 року

З А В Д А Н Н Я

НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ ЗДОБУВАЧА

Піддубняк Катерини Сергіївни

(прізвище, ім'я, по батькові)

1. Тема роботи Культивування *Bacillus pulvifaciens* для одержання Ендобактерину
керівник роботи Карлаш Юрій Васильович доцент, к.т.н.

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

затверджені наказом вищого навчального закладу від «16» березня 2020 року № 227-кв

2. Строк подання здобувачем роботи 01 червня 2020 року

3. Вихідні дані до роботи Об'єм ферментера – 6.3 м³, коефіцієнт
заповнення – 0,6, *Bacillus pulvifaciens*.

4. Зміст розрахунково-пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно розробити) Характеристика цільового продукту, обґрунтування вибору та характеристика біологічного агента, техніко-економічне обґрунтування, біосинтез цільового продукту, обґрунтування вибору технологічної схеми, матеріальний баланс і розрахунок обладнання, специфікація обладнання, опис технологічної схеми, контроль виробництва, автоматизація ділянки виробництва.

5. Перелік графічного матеріалу (з точним зазначенням обов'язкових креслень) Апаратурна та технологічна схема «Культивування *Bacillus pulvifaciens* для одержання Ендобактерину», схема автоматизованої ділянки виробництва.

6. Консультанти розділів роботи

Розділ	Прізвище, ініціали та посада Консультанта	Підпис, дата	
		завдання видав	завдання прийняв
10	Клименко Олег Миколайович доцент, к.т.н., кафедра автоматизації та комп'ютерних технологій систем управління	23.04.2020	31.05.2020

7. Дата видачі завдання «17» березня 2020 року

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№ з/п	Назва етапів кваліфікаційної роботи	Строк виконання етапів роботи	Примітка
1	РОЗДІЛ 1. Характеристика цільового продукту	20.03.2020- 25.03.2020	
2	РОЗДІЛ 2. Обґрунтування вибору та характеристика біологічного агента	25.03.2020- 01.04.2020	
3	РОЗДІЛ 3. Техніко-економічне обґрунтування,	01.04.2020- 10.04.2020	
4	РОЗДІЛ 4. Біосинтез цільового продукту,	10.04.2020- 20.04.2020	
5	РОЗДІЛ 5. Обґрунтування вибору технологічної схеми	20.04.2020- 01.05.2020	
6	РОЗДІЛ 6. Матеріальний баланс і розрахунок обладнання	01.05.2020- 05.05.2020	
7	РОЗДІЛ 7. Специфікація обладнання	05.05.2020- 10.05.2020	
8	РОЗДІЛ 8. Опис технологічної схеми,	10.05.2020- 15.05.2020	
9	РОЗДІЛ 9. Контроль виробництва	15.05.2020- 23.05.2020	
10	РОЗДІЛ 10. Автоматизація ділянки виробництва.	23.05.2020- 29.05.2020	
11	Вступ	23.05.2020- 29.05.2020	
12	Реферат	23.05.2020- 29.05.2020	

Здобувач _____
(підпис)

Піддубня К.С.
(прізвище та ініціали)

Керівник роботи _____
(підпис)

Карлаш Ю.В.
(прізвище та ініціали)

РЕФЕРАТ

Представлено кваліфікаційну роботу виробництва у вигляді сипучої субстанції ветеринарного пробіотика Ендобактерин з культивуванням бактеріального штаму *Bacillus pulvifaciens* ВКПМ-В4348 з концентрацією $4 \cdot 10^8$ КУО/мл. Продуктивність продуцента становить ($X_{кр}$): 1,6 г/л біомаси. Час біосинтезу складає – 36 годин. Кількість продукту за цикл – 3,7 кг /цикл. Потужність виробництва становить 350 кг за рік.

Ендобактерин є хорошою альтернативою антибіотикам, це лікувально-профілактичний пробіотик нового покоління. Препарат характеризується широким спектром антагоністичної активності у відношенні патогенних та умовно-патогенних мікроорганізмів (в тому числі і протикандидозною).

Технологічна схема біосинтезу та очищення включає допоміжні роботи (підготовка приміщення і персоналу, а також підготовка та стерилізація поживного середовища для вирощування інокуляту, виробничого біосинтезу, також підготовка захисного середовища) та власне технологічний процес (вирощування посівного матеріалу, виробничий біосинтез, сепарування, ліофілізація, подрібнення та просіювання).

Дипломний проект складається зі вступу, десяти розділів, графічної частини, в якій представлено технологічна схема (2 аркуші формат А1), апаратурна схема (2 аркуші формат А1), схема біосинтезу (формат А2), схема автоматизації (формат А3), списка використаної літератури, додатків. Загальний обсяг роботи — 147 сторінок, 33 таблиці та 11 рисунків.

Ключові слова: пробіотики, ветеринарний пробіотик, Ендобактерин, сепарування, ліофілізація, поживне середовище, *Bacillus pulvifaciens* ВКПМ-В4348 (*Bacillus pulvifaciens* штам 535), очищення, виділення, біомаса, біосинтез, культивування.

ЗМІСТ

РЕФЕРАТ.....	3
ВСТУП.....	9
РОЗДІЛ 1. Характеристика цільового продукту.....	13
РОЗДІЛ 2. Обґрунтування вибору та характеристика біологічного агента.....	16
2.1. Обґрунтування вибору біологічного агента та поживного середовища для його культивування.....	16
2.2. Морфолого-культуральні та фізіолого-біохімічні ознаки біологічного агента.....	23
2.3. Таксономічний статус біологічного агента.....	25
РОЗДІЛ 3. Техніко-економічне обґрунтування.....	27
3.1. Потреба у цільовому продукті.....	31
3.2. Розрахунок потужності виробництва.....	33
3.3. Розрахунок об'єму ферментера та кількості виробничих циклів.....	33
3.4. Розрахунок кількості стадій підготовки посівного матеріалу.....	34
РОЗДІЛ 4. Біосинтез цільового продукту.....	37
4.1. Шляхи катаболізму ростового субстрату у біологічного агента.....	37
4.2. Біотрансформація ростового субстрату у цільовий продукт.....	39
РОЗДІЛ 5. Обґрунтування вибору технологічної схеми.....	49
5.1. Обґрунтування доферментаційних процесів та виробничого біосинтезу.....	49
5.1.1. Обґрунтування способу культивування і типу ферментера.....	49
5.1.2. Обґрунтування стадії підготовки аераційного повітря.....	53
5.1.3. Вибір мийних та дезінфікуючих засобів.....	55
5.1.4. Особливості підготовки та стерилізації поживного середовища.....	61
5.2. Обґрунтування стадій виділення і очищення цільового продукту.....	63
5.2.1. Обґрунтування стадії виділення цільового продукту.....	63
5.2.2. Обґрунтування способу приготування кінцевої форми продукту.....	68
5.3. Обґрунтування допоміжних робіт для стадії виділення та очищення цільового продукту	74

РОЗДІЛ 6. Матеріальний баланс і розрахунок обладнання.	80
РОЗДІЛ 7. Специфікація обладнання	103
РОЗДІЛ 8. Опис технологічної схеми.....	107
РОЗДІЛ 9. Контроль виробництва	122
9.1. Мікробіологічний контроль.....	122
9.2. Показники росту і синтезу цільового продукту.....	124
9.3. Концентрація джерела амінного азоту.....	126
9.4. Концентрація джерела вуглецю.....	127
9.5. Карта постадійного контролю.....	129
РОЗДІЛ 10. Автоматизація ділянки виробництва.....	137

ЛІТЕРАТУРА

ДОДАТКИ

ВСТУП

На сучасному етапі, а також на багато десятиріч вперед біотехнологія визначає науково-технічний прогрес і рівень життя людей. Це не тільки наука, але і сфера діяльності людини. Використовуючи різні біологічні процеси, що протікають в живих організмах і системах, біотехнологія переносить їх на виробництво для отримання вкрай необхідних для людини лікарських препаратів, та відтворення тих біологічних ефектів, які не створені природою [1].

Сьогодні біотехнологія є однією з найбільш перспективних і швидко прогресуючих галузей науково-технічної, промислової та комерційної діяльності майже в усіх розвинених країнах світу. Сучасний бізнес, пов'язаний з біотехнологіями та характеризується підвищеною інвестиційною активністю: створюються транснаціональні біотехнологічні компанії, стрімко зростає ринок продукції харчового та медичного, сільськогосподарського, енергетичного і промислового призначення.

Створення нових та доступних якісних лікарських препаратів, харчових продуктів, є одним із найбільш актуальних питань, вирішення якого можливе лише із використанням методів біотехнології. У медицині методи та біотехнологічні прийоми грають головну роль при створенні нових лікарських препаратів, біологічно активних речовин, призначених для ранньої діагностики, лікування різноманітних захворювань [1].

Біологічні бактерійні препарати, широко використовувані на практиці, особливо у ветеринарії для терапії різних станів, в тому числі дизбіотичних та профілактики. Препарати, що викликають позитивний вплив на нормальну мікрофлору, прийнято розділяють на 3 групи: синбіотики, пробіотики та пребіотики [2].

					НУХТ БТЕК 04.02.28 КР ПЗ			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Піддубняк К.С.			ВСТУП	Літ.	Арк.	Акрушів
Керівник		Карлаш Ю.В.					5	4
Консультант						Кафедра БТМ		
Н. Контр.								
Затверд.		Пирог Т.П.						

Практичним втіленням цієї концепції стало застосування ацидофільних лактобацил з терапевтичною метою, започатковане у США у 20-і роки ХХ ст. Вітчизняні дослідники почали вивчати ці питання у 50-х роках минулого століття. Найбільший інтерес до пробіотиків з'явився 10–15 років тому, тоді коли широке використання антибіотиків спричинило порушення мікробіоценозів тварин та людини [3].

У науковому та повсякденному житті значного поширення набули поняття «пробіотики», «пребіотичні продукти», «пребіотики», «еубіотики» [3].

Термін «пробіотик» був вжитий Р. Паркером у 70-х роках минулого століття для позначення живих мікроорганізмів, які вводилися в корми тварин для стимуляції росту та набуття стійкості до стресів. Пізніше, в 1989 р. в роботах Фуллера це поняття стало об'єднувати живі мікроорганізми, які надходять до шлунково-кишкового тракту і покращують якість життя хазяїна у результаті нормалізації його мікробної системи [4,5].

Ендобактерин – це лікувально-профілактичний пробіотик нового покоління. Препарат характеризується широким спектром антагоністичної активності у відношенні патогенних та умовно-патогенних мікроорганізмів (в тому числі і протикандидозною).

«Ендобактерин» застосовують: для профілактики та лікування гнійно-запальних процесів різної локалізації у тварин, а саме : ендометритів, маститів, набрякової хвороби та діареї [6].

Метою даної роботи є проектування ділянки виробництва пробіотику Ендобактерин, а саме - розрахунок техніко-економічного обґрунтування, матеріального балансу виробництва пробіотику. Розробка апаратурної схеми, спеціального технологічного процесу, власне виробничого біосинтезу та післяферментаційних стадій для виділення і очищення. Підбір спеціального технологічного обладнання для таких процесів, як сепарація, ліофілізація, подрібнення та фасування. Підбір методів контролю та розробка карти постадійного контролю. Все це в подальшому будуть використовуватись при виготовленні цього препарату.

Актуальність. На сьогоднішній день проблема розробки пробіотиків є надзвичайно актуальною темою в медицині та у ветеринарії, що зумовлено підвищенням частоти порушень мікрофлори організму хазяїна, різних стресових ситуацій, шкідливою дією різних антибіотиків, негативного впливу екологічної ситуації, дії важких металів. Пробіотики мають позитивний вплив на організм а також інгібуючи впливають на патогенну мікрофлору, і тому зараз у всьому світі починають відмовлятися від антибіотиків на користь пробіотиків [2, 4].

Різні іноземні та вітчизняні фірми випускають пробіотики у вигляді сухих препаратів ліофільно висушених мікроорганізмів, в технічній формі з живильним середовищем або у чистому вигляді. В якості наповнювача для перших використовують сахарозу, сухе молоко, а для технічної форми – рибну, кукурудзяну, або іншу муку. Останні більш зручні при груповому призначення тваринам з кормом.

Багатокомпонентний склад (амінокислоти, ферменти, вітаміни, та інші БАР), різнобічну фармакологічну дію дозволяють застосовувати пробіотики з високим ефектом для профілактики і лікування шлунково-кишкових хвороб та дисбактеріозів, порушень обміну речовин (гі-повітамінози, анемії та ін.) регуляції після стресових станів, особливо в період технологічно обов'язкових заходів, корегування антимікробної терапії, попередження рецидивів хвороб, підвищення продуктивності та стимуляції росту тварин [4].

Новизна. Препарат Ендобактерин, створений на основі штаму 535 *Bacillus pulvifaciens* з концентрацією $4 \cdot 10^8$ КУО/мл, показаний для профілактики і лікування бактеріальних і грибкових інфекцій у свиней, великої рогатої худоби, овець, кіз, хутрових звірів, домашніх тварин і птахів, а також маститу у корів. Відзначено, що після курсу профілактики або лікування Ендобактерином різко зростає ефективність дії антибіотиків. При експериментальному вивченні і випробуваннях протипоказань до застосування не виявлено [7].

Продуктивність продуцента становить ($X_{кр}$): 1,6 г/л біомаси. Час біосинтезу складає – 36 годин. Кількість продукту за цикл – 3,7 кг /цикл. Потужність

виробництва становить 350 кг за рік. Як ростовий субстрат використовується підсирна сироватка.

РОЗДІЛ 1. Характеристика цільового продукту

Ендобактерин – це лікувально-профілактичний ветеринарний пробіотик нового покоління на основі штаму *Bacillus pulvifaciens* ВКПМ-В4348 (*Bacillus pulvifaciens* штам 535). Випускається в герметично закритій тарі із зазначенням кількості доз (ваги) і кількості спор бактерій *Bacillus pulvifaciens* ВКПМ-В4348 в дозі (в 1 г. препарату). Являє собою мікробну масу аеробних спороутворюючих бактерій *B. pulvifaciens* ВКПМ-В4348 з титром $1 \cdot 10^9$ в 1 г препарату [7].

Препарат Ендобактерин - створений на основі штаму 535 *Bacillus pulvifaciens*, показаний для профілактики та лікування бактеріальних і грибкових інфекцій у свиней, великої рогатої худоби, овець, кіз, хутрових звірів, домашніх тварин і птахів [6], а також маститу у корів. Ще раніше на основі цього виду бацил був запатентований препарат - Ветбактерин, який рекомендувався для профілактики та лікування пневмоній, набрякової хвороби та маститів у тварин, але на сьогодні не знайшов широкого застосування через низьку ефективність [7].

Механізм дії

В організмі тварин та птахів бактерії виділяють антибактеріальну речовину білкової природи, переважно зростання патогенних і умовно патогенних бактерій і грибків: стафілакоків, стрептококів, ешерихій, протей, псевдомонад, клебсієл, сальмонел, шигел, грибків кандіда та актиноміцетов. За своїми властивостями препарат не поступається, а часто є більш ефективним, а ніж сучасні антибіотики. Бактерії штаму продукують протеолітичні ферменти, які сприяють поліпшенню перетравності протеїну в середньому на 4,9%, жирів на 6,0%, та клітковини на 10,7%. При цьому відзначається збільшення засвоєння мінеральних речовин на 7,3% і азоту на 9,3%. Ендобактерин виділяє імуномодулятор, який надає протиалергічну дію.

					НУХТ БТЕК 04.02.28 КР ПЗ			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.	Піддубняк К.С.				РОЗДІЛ 1. Характеристика цільового продукту	Літ.	Арк.	Акрушів
Керівник	Карлаш Ю.В.						9	5
Консультант						Кафедра БТМ		
Н. Контр.								
Затверд.	Пирог Т.П.							

При випробуванні препарату на тваринах продемонстрували, що в 10 денному віці середній приріст у дослідній групі був на 11,5%, а в 20-ти денному віці на 10,2% більше, ніж у контрольній групі. Відхід тварин за 20 днів вирощування склав - 6,36% у дослідній групі і 7,32% у контрольній групі. Даний препарат рекомендований для лікування бактеріальних інфекцій різної етіології домашніх тварин. Ендобактерин необхідно включати в комплекс заходів профілактики при розладах шлунково-кишкового тракту, чумки та ентероколітів. Препарат добре засвоюється і виводиться з організму через 1-3 доби, не викликаючи токсичних, алергічних, тератогенні та інших негативних реакцій навіть при тисячократному передозуванні[7].

Спосіб застосування та дозування.

Ендобактерин рекомендується використовувати для профілактики і лікування бактеріальних та грибкових інфекцій у свиней, великої рогатої худоби, овець, кіз, хутрових звірів, домашніх тварин, птахів (курей, гусей, качок, співочих та ін.):

а) для профілактики шлунково-кишкових захворювань, дисбактеріозу, пневмонії поросяткам, телятам, ягнятам, козеняткам та молодняку інших тварин і птахів препарат призначають через рот з кормом, молоком або водою в дозі по 0,05-0,1 г на 1 кг живої ваги 1 раз в добу з першого дня життя протягом 20-60 днів. Ендобактерин рекомендується вносити в корм або воду відразу для всієї групи тварин і птахів. Через 2-3 тижні курс профілактики може бути повторений.

б) для профілактики шлунково-кишкових захворювань, дисбактеріозу, пневмоній, ентеритів, сальмонельозу, гнійно-запальних ускладнень, колібактеріозу, та кандидозів у собак: по 1 таблетці в день протягом 7 днів, потім по 2 таблетки на тиждень протягом 4-х днів; для лікування цих захворювань - по 1 таблетці 2 рази на день протягом 15 днів.

в) для отримання здорового приплоду Ендобактерин з кормом або водою дають свиноматкам, коровам, нетелям, вівцематкам, козеняткам і іншим видам тварин щодня 1 раз на добу в дозі по 0,1 г на 1 кг живої ваги протягом 2-4 тижнів до опоросу, отелення, окоту і т.д .;

г) для профілактики гнійнозапальних ускладнень при кастрації, травмах, після хірургічних операцій Ендобактерин призначають через рот в дозі по 0,1 на 1 кг живої ваги 1-2 рази на добу протягом 5-7 днів. Місцеве застосування препарату переваг не має.

д) для лікування ентеритів, сальмонельоз, колібактеріоз, дисбактеріозу, кандидозів впоросят, курчат, а також інших видів тварин та птахів - Ендобактерин призначають з кормом, водою, молоком в дозі по 0,1-0,2 г на 1 кг живої ваги 2 -3 рази на добу протягом 5-15 днів;

є) з метою лікування набрякової хвороби, ендометритів, пневмонії та маститів, гнійних процесів, остеомеліта і ін. Ендобактерин призначають свиням, великій і дрібній рогатій худобі, іншим тваринам і птахам через рот з кормом або водою в дозі 0,1-0,2 г на 1 кг живої ваги 2-3 рази на добу протягом 5-20 днів;

ж) для лікування актиномікозу великої рогатої худоби препарат призначають в корм або воду в дозі по 0,1 г на 1 кг живої ваги 1 раз на добу протягом 20-60 днів;

з) для поліпшення засвоюваності корму і збільшення приросту тварин Ендобактерин може застосовуватися в дозі 0,02-0,04 г на 1 кг живої ваги 1 раз з добу протягом усього періоду вирощування і відгодівлі тварин і птахів[7].

Препарат характеризується широким спектром антагоністичної активності по відношенні патогенних та умовно-патогенних мікроорганізмів (в тому числі протикандидозною).

З лікувально-профілактичною і профілактичною метою препарат застосовують у дозі 0,3 кг на 1 т корму або на 2 т води[7].

Протипоказання

При експериментальному вивченні та випробуваннях протипоказань до застосування не виявлено.

Лікарські взаємодії

Однчасне введення антибіотиків - знижує ефективність Ендобактерину.

Примітка.

Відзначено, що після курсу профілактики чи лікування ендобактеріном різко зростає ефективність дії антибіотиків[7].

Форма випуску:

Препарат випускається у флаконах по 30 таблеток та масою 0,25 г. Порошок упакований у спец. мішки по 20 кг, за заявкою споживача можлива більш дрібна розфасовка[6]. Зовнішній вигляд – це сипка однорідна маса від світло-жовтого до світло-коричневого кольору з слабким специфічним запахом, що добре розчиняється у воді[7].

Умови зберігання:

Зберігати при температурі - 12°C до - +20°C. Протягом 36 місяців від моменту випуску.

Бактерії з яких виготовлений препарат Ендобактерин відрізняються високою стійкістю до травних соків і ферментів ШКТ, здатністю швидкого заселення травного тракту, а спорова форма бактерії надає препарату пролонговану лікувальну дію. Без ін'єкційне введення з водою чи кормом ліквідує ризик переносу небезпечних інфекцій. Препарат сумісний з усіма видами вакцин та посилює їх ефективність. Звикання відсутнє, нешкідливий навіть при тисячних передозуваннях[7].

РОЗДІЛ 2. Обґрунтування вибору та характеристика біологічного агента

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

В даний час при відборі та характеристиці виробничих культур мікроорганізмів для отримання пробіотиків враховуються такі показники біологічної характеристики: рівень антагоністичної активності, спектр та здатність до швидкого накопичення біомаси, а також спектр антибіотикорезистентності виробничих штамів і стійкість до виживання [5].

Здатність спороутворюючих бактерій проявляти дію призвела до розробок на їх основі препаратів, віднесених до покоління так званих самоелімінуючих антагоністів. У підсумку на сьогоднішній день в світі створено понад півсотні препаратів, які повністю або частково складені на основі спороутворюючих бактерій.

Препарат Ендобактерин створений на основі штаму *Bacillus pulvifaciens* В-4348, доцільно було б порівняти цей штам з іншими штамми роду *Bacillus*, про те даний штам був виділений спеціально для цього препарату і інших продуцентів немає, тому ми будемо порівнювати пробіотики на основі бацил, для використання у ветеринарії.

Препарат Ендобактерин, застосовується для профілактики і лікування бактеріальних і грибкових інфекцій у свиней, великої рогатої худоби, овець, кіз, хутрових звірів, домашніх тварин і птахів, а також маститу у корів[7] . Ще раніше на основі цього виду бацил був запатентований препарат Ветбактерин, який рекомендувався для профілактики і лікування пневмоній, набрякової хвороби, маститів у тварин, але на сьогодні не знайшов широкого застосування через низьку ефективність.

					НУХТ БТЕК 04.02.28 КР ПЗ		
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата			
Розроб.		Піддубняк К.С.			Літ.	Арк.	Акрушів
Керівник		Карлаш Ю.В.				13	10
Консультант					Кафедра БТМ		
Н. Контр.							
Затверд.		Пирог Т.П.					

На території СНГ на сьогоднішній день існує близько 20 найменувань препаратів на основі представників роду *Bacillus* та інших спороутворюючих мікроорганізмів які використовують для потреб ветеринарії. Деякі з них наведені у табл. 2.1.1 [8].

Таблиця 2.1.1

Пробіотики на основі бацилл, для використання у ветеринарії

Назва готового продукту	Продуцент	Сфера застосування
Ветом 2	<i>B. subtilis</i> , шт. ВКПМВ 7048 і <i>B. licheniformis</i> , шт. ВКПМВ 7038	Лікування кишкових захворювань у птахівництві
Субалін	<i>Bacillus subtilis</i> с плазмідом, що має ген α -2-інтерферону людини	Лікування інфекцій ШКТ у молодняка
Споровіт	<i>Bacillus subtilis</i> 12 В-ДЕП	Використовується для домашніх тварин
Ендобактерин	<i>Bacillus pulvifaciens</i> В-4348	Лікування інфекційних захворювань ШКТ і маститу у корів

Всі вище перераховані пробіотичні препарати володіють вузьким спектром застосування: використовуються для окремих вікових категорій чи видів тварин, а також в основному рекомендуються для використання як профілактики так і лікування хвороб шлунково-кишкового тракту, тому виникає потреба в пошуку пробіотика який володів широким спектром дії при цьому мав високу біологічну дію [9].

Для вибору продуцента пробіотику потрібно порівняти умови культивування, вихід біомаси, а також склад поживного середовища, всі ці дані наведено в табл 2.1.2.

**Порівняння технологічних параметрів отримання пробіотиківна основі
бацилл, для використання у ветеринарії**

Штам	Склад поживного середовищ	Тривалість культивування, год.	Концентрація клітин, КУО/мл у препараті	Посилання на літературу
<i>Bacillus pulvifaciens</i> В-4348 (Ендобактерин)	NaCl – 0,6; NaCO ₂ – 0,6; K ₂ HPO ₄ – 0,6; (NH ₄) ₂ MoO ₄ – 0,06; FeSO ₄ – 0,06; Підсирна– 998мл	36	4*10 ⁸	Среда для культивирования бактерии-симбионта <i>bacillus pulvifaciens</i> или <i>bacillus subtilis</i> – продуцента - пробиотика/ Полянцев,Н.И., РобаеваЛ.В., Подберезный В.В. – Опубл.27.12.1997
<i>B. subtilis</i> 2335/105 (Субалін)	пептон – 10; глюкоза – 20; NaCl – 1; CaCl ₂ - 0,05; MgSO ₄ – 0,25; MnSO ₄ - 0,3; FeSO ₄ - 0,01; Кукурудзяний екстракт – 30;	48	1*10 ⁹	Патент РФ № 2432393.Способ производства пробиотическо препарата на основе спорообразующих <i>Vac. subtilis</i> и <i>Vac. Licheniformis</i> / Иваненко А. А. Опубл. 27.10.2011
<i>Bacillus subtilis</i> 12 В-ДЕП (Споровіт)	триптон - 10; Дріжджовий екстракт – 54 NaCL – 5	48	2*10 ⁸	Патент РФ № 2663720С1.Пробиотик на основе штамма бактерий <i>Bacillus subtilis</i> ВКПМ В-12476 и способ применения для профилактики желудочно-кишечных заболеваний у сельскохозяйственных животных и птиц / Хадиева Г. Ф., Лутфуллин М. Т., Мочалова Н. К. і т.д. – Опубл. 01.08.2017

Як видно з таблиці, що для порівняння ми взяли три види пробіотиків на основі бактерій роду *Bacillus*, серед даних пробіотиків найвищою концентрацією біомаси володіє Субалін, а саме $10 \cdot 10^8$ КУО/мл [10-11]

Субалін – це пробіотик, що володіє антибактеріальними властивостями і продукується штамом *B. subtilis* 2335/105, протягом 48 годин і має концентрацію $1 \cdot 10^9$ КУО/мл, а Ендобактерин має концентрацію $4 \cdot 10^8$ КУО/мл, але тривалість процесу становить 36 год, і містить меншу концентрацію компонентів поживного середовища[11,13].

Таким чином, видно, що *Bacillus pulvifaciens* В-4348 має коротший процес культивування та меншу концентрацію компонентів поживного середовища, що може в подальшому здешевити затрати на виробництво, а також володіє широким спектром дії, що значно полегшує підтримання відсотку виживаності молодняку та профілактики різних захворювань у свійських тварин [12].

Проте така порівняльна характеристика пробіотичних препаратів (див.табл. 2.1.2) є недостатньою, тому на наступному етапі вибору біологічного агенту порівнювали вартість поживних середовищ використовуваними продуцентами даних препаратів (табл.2.1.3).

Вартість компонентів поживного середовища для культивування *Bacillus pulvifaciens* В-4348

Продуцент	Компоненти поживного середовища, г/л	Ціна компонента, грн./кг	Вартість компонента (грн.) на 1л середовища	Джерело інформації
<i>Bacillus pulvifaciens</i> В-4348	NaCl - 0.6	6	0,0036	1
	Na ₂ CO ₃ – 0.6	84	0,05	1
	K ₂ HPO ₄ - 0,6	50	0,03	2
	(NH ₄) ₂ MoO ₄ - 0,06	100	0,006	1
	FeSO ₄ - 0,06	42	0,0025	1
	Підсирна сироватка – 998мл	3	2,99	3
	Вартість 1 л середовища – 3,14 грн			
<i>B. subtilis</i> 2335/105	пептон – 10;	720	7,20	4
	глюкоза – 20;	53	1,06	1
	NaCl – 1;	6	0,006	1
	CaCl ₂ - 0,05;	129	0,0064	1
	MgSO ₄ – 0,25;	20	0,005	1
	MnSO ₄ - 0,3;	25	0,0075	1
	FeSO ₄ - 0,01;	42	0,00042	1
	Кукурудзяний екстракт – 30;	55	1,65	1
Вартість 1 л середовища –9,93 грн				
<i>Bacillus subtilis</i> 12 В-ДЕП	Триптон – 10;	720	(7,2)	1
	Дріжджовий екстракт – 5;	320	1,6	1
	NaCL – 5;	6	0,03	1
	Вартість 1 л середовища – 8,83 грн			

Примітка: * - Ціна наведена станом на березень 2018 р. 1 - <https://prom.ua> ; 2 - <http://tehnchem.com.ua>, 3 -<https://kiev.flagma.ua>, 4 - <https://www.systopt.com.ua>

Дані в таблиці 2.1.3, засвідчують, що середовище для культивування *Bacillus pulvifaciens* В-4348 є дешевшим, ніж інші порівнювані середовища. Для того, щоб остаточно обрати найефективніший біологічний агент розраховали умовну вартість $1 \cdot 10^8$ КУО цільового продукту (табл.2.1.4).

Табл.2.1.4

Умовна вартість цільового продукту при культивуванні *Bacillus pulvifaciens* В-4348

Біологічний агент	Вартість 1л середовища, грн	Концентрація клітин у препараті КУО* 10^8 /л	Умовна вартість, грн/КУО* 10^8	Тривалість культивування, год	Кількість утвореного продукту, КУО* 10^8 /год
<i>Bacillus pulvifaciens</i> В-4348	3,14	4,0	0,78	36	0,17
<i>B. subtilis</i> 2335/105	9,93	10,0	0,99	48	0,21
<i>Bacillus subtilis</i> 12 В-ДЕП	8,83	2,0	4,42	48	0,04

Узагальнивши всі дані, можна зробити висновок, що доцільніше вибрати пробіотик Ендобактерин продуцентом якого є *Bacillus pulvifaciens* В-4348. Зважаючи на те, що *Bacillus pulvifaciens* В-4348 має коротший процес культивування, меншу концентрацію компонентів поживного середовища, проте меншу концентрацію клітин, а також беремо до уваги, що середовище для культивування *Bacillus pulvifaciens* В-4348 є найдешевшим серед інших, які порівнювали, також слід зауважити, що умовна вартість цільового продукту при культивуванні становить 0,78 грн/КУО* 10^8 а концентрація клітин у препараті 4,0 КУО* 10^8 /л.

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

Клітини *B. pulvifaciens* ВКПМ В-4348 – рухомі грампозитивні палички, величина клітин однодобової агарної культури становить (2–4) x (0,6–0,8) мкм. Утворюють спори еліпсоїдної форми розміром (1,1–1,8) мкм, які розміщені субтермінально або центрально, не утворюють капсул (Рис. 2.2.1). При рості на чашках з картопляним агаром утворюють бежеві колонії діаметром (5–8) мм, плескаті, матові, непрозорі, край нерівний непрозорий. Структура зерниста (Рис. 2.2.2)[12].



Рис. 2.2.1. Мікрофотографія *Bacillus pulvifaciens*

На м'ясопептонному агарі (МПА) колонії діаметром (2,0–5,0) мм, плескаті, матові, непрозорі, від світло-бежевого до бежевого кольору, край нерівний, центр незначно вищий. Структура зерниста, середньозерниста [12].

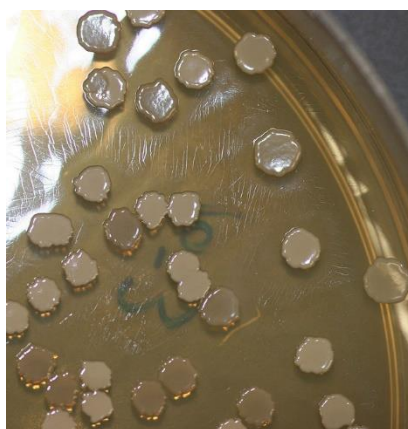


Рис. 2.2.2. Колонії *Bacillus pulvifaciens* на поживному середовищі

На сусло-агарі колонії плескаті, матові, центр слабоблискучий, край нерівний.

Фізіолого-біохімічні ознаки біологічного агента

B. pulvifaciens ВКПМ В-4348 є факультативним анаеробом, каталозопозитивний. Штам розщеплює до кислоти без виділення газу глюкозу, сахарозу, мальтозу, галактозу, лактозу, маніт, ксилозу, рамнозу, лізин, аргінін, орнітин не ферментує. Молоко пептонізує. Лецитиназу не продукує. Виділяє ацетилметилкарбінол та каталазу, крохмаль не гідролізує.

Не утворює сірководень та індол. Реакція Фогес-Проскауера негативна. Відношення до джерел азоту: добре росте на різних органічних і неорганічних азотовмісних сполуках; діазотроф. Оксидазною активністю не володіє. Оптимальна температура росту (35 – 37)°С, оптимум рН 7,5 – 8,3. Прототроф, стійкий до фагів, не патогенний [12].

Штам *B. pulvifaciens* ВКПМ В-4348 чутливий до еритроміцину, ампіциліну, бензилпеніциліну, оксациліну та лінкоміцину, неоміцину, левоміцетину, мономіцину, ристомицину, тетрацикліну, не чутливий до поліміксину [9].

Штам продукує протеолітичні ферменти, які розкладають альбумін, гемоглобін, фібрин та антибіотик широкого спектру дії, до якого чутливі умовно-патогенні мікроорганізми; стафілококи, стрептококи, кишкові палички, протей, сальмонели, дизентерійні палички, клебсіели, і дріжджові грибки. Крім того, антибіотик швидко (протягом декількох годин) повністю руйнується, що виключає формування харчової алергії. Протеолітичні ферменти сприяють засвоєнню кормів.

Нешкідливість. Штам нетоксичний і непатогенний, не викликає загибелі тварин при введенні його білим мишам та щурам породи Вістар в дозі по 10 млрд клітин або при щоденному протягом місяця введенні їм в дозу по 200 млн клітин [8, 12].

Під час гістологічного дослідження токсичних змін у внутрішніх органах не викликає. У дослідах на морських свинках встановлено відсутність алергізуючої дії.

2.3. Таксономічний статус біологічного агента

Рід *Bacillus* за визначником Бергі належить до паличкоподібних бактерій, є представником типу *Firmicutes*. Види *Bacillus* облігатні, або факультативні аероби, грампозитивні бактерії; у деяких видів культур може спостерігатись перетворення на грамнегативні з віком. Багато видів роду демонструють широкий спектр фізіологічних властивостей, які дозволяють їм жити в будь якому природному середовищі. *Bacillus* включає як не патогенні, так і патогенні види. За несприятливих умов, клітини утворюють овальні ендоспори, які можуть залишитися в неактивному стані протягом довгих періодів [14, 12].

Розглянемо таксономічний статус *B. macerans* згідно з IX виданням Керівництва Бергі (фенотипова класифікація) (табл. 2.3.1) та X виданням Керівництва Бергі (філогенетична класифікація) (табл. 2.3.2), [15, 16].

Таблиця 2.3.1

Таксономічне положення бактерії згідно з IX виданням Керівництва Бергі з систематики бактерій

1	2	3
№ п/п	Таксон	Латинська назва
1.	Царство	<i>Procaryotae</i>
2.	Відділ	<i>Firmicutes</i>
3.	Клас	<i>Firmibacteria</i>
4.	Порядок	<i>Bacillales</i>
5.	Родина	<i>Bacillaceae</i>
6.	Рід	<i>Bacillus</i>
7.	Вид	<i>pulvifaciens</i>

Таксономічне положення бактерії згідно з X виданням Керівництва Бергі з систематики бактерій

№ п/п	Таксон	Латинська назва
1.	Відділ	<i>Firmicutes</i>
2.	Клас	<i>Bacili</i>
3.	Порядок	<i>Bacillales</i>
4.	Родина	<i>Bacillaceae</i>
5.	Рід	<i>Bacillus</i>
6.	Вид	<i>pulvifaciens</i>

Розглянувши дані таблиці, можна сказати, що особливого розмежування згідно з IX виданням Керівництва Бергі та X виданням Керівництва Бергі не виявлено.

РОЗДІЛ 3. Техніко-економічне обґрунтування

Розділ 3.1 Потреба у цільовому продукті

Пробіотики - численна група лікарських засобів та біологічно активних добавок, що призначаються для прийому, як самостійно так і у комплексі як компенсуючий агент (наприклад паралельно з курсом антибіотикотерапії). Також застосовуються для лікування захворювань та станів пов'язаних із порушеннями системи шлукво-кишкового тракту, а саме з балансом мікрофлори ШКТ, а також профілактики. Пробіотики на основі бактерій застосовують зазвичай як засіб для відновлення мікрофлори кишечника після прийому антибіотиків при лікуванні відповідних хвороб. А також для лікування специфічних дизбактеріозних станів та колітів [17,18].

Однак дане твердження справедливе лише для пробіотиків, які застосовуються для людей. Тваринні пробіотики - інша справа. Тут вони застосовуються здебільшого як БАД до кормового раціону тварин для забезпечення мінімальної кількості проявлення захворювання тварин та зменшення погोलів`я тварин на фабриках, фермах,. А також для підтримання здоров`я домашніх тварин, хоча і в меншій кількості[19].

Тваринні пробіотичні препарати менш очищені та менш концентровані, що передбачає застосування їх у якості добавок у корма щодо промислових тварин у великих чи малих господарствах(табл 1.1.1)

Оскільки ТЕО буде розраховуватися по кількості тварин, що будуть потребувати профілактики деяких захворювань у певний період, розраховувати на всю Україну буде не зовсім оптимально, оскільки будуть отримуватися дуже великі значення об'ємів культуральної рідини. Тож будемо розраховувати потребу на Київську область.

					НУХТ БТЕК 04.02.28 КР ПЗ			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Піддубняк К.С.			РОЗДІЛ 3. Техніко-економічне обґрунтування	Літ.	Арк.	Акрушів
Керівник		Карлаш Ю.В.					23	10 ₂₇
Консультант						Кафедра БТМ		
Н. Контр.								
Затверд.		Пирог Т.П.						

Це пов'язано з великою кількістю сільськогосподарських тварин.

Для розрахунку потреби необхідно розрахувати продуктивність штаму по сухій біомасі, оскільки в статті дане значення не наведено, то будемо розраховувати теоретичний вихід біомаси за складом поживного середовища концентрації субстрату та джерела азоту.

Основний субстрат - підсирна сироватка.

Джерело азоту – амоній молібденовмісний та сироватковий білок.

Склад середовища:

Натрій хлорид – 0,6;

Натрій вуглекислий – 0,6;

Калій фосфорнокислий двозаміщений – 0,6;

Амоній молібденовокислий – 0,06;

Залізо сірчанокисле закисне – 0,06;

Підсирна сироватка – 998мл.

Вміст вуглецю у поживному середовищі.

Основним субстратом і джерелом карбону у обраному середовищі є лактоза з сироватки. Джерелом карбону у сироватці є білок (1% або 10 г/л та лактоза(4,5% або 45 г на літр)

Розрахунок загальної кількості вуглецю у лактозі:

Хімічна формула у лактози ідентична глюкозі - $C_6H_{12}O_6$, тож відштовхуємося від неї. Відсоток вуглецю у лактозі (6 атомів молекулярною масою 12 кожний):

$$w_1 = \frac{100 \times 72}{180} = 40 \%$$

Розраховуємо масу вуглецю у 45 г/л лактози :

$$G = (40 \times 45) / 100 = 18 \text{ г/л}$$

Розрахунок загальної кількості вуглецю у білку:

Як відомо білок містить 50 % вуглецю та 15 % азоту, отже

Розраховуємо масу вуглецю у 1 г/л білка :

$$G_2 = (50 \times 1) / 100 = 0,5 \text{ г/л}$$

Розрахунок загальної кількості вуглецю у білку:

Загальна маса вуглецю в середовищі на 1 л становитиме: $18+0,5 = 18,5$ г/л

Вміст вуглецю в біомасі

Оскільки половина вуглецю іде на холосте окиснення з 18,5 г вуглецю на конструктивний метаболізм буде доступно лише 9,25 г на літр. Дане число беремо за кількість вуглецю для синтезу біомаси

В біомасі міститься 50 % вуглецю від сухої маси, оскільки заданої концентрації біомаси не надано. Розрахуємо максимальний вихід біомаси за розрахованої кількості вуглецю:

У 1 літрі поживного середовища

$$G1 = 9,25/0,50 = 18,5 \text{ г/л}$$

Вміст азоту в поживному середовищі .

Джерелом азоту є два компоненти середовища: молібденовокислий амоній та білок сироватки.

Розрахунок вмісту азоту у білку

Вміст азоту у білку становить 15 % .

У 1 г/л білку вміст азоту буде

$$G1 = (1*15)/100 = 0,15 \text{ г/л}$$

Розрахунок вмісту азоту у молібденовокислому амонії

Брутто формула нітриту натрію : $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4$, молярна маса 196 г/моль.

Знаходимо відсоток азоту у даній солі. Відсоток азоту в даній солі = 14,3 %

Знаходимо масу азоту у 0,06 г нітриту натрію

$$G1 = 0,06*0,143 = 0,0086 \text{ г/л}$$

Розрахунок загальної кількості азоту

Розраховуємо загальну кількість азоту у середовищі

$$G' = 0,15+0,0086 \text{ г/л} = 0,1586$$

Вміст азоту в біомасі

В біомасі міститься 10 % азоту від сухої маси, оскільки заданої концентрації біомаси не надано. Розрахуємо максимальний вихід біомаси за розрахованої кількості азоту :

У 1 літрі поживного середовища

$$G1_f = 0,1586 * 10 = 1,58 = 1,6 \text{ г/л}$$

Висновок : Компонентів у поживному середовищі вистачить для синтезу цільового продукту та біомаси, відповідно максимальна концентрація буде становити 1,6 г/л.

В Україні досить велика кількість пробіотичних препаратів для тварин широкого спектру застосування, отже для розрахунку кінцевої потреби потрібно врахувати конкуренцію Ендобактерину з іншими найбільш популярними пробіотичними препаратами для тварин. Представляємо 5 таких препаратів у табл. 3.1.1.

Таблиця 3.1.1

Порівняльна таблиця пробіотичних препаратів з використанням молочнокислих бактерій представлених на ринку України .[20-24].

Назва препарату	Вміст КУО на дозу	Форма	Ціна за упаковку та кількість доз, грн; кількість доз на упаковку	Виробник	Література
Ветом 1.1	$1 * 10^9$	Порошок	150 грн 100 г	«НФП» Исследовательский центр Росія	[20]
«Імунобактерин- L»	$1 * 10^8$	Саше	300.00; грн , 30 саше	ТОВ «Біоконтакт» Київ.	[21]
Лактоферон	$2 * 10^9$	Таблетки	20 табл 100 грн	ООО "Веда", Россия.	[22]
Оптілакт	$5 * 10^9$	Саше	157; 10 саше	ТОВ «Фарма Старт»	[23]
Лациум	$1 * 10^9$	Саше	264,00 грн 14 саше	«Winclove Probiotics», Нідерланди.	[24]

Для подальшого розрахунку необхідно навести групи захворювань при яких призначають відповідний препарат, перш за усе це шлунково-кишкові інфекції та хвороби при яких проходять курс антибіотикотерапії (Табл 3.1.2)

Таблиця 3.1.2

Потреба у пробіотику у тваринництві для окремих груп тварин* [25]

Група тварин	Кількість тварин у господарствах Київської області, тис голів	Питома доза (г/кг маси тварини	Дозування препарату, г на 1 тварину	Курс прийому, дні	Загальна кількість біомаси пробіотика, кг
Для профілактики та лікування ШКІ та дисбактеріозів та пневмонії у свиней, корів, кіз, овець					
Корови	62,5	0,1	85	60	319
Вівці	10,3		15	60	10
Кози	20,2		14	60	17
Свині	496,1		30	60	893
Для профілактики ентеритів, сальмонельоз, колибактеріоз, кандидозів у курей та свиней					
Кури	186,737	0,1-0,2	0,2	15	560
Свині	496,1		30	15	223
Для поліпшення засвоюваності корму та збільшення приросту тварин					
Корови	62,5	0,02-0,04	17	450	478
Вівці	10,3		3	210	7
Кози	20,2		2,8	150	9
Свині	496,1		6	180	536
Разом:					3 052

*Примітка: за середню масу тварин приймали такі значення: корова 850 кг, свиня 300 кг, курка 2 кг, вівця 150 кг, коза 140 кг.

Розрахунок потреби у цільовому продукті

За статистикою 2018р було зареєстровано наступну кількість тварин у підприємствах орієнтованих на вирощування тварин у Київській області (взято 4 види найбільш розповсюджених тварин та 1 вид птиці): корови - 62,5 тис. голів, вівці -10,3; кози- 20,2; свині - 496,1 та кури- 186,737[25]. Взято 3 категорії призначення препарату: А) профілактика ШКІ та дисбактеріозів та пневмонії у свиней, корів, кіз, овець, Б) профілактики ентеритів, сальмонельоз, колибактеріоз,

кандидозів у курей та свиней, В) поліпшення засвоюваності корму та збільшення приросту тварин. Оскільки потреба для наведених вище сфер застосування та тварин буде дуже великою розрахунок будемо вести орієнтуючись на певну групу тварин. Так як виготовляти будемо на замовлення для товариства з обмеженою діяльністю агрофірма «Колос», яке займається вівчарством, та для фермерського господарства «Тетяна 2011», яке займається козівництвом. Сфера застосування : профілактика ШКІ та дисбактеріозів.

Всі призначення мають різне дозування та курс лікування. Тож для остаточного підрахунку кількості препарату на рік наводимо таблицю 3.1.3.

Таблиця 3.1.3

Сумарна потреба у «Ендобактерині»* [25]

Група тварин	Кількість тварин у господарствах Київської області, тис голів	Питома доза (г/кг маси тварини	Дозування препарату, г на 1 тварину	Дозування біомаси на 1 тварину (г)	Курс прийому, дні	Загальна кількість біомаси пробіотики, кг
Для профілактики та ШКІ та дисбактеріозів та пневмонії у свиней, корів, кіз, овець						
Вівці	10,3		15	0,2	60	124
Кози	20,2		14	0,186	60	226
Усього						350

*Примітка: Приймаємо, що концентрація біомаси у препаратів становить 200 мг на 15 г препарату або 13 мг/г.

Загальна кількість біомаси для тварин зокрема для овець буде становити:

$$K1_{\text{заг}} = 10300 * 0,2 * 60 = 123600 \text{ г} = 124 \text{ кг біомаси}$$

Загальна кількість біомаси для тварин зокрема для кіз буде становити:

$$K2_{\text{заг}} = 20200 * 0,186 * 60 = 225432 \text{ г} = 226 \text{ кг біомаси}$$

Сумарна кількість біомаси буде:

$$K_{\text{сум}} = 124 + 226 = 350 \text{ кг біомаси на рік для вище зазначених тварин.}$$

3.2 Розрахунок потужності виробництва

Пробіотики для тварин відносять до БАД. Хоча деякі з них можуть використовуватися як для лікування. Досить поширене виробництво продукції «in bulk» для пробіотиків в Україні коли сировина для них постачається із закордону.

Отже, на ринку України представлена велика кількість пробіотиків для тварин як закордонного так вітчизняного виробництва, тому для реалізації продукції необхідно врахувати кількість препаратів представлених на ринку та зменшити вихідну потребу.

Згідно з попередніх розрахунків потужність виробництва становить 350 кг/рік біомаси

Розділ 3.3 Розрахунок кількості виробничих циклів та геометричного об'єму ферментера для одержання біомаси *B. pulvifaciens* ВКІМ В-4348

Для забезпечення потреби у пробіотику Ендобактерин в Україні необхідно виробляти 350 кг біомаси на рік . Продуктивність продуцента становить($X_{кр}$): 1,6 г/л біомаси. Приймаємо вологість сухої біомаси 10 %, відповідно абсолютно сухої її буде $CP_{біом} = 90\%$.

1) Кількість продукту за цикл буде становити:

$$V_{цк} = (V_{гп} \times T_{цф}) / 24 \times T_{рд} = 3,7 \text{ кг /цикл}$$

$T_{цф}$ – цикл роботи ферментера(46 год), що включає час біосинтезу (36 год), та час підготовки ферментера- 10 год, $T_{рд}$ - кількість робочих днів на рік (180 днів), K_1 – коефіцієнт запасу, що враховує ймовірність нестерильних операцій. Підготовка ферментатора включає: миття та огляд-2 год, перевірка на герметичність-2 год, стерилізація – 2 год, охолодження – 1 год, завантаження середовища – 1,5 год, засів- 0,5 год, відвантаження культуральної рідини- 1 год.

3) Об'єм культуральної рідини, у якій можна отримати дану кількість біомаси(кг) за цикл з урахуванням втрат ($E_{св} = 0,15$) буде становити:

$$V_{кр} = K_1 \times V_{цк} \times CP_{пр} / X_{кр} \times (1 - E_{св}) = 1,2 \times 3,7 \times 0,90 / 1,60 \times (1 - 0,15) = 2,93 = 3,0 \text{ м}^3/\text{цикл}$$

4) Кількість циклів ферментації на рік :

$$N_{цк} = V_{гп} / V_{цк} = 350 / 3,7 = 94$$

5) Вихід продукту у кг з 1м³:

$$q_{\text{нат.}} = V_{\text{цк}} / V_{\text{кр}} = 3,7 / 3,0 = 1,3 \text{ кг.}$$

Розділ 3.4 Розрахунок кількості стадій підготовки посівного матеріалу для біосинтезу біомаси штам *B. pulvifaciens* ВКІМ В-4348

За виробничий цикл отримують $V_{\text{кр}} = 3,0 \text{ м}^3$ культуральної рідини. Враховуючи втрати культуральної рідини в результаті краплевиносу через колектор $E_{\text{ф}}$ (10-15 %). приймаємо втрати 10 %

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

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

Можливий геометричний об'єм буде становити:

$$V_{\text{ф}} = V_{\text{роб 1}} / K_{\text{зап}} = 3,3 / 0,6 = 5,5$$

Приймаємо найближчий стандартний об'єм ферментер об'ємом $6,30 \text{ м}^3$

Уточнюємо прийнятий раніше коефіцієнт заповнення:

$$K_{\text{зап}} = 3,3 / 6,30 = 0,52$$

Кількість поживного середовища в ферментері з поправкою на інокулят у 10% ($X_{\text{ф}}$) буде становити:

$$V_{\text{пс1}} = V_{\text{роб 1}} / (1 + X_{\text{ф}}) = 3,3 / (1 + 0,1) = 3 \text{ м}^3$$

Звідси кількість посівного матеріалу становить:

$$V_{\text{пм1}} = V_{\text{роб 1}} - V_{\text{пс1}} = 3,3 - 3 = 0,3 \text{ м}^3$$

Для одержання $0,3 \text{ м}^3$ в посівному апараті вираховуємо втрати у результаті краплевиносу через колектор відпрацьованого повітря. Приймаємо це за 10%

Тоді кількість поживного середовища та посівного матеріалу у посівному апараті становитиме:

$$V_{\text{роб 2}} = V_{\text{пм1}} / (1 - E_{\text{па}}) = 0,3 / (1 - 0,1) = 0,33 \text{ м}^3$$

Кількість поживного середовища з поправкою на інокулят у 10% ($X_{\text{ф}}$) буде становити:

$$V_{\text{пс2}} = V_{\text{роб 2}} / (1 + X_{\text{ПА}}) = 0,33 / (1 + 0,1) = 0,30 \text{ м}^3$$

Звідси кількість посівного матеріалу становить:

$$V_{\text{пм}2} = V_{\text{роб}2} - V_{\text{пс}2} = 0,33 - 0,30 = 0,03 \text{ м}^3 \text{ або } 30 \text{ л.}$$

Кількість інокуляту можна одержати під час культивування у посівному апараті з геометричним об'ємом

$$V_{\text{па}2} = V_{\text{роб}2} / K_3 = 0,33 / 0,6 = 0,55 \text{ м}^3$$

Обираємо ферментер $V_{\text{сф}} = 0,63 \text{ м}^3$, уточнюємо коефіцієнт заповнення

$$K_3 = V_{\text{роб}2} / V_{\text{сф}} = 0,33 / 0,63 = 0,52 = 0,6.$$

Для отримання 30 л посівного матеріалу в інокуляторі враховуємо втрати в результаті крапле виносу через колектор відпрацьованого повітря, які становлять 10-15%.

Тоді кількість поживного середовища та посівного матеріалу перед культивуванням в інокуляторі становитиме:

$$V_{\text{роб}3} = V_{\text{пм}2} / (1 - E_{\text{ін}}) = 30 / 0,9 = 33,3 \text{ л}$$

Кількість посівного матеріалу становить 10% від об'єму поживного середовища. Тоді кількість поживного середовища в інокуляторі буде:

$$V_{\text{пс}3} = V_{\text{роб}3} / (1 + X_{\text{ін}}) = 33,3 / 1,1 = 30,3 \text{ л}$$

Кількість посівного матеріалу для інокулятора становить

$$V_{\text{пм}3} = V_{\text{роб}3} - V_{\text{пс}3} = 33,3 - 30,3 = 3 \text{ л}$$

Кількість інокуляту $V_{\text{роб}3} = 33,3 \text{ л}$ можна одержати в інокуляторі геометричним об'ємом

$$V_{\text{ін}3} = V_{\text{роб}3} / K_3 = 33,3 / 0,6 = 56 \text{ л, або } 0,056 \text{ м}^3.$$

Приймаємо найближчий за об'ємом стандартний ферментер $V_{\text{сф}} = 63 \text{ л}$, уточнюємо коефіцієнт заповнення :

$$K_3 = V_{\text{роб}3} / V_{\text{сф}} = 33,3 / 60 = 0,55 = 0,6$$

Для одержання 3 л посівного матеріалу в малому інокуляторі враховуємо витрати в результаті крапле виносу через колектор відпрацьованого повітря, які становлять від 10 до 15%.

Тоді кількість поживного середовища та посівного матеріалу перед культивуванням в малому інокуляторі становитиме :

$$V_{\text{роб}4} = V_{\text{пм}3} / (1 - E_{\text{ін}}) = 3 / 0,9 = 3,33 \text{ л}$$

Кількість посівного матеріалу для малого інокулятора становить 10% від об'єму поживного середовища в малому інокуляторі.

Тоді кількість ПС в малому інокуляторі буде становити :

$$V_{пс4} = V_{роб4} / (1 + X_{ін}) = 3,33 / 1,1 = 3,02 \text{ л}$$

Кількість посівного матеріалу для інокулятора становить

$$V_{пм4} = V_{роб4} - V_{пс4} = 3,33 - 3,02 = 0,31 \text{ л}$$

Кількість інокуляту $V_{роб4} = 0,31 \text{ л}$ можна одержати в інокуляторі геометричним об'ємом

$$V_{ін4} = V_{роб4} / K_3 = 3,33 / 0,6 = 5,55 \text{ л.}$$

Обираємо інокулятор з геометричним об'ємом $V_{сф} = 6,3 \text{ л}$, уточнюємо коефіцієнт заповнення

$$K_3 = V_{роб4} / V_{сф} = 3,33 / 6 = 0,55 = 0,6$$

Кількість інокуляту для засіву малого інокулятора $V_{пм4} = 0,31 \text{ л}$ можна одержати культивуванням в колбах на качалці з об'ємом колб 750 мл та коефіцієнтом заповнення 0.2

Тоді кількість колб для отримання посівного матеріалу буде становити:

$$N = V_{пм4} / (V_{колб} * K_{зк}) = 310 / (750 * 0.2) = 2 \text{ колби}$$

Отже процес одержання біомаси пробіотичного штаму буде складатися з чотирьох стадій і кінцева виробнича стадія буде проводитися у ферментері об'ємом $6,30 \text{ м}^3$ з коефіцієнтом заповнення 0,6.

РОЗДІЛ 4. Біосинтез цільового продукту

4.1. Шляхи катаболізму ростового субстрату

Основним компонентом поживного середовища, на якому здійснюється біосинтез біомаси *Bacillus pulvifaciens* є підсирна сироватка, до складу якої входить лактоза.

Згідно Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes [26] катаболізм лактози здійснюється з перетворенням лактози на глюкозу та галактозу за допомогою ферменту бета-галактозидази (КФ 3.2.1.23).

Далі глюкоза перетворюється на глюкозо-6-фосфат за участі глюкокінази (КФ 2.7.1.2).

Глюкозо-6-фосфат перетворюється на фруктозо-6-фосфат за допомогою ферменту глюкозо-6-фосфатізомеразі (КФ 5.3.1.9), далі фруктозо-6-фосфат перетворюється на фруктозо-1,6-дифосфат за участі 6-фосфофруктокінази I (КФ 2.7.1.11).

Фермент фруктозобіфосфатальдолаза, клас II (КФ 4.1.2.13) здійснює перетворення фруктозо-1,6-дифосфату на 2 сполуки: гліцеральдегід-3-фосфат та діоксиацетонфосфат.

Гліцеральдегід-3-фосфат перетворюється на 1,3-Дифосфогліцерат під дією гліцеральдегід-3-фосфатдегідрогенази (КФ 1.2.1.12), далі 1,3-Дифосфогліцерат перетворюється на 3-Фосфогліцерат за участі ферменту фосфогліцераткінази (КФ 2.7.2.3).

Ізомеризація 3-фосфогліцерату відбувається під дією фосфогліцератмутази (КФ 5.4.2.12). 2-фосфогліцерат перетворюється на фосфоенолпіруват під дією енолази (КФ 4.2.1.11).

					НУХТ БТЕК 04.02.28 КР ПЗ					
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата	РОЗДІЛ 4. Біосинтез цільового продукту			Літ.	Арк.	Акрушів
Розроб.		Піддубняк К.С.							33	13
Керівник		Карлаш Ю.В.						Кафедра БТМ		
Консультант								37		
Н. Контр.										
Затверд.		Пирог Т.П.								

Заключною реакцією гліколізу є перетворення фосфоенолпірувату на піруват за допомогою ферменту піруваткінази (КФ 2.7.1.40).

Галактоза, яка утворюється з лактози, перетворюється на галактозо-1-фосфат, потім на УДФ-галактозу, УДФ-глюкозу, глюкозо-1-фосфат та глюкозо-6-фосфат.

Схему катаболізму лактози шляхом гліколізу наведено на *рис. 4.1.1*.

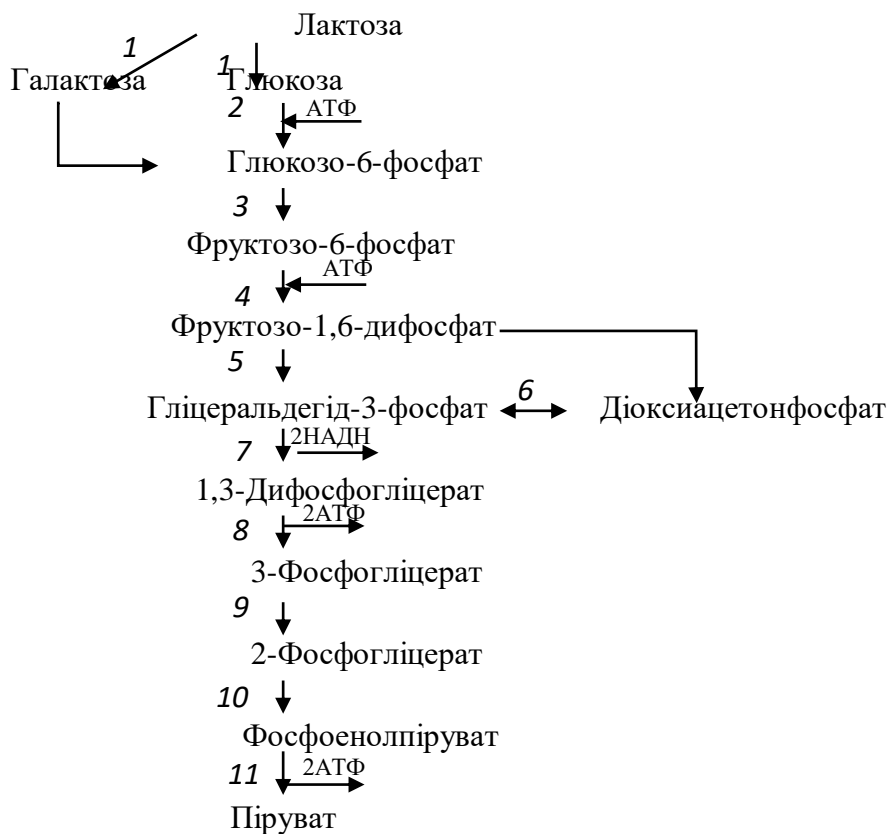


Рис.4.1.1. Катаболізм лактози у *Bacillus pulvifaciens*

ферменти: 1 – бета-галактозидази (КФ 3.2.1.23); 2 - глюкокіназа (КФ 2.7.1.2). 3 - глюкозо-6-фосфатізомереза (КФ 5.3.1.9); 4 – 6-фосфотруктокіназа I (КФ 2.7.1.11); 5 - фруктозобіфосфатальдолаза, клас II (КФ 4.1.2.13); 6 - триозофосфатізомераза (КФ 5.3.1.1); 7 - гліцеральдегід-3-фосфатдегідрогеназа (КФ 1.2.1.12); 8 - фосфогліцераткіназа (КФ 2.7.2.3); 9 - фосфогліцератмутаза (КФ 5.4.2.12); 10 - енолаза (КФ 4.2.1.11); 11 - піруваткіназа (КФ 2.7.1.40).

Анаплеротичними реакціями є карбоксилювання пірувату під дією піруваткарбоксилази (КФ 6.4.1.1), карбоксилювання фосфоенолпірувату за допомогою фосфоенолпіруваткарбоксикінази (КФ 4.1.1.49) та перетворення пірувату за допомогою малатдегідрогенази (КФ 1.1.1.38) на малат, з якого далі утворюється оксалоацетат.

4.2 Біотрансформація ростового субстрату у цільовий продукт

Цільовим продуктом є біомаса *Bacillus pulvifaciens*.

Складовими біомаси є амінокислоти, з яких утворюються білки; нуклеїнові кислоти; ліпіди, жирні кислоти; полісахариди (компоненти клітинної стінки грампозитивних бактерій – пептидоглікан, тейхоеві кислоти).

Під час катаболізму лактози утворюється глюкозо-6-фосфат, який потім залучається до пентозофосфатного циклу, в якому утворюються попередники ароматичних амінокислот – фосфорибозилпірофосфат (попередник гістидину) і еритрозо-4-фосфат. Еритрозо-4-фосфат і фосфоенолпіруват – попередники фенілаланіну, тирозину і триптофану.

З еритрозо-4-фосфату під дією ферменту 3-деокси-арабіно-гептулозонат-7-фосфатсинтази (КФ 2.5.1.54) утворюється 3-деокси-арабіно-гептулонат-7-фосфат, з якого далі утворюється 3-дегідрохінат за участі ферменту 3-дегідрохінатсинтази (КФ 4.2.3.4).

З 3-дегідрохінату за допомогою 3-дегідрохінатдегідратази (КФ 4.2.1.10) утворюється 3-дегідрошикімат, який потім перетворюється на шикімат за участі ферменту шикіматдегідрогенази (КФ 1.1.1.25).

Шикімат перетворюється на шикімат-3-фосфат за допомогою ферменту шикіматкінази (КФ 2.7.1.71). Шикімат-3-фосфат перетворюється за допомогою ферменту 3-фосфошикімат-1-карбоксивінілтрансферази (КФ 2.5.1.19) на 5-О-(1-Карбоксивініл)-3-фосфошикімат, з якого потім утворюється хоризмат за участі ферменту хоризматсинтази (КФ 4.2.3.5).

Хоризмат перетворюється на антранілат за допомогою антранілатсинтази (КФ 4.1.3.27). З антранілату за допомогою антранілатфосфорибозилтрансферази (КФ 2.4.2.18) утворюється 5-фосфорибозилантранілат, який далі перетворюється на (3-індоліл)-гліцеролфосфат за допомогою індол-3-гліцеролфосфатсинтази (КФ 4.1.1.48).

(3-Індоліл)-гліцеролфосфат перетворюється на триптофан за допомогою триптофансинтази (КФ 4.2.1.20).

В той же час хоризмат перетворюється на префенат за допомогою ферменту хоризматмутази (КФ 5.4.99.5).

Префенат перетворюється за допомогою префенатдегідратази (КФ 4.2.1.51) на фенілпіруват, з якого утворюється фенілаланін за участі аспаратамінотрансферази мітохондріальної (КФ 2.6.1.1) або гістидинол-фосфатамінотрансферази (КФ 2.6.1.9).

В той же час префенат перетворюється під дією префенатдегідрогенази (КФ 1.3.1.12) на 4-гідроксифенілпіруват, з якого утворюється тирозин за участі аспаратамінотрансферази мітохондріальної (КФ 2.6.1.1) або гістидинол-фосфатамінотрансферази (КФ 2.6.1.9).

Фосфорибозилпірофосфат перетворюється на фосфорибозил-АТФ під дією АТФ фосфорибозилтрансферази (КФ 2.4.2.17).

Фосфорибозил-АТФ перетворюється за допомогою ферменту фосфорибозил-АТФ-пірофосфогідролази (КФ 3.6.1.31) на фосфорибозил-АМФ, з якого далі утворюється фосфорибозил-формімінофосфат під дією ферменту фосфорибозил-АМФ-циклогідролази (КФ 3.5.4.19).

Фосфорибозил-формімінофосфат перетворюється під дією фосфорибозилформіміно-5-аміноімідазолкарбоксамідриботидізомерази (КФ 5.3.1.16) на фосфорибулозил-формімінофосфат, який потім перетворюється на імідазол-гліцерол-3-фосфат за допомогою імідазол гліцеролфосфатсинтази субодиниця HisF (КФ 4.3.2.10).

Імідазол-гліцерол-3-фосфат перетворюється за участі імідазолгліцерол-фосфатдегідратази (КФ 4.2.1.19) на імідазол-ацетолфосфат, з якого утворюється L-гістидинолфосфат за допомогою гістидинол-фосфатамінотрансферази (КФ 2.6.1.9).

L-Гістидинолфосфат перетворюється за участі гістидинол-фосфатази (КФ 3.1.3.15) на L-гістидинол, з якого далі утворюється L-гістидиналь під дією гістидинолдегідрогенази (КФ 1.1.1.23). L-Гістидиналь перетворюється на гістидин за допомогою гістидинолдегідрогенази (КФ 1.1.1.23).

Амінокислоти аспаратної родини (аспартат, аспарагін, метіонін, треонін, ізолейцин, лізин) утворюються з оксалоацетату, який є інтермедіатом ЦТК.

Амінокислоти глутаматної родини (глутамат, глутамін, пролін, аргінін) утворюються з 2-оксоглутарату (інтермедіату ЦТК).

Амінокислоти серин, гліцин і цистеїн утворюється з 3-фосфогліцерату.

Амінокислоти аланін, валін і лейцин утворюється з пірувату.

З оксалоацетату, який утворюється у циклі трикарбонових кислот, утворюється аспартат, який далі взаємодіє з карбамоїлфосфатом, при цьому під дією

аспартаткарбамоїлтрансферази каталітичної субодиниці (КФ 2.1.3.2) утворюється карбамоїласпартат – попередник піримідинових кислот.

Карбамоїласпартат перетворюється за участі ферменту гігідрооротази (КФ 3.5.2.3) на дигідрооротат, який далі перетворюється на оротат за допомогою дигідрооротатдегідрогенази електрон трансфер субодиниці (КФ 1.3.1.14).

Оротат перетворюється під дією оротатфосфорибозилтрансферази (КФ 2.4.2.10) на оротидин-5-фосфат, з якого утворюється на УМФ під дією оротидин-5-фосфатдекарбоксилази (КФ 4.1.1.23).

УМФ перетворюється на УТФ під дією уридилаткінази (КФ 2.7.4.22) та нуклеозиддифосфаткінази (КФ 2.7.4.6).

УТФ перетворюється на ЦТФ за допомогою ЦТФ-синтази (КФ 6.3.4.2).

Також фосфорибозилпірофосфат, який утворюється у пентозофосфатному циклі, - попередник пуринових кислот.

Фосфорибозилпірофосфат перетворюється під дією ферменту амідофосфорибозилтрансферази (КФ 2.4.2.14) на рибозиламін-5-фосфат, з якого утворюється інозинмонофосфат за участю ферментів :

- фосфорибозиламін-гліциніліази (КФ 6.3.4.13),
- фосфорибозилгліцинамідформілтрансферази 1 (КФ 2.1.2.2),
- фосфорибозилформілгліцинамідсинтази(КФ 6.3.5.3),
- фосфорибозилформілгліцинамідциклоліази (КФ 6.3.3.1),
- 5-карбоксаміноімідазолрибонуклеотидсинтази (КФ 6.3.4.18),
- 5-карбоксаміноімідазолрибонуклеотидмутази (КФ 5.4.99.18),
- Фосфорибозиламіноімідазолсукцинокарбоксамідсинтази (КФ 6.3.2.6),
- аденілосукцинатліази (КФ 4.3.2.2),
- фосфорибозиламіноімідазолкарбоксамідформілтрансферази (КФ 2.1.2.3).

Інозинмонофосфат перетворюється за допомогою ІМФ-дегідрогенази (КФ 1.1.1.205) на ксантозинмонофосфат, з якого утворюється ГМФ під дією ГМФ-синтази (КФ 6.3.5.2).

ГМФ перетворюється на ГТФ за участі ферментів гуанілаткінази (КФ 2.7.4.8) та піруваткінази (КФ 2.7.1.40) або нуклеозид-дифосфаткінази (КФ 2.7.4.6).

У той же час з інозинмонофосфату утворюється аденілосукцинат під дією ферменту аденілосукцинатсинтази (КФ 6.3.4.4).

Аденілосукцинат перетворюється на АМФ за участі аденілосукцинатліази (КФ 4.3.2.2).

АМФ перетворюється на АТФ під дією аденілаткінази (КФ 2.7.4.3).

З фруктозо-6-фосфату та глютаміну за участі ферменту глюкозамін-фруктозо-6-фосфатамінотрансферази (ізомеризуючої) (КФ 2.6.1.16) утворюється глюкозамін-6-фосфат, який є попередником пептидоглікану.

Глюкозамін-6-фосфат перетворюється на глюкозамін-1-фосфат, з якого утворюється N-ацетилглюкозамін-1-фосфат під дією ферменту глюкозамін-1-фосфат- N-ацетилтрансферази (КФ 2.3.1.157).

N-ацетилглюкозамін-1-фосфат перетворюється за допомогою біфункціональної УДФ-N-ацетилглюкозамінпірофосфорилази (КФ 2.7.7.23) на УДФ-N-ацетилглюкозамін, з якого потім утворюється УДФ-N-ацетилмурамова кислота під дією ферментів УДФ-N-ацетилглюкозамін-1-карбоксивінілтрансферази (КФ 2.5.1.7) та УДФ-N-ацетилмурамаатдегідрогенази (КФ 1.3.1.98).

УДФ-N-ацетилмурамова кислота перетворюється на УДФ-N-ацетилмурамоїл-L-аланін за допомогою ферменту УДФ-N-ацетилмурамаат-аланінлігази (КФ 6.3.2.8).

УДФ-N-ацетилмурамоїл-L-аланін через ряд реакцій перетворюється на пептидоглікан за допомогою ферментів УДФ-N-ацетилмурамоїлаланін-глутаматлігази (КФ 6.3.2.9), УДФ-N-ацетилмурамоїлаланінглутамат-2,6-діамінопімелатлігази (КФ 6.3.2.13), ацетилмурамоїлтрипептид-D-аланін-D-аланінлігази (КФ 6.3.2.10), фосфо-N-ацетилмурамоїл-пентапептидтрансферази (КФ 2.7.8.13), УДФ-N-ацетилглюкозамін-N-ацетилмураміл-пентапептидпірофосфорилундекапренол-N-ацетилглюкозамінтрансферази (КФ 2.4.1.227), пеніцилін-зв'язуючого протеїну1А (КФ 2.4.1.129), серин-тип D-Ala-D-Ala-карбоксипептидази (КФ 3.4.16.4).

З діоксиацетонфосфату утворюється за допомогою гліцерил-3-фосфатдегідрогенази (НАД(Ф)) (КФ 1.1.1.94) 3-фосфогліцерин, з якого далі утворюється 1,2-Діацил-3-фосфогліцерин.

З 1,2-Діацил-3-фосфогліцерину утворюються 1,2-діацилгліцерин та 1,2-діацил-3-глюкозилгліцерин, з яких далі утворюються тейхові та ліпотейхоєві кислоти.

1,2-Діацил-3-фосфогліцерин також є попередником гліколіпідів.

Також з 1,2-діацил-3-фосфогліцерину утворюється ЦДФ-діацилгліцерин – попередник фосфоліпідів.

З ацетил-КоА, який утворюється з пірувату, під дією ферменту ацетил-КоА карбоксилази біотинкарбоксил-переносного білку (КФ 6.4.1.2) утворюється малоніл-КоА, з якого далі утворюється малоніл-АПБ за участі ацил-переносного білку S-малонілтрансферази (FabD) (КФ 2.3.1.39), з якого далі утворюється жирні кислоти за допомогою ряду ферментів - 3-оксоацил (АПБ)-синтази II (КФ 2.3.1.179) (FabF), 3-оксоацил-(АПБ)-редуктази (КФ 1.1.1.100) (FabG), 3-гідроксиацил-(АПБ)-дегідратази (КФ 4.2.1.59) (FabZ), еноіл-(АПБ)-редуктази II (КФ 1.3.1.9) (FabK).

Ферменти:

- 1 – бета-галактозидаза (КФ 3.2.1.23);
- 2 – альдозо-1-епімераза (КФ 5.1.3.3);
- 3 – галактокіназа (КФ 2.7.1.6);
- 4 – УДФ-галактозо-1-фосфат уридилилтрансфераза (КФ 2.7.7.12);
- 5 – УДФ-глюкозо-4-епімераза (КФ 5.1.3.2);
- 6 – УТФ-глюкозо-1-фосфат уридилилтрансфераза (КФ 2.7.7.9);
- 7 – фосфоглюкомутаза (КФ 5.4.2.2);
- 8 – глюкокіназа (КФ 2.7.1.2);
- 9 - глюкозо-6-фосфатізомереза (КФ 5.3.1.9);
- 10 – 6-фосфофруктокіназа I (КФ 2.7.1.11);
- 11 - фруктозобіфосфатальдолаза, клас II (КФ 4.1.2.13);
- 12 - триозофосфатізомераза (КФ 5.3.1.1);
- 13 - гліцеральдегід-3-фосфатдегідрогеназа (КФ 1.2.1.12);
- 14 - фосфогліцераткіназа (КФ 2.7.2.3);
- 15 - 2,3-біфосфогліцерат-незалежна фосфогліцератмутаза (КФ 5.4.2.12);
- 16 - енолаза (КФ 4.2.1.11);
- 17 - піруваткіназа (КФ 2.7.1.40);
- 18 – піруватдегідрогеназа E1 компонент альфа-субодиниця (КФ 1.2.4.1);
піруватдегідрогеназа E2 компонент (КФ 2.3.1.12);
- 19 - цитратсинтаза (КФ 2.3.3.1);
- 20 - аконітатгідратаза (КФ 4.2.1.3);
- 21 - ізоцитратдегідрогеназа (КФ 1.1.1.42);
- 22 – 2-оксоглутаратдегідрогеназа E1 компонент (КФ 1.2.4.2) та 2-оксоглутаратдегідрогеназа E2 компонент (КФ 2.3.1.61);
- 23 - сукциніл-КоА синтетаза, бета-субодиниця (КФ 6.2.1.5);
- 24 - сукцинатдегідрогеназа, цитохром b субодиниця (КФ 1.3.5.4),
фумаратредуктаза залізо-сульфур субодиниця (КФ 1.3.5.1);
- 25 - фумаратгідратаза, клас II (КФ 4.2.1.2);
- 26 - малатдегідрогеназа (КФ 1.1.1.37);

- 27 - фосфоенолпіруваткарбоксікіназа (КФ 4.1.1.49);
- 28 - піруваткарбоксілаза (КФ 6.4.1.1);
- 29 - малатдегідрогеназа (КФ 1.1.1.38),
- 30 – аспартатамінотрансфераза (КФ 2.6.1.1);
- 31 - глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа (КФ 1.1.1.49, КФ 1.1.1.363) та 6-фосфоглюконолактоназа (КФ 3.1.1.31);
- 32 - 6-фосфоглюконатдегідрогеназа (КФ 1.1.1.44, КФ 1.1.1.343);
- 33 - рибозо-5-фосфатізомераза А (КФ 5.3.1.6);
- 34 - рибозофосфатпірофосфокіназа (КФ 2.7.6.1);
- 35 - рибулозофосфат 3-епімераза (КФ 5.1.3.1);
- 36 - транскетолаза (КФ 2.2.1.1);
- 37 - 3-деокси-арабіно-гептулозонат-7-фосфатсинтаза (КФ 2.5.1.54);
- 38 - 3-дегідрохінатсинтаза (КФ 4.2.3.4);
- 39 - 3-дегідрохінатдегідратаза (КФ 4.2.1.10);
- 40 – шикіматдегідрогеназа (КФ 1.1.1.25);
- 41 - шикіматкіназа (КФ 2.7.1.71);
- 42 - 3-фосфошикімат-1-карбоксивінілтрансфераза (КФ 2.5.1.19);
- 43 – хоризматсинтаза (КФ 4.2.3.5);
- 44 – антранілатсинтаза (КФ 4.1.3.27);
- 45 – антранілатфосфорибозилтрансфераза (КФ 2.4.2.18);
- 46 – індол-3-гліцеролфосфатсинтаза (КФ 4.1.1.48);
- 47 – триптофансинтаза (КФ 4.2.1.20);
- 48 – хоризматмутаза (КФ 5.4.99.5);
- 49 – префенатдегідратаза (КФ 4.2.1.51);
- 50 – аспартатамінотрансфераза мітохондріальна (КФ 2.6.1.1), гістидинол-фосфатамінотрансфераза (КФ 2.6.1.9);
- 51 – префенатдегідрогеназа (КФ 1.3.1.12);
- 52 - АТФ фосфорибозилтрансфераза (КФ 2.4.2.17);
- 53 – фосфорибозил-АТФ-пірофосфогідролаза (КФ 3.6.1.31);
- 54 – фосфорибозил-АМФ-циклогідролаза (КФ 3.5.4.19);

55-фосфорибозилформіміно – 5 -аміноімідазолкарбоксамідриботидізомераза (КФ 5.3.1.16);

56 – імідазол гліцеролфосфатсинтаза субодиниця HisF (КФ 4.3.2.10);

57 – імідазолгліцерол-фосфатдегідратаза (КФ 4.2.1.19);

58 – гістидиномол-фосфатамінотраснфераза (КФ 2.6.1.9);

59 – гістидиномол-фосфатаза (КФ 3.1.3.15);

60 – гістидиномолдегідрогеназа (КФ 1.1.1.23);

61 – карбамоїлфосфатсинтаза (КФ 6.3.4.16);

62 – аспартаткарбамоїлтрансфераза каталітична субодиниця (КФ 2.1.3.2);

63 – гігідрооротаза (КФ 3.5.2.3);

64 – дигідрооротатдегідрогеназа електрон трансфер субодиниця (КФ 1.3.1.14);

65 – оротатфосфорибозилтрансфераза (КФ 2.4.2.10);

66 – оротидин-5-фосфатдекарбоксилаза (КФ 4.1.1.23);

67 – уридилаткіназа (КФ 2.7.4.22);

68 – нуклеозиддифосфаткіназа (КФ 2.7.4.6);

69 – ЦТФ-синтаза (КФ 6.3.4.2);

70 – амідфосфорибозилтрансфераза (КФ 2.4.2.14);

71 – фосфорибозиламін-гліциніліаза (КФ 6.3.4.13);

72 – фосфорибозилгліцинамідформілттрансфераза 1 (КФ 2.1.2.2);

73 – фосфорибозилформілгліцинамідсинтаза (КФ 6.3.5.3);

74 – фосфорибозилформілгліцинамідциклоліаза (КФ 6.3.3.1);

75 – 5-карбоксаміноімідазолрибонуклеотидсинтаза (КФ 6.3.4.18);

76 - 5-карбоксаміноімідазолрибонуклеотидмутаза (КФ 5.4.99.18);

77 – фосфорибозиламіноімідазолсукцинокарбоксамідсинтаза (КФ 6.3.2.6);

78 – аденілосукцинатліаза (КФ 4.3.2.2);

79 – фосфорибозиламіноімідазолкарбоксамідформілттрансфераза (КФ 2.1.2.3);

80 – ІМФ-дегідрогеназа (КФ 1.1.1.205);

81 – ГМФ-синтаза (КФ 6.3.5.2);

82 – гуанілаткіназа (КФ 2.7.4.8);

83 – піруваткіназа (КФ 2.7.1.40), нуклеозид-дифосфаткіназа (КФ 2.7.4.6);

- 84 – аденилосукцинатсинтаза (КФ 6.3.4.4);
- 85 – аденилосукцинатліаза (КФ 4.3.2.2);
- 86 – аденилаткіназа (КФ 2.7.4.3);
- 87 – глюкозамін-фруктозо-6-фосфатамінотрансфераза (ізомеризуюча) (КФ 2.6.1.16);
- 88 – фосфоглюкозамінмутаза (КФ 5.4.2.10);
- 89 – глюкозамін-1-фосфат- N-ацетилтрансфераза (КФ 2.3.1.157);
- 90 – біфункціональна УДФ-N-ацетилглюкозамінпірофосфорилаза (КФ 2.7.7.23);
- 91 - УДФ-N-ацетилглюкозамін-1-карбоксивінілтрансфераза (КФ 2.5.1.7);
- 92- УДФ-N-ацетилмураматдегідрогеназа (КФ 1.3.1.98);
- 93 - УДФ-N-ацетилмурамат-аланінліаза (КФ 6.3.2.8);
- 94 - УДФ-N-ацетилмурамоїлаланін-глутаматліаза (КФ 6.3.2.9);
- 95 - УДФ-N - ацетилмурамоїлаланінглутамат - 2, 6 - діамінопімелатліаза (КФ 6.3.2.13);
- 96 - ацетилмурамоїлтрипептид-D-аланін-D-аланінліаза (КФ 6.3.2.10);
- 97 - фосфо-N-ацетилмурамоїл-пентапептидтрансфераза (КФ 2.7.8.13);
- 98 - УДФ-N-ацетилглюкозамін-N-ацетилмураміл-пентапептидпірофосфорил-ундекапренол-N-ацетилглюкозамінтрансфераза (КФ 2.4.1.227);
- 99 - пеніцилін-зв'язуючий протеїн 1А (КФ 2.4.1.129); серин-тип D-Ala-D-Ala-карбоксіпептидаза (КФ 3.4.16.4);
- 100 – гліцерил-3-фосфатдегідрогеназа (НАД(Ф)) (КФ 1.1.1.94), гліцерол-3-фосфатдегідрогеназа (КФ 1.1.5.3);
- 101 – ацилфосфат: гліцерол-3-фосфатацилтрансфераза (КФ 2.3.1.275);
- 102 – 1-ацил-гліцерол-3-фосфатацилтрансфераза (КФ 2.3.1.51);
- 103 – фосфатидатцитидилтрансфераза (КФ 2.7.7.41),
- 104 – діацилгліцеролкіназа (АТФ-залежна) (КФ 2.7.1.107);
- 105 – діацилгліцеролглюкозилтрансфераза (КФ 2.4.1.315);
- 106 - ліпотейхоєва кислота синтаза (КФ 2.7.8.20),
- 107 – ЦДФ-діацилгліцеролсерин-О-фосфатидилтрансфераза (КФ 2.7.8.8);
- 108 – фосфатидилсериндекарбоксілаза (КФ 4.1.1.65);

109 – ЦДФ-діацилгліцерол-3-фосфат-3-фосфатидилтрансфераза (КФ 2.7.8.5);

110 – ацетил-КоА карбоксилаза біотинкарбоксил-переносний білок (КФ 6.4.1.2);

111 - ацил-переносний білок S-малонілтрансфераза (FabD) (КФ 2.3.1.39);

112 - 3-оксоацил (АПБ)-синтаза II (КФ 2.3.1.179) (FabF), 3-оксоацил-(АПБ)-редуктаза (КФ 1.1.1.100) (FabG), 3-гідроксиацил-(АПБ)-дегідратаза (КФ 4.2.1.59) (FabZ), еноіл-(АПБ)-редуктаза II (КФ 1.3.1.9) (FabK).

РОЗДІЛ 5. Обґрунтування вибору технологічної схеми

5.1. Обґрунтування доферментаційних процесів та виробничого біосинтезу.

Культуральна рідина пробіотику Ендобактерин містить мікробну масу живих клітини *Bacillus pulvifaciens* та залишки поживного середовища (солі, підсирна сироватка) і продукти метаболізму.

5.1.1 Обґрунтування способу культивування і типу ферментера

Обґрунтування способу культивування

Bacillus pulvifaciens В-4348 є мезофільним нейтрофілом для якого оптимальною температурою росту є 35 – 37 °С, та оптимальним рН 7 – 7,5. Дані умови є сприятливими для контамінації зовнішньою мікрофлорою.

В якості субстрату при культивуванні *B. pulvifaciens* ВКПМ В-4348 використовують підсирну сироватку, яка містить лактозу та продукти її гідролізу.

B. pulvifaciens ВКПМ В-4348 - факультативний анаеробом, тому ферментація може проходити в умовах як і за присутності кисню так і за його відсутності (бродиння). Штам ВКПМ В-4348 синтезує протеолітичні ферменти [12].

Отже, для культивування *B. pulvifaciens* ВКПМ В-4348 з метою отримання пробіотичного препарату Ендобактерину проводять періодичне культивування глибинним методом в асептичних умовах.

Обґрунтування типу ферментера

Обраний біологічний агент є факультативним анаеробом, тому процес ферментації може проходити як за присутності кисню так і за відсутності (бродиння).

					НУХТ БТЕК 04.02.28 КР ПЗ			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Піддубняк К.С.			РОЗДІЛ 5. Обґрунтування вибору технологічної схеми	Літ.	Арк.	Акрушів
Керівник		Карлаш Ю.В.					46	11
Консультант						Кафедра БТМ		
Н. Контр.								
Затверд.		Пирог Т.П.						

Оскільки бродіння не є метою виробництва цього пробіотики, то в середовище повинно постійно поступати стерильне аераційне повітря.

Даний мікроорганізм культивується саме глибинним способом.

Глибинне культивування має ряд переваг над поверхневим :

- зменшує виробничі площі;
- має високий рівень автоматизації;
- покращує гігієнічність праці;
- спрощує механізацію і автоматизацію виробництва;
- робить можливий перехід на безперервний спосіб культивування.
- раціонально використовуються поживні середовища;
- зменшуються відходи виробництва за рахунок раціонального використання середовища.

Метод глибинного культивування відрізняється від поверхневого тим, що мікроорганізми-продуценти вирощують не на поверхні живильного середовища, а в товщі середовища. Вирощування продуцентів ведуть в спеціальних ферментерах, ємність яких може перевищувати 50 м³. Ферментери є забезпеченими пристосуваннями для продування повітря через живильне середовище і мішалками. Розвиток мікроорганізмів-продуцентів в ферментаторах відбувається при безперервному перемішуванні поживного середовища і подачі кисню. При глибинному вирощуванні у багато разів в порівнянні з вирощуванням продуцента на поверхні середовища збільшується накопичення біомаси [27].

Відомо, що даний мікроорганізм культивується глибинним способом, то доцільно буде використовувати ферментер із сорочкою для глибинного культивування (*Рис.5.1.1*) обладнаний барботером для подачі повітря, та мішалкою, а також з датчиком для контролю рН і тиску та температури.

Аерація відбувається в результаті подання підігрітого до необхідної температури повітря, стерильного та через спеціальні пристосування – барботери – і перемішування культуральної рідини мішалками. При цьому відбувається більше розчинення кисню завдяки його кращому диспергуванню у середовищі.

Підтримання температури, оптимальної для гарного росту продуцента пробіотика та прояву їм підвищеної фізіолого-біохімічної активності, забезпечується системою змійовиків чи сорочкою ферментера. Змійовики використовуються також при подачі пари в процесі стерилізації або води для охолодження.

Спостереження за основними процесами життєдіяльності мікроорганізму здійснюється на контрольно-вимірювальній апаратурі, що дозволяє підтримувати заданому рівні температуру всередині ферментера, витрати повітря, рН середовища, тиск всередині ферментера і інші параметри. Ферментер забезпечений пристосуваннями для перенесення інокуляту та внесення додаткових поживних речовин, необхідних для покращення розвитку продуцента, піногасників та пристроєм для взяття проб.

Для забезпечення стерильності процесу ферментації у обраному ферментері передбачено використання торцевих ущільнень валу перемішуючого пристрою із паровим захистом. За допомогою застосування такої конструкції вдається практично повністю запобігти потраплянню атмосферного повітря в апарат, що дуже важливо для збереження асептичних умов культивування [27].

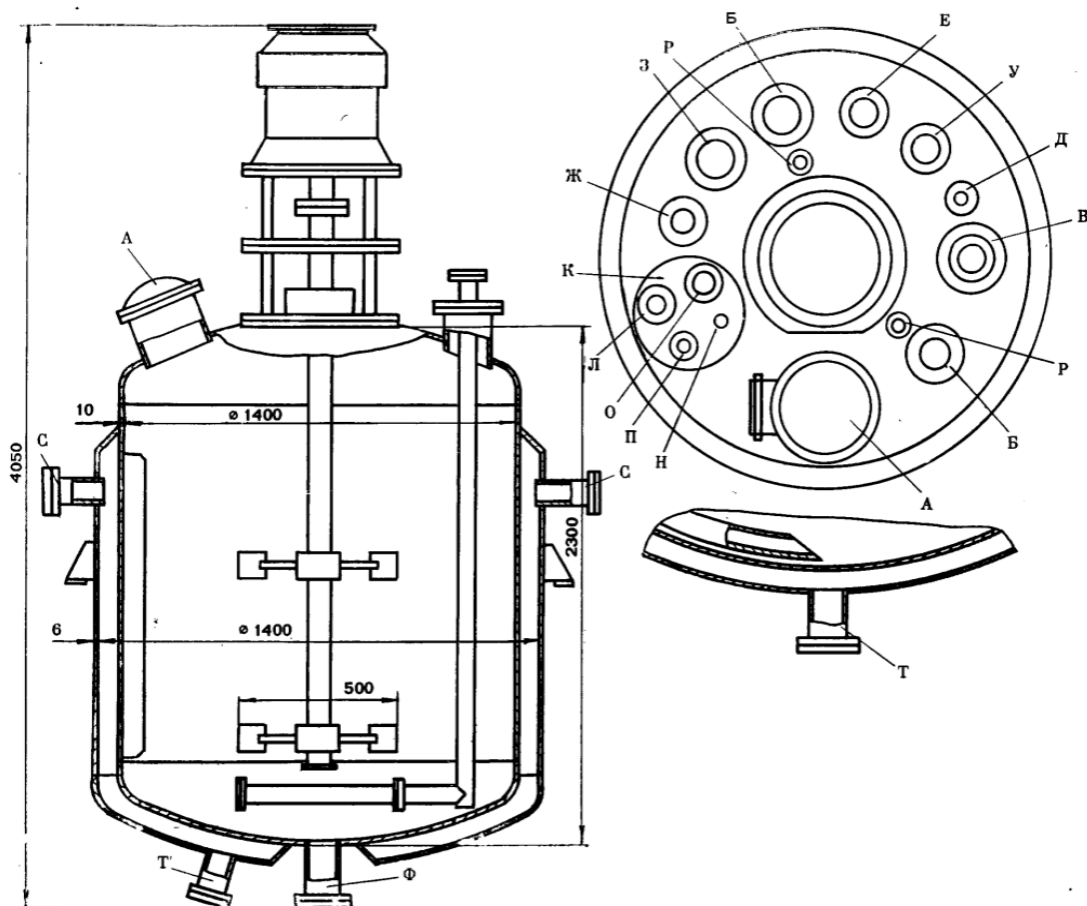


Рис.5.1.1. Ферментер для глибинного культивування мікроорганізмів:

А – люк; Б – оглядове вікно; В – для труби барботера; Д – для завантаження піногасника; Е – завантаження поживного середовища та посівного матеріалу; Ж – для посіву; З – для труби передавлювання; К – резервний; Л – для взяття проби; Н – для манометра; О – для гільзи ртутного термометра; П — для термометра опору; Р – для очистки оглядових вікон; С – для входу охолоджуючої води чи пару; Т – для виходу конденсата чи охолоджуючої води; У – для виходу повітря; Ф – для нижнього спуску.

Отже, вибір ферментеру залежить не тільки від умов культивування, а морфологічних ознак обраного біологічного агенту.

5.1.2. Обґрунтування стадії підготовки стерильного аераційного повітря

Оскільки *Bacillus pulvifaciens* В-4348 є факультативним анаеробом, то процес ферментації може проходити як і за присутності кисню так і за його відсутності (бродиння). Оскільки бродіння не є метою виробництва нашого пробіотика, то в середовище повинно постійно поступати стерильне аераційне повітря.

Основною вимогою, що пред'являється до аеруючого повітря при культивуванні - це стерильність, під якою розуміється повна відсутність мікрофлори [28].

При вирощуванні мікроорганізмів в глибинних умовах потрібна безперервна подача стерильного повітря у ферментери, на аерацію культуральної рідини. Повітря, що подається у ферментер, не тільки постачає зростаючу культуру киснем, а і відводить газоподібні продукти обміну та фізіологічне тепло, що виділяється мікроорганізмом в процесі розвитку [28].

Використовуються застосування антисептиків чи методи газової очистки, знижені та підвищені температури, іонізуюче випромінювання та ультрафіолетові випромінювання, тощо. Використання цих методів свідчить про їх не надійність, так як спори та конідії мають високу стійкість до іонізуючого випромінювання та високих температур[28].

У процесах мікробіологічного синтезу повітря, що подається на аерацію, повинен бути очищений на 99,9999 % від домішок та мікроорганізмів розміром до 1 мкм [28].

Стадію підготовки аераційного повітря у разі великих його витрат здійснюють в окремих будівлях, у разі невеликих – в окремих приміщеннях. Підготовка аераційного повітря складається з таких стадій:

Забір атмосферного повітря здійснюється за допомогою вертикальної труби повітря збірником в найвищій точці будівлі, саме там де розміщене обладнання для стиснення та очищення повітря.

Очищення повітря від пилу на плоских тканинних фільтрах грубого очищення. Після проходження повітря через фільтри грубої очистки відбувається його стиснення.

Стиснення повітря проходить в компресорах чи трубопроводах (при цьому повітря нагрівається до температури 120-200 °C) .

Після стиснення повітря відбувається його охолодження.

Охолодження стисненого повітря відбувається до температури «точки роси» за якої волога повітря конденсується. Для цього використовується водяні теплообмінники різного типу : кожухотрубні, «труба в трубі».

Видалення конденсованої вологи та парів мастила, що потрапили з компресора в ресивер. Ресивер зменшує пульсації руху повітря, що можуть негативно впливати на роботу подальших фільтрів очищення повітря. Цей процес відбувається в ємності великого об'єму [28].

Після видалення вологи відбувається нагрівання повітря

Стабілізація показників(тиск, температура) підігріванням до температури 45-50 С паром в відповідних теплообмінниках.

Очищення у головних ємнісних набивних фільтрах до ступеня очищення E=95%. Головні фільтри, зазвичай, встановлюють поблизу ферментаційних відділень.

Очищення в індивідуальних фільтрах. Повітря від головних фільтрів через трубопроводи (чи колектори) подається безпосередньо до індивідуальних фільтрів, встановлених на ферментері. При цьому повітря очищають до ступеня очищення E=99,99%

Очищення відпрацьованого повітря. Відпрацьоване повітря через колектори подається на аналогічні головні фільтри для очищення та знешкодження. У разі не великих витрат повітря такі фільтри встановлюють безпосередньо на ферментері [28].

5.1.3. Вибір мийних та дезінфікуючих засобів

Миття обладнання. Для миття використовуємо СІП-мийку и СІР-станцію (CleanninginPlace - безрозбірне миття) - обладнання модульного типу, яке виконується з нержавіючої корозійностійкої сталі, що виконує завдання нагріву, підготовки та циркуляції мийних розчинів всередині технологічного обладнання та

трубопроводів, без необхідності їх розбору, з метою автоматизованого видалення забруднень. СП-мийка – це обов'язкова складова сучасного харчового підприємства, яка є найважливішою ланкою в забезпеченні якості готового продукту і чистоти. Всі СП-станції виконуються за одним принципом та мають загальний алгоритм роботи: миття здійснюється за рахунок прокачування через обладнання та продуктивні лінії розчинів дезінфікуючих реагентів та миючих засобів. Для кожного виду реагенту передбачена своя ємність та система підготовки .

Виробництво пробіотика Ендобактерин здійснюється упродовж 180 днів. Оптимальна площа виробничого приміщення, в якій встановлений ферментер, посівні апарати, інокулятори і збірники, автоклав та інше обладнання становить 60 м²(12×5м). Висота стін – 2,5м. Площа підлоги – 60м³. Загальна площа стін приміщення:

$$((12 \times 2.5) + (5 \times 2.5)) \times 2 = 85 \text{ м}^2$$

Визначаємо площі поверхонь, які необхідно мити та/або дезінфікувати.

Щоб обрати мийний та дезінфікувальний засіб, необхідно врахувати його вартість та витримати на оброблювання потрібної площі виробничого приміщення. Приблизно на 1 м² затрачається 100 мл робочого розчину мийного чи дезінфікувального засобу.

Кальцинована сода являє собою зневоднений вуглекислий натрій (Na CO). Має вигляд білого дрібнокристалічного порошку, що є добре розчинним у воді. Засіб належить до помірно не безпечних речовин (3 класнебезпеки по ГОСТ 12.1.007). У нативному вигляді та концентрованих розчинах подразнює шкіру та слизову оболонку очей. Розчини кальцинованої соди кородують об'єкти, які виготовлені з алюмінію. У водних розчинах кальцинована сода частково розкладається до утворення їдкого лугу та гідрокарбонату, які зумовлюють мийні властивості. Гарячі (55 + - 5 С°) розчини кальцинованої соди добре обмилюють жирові забруднення на поверхнях і добре руйнують білки. При зменшенні температури розчинів (45 + - 5 С°) їх мийна здатність різко спадає.

Гарантійний термін зберігання 1 рік від дати виготовлення. Зберігаються в пакуванні виробника в закритих складських приміщеннях. Рекомендується використовувати - 0,5 % розчин кальцинованої соди з температурою (45 + - 5 С°) для ручного миття технологічного обладнання й інвентарю, а також (1-2) % розчини з температурою (55 + - 5 С°) для циркуляційного миття технологічного обладнання та комунікацій. Розчини кальцинованої соди не призначені для миття обладнання, комунікацій та інвентарю, які виготовляються з алюмінію.

Каустична сода (їдкий натр, NaOH) являє собою безбарвну кристалічну речовину. Гігроскопічна. Добре розчинна у воді. Водні розчини мають лужну реакцію. Гарячі (1-2%) розчини каустичної соди добре обмилюють жири, гідролізують білки, розщеплюють вуглеводи. Засіб належить до високо небезпечних речовин (2 клас небезпеки по ГОСТ 12.1.007). При попаданні на шкіру викликає великий хімічний опік. Подразнює слизову оболонку очей і верхніх дихальних шляхів. При зменшенні температури розчину мийні властивості засобу спадають. Розчини каустичної соди кородують об'єкти, які виготовлені із алюмінію.

Гарантійний термін зберігання 1 рік від дати виготовлення. Зберігають в пакуванні виробника у складських неопалюваних приміщеннях. Рекомендується використовувати 0,5 % розчини каустичної соди температурою (45 + - 5 С°) для ручного миття технологічного обладнання та інвентарю, а також (1-2) % розчини температурою (55 + - 5 С°) градусів Цельсія для циркуляційного миття технологічного обладнання та комунікацій. Розчини каустичної соди не призначені для миття обладнання, комунікацій та інвентарю, які виготовлені з алюмінію.

«Гембар» - мийний добре розчинний у воді засіб. Неушкоджує об'єкти, виготовлені з металу, скла і полімерних матеріалів та гуми. Після висихання розчину на оброблених поверхнях утворюється плівка. Інактивує мікроби, у тому числі грибки, туберкульозу, віруси гепатит Б, герпес, енцефалітний, грипу, ВІЧ та інше. Економічний препарат для дезінфекції інвентарю, поверхонь, і посуду. Препарат має пролонговану фунгіцидну, бактерицидну, та віруліцидну дію. Не містить лугу, альдегіду та фенолу, окислювальних і хлорпохідних сполук. Активно

діюча речовина – це гуанідинова полімерна сполука, що є синтетичним аналогом природних гуанідинових сполук. Препаративна форма - розчин (25% концентрат).

Властивості:

- препарат не токсичний;
- добре розчинний у воді;
- виявляє надійну дію при наявності білку, сироватки та крові;
- має широкий спектр дії, високої біологічної активності;
- активність препарату мало змінюється під впливом різних умов зовнішнього середовища;
- не леткий (дозволяє проводити дезінфекцію за присутності людей, а обслуговуючому персоналу при роботі із робочими розчинами не застосовувати традиційних засобів індивідуального захисту очей і слизових оболонок);
- не має запаху;
- не агресивний до різних матеріалів (не знебарвлює тканини, не викликає корозію, не ушкоджує полімерні, латексні та інші матеріали);
- не має алергічних, шкірно-дратівних і шкірно-резорбтивних властивостей;
- не має інших побічних ефектів.

Рекомендується використовувати 5,0 % розчини гембару для поточної дезінфекції поверхонь приміщення (стіни, вікна, підлога, двері), прибирального інвентарю та санітарно-технічного обладнання

«Дезактін» (діюча речовина дихлорантін) – дезінфекційний засіб з мийним ефектом виробництва ТОВ «ДЕЛАНА». Не кородують об'єкти, котрі виготовлені з металу, скла, гуми, полімерних матеріалів, кахлю, деревини та порцеляни, фаянсу, а також поверхні технологічного обладнання та устаткування з лакофарбовим, полімерним та гальванічним покриттям, не фіксують білкові та жирові забруднення на оброблених поверхнях, виявляють змочувальні та мийні властивості, добре

змиваються. Дезактін виявляє туберкулоцидні, бактерицидні та фунгіцидні властивості.

Рекомендується використовувати: 0,2 % розчини дезактіну для точної дезінфекції поверхонь приміщення (стіни, підлога, вікна, двері), прибирального інвентарю, технологічного і санітарно-технічного обладнання, комунікацій, інвентарю та внутрішньоцехової тари[29].

«Хлорантоін» (діюча речовина дихлорантін) призначений: - для поточної й заключної дезінфекції в закладах охорони здоров'я та вогнищах кишкових і крапельних інфекцій бактеріальної і вірусної етіології туберкульозу, дерматомікозів, кандидозів;

– для передстерилізаційного очищення та поєднання процесів дезінфекції та передстерилізаційного очищення виробів медичного призначення із корозійностійкого металу, скла, гуми та полімерних матеріалів;

– для профілактичної дезінфекції в закладах охорони здоров'я, на підприємствах фармацевтичної, мікробіологічної, парфюмерно-косметичної, та харчової промисловості, в аптечних закладах [30].

«Біомой» (діюча речовина – алкілбензосульфونات натрію, сульфанол) - багатокомпонентний, біоактивний миючий засіб з дезинфікуючим ефектом. Препарат являє собою порошок з світлих тонів. Використовується для передстерилізаційного очищення та миття виробів медичного призначення з металу, скла, полімерів і гуми. Відмінно розкладає білок крові. При цьому не потрібно застосування у комплексі з ним перекису водню; миття та дезінфекція різноманітного технологічного обладнання, інвентарю, комунікацій та тари на підприємствах харчової та молочної промисловості, на підприємствах з виробництва пива, алкогольних і безалкогольних напоїв. [31].

Засоби, що мають різну діючу речовину, варто застосовувати із інтервалом в 3 місяці для запобігання розвитку стійких штамів мікроорганізмів.

Таблиця 5.1.

Узагальнена характеристика витрат мийних та дезінфікувальних засобів для виробництва препарату

Назва мийного/дезінфікуючого засобу	Об'єкт миття та/або стерилізації	Вартість 1 л/(кг) мийного та/або дезінфікуючого засобу, грн.	Концентрація робочого розчину, %	Вартість 1 л робочого розчину, грн	Загальна площа (об'єм) миття та/або дезінфекції об'єкту за весь період виробництва, м ² (л)	Кількість робочого розчину на весь період виробництва, л	Загальна вартість миття за весь період, грн
Кальцинована сода ¹	Обладнання, інвентар, комунікації	10	1	0,1	1 132 136	226 427	22 642
Каустична сода ¹		19	2	0,38	1 132 136	226 427	86 042
Біомой ² (алкілбензо-сульфонат натрію)		40	0,3	0,12	1 132 136	226 427	27 171
Дезактін ² (дихлорантін)	Стіни, підлога, вікна, двері, тара	341	0,2	0,682	870	87	59
Хлорантоїн ² (дихлорантін)		250	0,2	0,5	870	87	43
Гембар ¹ (гуанідинова полімерна сполука)		432	0,5	2,16	870	87	187

Примітка: 1 -<https://prom.ua>, 2 -<https://hlorka.in.ua>

Проаналізувавши дані щодо дезрозчинів, можна зробити висновок, щодля миття та дезінфекції стін, підлоги, вікон та дверей доцільно використовувати такі мийні засоби – *Дезактін*, *Хлорантоін* та *Гембар* чи *Біомой*, а для миття та дезінфекції обладнання, інвентарю, комунікацій, тари, доцільно використовувати *кальциновану* та *каустичну соду*, оскільки вони є мийно-дезинфікувальними засобами, мають порівняно невисоку вартість, що дає змогу заощадити кошти. Засіб *Біомой* буде використовуватися для миття приміщення, а розчин *каустичної соди* буде використовуватися для миття обладнання.

Миття ферментера і посівного апарату, інокуляторів та збірників для приготування композицій для стадій культивування відбуватиметься циркуляційним способом. Об'єм мийного засобу складатиме приблизно половину кожного із відповідних об'ємів обладнання.

Підлогу необхідно дезинфікувати і мити кожного дня (180 разів), стіни, двері та вікна не рідше одного разу на місяць, тобто 6 разів. Для знезараження повітря виробничих приміщень від мікроорганізмів використовують різні бактерицидні лампи — джерела ультрафіолетового випромінювання. Отже, обираємо періодичність включення стельових бактерицидних ламп – 1 год після кожного генерального прибирання та 0,5 год кожного робочого дня (під час обідньої перерви) [29].

5.1.4. Особливості підготовки і стерилізації поживного середовища.

Максимальний синтез біомаси досягається за умов росту штаму *B. pulvifaciens* ВКПМ В-4348 на середовищі такого складу (г/л):

Підсирна сироватка – 275 мл (66 г сухої);

NaCl– 0,6;

NaCO₂– 0,6;

K₂HPO₄– 0,6;

(NH₄)₂MoO₄– 0,06

FeSO₄– 0,06 [32]

Згідно з даними попередніх розділів, виробничий біосинтез здійснюється у ферментері об'ємом 6,3 м³, який містить 3,33 м³ середовища.

Одержання інокуляту відбувається у 4 етапи(у колбах на качалці, великому та малому інокуляторах відповідно.

Приготування поживного середовища для вирощування інокуляту в колбах на качалках

Для вирощування початкового посівного матеріалу необхідно у колбах приготувати поживне середовище . Стерилізацію проводимо в автоклаві, через те, що об'єм поживного середовища невеликий.

Дане середовище ділимо на композиції залежно від режиму стерилізації окремих його складових.

Композиція А: NaCl, NaCO₂, KH₂PO₄(режим стерилізації 131°C протягом 40 хв);

Композиція Б: (NH₄)₂MoO₄, FeSO₄ (режим стерилізації 131°C протягом 40 хв) ;

Композиція В: Підсирна сироватка (режим стерилізації 112-115 °C впродовж 20 - 30 хв).

Приготування поживного середовища для вирощування інокуляту в інокуляторі об'ємом 6,3 л

Композиція А: Підсирна сироватка (режим стерилізації 112-115 °C впродовж 20 - 30 хв).

Композиція Б: NaCl, NaCO₂, KH₂PO₄, (NH₄)₂MoO₄, FeSO₄(режим стерилізації 131°C протягом 40 хв);

Приготування поживного середовища для вирощування інокуляту в інокуляторі об'ємом 63л

Композиція А: Підсирна сироватка (режим стерилізації 112-115 °C впродовж 20 - 30 хв).

Композиція Б: NaCl, NaCO₂, KH₂PO₄, (NH₄)₂MoO₄, FeSO₄(режим стерилізації 131°C протягом 40 хв);

Приготування поживного середовища для вирощування інокуляту в інокуляторі об'ємом 630 л

Композиція А: Підсирна сироватка (режим стерилізації 112-115 °С впродовж 20 - 30 хв).

Композиція Б: NaCl, NaCO₂, KH₂PO₄, (NH₄)₂MoO₄, FeSO₄ (режим стерилізації 131°С протягом 40 хв);

Приготування поживного середовища для вирощування *B. pulvifaciens* ВКПМ В-4348 у ферментері об'ємом 6,3 м³

Композиція А: Підсирна сироватка (режим стерилізації 112-115 °С впродовж 20 - 30 хв).

Композиція Б: NaCl, NaCO₂, KH₂PO₄, (NH₄)₂MoO₄, FeSO₄ (режим стерилізації 131°С протягом 40 хв);

5.2. Обґрунтування стадій виділення і очищення цільового продукту.

5.2.1. Обґрунтування стадії виділення цільового продукту

На сьогоднішній день застосовуються такі методи:

- a) фільтрація
- b) флотація
- c) центрифугування
- d) сепарація

Розглянемо всі ці методи і оберемо, який найбільше підходить для виділення біомаси *B. pulvifaciens* ВКПМ-В4348 від культуральної рідини.

Отже розглянемо ці методи:

Фільтрування – відділення твердої фази від рідкої шляхом проходження через фільтруючий матеріал чи через полімерну сітку з відповідним діаметром отворів.

Даний метод не актуальний для відділення біомаси *B.pulvifaciens* ВКПМ-В4348 тому що, він буде проходити довгий час, оскільки обробці піддається велика кількість культуральної рідини.

Недоліки процесу фільтрування заключаються у великих втратах біомаси за рахунок проходження частини клітин через пори фільтруючого матеріалу, через що пори засмічуються і потребують заміни та регенерації [33].

Флотація – це виділення з рідких твердих часток або часток іншої рідини за допомогою продування крізь неї газу. Флотація заснована на прилипанні часток, що треба виділити до пухирців газу[33].

Застосування методу флотації для відділення клітин *B.pulvifaciens* від культуральної рідини є недоцільним, оскільки він призначений для згущення більших та важчих клітин таких як дріжджі і мікроміцети. Крім того, ступінь очищення культуральної рідини від клітин за допомогою даного способу невисокий.

Центрифугування – процес зневоднення та розділення суспензій на рідку й тверду фази під дією відцентрових сил. Машини для здійснення таких операцій називаються центрифугами, що підрозділяються на *фільтруючі, осаджувальні та комбіновані (осаджувально-фільтруючі)* [33].

Метод центрифугування заснований на дії відцентрової сили на неоднорідної системи, яка складається з двох та більше фаз.

В промислових установках розділення під дією відцентрових сил застосовують для розділення часточок розміром від 0,5мкм до 25 мм. При розділенні суспензій у фільтруючих центрифугах у роторі під дією відцентрових сил відбувається фільтрація рідини через металеву сітку з одночасним затриманням твердої фази або через фільтрувальну тканину; рідка фаза проходить через сито і потім через отвори у роторі викидається в кожух центрифуги, а осад відвантажується або під час обертання ротору, чи після його зупинки.

Отже, такі методи концентрування, як мембранні фільтри та фільтрування не доцільно використовувати, оскільки неможливо досягти герметичності процесу, тривалий процес концентрування та неможливо автоматизувати процес, висока вартість фільтрів, потреба їх часто змінювати у зв'язку з закупорюванням пор фільтра біомасою.

Недоліки процесу центрифугування полягають у меншій ефективності у порівнянні з сепаруванням.

Сепарація – це процес, який оснований на відділенні часточок з різними характеристиками. Рушійною силою процесу сепарації являється відцентрова сила [33].

Ефективність сепарування пропорційна частоті обертів барабану, діаметру барабану, розміру часток, різниці густин твердої та рідкої фаз.

Сепаратори поділяються на 2 типи:

- освітлювачі: для розділення суспензій
- розділювачі: для розділення емульсій.

В даному випадку перевага буде надаватися сепараторам-освітлювачам, оскільки вони можуть розділяти культуральну рідину на рідку та тверду фази.

Переваги сепараторів:

- менші втрати біомаси порівняно із фільтруванням і флотацією;
- можливість автоматизувати процес;
- більша ефективність порівняно із центрифугуванням.

Найдоцільнішим буде використання, для відділення біомаси бацил, це сепарування, оскільки цей метод дозволяє забезпечити герметичність процесу та необхідність обробки великого об'єму біомаси за менший час, ніж фільтрування. Концентрування біомаси здійснюється 5-7 хвилин при 10 тис. об./хв. Це енергоємніший процес. Але він є найбільш доцільним та продуктивнішим у

відділенні біомаси бактерій. Ступінь очищення біомаси від культуральної рідини високий.

Проаналізувавши вище сказане, обираємо для відділення біомаси сепарування.

Тому відділення біомаси бактерій *B. pulvifaciens* від культуральної рідини відбудеться у сепараторі МВРХ 810Н . Повністю герметична сепарації система МВРХ 810Н використовується для видалення зважених часток розмірами від 0,5 до 500 мкм з рідини, яка має більш низьку щільність. Зміст суцких речовин зазвичай знаходиться в діапазоні 0,1-20% за обсягом. Основними областями застосування є сепарація бактерій, продуктів ДНК та ферментів, а також клітинних культур та вакцин.

Система є гнучкою, може цілком задовольняти різним галузевим стандартам.

- Встановлюється на фіксованій рамі з трубопроводами для технологічних рідин та продуктів.
- Для підтримки гігієни використовуються клямповане з'єднання.
- Автоматичне регулювання подачі розчину з допомогою магнітного витратоміра та регулюючого клапана.
- Розширена документація, що підтверджується GMP.
- Можливість автоматичної мийки на місці (CIP).
- Передвідправкою проводиться тестування з FAT.
- Система управління з PLC та HMI, та можливістю підключення (через Profibus або Ethernet) до центральної системи управління.



Рис.5.2.1.1.Промисловий сепаратор MBRX 810[34]

Виробник компанія BioTechnoGroup, Росія, Москва. Основні області застосування: сепарація бактерій, продуктів ДНК, ферментів, клітинних культур і вакцин.

Сепаратор MBRX 810H також використовується для промислових процесів ферментації, де мікробні клітини використовуються для виробництва кислот, хімікатів, палива та інші. Виробництва, в яких потрібно низький вміст кисню, також можуть скористатися перевагами герметичної конструкції сепаратора MBRX 810H.

Табл.5.2.1.1

Технічні показники сепаратора MBRX 810H

Показники	Значення
Максимальна пропускна здатність	600 л/год
Температура лінії середовища	0-100 °C
Обсяг ротора	15 л
Швидкість ротора	6250 об. / Хв.
Максимальне прискорення	8624 g
Встановлена потужність двигуна	15 / 18,5 кВт
Рівень звукового тиску	76 дБ (А)

Споживана потужність при продуктивності 600 л / год	12,5 кВт
Протока охолоджуючої води для ущільнення	120-160 л / год
Висота	1555 мм
Ротор	310 кг
Довжина	1620 мм
Ширина	1255 мм
Об'єм	4-5 м3

5.2.2. Обґрунтування вибору способу приготування кінцевої форми продукту.

Кінцевою формою препарату «Ендобактерин» є ліофільно висушений порошок, оскільки при ліофілізації не інактивуються клітини та більшим є термін зберігання препарату.

Для отримання сухого концентрату можуть застосовуватися наступні види сушіння :

- сушіння під атмосферний тиском чи під вакуумом.
- ліофілізація

Сушіння – процес видалення вологи шляхом її випаровування. У цьому процесі волога переходить з твердої фази в газову або парову і для її випару до матеріалу необхідно безупинно підводити тепло.

Розрізняють три принципово різних способи передачі тепла: теплопровідністю, переходом тепла всередині матеріалу від однієї молекули до іншої, що знаходиться з нею в контактi; тепловим випромінюванням- передачею тепла випромінюванням, радіацією; конвекцією - переносом тепла від однієї точки до іншої разом з масою речовини теплоносія. У реальних умовах має місце передача тепла комбінованим шляхом, але у залежності від типу сушарки переважає який-небудь один спосіб. Для сушіння різних матеріалів

застосовується різне устаткування, тому класифікація сушарок досить багатозначна. Їх можна підрозділити:

- за способом руху теплоносія та матеріалу – на прямоточні, протиточні та перехресні;
- за способами передачі на конвективні, контактні (барабанні), радіаційні та комбіновані; за видами на повітряні, газові та парові;
- за величиною тиску теплоносія в сушильні на атмосферні, високого тиску та вакумні;
- за режимом на сушарки безперервної і періодичної дії.

Недоліком даної операції являється контакт висушуваної речовини з високою температурою та як наслідок інактивація клітин мікроорганізму, що входить у продукт .

В залежності від тиску сушіння поділяють на вакумне і під атмосферним тиском [35].

Ліофілізація – це спосіб м'якого висушування речовин, при якому висушуваний препарат заморожується, а потім піддається сушінню вакуумній камері, де і відбувається сублімація розчинника. Рушійною силою процесу є різниця тисків та температури продукту, що сушиться та сушильного агента, що створює умови для видалення води з продукту при мінімальному його ушкодженні. Для забезпечення мінімального впливу на продукт під час заморожування перед ліофілізацією та заморозкою біомасу змішують з кріопротектором, який є складовою захисного середовища.

Метод ліофілізації дозволяє отримувати препарати, продукти без втрати їх структурної цілісності та біологічної активності. При ліофілізації більшість білків не піддається денатурації та може довго зберігатися при помірному охолодженні (близько 0 ° C). Ліофілізовані препарати при зволоженні відновлюють свої первинні властивості.

Недоліки ліофілізації - необхідність ретельної підготовки препарату до сушки, створення високого вакууму для повноти висихання, тривалість сушіння та досить високі енерговитрати зарахунок додаткових витрат на змішування біомаси та захисного середовища, процесу охолодження з градацією близько 1-3 °С на годину та підтримання роботи вакуумних насосів.

Ліофілізацію застосовують при необхідності тривалого зберігання та консервування різних продуктів біологічного походження, для одержання сухої плазми донорської крові, сухих сироваток і вакцин, при трансплантації органів та тканин, у харчовій та фармацевтичній промисловості. У системах життєзабезпечення космічного корабля ліофілізація застосовується як один з перспективних способів регенерації води з волого зберігаючих матеріалів [35,36].

Переваги ліофілізації:

- живі клітини, що поступають на ліофілізацію не інактивуються в процесі;
- висушений продукт зберігається досить тривалий термін;
- збереження дисперсної фази препарату;
- відсутність впливу високих температур.

У запропонованій технології виробництва пробіотичного препарату використовуються наступну операцію ліофілізацію [36].

Вибір ліофільної сушки

На ринку України представлені сушарки таких виробників, як Zirbus (Німеччина), Алси-ФТ (Росія), Ксирон-Холод (Росія), Martin Christ, Niro, Changzhou Yibu Drying Equipment (Китай), Biotron (Південна Корея). Обираємо пілотну ліофільну сушарку LP30R з можливістю задавати індивідуальну програму сушіння в автоматичному режимі. Відображення всіх функцій кожної системи на дисплеї в кольорі і в реальному часі. Сушарка має 6 полиць загальною площею 2 м². Здатні підключатись до автоматичних СІР-мийок. Двері мають ущільнювач, який зберігає стійкість температури всередині камери і підтримує вакуум. Розподіл температури відбувається рівномірно по всіх полицях[37].

Для вибору ліофільної сушарки потрібно знайти сумарний час роботи сушарки за цикл. Він складається з часу заморожування та власне часу сушіння.

Час заморожування йде з певним градієнтом, наприклад $-0,5 \text{ } ^\circ\text{C}/\text{хв}$. Аби понизити температуру суміші біомаси та захисного середовища з $T = 15 \text{ } ^\circ\text{C}$ до $-40 \text{ } ^\circ\text{C}$ необхідний час складе $65/0,5 = 130 \text{ хв}$ або 2,2 години. До даного часу додається час миття та підготовки до роботи: 1,5 год, час самого ліофільного висушування до визначеної вологості, який становить від 2,5 до 6,5 годин. Приймаємо 6,5 годин. Сумарний час сушіння буде становити: 10,2 години. Розрахунковий час ліофілізації не перевищує час ферментації.



Рис. 5.2.2.2. Пілотна ліофільна сушка LP30R

Таблиця 5.2.2.3

Технічні характеристики LP30R

Модель	LP30R
Завантаження сировини	30кг
Кількість полиць (шт)	6
Температура ($^\circ\text{C}$)	-75
Діапазон регулювання температури полки	від -60°C до $+75^\circ\text{C}$.
Потужність	44 кВт

При використанні ліофілізація потрібно використовувати захисне середовище для пробіотика для уникнення пошкодження клітин при заморожуванні.

Захисне середовище та обґрунтування його вибору

В даний час найбільш поширеним способом стабілізації бактеріальних культур у виробництві пробіотичних препаратів залишається ліофілізаційне висушування.

Продуктивність обладнання при такому сушінні відноситься до лімітуючих факторів, що визначають обсяг випуску пробіотиків. На ефективність використання техніки впливає тривалість циклу висушування того та іншого препарату.

Ця обставина диктує підвищені вимоги до захисних середовищ для ліофілізації, що повинні забезпечити при отриманні сухого препарату біопротективні та структуроутворюючі ефекти.

Доцільною буде розробка універсального варіанту захисного середовища, що може бути використана при отриманні пробіотиків на основі бактерій у вигляді сухої біомаси у флаконах.

Для мінімальної загибелі клітин склад кріопротектора для кожного виду бактерій повинен включати збалансований якісно та кількісно набір компонентів. При цьому істотне значення мають кількість клітин у бактеріальній суспензії, її евтектичні параметри, також характер температурного впливу при зневодненні та заморожуванні.

Уніфікація захисних середовищ, що застосовуються при виробництві пробіотиків, передбачає обмеження кількості використовуваних компонентів, необхідних в складі кріопротекторів для жорстких режимів сублімації.

При таких режимах висушування негативний біологічний та структуродеформуючий ефект нівелюється, як правило, збільшенням концентрації кріопротектора у бактеріальній суспензії. При цьому домогтися поліпшення

структури сухої біомаси значно складніше, ніж отримати необхідну кількість живих клітин в сухому препараті[38].

Таблиця 5.2.2.4

Вартість компонентів захисного середовища

Компоненти поживного середовища, г/л	Ціна компонента, грн./кг	Вартість компонента (грн.) на 1л середовища	Джерело інформації
Гідролізат казеїну- 20	300	6	[1]
Дріжджовий екстракт- 10	320	3,20	[1]
Глюкоза-20	40	0,8	[1]
Твін80 -2	160	0,32	[1]
Альгінат- 10	200	2	[1]
Вартість 1 л середовища -12,32 грн			
Компоненти поживного середовища, г/л	Ціна компонента, грн./кг	Вартість компонента (грн.) на 1л середовища	Джерело інформації
Сахароза - 100	40	4	[1]
Желатоза – 10	40	0,4	[1]
Аеросил - 30	160	4,8	[1]
Вода – 400	-	-	-
Вартість 1 л середовища -9,2 грн			

Примітка : 1- <https://prom.ua>.

Вибираємо середовище 2 варіанту. Вибір середовища базувався на урахуванні комплексної ефективності захисної дії, а також в тому числі на економічному характері. Всі компоненти не дорогі та є легко доступними в продажі.

Захисне середовище для ліофілізації з використанням таких компонентів як сахароза, желатоза та аеросил дозволяє максимально зберегти кількість мікробних клітин після заморожування та ліофільного висушування.

5.3. Обґрунтування допоміжних робіт для стадії виділення та очищення цільового продукту

Вибір обладнання для подрібнення та просіювання

Кінцевою формою препарату «Ендобактерин» є ліофільно висушений порошок, оскільки при ліофілізації не інактивуються клітини та більшим є термін зберігання препарату.

Процес ліофільного сушіння проводять у глибокому вакуумі. Матеріал на початкових стадіях сушки віддає частину вологи, охолоджується та самозаморожується. Потім у сушарку подається тепло та лід сублімує. Процес висушування ферментних осадів в сублімаційній сушарці проходить за три стадії: заморожування, осадка, сублімація льоду і видалення остаточної вологи. Тривалість висушування залежить від температури, товщини шару замороженого матеріалу, розрідження в камері, температури теплоносія та фізико-хімічних властивостей матеріалу, що висушується. Тривалість висушування в середньому складає 6-7 год і, як і після висушування у вакуум-сушильній шафі, препарат потрібно подрібнювати.

Подрібнювання являє собою процес механічного розподілу твердих тіл на частини. У результаті подрібнювання збільшується поверхня оброблюваних матеріалів, що дозволяє значно прискорити розчинення, хімічна взаємодія, виділення біологічно активних речовин з здрібненого матеріалу[39].

На сьогодні на ринку найбільшою популярністю користуються роторні сита, які забезпечують швидке і ефективно просіювання вологих та сухих матеріалів.

На ринку лідируючі позиції по обладнанню з просіювання займає компанія Glatt, що має в своєму асортименті роторне сито GSE, яке дозволяє отримати продукт однорідного гранулометричного складу при дробленні агломератів, гомогенізації та подрібненні порошків та гранулятів. Модульна конструкція сита спрощує його очищення та техобслуговування, а також інтеграцію із іншим обладнанням [40].



Рис. 5.3.3. Роторне сито GSE

Таблиця 5.3.5

Технічні характеристики GSE

Модель	GSE
Завантаження сировини	500кг
Діаметр завантажувальної воронки (мм)	Від 200 до 500
Діаметр розвантажувальної воронки (мм)	320
Потужність двигуна (кВт)	5

Вибір фасувального обладнання

Фасувальне обладнання служить для попереднього розміщення харчових та нехарчових продуктів, та упакування їх у споживчу тару.

Фасувальне обладнання класифікують за кількома ознаками: по області застосування розрізняють фасувальне обладнання, що використовується в харчовій і нехарчовій промисловості. За способом дії на матеріал фасувальне обладнання буває вертикальне, горизонтальне та горизонтально-вертикальне. За ступенем автоматизації фасувальне обладнання ділять на автоматичне, напівавтоматичне та ручне.

Сучасне фасувальне обладнання відрізняється високою продуктивністю, мікропроцесорним управлінням та надійністю. Компаній - виробників цього виду обладнання дуже багато, продукція їх різноманітна, тому нерідко виникає питання,

як правильно вибрати фасувальне обладнання та які чинники при цьому слід врахувати.

Високопродуктивна фасувальна машина PL520KB оснащена об'ємним дозатором та призначена для фасування у пакети однорідних та легко сипучих продуктів із стабільною насипною щільністю, які можна дозувати за об'ємом.



Рис. 5.3.4. Автоматична машина PL-520KB для фасування сипучих продуктів

Дану машину можна використовувати для фасування широкого асортименту сипучих, гранульованих, кристалізованих харчових продуктів, таких як крупи, цукор, сіль, кава, чай, насіння соняшника, а також нехарчових продуктів схожої структури: пральні порошки, будівельні матеріали та мінеральні добрива, тощо [41].

Табл.5.3.6

Технічні характеристики PL-520KB

Тип дозатора	об'ємний
Об'єм мірної чаші, л	50
Тип пакета	трьохшовний пакет «подушка»
Діапазон фасування, г	200...2000
Довжина пакета, мм	80 ... 350
Ширина пакета, мм	100 ... 250
Макс. ширина плівки, мм	520
Продуктивність, пакетів/хв	25 ... 40
Система керування	ПЛК із сенсорним екраном
Напруга живлення, В	380
Макс. споживана потужність, кВт	3.5
Подача повітря	0.8 Мпа, 0.6 м ³ /хв

У робочому циклі машина повністю автоматично виконує дозування продукту, виготовлення пакета, його наповнення і запаювання, друк даних на пакет.

Реактор для змішування біомаси з захисним середовищем та приготування захисного середовища.

Ємнісне реакційне обладнання підбирається у залежності від потрібного робочого об'єму компонентів та вибраного коефіцієнта заповнення. Відомо, що кількість біомаси, яка відділяється від культуральної рідини за один цикл становить:

$(1,6 \cdot 3000) / 1000 = 4,8$ кг сухої біомаси. Враховуючи вологість біомаси у 80-90 % до висушування її маса складе: 43,2 кг. Співвідношення кількостей захисне середовище : біомаса – 1:1. Коефіцієнт заповнення приймаємо 0,7

Розрахунок об'єму реактора збірника для приготування захисного середовища та змішування його з суспензією біомаси.

$$V_x = (43,2 \cdot 2) / 0,7 = 123 \text{ лл}$$

Для приготування захисного середовища та змішування його з біомасою обираємо реактор для приготування розчинів фармацевтичний на 120 л компанії «Промвіт» [42].



Рис. 5.3.5. Реактор для приготування розчинів фармацевтичний компанії «Промвіт»

Технічні характеристики реактора[42].

Робоча місткість	120 л
Потужність	9,5кВт
Робоча температура	10-105 °С

Підбір обладнання для подрібнення.

Ліофільно висушений продукт перед упаковкою необхідно буде піддавати подрібненню для цього зазвичай використовують молоткові дробарки. Кількість висушеного продукту орієнтовно буде становити 10-15 кг.

Обираємо молоткову дробарку МПЛ-150.



Рис 5.3.6. МПЛ-150 , дробарка[43].

Технічні характеристики реактора[43].

Робоча місткість	120 л
Продуктивність	1000 кг/год
Розміри дроблення	3- 50 мм

Враховуючи час на відділення біомаси, приготування захисного середовища, змішування біомаси та захисного середовища а також сушіння, подрібнення просіювання та пакування середній загальний час виділення складе 36 годин, що не перевищує часу біосинтезу. Це забезпечить відсутність простою обладання.

РОЗДІЛ 6. Матеріальний баланс і розрахунок обладнання.

Згідно з даними максимальна концентрація біомаси пробіотичного штаму накопичується при культивуванні *B. pulvifaciens* ВКІІМ В-4348.

Так як найчастіше підсирна сироватка- це рідка фракція, яка містить від 7 до 24 % сухих речовин в залежності від того чи піддавали її концентрування після віджиму. Приймаємо для подальших розрахунків як основний субстрат рідку концентровану підсирну сироватку з концентрацією сухих речовин 24 %. Враховуючи, що суха підсирна сироватка містить 93 % сухих речовин, а рідка 24 % можна розрахувати кількість рідкої сироватки відповідно до потреби у сухих речовинах сироватки відносно складу поживного середовища(при 66 г/л сухої сироватки, витрата рідкої становитиме 275 мл (г) рідкої сироватки.

Для вирощування посівного матеріалу використовують середовище

- C_1 Підсирна сироватка – 275 мл (66 г сухої);;
- C_2 NaCl– 0,6;
- C_3 NaCO₂– 0,6;
- C_4 K₂HPO₄– 0,6;
- C_5 (NH₄)₂MoO₄– 0,06
- C_5 FeSO₄– 0,06

Всього $C_{\Sigma\Pi} = 67,92$ г/л.

Для подальшого розрахунку приймаємо наступні показники:

- Час роботи ферментера $T_{цф} = 46$ год, що включає в себе допоміжні стадії тривалістю 10 годин та 36 годин ферментації;
- $K_1=1,1$ – коефіцієнт запасу часу, що враховує можливість нестерильних операцій;

					НУХТ БТЕК 04.02.28 КР ПЗ			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Піддубняк К.С.			РОЗДІЛ 6. Матеріальний баланс і розрахунок обладнання.	Літ.	Арк.	Акрушів
Керівник		Карлаш Ю.В.					46	11
Консультант						яп Кафедра БТМ		
Н. Контр.								
Затверд.		Пирог Т.П.						

- Сумарні втрати продукту при виробництві $E_{cb} = 0,15$;
- Вологість продукту 10 % (сухість 90%);
- Коефіцієнт заповнення ферментера $K_f = 0,6$;
- Коефіцієнт заповнення посівного апарата $K_{пп} = 0,6$;
- Коефіцієнт заповнення колб $K_{кол} = 0,2$;
- Коефіцієнт заповнення збірника $K_{зб} = (0,7)$.

6.1. Розрахунок кількості виробничих циклів для виробництва біомаси *B. pulvifaciens* ВКПМ В-4348.

Для забезпечення потреби у пробіотику Ендобактерин в Україні необхідно виробляти 350 кг біомаси на рік . Продуктивність продуцента становить($X_{кр}$): 1,6 г/л біомаси. Приймаємо вологість сухої біомаси 10 %, відповідно абсолютно сухої її буде $CP_{біом} = 90\%$.

1) Кількість продукту за цикл буде становити:

$$V_{цк} = (V_{гп} \times T_{цф}) / 24 \times Трд = 3,7 \text{ кг /цикл}$$

$T_{цф}$ – цикл роботи ферментера (46 год), що включає час біосинтезу(36 год), та час підготовки ферментера- 10 год, $Трд$ - кількість робочих днів на рік (180 днів), K_1 –коефіцієнт запасу, що враховує ймовірність нестерильних операцій. Підготовка ферментатора включає: миття та огляд-2 год, перевірка на герметичність-2 год, стерилізація – 2 год, охолодження – 1 год, завантаження середовища – 1,5 год, засів- 0,5 год, відвантаження культуральної рідини- 1 год.

3) Об`єм культуральної рідини, у якій можна отримати дану кількість біомаси(кг) за цикл з урахуванням втрат ($E_{cb} = 0,15$) буде становити:

$$V_{кр} = K_1 \times V_{цк} \times CP_{пр} / X_{кр} \times (1 - E_{cb}) = 1,2 \times 3,7 \times 0,90 / 1,60 \times (1 - 0,15) = 2,93 = 3,0 \text{ м}^3/\text{цикл}$$

4)Кількість циклів ферментації на рік :

$$N_{цк} = V_{гп} / V_{цк} = 350 / 3,7 = 94$$

5)Вихід продукту у кг з 1 м^3 :

$$q_{нат.} = V_{цк} / V_{кр} = 3,7 / 3,0 = 1,3 \text{ кг}$$

$T_{\text{цф}}$ – цикл роботи ферментера (170 год), що включає час біосинтезу (160 год) та час підготовки ферментера (10 год), K_1 – коефіцієнт запасу, що враховує ймовірність нестерильних операцій. Підготовка ферментатора включає: миття та огляд - 2 год, перевірка на герметичність - 2 год, стерилізація – 2 год, охолодження – 1 год, завантаження середовища – 1,5 год, засів - 0,5 год, відвантаження культуральної рідини - 1 год.

6.2. Приготування та стерилізація поживних середовищ для виробничого біосинтезу та вирощування посівного матеріалу.

6.2.1. Розрахунок об'ємів поживних середовищ для біосинтезу та вирощування посівного матеріалу та розрахунок кількості стадій підготовки посівного матеріалу.

За виробничий цикл отримують $V_{\text{кр}} = 3,0 \text{ м}^3$ культуральної рідини. Враховуючи втрати культуральної рідини в результаті краплевиносу через колектор $E_{\text{ф}}$ (10-15 %). приймаємо втрати 10 %

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

$$V_{\text{роб1}} = V_{\text{кр}} / (1 - E_{\text{ф}}) = 3,0 / (1 - 0,1) = 3,3 \text{ м}^3$$

Можливий геометричний об'єм буде становити:

$$V_{\text{ф}} = V_{\text{роб1}} / K_{\text{зап}} = 3,3 / 0,6 = 5,5$$

Приймаємо найближчий стандартний об'єм ферментер об'ємом $6,30 \text{ м}^3$

Уточнюємо прийнятий раніше коефіцієнт заповнення:

$$K_{\text{зап}} = 3,3 / 6,30 = 0,52$$

Кількість поживного середовища в ферментері з поправкою на інокулят у 10% ($X_{\text{ф}}$) буде становити:

$$V_{\text{пс1}} = V_{\text{роб1}} / (1 + X_{\text{ф}}) = 3,3 / (1 + 0,1) = 3 \text{ м}^3$$

Звідси кількість посівного матеріалу становить:

$$V_{\text{пм1}} = V_{\text{роб1}} - V_{\text{пс1}} = 3,3 - 3 = 0,3 \text{ м}^3$$

6.2.2. Розрахунок кількості компонентів поживного середовища для виробничого ферментера

Кількість поживного середовища в ферментері з поправкою на інокулят у 10% (Xф) буде становити:

$$V_{пс1} = V_{роб1} / (1 + X_{ф}) = 3,3 / (1 + 0,1) = 3 \text{ м}^3 (3000 \text{ л})$$

Звідси кількість посівного матеріалу становить:

$$V_{пм1} = V_{роб1} - V_{пс1} = 3,3 - 3 = 0,3 \text{ м}^3 (300 \text{ л})$$

Відповідно з прийнятим складом поживного середовища для виробничого біосинтезу, загальні витрати компонентів на визначений об'єм поживного середовища ($V_{псф}$) складуть :

$$G_{\phi} = V_{псф} \times C_{\Sigma\phi} = 276,3 \times 3 = 828,9 \text{ кг, а саме (кг):}$$

$$\text{Підсирна сироватка } G_1 = G_{\phi} \times C_1 / C_{\Sigma\phi} = 828,9 \times 275 / 276,3 = 825;$$

$$\text{NaCl } G_2 = G_{\phi} \times C_2 / C_{\Sigma\phi} = 828,9 \times 0,6 / 276,3 = 1,8 ;$$

$$\text{NaCO}_2 G_3 = G_{\phi} \times C_3 / C_{\Sigma\phi} = 828,9 \times 0,6 / 276,3 = 1,8;$$

$$\text{K}_2\text{HPO}_4 - G_4 = G_{\phi} \times C_4 / C_{\Sigma\phi} = 828,9 \times 0,6 / 276,3 = 1,8;$$

$$(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4 G_5 = G_{\phi} \times C_6 / C_{\Sigma\phi} = 828,9 \times 0,06 / 276,3 = 0,18;$$

$$\text{FeSO}_4 G_6 = G_{\phi} \times C_6 / C_{\Sigma\phi} = 828,9 \times 0,06 / 276,3 = 0,18;$$

6.2.3. Розрахунок кількості води для приготування поживного середовища для виробничого ферментера з 3 м³ поживного середовища

Оскільки об'єм поживного середовища у ферментері складає $V_{псф} = 3 \text{ м}^3$, кількість конденсату становитиме $V_{фк} = 3 \times 0,1 = 0,3 \text{ м}^3$.

Кількість води необхідної для розбавлення компонентів поживного середовища буде :

$$V_{вф} = V_{псф} - G_{\phi} - V_{фк} = 3 - 0,3 - 0,20376 = 2,496 \text{ м}^3 (2496 \text{ л})$$

Формуємо композиції:

Склад композицій для стерилізації поживного середовища для виробничому ферментера за допомогою збірників стерилізаторів

Таблиця 6.2.3

Об'єм середовища, яке необхідно приготувати	Концентрація, кг/ м ³	Вміст компонента в 3000 л середовища, кг, л	Композиція	Об'єм композиції, л
1	2	3	4	5
Підсина сироватка	275	825	А	2442
Вода		1373		
Конденсат, 10 %		244		
NaCL	0,6	1,8	Б	557,76
NaCO ₂	0.6	1.8		
K ₂ HPO ₄	0.6	1.8		
(NH ₄) ₂ MoO ₄	0.06	0,18		
FeSO ₄	0.06	0.18		
Вода		496		
Конденсат, 10 %		56		
Сума Σ	276,92	3000	-	3000

Примітка. Солі будуть готуватися у збірниках-ректорах а стерилізуватися буде у ферментері.

Об'єм композиції А до стерилізації = 2198 л

Об'єм композиції Б до стерилізації = 501.76 л

Загальний об'єм до стерилізації = 2699,76 л(2700) л

6.2.4. Розрахунок кількості компонентів поживного середовища для посівного апарата з поживним середовищем у кількості 0, 3 м³

Кількість поживного середовища та посівного матеріалу у посівному апараті становитиме:

$$V_{\text{роб } 2} = V_{\text{пм1}} / (1 - E_{\text{па}}) = 0,3 / (1 - 0,1) = 0,33 \text{ м}^3$$

Кількість поживного середовища в ферментері з поправкою на інокулят у 10% (X_{ϕ}) буде становити:

$$V_{\text{пс2}} = V_{\text{роб2}} / (1 + X_{\text{ПА}}) = 0,33 / (1 + 0,1) = 0,3 \text{ м}^3$$

Звідси кількість посівного матеріалу становить:

$$V_{\text{пм2}} = V_{\text{роб2}} - V_{\text{пс2}} = 0,33 - 0,3 = 0,030 \text{ м}^3 = 30 \text{ л}$$

Відповідно з прийнятим складом поживного середовища для посівного матеріалу, загальні витрати компонентів на визначений об'єм поживного середовища ($V_{\text{псф}}$) складуть:

$$G_{\phi} = V_{\text{псф}} \times C_{\Sigma\phi} = 276,92 \times 0,3 = 83,07 \text{ кг, а саме (кг):}$$

$$\text{Підсирна сироватка } G_1 = G_{\phi} \times C_1 / C_{\Sigma\phi} = 83,07 \times 275 / 276,92 = 82,5;$$

$$\text{NaCl } G_2 = G_{\phi} \times C_2 / C_{\Sigma\phi} = 83,07 \times 0,6 / 276,92 = 0,18 ;$$

$$\text{NaCO}_2 G_3 = G_{\phi} \times C_3 / C_{\Sigma\phi} = 83,07 \times 0,6 / 276,92 = 0,18;$$

$$\text{K}_2\text{HPO}_4 - G_4 = G_{\phi} \times C_4 / C_{\Sigma\phi} = 83,07 \times 0,6 / 276,92 = 0,18;$$

$$(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4 G_5 = G_{\phi} \times C_6 / C_{\Sigma\phi} = 83,07 \times 0,06 / 276,92 = 0,018;$$

$$\text{FeSO}_4 G_6 = G_{\phi} \times C_6 / C_{\Sigma\phi} = 83,07 \times 0,06 / 276,92 = 0,018;$$

6.2.5. Розрахунок кількості води для приготування поживного середовища для виробничого ферментера з 0,3 м³ поживного середовища (стерилізація в окремих стерилізаторах)

Оскільки об'єм поживного середовища у посівному апараті складає $V_{\text{псф}} = 0,422$ м, кількість конденсату становитиме $V_{\text{фк}} = 0,3 \times 0,1 = 0,03 \text{ м}^3$. Кількість води необхідної для розбавлення компонентів поживного середовища буде :

$$V_{\text{вф}} = V_{\text{псф}} - G_{\phi} - V_{\text{фк}} = 0,3 - 0,03 - 0,02037 - 0,03992 = 0,2496 \text{ м}^3 (249,6 \text{ л})$$

Формуємо композиції :

Склад композицій для стерилізації поживного середовища у кількості 300 л для посівного апарата (стерилізація в окремих стерилізаторах).

Об'єм середовища, яке необхідно приготувати	Концентрація, кг/ м ³	Вміст компонента в 300 л середовища, кг, л	Композиція	Об'єм композиції, л
1	2	3	4	5
Підсина сироватка	275	82,5	А	244,2
Вода		137,3		
Конденсат, 10 %		24,4		
NaCl	0,6	0,18	Б	55,776
NaCO ₂	0.6	0,18		
K ₂ HPO ₄	0.6	0,18		
(NH ₄) ₂ MoO ₄	0.06	0,018		
FeSO ₄	0.06	0.018		
Вода		49,6		
Конденсат, 10 %		5,6		
Сума Σ	276,92	300	-	300

**Примітка.* Солі будуть готуватися у збірниках-ректорах а стерилізуватися буде у ферментері.

Об'єм композиції А до стерилізації = 219,8 л

Об'єм композиції Б до стерилізації = 50,176 л

Загальний об'єм до стерилізації = 269,976 л(270) л

6.2.6. Розрахунок кількості компонентів поживного середовища для посівного апарата з поживним середовищем у кількості 39 л

Для одержання 0,03 м³ 30 л посівного матеріалу вираховуємо втрати у результаті краплевиносу через колектор відпрацьованого повітря. Приймаємо це за

10%. Тоді кількість поживного середовища та посівного матеріалу у посівному апараті становитиме:

$$V_{роб3} = V_{пм3} / (1 - E_{па}) = 30 / (1 - 0,1) = 33,3 \text{ л}$$

Кількість поживного середовища в ферментері з поправкою на інокулят у 10% (X_{ϕ}) буде становити:

$$V_{пс3} = V_{роб3} / (1 + X_{ПА}) = 33,3 / (1 + 0,1) = 30,3 \text{ л}$$

Звідси кількість посівного матеріалу становить:

$$V_{пм3} = V_{роб3} - V_{пс3} = 33,3 - 30,3 = 3 \text{ л}$$

Відповідно з прийнятим складом поживного середовища для виробничого біосинтезу, загальні витрати компонентів на визначений об'єм поживного середовища ($V_{пс\phi}$) складуть :

$$G_{\phi} = V_{пс\phi} \times C_{\Sigma\phi} = 276,92 \times 0,0303 = 8,39 \text{ кг, а саме (кг):}$$

$$\text{Підсирна сироватка } G_1 = G_{\phi} \times C_1 / C_{\Sigma\phi} = 8,39 \times 275 / 276,92 = 8,33;$$

$$\text{NaCl } G_2 = G_{\phi} \times C_2 / C_{\Sigma\phi} = 8,39 \times 0,6 / 276,92 = 0,018 ;$$

$$\text{NaCO}_2 G_3 = G_{\phi} \times C_3 / C_{\Sigma\phi} = 8,39 \times 0,6 / 276,92 = 0,018;$$

$$\text{K}_2\text{HPO}_4 - G_4 = G_{\phi} \times C_4 / C_{\Sigma\phi} = 8,39 \times 0,6 / 276,92 = 0,018;$$

$$(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4 G_5 = G_{\phi} \times C_6 / C_{\Sigma\phi} = 8,39 \times 0,06 / 276,92 = 0,0018;$$

$$\text{FeSO}_4 G_6 = G_{\phi} \times C_6 / C_{\Sigma\phi} = 8,39 \times 0,06 / 276,92 = 0,0018;$$

6.2.7. Розрахунок кількості води для приготування поживного середовища для виробничого ферментера з 30,3 л поживного середовищ

Оскільки об'єм поживного середовища у посівному апараті складає $V_{пс\phi} = 39,36$ л, кількість конденсату становитиме $V_{фк} = 30,3 \times 0,1 = 3,03$ л. Кількість води необхідної для розбавлення компонентів поживного середовища буде:

$$V_{в\phi} = V_{пс\phi} - G_{\phi} - V_{фк} = 30,3 - 3,03 - 2,057 = 25,2 \text{ л}$$

Формуємо композиції :

**Склад композицій для стерилізації поживного середовища у кількості 30,3 л
для посівного апарата**

Об'єм середовища, яке необхідно приготувати	Концентрація, кг/ м ³	Вміст компонента в 30,3 л середовища, кг, л	Композиція	Об'єм композиції, л
1	2	3	4	5
Підсина сироватка	66	8,33	А	24,46
Вода		13,67		
Конденсат, 10 %		2,46		
NaCL	0,6	0,018	Б	5,82
NaCO ₂	0.6	0,018		
K ₂ HPO ₄	0.6	0,018		
(NH ₄) ₂ MoO ₄	0.06	0,0018		
FeSO ₄	0.06	0.0018		
Вода		5,2		
Конденсат, 10 %		0,57		
Сума Σ	276,92	30,3	-	30,3

*Примітка. Солі будуть стерилізуватися у ферментері.

Об'єм композиції А до стерилізації = 22 л

Об'єм композиції Б до стерилізації = 5,2576 л

Загальний об'єм до стерилізації = 27,2576 л

6.2.8. Розрахунок кількості компонентів поживного середовища для посівного апарата з поживним середовищем у кількості 3,94 л

Для одержання 3 л посівного матеріалу вираховуємо втрати у результаті крапливиносу через колектор відпрацьованого повітря. Приймаємо це за 10%. Тоді кількість поживного середовища та посівного матеріалу у посівному апараті становитиме:

$$V_{роб4} = V_{пмз}/(1-E_{па}) = 3/(1-0,1) = 3,33 \text{ л}$$

Кількість поживного середовища в ферментері з поправкою на інокулят у 10% (X_{ϕ}) буде становити:

$$V_{пс4} = V_{роб4}/(1+X_{ПА}) = 3,33/(1+0,1) = 3,02 \text{ л}$$

Кількість посівного матеріалу:

$$3,33 - 3,02 \text{ л} = 0,31 \text{ л} = 310 \text{ мл}$$

Відповідно з прийнятим складом поживного середовища для виробничого біосинтезу, загальні витрати компонентів на визначений об'єм поживного середовища ($V_{псф}$) складуть:

$$G_{\phi} = V_{псф} \times C_{\Sigma\phi} = 276,92 \times 3,02 = 836,29 \text{ г},$$

$$\text{Підсирна сироватка } G_1 = G_{\phi} \times C_1 / C_{\Sigma\phi} = 836,29 \times 275 / 276,92 = 830,5 ;$$

$$\text{NaCl } G_2 = G_{\phi} \times C_2 / C_{\Sigma\phi} = 836,29 \times 0,6 / 276,92 = 1,81 ;$$

$$\text{NaCO}_2 G_3 = G_{\phi} \times C_3 / C_{\Sigma\phi} = 836,29 \times 0,6 / 276,92 = 1,81 ;$$

$$\text{K}_2\text{HPO}_4 - G_4 = G_{\phi} \times C_4 / C_{\Sigma\phi} = 836,29 \times 0,6 / 276,92 = 1,81 ;$$

$$(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4 G_5 = G_{\phi} \times C_6 / C_{\Sigma\phi} = 836,29 \times 0,06 / 276,92 = 0,181 ;$$

$$\text{FeSO}_4 G_6 = G_{\phi} \times C_6 / C_{\Sigma\phi} = 836,29 \times 0,06 / 276,92 = 0,181 ;$$

6.2.9. Розрахунок кількості води для приготування поживного середовища для виробничого ферментера з 3,02 л поживного середовищ (стерилізація в окремих стерилізаторах)

Оскільки об'єм поживного середовища у посівному апараті складає $V_{псф} = 3,02$ л, конденсат буде відсутній, оскільки компоненти поживного середовища будуть стерилізуватися в колбах в автоклаві. Кількість води необхідної для розбавлення компонентів поживного середовища буде :

$$V_{вф} = V_{псф} - G_{\phi} - V_{фк} = 3,02 - 0,20511 = 2,81 \text{ л} (2810 \text{ мл}).$$

Формуємо композиції :

Склад композицій для стерилізації поживного середовища у кількості 3,02 л для інокулятора (стерилізація в колбах)

Об'єм середовища, яке необхідно приготувати	Концентрація, кг/ м ³	Вміст компонента в 3.02 л(3020 мл) середовища, г, мл	Композиція	Об'єм композиції, мл
1	2	3	4	5
Підсина сироватка	275	830,5	А	2199
Вода		1368,5		
Конденсат, 10 %		-		
NaCL	0,6	1,81	Б	815,8
NaCO ₂	0.6	1,81		
K ₂ HPO ₄	0.6	1,81		
(NH ₄) ₂ MoO ₄	0.06	0,181		
FeSO ₄	0.06	0.181		
Вода		810		
Конденсат, 10 %		-		
Сума Σ	276,92	3,02 л	-	3,02 л

Компоненти готуються в колбах і стерилізуються в автоклаві, солі у колбі з попередньо пониженим рН.

6.2.10. Розрахунок кількості компонентів поживного середовища для вирощування у колбах на магнітній мішалці з поживним середовищем у кількості 310 мл

Кількість поживного середовища становить: 310 мл, кількість посівного матеріалу становить 31 мл.

Тоді кількість колб для отримання посівного матеріалу буде становити:

$$N = V_{\text{пм}2} / (V_{\text{колб}} * K_{\text{зк}}) = 310 / (750 * 0,2) = 2,06 \text{ обираємо 2 штуки.}$$

Відповідно з прийнятим складом поживного середовища для виробничого біосинтезу, загальні витрати компонентів на визначений об'єм поживного середовища ($V_{\text{псф}}$) складуть :

$$G_{\text{ф}} = V_{\text{псф}} \times C_{\Sigma\text{ф}} = 276,92 \times 0,31 = 85,84 \text{ г, а саме (кг):}$$

$$\text{Підсирна сироватка } G_1 = G_{\text{ф}} \times C_1 / C_{\Sigma\text{ф}} = 85,84 \times 275 / 276,92 = 84,25;$$

$$\text{NaCl } G_2 = G_{\text{ф}} \times C_2 / C_{\Sigma\text{ф}} = 85,84 \times 0,6 / 276,92 = 0,185 ;$$

$$\text{NaCO}_2 G_3 = G_{\text{ф}} \times C_3 / C_{\Sigma\text{ф}} = 85,84 \times 0,6 / 276,92 = 0,185 ;$$

$$\text{K}_2\text{HPO}_4 - G_4 = G_{\text{ф}} \times C_4 / C_{\Sigma\text{ф}} = 85,84 \times 0,6 / 276,92 = 0,185 ;$$

$$(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4 G_5 = G_{\text{ф}} \times C_6 / C_{\Sigma\text{ф}} = 85,84 \times 0,06 / 276,92 = 0,0185 ;$$

$$\text{FeSO}_4 G_6 = G_{\text{ф}} \times C_6 / C_{\Sigma\text{ф}} = 85,84 \times 0,06 / 276,92 = 0,0185 ;$$

6.2.11. Розрахунок кількості води для приготування поживного середовища для вирощування у колбах 400 мл на магнітній мішалці

Оскільки об'єм поживного середовища у посівному апараті складає $V_{\text{псф}} = 600$ л, конденсат буде відсутній, компоненти поживного середовища будуть стерилізуватися в колбах. Кількість води необхідної для розбавлення компонентів поживного середовища буде :

$$V_{\text{вф}} = V_{\text{псф}} - G_{\text{ф}} - V_{\text{фк}} = 310 - 21,05 = 288,95 \text{ мл.}$$

Формуємо композицій :

**Склад композицій для стерилізації поживного середовища у кількості 310
мл для посівного апарата (стерилізація в колбах)**

Об'єм середовища, яке необхідно приготувати	Концентрація, кг/ м ³	Вміст компонента в 3.02 л (3020 мл) середовища, г, мл	Композиція	Об'єм композиції, мл
1	2	3	4	5
Підсина сироватка	275	84,25	А	120,45
Вода		36,2		
Конденсат, 10 %		-		
NaCl	0,6	0,185	Б	100,55
NaCO ₂	0.6	0,185		
K ₂ HPO ₄	0.6	0,185		
Вода		100		
Конденсат, 10 %				
(NH ₄) ₂ MoO ₄	0.06	0,0185	В	88,937
FeSO ₄	0.06	0.0185		
Вода		88,9		
Конденсат, 10 %		-		
Сума Σ	276,92	310	-	310

Примітка: Компоненти готуються колбах і стерилізуються в автоклаві.

Матеріальний баланс на один цикл виробництва

№ з/п	Використано		Отримано	
	Назва сировини і напівпродукту	Кількість, кг, л	Назва кінцевого продукту, відходів та втрат	Кількість, кг, дм ³
1	2	3	4	5
1.	ПРИГОТУВАННЯ ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА ДЛЯ ВИРОЩУВАННЯ ІНОКУЛЯТУ В КОЛБАХ (МЛ, Г)			
1.1.	Підсирна сироватка	84,25	Нестерильне ПС	310
1.2.	NaCl	0,185		
1.3.	NaCO ₂	0,185		
1.4.	K ₂ HPO ₄	0,185		
1.5.	(NH ₄) ₂ MoO ₄	0,0185		
1.6.	FeSO ₄	0,0185		
1.7.	Вода	288,95		
	Всього:	310	Всього:	310
2.	СТЕРИЛІЗАЦІЯ ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА В АВТОКЛАВІ (МЛ)			
2.1.	Нестерильне ПС	310	Стерильне ПС	310
2.2.	Всього:	310	Всього:	310
3.	ОТРИМАННЯ ПОСІВНОГО МАТЕРІАЛУ ПІД ЧАС КУЛЬТИВУВАННЯ В КОЛБАХ (МЛ)			
3.1.	Стерильне ПС	310	Посівний матеріал	310
3.2.	Посівний матеріал	-		
3.3.	Всього:	310	Всього:	310

4.	ПРИГОТУВАННЯ ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА ДЛЯ ІНОКУЛЯТОРА НА 6,3 Л (Г, МЛ)			
4.1.	Підсирна сироватка	830,5	Нестерильне ПС	3020(3,02 л)
4.2.	NaCL	1,81		
4.3.	NaCO ₂	1,81		
4.4.	K ₂ HPO ₄	1.81		
4.5.	(NH ₄) ₂ MoO ₄	0,181		
4.6.	FeSO ₄	0,181		
4.7.	Вода	2178,5		
	Всього:	3020	Всього:	3020
5.	СТЕРИЛІЗАЦІЯ ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА ДЛЯ ІНОКУЛЯТОРА НА 6,3 л (МЛ)			
5.1.	Нестерильне ПС	3020	Стерильне ПС	3020
5.2.	Конденсат	0	(втрат немає)	0,0
5.3.	Всього:	3020	Всього:	3020
6.	ОТРИМАННЯ ПОСІВНОГО МАТЕРІАЛУ В ІНОКУЛЯТОРІ НА 6,3 Л (МЛ)			
6.1.	Стерильне ПС	3020	Посівний матеріал	3000(3 л)
6.3.	Посівний матеріал з колб на магнітній мішалці	310		
6.4.	Втрати (частка)	0,1	Втрати (кількість)	330
6.5.	Всього:	3330	Всього:	3330
7.	ПРИГОТУВАННЯ ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА ДЛЯ ПОСІВНОГО АПАРАТУ НА 63 Л (КГ, Л)			
7.1.	Підсирна сироватка	8,33	Нестерильне ПС	27,2576
7.2.	NaCL	0.018		

7.3.	NaCO ₂	0,018		
7.4.	K ₂ HPO ₄	0,018		
7.5	(NH ₄) ₂ MoO ₄	0,0018		
7.6	FeSO ₄	0,0018		
7.7	Вода	18,87		
	Всього:	27,2576	Всього:	27,2576
8.	СТЕРИЛІЗАЦІЯ ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА ДЛЯ ПОСІВНОГО АПАРАТУ НА 63 Л (Л)			
8.1.	Нестерильне ПС	27,2576	Стерильне ПС	30,3
8.2.	Конденсат	3,03	(втрат немає)	0,0
8.3	Всього:	30,3	Всього:	30,3
9.	ОДЕРЖАННЯ ПОСІВНОГО МАТЕРІАЛУ ПОСІВНОМУ АПАРАТІ НА 63 л (л)			
9.1.	Стерильне ПС	30,3	Посівний матеріал	30
9.2.	Посівний матеріал інокулятора	3		
9.3	Втрати (частка)	0,1	Втрати (кількість)	3,
9.4	Всього:	33,3	Всього:	33,3
10.	ПРИГОТУВАННЯ ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА ДЛЯ ВИРОЩУВАННЯ ІНОКУЛЯТУ ПОСІВНОМУ АПАРАТІ НА 0,63 М ³ (КГ, Л)			
10.1.	Підсирна сироватка	82,5	Нестерильне ПС	270

№ з/п	Використано		Отримано	
	Назва сировини і напівпродукту	Кількість, кг, л	Назвакінцевого продукту, відходів та втрат	Кількість, кг, дм ³
<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>
10.2.	NaCl	0,18		
10.3.	NaCO ₂	0,18		
10.4.	K ₂ HPO ₄	0,18		
10.5	(NH ₄) ₂ MoO ₄	0,018		
10.6	FeSO ₄	0,018		
10.5.	Вода	186,9		
10.6	Всього:	270	Всього:	270
12.	СТЕРИЛІЗАЦІЯ ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА ДЛЯ ВИРОЩУВАННЯ ІНОКУЛЯТУ ПОСІВНОМУ АПАРАТІ НА 0,63 М ³ (КГ, (Л))			
12.1.	Нестерильне ПС	270	Стерильне ПС	300
12.2	Конденсат	30	(втрат немає)	0,0
	Всього:	300	Всього:	300
13.	ОТРИМАННЯ ПОСІВНОГО МАТЕРІАЛУ ПІД ЧАС КУЛЬТИВУВАННЯ В ПОСІВНОМУ АПАРАТІ НА 0,63 М ³ (Л)			
13.1.	Стерильне ПС	300	Посівний матеріал	300
13.2.	Посівний матеріал	30		
13.3	Втрати(частика)	0,1	Втрати (кількість)	30
	Всього:	330	Всього:	330
14.	ПРИГОТУВАННЯ ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА ДЛЯ ВИРОБНИЧОГО БІОСИНТЕЗУ БІОМАСИ (КГ, Л)			

14.1.	Підсирна сироватка	825	Нестерильне ПС	2700
14.2	NaCl	1.8		
14.3.	NaCO ₂	1.8		
14.4.	K ₂ HPO ₄	1.8		
14.5.	(NH ₄) ₂ MoO ₄	0.18		
14.6	FeSO ₄	0.18		
14.7	Вода	1889		
	Всього:	2700	Всього:	2700
15.	СТЕРИЛІЗАЦІЯ ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА ДЛЯ БІОСИНТЕЗУ ЦІАНКОБАЛАМІНУ (М³)			
15.1.	Нестерильне ПС	2700	Стерильне ПС	3000
15.2.	Конденсат	300	(втрат немає)	0,0
15.3	Всього:	3000	Всього:	3000
16.	БІОСИНТЕЗ ВІТАМІНУ В₁₂ У ВИРОБНИЧОМУ ФЕРМЕНТЕРІ НА НА 6,3 М³ (М³)			
16.1.	Стерильне ПС	3000	Культуральна рідина	3000 (3 м ³)
16.3.	Посівний матеріал з посівного апарата	300		
16.4.	Втрати (частка)	0,1	Втрати (кількість)	300
16.5	Всього:	3300	Всього:	3300

6.3. Розрахунок технологічного обладнання

6.3.1. Уточнюючий розрахунок ферментаційного обладнання

Приблизний загальний геометричний об'єм ферментерів при заданому $K_3 = 0,6$:

$$V_{гф} = V_{ф}/K_3 = 3,3/0,6 = 5,5 \text{ м}^3$$

Обираємо ферментер найближчого об'єму 6,3 м³. Кількість виробничих ферментерів при заданому K_3 :

$$N_{фр} = V_{гф}/V_{нф} = 5,5/6.3 = 0,87 - \text{приймаємо } 1.$$

Уточнюємо коефіцієнт заповнення:

$$K_{зф} = V_{ф}/(V_{нф} \times N_{фр}) = 3,3/(6,3 \times 1) = 0,52$$

6.3.2 Уточнюючий розрахунок кількості посівних апаратів та інокуляторів

*Уточнюючий розрахунок посівного апарату при 4 стадіях приготування ПМ
(кількість ПМ і середовища 330 л)*

Приблизний загальний геометричний об'єм інокулятора при заданому $K_3 = 0,6$:

$$V_{гін} = V_{ін}/K_3 = 0,33/0,6 = 0,55 \text{ м}^3.$$

Обираємо промисловий ферментер $V_{ін} = 630 \text{ л} (0,63 \text{ м}^2)$ [21].

Кількість інокуляторів при заданому $K_{зін}$:

$$N_{інр} = V_{гін}/V_{нін} = 0,55/0,63 = 0,87 - \text{приймаємо } 1$$

Уточнюємо коефіцієнт заповнення:

$$K_{зін} = V_{ін}/(V_{нін}N_{інр}) = 0,33/(0,63 \times 1) = 0,52$$

Оскільки уточнений коефіцієнт заповнення не перевищує задані межі (0,5-0,7) приймаємо до установки інокуляторів $N_{інр} + 1$ запасний.

*Уточнюючий розрахунок посівного апарату 3 стадії приготування ПМ
(кількість ПМ і середовища 33,3 л)*

Приблизний загальний геометричний об'єм інокулятора при заданому $K_3 = 0,6$:

$$V_{гін} = V_{ін}/K_3 = 33,3/0,6 = 55,5 \text{ л.}$$

Як інокулятор обираємо пілотний ферментер компанії: $V_{ін} = 50 \text{ л}$. Кількість інокуляторів при заданому $K_{зін}$:

$$N_{інр} = V_{гін}/V_{нін} = 55,5/63 = 0,87 - \text{приймаємо } 1$$

Уточнюємо коефіцієнт заповнення:

$$K_{зін} = V_{ін}/(V_{нін}N_{інр}) = 33,3/(50 \times 1) = 0,66$$

Оскільки уточнений коефіцієнт заповнення не перевищує задані межі (0,5-0,7) приймаємо до установки інокуляторів $N_{інр} + 1$ запасний.

*Уточнюючий розрахунок інокулятора 2 стадії приготування ПМ (кількість
ПМ і середовища 3,33 л).*

Приблизний загальний геометричний об'єм інокулятора при заданому $K_3 = 0,6$:

$$V_{гін} = V_{ін}/K_3 = 3,33/0,6 = 5,55 \text{ л.}$$

Обираємо лабораторний ферментер на 5 л.

Кількість інокуляторів при заданому $K_{зін}$:

$$N_{інр} = V_{гін} / V_{інн} = 5,55/5 = 1,1 - \text{приймаємо } 1.$$

Уточнюємо коефіцієнт заповнення:

$$K_{зін} = V_{ін} / (V_{інн} N_{інр}) = 3,33/(5 \times 1) = 0,66$$

Оскільки уточнений коефіцієнт заповнення не перевищує задані межі (0,5-0,7) приймаємо до установки інокуляторів $N_{інр} + 1$ запасний.

4.2.4 Уточнюючий розрахунок кількості колб

Приблизний загальний необхідний об'єм колб при заданому $K_{колб} = 0,2$:

$$V_{гколб} = V_{колб} / K_{колб} = 310/0,2 = 1550 \text{ мл}$$

Об'єм 1 колби $V_{нколб} = 750$ мл. Кількість колб при заданому $K_{колб} = 0,2$:

$$N_{колб} = V_{гколб} / V_{нколб} = 1550/750 = 2,06, \text{ приймаємо } 2 \text{ колби.}$$

6.4 Уточнюючий розрахунок кількості реакторів-змішувачів для приготування середовища для виробничого біосинтезу в ферментері

Уточнюючий розрахунок реактора для приготування композицій А та для стерилізації в реакторах.

Підбираємо геометричний об'єм реактора-змішувача для приготування та стерилізації композиції А. Приблизний геометричний об'єм реактора-змішувача для УБС при заданому $K_{зб} = 0,7$:

$$V_{Апа} = V_{А} / K_{зб} = 2442/0,7 = 3488,5 \text{ л}$$

Обираємо реактор хімічний емальований місткістю $3,5 \text{ м}^3$ Кількість реакторів при заданому $K_{зб}$ становить :

$$N_{р} = V_{Апа} / V_{рст} = 3488,5/3500 = 0,99 - \text{приймаємо } 1.$$

Уточнюємо коефіцієнт заповнення реактора :

$$K_{зр} = V_{Апа} / (V_{рст} \times N_{р}) = 2442/3500 = 0,7$$

Оскільки уточнений коефіцієнт заповнення лежить в межах (0,7), приймаємо до установки кількість реакторів для приготування композиції А – 1 + 1 запасний (2 шт.).

Уточнюючий розрахунок реактора для приготування композицій Б

Підбираємо геометричний об'єм реактора-змішувача для приготування та стерилізації композиції А. Приблизний геометричний об'єм реактора- змішувача для УБС при заданому $K_{зб} = 0,7$:

$$V_{Апа} = V_A/K_{зб} = 561,7/0,7 = 802,4$$

Обираємо реактор хімічний емальований місткістю 1000 л

Кількість реакторів при заданому $K_{зб}$ становить :

$$N_p = V_{Апа}/V_{рст} = 802,4/1000 = 0,8 - \text{приймаємо } 1.$$

Уточнюємо коефіцієнт заповнення реактора :

$$K_{зр} = V_{Апа}/(V_{рст} \times N_p) = 561,7/1000 = 0,56$$

Приймаємо до установки кількість реакторів для приготування композиції А – 1 + 1 запасний (2 шт.).

Уточнюючий розрахунок реакторів-змішувачів для приготування композиції А і Б для ферментера з кількістю поживного середовища 330 л.

Композиція А

Підбираємо геометричний об'єм реактора-змішувача для приготування та стерилізації композиції А. Приблизний геометричний об'єм реактора-змішувача при заданому $K_{зб} = 0,7$:

$$V_{Апа} = V_A/K_{зб} = 244,2/0,7 = 348,8 \text{ л.}$$

Обираємо реактор із нержавіючої сталі на 400 л

Кількість реакторів при заданому $K_{зб}$ становить:

$$N_p = V_{Апа}/V_{рст} = 348,8/400 = 0,87 - \text{приймаємо } 1 .$$

Уточнюємо коефіцієнт заповнення реактора :

$$K_{зр} = V_{Апа}/(V_{рст} \times N_p) = 244,2/(400 \times 1) = 0,61$$

Оскільки уточнений коефіцієнт заповнення лежить в заданих межах (0,7 – 0,9), приймаємо до установки кількість реакторів для приготування композиції А – 1 + 1 запасний (2 шт.).

Композиція Б

Підбираємо геометричний об'єм реактора-змішувача для приготування та стерилізації композиції Б. Приблизний геометричний об'єм реактора-змішувача при заданому $K_{зб} = 0,6 \dots 0,9$:

$$V_{\text{Апа}} = V_{\text{А}}/K_{36} = 55,77/0,7 = 79,57 \text{ л.}$$

Обираємо реактор із нержавіючої сталі на 100 л.

Кількість реакторів при заданому K_{36} становить:

$$N_p = V_{\text{Апа}}/V_{\text{рст}} = 79,57/100 = 0,8 - \text{приймаємо } 1.$$

Уточнюємо коефіцієнт заповнення реактора :

$$K_{3p} = V_{\text{Апа}}/(V_{\text{рст}} \times N_p) = 55,77/(100 \times 1) = 0,55$$

Оскільки уточнений коефіцієнт заповнення лежить в заданих межах (0,6 – 0,9), приймаємо до установки кількість реакторів для приготування композиції А – 1 + 1 запасний (2 шт.).

Уточнюючий розрахунок реакторів-змішувачів для приготування композиції А і В для ферментера з кількістю поживного середовища 33 л.

Композиція А

Підбираємо геометричний об'єм реактора-змішувача для приготування та стерилізації композиції А. Приблизний геометричний об'єм реактора-змішувача при заданому $K_{36} = 0,7$:

$$V_{\text{Апа}} = V_{\text{А}}/K_{36} = 24,46/0,7 = 35 \text{ л.}$$

Обираємо реактор змішувач фірми «Промвіт» на 50 л об'ємом [26]. Кількість реакторів при заданому K_{36} становить:

$$N_p = V_{\text{Апа}}/V_{\text{рст}} = 35/50 = 0,7 - \text{приймаємо } 1.$$

Уточнюємо коефіцієнт заповнення реактора :

$$K_{3p} = V_{\text{Апа}}/(V_{\text{рст}} \times N_p) = 24,46/(50 \times 1) = 0,48$$

Оскільки уточнений коефіцієнт заповнення лежить в заданих межах (0,7 – 0,9), приймаємо до установки кількість реакторів для приготування композиції А – 1 + 1 запасний (2 шт.).

Композиція В

Підбираємо геометричний об'єм реактора-змішувача для приготування та стерилізації композиції А. Приблизний геометричний об'єм реактора-змішувача при заданому $K_{36} = 0,7$:

$$V_{\text{Апа}} = V_{\text{А}}/K_{36} = 5,82/0,7 = 8,31 \text{ л.}$$

Обираємо реактор змішувач на 10 л об'ємом.

Кількість реакторів при заданому $K_{зб}$ становить:

$$N_p = V_{\text{Апа}}/V_{\text{рст}} = 8,31/10 = 0,83 - \text{приймаємо } 1 .$$

Уточнюємо коефіцієнт заповнення реактора:

$$K_{зр} = V_{\text{Апа}}/(V_{\text{рст}} \times N_p) = 5,82/(10 \times 1) = 0,58$$

Приймаємо до установки кількість реакторів для приготування композиції А – 1 + 1 запасний (2 шт).

РОЗДІЛ 7. Специфікація обладнання

Специфікація обладнання ділянки допоміжних робіт та виробничого біосинтезу, яке зображене на апаратурній схемі, наведена в табл. 7.1.1

Таблиця 7.1.1

Специфікація обладнання ділянки допоміжних робіт та виробничого біосинтезу пробіотику Ендобактерин

Позиція	Найменування	Кіл-сть	Виробник, марка	Технічна характеристика
1	2	3	4	5
СП 1	СП мийка	1	СП-мийка ТЕСМО-М ¹	<p>СП-мийка ТЕСМО-М обладнана: реактором-змішувачем для миючого розчину, ємність для відпрацьованого миючого розчину, дозатор і двома насосами. Підтримка температури розчину під час мийки є ключовим фактором для завершення мийки у межах розумного часу.</p> <p>У системах СП-мийки передбачена можливість контролю температури подачі чи відведення миючої рідини, що гарантує досягнення необхідної температури в ході дезінфекції лінії.</p> <p>У ручних та автоматичних системах дозування хімічних засобів відбувається за допомогою високоякісних одноголовочная дозуючих насосів, для гарантії високої опірності до корозії та надійності [22].</p>

					НУХТ БТЕК 04.02.28 КР ПЗ			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Піддубняк К.С.			РОЗДІЛ 7. Специфікація обладнання	Літ.	Арк.	Акрушів
Керівник		Карлаш Ю.В.					100	5
Консультант						Кафедра БТМ		
Н. Контр.								
Затверд.		Пирог Т.П.						

ПЗ – 2	Повітрозабірник	1	Фірма: ООО «НПЦ Вектор-Кондвент». Виробник: Україна ²	Пристрій збірний, обладнаний металевою сіткою для видалення механічних забруднень. Фірма: ООО «НПЦ Вектор-Кондвент». Виробник: Україна [23].
Ф – 3	Фільтр грубої очистки повітря	1	Виробник Україна ³	Фільтр першого ступеня очистки типу ФЯП, Фільтруючий матеріал – мати з скловолокна, Е = 80 %, продуктивність – 1530 м ³ /год [24].
К – 4	Компресор	1	"Атлас Копко" ⁴	Безмасляний компресор <i>LFxR 0.7-1.0</i> компанії "Атлас Копко": максимальний тиск 10Бар, продуктивність 3.67 - 4.97 м ³ /хв [25].
Т – 5	Теплообмінник-охолоджувач	1	«Parasol», (Німеччина) ⁵	Теплообмінник-охолоджувач серії Swegon фірми «Parasol», (Німеччина) продуктивність 63 м ³ /год [26].
Р – 6	Ресивер	1	ООО «Компресормаш-сервис» ⁶	Ресивер повітряний фірми ООО «Компресормаш-сервис», об'єм 1000 л, робочий тиск 16 атм [27].
Т – 7	Теплообмінник нагрівач	1	"DEFRO NP" ⁷	Теплообмінник нагрівач серії NP70 фірми "DEFRO NP", потік повітря 8268 м ³ /год, потужність 500 Вт, виготовлений із високоякісної котлової сталі [28].
Ф – 8	Фільтр тонкої очистки	1	Виробник Україна ⁸	Модель фільтра FMW. Ступінь очищення повітря з точністю 99%. Продуктивність фільтра складає 3400 м ³ /год [29].
Р – 10 Р – 12 Р – 14 Р – 17 Р – 19 Р – 22	Реактор змішувач	6	Виробник: Україна ⁹	Реактор-змішувач, оснащений сорочкою та перемішувальним пристроєм (100 об/хв), виготовлений зі сталі 12Х18Н10Т. Реактори-змішувачі об'ємом -10л, 35л, 100л, 400л, 1000л, 3500л. Виробник: Україна [30].
Д – 9 Д – 11 Д – 13 Д – 16 Д – 18 Д – 21	Об'ємно-ваговий дозатор	6	НВП "Техноваги" ¹⁰	Дозатор виробництва НВП "Техноваги" призначений для дозування сипких продуктів по вазі. Точність зважування становить 0,1% [31]
Ф – 24 Ф – 25 Ф – 28 Ф – 29 Ф – 31	Індивідуальний фільтр очистки повітря	6	Microfluor®П ¹¹	Microfluor®П Стерилізуючі фільтри із фторопласта. Ступінь очищення повітря фільтром становить 99,999 %.[32].

Ф – 32 Ф – 34 Ф – 35				
Н – 15 Н – 20 Н – 23	Насос відцентровий	3	Фірма «Grundfos» ¹²	Насос відцентровий герметичний з нержавіючої сталі Насос 25/50К-5,5-5. Продуктивність : Н15 - 50м ³ /год, Н20 – 60м ³ /год, Н23- 100м ³ /год. Потужність 0,5-5,5 кВт. Фірма «Grundfos» [33].
Н-37	Насос перистальтичний	1	Виробник Україна ¹³	Перистальтичні насоси високого тиску серії FPSH - промисловий насос, розрахований на цілодобову роботу. Продуктивність до 150 м ³ / год та тиском до 15 бар. Цей тип насоса може працювати у режимі «сухого ходу», не має ущільнень, є реверсивним, самовсмоктувальним та володіє високою всмоктуючою здатністю. Два ролика чи два черевика поперемінно стискають трубку, доступну із дванадцяти різних еластичних матеріалів для максимально широкого спектра застосувань в найрізноманітніших галузях промисловості. Насос розрахований для безперервної цілодобової експлуатації із в'язкими, абразивними продуктами, із твердими частинками, для перекачування чи дозування. [34].
ІН – 27 ІН – 30 ІН – 33	Інокулятор	3	Фірма «BIOSTAT® Cplus» ¹⁴	Біореактор фірми «BIOSTAT® Cplus», геометричний об'єм 10 л, 80л, 0,63м ³ , та швидкість перемішування 20–1500об/хв, потужність 800Вт[35]
ФР – 36	Ферментер	1	Фірма «BIOSTAT D-DCU» ¹⁵	Ферментер фірми «BIOSTAT D-DCU», геометричний об'єм 6,3м ³ , максимальна робоча температура + 150 0С, потужність двигуна 3 до 15 кВт, додатково має вставку із кільцеподібних ланок, закріплених на лопатях перемішувального пристрою[36].
36-37	Реактор для зберігання культуральної рідини	1	Виробник: «Промвіт» (Україна) ¹⁶	Реактор-змішувач об'ємом 100 л оснащений сорочкою і перемішувальним пристроєм (20 — 200 об/хв), сталь н/ж . Виробник: «Промвіт» (Україна)

Н-38 Н-39	Насос відцентровий	2	Виробник: «Дебем» (Україна) ¹⁷	Насос відцентровий Debem MB 120. Продуктивність насосу 25,0 м ³ /год, матеріал поліпропілен (PP/PVDF).
СП-40	Сепаратор	1	МВРХ 810Виробник: “ Bio Techno Group” (Росія) ¹⁸	Промисловий сепаратора МВРХ 810. Геометрична місткість 15 л. Проток max: 600 л/год.
Р-41	Реактор	1	«Промвіт» ¹⁶	Місткість реактора 120л
СС-42	Сублімаційна сушарка LP30	1	BIORUS® ¹⁹	Завантаження сировини 30кг Потужність двигуна (кВт) - 44
Д-43	Дробарка молоткова	1	Фірма «Мэйк ООО» ²⁰	Продуктивність до 1000 кг/год, розмір частинок 3-50 мм
РС-44	Роторне сито GSE	1	Фірма «Glatt», Німеччина ²¹	Швидкість ротора – до 800 об/хв
ФУА- 45	Високопродуктивна фасувальна машина PL520KB	1	ПрАТ «КОЗАК+», Україна ²²	Споживана потужність до 40 пакетів/хв. Вага 1000 кг
ПМ-46	Пакувальна машина	1	ТЕКА V3 ²³	Електродвигун 220/340 -0,18, габарити 1950x2250x1100

Примітка:

1. <http://www.technowagy.com.ua> (СІР-мойка.) [44].
2. <https://www.c-o-k.ru> (Пристрій забірний) [45].
3. <http://www.airpol.com.ua> (Фільтр першого ступеня очистки) [46].
4. <http://atlas-co.ru> (Безмасляний компресорLFxR) [47].
5. <https://promvit.com.ua> (Теплообмінник-охолоджувач серії Swegon фірми «Parasol») [48].
6. <https://kompresormash.com> (Ресивер повітряний) [49].
7. <http://defro.ua> (Теплообмінник нагрівач) [50].
8. <http://www.airpol.com.ua> (Модель фільтра FMW) [51].
9. <http://defro.ua> (Реактор-змішувач) [52].
10. <http://www.technowagy.com.ua> (Дозатор) [53].
11. <http://www.airpol.com.ua> (Microfluor®II Стерилізуючі фільтри) [54].
12. <https://ua.grundfos.com> (Насос відцентровий) [55].
13. <http://lutz.com.ua> (Насос перистальтичний) [56].
14. <http://www.sartogosm.ru> (Біореактор фірми «BIOSTAT® Cplus») [57].
15. <http://www.sartogosm.ru> (Ферментер фірми «BIOSTAT D-DCU») [58].
16. <http://promvit.com.ua> («Промвіт», ємінісне обладнання, реактор) [59, 52].
17. www.debem.com.ua (Насоси, «Debem») [60].
18. <https://biotechno.ru>(BioTechnoGroup” сепаратор); [34].
19. <https://bio-rus.ru> (ліофільна сушка) [37].
20. <https://zakupka.com> (Дробарка) [43].
21. <https://www.glatt.com> (Роторне сито GSE) [40].
22. <https://kozakplus.ua> (PL520KB) [41].
23. <https://www.teka.kiev.ua> (Пакувальна машина ТЕКА V3) [61].

РОЗДІЛ 8. Опис технологічної схеми

ДР 1. Санітарна підготовка виробництва

ДР 1.1 Підготовка персоналу

Організація та функціонування відповідної системи якості, належне виробництво лікарських засобів залежать від людей. Тому необхідна достатня кількість кваліфікованого персоналу для вирішення всіх завдань, які знаходяться у сфері відповідальності виробника. Кожен співробітник повинен чітко розуміти індивідуальну відповідальність, що має бути документована. Весь персонал повинен пройти первинне та подальше навчання відповідно до його обов'язків, включаючи інструктаж із виконання гігієнічних вимог, а також знати принципи GMP, які стосуються його діяльності. При зарахуванні на роботу персонал повинен пройти медичний огляд. У виробничих зонах потрібно носити відповідний захисний одяг. Не дозволяється пити, їсти, палити, зберігати їжу та напої, тютюнові вироби чи особисті лікарські засоби у виробничих зонах. Працівник з відкритими ранами, а також інфекційним захворюванням по-можливості не має бути зайнятий в виробництві лікарських засобів.

Підприємство саме забезпечує навчання персоналу. На підприємстві існують такі види навчань:

- **Основне навчання:** персонал ознайомлюється з теорією і практикою; проводиться один раз в рік;
- **Вхідне навчання:** проводиться по мірі необхідності, при найманні на певну посаду нового співробітника;
- **Подальше навчання:** здійснюється систематично із подальшим оцінюванням практичної ефективності проведених навчань.

Для миття рук персоналу використовують мило: туалетне чи господарське, для дезінфекції – 76% етиловий спирт.

					НУХТ БТЕК 04.02.28 КР ПЗ			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Піддубняк К.С.			РОЗДІЛ 8. Опис технологічної схеми	Літ.	Арк.	Акрушів
Керівник		Карлаш Ю.В.					104	15
Консультант								107
Н. Контр.						Кафедра БТМ		
Затверд.		Пирог Т.П.						

ДР 1.2. Підготовка мийних та дезинфікуючих засобів.

ДР1.2.1. Приготування мийно-дезинфікуючого розчину кальцинованої соди.

Робочий розчин кальцинованої соди (2 %) готують в установці СІР-мийка. Для цього зважують за допомогою об'ємно-вагового дозатора кількість каустичної соди та розбавляють водою.

ДР 1.2.2. Приготування мийно-дезинфікуючого розчину «Біомой».

Зі складу надходить концентрат Біомой, який розводять водою до потрібної концентрації (0,5 %). Щоб отримати (0,5 %) розчину Біомой, його розводять водопровідною водою.

ДР 1.3. Підготовка виробничих приміщень.

ДР 1.3.1. Щоденне прибирання приміщень

Щоденне прибирання приміщень проводять після кожної зміни вологим способом. Його проводять у виробничих, лабораторних, підсобних і побутових приміщеннях. При проведенні вологого прибирання використовують 0,5 % робочий розчин Біомой (від ДР 2.1.2).

ДР 1.3.2 Генеральне прибирання приміщень.

Генеральне прибирання проводять раз у місяць 0,5 %-м робочим розчином «Біомой» (від ДР 2.1.2.). Стіни, двері, стелі, та інші поверхні зрошують з гідропульту 0,5 % розчином Біомой з розрахунку 100 мл/м². Після закінчення зрошення приміщення закривають на 30-40 хвилин, після цього вилучають надлишок розчину за допомогою губки. Особливо забруднені місця додатково миють цим же розчином.

ДР 1.4. Підготовка обладнання та комунікацій.

ДР 1.4.1. Миття обладнання

Для миття ємнісного обладнання використовують станцію СІР – мийки(СМ 1), питну воду і 2 %-й робочий розчин кальцинованої соди (від ДР 1.1.1.).

ДР 1.4.2. Ополіскування обладнання

Ополіскування здійснюють водою, протягом 30 хвилин, для виключення можливості нанесення шкоди здоров'ю персоналу розчином лугу.

ДР 1.4.3. Технічний огляд

Перед процесом стерилізації обов'язковим елементом підготовки є перевірка якості проведених робіт для цього як правило проводять технічний огляд та перевірку на герметичність з метою виявлення можливих неущільнень в комунікаціях та запірній арматурі на обладнанні. У разі їх знаходження проводять підтягування різьбових з'єднань.

ДР 1.4.4. Перевірка на герметичність

Для перевірки обладнання на герметичність в апарат вносять невелику кількість легкої галогенвмісної речовини (дифторхлорметан). Далі закривають усю запірну арматуру ємнісного обладнання і подають стерильне аераційне повітря до рівня надлишкового тиску $P = 0,1-0,2$ МПа. Потім перекривають вентиль подачі повітря і фіксують показання манометра на кришці апарату та час витримки (30-60 хв) в спеціальному операційному журналі. Після закінчення часу витримки звіряють покази манометра, якщо різниця менше 0,01 МПа, то апарат вважають герметичним. При більшому відхиленні за допомогою галогенного течіспошукача починають пошук неущільнень шляхом перевірки усіх місць з'єднань. При наближенні щупа течіспошукача до місця нещільності фіксуються пари галогенвмісної речовини, що засвідчує наявність нещільності. При знаходженні усіх таких місць їх усувають шляхом підтягування різьбових з'єднань або замінюють прокладки. Потім апарат знову перевіряють на герметичність.

ДР 1.4.5. Стерилізація обладнання

Для проведення стерилізації в сорочку апарата подають глуху пару і нагрівають його до 80–90 °С. Відкривають усю запірну арматуру на відкритих трубних закінченнях та підведених до апарата комунікаціях і подають гостру пару безпосередньо в апарат через нижній спуск, при цьому обов'язково відкривають вентиль виходу відпрацьованого повітря для видалення повітря з апарату. При досягненні температури стерилізації (130–135 °С) всю запірну арматуру, крім парової, закривають і витримують протягом 1 години. Після завершення витримки парову арматуру закривають, подають в апарат стерильне повітря, а в сорочку

холодну воду. Процес охолодження здійснюють до досягнення температури 30–40 °С і надлишкового тиску $P = 0,003\text{--}0,005$ МПа.

ДР 2. Підготовка аераційного повітря

ДР 2.1. Забір повітря

Забір атмосферного повітря здійснюють на висоті 2-3 м від найвищого приміщення за допомогою пристрою для забору повітря.

ДР 2.2. Попереднє грубе очищення

Повітря очищується від грубого аерозолі на фільтрі грубої очистки (Φ -3). Ступінь очищення – 90 %.

ДР 2.3. Стиснення повітря

Повітря стискають у компресорі до 0,35 МПа, стиснення повітря в компресорі (K -4) призводить до підвищення його температури до 120–250 °С і збільшення вмісту вологи.

ДР 2.4. Охолодження повітря

Стиснене повітря «переохолоджують» в теплообміннику-охолоджувачі (T -5) повітря до температури 25 °С для відведення надлишкової вологи.

ДР 2.5. Видалення зайвої вологи

Повітря подають на ресивер (P -6) для згладжування пульсацій і відділення зайвої вологи ($W = 60$ %).

ДР 2.6. Нагрівання повітря

Охоложене повітря підігрівають в теплообміннику- нагрівачі (T -7) до 35 °С для унеможливлення конденсації пари на волокнах головного та індивідуальних фільтрів.

ДР 2.7. Очищення на головному фільтрі

У головному фільтрі тонкої очистки (Φ -8)здійснюють попереднє очищення повітря від мікроорганізмів. Ступінь очищення – 96 %. Заміна фільтрувального матеріалу проводиться 2 рази на рік. У разі забруднення, зволоження, чи інфікування фільтруючого матеріалу проводять позачергову його заміну.

ДР 2.8. Очищення повітря в індивідуальному фільтрі

Всі інокулятори і ферментер оснащені індивідуальними фільтрами для заключної очистки повітря. Ступінь очищення досягає 99,999 %.

ДР 3. Приготування та стерилізація поживних середовищ

ДР 3.1. Приготування композиції захисного середовища.

Зважують – всі компоненти захисного середовища. У реактор (P-41) додають необхідну кількість води, нагрівають до 40 °С та послідовно додають компоненти один по одному при перемішуванні 120 об/хв до повного розчинення. Після розчинення компонентів охолоджують до кімнатної температури

ДР 3.2. Приготування і стерилізація поживного середовища для вирощування інокуляту в колбах на качалках

Розрахунок необхідних кількостей компонентів для приготування середовища для вирощування посівного матеріалу в колбах на качалках наведений у *табл. 8.3.1.*

Таблиця 8.3.1

Об'єм середовища, яке необхідно приготувати	Концентрація, кг/ м ³	Вміст компонента в 310 мл середовища, г,мл	Композиція	Об'єм композиції, мл
1	2	3	4	5
Підсина сироватка	275	84,25	А	120,45
Вода		36,2		
Конденсат, 10 %		-		
NaCl	0,6	0,185	Б	100,55
NaCO ₂	0.6	0,185		
K ₂ HPO ₄	0.6	0,185		
Вода		100		
Конденсат, 10 %				
(NH ₄) ₂ MoO ₄	0.06	0,0185	В	88,937
FeSO ₄	0.06	0.0185		
Вода		88,9		
Конденсат, 10 %		-		
Сума Σ	276,92	310	-	310

ДР 3.2.1. Приготування і стерилізація композиції А

Вимірюють 84,25 мл підсирної сироватки і поміщають в колбу об'ємом 1 л., додають 36,2 мл води, після чого закривають колбу ватно-марлевою пробкою і стерилізують в автоклаві з режимом стерилізації 112°C 30хв.

ДР 3.2.2. Приготування і стерилізація композиції Б

На технічних вагах зважують 0,185 г NaCO_2 , iNaCl , K_2HPO_4 потім поміщають в колбу, доливають 100 мл води і перемішують до повного розчинення солей, колбу закривають ватно-марлевою пробкою, потім стерилізують у автоклаві з режимом стерилізації 131°C протягом 40 хв.

ДР 3.2.3. Приготування і стерилізація композиції В

На вагах зважують 0,0185г $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4$, FeSO_4 поміщають в колбу. Додають 88,9мл води і перемішують до розчинення солей після чого закривають ватно-марлевою пробкою і стерилізують в автоклаві з режимом стерилізації 131°C 30хв.

ДР 3.3 Приготування та стерилізація поживних середовищ для 6,3л інокулятора

Розрахунок необхідних кількостей компонентів для приготування середовища для вирощування посівного матеріалу в інокуляторі на 6,3 л наведений у *табл. 8.3.2*

Таблиця 8.3.2.

Об'єм середовища, яке необхідно приготувати	Концентрація, кг/ м ³	Вміст компонента в 3.02 л (3020 мл) середовища, г,мл	Композиція	Об'єм композиції, мл
1	2	3	4	5
Підсина сироватка	275	830,5	А	2199
Вода		1368,5		
Конденсат, 10 %		-		
NaCl	0,6	1,81	Б	815,8
NaCO ₂	0.6	1,81		
K ₂ HPO ₄	0.6	1,81		

(NH ₄) ₂ MoO ₄	0.06	0,181		
FeSO ₄	0.06	0.181		
Вода		810		
Конденсат, 10 %		-		
Сума Σ	276,92	3,02	-	3,02

ДР3.3.1. Приготування і стерилізація композиції А

Вимірюють 830, 5 мл підсирної сироватки і поміщають в колби, добавляють 1368,5 мл води, після чого стерилізують в автоклаві з режимом стерилізації 112°C 30хв.

ДР 3.3.2. Приготування і стерилізація композиції Б

На технічних вагах зважують 1,81гNaCO₂, iNaCl, та 0,181 г K₂HPO₄(NH₄)₂MoO₄, FeSO₄потім поміщають в колби, доливають води810 мл іперемішують до повного розчинення солей, стерилізують у автоклаві з режимом стерилізації 131°C протягом 40 хв.

ДР 3.4 Приготування та стерилізація поживних середовищ для посівного апарату на 63л

Розрахунок необхідних кількостей компонентів для приготування середовища для вирощування посівного матеріалу в посівному апараті на 63 л наведений у *табл.8.3.3*

Таблиця 8. 3.3

Об'єм середовища, яке необхідно приготувати	Концентрація, кг/ м ³	Вміст компонента в 30,3 л середовища, кг, л	Композиція	Об'єм композиції, л
1	2	3	4	5
Підсирна сироватка	275	8,33	А	24,46
Вода		13,67		
Конденсат, 10 %		2,46		

NaCL	0,6	0,018	Б	5,82
NaCO ₂	0.6	0,018		
K ₂ HPO ₄	0.6	0,018		
(NH ₄) ₂ MoO ₄	0.06	0,0018		
FeSO ₄	0.06	0.0018		
Вода		5,2		
Конденсат, 10 %		0,57		
Сума Σ	276,92	30,3		

ДР 3.4.1. Приготування і стерилізація композиції А

За допомогою об'ємно-вагового дозатора(Д-9) подають 8,33 л підсирної сироватки і поміщають в реактор-змішувач (Р-10), подають 13,57 л води, після чого стерилізують гострою парою з режимом стерилізації 112°C 30хв.

ДР 3.4.2. Приготування і стерилізація композиції Б

За допомогою об'ємно-вагового дозатора(Д-11) подають 0,018кгNaCO₂, і NaCl, та 0,0018 кг K₂HPO₄(NH₄)₂MoO₄, FeSO₄ потім поміщають в реактор - змішувач(Р-12), доливають води 5,2л і перемішують до повного розчинення солей, стерилізують гострою парою у інокуляторі з режимом стерилізації 131°C протягом 40 хв.

ДР 3.5 Приготування та стерилізація поживних середовищ для посівного апарату на 630 л.

Розрахунок необхідних кількостей компонентів для приготування середовища для вирощування посівного матеріалу в посівному апараті на 630 л наведений у *табл. 8.3.4*

Таблиця 8.3.4

Об'єм середовища, яке необхідно приготувати	Концентрація, кг/ м ³	Вміст компонента в 300 л середовища, кг, л	Композиція	Об'єм композиції, л
1	2	3	4	5
Підсирна сироватка	275	82,5	А	244,2

Вода		137,3		
Конденсат, 10 %		24,4		
NaCl	0,6	0,18	Б	55,776
NaCO ₂	0.6	0,18		
K ₂ HPO ₄	0.6	0,18		
(NH ₄) ₂ MoO ₄	0.06	0,018		
FeSO ₄	0.06	0.018		
Вода		49,6		
Конденсат, 10 %		5,6		
Сума Σ	276,92	300	-	300

ДР 3.5.1. Приготування і стерилізація композиції А

За допомогою об'ємно-вагового (Д-13) дозатора подають 82,5 л підсирної сироватки реактор-змішувач (Р-14), подають 137,3 л води, після чого стерилізують гострою парою з режимом стерилізації 112°C 30хв.

ДР 3.5.2. Приготування і стерилізація композиції Б

За допомогою об'ємно-вагового дозатора (Д-16) подають 0,18кгNaCO₂, і NaCl, та 0,018 кг K₂HPO₄(NH₄)₂MoO₄, FeSO₄ потім поміщають реактор – змішувач (Р-17), за допомогою об'ємно-вагового дозатора доливають води 49,6л і перемішують до повного розчинення солей, стерилізують гострою парою у інокуляторі з режимом стерилізації 131°C протягом 40 хв.

ДР 3.6 Приготування та стерилізація поживних середовищ для ферментера на 6,3 м³.

Розрахунок необхідних кількостей компонентів для приготування середовища для вирощування посівного матеріалу у ферментері на 6,3 м³ наведений у *табл. 8.3.5*

Таблиця 8.3.5.

Об'єм середовища, яке необхідно приготувати	Концентрація, кг/ м ³	Вміст компонента в 3000 л середовища, кг, л	Композиція	Об'єм композиції, л
1	2	3	4	5
Підсіна сироватка	275	825	А	2442
Вода		1373		
Конденсат, 10 %		244		
NaCl	0,6	1,8	Б	557,76
NaCO ₂	0.6	1.8		
K ₂ HPO ₄	0.6	1.8		
(NH ₄) ₂ MoO ₄	0.06	0,18		
FeSO ₄	0.06	0.18		
Вода		496		
Конденсат, 10 %		56		
Сума Σ	276,92	3000	-	3000

ДР 3.6.1. Приготування і стерилізація композиції А

За допомогою об'ємно – вагового дозатора (Д-18) вимірюють 825 л підсірної сироватки і поміщають в реактор-змішувач (Р-19), додають 1373 л води, після чого стерилізують в з режимом стерилізації 112°C 30хв.

ДР 3.6.2. Приготування і стерилізація композиції Б

За допомогою об'ємно – вагового дозатора (Д-21) додають 1,8кгNaCO₂, і NaCl, та 0,18 кг K₂HPO₄(NH₄)₂MoO₄, FeSO₄ потім для приготування поміщають в збірник-реактор (Р-22), доливають води 496л і мішалкою перемішують до повного розчинення солей, стерилізують гострою парою в ферментері з режимом стерилізації 131°C протягом 40 хв.

ТП 4. Підготовка посівного матеріалу

ТП 4.1. Підтримання колекційної культури *B. pulvifaciens* ВКПМ В-4348

Колекційну культуру зберігають у пробірках на скошеному сусло-агарі. Пересіви здійснюють кожні 3-4 місяці. Всі роботи з колекційною культурою проводять в строго асептичних умовах.

ТП 4.2. Вирощування робочої культури на агаризованому середовищі

Отримані ізолювані колонії в асептичних умовах пересівають петлею у пробірки з агаризованим сусло-агаровим середовищем. В пробірки засівають ізолювані колонії, що знаходяться на відстані не менше 1 см одна від одної. Тривалість інкубування 36 год при температурі 35°C.

ТП 4.3. Одержання культури на агаризованому середовищі

Колекційну культуру, що зберігається в пробірках з СА, розсівають петлею до ізолюваних колоній на чашках Петрі з агаризованим сусло-агаровим середовищем в асептичних умовах. Вирощують при температурі 35°C упродовж 36 год при рН 7,0.

ТП 4.4. Вирощування посівного матеріалу в колбах на качалках

Для вирощування посівного матеріалу у колбу з композицією А (від ДР 3.2.1.), вносять композицію Б (від ДР 3.2.2), композицію В (від ДР 3.2.3), та перемішують і розливають в стерильні качалочні колби на 750 мл і в кожену колбу в асептичних умовах.

У пробірку з робочою культурою, вирощеною на СА, асептично вносять 5 мл фізіологічного розчину, суспендують клітини (змивають культуру), піпеткою відбирають одержану суспензію клітин і вносять у колби з розлитим поживним середовищем. Для засіву однієї колби використовують суспензію клітин, одержану з однієї пробірки.

Після вирощування штаму у колбах на качалці при 35°C упродовж 36 год. культуральну рідину з колб в асептичних умовах переносять у стерильну засівну колбу.

ТП 4.5. Вирощування посівного матеріалу в інокуляторі об'ємом 6,3л

В інокулятор об'ємом 10 л з вносять композицію А (від ДР 3.3.1) та композицію Б (від ДР 3.3.2.). Після цього через трубу перетискування подають посівний матеріал

(від *ТП 4.4*) Включають перемішуючий пристрій, аерацію, подають стерильне стиснене повітря через барботер (від *ДР 2.8*).

Культивують при температурі 35°C упродовж 36 год, витрати повітря 1 л/(л·хв). Кожні 3-4 год відбирають пробу і здійснюють мікробіологічний контроль і концентрацію біомаси.

ТП 4.6. Вирощування посівного матеріалу в посівному апараті об'ємом 63 л.

У посівний апарат вносять композицію А (від *ДР 3.4.1*) вносять композицію Б (від *ДР 3.4.2*). Після цього через трубу перетискування подають посівний матеріал (від *ТП 4.5*)

Включають перемішуючий пристрій, аерацію, подають стерильне стиснене повітря через барботер (від *ДР 2.8*).

Культивують при температурі 35°C упродовж 36 год, витрати повітря 1 л/(л·хв). Кожні 3-4 год відбирають пробу і здійснюють мікробіологічний контроль посівного матеріалу, визначають концентрацію біомаси.

ТП 4.7. Вирощування посівного матеріалу в посівному апараті об'ємом 630 л.

У посівний апарат вносять композицію А (від *ДР 3.5.1*) та стерильно вносять композицію Б (від *ДР 3.5.2*). Після цього через трубу перетискування подають посівний матеріал (від *ТП 4.6*). Включають перемішуючий пристрій, аерацію, подають стерильне стиснене повітря через барботер (від *ДР 2.8*).

Культивують при температурі 35°C упродовж 36 год, витрати повітря 1 л/(л·хв). Кожні 3-4 год відбирають пробу. щоб здійснити мікробіологічний контроль посівного матеріалу, визначають концентрацію біомаси.

ТП 5. Біосинтез

ТП 5.1. Біосинтез у ферментері об'ємом 6,3 м³.

У ферментер об'ємом 6,3 м³ з композицією А (від *ДР 3.6.1*) подають композицію Б (від *ДР 3.6.2*). Після цього через трубу перетискування подають посівний матеріал (від *ТП 4.7*).

У сорочку ферментера подається пара, вмикається перемішуючий пристрій і аерація та подається стерильне стиснене повітря через барботер (від *ДР 2.8*).

Біосинтез здійснюють за температури 35°C упродовж 36 год.

Під час культивування кожні 4 год відбирають проби культуральної рідини, щоб здійснити мікробіологічний контроль.

Біосинтез закінчується при досягненні концентрації КУО $4 \cdot 10^9$

ТП6. Відділення біомаси

ТП 6.1 Сепарування біомаси

По закінченню культивування культуральну рідину (*Від ТП.5.1*) за допомогою відцентрового насосу перекачують до проміжного збірника (*ЗБ-37*). А далі за допомогою насосу (*Н-38*) культуральна рідина перекачується до сепаратора (*СП-40*). Де розділяється на тверду фазу (біомасу, яку збирають вручну та супернатант, який відводять у каналізацію. Сепарацію проводять при обертах сепаратора у 9000 об/хв.

ТП 7. Сублімаційне сушіння препарату

ТП 7.1. Змішування біомаси з захисним середовищем

До реактора (*Р-41*) з захисним середовищем додають відсепаровану біомасу. Вмикають мішалку на 120 об/хв та витримують 10 хв. Процес проводять за температури 25 °С

ТП 7.2. Заморожування препарату

Після розливу за допомогою насосу (*Н-39*), піддони завантажують в сублімаційну сушарку (*СС-42*). Піддони з біомасою охолоджують до температури -40 °С шляхом подачі фреону в змієвиковий випарник. Заморожування відбувається протягом від 2,2 до 10 годин. Оптимальна швидкість заморожування становить -4 °С/хв.

ТП 7.3. Ліофілізація

Після закінчення процесу заморожування, температуру в сушарці піднімають до 30 ± 2 °С протягом 10-12 при тиску не більше 6,65 Па. Температуру піднімають у сушильній камері поступово, приблизно 1-3 °С за 1 годину. Після ліофілізації продукт подається на подрібнення.

ТП 8. Подрібнення і просіювання препарату

Отриманий ліофілізат порібноють на молотковій дробарці (*Д-43*) до часточок у 3 мм та просіюють на роторному ситі (*РС-44*) при 500 об/хв, завантажують невеликими порціями .

ПМВ 9. Пакування, маркування, вивантаження.

ПМВ 9.1 Фасування та маркування

Фасування відбувається у паперові крафт-мішки по 0,5 кг в кожен. Фасування здійснює фасовочно – упаковочний автомат (*ФУА-45*) з шнековим дозатором. Наповнення продукту в тару здійснюється за допомогою шнекового механізму. Дискретне обертання шнека з певною частотою, всередині бункера, забезпечує ущільнення та подачу необхідної дози продукту. Об'єм порції продукту залежить від кроку та частоти обертання шнека. Для підвищення точності дозування проводиться контрольне зважування: після автомата встановлюється обладнання, яке зважує мішки з продуктом та відбраковує їх при відхиленні маси дози. При відхиленні в більшу або меншу сторону ваги трьох мішків підряд на дозатор подається сигнал на зміну кількості обертів шнека. Для автоматизації подачі продукту в бункер встановлений датчик рівня – оптимальна швидкість обертання шнека залежить від кількості продукту.

ПМВ 9.2 Пакування на піддони

Після фасування відбувається пакування на пакувальній машині (*ПМ-46*) на піддони.

ЗВ 10. Знешкодження відходів

До стадії подаються речовини та матеріали наступного походження:

- складові миючих та дезінфікуючих розчинів, що застосовуються на стадії санітарної підготовки обладнання та приміщень;
- компонентами вихідної сировини та напівпродуктів, що переробляються на стадіях.

Апаратурне оформлення виробництва не забезпечує 100%-вого використання сировини, напівпродуктів, матеріалів. Наявні втрати їх обумовлюють утворення твердих та рідких промислових відходів.

ЗВ 10.1 Знешкодження рідких відходів

Виробничі стоки на ділянці виробництва готових лікарських препаратів утворюються на стадії санітарної підготовки та промивки обладнання та разом з загальнозаводськими стоками знешкоджують механічними, фізико-хімічними, біологічними, термічними методами. Після такої очистки води скидаються в міську каналізацію. Вміст специфічних речовин в стічних водах обумовлений регламентними втратами та не перевищує значення санітарно-гігієнічних нормативів.

ЗВ 10.2. Знешкодження твердих відходів

Тверді некондиційні відходи виробництва збираються та направляються на полігон твердих побутових відходів, де піддаються різними способами термічної обробки: піроліз, переплав, випалювання та вогняне знешкодження (спалювання) тощо.

РОЗДІЛ 9. Контроль виробництва

Протягом процесу культивування *Bacillus pulvifaciens* В-4348 кожні 4 години відбирають проби культуральної рідини для мікробіологічного контролю (мікроскопіювання зразків та висів на щільні поживні середовища), а також для визначення показників росту і синтезу, та вмісту джерела вуглецю і азоту .

9.1. Мікробіологічний контроль

Мікробіологічний контроль здійснюють для перевірки стерильності поживного середовища (композицій) перед засівом посівної культури та якості отриманого посівного матеріалу в процесі його вирощування.

Він проводиться двома методами: прямим мікроскопіюванням відібраних проб - метод «роздавленої краплі» (композицій поживного середовища та посівного матеріалу на всіх етапах культивування) та методом розсіву проб на Чашки Петрі з агаризованим середовищем.

Препарат готують на знежиреному предметному склі. На знежирене предметне скельце наносять маленьку краплю проби простерилізованого поживного середовища, після чого накривають покривним скельцем і мікроскопіюють з об'єктивом 40×, або з імерсійною системою на 90. Результатом мікробіологічного аналізу при прямому мікроскопіюванні проб компонентів поживного середовища має бути *відсутність* у полі зору мікроскопа *любої мікробіоти*.

Результатом мікробіологічного контролю композицій поживного середовища методом розсіву проб на Чашки Петрі з агаризованим середовищем має бути *відсутність росту будь якої мікробіоти на чашках Петрі*.

Для перевірки якості посівного матеріалу теж використовують метод прямого мікроскопіювання, через те, що метод висіву на щільні поживні середовища є затратним.

					НУХТ БТЕК 04.02.28 КР ПЗ			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Піддубняк К.С.			РОЗДІЛ 9. Контроль виробництва	Літ.	Арк.	Акрушів
Керівник		Карлаш Ю.В.					119	15
Консультант						122		
Н. Контр.						Кафедра БТМ		
Затверд.		Пирог Т.П.						

Принцип визначення. Готується препарат фіксованих забарвлених клітин метиленовим синім з подальшим мікроскопіювання з імерсією. За допомогою бактеріологічної петлі чи стерильної піпетки здійснюють нанесення на знежирене предметне скельце краплю досліджуваної суспензії мікроорганізму, та рівномірно розподіляють по скельцю, обов'язково тонким шаром на площі 1-2 см². Потім готовий мазок фіксують і підсушують. Після чого на мазок наноситься барвник метиленовий синій 2-3 краплі і тримають його 2-3 хв, потім препарат висушують на повітрі і протирають фільтрувальним папером. Проводять мкроскопіювання з імерсією [62].

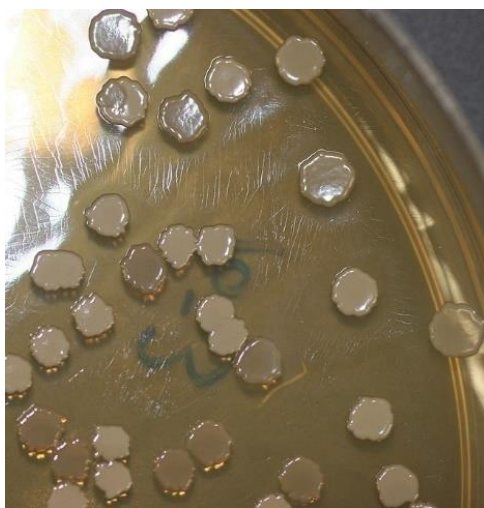
В полі зору мікроскопа має бути лише культура продуцента і відсутня стороння мікробіота, яку відрізняють від культури продуцента за його морфологічними ознаками .

Bacillus pulvifaciens В-4348 - колонії діаметром (2,0–5,0) мм, плескаті, матові, непрозорі, від світло-бежевого до бежевого кольору, край нерівний, центр незначно вищий. Структура зерниста, середньозерниста .

Крім того, посівну культуру перевіряють на наявність сторонніх бактерій, грибів і дріжджів для чого проби посівного матеріалу висівають на чашки Петрі.

Спочатку посівний матеріал розсівають петлею до ізольованих колоній на чашки Петрі з МПА для виявлення бактерій. На МПА колонії діаметром (2,0–5,0) мм, плескаті, непрозорі, матові, від світло-бежевого до бежевого кольору, край нерівний, центр незначно вищий. Структура зерниста, середньозерниста[63].

Також висівають на Чашки з сусло агаром та глюкозо-картопляним агаром для виявлення грибів і дріжджів. На сусло-агарі колонії плескаті, матові, центр слабоблискучий, край нерівний. При рості на чашках з картопляним агаром (*Рис. 9.1.1*) утворюють бежеві колонії діаметром (5–8) мм, матові, плескаті, непрозорі, край нерівний непрозорий. Структура зерниста[64].



*Рис.9.1.1. Колонії *Bacillus pulvifaciens* на поживному середовищі*

В процесі вирощування та виробничого біосинтезу постійно контролюють ріст продуцента на наявність сторонньої мікробіоти перерахованими вище методами.

9.2. Показники росту і синтезу

Концентрація біомаси. Концентрацію біомаси визначають за оптичною густиною клітинної суспензії на фотоелектроколориметрі, тобто непрямим методом з наступним пререрахунком отриманих даних на суху біомасу клітин за допомогою калібрувального графіка [65].

Кількість живих клітин.

Датчик AberFutura. За допомогою датчика AberFutura проводять визначення кількості живих клітин. Монітор біомаси Aber широко визнаний стандартом в режимі онлайн приладів для вимірювання життєздатної біомаси і був розроблений для задоволення вимог GAMP4. Це дозволяє в режимі реального часу точно вимірювати біомасу в біореакторах як в лабораторних, так і в промислових масштабах. Унікальний зонд, придатний для GMP, застосовує радіочастотне поле до біомаси в біореакторі. Вихід - це точне вимірювання концентрації життєздатних клітин [66].

Принцип роботи якого полягає в тому, що кожна жива клітина, з цілісною плазматичною мембраною, створює певний заряд. Електричний струм породжується датчиком Aber, який поляризує живі клітини з неушкодженою мембраною, яка не проникна для заряду (діелектрик), тим самим обмежуючи вільну частину іонів. Діелектрична природа плазматичної мембрани дозволяє заряду накопичуватися.

Згідно використання цього датчика, отримуються надзвичайно точні результати через те, що заряд прямо пропорційний об'єму клітин, що містять непошкоджену мембрану і є залежним від типу клітини. На відміну від інших методів вимірювання біомаси, цей метод не вимірює мертві клітини, бульбашки газу, сміття або мікроносії. [67]

Метод Коха

Проводять визначення кількості життєздатних клітин методом Коха. Суть методу полягає у висіві послідовних десятикратних розведень клітинної суспензії на чашки Петрі з агаризованим середовищем (МПА). Кількість життєздатних клітин визначають за кількістю колоній, які виростили на чашках Петрі (КУО/мл).

Для аналізу в асептичних умовах відбирають 1 мл клітинної суспензії і поміщають у 9 мл стерильної водопровідної води або фізіологічного розчину, потім послідовно новою піпеткою переносять по 1 мл у ряд пробірок з 9 мл стерильної водопровідної води.

Ступінь розведення визначається передбачуваною кількістю клітин у зразку. Кількість розведень тим більша, чим більше мікроорганізмів міститься у вихідному зразку.

З одержаних розведень здійснюють висів на поверхню агаризованого середовища (МПА) у чашки Петрі. Висів здійснюють зазвичай по 0,05-0,1 мл, починаючи з найбільшого розведення. Суспензію рівномірно розподіляють по поверхні агаризованого середовища (МПА) за допомогою стерильного шпателя Дригальського. Для кожного розведення використовують нову стерильну піпетку і новий стерильний шпатель. Чашки Петрі поміщають у термостат, і через 3-5 діб здійснюють підрахунок колоній.

Точність методу залежить від кількості підрахованих колоній: кращим розведенням вважають таке, за умови висіву з якого на агаризованому середовищі виростає від 50 до 150 колоній.

Знаючи кількість колоній і ступінь розведення визначають кількість мікроорганізмів за формулою:

$$N = \frac{(a \pm 2\sigma)K}{V}$$

де

N – кількість мікроорганізмів в 1 мл суспензії,

K – розведення, з якого здійснено висів,

a – середня кількість колоній на чашці Петрі за розведення K,

V – об'єм суспензії, взятий для посіву, мл

2 – критерій при 9% рівні значущості,

O – середнє квадратичне відхилення, рівне $\pm\sqrt{\Sigma a/n}$, n – кількість повторностей [65].

9.3.Визначення концентрації амінного азоту

Джерелом амінного азоту в поживному середовищі є підсирна сироватка, яка містить білок лактоальбумін. Вміст амінного азотуможна визначити за мідним методом.

Культуральну рідину піддають центрифугуванню. Після чого у мірну колбу місткістю 50 мл поміщають 5 мл сусла, потым додають 2-3 краплі тимолфталеїну та 2-3 краплі 1 М розчину NaOH до появи блідо-блакитного забарвлення. При перемішуванні, у кілька прийомів, додають 15 мл суспензії фосфату міді, потім вміст колби доводять до мітки дист. водою. Суміш перемішують та фільтрують через паперовий фільтр, повертаючи на фільтр перші порції фільтрату.

Відбирають 10 мл прозорого фільтрату й поміщають у конічн колбу місткістю 150 мл, додають 0,5 мл 80% оцтової кислоти, 10 мл 10% розчину KI. Вміст колби перемішують, після чого йод, що виділився відтитровують 0,01 М розчином тіосульфату натрію, додаючи вкінці титрування 1-2 краплі 1% розчину крохмалю. Кінець титрування визначають за зникненням синього забарвлення розчину. Титрування закінчується при переході синього забарвлення розчину в безбарвний. Вміст амінного азоту розраховують за формулою:

$$x = \frac{a \cdot 0,28 \cdot 20}{100}$$

де

а- обсяг 0,01 М розчину тіосульфату натрію, який пішов на титрування, мл;
0,28- кількість амінного азоту в мг, еквівалентну 1 мл розчину тіосульфату натрію концентрацією 0,01 М;

20 – переведення в 100 мл культуральної рідини [68].

9.4.Визначення концентрації джерела вуглецю[69].

Джерелом вуглецю в даному середовищі є лактоза, яка міститься в підсирній сироватці. Концентрацію лактози визначаємо за допомогою лактозного біосенсора.

Розроблено ферментний кондуктометричний біосенсор для визначення лактози. Роль біочутливого елемента виконує триферментна мембрана (глюкозооксидаза, мутаротаза, βгалактозидаза), яка іммобілізована на поверхню кондуктометричного перетворювача. Час визначення концентрації лактози в розчині становить 1–2 хв, лінійний діапазон роботи біосенсора — від 0,01 мМ до 0,75 мМ для глюкози та від 0,01 мМ до 1,25 мМ для лактози. Розроблений кондуктометричний біосенсор характеризується високою операційною стабільністю та відтворюваністю сигналу.

В основі роботи кондуктометричної біосенсорної системи для визначення лактози лежить каскад ферментативних реакцій, βГалактозидаза, мутаротаза та глюкозооксидаза поетапно розщеплюють лактозу до пероксиду водню та Дглюконолактону. Глюконолактон, в свою чергу, спонтанно гідролізується до глюконової кислоти, яка дисоціює на залишок кислоти та протон, при цьому змінюється провідність розчину, який можна реєструвати за допомогою кондуктометричного перетворювача

Оскільки лактозний сенсор дає відгук на глюкозу, та на лактозу, для визначення саме лактози необхідною є наявність також глюкозного сенсора. У зв'язку з цим вимірювання лактози у зразках слід проводити в два етапи. Спочатку визначаємо концентрацію глюкози у зразку глюкозним сенсором, а потім — сумарну концентрацію лактози та глюкози у досліджуваному розчині за допомогою лактозного сенсора. Різниця цих двох концентрацій відповідає концентрації лактози у розчині [69].

Антагоністична активність

Антимікробну дію досліджуваних пробіотичних культур визначають кількома методами, наприклад відстроченого антагонізму, різновидом якого є *метод агарових блоків*.

Суть методу. Штами пробіотичних мікроорганізмів засівають «газоном» у товщі агаризованого середовища МРС. Для цього 1 см³ мікробної суспензії переносять в стерильну чашку Петрі, вносять 15—20 см³ розплавленого агаризованого середовища, охолодженого до температури (45±1) °С, ретельно перемішують та залишають чашки на холодній горизонтальній поверхні до затвердіння середовища.

Вирощування здійснюють в анаеробних умовах за температури 37 °С упродовж 72 год, після чого агаровий блок вирізають пробійником та розміщують в центрі чашки Петрі з середовищем Гаузе-2 (або будь-яким іншим, придатним для вирощування досліджуваних патогенних та умовно патогенних мікроорганізмів) й радіально підсівають тест-культури. Засіяні чашки інкубують за температури 37 °С упродовж 72 год. Ступінь чутливості тест-культур оцінюють за розмірами зон затримки росту, мм: 5-15 - малочутливі; 15-20 - помірно чутливі; 20-30 - чутливі; 30-40 - високочутливі. Для визначення антагоністичної активності пробіотичних мікроорганізмів використовують також *метод перпендикулярних штрихів*[70].

9.5. Карта постадійного контролю біосинтезу *B. pulvifaciens* ВКПМ В-4348

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
ДР 1. Санітарна підготовка виробництва				
ДР 1.1. Підготовка миючих та дезінфікуючих засобів				
Кх, Кт 1.1.1 <i>Приготування миючого розчину кальцинованої соди в СІР-мийці</i>	Концентрація розчину Температура	Хімічний метод Датчик температури	Після приготування розчину, температура під час приготування	C = 1%, t = 75+/-5°C
Кх, Кт 1.1.2 <i>Приготування дезінфікуючого розчину «Гембар»</i>	Концентрація розчину «Біомой»	Хімічний метод	Об'єм визначається після приготування розчину, концентрацію під час приготування	C = 0,5%,
ДР 1.2. Підготовка виробничих приміщень				
Кт, Км 1.2.1 <i>Щоденне прибирання</i>	Підлога, двері, кафельні поверхні, чистота	Візуальний огляд, мікробіологічний контроль	Після прибирання	Відсутність пилу та бруду та патогенних м/о
Кт, Км 1.2.2. <i>Геренальне прибирання</i>	Підлога, вікна, двері, стіни, обладнання, чистота	Візуальний огляд, Мікробіологічний контроль	Після прибирання	Відсутність пилу та бруду та патогенних м/о
ДР 1.3. Підготовка технологічного обладнання				
Км 1.3.1. <i>Миття обладнання</i>	Обладнання, температура мийного розчину, час чистота	Термометр технічний, годинник, візуальний огляд, мікробіологічний контроль	Під час проведення операції обробки, візуальний огляд та змив після миття	t = 75°C, τ = 1 год, чисте обладнання, відсутність патогенних м/о

1	2	3	4	5
ДР 1.3. Підготовка технологічного обладнання				
Кт, Км 1.3.2. <i>Ополіскування обладнання</i>	Обладнання, час, чистота	Технічний, годинник, візуальний огляд, мікробіологічний контроль	Під час проведення операції обробки, візуальний огляд та змив після миття	$\tau = 30$ хв, чисте обладнання, відсутність патогенних м/о
Км1.3.3. <i>Технічний огляд</i>	Обладнання	Візуальний огляд	Під час операції	Відсутність несправностей
Кт 1.3.4. <i>Перевірка на герметичність</i>	Обладнання, температура, тиск, перепад тиску, час	Термометр технічний, манометр технічний, годинник	Тиск визначається безперервно під час перевірки на герметичність, перепад тиску визначають після проведення операції	$t = 80^{\circ}\text{C}$, $P = 0,2$ МПа, $\Delta P < 0,01$ МПа $\tau = 30$ хв,
КтКм1.3.4 <i>Стерилізація обладнання</i>	Обладнання, температура стерилізація, тиск, час стерилізації	Термометр технічний, манометр технічний, годинник, мікробіологічний контроль	Температура і тиск визначається безперервно під час стерилізації	$t = 135^{\circ}\text{C}$, $P = 0,003-0,005$ МПа, $\tau = 1$ год, відсутність сторонньої мікробіоти
ДР 2. Підготовка аераційного повітря				
Кт 2.2 <i>Очищення повітря у фільтрі грубої очистки</i>	Повітря на виході з фільтра грубої очистки, ступінь очищення, перепад тисків	Манометр технічний, перевірка ступеня очищення згідно паспорту фільтра	Після очистки повітря у фільтрі грубого очищення	$E = 90$ %, тиск згідно паспорту
Кт 2.3 <i>Стиснення повітря</i>	Стиснене повітря, температура, тиск	Манометр технічний, термометр	Після компресування повітря	$P = 0,35$ МПа, $t = 120^{\circ}\text{C}$
Кт 2.4 <i>Охолодження повітря</i>	Охолоджене повітря, температура	Термометр технічний	Після охолодження повітря	$t = 20$ °С,
Кт 2.5 <i>Видалення зайвої вологи</i>	Відсутність зайвої вологи		Після видалення зайвої вологи	$W = 60$ %
Кт 2.6 <i>Нагрівання повітря</i>	Нагріте повітря, температура	Термометр технічний	Після нагрівання повітря	$t = 35^{\circ}\text{C}$

Кт 2.7. <i>Очищення повітря на головному фільтрі</i>	Очищене повітря, ступінь очищення, перепад тисків	Манометр технічний, перевірка ступеня очищення згідно паспорту фільтра	Після очистки повітря у головного фільтра	E = 95 %, тиск згідно паспорту
Кт, Км 2.8. <i>Очищення повітря в індивідуальному фільтрі</i>	Очищене повітря, ступінь очищення, перепад тисків	Манометр технічний, перевірка ступеня очищення згідно паспорту фільтра	Після очистки повітря в індивідуальному фільтрі	E = 99,999 %, тиск згідно паспорту, Відсутність мікробіоти
ДР 3. Підготовка та стерилізація поживного середовища				
ДР 3.1. Приготування компонентів захисного середовища				
Кт 3.1. <i>Приготування захисного середовища</i>	Температура, час	Термометр технічний, годинник,	Температура визначається безперервно	t = 40°C
ДР 3.2. Підготовка та стерилізація поживного середовища для вирощування посівного матеріалу в колбах на качалці				
Кт, Км 3.2.1. <i>Приготування та стерилізація композиції А</i>	Композиція А, температура, час, стерильність	Термометр технічний, годинник, манометр, мікробіологічний контроль	Температура визначається безперервно під час стерилізації, мікробіологічний контроль після стерилізації	t = 112 °С, τ = 30 хв, P = 0,05 МПа, відсутність мікробіоти
Кт, Км 3.2.2. <i>Приготування та стерилізація композиції Б</i>	Композиція Б, температура, час, стерильність	Термометр технічний, годинник, манометр, мікробіологічний контроль	Температура визначається безперервно під час стерилізації, мікробіологічний контроль після стерилізації	t = 131°C, τ = 40 хв, P = 0,15 МПа, відсутність мікробіоти

1	2	3	4	5
Кт, Км 3.2.3. <i>Приготування та стерилізація В</i>	Композиція В, температура, час, стерильність	Термометр технічний, годинник, манометр, мікробіологічний контроль	Температура визначається безперервно під час стерилізації, мікробіологічний	t = 131 °С, τ = 40 хв, P = 0,15 МПа, відсутність
ДР 3.3. Підготовка та стерилізація поживного середовища для вирощування посівного матеріалу в інокуляторі об'ємом 6,3 л				
Кт, Км 3.3.1. <i>Приготування та стерилізація композиції А</i>	Композиція А, температура, час, стерильність	Термометр технічний, годинник, манометр, мікробіологічний контроль	Температура визначається безперервно під час стерилізації, мікробіологічний контроль після стерилізації	t = 112 °С, τ = 30 хв, P = 0,05 МПа, відсутність мікробіоти
Кт, Км 3.3.2. <i>Приготування та стерилізація композиції Б</i>	Композиція Б, температура, час, стерильність	Термометр технічний, годинник, манометр, мікробіологічний контроль	Температура визначається безперервно під час стерилізації, мікробіологічний контроль після стерилізації	t = 112 °С, τ = 30 хв, P = 0,05 МПа, відсутність мікробіоти
ДР 3.4. Підготовка та стерилізація поживного середовища для вирощування посівного матеріалу в інокуляторі об'ємом 63 л				
Кт, Км 3.4.1 <i>Приготування та стерилізація композиції А</i>	Композиція А, температура, час, стерильність	Термометр технічний, годинник, манометр, мікробіологічний контроль	Температура визначається безперервно під час стерилізації, мікробіологічний контроль після стерилізації	t = 112 °С, τ = 30 хв, P = 0,05 МПа, відсутність мікробіоти
Кт, Км 3.4.2 <i>Приготування та стерилізація композиції Б</i>	Композиція Б, температура, час, стерильність	Термометр технічний, годинник, манометр, мікробіологічний контроль	Температура визначається безперервно під час стерилізації, мікробіологічний контроль після стерилізації	t = 131 °С, τ = 40 хв, P = 0,15 МПа, відсутність мікробіоти
ДР 3.5. Підготовка та стерилізація поживного середовища для культивування у посівному апараті об'ємом 630л				
Кт, Км 3.5.1 <i>Приготування та стерилізація композиції А</i>	Композиція А, температура, час, стерильність	Термометр технічний, годинник, манометр, мікробіологічний контроль	Температура визначається безперервно під час стерилізації, мікробіологічний контроль після стерилізації	t = 112 °С, τ = 30 хв, P = 0,05 МПа, відсутність мікробіоти

1	2	3	4	5
Кт, Км 3.5.2. <i>Приготування та стерилізація композиції Б</i>	Композиція Б, температура, час, стерильність	Термометр технічний, годинник, манометр, мікробіологічний контроль	Температура визначається безперервно під час стерилізації, мікробіологічний контроль після стерилізації	t = 131°C, τ = 40 хв, P = 0,15 МПа, відсутність мікробіоти
3.6. Підготовка та стерилізація поживного середовища для культивування у посівному апараті об'ємом 6,3м³				
Кт, Км 3.6.1 <i>Приготування та стерилізація композиції А</i>	Композиція А, температура, час, стерильність	Термометр технічний, годинник, манометр, мікробіологічний контроль	Температура визначається безперервно під час стерилізації, мікробіологічний контроль після стерилізації	t = 112 °С, τ = 30 хв, P = 0,05 МПа, відсутність мікробіоти
Кт, Км 3.6.2. <i>Приготування та стерилізація композиції Б</i>	Композиція Б, температура, час, стерильність	Термометр технічний, годинник, манометр, мікробіологічний контроль	Температура визначається безперервно під час стерилізації, мікробіологічний контроль після стерилізації	t = 131°C, τ = 40 хв, P = 0,15 МПа, відсутність мікробіоти
ТП 4. Підготовка посівного матеріалу				
Кт, Км 4.1 <i>Підтримка колекційної культури</i>	Колекційна культура <i>B. pulvifaciens</i> ВКПМ В-4348 Температура, тривалість зберігання, відсутність сторонньої мікробіоти.	Термометр, годинник, мікробіологічний контроль	Температура визначається безперервно під час зберігання, мікробіологічний контроль після вирощування	t = 2-4 °С, τ = 3-5 років, відсутність сторонньої мікробіоти
Кт, Км 4.2 <i>Вирощування робочої культури на агаризованих середовищах</i>	Посівний матеріал Морфологічна, однорідність, температура, тривалість вирощування, відсутність сторонньої мікробіоти	Термометр, годинник, мікробіологічний контроль	Температура визначається безперервно під час вирощування, мікробіологічний контроль проводять кожні 12 годин	t = 35°C, τ = 36 год, відсутність сторонньої мікробіоти, круглі колонії білого чи кремового кольору

1	2	3	4	5
<p>Кт, Км, Кх4.3 Одержання робочої культури на агаризованих середовищах</p>	<p>Робоча культура <i>B. pulvifaciens</i> ВКПМ В-4348</p> <p>Морфологічна, однорідність, температура, тривалість вирощування, відсутність сторонньої мікробіоти, рН7,0</p>	<p>Термометр, годинник, мікробіологічний контроль, датчик рН</p>	<p>Температура визначається безперервно під час вирощування, мікробіологічний контроль проводять кожні 12 годин</p>	<p>t = 35°C, τ = 36 год, рН=7,0 відсутність сторонньої мікробіоти, круглі колонії білого чи кремового кольору</p>
<p>Кт, Кх, Км 4.4 Вирощування посівного матеріалу в колбах на качалках</p>	<p>Посівний матеріал Температура, тривалість вирощування, частота обертів мішалки, мікробіологічна чистота культури</p>	<p>Термометр технічний, годинник, тахометр, мікробіологічний контроль</p>	<p>Температура і швидкість обертання контролюються і підтримуються автоматично весь час вирощування, рН визначається перед культивуванням та під час культивування, мікроскопіювання кожні 12 годин</p>	<p>t = 35°C, τ = 36 год, ω = 180 об/хв відсутність сторонньої мікробіоти</p>
<p>Кт, Кх, Км 4.5 Вирощування культури у інокуляторі на 6,3 л</p>	<p>Посівний матеріал Температура, тривалість вирощування, частота обертів мішалки, надлишковий тиск, мікробіологічна чистота культури, визначення концентрації</p>	<p>Термометр технічний, годинник, тахометр, манометр, мікробіологічний контроль,</p>	<p>Температура і швидкість обертання контролюються і підтримуються автоматично весь час вирощування, рН визначається перед культивуванням та під час</p>	<p>t = 35°C, τ = 36 год, ω = 180 об/хв відсутність сторонньої мікробіоти</p>

1	2	3	4	5
Кт, Кх, Км 4.6 <i>Вирощування культури у посівному апараті на 63 л</i>	Посівний матеріал Температура, тривалість вирощування, частота обертів мішалки, чистота культури, визначення концентрації біомаси, джерела вуглецю і азоту.	Термометр технічний, годинник, тахометр, манометр, мікробіологічний контроль,	Температура і швидкість обертання контролюються і підтримуються автоматично весь час вирощування, мікроскопіювання та визначення конц. біомаси, джерела вуглецю і азоту - кожні 4 годин	t = 35°C, τ = 36 год, ω = 180 об/хв відсутність сторонньої мікробіоти
Кт, Кх, Км 4.7 <i>Вирощування культури у посівному апараті на 630 л</i>	Посівний матеріал Температура, тривалість вирощування, частота обертів мішалки, чистота культури, визначення концентрації біомаси, джерела вуглецю і азоту.	Термометр технічний, годинник, датчик рН, тахометр, манометр, мікробіологічний контроль,	Температура і швидкість обертання контролюються і підтримуються автоматично весь час вирощування, мікроскопіювання та визначення конц. біомаси, джерела вуглецю і азоту - кожні 4 годин	t = 35°C, τ = 36 год, ω = 180 об/хв відсутність сторонньої мікробіоти
ТП 5 Біосинтез				
Кт, Кх, Км 5.1 <i>Виробниче культивування у ферментері об'ємом 6,3 м³</i>	Культуральна рідина Температура, тривалість вирощування, частота обертів мішалки, надлишковий тиск, м/ю чистота культури, визначення концентрації біомаси, джерела вуглецю і азоту,	Термометр технічний, годинник, тахометр, манометр, мікробіологічний контроль	Температура і швидкість обертання контр. і підтримуються автоматично весь час вирощування, мікроскоп. та визначення конц. біомаси, джерела вуглецю і азоту та акт. ферменту - кожні 4 годин	t = 35°C, τ = 36 год, ω = 180 об/хв відсутність сторонньої мікробіоти відсутність сторонньої мікробіоти

<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>
ТП 6. Відділення біомаси				
<i>Кт6.1 Сепарування біомаси</i>	Частота обертів	Технічний, годинник, тахометр	Швидкість обертання контролюється і підтримується автоматично весь час	W = 9тис. об/хв
ТП 7. Сублимаційне сушіння препарату				
<i>Кт 7.1 Змішування біомаси з захисним середовищем</i>	Частота обертів, час змішування	Технічний, годинник, тахометр	Швидкість обертання контролюється і підтримується автоматично весь час	W = 120 об/хв $\tau = 10$ хв,
<i>Кт 7.2 Заморожування препарату</i>	Температура, час	Термометр технічний, годинник	Температура визначається безперервно	t = -40°C, $\tau = 18$ год,
<i>Кт 7.3 Ліофілізація</i>	Температура, час	Термометр технічний, годинник	Температура визначається безперервно	t = 30°C, $\tau = 20$ год,
ТП 8. Подрібнення і просіювання препарату				
<i>Кт 8 Подрібнення і просіювання препарату</i>	Частота обертів, розмір сита	Технічний, годинник, тахометр	Швидкість обертання контролюється і підтримується автоматично весь час	W = 500 об/хв n=3mm Візуальний огляд
ПМВ 9. Пакування, маркування, вивантаження				
<i>Кт 9.1 Фасування та маркування мішків</i>	Маса	Ваги	Контролюється під час фасування	m=0,5кг Візуальний огляд
<i>Кт. 9.2 Пакування на піддоні</i>	Кількість	Візуальний огляд	Контролюється під час пакування	n=100 шт. Візуальний огляд

РОЗДІЛ 10. Автоматизація ділянки виробництва

Технологічний процес у промисловості нерозривно зв'язаний з її автоматизацією технологічних процесів. Автоматизація ефективно застосовується на сучасному етапі розвитку людства із метою досягнення зростання показників ресурсозбереження, поліпшення екології навколишнього середовища якості і надійності продукції. В зв'язку із бурхливим розвитком мікропроцесорної техніки і персонально електронно-обчислювальних машин, функціональні можливості яких дають змогу використовувати найдосконаліші методи в рамках сучасних складних систем управління. Мікропроцесорні пристрої і електронно-обчислювальних машини, пов'язані між собою обчислювальними та керуючими мережами із використанням загальних баз даних, дозволяють впроваджувати комп'ютерні технології у нетрадиційній сфері діяльності підприємства, що проявляється у інтеграції виробничих процесів та управління ними.

Головним напрямом автоматизації в агропромисловому комплексі на сучасному етапі є створення комп'ютерно-інтегрованих виробництв. Основою систем автоматизації стали функціональні можливості мікропроцесорних систем управління, при створенні яких вирішальну роль відіграють такі фактори, як використання принципів інтеграції, розподіленого управління, програмних комплексів. При автоматизації виробництва об'єктом є не окремий технологічний процес або агрегат, а технологічний комплекс з складними взаємозв'язками між його підсистемами.

					НУХТ БТЕК 04.02.28 КР ПЗ			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
<i>Розроб.</i>		<i>Піддубняк К.С.</i>			РОЗДІЛ 10. Автоматизація виробництва	Літ.	Арк.	Акрушів
<i>Керівник</i>		<i>Карлаш Ю.В.</i>					100	5
<i>Консультант</i>		<i>Клименко О.М.</i>				137		
<i>Н. Контр.</i>						Кафедра БТМ		
<i>Затверд.</i>		<i>Пирог Т.П.</i>						

Підвищити оперативність управління, максимально враховувати виробничу ситуацію дає можливість розширення функціональних можливостей сучасних мікропроцесорних систем управління пов'язано з значно зростаючою кількістю видів та систем відображення технологічної інформації: використанням динамічних мікросхем; одержанням графіків технологічних параметрів за будь - який відрізок часу; формування передісторії та розвитку процесу; архівування за допомогою таблиць, звітних документів тощо.

При системному підході автоматизація виробництва дає кращі результати, коли досконало вивчаються властивості об'єкта автоматизації, розробляється функціональна структура як сукупність виконуваних системою функцій.

Нині існує велика кількість визначень "система", оскільки у різних ситуаціях у нього вкладається різний зміст, але в будь - якому випадку система являє собою підмножину взаємоз'язаних елементів певної природи, залежно від розв'язуваного завдання.

При створенні систем автоматизації використовують багато контурні системи, в яких реалізуються принципи компенсації збурень, адаптації, досконалі структури типу каскадних систем з додатковими сигналами та інше.

Автоматизації підлягає ділянка ліофільна сушарка в табл 10.1.

№	Ділянка виробництва	Об`єкт автоматизації	Показники, що піддаються автоматизованому контролю та керуванню	Засоби автоматизації
1	Ліофільна сушарка	Ліофільна сушка	Температура сушіння, Температура заморозки, Тиск(вакуумний тиск)	Контроль, регулювання

Структура ділянки виробництва, що підлягає автоматизації

Загальна назва ділянки автоматизації - «Ліофільна сушарка».

10.1 Поставлення завдання на розробку системи автоматизації ліофільної сушарки.

Ліофільна сушарка досить складний апарат який потребує автоматизації контролю та вимірювання основних параметрів сушіння, заморозки продукту та тиску сушіння. Оскільки процес досить складний його оптимізація потребує контролю та автоматизації трьох основних параметрів: температури сушіння, заморожування та тиску(вакууму). Детальний опис параметрів описано у таблиці 10.2.

Таблиця 10.1.1

Завдання на розробку системи автоматизації(параметри).

Параметр, місце відбору імпульсу	Значення параметру допустимі відхилення	Система автоматизації		
		Вид системи автоматизації	Характер контролю, регулювання, управління	Додаткові вимоги
Температура висушування	30±2 °С	Контроль, регулювання.	Моніторинг.	Керування аналоговим пневматичним клапаном
			Підтримання на заданому значенні.	

			Сигналізація при значному відхиленні (світлова).	(подачі повітря нагрітого).
Температура заморозки	1-2 °С / хв до -40.	Контроль, регулювання	Моніторинг	Керування аналоговим пневматичним клапаном (подача холодоагенту у сорочку).
			Підтримання на заданому рівні	
			Сигналізація при значному відхиленні	
Тиск (вакуумний тиск)	6,65 Па	Контроль, регулювання	Моніторинг	Керування двигуном, що відкачує повітря та створює вакуум. (аналогове)
			Підтримання на заданому значенні	
			Сигналізація при значному відхиленні	

10.2. Опис функціональної схеми автоматизації

Контур 1. Температура заморожування продукту вимірюється постійно за допомогою термоелектричного перетворювача (термопари) (поз. 1а). Сигнал від датчика температури в вигляді величини термоелектрорушійної сили (ТЕРС) надходить до нормуючого перетворювача (поз. 1б) та перетворюється в уніфікований електричний сигнал. Останній йде до ПЛК, конвертується у цифровий. При відхиленнях температури (зниження) подача холодоносія (у даному випадку фреону) припиняється автоматично закриттям клапана. При підвищенні температури навпаки подається відкриттям клапана дозується виконавчим механізмом – автоматичним клапаном (поз. 4д). Уніфікований пневматичний сигнал до ВМ надходить з електро-пневмоперетворювача (поз. 1в). Після перетворювача сигнал діє на поворотний механізм (поз. 1г), що регулює відкриття клапана (поз. 1д). Керування температурою заморожування аналогове, процес

пониження температури відповідає градації 1-2 °С за хвилину до значення - 40 °С.

Контур 2. Регулювання тиску . При натисканні кнопки «Пуск» на моторі М (поз. 2а) відбувається запуск двигуна компресорного вакуумного насосу, що створює певний вакуумний тиск у апараті відкачуванням повітря.. Керування інтенсивністю відкачування здійснюється за допомогою частотного перетворювача встановленого на двигуні вакуумного насосу. Панель керування знаходиться на ПУ у вигляді мнемосхеми на (панель дистанційного ручного керування (2 б)).

Контур 3. Температура сушіння замороженого продукту вимірюється постійно за допомогою термоелектричного перетворювача (термопари) (поз. 3а). Сигнал від датчика температури у вигляді величини термоелектрорушійної сили (ТЕРС) надходить до нормуючого перетворювача (поз. 3б) та перетворюється в уніфікований електричний сигнал. Останній йде до ПЛК, конвертується в цифровий. При відхиленнях значень температури подача гарячого повітря зменшується або збільшується для врегулювання значення температури. Теплоносій (повітря) дозується виконавчим механізмом –автоматичним клапаном(поз. 3д). Уніфікований пневматичний сигнал до ВМ надходить з електро-пневмоперетворювача (поз. 1в).

10.2.1 Специфікація засобів автоматизації

Таблиця 10.2.1.1

Позиція	Параметр	Місце установки	Найменування характеристика приладу	Тип моделі	Завод виготовлювач
1	2	3	4	5	6
1а, 3а	Температура сушіння чи заморозки	У середині сушарки	Температурний датчик з чутливим елементом опору. Діапазон температур -50-250 °С, матеріал чутливого елемента - мідь	TSM 50M	АТ. «Овен»
1б, 3б	Температура сушіння чи заморозки	На щиті	Універсальний нормуючий перетворювач для встановлення в шкаф управління, вихідний сигнал термометра опору/термопари, вихідний сигнал – 4...20 мА, напруга живлення --= 24 В	НПТ1	АТ «Овен»
1в, 3в	Температура сушіння чи заморозки	На щиті	Електропневматичний перетворювач, вихідний сигнал – 4...20 мА, вихідний сигнал 20...100 кПа	2713- WP	Dwyer
1г, 3г,	Температура сушіння чи заморозки	На щиті	Панель управління пневматична, для дистанційного ручного управління виконавчими механізмами, $P_{жив.} = 140$ кПа, управляючий сигнал у ручному режимі – 20...100 кПа	ПП12.2	Таурус, Росія
1д, 3д	Температура сушіння чи заморозки	По місцю	Універсальний електро-пневматичний пускач для клапанів автоматичний з настройкою ступеня відкриття, вхідний	IP4000	Powerflow

			сигнал: 4-20 мА		
6а	Тиск	У ферментері	Датчик тиску аналоговий електронний з діапазоном вимірювання 0-16 бар±1% , універсальний сигнал 4-20 мА.	LEO 779692	LEO
6б	Тиск	На щиті	Універсальний перетворювач аналогового сигналу в цифровий	E848M	ООО АТD-Kompleks,

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. *Біотехнологія* [Електронний ресурс]. - Режим доступу:http://ua.referat.com/Біотехнологія_як_наука ;
2. *Новіков В., Сидоров Ю., Швед О.* Тенденції розвитку комерційної біотехнології. // Вісн. НАН України.–2008.– № 2.– С. 25–39.
3. *Никулин В.Н., Тараканов Б.В., Герасименко В.В.* Биологические основы применения пробиотических препаратов в сельском хозяйстве. – Оренбург: Изд. центр ОГАУ, 2007. – 112 с.
4. *Феоктистова Н.В., Марданова А.М. и др.* Пробиотики на основе бактерий рода *bacillus* в птицеводстве// Ученые записки казанского университета. – 2017. – № 159. – С. 85–107.
5. *Осипова, И.Г., Михайлова, Н.А., Сорокулова, И.Б., и др.* Споровые пробиотики // Ж. микробиол. – 2003. – № 3. – С. 113–119
6. *Пробиотики* [Електронний ресурс]. - Режим доступу: <http://healthukr.ru>;
7. *Ендобактерин* [Електронний ресурс] – Режим доступу: <http://www.dompitomci.ru> *Пирог Т.П., Ігнатова О.А.* Загальна біотехнологія // Підручник. – К.: НУХТ. – 2009. – 336с.
8. *Ушакова Н.А., Некрасов Р.В., Правдин В.Г., Кравцова Л.З., Бобровская О.И., Павлов Д.С.* Новое поколение пробиотических препаратов кормового назначения // Фундаментальные исследования. – 2012. – № 1. – С. 184–192.
9. *Hong, H.A., Duc L.H., Cutting S.M.* The use of bacterial spore formers as probiotics // FEMS Microbiol. Rev. – 2005. – Vol. 29, N 4. – P. 813–835.
10. *Малик, Н.И., Панин, А.Н.* Ветеринарные пробиотические препараты // Ветеринария. – 2001. – № 1. – С. 46–51.
11. *Патент РФ № 2035185.* Профилактический биопрепарат Субалин / Смирнов В.В., Резник С.Р., Сорокулова И.Б. – Опубл. 31.01.1992.
12. *Патент СССР № 1723117.* Штамм бактерий *bacillus pulvijaciens*, используемый для изготовления лечебно-профилактического препарата

против бактериальных инфекций у животных Никитеня В И. Никитенко И. К. Пау С. М. – Оpubл. 25.07.1988.

13. *Патент РФ № 2169767. Штамм бактерий bacillus subtilis, обладающий широким спектром антагонистической активности и устойчивостью к антибиотикам / Байгузина Ф.А. Кузнецова Т.Н. Баданова С.Ч. – Оpubл. 27.06.2001*

14. *Пирог Т.П. Загальна мікробіологія // Підручник. – К.: НУХТ. – 2004. – 471 с.*

15. *Определитель бактерий Берги. – 9-е изд. / Пер. под. ред. Г.А. Заварзина. – М.: Мир. – 1997. – Т. 2. – 800 с.*

16. *Определитель бактерий Берги. – 10-е изд. / Пер. под. ред. Г.А. Заварзина. – М.: Мир. – 2005. – Т. 2. – 580 с.*

17. *О. С. Хижняк, асп., НТУ «ХПШ», Харків; Ю. М. Краснопольський, д-р фарм. наук, проф., НТУ «ХПШ», Харків /Біотехнологічні аспекти створення препаратів на основі пробіотиків*

18. *Старовойтова С.О., Скороцька О.І., Пенчук Ю.М., Пирог Т.П. Технологія пробіотиків. – К.: НУХТ, 2012. – С.27*

19. *Коцюмбас І.Я, Жила М.І., Шкіль М.І. Пробиотики – необхідна складова при сучасному вирощуванні тварин // Науковий вісник ЛНУВМБТ. – 2013. – № 15. – С. 174-177.*

20. *Ветом 1.1 [Електронний ресурс] - [Режим доступу]: <https://prom.ua>*

21. *«Імунобактерин-Л» [Електронний ресурс] - Режим доступу: <https://prom.ua>*

22. *Лактоферон [Електронний ресурс] - [Режим доступу]: <https://zoodom.kiev.ua>*

23. *Оптiлакт [Електронний ресурс] - Режим доступу:<https://prom.ua>*

24. *Лациум [Електронний ресурс] - Режим доступу: <https://compendium.com.ua>*

25. Кількість сільськогосподарських підприємств орієнтованих на тваринництво, та кількість сільськогосподарських тварин у підприємствах сільськогосподарського спрямування на території України у 2018 р- [Електронний ресурс] - Режим доступу: <http://www.ukrstat.gov.ua>

26. *KEGG PATHWAY Database* - [Електронний ресурс] // KEGG: Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes. – 2019. – Режим доступу: https://www.kegg.jp/kegg-bin/show_pathway.

27. К. А., Голгер Л. И., Балашов В. Е. Оборудование микробиологических производств. – М.: Агропромиздат, 1987. – 398 с.

28. Мосичев М.С. Общая технология микробиологических производств : учеб./ М.С. Мосичев, А.А. Складнев, В.Б. Котов – М.: Лёгкая и пищевая промышленность, 1982. – 264 с.

29. Наказ від 14.12.2001 № 502 Про затвердження методичних рекомендацій щодо виконання санітарно-гігієнічних вимог та проведення мікробіологічного контролю у виробництві нестерильних лікарських засобів [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://www.moz.gov.ua>.

30. *Хлорантоїн* [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <https://miralab.in.ua>

31. *Біомой* [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <https://lavernamarket.com.ua>

32. Среда для культивирования бактерии-симбионта *Bacillus pulvifaciens* или *Bacillus subtilis*– продуцента -пробиотика/ Полянцев, Н.И., Ропяева Л.В., Подберезный В.В. – Оpubл. 27.12.1997.

33. *Особенности технологии получения бактериальных концентратов* [Електронний ресурс] – Режим доступу: <http://propionix.ru/tehnologiya-polucheniya-bakterialnyh-koncentratov>

34. *Промисловий сепаратор MBPX 810* [Електронний ресурс] – Режим доступу : <https://biotechno.ru>

35. *Белоус А.М.* Замораживание и криопротекция // Биохимия мембран: учебн. пособие / Под ред. А.А. Болдырева. - М: Высшая школа, 1987. – 80 с.
36. *Калуныц К.А., Голгер Л.И., Балашов В.Е.* Оборудование микробиологических производств. – М.: Агропромиздат, 1987. – 397 с.
37. *Ліофільні сушарки* [Електронний ресурс] – Режим доступу: <https://bio-rus.ru>
38. *Захисне середовище*[Електронний ресурс] – Режим доступу:<https://cyberleninka.ru>
39. *Новиков Д.А.* Выделение и очистка продуктов биотехнологии// Методическое пособие.: – Минск.: БГУ, 2014.– 256 с.
40. *Роторне сито* [Електронний ресурс] – Режим доступу: <https://www.glatt.com>
41. *Фасувальне обладнання* [Електронний ресурс] – Режим доступу: <https://kozakplus.ua>
42. *Реактор на 120 л* [Електронний ресурс] – Режим доступу: <https://promvit.com.ua/reaktory-dlya-zhidkix-lekarstvennyx-form-30l-i-120-l/>
43. *Дробарка* [Електронний ресурс] – Режим доступу: <https://zakupka.com>
44. *CIP-мойка.* [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://www.technowagy.com.ua>
45. *Пристрій забірний*[Електронний ресурс]. – Режим доступу: <https://www.c-o-k.ru>
46. *Фільтр першого ступеня очистки*[Електронний ресурс]. – Режим доступу:<http://www.airpol.com.ua>
47. *Безмасляний компресор LFxR* [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://atlas-co.ru>
48. *Теплообмінник-охолоджувач серії Swegon фірми «Parasol»*[Електронний ресурс]. – Режим доступу:<https://promvit.com.ua>
49. *Ресивер повітряний*[Електронний ресурс]. – Режим доступу:

<https://kompresormash.com>

50. *Теплообмінник нагрівач*[Електронний ресурс]. – Режим доступу:
<http://defro.ua>

51. *Модель фільтра FMW*[Електронний ресурс]. – Режим доступу:
<http://www.airpol.com.ua>

52. *Реактор-змішувач*[Електронний ресурс]. – Режим доступу:
<http://defro.ua>

53. *Дозатор* [Електронний ресурс]. – Режим доступу:
<http://www.technowagy.com.ua>

54. *Microfluor®II Стерилізуючі фільтри* [Електронний ресурс]. –
Режим доступу:<http://www.airpol.com.ua>

55. *Насос відцентровий*[Електронний ресурс]. – Режим доступу:
<https://ua.grundfos.com>

56. *Насос перистальтичний* [Електронний ресурс]. – Режим доступу:
http://lutz.com.ua/catalog/cen_pump/TMB_pump/

57. *Біореактор фірми «BIOSTAT® Cplus»*[Електронний ресурс]. –
Режим доступу: : <http://www.sartogosm.ru>

58. *Ферментер фірми «BIOSTAT D-DCU»* [Електронний ресурс]. –
Режим доступу: <http://www.sartogosm.ru>

59. *«Промвіт», ємінісне обладнання*[Електронний ресурс]– Режим доступу: <http://promvit.com.ua>

60. *Насоси, «Debem»*[Електронний ресурс]– Режим доступу:
www.debem.com.ua

61. *Пакувальна машина ТЕКА V3* [Електронний ресурс] – Режим доступу: <https://www.teka.kiev.ua>

62.

63. *Пат. 1723117 СССР, МПК С12 N 1/20. Штамм бактерій *Bacillus pulvificiens*, використовуваний для виготовлення лікувально-профілактичного препарату проти бактеріальних інфекцій у тварин. – БИ, 1992, № 12.*

64. Патент СССР № 1723117. Штамм бактерий *Bacillus pulvijaciens*, используемый для изготовления лечебно-профилактического препарата против бактериальных инфекций у животных Никитеня В И. Никитенко И. К. Пау С. М. – Оpubл. 25.07.1988.

65. Пирог Т. П. Загальна мікробіологія // Підручник. – К.: НУХТ. – 2010. – 623с.

66. Датчик *Aber Futura* [Електронний ресурс] – Режим доступу:<https://www.bioprocessonline.com>

67. Датчик *Aber Futura* [Електронний ресурс] – Режим доступу:<https://www.futura-pico.com>

68. А.М. Куц, М.В. Бондар, Ю.В. Булій Загальні технології харчової промисловості: Метод. вказівки до вик. лаб. практикуму студ. заоч. форми навчання напряму підготовки 6.051701 “Харчові технології та інженерія“ спец. “ Технологія продуктів бродіння і виноробства ”// Підручник – К: НУХТ, 2011. – 53 с.

69. Ферментний кондуктометричний біосенсор для визначення лактози [Електронний ресурс] – Режим доступу: <http://iht.univ.kiev.ua>

70. С.О. Старовойтова, О.І. Скроцька, Ю.М. Пенчук, Т.П. Пирог. Підруч. / Технологія пробіотиків— К.: НУХТ, 2012. — 318 с

Додаток 1

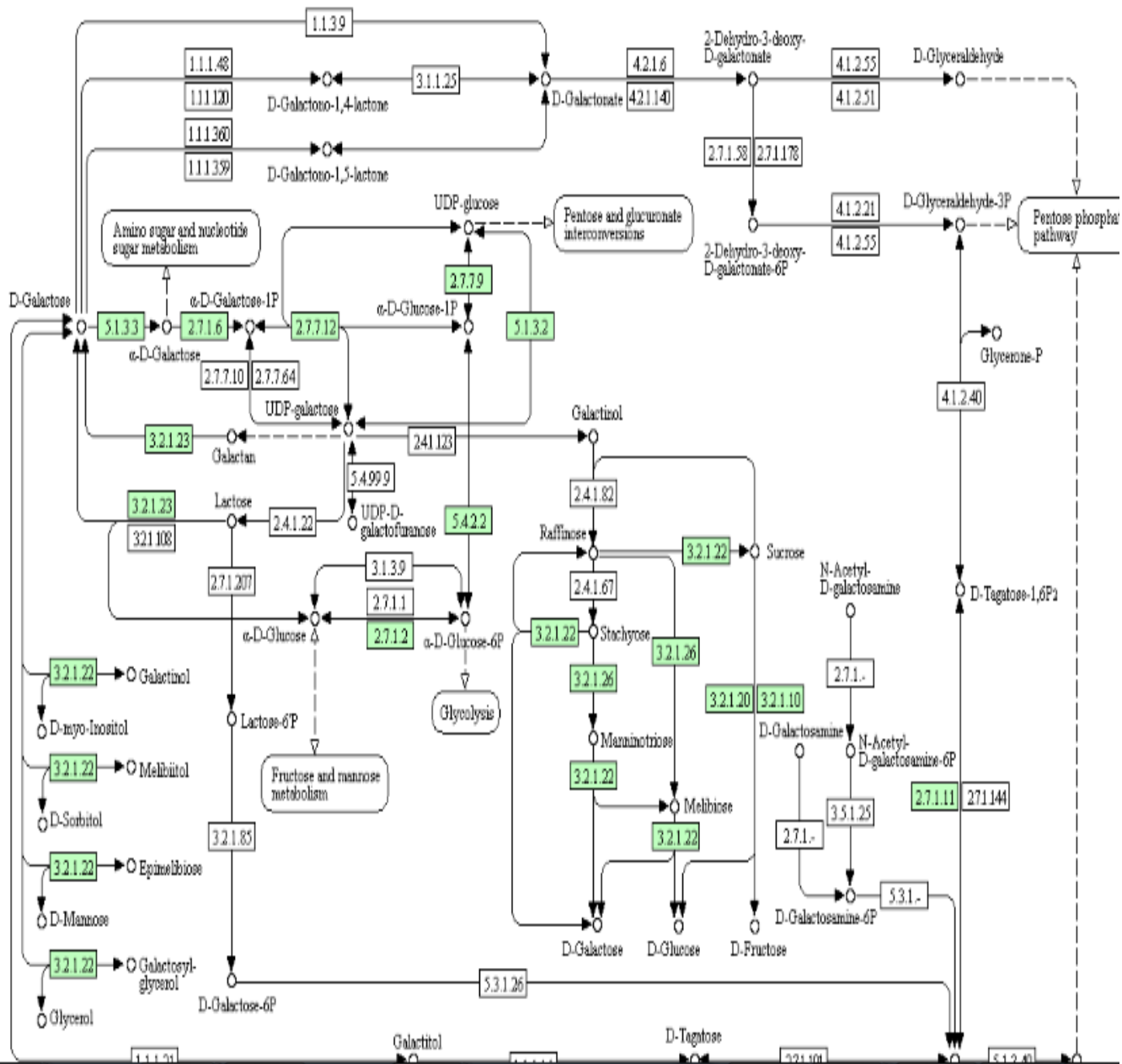


[Pathway menu | Organism menu | Pathway entry | Download KGML | User data mapping]

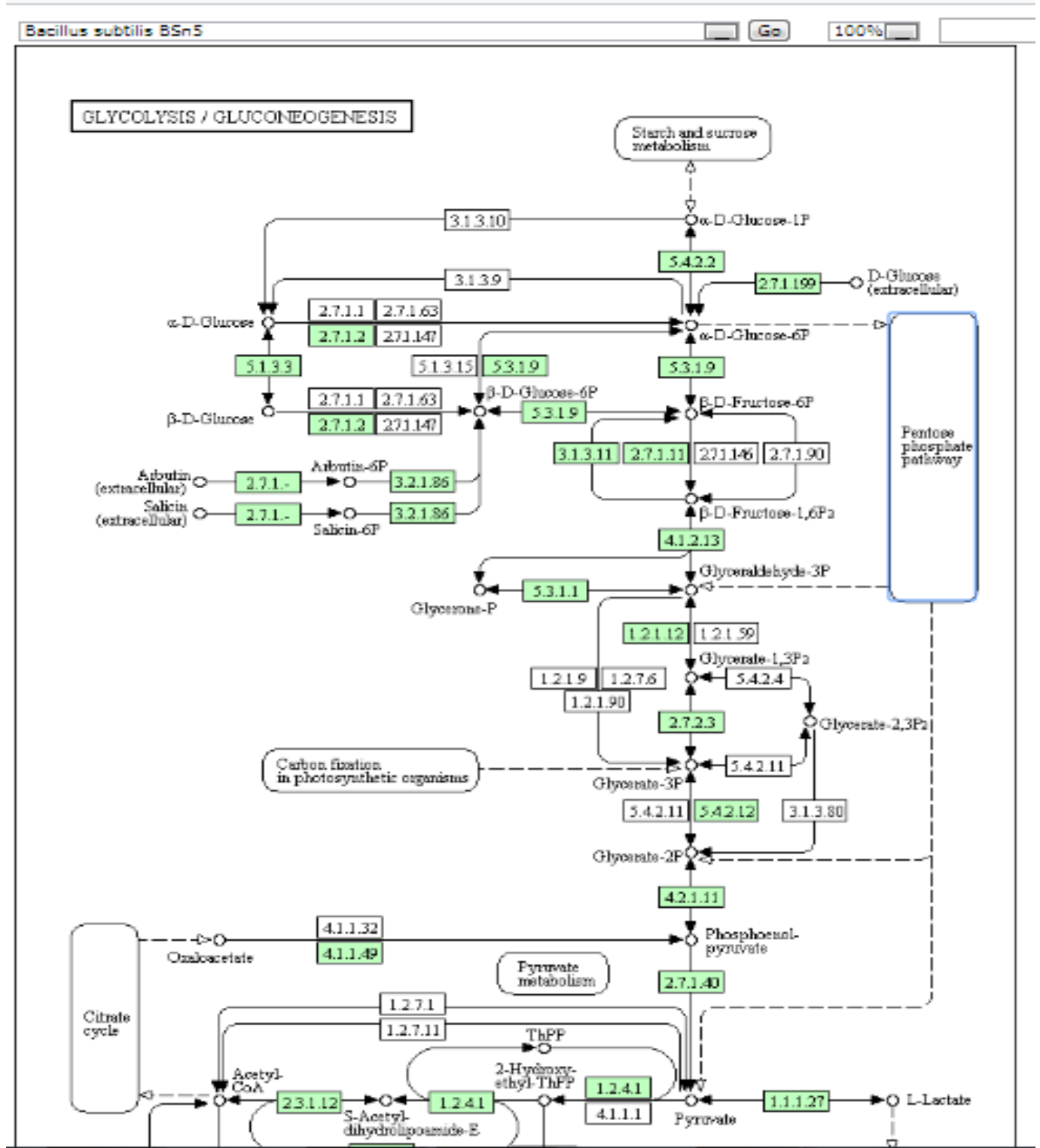
Bacillus subtilis BSn5

100%

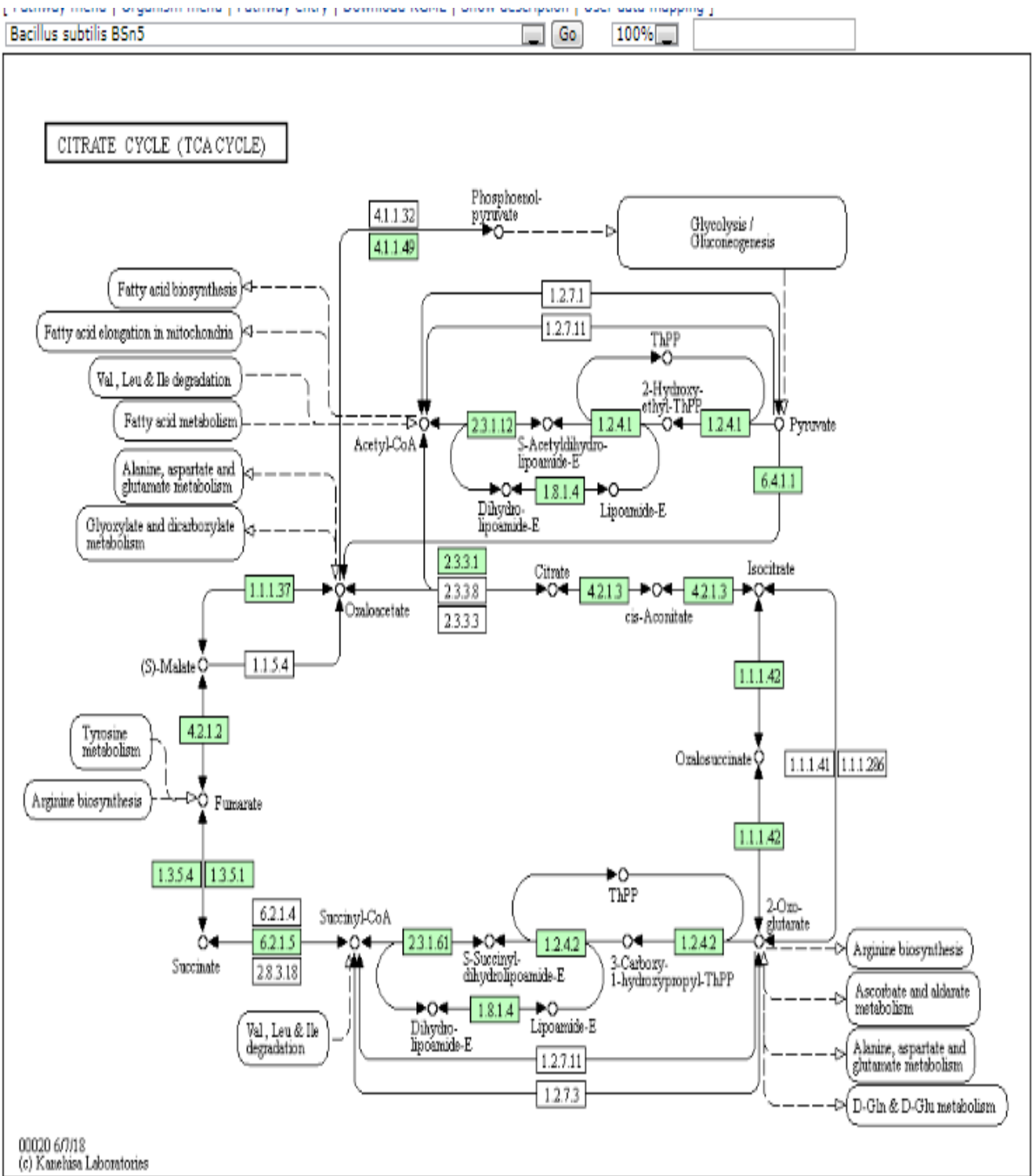
GALACTOSE METABOLISM



Додаток 2



Додаток 3



Додаток 8

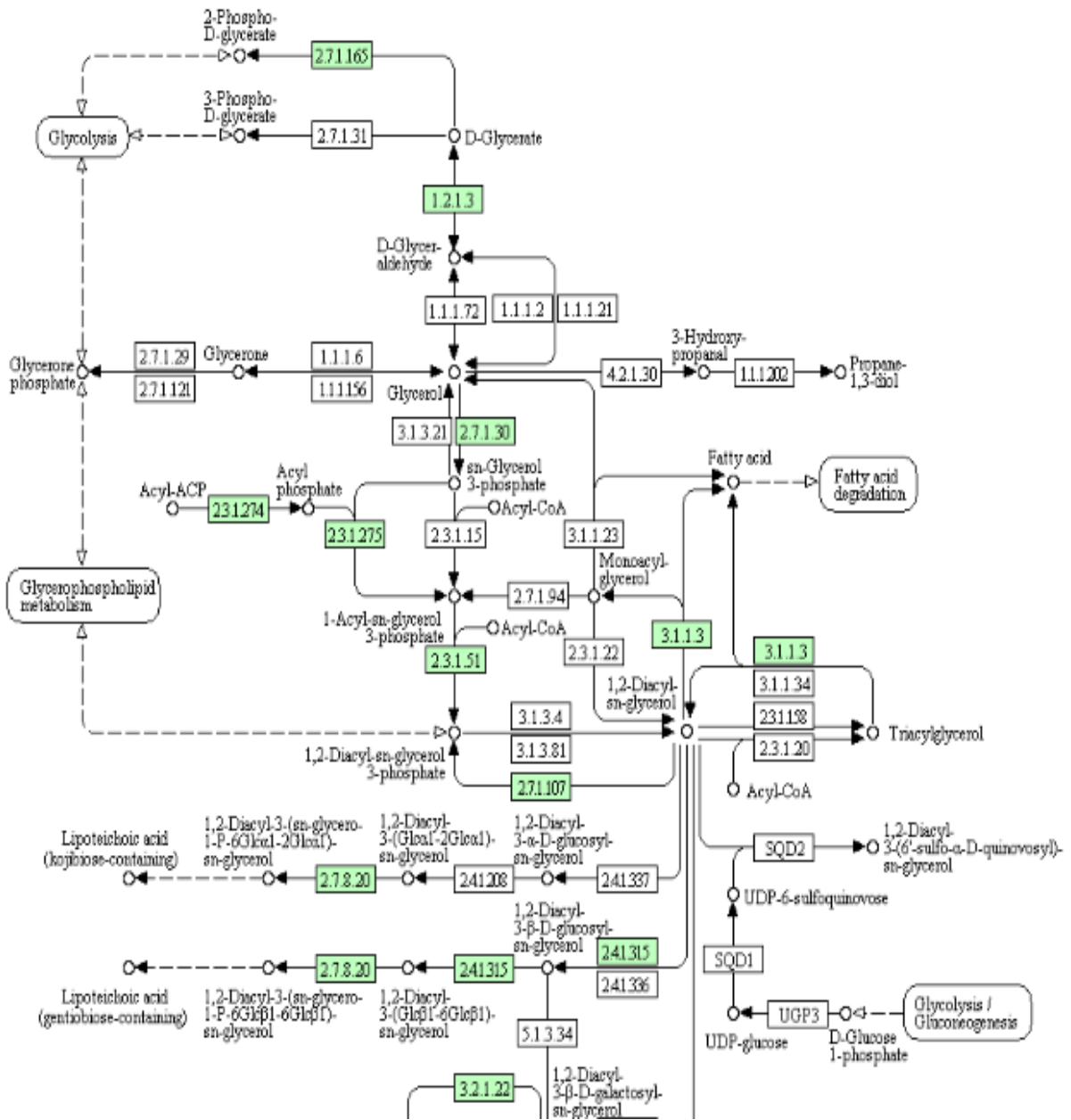
[Pathway menu | Organism menu | Pathway entry | Download KML | User data mapping]

Bacillus subtilis B5n5

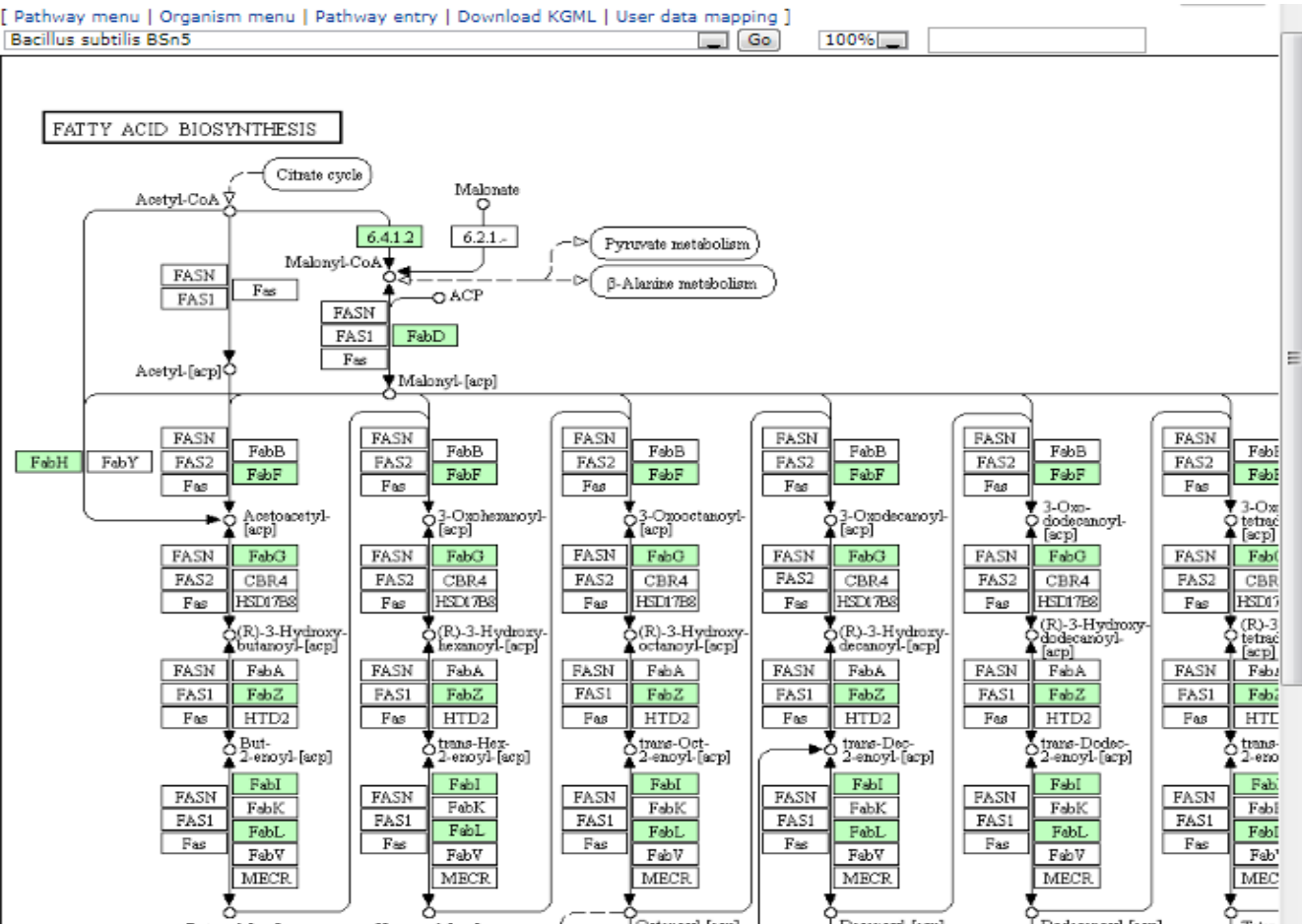
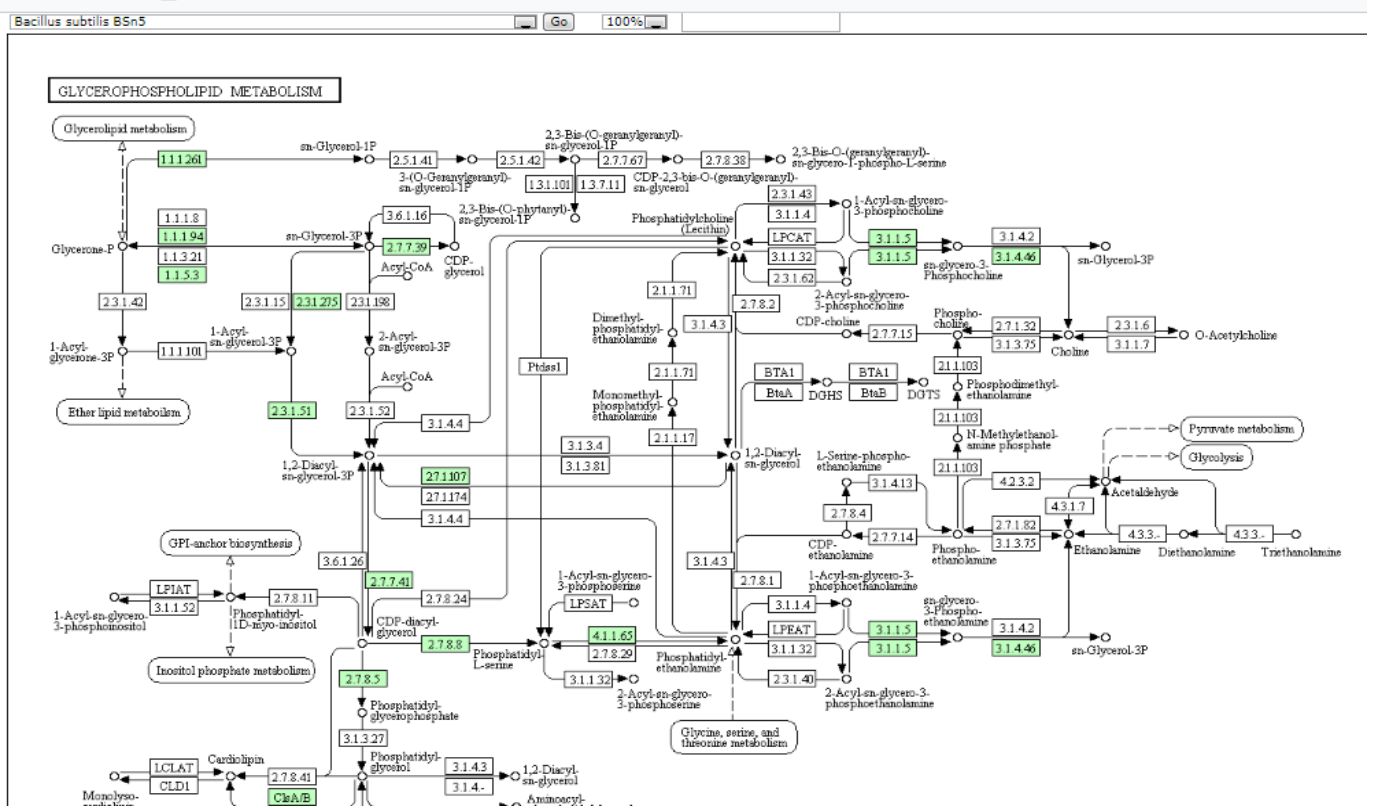
Go

100%

GLYCEROLIPID METABOLISM



Додаток 9



Додаток 10

The screenshot shows a web browser window with the URL www.freepatent.ru/patents/2100029. The page title is "среда для культивирования бактерии-симбионта bacillus pulvifaciens или bacillus subtilis - продуцента пробиотика". The website header includes the "FREEPATENT" logo and navigation links: "ПАТЕНТНЫЙ ПОИСК В РФ", "НОВЫЕ ПАТЕНТЫ, ЗАЯВКИ НА ПАТЕНТ", "БИБЛИОТЕКА ПАТЕНТОВ НА ИЗОБРЕТЕНИЯ", "Терминология и общие сведения", "Как получить патент на изобретение", "Роспатент - методические рекомендации", and "Международная патентная классификация".

Классы МПК:	A61K35/74 бактерии C12N1/20 бактерии; питательные среды для них
Автор(ы):	Полянцев Н.И., Робаева Л.В., Подберезный В.В.
Патентообладатель(и):	Полянцев Николай Иванович
Приоритеты:	подача заявки: 1995-01-13 публикация патента: 27.12.1997

Использование: ветеринария, может быть использовано при производстве пробиотиков. Сущность изобретения: среда для культивирования бактерии-симбионта включает подсырную сыворотку, натрий хлорид, натрий углекислый, калий фосфорнокислый двузамещенный, аммоний малибденовокислый, железо сернокислое закисное при следующем соотношении компонентов (г/л подсырной сыворотки): натрий хлорид - 0,4 - 0,6; натрий углекислый - 0,4 - 0,6; калий фосфорнокислый двузамещенный - 0,4 - 0,6; аммоний молибденовокислый - 0,04 - 0,06, железо сернокислое закисное - 0,04 - 0,06. 5 табл.

Рисунки к патенту РФ 2100029
[Рисунок 1](#)

Патентный поиск по классам МПК-8:
Класс A61K35/74 бактерии

Патенты РФ в классе A61K35/74:

- [способ лечения больных с онкологическими заболеваниями и/или иммунодепрессиями - патент 2528877](#) (20.09.2014)
- [штамм lactobacillus fermentum, обладающий широким спектром антагонистической активности и пробиотический консорциум лактобактерий для изготовления бактериальных препаратов - патент 2528862](#) (20.09.2014)
- [изолированный штамм \(варианты\), обеспечивающий улучшение состояния здоровья жвачных животных, способ его получения, и способ его введения жвачным животным - патент 2528859](#) (20.09.2014)

Среда для культивирования бактерии-симбионта bacillus pulvifaciens или bacillus subtilis - продуцента пробиотика

Авторы патента:

Полянцев Н.И.

Робаева Л.В.

Подберезный В.В.

Использование: ветеринария, может быть использовано при производстве пробиотиков. Сущность изобретения: среда для культивирования бактерии-симбионта включает подсырную сыворотку, натрий хлорид, натрий

углекислый, калий фосфорнокислый двузамещенный, аммоний молибденовокислый, железо сернокислое закисное при следующем соотношении компонентов (г/л подсырной сыворотки):

натрий хлорид - 0,4 - 0,6;

натрий углекислый - 0,4 - 0,6;

калий фосфорнокислый двузамещенный - 0,4 - 0,6;

аммоний молибденовокислый - 0,04 - 0,06,

железо сернокислое закисное - 0,04 - 0,06. 5 табл.

Изобретение относится к ветеринарии, а именно к способам получения пробиотиков, например, эндобактерина и споробактерина. Последние представляют собой живую культуру микробов-антагонистов *Bac. pulifaciens* штамм 535 (ВКПМ В-4348) и *Bac. Subtilis* штамм 534 (ВКМП В-1666Д). Изобретение служит охране окружающей среды.

Известен аналог, согласно которому для выращивания штаммов *Bac. pulvifaciens* ВКПИ 4348 или *Bac. subtilis* ВКПМ В-1666Д, используют мясо-пептонный агар (МПА) и хлорид натрия, привносимый взвесью культуры для ее культивирования, а также содержанием соли в мясопептонном бульоне, из которого готовят МПА, (Заявка РСТ 89/09607, кл. А 61 К 35/74, 89.).

Недостатком данной среды является ограничение ресурсов некоторых компонентов, которые готовят из пищевых продуктов.

Цель изобретения привлечение дополнительных ресурсов при промышленной наработке пробиотиков для нужд животноводства и ветеринарии.

Цель достигается тем, что среда в качестве питательной основы содержит подсырную сыворотку и дополнительно натрий углекислый, калий

фосфорнокислый двузамещенный, аммоний молибденовокислый, железо сернокислое закисное при следующем соотношении компонентов, г/л:

Натрий хлорид 0,4 0,6

Натрий углекислый 0,4 0,6

Калий фосфорнокислый двузамещенный 0,4 0,6

Аммоний молибденовокислой 0,04 0,06

Железо сернокислое закисное 0,04 0,06

Подсырная сыворотка Остальное.

Подсырная сыворотка содержит около 6,5% сухих веществ или 48-57% от их наличия в цельном молоке. Наряду с белками в ней содержатся пептиды, протеазопептоны, свободные аминокислоты, причем их концентрация в 4-20 раз выше, чем в молоке. Углеводная часть представлена лактозой и продуктами ее гидролиза: глюкозой и галактозой. В ее состав входят минеральные вещества, органические кислоты (молочная, лимонная, нуклеиновая). В сыворотку почти полностью переходят водорастворимые витамины (Храмцов А.Г. Заец Н.Е. Доценко Г.Н. Производство сухой подсырной сыворотки. М. 1979, с.1-40). Большинство перечисленных компонентов вполне допустимы для бактерий.

В Российской Федерации для производства долгохранящихся продуктов (сухая сыворотка, лактоза и др.) используется всего лишь около 10% подсырной сыворотки Храмцов А.Г.

Молочная сыворотка (переработка и использование). М. Пищевая промышленность, 1979, с.3-272). Часть подсырной сыворотки в натуральном виде поступает для кормовых целей, а остальное молзаводы вынуждены сливать в водоемы, загрязняя их. Следовательно, подсырная сыворотка по существу является бросовым вторичным продуктом сыроделия.

Для приготовления культуральной среды отмеривают в колбу 1 л свежей подсырной сыворотки и вносят при непрерывном перемешивании навески солевых компонентов, г/л подсырной сыворотки

Натрия хлорид 0,4 -0,6

Натрий углекислый 0,4 0,6

Калий фосфорнокислый двухзамещенный 0,4 0,6

Аммоний молибденовокислый 0,04 0,06

Железо сернокислое закисное 0,04 0,06

После полного растворения солевых компонентов содержимое колбы разливают в чисто вымытые сухие стеклянные флаконы емкостью 250 мл, заполняя их на 3/4 объема, закрывают ватно-марлевыми пробками и стерилизуют в автоклаве при избыточном давлении 0,4 атм в течение 25-30 мин.

Готовая среда представляет собой мутную жидкость светло-серого или кремового цвета; допускается наличие на дне флакона небольшого количества хлопьев, легко разбивающихся при встряхивании. После охлаждения до +37°C флаконы со средой переносят в настольную бактерицидную камеру и засевают свежепреготовленной маточной культурой *Bac. pulvifaciens* или *Bac. subtilis* из расчета 1,0 мл суспензии маточной культуры на флакон среды.

Telegram Web x ЭНДОБАКТЕРИН x Штамм бактерий bacillus x

www.dompitomci.ru/doc/sh_q_ref/4005.html

С-Петербург НА ГЛАВНУЮ

ПРЕПАРАТЫ ЭНДОБАКТЕРИН **ПРЕПАРАТЫ**

AB-25
 ABSORBIN
 ACP - p-p для инъекций 10 мг/мл(ACPInjection 10mg/ml)
 ACP-таблетки(ACP TABLETS)
 ACP injection 2 mg/ml
 ALUDEX
 AMORODIN
 AMOXIN SOL 50
 AMOXIN SOL TABLETS
 AMPICLOX LC
 ANIMALINTEK
 ANTISEDEX
 ATROCARE INJECTION
 AUROCLENS
 AUROTO EAR DROPS
 BUSCORANE
 BUSCORANE (БАСКОПАН)
 CALCIBOR CM40
 CALCINJECT PMD
 CALVET 1
 CALYPSOVET (Кетамин)
 CANAURAL EAR DROPS
 CANOVELCALCIUM TABLETS
 CANOVELCONDITION TABLETS
 CARDIOVET
 CARTROPHEN VET
 CEFA-CURE
 CELLAMIN, CELLONA
 CEPOREXVETERINARY TABLETS
 CEPRAVIN EYE OINTMENT
 CHLORETAMINE
 CHLOROMYCETIN
 HYDROCORTIZONE
 ORPHALMIC OINTMENT

ПАРТНЕРЫ

Препарат "эндобактерин" - взвесь живых бактерий *Bacillus subtilis* штамма 535. Его создание стало возможным после обнаружения ранее неизвестного механизма защиты организма теплокровных от инфекции.

МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ В организме животных и птиц бактерии выделяют антибактериальное вещество белковой природы, подавляющее рост патогенных и условно патогенных бактерий и грибов: стафилококков, стрептококков, эшерихий, протей, псевдомонад, клебсиелл, сальмонелл, шигелл, грибов кандиды, актиномицетов. По своим свойствам препарат не уступает, а часто является более эффективным, чем современные антибиотики. Бактерии штамма продуцируют протеолитические ферменты, способствующие улучшению перевариваемости протеина в среднем на 4,9%, жиров на 6,0%, клетчатки на 10,7%. При этом отмечается увеличение усвоения минеральных веществ на 7,3% и азота на 9,3%. Эндобактерин выделяет иммуномодулятор, оказывающий антиаллергическое действие. При испытании препарата на животных установлено, что в 10-ти дневном возрасте средний привес в опытной группе был на 11,5%, а в 20-ти дневном возрасте на 10,2% больше, чем в контрольной группе. Отход животных за 20 дней выращивания составил 6,36% в опытной группе и 7,32% в контрольной группе. Данный препарат рекомендован для лечения бактериальных инфекций различной этиологии домашних животных (собак, кошек). Эндобактерин необходимо включать в комплекс мероприятий профилактики при расстройствах желудочно-кишечного тракта, чумки, энтероколитов. Препарат хорошо усваивается и выводится из организма через 1-3 суток, не вызывая токсических, аллергических, тератогенных и других негативных реакций даже при тысячекратной передозировке.

СПОСОБ ПРИМЕНЕНИЯ И ДОЗИРОВКА Эндобактерин рекомендуется использовать для профилактики и лечения бактериальных и грибковых инфекций у свиней, крупного рогатого скота, овец, коз, пушных зверей, домашних животных, птиц (кур, гусей, уток, павлинов и др.): а) для профилактики желудочно-кишечных заболеваний, дизбактериозов, пневмонии поросятам, телятам, ягнятам, козлятам, молодняку других животных и птиц препарат назначают через рот с кормом, молоком или водой в дозе по 0,05-0,1 г на 1 кг живого веса 1 раз в сутки с первого дня жизни в течение 20-60 дней. Эндобактерин рекомендуется вносить в корм или воду сразу для всей группы животных и птиц. Через 2-3 недели курс профилактики может быть повторен: б) для профилактики желудочно-кишечных заболеваний, дизбактериоза, пневмоний, энтеритов, сальмонеллеза, гнойно-воспалительных осложнений, колибактериозов, кандидозов у собак по 1 таблетке в день в течение 7 дней, далее по 2 таблетки в неделю в течение 4-х дней; для лечения этих заболеваний - по 1 таблетке 2 раза в день в течение 15 дней. в) для получения здорового приплода эндобактерин с кормом или водой дают свиноматкам, коровам, нетелям, овцематкам, козяматкам и другим видам животных ежедневно 1 раз в сутки в дозе по 0,1 г на 1 кг живого веса в течение 2-4 недель до опороса, отела, окота и т.д.; г) для профилактики гнойно-воспалительных осложнений при кастрации, травмах, после хирургических операций эндобактерин назначают через рот в дозе по 0,1 на 1 кг живого веса 1-2 раза в сутки в течение 5-7 дней. Местное применение препарата преимуществ не имеет. е) для лечения энтеритов, сальмонеллезов, колибактериозов, дизбактериозов, кандидозов у поросят, цыплят, а также других видов животных и птиц эндобактерин назначают с кормом, водой, молоком в дозе по 0,1-0,2 г на 1 кг живого веса 2-3 раза в сутки в течение 5-15 дней; ж) с целью лечения отечной болезни, эндометритов, пневмонии, маститов, гнойных процессов, остеомиелита и др. эндобактерин назначают свиньям, крупному и мелкому рогатому скоту, другим животным и птицам через рот с кормом или водой в дозе 0,1-0,2 г на 1 кг живого веса 2-3 раза в сутки в течение 5-20 дней; з) для лечения актиномикоза крупного рогатого скота препарат назначают с кормом или водой в дозе по 0,1 г на 1 кг живого веса 1 раз в сутки в течение 20-60 дней; и) для улучшения усвояемости корма и увеличения привеса животных эндобактерин может применяться в дозе 0,02-0,04 г на 1 кг живого веса 1 раз в сутки в течение всего периода выращивания и откорма животных и птиц.

ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ При экспериментальном изучении и испытаниях противопоказаний к применению не выявлено.

ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ Одновременное введение антибиотиков, снижает эффективность эндобактерина.

ПРИМЕЧАНИЕ Отмечено, что после курса профилактики или лечения эндобактерином резко возрастает эффективность действия антибиотиков.

ФОРМА ВЫПУСКА И ХРАНЕНИЕ: Препарат выпускается во флаконах по 30 таблеток массой 0,25 г. Порошок упакован в спец. мешки по 20 кг, по заявке потребителя возможна более мелкая расфасовка. Хранить при температуре - 12 град. С - +20 град. С в течение 36 месяцев с момента выпуска.

ПАРТНЕРЫ

противомикробные
 антигипоксанты
 антигельминтные
 диагностические
 функции почек
 гепатотропные
 средства
 процессы
 иммунитета
 антипедикулезные
 мускулатура матки
 заболевания
 фармакологические
 группы
 онкологических
 заболевания

ПАРТНЕРЫ

Документы

психоз у собак
 бешенство у
 животных
 Альтернативы
 гемотрансфузии
 Анализ опухолей
 Ангиография у
 плоядных
 Атопические отиты
 возбудитель чумы

7a2a2ee4-bc7b-49...jpg ^ KOMPAS-Electric_...msi ^ Паспорт (Українс...pdf ^ Паспорт (Закордо...pdf ^ Паспорт (Закордо...pdf ^ Показать все x

18:14
 19.05.2020



РЕСПУБЛИКА КАЗАХСТАН

НАЦИОНАЛЬНОЕ ПАТЕНТНОЕ
ВЕДОМСТВО ПРИ КАБИНЕТЕ МИНИСТРОВ
РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

(19) KZ (C) (11) 2874

(51)^s C12N 1/20, A61K 35/74/(C12N 1/20,
C12R 1/07)

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(24) 09.01.95

(60) 25.0788, № 1723117 (RU)

(46) 15.12.95, Бюл. № 4

(72) В.И.Никитенко, И.К.Никитенко и
С.М.Пау

(73) Оренбургский государственный меди-
цинский институт

(53) 619:616.9.616.084 (088.8)

(56) Карпов В.М. Препарат бактерин – SL.–
Ветеринария, 1987, № 7, с. 45.

(54) ШТАММ БАКТЕРИЙ *BACILLUS PULVIFACIENS*, ИСПОЛЬЗУЕМЫЙ ДЛЯ ИЗГОТОВЛЕНИЯ ЛЕЧЕБНО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА ПРОТИВ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ИНФЕКЦИЙ У ЖИВОТНЫХ

(57) Изобретение относится к ветеринарной микробиологии, а именно к средствам профилактики и лечения бактериальных инфекций у животных. Цель изобретения – штамм бактерий *Bacillus pulvifaciens* ВКПМ В-4348, продуцирующий протеолитические ферменты и антибиотики широкого спектра действия что позволяет повысить эффектив-

ность лечения и профилактики бактериальных инфекций у животных. Штамм депонирован во Всесоюзной коллекции промышленных микроорганизмов под номером В-4348. Штамм используется для изготовления живого бактериального препарата, применяемого для профилактики и лечения гнойно-воспалительных процессов различной локализации. Штамм *B. pulvifaciens* ВКПМ В-4348 продуцирует протеолитические ферменты, разлагающие альбумин, гемоглобин, фибрин и антибиотик широкого спектра действия. К антибиотику чувствительны условно-патогенные микроорганизмы: стафилококки, стрептококки, кишечные палочки, синегнойные палочки, протей, сальмонеллы, дизентерийные палочки, клебсиеллы, дрожжевые грибки. Рост сапрофитирующей микрофлоры им не поддается. Кроме того, антибиотик быстро (в течение нескольких часов) полностью разрушается, что исключает формирование пищевой аллергии. Протеолитические ферменты способствуют усвоению кормов. 1 табл.

Изобретение относится к ветеринарной микробиологии, а именно к средствам для профилактики и лечения пневмонитов, дисперсий, отечной болезни, маститов и других бактериальных инфекций у животных.

Целью изобретения является штамм бактерий *Bacillus pulvifaciens* ВКПМ № В-4348, продуцирующий протеолитические ферменты и антибиотики широкого спектра действия, что позволяет повысить эффективность лечения и профилактики бактериальных инфекций у животных.

Штамм *B. pulvifaciens* № 535 депонирован во Всесоюзной коллекции промышленных микроорганизмов под № В-4348.

Штамм выделен из негнойной раны больного и характеризуется следующими свойствами.

Морфологические свойства. Штамм *B. pulvifaciens* ВКПМ № В-4348 представляет собой палочку, величина клеток односуточной агаровой культуры составляет (–2–4) × (0,6–0,8) мк. Клетки подвижны, образуют споры и не образуют капсул.

(19) KZ (C) (11)2874

Культуральные свойства. Клетки штамма *B. pulvifaciens* ВКПМ № В-4348 по граму окрашиваются положительно. Штамм при росте на МПБ образует морщинистую клетку, на МПА колонки шероховатые, с фестончатыми краями, со слабым розовым оттенком, диаметром 2–9 мм, растут как в аэробных, так и анаэробных условиях. Штамм размножается при 15–50°C, оптимум роста 36–37°C.

Биохимические свойства. Штамм расщепляет до кислоты без выделения газа глюкозу, сахарозу, мальтозу, дульцит, галактозу. Лактозу, маннит, ксилозу, рамнозу, лизин, аргинин, орнитин не ферментирует. Сероводород и индол не образует. Молоко пептонизирует. Лецитиназу не продуцирует. Выделяет ацетилметилкарбинол и каталазу, крахмал не гидролизует.

Штамм *B. pulvifaciens* ВКПМ № В-4348 чувствителен к эритромицину, ампициллину, бензилпенициллину, оксациллину, линкомицину, неомицину, левомицетину, мономицину, ристомицину, канамицину, тетрациклину, олеандомицину, не чувствителен к полимиксину.

Штамм продуцирует протеолитические ферменты, разлагающие альбумин, гемоглобин, фибрин и антибиотик широкого спектра действия. К антибиотик чувствительны условно-патогенные микроорганизмы: стафилококки, стрептококки, кишечные палочки, синегнойные палочки, протей, сальмонеллы, дизентерийные палочки, клебсиеллы, дрожжевые грибки. Рост сапротрофической микрофлоры не подавляет. Кроме того, антибиотик быстро (в течение нескольких часов) полностью разрушается, что исключает формирование пищевой аллергии. Протеолитические ферменты способствуют усвоению кормов.

Безвредность. Штамм нетоксичен и непатогенен, не вызывает гибели животных при внутрибрюшинном введении его белым мышам и крысам породы Вистар в дозе по 10 млрд клеток или при ежедневном в течение месяца введении им в дозу по 200 млн клеток или при алиментарном введении в дозе 200–500 млн клеток, за время наблюдения животные прибавили в весе на 11–17%.

При гистологическом исследовании токсических изменений во внутренних органах не вызывает. В опытах на морских свинках установлено отсутствие алергизирующего действия.

Дифференциальные свойства. Штамм *B. pulvifaciens* № В-4348 отличается от штамма *B. subtilis* отсутствием у последнего гидролиза крахмала и расщепления маннита.

Штамм *B. pulvifaciens* ВКПМ № В-4348 используется для изготовления живого бактериального препарата, который применяют для профилактики и лечения гнойно-воспалительных процессов различной локализации у животных: эндометритов, маститов, отечной болезни, диаррей.

Пример 1. Для изготовления препарата в бактериологические матрасы разливают по 250 см³ 3%-ного стерильного мясо-пептонного агара. В каждый из них вносят по 10 см³ взвеси производственного штамма *B. pulvifaciens* № В-4348, содержащей по 200 млн. клеток в 1 см³ 0,9%-ного раствора натрия хлорида. Культивируют при 36–37°C. Через 24 ч выросшую культуру смывают стерильным раствором 0,9 раствора натрия хлорида из расчета 100 см³ на 1 бактериологический матрац. Полученную взвесь разливают в стеклянные флаконы. В течение 24 ч при давлении 70 Па проводят лиофилизацию. В 1 мг препарата содержится 400 млн. живых клеток штамма.

Препарат стерилен безвреден, подавляется рост золотистого стафилококка в зоне 27 мм, протей в зоне 24 мм, дрожжевого грибка в зоне – 30 мм.

Пример 2. Полученный препарат используют для лечения эндометрита у коров. Больным животным препарат вводят с кормом в дозе по 10–50 млрд клеток один раз в сутки перед отелом. Из 4174 коров эндометрит развился у 17% животных, в то время как в контрольной группе у 80%. С лечебной целью препарат используют в дозе по 50–100 млрд. клеток 2 раза в сут.

Пример 3. Полученный препарат 4348 использован для профилактики желудочно-кишечных заболеваний у свиней. Препарат задают с кормом в дозе по 100–200 млн. клеток на 1 кг живого веса.

Результаты испытания препарата, изготовленного из штамма *B. pulvifaciens* ВКПМ № В-4348 для профилактики желудочно-кишечных заболеваний у поросят в сравнении с традиционными методами лечения, представлены в таблице.

Отдельные случаи отечной болезни и дисперсий при профилактическом применении препарата "Ветбактерин", изготовленного из штамма *B. pulvifaciens* ВКПМ № В-4348, протекают как правило в легкой форме без потери веса животных.

Осложнений при применении препарата не выявлено.

Формула изобретения

Штамм бактерий *Bacillus pulvifaciens* ВКПМ В-4348, используемый для изготовления лечебно-профилактического препарата против бактериальных инфекций у животных.