

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)  
Грегірчак Н.М.  
(підпис) (прізвище та ініціали)

«  »    червень    2021 р.

«До захисту допущено»  
Завідувач кафедри  
Пирог Т.П.  
(підпис) (прізвище та ініціали)

«  »    червень    2021 р.

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА  
НА ЗДОБУТТЯ ОСВІТНЬОГО СТУПЕНЯ БАКАЛАВРА

зі спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія»

(код та назва спеціальності)

освітньо-професійної програми «Біотехнологія»

на тему: Біосинтез фітази *Aspergillus niger*

Виконав: здобувач 4 курсу, групи 1

Роженко Анастасія Вячеславівна  
(прізвище, ім'я, по батькові повністю)

(підпис)

Керівник Воронцов Олександр Олександрович  
(прізвище, ім'я та по батькові повністю)

(підпис)

Консультанти Клименко О.М.  
(прізвище та ініціали)

(підпис)

Рецензент Решетняк Л. Р.  
(прізвище та ініціали)

(підпис)

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

Здобувач \_\_\_\_\_  
(підпис)

Київ – 2021 р.

# НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ

Інститут (факультет) Біотехнології та екологічного контролю

Кафедра біотехнології і мікробіології

Освітній ступінь бакалавр

Спеціальність 162 «Біотехнології та біоінженерія»

(код і назва)

Освітньо-професійна програма «Біотехнологія»

(назва)

**ЗАТВЕРДЖУЮ**

Завідувач кафедри біотехнології і  
мікробіології

Пирог Т.П.

“ 01 ” квітня 2021 року

## З А В Д А Н Н Я

### НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ ЗДОБУВАЧА

**Роженко Анастасії Вячеславівни**

(прізвище, ім'я, по батькові)

1. Тема роботи «Біосинтез фітази *Aspergillus niger*»

керівник роботи **Воронцов Олександр Олександрович**

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

затверджені наказом закладу вищої освіти від 30 березня 2021 року № 228-кв

2. Строк подання здобувачем роботи \_\_\_\_\_ 03 червня 2021 року \_\_\_\_\_

3. Вихідні дані до роботи біологічний агент: *Aspergillus niger*, цільовий продукт: фітаза – кормовий фермент

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

РОЗДІЛ 1. Характеристика цільового продукту. РОЗДІЛ 2. Обґрунтування вибору та характеристика біологічного агента. РОЗДІЛ №3. Техніко-економічне обґрунтування. РОЗДІЛ №4. Біосинтез цільового продукту. РОЗДІЛ №5. Обґрунтування вибору технологічної схеми. РОЗДІЛ №6. Специфікація обладнання. РОЗДІЛ №7. Опис технологічної схеми. РОЗДІЛ №8. Контроль виробництва. РОЗДІЛ №9. Автоматизація ділянки виробництва. РОЗДІЛ №10. Охорона довкілля.

5. Перелік графічного матеріалу

Технологічна схема виробництва фітази – 2 аркуші (А1, А2). Апаратурна схема виробництва фітази – 2 аркуші формату А1. Схема автоматизації ділянки виробничого біосинтезу – 1 аркуш формату А3.

## 6. Консультанти розділів роботи

Розділ	Прізвище, ініціали та посада консультанта	Підпис, дата	
		завдання видав	завдання прийняв
Розділ 9 Автоматизація	Клименко Олег Миколайович доцент, к.т.н., кафедра автоматизації та комп'ютерних технологій систем управління	24.02.21	22.04.21

7. Дата видачі завдання 01 квітня 2021 року

## КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№ з/п	Назва етапів кваліфікаційної роботи	Строки виконання	Примітка
1	<i>Характеристика цільового продукту</i>	<i>01.04.21-05.04.21</i>	
2	<i>Обґрунтування вибору та характеристика біологічного агента</i>	<i>06.04.21-11.04.21</i>	
3	<i>Техніко-економічне обґрунтування</i>	<i>12.04.21-20.04.21</i>	
4	<i>Біосинтез цільового продукту</i>	<i>21.04.21-27.04.21</i>	
5	<i>Обґрунтування вибору технологічної схеми</i>	<i>28.04.21-03.05.21</i>	
6	<i>Специфікація обладнання</i>	<i>04.05.21-07.05.21</i>	
7	<i>Опис технологічної схеми</i>	<i>08.05.21-15.05.21</i>	
8	<i>Контроль виробництва</i>	<i>16.05.21-19.05.21</i>	
9	<i>Автоматизація ділянки виробництва.</i>	<i>20.05.21-23.05.21</i>	
10	<i>Охорона довкілля</i>	<i>24.05.21-27.05.21</i>	

Здобувач \_\_\_\_\_  
(підпис)

Роженко А. В  
(прізвище та ініціали)

Керівник роботи \_\_\_\_\_

Воронцов О. О

## РЕФЕРАТ

Представлено кваліфікаційну роботу на тему виробництво фітази *Aspergillus niger*. Фітазу отримують культивуванням гриба *Aspergillus niger* L-4 глибинним способом в середовищі складу, г/л: сахароза – 19;  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  – 5;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  – 0,25;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  - 0,16. Розраховано річну потребу в препараті фітази (6,4 т).

Основні етапи виробництва препарату фітази включають отримання посівного матеріалу в інокуляторах (10 л, 100 л, 1000 л) та посівному апараті (10 м<sup>3</sup>), біосинтез фітази у виробничому ферментері (100 м<sup>3</sup>) з подальшою фільтрацією (відділення біомаси), ультрафільтрацією (відділення спор та концентрування фермента), сушінням, стандартизацією та пакуванням і маркуванням продукції.

Також проведений розрахунок втрат по технологічному процесу та розраховано об'єми розчинів на кожній стадії виділення, враховуючи отримані дані було обрано відповідні об'єми та продуктивність обладнання.

Наведені методики контролю доферментаційних та після ферментаційних процесів.

Новизною даної роботи є використання вакуумної низькотемпературної розпилювальної сушарки оскільки фітаза термолабільний фермент та її потрібно отримати у вигляді порошку.

Дипломна робота складається з 10 розділів , 71 джерел використаної літератури та графічної частини, що включає креслення формату А1 - 3 креслення та формату А2 – 1 креслення. На кресленнях зображені апаратурні та технологічні схеми Загальний обсяг роботи – 152 сторінки.

**Ключові слова:** фітаза, біосинтез, виділення, *Aspergillus niger* L-4, глибинне культивування, обладнання, методики контролю.

## ЗМІСТ

<b>РЕФЕРАТ</b> .....	<b>3</b>
<b>ВСТУП</b> .....	<b>6</b>
<b>РОЗДІЛ 1. ХАРАКТЕРИСТИКА ЦІЛЬОВОГО ПРОДУКТУ</b> .....	<b>7</b>
<b>РОЗДІЛ 2. ОБГРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТА ХАРАКТЕРИСТИКА БІОЛОГІЧНОГО АГЕНТА</b> .....	<b>11</b>
2.1. Обґрунтування вибору біологічного агента та поживного середовища для його культивування.....	11
2.2. Розрахунок складу поживного середовища.....	16
2.3. Морфолого-культуральні та фізіолого-біохімічні ознаки біологічного агента.....	18
2.4. Таксономічний статус біологічного агента.....	20
<b>РОЗДІЛ №3. ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБГРУНТУВАННЯ</b> .....	<b>21</b>
3.1. Розрахунок річної потреби у цільовому продукті .....	21
3.2. Розрахунок потужності виробництва цільового продукту.....	22
3.3. Розрахунок об'єму ферментера та кількості виробничих циклів та стадій підготовки посівного матеріалу.....	22
<b>РОЗДІЛ №4. БІОСИНТЕЗ ЦІЛЬОВОГО ПРОДУКТУ</b> .....	<b>29</b>
4.1. Шляхи катаболізму ростового субстрату у біологічного агента.....	29
4.2. Біотрансформація ростового субстрату у цільовий продукт.....	31
<b>РОЗДІЛ №5. ОБГРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ</b> .....	<b>35</b>
5.1. Обґрунтування до ферментаційних процесів та виробничого біосинтезу.....	35
5.1.1. Обґрунтування способу культивування і типу ферментера. Вибір умов і способу культивування.....	35
5.1.2. Обґрунтування вибору стадії підготовки аераційного повітря.....	37
5.1.3. Вибір мийних та дезінфікуючих засобів.....	42
5.1.4. Особливості підготовки і стерилізації поживного середовища .....	51
5.2. Обґрунтування стадій виділення та очищення цільового продукту.....	61

5.3. Підбір технологічного обладнання для після ферментаційних стадій з урахуванням матеріальних потоків по стадіях.....	72
<b>РОЗДІЛ №6. СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ.....</b>	<b>74</b>
<b>РОЗДІЛ №7. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ.....</b>	<b>83</b>
<b>РОЗДІЛ №8. КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА.....</b>	<b>101</b>
8.1. Карта постадійного контролю доферментаційних процесів.....	101
8.2. Мікробіологічний контроль.....	105
8.3. Показники росту і синтезу цільового продукту.....	106
8.3.1. Концентрація біомаси.....	106
8.3.2. Концентрація цільового продукту.....	106
8.3.3. Концентрація джерела вуглецю і азоту.....	107
8.4. Показники якості готового продукту.....	108
<b>РОЗДІЛ №9. АВТОМАТИЗАЦІЯ ДІЛЯНКИ ВИРОБНИЦТВА.....</b>	<b>113</b>
<b>РОЗДІЛ №10. ОХОРОНА ДОВКІЛЛЯ.....</b>	<b>118</b>
10.1. Аналіз технологічної схеми виробництва фітази.....	118
10.2. Перспективи впровадження екологізації виробництва.....	120
10.2.1. Система знешкодження та утилізації рідких відходів.....	120
10.2.2. Система знешкодження та утилізації твердих відходів.....	121
10.2.3. Система знешкодження та утилізації газоповітряних відходів.....	121
10.2.4. Заходи щодо зменшення об'ємів відходів.....	124
<b>ЛІТЕРАТУРА.....</b>	<b>125</b>
<b>ДОДАТКИ.....</b>	<b>134</b>

## ВСТУП

Деякі аспергілові гриби здатні синтезувати фітазу (*Aspergillus niger*), яка використовується як добавка до кормів для тварин, також фітаза гідролізує фітинову кислоту для вивільнення біодоступного фосфору. У свиней та птиці не вистачає ферменту фітази, необхідного для ефективного перетравлення фітинової кислоти у їхньому кормі. В результаті вони виділяють велику кількість фосфору в навколишнє середовище, що призводить до забруднення. Доповнення корму фітазою забезпечує альтернативу для ефективного полегшення дефіциту.

Із збільшенням секторів птахівництва у всьому світі та ринкового попиту на цей фермент виникає потреба в більшому виробництві фітаз та їх застосуванні у харчових та кормових складах. Гриби - це високо експлуатовані групи для виробництва фітази завдяки їх легкому культивуванню та позаклітинному виробництву.

**Актуальність:** із збільшенням попиту на продукцію тваринництва виникає потреба в більшому виробництві фітази як складової корму, тому організація виробництва цього ферменту в Україні є актуальною.

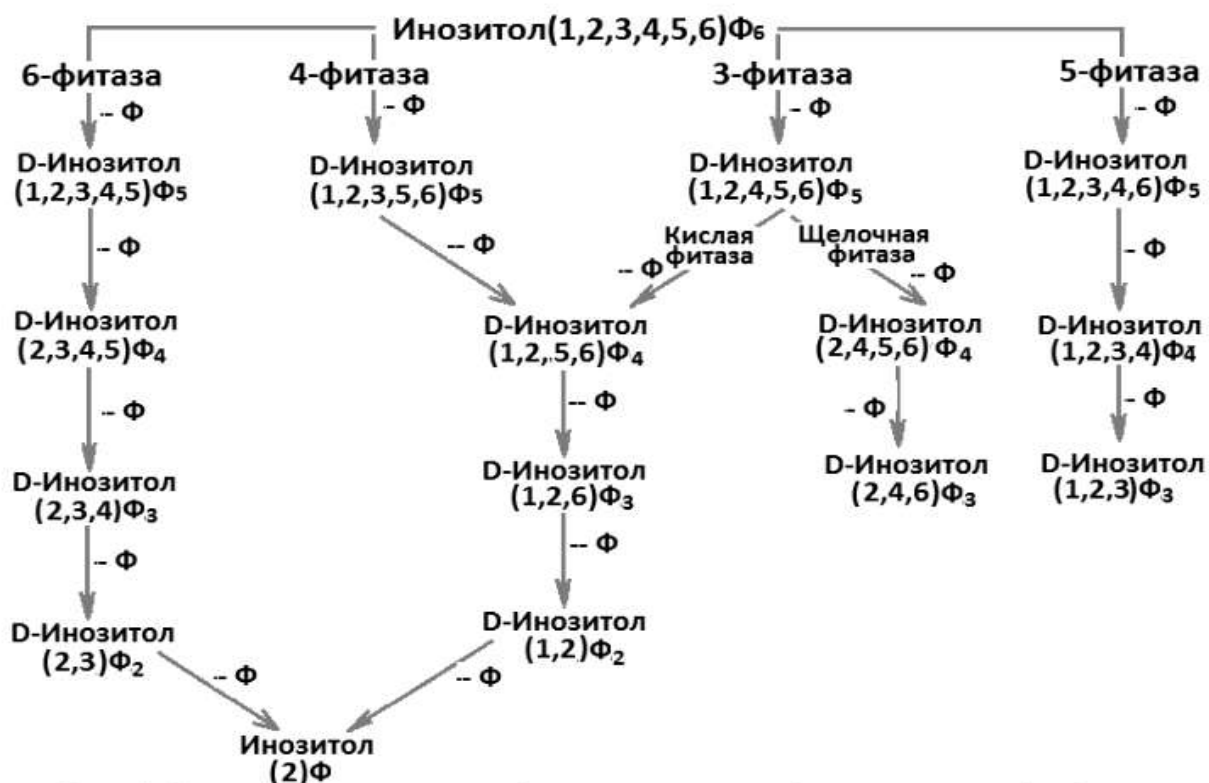
**Новизна:** використання високопродуктивного та технологічно більш досконалого штаму *Aspergillus niger L-4*. Він росте на простому за складом поживному середовищі, не потребує дробного внесення компонентів та піногасника. Новизною даної роботи є також використання вакуумної низькотемпературної розпилювальної сушарки оскільки фітаза термолабільний фермент та її потрібно отримати у вигляді порошку.

					НУХТ БТЕК 04.01.13 КР ПЗ			
Змн.	Лист	№ докум.№	ПідписП	Дата				
Розроб.		Роженко А.В.			Вступ	Літ.Літ.	Арк.Арк	АркушівАрку
Перевір.		Воронцов О. О.					6	1
Консультан						Кафедра БТМ		
Н. Контр.								
Затверд.		Пирог Т.П.				6		

## РОЗДІЛ 1

### ХАРАКТЕРИСТИКА ЦІЛЬОВОГО ПРОДУКТУ

Фітази (міо-інозитол-1,2,3,4,5,6-гексакісфосфат-фосфогідролази) - це особливий клас фосфатаз, які каталізують послідовний гідроліз міо-інозитол- (1, 2, 3, 4, 5, 6) –гексафосфат (рис. 1.1) або фітинової кислоти (Ins P 6) до менш фосфорильованих похідних міо- інозиту та неорганічного фосфату. Фермент, після приєднання до ІФ6 і відщеплення першої фосфатної групи, залишається зв'язаним з субстратом, потім відщеплює від ІФ5 наступну фосфатну групу і т. д.



*Рис. 1.1. Схема основних шляхів перетворення інозитолгексафосфату*

*Фермент фітаза здатна звільняти біодоступний фосфор з фітинової кислоти для поліпшення біодоступності фосфору та поглинання мінералів.*

<h3 style="margin: 0;">НУХТ БТЕК 04.01.13 КР ПЗ</h3>				
Змн.	Лист	№ докум.№	ПідписП	Дата
<i>Розроб.</i>		<i>Роженко А.В.</i>		
<i>Перевір.</i>		<i>Воронцов О. О.</i>		
<i>Консультант</i>				
<i>Н. Контр.</i>				
<i>Затверд.</i>		<i>Пирог Т.П.</i>		
<h3 style="margin: 0;">Розділ 1. Характеристика цільового продуктуВступ</h3>				
			Літ.Літ.	Арк.
				7
			Кафедра БТМ	
			7	

Зернові, бобові та олійні культури вирощують понад 90% у світі врожаю. Разом вони служать основним джерелом поживних речовин для тваринного світу. Важливий складник насіння цих культур - фітинова кислота (Ins P 6) - це безводна форма зберігання фосфатів, що становить більше 80% загального вмісту фосфору в зернових та бобових. На відміну від інших фосфорорганічних молекул, фітат містить високий вміст фосфатів, що призводить до високого негативного заряду. У нормальних фізіологічних умовах фітинова кислота хелатує такі необхідні мінерали як кальцій, магній, залізо і цинк. Фітинова кислота також зв'язується з амінокислотами та білками пригнічує травні ферменти. Таким чином, фітинова кислота є антиживильним компонентом у рослинних продуктах їжі та кормах, а отже, бажаний ферментативний гідроліз фітинової кислоти за допомогою фітази (рис.1.2).

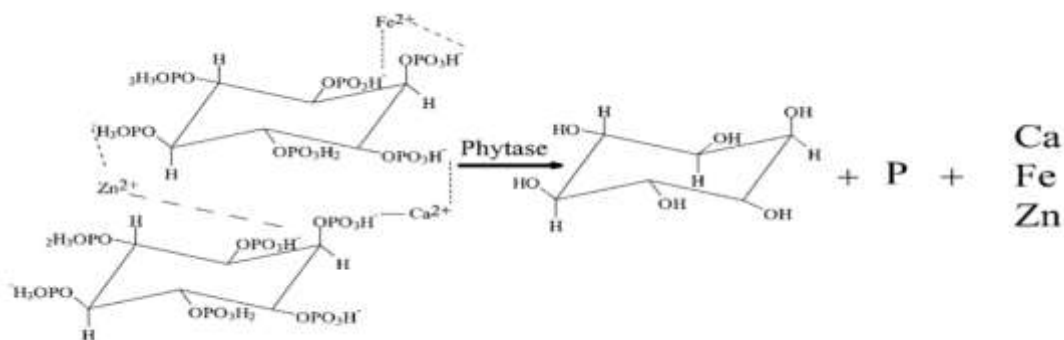


Рис. 1.2. Гідроліз фітату

Деградуюча активність фітату виявляється у рослинах, мікроорганізмах (особливо в родині *Aspergillus*). Отже, хоча зараз використовуються фітази головним чином як добавки до кормів для тварин, також є перспектива використання фермента в харчуванні людини. Міжнародний союз біохімії (1979) визнає два загальних класи фітази: 3- фітази та 6-фітази на основі розташування фосфатної групи в межах молекули фітину (рис. 1.3).

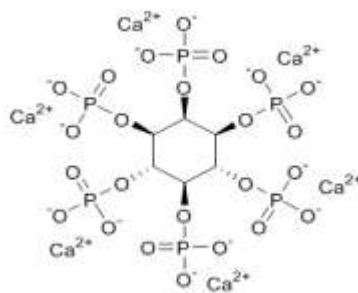


Рис. 1.3. Молекула фітину

Пшениця, ячмінь і жито всі мають високу фітазну активність у зерна, тоді як кукурудза, просо та сорго мають низьку початкову фітазну активність, яка збільшується швидко після проростання.

Ладозим Проксі (ГЗх) - ферментний препарат з активністю 5000 од / г, який використовується для здешевлення раціонів сільськогосподарських тварин та птиці за рахунок скорочення введення фосфоровмісних добавок в складі раціону.

Фітаза *A. niger* витримує максимальну температуру 55–60 °С (фітаза інактивується при температурі 65°С), розмір молекули фітази близько 30-35 кДа [1].

Переваги препарату Ладозим Проксі:

- розщеплює фітати зернових кормів;
- підвищує рівень доступного фосфору в кормі;
- підвищує енергію росту м'ясної птиці на 2,9-4,8%;
- сприяє підвищенню товщини шкаралупи яєць на 3-6%;
- покращує товарні якості яйця;
- підвищує середньодобові прирости поросят на 4-7%;
- виключає випадки появи рахіту поросят;
- покращує продуктивні показники свиноматок [2].

### Галузі використання фітази

Таблиця 1.1

Галузь	Використання
Харчова промисловість	Хлібопекарство (покращення харчової цінності хліба)

Сільське господарство	Кормова добавка для вивільнення фосфору, використовується для корму: Птахів Свиней Риби
Паперово-целюлозна промисловість	Видалення фітатів з сировини

Фітаза необхідна для підвищення харчової цінності кормів та поліпшення показників росту та здоров'я тварин. Він гідролізує фітатсубстрати для вивільнення фосфору у вільній формі, який тварини можуть ефективно засвоювати, що призводить до зниження потреби в додатковому неорганічному фосфорі. Більше того, додавання фітази в корм призводить до нижчого виведення вмісту фосфору в гній, що сприяє зменшенню екологічного впливу тваринництва.

Фітинова кислота присутня у всіх насінні та бобових. Серед бобових культур соя має більш високий рівень фітинової кислоти. На харчові якості соєвого білка негативно впливає утворення комплексів з фітиновою кислотою, соєвим білком та іонами багатовалентних металів, що може спричинити порушення дефіциту, особливо у вегетаріанців, людей похилого віку та немовлят. З іншого боку, фітинова кислота може зменшити засвоюваність соєвого білка, інгібуючи ферменти пепсину та трипсину в шлунково-кишковому тракті. Наявність відносно великої кількості недоступного фосфору в їжі для немовлят може спричинити важкі дефекти мінералізації кісток. Фітаза здатна розщеплювати зв'язаний фосфор і підвищувати біодоступність цих мінеральних поживних речовин. Окрім користі цього ферменту для здоров'я, також повідомлялося про покращення якості та кінцевих властивостей продукту. Наприклад, у виробництві хліба добавки фітази можуть зменшити час бродіння, збільшити питомий об'єм хліба та зменшити твердість крихти [3].

**РОЗДІЛ 2**  
**ОБГРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТА ХАРАКТЕРИСТИКА**  
**БІОЛОГІЧНОГО АГЕНТА**

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

Вибір штаму-продуцента визначається його здатністю забезпечити достатньо високий рівень активності фітази в середовищі, виходом ферментів з одиниці маси використаного субстрату, швидкістю утворення ферментів, вартістю субстратів та найголовніше собівартістю готового продукту.

До мікроорганізмів, що виробляють фітазу, належать нитчасті гриби роду *Aspergillus*. У різних дослідженнях було виявлено, що ці гриби продукують найбільш активний позаклітинний фермент з оптимальними характеристиками рН і стійкі до температури.

*Штам Aspergillus niger L-4* культивували на сахарозо-мінеральному середовищі з дещо зміненою концентрацією деяких компонентів. Беручи порівняльний підхід, автори встановили наступні параметри для продуктивного біосинтезу фітази: джерело вуглецю - сахароза (1,0%); джерело азоту – амоній нітрат (0,5%); отже, середовище (г/л) міститиме: сахароза – 19 (змінено згідно “Розрахунок складу поживного середовища”);  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  – 5;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  – 0,25;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  - 0,16; температура - 30 °С; рН=5,5, час культивування 120 год. Активність ферменту 25,8 од/мл; концентрація – 1100 мг/л (1,1 г/л) [4].

*Aspergillus niger CFR 335* – гриб культивували на середовищі складом, г/л: дріжджовий екстракт – 2,5; солодовий екстракт – 5; глюкоза – 10; агар – 20 при температурі 30 ° С та рН 5,5; протягом 120 годин.

					<b>НУХТ БТЕК 04.01.13 КР ПЗ</b>		
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата			
Розроб.		Роженко А.В.			Літ.	Арк.	Аркушів
Перевір.		Воронцов О. О.				11	10
Консультант					<b>Кафедра БТМ</b>		
Н. Контр.							
Затверд.		Пирог Т.П.					
Розділ 2. Обґрунтування вибору та характеристика біологічного агента							

Концентрація фітази складає 1,75 г/л, активність 85 од/мл [5].

*Aspergillus ficuum (niger) NRRL 3135* культивували в середовищі складом, г/л: кукурудзяний крохмаль – 91, глюкоза – 38,  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  – 0,6, KCl – 0,6,  $FeSO_4 \cdot 4H_2O$  – 0,2,  $KNO_3$  - 12. Тривалість культивування 240 год, температура 28 °С, рН=4,6. Активність ферменту 10 од/мл. Концентрація фітази – 700 мг/л (0,7 г/л) [6].

Аналізуючи дані статті можна зробити висновок, що аспергілові гриби продукують позаклітинний фермент з високою активністю, в основному потребують прості за складом поживні середовища, тому найкраще всього використовувати саме аспергілові гриби для виробництва фітази.

### **Порівняння штамів *Aspergillus niger***

- В порівнянні з іншими штамми *Aspergillus niger* CFR 335 має найвищу концентрацію цільового продукту (1,75 г/л).
- Найменшу активність ферменту має штам *Aspergillus ficuum (niger) NRRL 3135* (10 од/мл) і найменшу концентрацію (0,7 г/л), і найдовший час культивування.
- Найпростіше за складом поживне середовище має *Aspergillus niger L-4* та середню концентрацію в порівнянні з вищезазначеними штамми.

Таблиця 2.1

## Порівняльна характеристика продуцентів фітази

Продуцент	Склад поживного середовища, г/л	Тривалість культивування, год	Концентрація продукту, мг/л; та	Особливості процесу біосинтезу	Виділення цільового продукту	Література
<i>Aspergillus niger L-4</i>	Сахароза – 19 NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub> – 5 MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O – 0,25 KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> - 0,16	120	1100	Одностадійний процес. Для накопичення біомаси та для індукції синтезу ферменту з дещо зміненою концентрацією деяких компонентів середовища для продуктивнішого біосинтезу фітази	Цільовий продукт виділяють фільтруванням з подальшою ультрафільтрацією для концентрування фермента	Musta Ogly NM, Sharova NYu. Phytate hydrolysing activity of the <i>Aspergillus niger</i> L-4 micromycete strain. <i>Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya</i> = <i>Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology</i> . 2020;10(2):232–239. (In English) file:///E:/Downloads/380-752-1-SM%20(2).pdf
<i>Aspergillus niger CFR 335</i>	Дріжджовий екстракт – 2,5 Солодовий екстракт - 5 Глюкоза - 10 Агар - 20	120	1750	Одностадійний процес. Для накопичення біомаси та для індукції синтезу ферменту	Випробування було розпочато змішуванням 1 мл розведеного (1:10) неочищеного ферменту з 0,5 мл буфера ацетату натрію (0,2 М), рН 4,5 та 0,5 мл фітату натрію (15 мМ) (Sigma). реакційну суміш інкубували при	Gunashree B. Shivanna, Venkateswaran Govindarajulu. Screening of asporogenic mutants of phytase-producing <i>Aspergillus niger</i> CFR 335 strain. <i>Microbial Ecology in Health and Disease</i> . 2009; 21: 5763 file:///E:/Downloads/BSG-MEHD.pdf

					температурі 40 ° С у воді ванна протягом 45 хв. Реакція була припинена додаючи 2 мл 15% трихлороцтової кислоти.	
<i>Aspergillus ficuum (niger)</i> NRRL 3135	Кукурудзяний крохмаль – 91 Глюкоза – 38 MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O – 0,6 KCl – 0,6 FeSO <sub>4</sub> · 4H <sub>2</sub> O – 0,2 KNO <sub>3</sub> - 12	240	700	Одностадійний процес. Для накопичення біомаси та для індукції синтезу ферменту	Бульйон попередньо стерилізували фільтруванням. Потім отриманий фільтрат концентрували в установці ультрафільтрації Filtron з фільтрами 30 кД.	Dna encoding phytase in aspergillus niger, recombinant plasmid dna for phytase expression (variants), strain-producers of phytase (variants), method of phytase preparing and recombinant phytase. Patents: RU2113468C1, 2005. [Електронний ресурс]: <a href="https://patents.google.com/patent/RU2113468C1/en">https://patents.google.com/patent/RU2113468C1/en</a>

**Вартість компонентів поживного середовища для культивування**

Таблиця 2.2

Продуцент	Компонент поживного середовища, г/л	Ціна компонента, грн/кг	Вартість компонента (грн) на 1 л середовища	Джерело інформації
<i>Aspergillus niger L-4</i>	Сахароза - 19	20,1	0,3819	1
	NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub> - 5	9	0,045	2
	MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O - 0,25	9	0,00225	3
	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> - 0,16	49	0,00784	4
	Вартість 1 л середовища - 0,44 грн			
<i>Aspergillus niger CFR 335</i>	Дріжджовий екстракт - 2,5	226,4	0,566	5
	Солодовий екстракт - 5	75	0,375	6
	Глюкоза - 10	23	0,23	7
	Агар - 20	490	9,8	8
	Вартість 1 л середовища - 10,97 грн			
<i>Aspergillus ficuum (niger) NRRL 3135</i>	Кукурудзяний крохмаль - 91	8	0,728	9
	Глюкоза - 38	23	0,874	7
	MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O - 0,6	8,5	0,0051	3
	KCl - 0,6	40	0,024	10
	FeSO <sub>4</sub> · 4H <sub>2</sub> O - 0,2	9	0,0018	11
	KNO <sub>3</sub> - 12	45	0,54	12
	Вартість 1 л середовища - 2,17 грн			

Примітка (ціни 2020-2021 рр):

1. <https://nikolaevnikol.flagma.ua/uk/cukor-sahar-optom-opt-o11936019.html>
2. <https://harkov.flagma.ua/uk/selitra-ammiachnaya-o2771159.html>
3. <https://prom.ua/p1170450864-sulfat-magniia-vodnyj.html>
4. <https://prom.ua/p1059869951-monofosfat-kaliia.html?>
5. <https://russian.alibaba.com/product-detail/best-price-yeast-extract-60761737505.html?spm=a2700.8699010.normalList.34.3cba2d57DBKqkh>
6. <https://dnepropetrovsk.flagma.ua/uk/zhidkiy-solodovy-ekstrakt-bakmalt-15-kg-o8584413.html>
7. <https://kiev.flagma.ua/glyukoza-o9338420.html>
8. <https://dnepropetrovsk.flagma.ua/agar-agar-o4605972.html>
9. <https://agro-ukraine.com/ua/trade/m-343576/prodam-krokhmal-kukurudzyanij/>
10. <https://prom.ua/Kalij-hloristyj-kcl.html>
11. <https://kiev.flagma.ua/zhelezny-kuporos-o5175272.html>
12. <https://harkov.flagma.ua/uk/kaliynaya-selitra-kno3-o4079697.html>

Таблиця 2.3

### Умовна вартість 1 г цільового продукту при культивуванні

Біологічний агент	Вартість 1 л середовища, грн	Концентрація продукту, г/л;	Умовна вартість 1 г цільового продукту, грн/г	Тривалість культивування, год	Кількість утвореного ферменту за годину, мг/год
<i>Aspergillus niger</i> L-4	0,44	1,1	0,4	120	9,2
<i>Aspergillus niger</i> CFR 335	10,97	1,75	6,27	120	14,6
<i>Aspergillus ficuum</i> ( <i>niger</i> ) NRRL 3135	2,17	0,7	3,1	240	2,9

Отже, проаналізувавши дані таблиць 2.1, 2.2, 2.3, можна зробити висновок, що доцільніше використовувати *Aspergillus niger* L-4, оскільки він має найнижчу вартість 1 л середовища (0,44 грн/л) та найменшу умовну вартість 1 г цільового продукту - **0,4 грн/г**. Аспергілові гриби продукують найбільш активний позаклітинний фермент та є найбільш поширеними в практиці.

### 2.2. Розрахунок складу поживного середовища

Тривалість культивування 120 год, концентрація фітази -1,1 мг/см<sup>3</sup> або 1,1 г/л  
Біомаса – 10 г/л (беремо умовно, так як в статті не дається вихід біомаси, лише концентрація цільового продукту). Для біомаси, яка синтезується

грибами це буде 10 г/л, а для біомаси, яка синтезується бактеріями умовно беруть 2-3 г/л.

### ***Розрахунок вмісту в середовищі джерела вуглецевого живлення***

Розрахуємо, скільки вуглецю (за елементом С) міститься в 1,1 г фітази.

Аналізуючи те, що один 1 кДа = 10 г/моль, це значить, що 35 кДа = 350 г/моль. Також відомо, що більшість ферментів складаються на 50% із карбону.

Припустимо, що карбону 50 %, тоді:

$$350 \times 0,5 = 175 \text{ г/моль}$$

Отже, у 350 г фітази міститься 175 г вуглецю, а в 1,1 г фітази  $(175 \times 1,1) / 350 = 0,55$  г вуглецю.

Далі розрахуємо, у скількох грамах сахарози міститься 0,55 г вуглецю, враховуючи, що вміст вуглецю в сахарозі становить 42 %. Отже, у 100 г сахарози міститься 42 г вуглецю, а 0,55 г вуглецю міститься у  $(0,55 \times 100) / 42 = 1,3$  г сахарози.

Враховуючи, що при вирощуванні мікроорганізмів на вуглеводах близько 40 % субстрату окиснюється до  $\text{CO}_2$  для одержання енергії, необхідної для конструктивного метаболізму, вміст сахарози у середовищі становитиме  $(1,3 \times 0,4) + 1,19 = 1,82$  г/л.

### ***Потреби для синтезу біомаси***

У біомасі міститься 50 % вуглецю, отже вміст вуглецю у 10 г біомаси становить  $10 \times 0,5 = 5$  г. Ця кількість вуглецю міститься у  $(5 \times 100) / 42 = 11,9$  г сахарози.

Враховуючи 40% втрат субстрату на «холосте окислення», для одержання 10 г/л біомаси у середовище необхідно внести  $(11,9 \times 0,4) + 11,9 = 16,66$  г/л сахарози. Отже, загальний вміст сахарози у середовищі, необхідний для синтезу біомаси (10 г/л) та фітази (1,1 г/л), становить  $1,82 + 16,66 = 18,48$  г/л.

## ***Розрахунок вмісту в середовищі джерела азотного живлення.***

### ***Потреби для синтезу біомаси.***

Припустимо, що у біомасі міститься 10 % азоту. Таким чином, у 10 г біомаси вміст азоту (за елементом N) становить 1 г. Для одержання фітази як джерело азоту використовують  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ . Розрахуємо кількість  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ , необхідного для одержання 10 г/л біомаси. Молекулярна маса  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  становить 80 г/моль. Отже, у 80 г  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  міститься 28 г азоту (N), тоді 1 г азоту буде міститись у  $(80 \times 1) / 28 = 2,86$  г солі.

Для одержання 10 г/л біомаси вміст  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  у середовищі культивування повинен становити 2,86 г/л.

Отже, для синтезу біомаси (10 г/л) та фітази (1,1 г/л), концентрація сахарози повинна становити 19 г/л.

### **2.3. Морфолого-культуральні та фізіолого-біохімічні ознаки біологічного агента**

*Aspergillus niger* — це представники класу сумчастих грибів. Природне середовище їх проживання — земля, частіше в місцевостях з теплим кліматом. Аспергіли є аеробами, вони відмінно ростуть на різноманітних субстратах. Гриби виду *A. niger* мають розвинений багатоклітинний (септований) міцелій та одноклітинні кулястої форми нерозгалужені конідієносії. На них розташовуються паралельно одна одній короткі кеглеподібні стеригми, від кожної з яких відшнуровуються ланцюжки конідій. Уся голівка конідієносія нагадує дозрілу кульбабу. Самі ж конідії (нерухомі спори нестатевого розмноження) – чорні круглої форми. *A. niger* характеризується стійкістю до ультрафіолетових променів та озону [7,8].

Під мікроскопом конідіальні головки чорні, іноді тьмяно коричнево-чорні, як правило, сконцентровані, спочатку кулеподібні, потім радіальні, які потім розпадаються на декілька рихлих але чітких колонок 700-800 мкм в діаметрі. Конідієносці 1-3 мм в висоту, 15-20 мкм в ширину, з гладкою оболонкою 2-2,5 мкм товщиною. Конідії кулеподібні, іноді дископодібні, 4-5 мкм в діаметрі, з

добре помітною оболонкою, шорсткі або сильно шипуваті з чіткими смугами пігменту, розмір спор гриба *Aspergillus niger* становить 4-5 мкм [9].

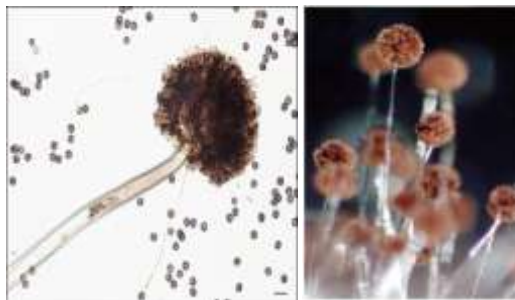


Рис.2.1. Конідієносці *A. niger* в електронному мікроскопі (x90)

Колонії *A. niger* ростуть швидко до великих розмірів, рідко обмежені в діаметрі до 2,5-5 см, високі, до 3 мм висотою, гладкі або пухнасті, рівні. Субстратний міцелій (багатоклітинний септований) білий або світло-жовтий, занурений або стелиться по поверхні середовища (рис. 2.2) [10].



Рис. 2.2. Колонії *A. niger* на середовищі Чапека

Гриб *Aspergillus niger* добре розвивається на щільних середовищах у чашках Петрі, зокрема, на м'ясо-пептонному агарі (МПА), агарі Сабуро (рис 2.3) Культуральні ознаки цей мікроміцет має наступні:

- край колонії – ворсистий;
- поверхня – також ворсиста, шорстка;
- розміри колоній *Aspergillus niger* можуть бути різними: від кількох міліметрів до кількох десятків сантиметрів у діаметрі;
- за оптичними властивостями колонії *Aspergillus niger* можна визначити як непрозорі;
- характерним кольором для колоній цього аспергілового гриба є чорний, через утворювані конідії, що забарвлені у цей колір;

- структура колонії чорного аспергіла – неоднорідна, волокниста. Гриб вростає у агар-агар, але легко знімається мікробіологічною голкою;
- консистенція колоній даного представителя аспергілів – суха та пухка [7].



Рис. 2.3. Колонії *A. niger* на агарі Сабуро

#### 2.4. Таксономічний статус біологічного агента

У 1768 році був введений рід *Aspergillus* (виділено і описано 764 види). Рід *Aspergillus* класифікований, як представник класу *Ascomycetes* та класу *Deuteromycetes* одночасно ( за класифікацією грибів 70–80-х років ХХ століття).

Згідно системи грибів Кавалір-Сміта (1998 р.), рід *Aspergillus* відноситься до царства *Fungi*, підцарства – *Neomycota*, відділу – *Ascomycota*. За системами Хоуксворта (1995 р.) і Маргеліс-Шварца (1997 р.) – рід *Aspergillus*, відділ – *Ascomycota*, царство – *Fungi* (класифікація 90-х років). Інформація, про філогенетичну класифікацію грибів, постійно оновлюється у режимі «on-line» у базі даних MocoBank, що була створена для полегшення збору та аналізу відповідних даних [11].

Таксономічне положення гриба згідно філогенетичної класифікації :

Царство – *Fungi*  
 Відділ – *Ascomycota*  
 Підвідділ – *Pezizomycotina*  
 Клас – *Eurotiomycetes*  
 Підклас – *Eurotiomycetidae*  
 Порядок – *Eurotiales*  
 Родина – *Trichocomaceae*  
 Рід – *Aspergillus*  
 Вид – *niger*

## РОЗДІЛ 3

### ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБГРУНТУВАННЯ

#### 3.1. Розрахунок річної потреби у цільовому продукті

Розрахунки проводимо відповідно до кількості курей станом на 2019 рік.

Необхідна доза препарату фітази, наприклад препарат ( $A_{ст}$ , активність 5000 од/г) Ладозим Проксі (Фітаза) на 1 т корму:

- Для курей – 60 г/т [2]

Таблиця 3.1

#### Розрахунок необхідної кількості фітази для курей трьох західних областей станом на 2019 рік

Область	Доза препарату в кормі, г/т	Кількість корму на 1 рік, необхідного одній курці, кг	Загальна кількість свійських птахів в області, млн.	Кількість свійських птахів загалом, млн.	Кількість курей (90%), млн.	Загальна кількість препарату фітази для курей, т
Івано-Франківська	60	43,8	1772700	8335300	7501770	17,7
Тернопільська			2043400			
Хмельницька			4519200			

Загальна кількість свійських птахів в трьох областях станом на 2019 рік становить 8335300 голів. З них 90 відсотків складають кури, тобто  $8335300 \times 0,9 = 7501770$  курей. В середньому одна курка в день з'їдає 120 г корму [11], тобто на 1 рік це буде  $120 \times 365 = 43800$  г корму. Якщо в 1 т корму міститься 60 г фітази, то  $0,0438 \times 60 = 2,628$  г фітази необхідної одній курці на 1 рік. Тоді для 7501770 курей в 1 рік необхідно  $2,628 \times 7501770 = 19714651,6$  г фітази.

					НУХТ БТЕК 04.01.13 КР ПЗ		
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата			
Розроб.		Роженко А.В.			Літ.	Арк.	Аркушів
Перевір.		Воронцов О. О.				21	8
Консультант					Кафедра БТМ 21		
Н. Контр.							
Затверд.		Пирог Т.П.					

Відсоток кормів до яких додають фітазу складає 90%, отже,  $19714651,6 \times 0,9 = 17743186,4 \text{ г} = 17,7 \text{ т}$  фітази на рік, яку додають до кормів курей в трьох областях.

[12].

### 3.2 Розрахунок потужності виробництва цільового продукту

Загальна кількість препарату фітази, яку додають до кормів курей в 3 областях складає 17,7 т. Візьмемо 35% від загальної кількості препарату, тоді потужність нашого виробництва складе  $G_{zn} = 17,7 \times 0,35 = 6,2 \text{ т}$

### 3.3. Розрахунок об'єму ферментера та кількості виробничих циклів та стадій підготовки посівного матеріалу

З попередніх розрахунків обраний біологічний агент, який дає мінімальні витрати на 1 мг ферменту, грн/мг. Згідно з ТЕО потреба в препараті фітази складає 6,2 т. Плануємо, що кількість робочих днів складатиме  $T_{pd} = 325$  днів.

Згідно з ТЕО для забезпечення сільськогосподарських птахів (курей) в ферментованих кормах в 3 областях за рік необхідно одержати  $G_{ГП} = 6,2$  умовних тон ферментного препарату фітази – Ладозим Проксі (Фітаза) ГЗХ із стандартною активністю  $A_{ст} = 5000$  од/г та вмістом вологи 5%. Дану кількість ферменту потрібно отримати за  $T_{рд} = 325$  робочих днів.

За літературними даними максимальний синтез ферменту ( $P_{кр} = 1,1$  г/л за  $T_{ф} = 120$  год культивування, активність  $A_{кр} = 25,8$  од/мл) досягається за умов росту штаму *Aspergillus niger L-4* на сахарозо-мінеральному середовищі, складом, г/л: сахароза – 19 (концентрацію підвищено згідно Розділ №2 “Розрахунок складу поживного середовища”);  $NH_4NO_3$  – 5;  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  – 0,25;  $KH_2PO_4$  - 0,16. Всього –  $C_{\Sigma} = 24,41$  г/л.

Фітазу отримують сухою (у вигляді порошку), тоді сухої речовини в продукті буде  $CP = 0,95$  (частка). Для проведення подальших розрахунків приймемо наступні початкові дані: час циклу роботи ферментера  $T_{цф} = T_{ф} + T_{по} = 120 + 10 = 130$  год, де  $T_{ф}$  – час культивування;  $T_{по}$  – час проведення

підготовчих операцій; коефіцієнт запасу (втрати культуральної рідини або посівного матеріалу від нестерильних операцій 1,1 – 1,5)  $K_1 = 1,1$ .

Підготовка ферментера 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)
- Вивантаження культуральної рідини (1 год)

Сумарні втрати активності фермента при виділенні цільового продукту  $E_{af} = 0,2$  (частка);

Кількість посівного матеріалу для виробничих ферментерів, частка (0,05-0,1)  $X_{\phi} = 0,1$ ; кількість посівного матеріалу для посівних апаратів, частка (0,02-0,1)  $X_{па} = 0,1$ ; кількість посівного матеріалу для інокуляторів, частка (0,02-0,1)  $X_{ін} = 0,1$ ; кількість посівного матеріалу для качалочних колб, частка (0,02-0,1)  $X_{кол} = 0,1$ ;

Втрати культуральної рідини при біосинтезі, частка (0,1- 0,2)  $E_{\phi} = 0,2$ , оскільки об'єм виробничого ферментера 100 м<sup>3</sup> (чим більше об'єм ферментера, тим більший відсоток краплевиносу); втрати посівного матеріалу у процесі його культивування в посівних апаратах, частка (0,1 - 0,2)  $E_{па} = 0,1$ ; втрати посівного матеріалу у процесі його культивування в інокуляторах, частка (0,05 - 0,1)  $E_{ін} = 0,1$ ; втрати посівного матеріалу у процесі його культивування в колбах, частка (0,01- 0,02)  $E_{кол} = 0,01$ .

*Втрати при виділенні продукту:* втрати при фільтруванні (рамний фільтр-прес) для відділення біомаси (міцелій) з культуральної рідини – 10%. Втрати при ультрафільтрації для відділення спор з нативного розчину та концентрування ферменту - 10%. Втрати при сушінні (вакуумна низькотемпературна розпилювальна сушарка) - 10%. Отже, загальні втрати при виділенні ферменту складатимуть 30 %.

Втрати активності фермента дорівнюють фізичним втратам (30%).

$25800 \text{ (од/л)} / 1,1 \text{ (г/л)} = 23455 \text{ (од/г)}$  одиниці активності в 1 г сухої фітази, де 1,1 (г/л) – концентрація фітази в КР, 25800 (од/л) – активність фітази в КР.

$23455 \times 0,7 = 16419 \text{ (од/г)}$  одиниці активності в 1 г сухої фітази (з врахуванням втрат).

1.1.  $130/24=5,4$  доби (1 цикл)

1.2.  $325/5,4=61$  циклів за 1 рік

1.3.  $6200/61 = 101$  кг готового препарату фітази за 1 цикл

1.4. Для отримання препарату активністю 5000 од/г ( $16419/3,28 = 5006$  од/г) висушений препарат потрібно перемішати з наповнювачем в співвідношенні 1:3,28. Тоді за 1 цикл отримуємо  $101 / 3,28=31$  кг фітази (з врахуванням втрат при виділенні).

1.5. За 1 цикл отримуємо  $31 / 0,7=44$  кг фітази (без врахування втрат при виділенні).

1.6. Оскільки концентрація фітази в КР складає 1,1 г/л, тоді об'єм КР становитиме  $40,05 \text{ м}^3$ .

**Перевірочний розрахунок:**  $40,05 \times 1,1=44,06$  кг фітази (за 1 цикл, без втрат)  
 $44,06 \times 0,7 = 31$  кг (за 1 цикл, з втратами),  $31 \times 61= 1891$  кг (фітази за 1 рік, без стандартизації),  $1891 \times 3,28 = 6200$  кг (фітази за 1 рік, готовий препарат).

В процесі ферментації частина КР втрачається через краплевинос за рахунок аерації  $E_\phi = 0,1 \dots 0,2$  (частка).

Тоді робочий об'єм ферментера складе:

$$V_\phi = V_{кр} / (1 - E_\phi) = 40,05 / (1 - 0,2) = 50,06 \text{ м}^3 (V_{роб1})$$

Дану кількість КР можна отримати в ферментері при вибраному коефіцієнті заповнення  $K_3 = 0,5 \dots 0,65$  об'ємом

$$V_{\phi1} = \frac{V_\phi}{K_3} = \frac{50,06}{0,5} = 100,1 \text{ м}^3$$

Найближчий нормований стандартний об'єм ферментера  $V_{сф1} = 100 \text{ м}^3$ .

Уточнюємо коефіцієнт заповнення:

$$K_{yз1} = \frac{V_{\phi}}{V_{cf1}} = \frac{50,06}{100} = 0,5$$

Кількість посівного матеріалу складає 10% .

Для розрахунку кількості посівного матеріалу  $V_{nm}$  визначаємо об'єм поживного середовища  $V_{nc}$ :

$$V_{nc1} = \frac{V_{\phi}}{(1 + 0,1)} = \frac{50,06}{1,1} = 45,5 \text{ м}^3$$

$$V_{nm1} = V_{\phi} - V_{nc} = 50,06 - 45,5 = 4,56 \text{ м}^3$$

2. Для одержання  $4,56 \text{ м}^3$  посівного матеріалу в посівному апараті враховуємо втрати в результаті краплиносу через колектор відпрацьованого повітря, які становлять 10..15%.

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

$$V_{роб2} = \frac{V_{nm1}}{1 - 0,1} = \frac{4,56}{0,9} = 5,07 \text{ м}^3$$

Кількість посівного матеріалу становить 10% від об'єму поживного середовища. Тоді кількість поживного середовища в посівному апараті становитиме:

$$V_{nc2} = \frac{V_{роб2}}{1 + 0,1} = \frac{5,07}{1,1} = 4,6 \text{ м}^3$$

Кількість посівного матеріалу для посівного апарату становитиме:

$$V_{nm2} = V_{роб2} - V_{nc2} = 5,07 - 4,6 = 0,47 \text{ м}^3 \text{ або } 470 \text{ л}$$

Кількість інокуляту  $5,07 \text{ м}^3$  можна одержати під час культивування грибів у посівному апараті об'ємом:

$$V_{na2} = \frac{V_{роб2}}{K_з} = \frac{5,07}{0,5} = 10,1 \text{ м}^3$$

Приймаємо найближчий за об'ємом стандартний ферментер  $V_{cf2} = 10 \text{ м}^3$ .

Уточнюємо коефіцієнт заповнення:

$$K_{yз2} = \frac{V_{роб2}}{V_{cf2}} = \frac{5,07}{10} = 0,51$$

3. Для одержання 470 л посівного матеріалу в посівному апараті враховуємо втрати в результаті краплевиносу через колектор відпрацьованого повітря, які становлять 10..15%.

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

$$V_{роб3} = \frac{V_{нм2}}{1 - 0,1} = \frac{470}{0,9} = 522,2 \text{ л}$$

Кількість посівного матеріалу становить 10% від об'єму поживного середовища. Тоді кількість поживного середовища в посівному апараті становитиме:

$$V_{нс3} = \frac{V_{роб3}}{1 + 0,1} = \frac{522,2}{1,1} = 474,7 \text{ л}$$

Кількість посівного матеріалу для посівного апарату становитиме:

$$V_{нм3} = V_{роб3} - V_{нс3} = 522,2 - 474,7 = 47,5 \text{ л}$$

Кількість інокуляту 522,2 л можна одержати під час культивування грибів у посівному апараті об'ємом:

$$V_{на3} = \frac{V_{роб3}}{K_3} = \frac{522,2}{0,5} = 1044,4 \text{ л}$$

Приймаємо найближчий за об'ємом стандартний ферментер  $V_{сф3} = 1 \text{ м}^3$ .

Уточнюємо коефіцієнт заповнення:

$$K_{уз3} = \frac{V_{роб3}}{V_{сф3}} = \frac{522,2}{1000} = 0,52$$

4. Для одержання 47,5 л посівного матеріалу в посівному апараті враховуємо втрати в результаті краплевиносу через колектор відпрацьованого повітря, які становлять 10..15%.

Тоді кількість поживного середовища та посівного матеріалу в інокуляторі становитиме:

$$V_{роб4} = \frac{V_{нм3}}{1 - 0,1} = \frac{47,5}{0,9} = 52,7 \text{ л}$$

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

$$V_{nc4} = \frac{V_{роб4}}{1 + 0,1} = \frac{52,7}{1,1} = 47,9 \text{ л}$$

Кількість посівного матеріалу для інокулятора становитиме:

$$V_{nm4} = V_{роб4} - V_{nc4} = 52,7 - 47,9 = 4,8 \text{ л}$$

Кількість інокуляту 52,7 л можна одержати під час культивування грибів у інокуляторі об'ємом:

$$V_{na4} = \frac{V_{роб4}}{K_3} = \frac{52,7}{0,5} = 105,4 \text{ л}$$

Приймаємо найближчий за об'ємом стандартний ферментер  $V_{cf4} = 100$  л.

Уточнюємо коефіцієнт заповнення:

$$K_{уз4} = \frac{V_{роб4}}{V_{cf4}} = \frac{52,7}{100} = 0,53$$

5. Для одержання 4,8 л посівного матеріалу в інокуляторі враховуємо втрати в результаті краплевиносу через колектор відпрацьованого повітря, які становлять 10..15%..

Тоді кількість поживного середовища та посівного матеріалу в інокуляторі становитиме:

$$V_{роб5} = \frac{V_{nm4}}{1 - 0,1} = \frac{4,8}{0,9} = 5,3 \text{ л}$$

Кількість посівного матеріалу становить 10% від об'єму поживного середовища. Тоді кількість поживного середовища в посівному апараті становитиме:

$$V_{nc5} = \frac{V_{роб5}}{1 + 0,1} = \frac{5,3}{1,1} = 4,82 \text{ л}$$

Кількість посівного матеріалу для інокулятора становитиме:

$$V_{nm5} = V_{роб5} - V_{nc5} = 5,3 - 4,82 = 0,48 \text{ л}$$

Кількість інокуляту 5,3 л можна одержати під час культивування грибів у інокуляторі об'ємом:

$$V_{на5} = \frac{V_{роб5}}{K_3} = \frac{5,3}{0,5} = 10,6 \text{ л}$$

Приймаємо найближчий за об'ємом стандартний ферментер  $V_{сф5} = 10 \text{ л}$ .

Уточнюємо коефіцієнт заповнення:

$$K_{уз5} = \frac{V_{роб5}}{V_{сф5}} = \frac{5,3}{10} = 0,53$$

Кількість інокуляту (480 мл) для засіву малого інокулятора можна одержати культивуванням грибів в колбах на качалці. Для цього використовують качалочці колби об'ємом 780 мл та коефіцієнтом заповнення 0,2. Тоді кількість колб для отримання посівного матеріалу становитиме:

$$N_{колб} = \frac{V_{пм5}}{V_{колб} \times K_{зк}} = \frac{480}{750 \times 0,2} = 3,2$$

Тобто для одержання посівного матеріалу необхідно 4 качалочні колби.

Отже, процес одержання посівного матеріалу для виробничого біосинтезу фітази у ферментері об'ємом  $100 \text{ м}^3$  з коефіцієнтом заповнення 0,5 буде проходити в 5 етапів:

1. Вирощування в лабораторії (на скошеному агаризованому середовищі в пробірках та на рідкому поживному середовищі в колбах на качалці)
2. Вирощування в інокуляторі об'ємом 10 л
3. Вирощування в інокуляторі об'ємом 100 л
4. Вирощування в посівному апараті об'ємом  $1 \text{ м}^3$
5. Вирощування в посівному апараті об'ємом  $10 \text{ м}^3$ .

## РОЗДІЛ 4

### БІОСИНТЕЗ ЦІЛЬОВОГО ПРОДУКТУ

#### 4.1. Шляхи катаболізму ростового субстрату у біологічного агента

*A. niger* L-4 як джерело вуглецю може використовувати сахарозу.

Катаболізм сахарози здійснюється за шляхом обміну крохмалю та сахарози. Сахароза перетворюється на фруктозу та глюкозу. Глюкоза далі розкладається шляхом гліколізу. Ключовим ферментом гліколізу є 1,6-фосфофруктокіназа.

У електронній базі KEGG відсутні дані щодо шляхів катаболізму вуглецевих субстратів для *A. niger* L-4. Аналізуємо шляхи катаболізму на рівні виду (рис. 4.1).

					НУХТ БТЕК 04.01.13 КР ПЗ		
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата			
Розроб.		Роженко А.В.			Літ.	Арк.	Аркушів
Перевір.		Воронцов О. О.				29	6
Консультант					Кафедра БТМ		
Н. Контр.							
Затверд.		Пирог Т.П.					
Розділ 4. Біосинтез цільового продукту					29		

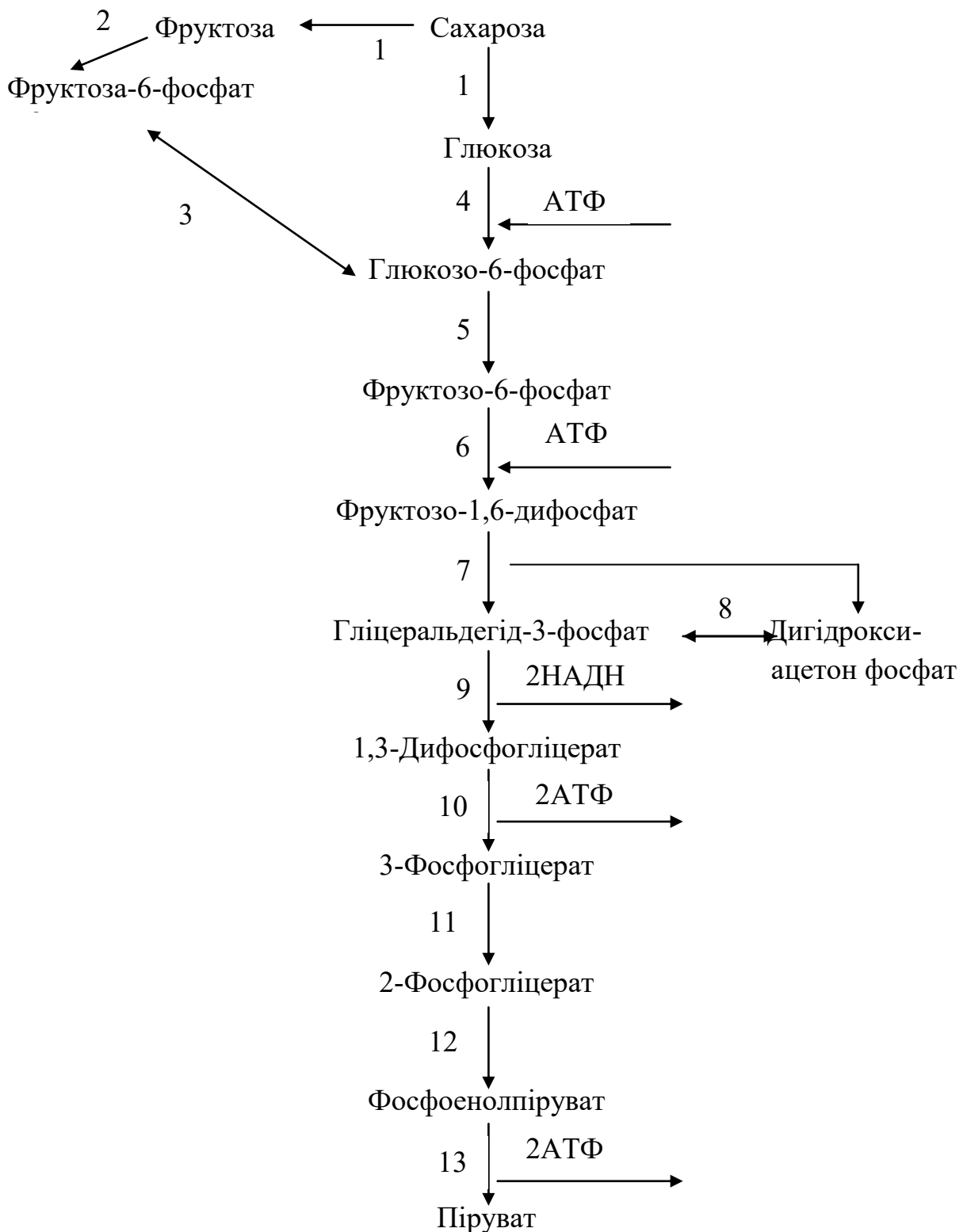


Рис. 4.1. Шлях катаболізму сахарози в *A. niger*

Ферменти: 1 – бета-фруктофуранозидаза 3.2.1.26, альфа-глюкозидаза 3.2.1.20 ; 2,4 – гексокіназа 2.7.1.1; 3,5 - глюкозо-6-фосфатізомераза 5.3.1.9; 6 - фосфоглюкокіназа (КФ.2.7.1.11); 7 - фруктозодифосфатальдоза (КФ.4.1.2.13); 8 - триозофосфатізомераза (КФ.5.3.1.1); 9 -

гліцеральдегідфосфатдегідрогеназа (КФ.1.2.1.12); 10 - фосфогліцераткіназа (КФ.2.7.2.3); 11 - фосфогліцератфосфомутаза (КФ.5.4.2.12); 12 - енолаза (КФ.4.2.1.11); 13 - піруваткіназа (КФ.2.7.1.40) [13].

#### 4.2. Біотрансформація ростового субстрату у цільовий продукт

Під час росту *Aspergillus niger* L-4 з використанням сахарози як джерела вуглецю, внаслідок гліколізу (рис. 4.1), утворюється піруват. Далі піруват залучається до ЦТК через ацетил-КоА.

**Фітаза** – фермент, до складу якого входять 20 амінокислот:

- Амінокислоти аспартатної родини (аспартат, аспарагін, метіонін, треонін, ізолейцин) утворюються з оксалоацетату, який є інтермедіатом ЦТК;
- Амінокислоти глутаматної родини (глутамат, глутамін, пролін, аргінін, лізин) утворюються з 2-оксоглутарату (інтермедіату ЦТК);
- Ароматичні амінокислоти (фенілаланін, тирозин, триптофан) утворюються з фосфоенолпірувату і еритрозо-4-фосфату; гістидин утворюється з фосфорибозилпірофосфату;
- Амінокислоти піруватної родини (серин, цистеїн, гліцин – утворюються з трифосфогліцерату; аланін, валін, лейцин – з пірувату).

Для поповнення втрат в ЦТК функціонують анаплеротичні реакції:

- ◆ карбоксилювання фосфоенолпірувату з утворенням оксалоацетату під дією фосфоенолпіруваткарбоксилази (КФ 4.1.1.32);
- ◆ карбоксилювання пірувату з утворення оксалоацетату під дією піруваткарбоксилази (КФ 6.4.1.1);
- ◆ карбоксилювання пірувату з утворенням малату під дією малатдегідрогенази (КФ 1.1.1.37).
- ◆ карбоксилювання оксалоацетату з утворенням 2-оксоглутарату під дією АТФ-цитрат ліаза (КФ 2.3.3.8), цитрат синтетаза (КФ 2.3.3.1), аконітат гідратаза (КФ 4.2.1.3), ізоцитратдегідрогеназа (НАД +) (КФ 1.1.1.41)

Глюкозо-6-фосфат залучається до пентозофосфатного циклу за рахунок 6-фосфоглюконолактонази (КФ 3.1.1.31), в якому утворюються попередники ароматичних амінокислот – фосфорибозилпірофосфат (попередник гістидину) і еритрозо-4-фосфат. Еритрозо-4-фосфат і фосфоенолпіруват – попередники фенілаланіну, тирозину і триптофану. 3-Фосфогліцерат є попередником серину, гліцину і цистеїну. Піруват – попередник аланіну, валіну і лейцину.

Піруват утворюється з фосфоенолпірувату за допомогою піруваткінази (КФ 2.7.1.40).

З фосфорибозилпірофосфату за допомогою фосфорибозилтрансферази (КФ 2.4.2.17); КФ 3.6.1.31 і КФ 3.5.4.19 (фосфорибозил-АТФ пірофосфогідролаза / фосфорибозил-АМФ циклогідролаза /гістидинолдегідрогеназа), фосфорибозилформаміно-5-аміноімідазол карбоксамід-риботиду (КФ 5.3.1.16), циклази (КФ 4.3.2.10), імідазолегліцерол-фосфатдегідратази (КФ 4.2.1.19), гістидинол-фосфатої аміотрансферази (КФ 2.6.1.9), гістидинолфосфатази (КФ 3.1.3.15); КФ 1.1.1.23 (фосфорибозил-АТФ пірофосфогідролаза /фосфорибозил-АМФ циклогідролаза / гістидинолдегідрогеназа) утворюється **гістидин** [14].

З 3-фосфогліцерату за участю ферментів: фосфогліцератдегідрогеназа (КФ 1.1.1.95), фосфосерин трансміназа (КФ 2.6.1.52), фосфосеринфосфатаза (КФ 3.1.3.3) утворюється **серин**, який далі за допомогою серинальдолази (КФ 2.1.2.1) та цистеїн-синтази (КФ 2.5.1.47) перетворюється в **гліцин** і **цистеїн** відповідно [15].

Піруват перетворюється в ацетил-КоА (фосфоенолпіруват карбоксикіназа- КФ 4.1.1.49). Ацетил-КоА через цитрат оксалоацетат ліазу (КФ 2.3.3.1) залучається до циклу три карбонових кислот (ЦТК).

В ЦТК, цитрат утворений з ацетил-КоА, за допомогою цис-аконітази (КФ 4.2.1.3) перетворюється в ізоцитрат, який далі за участю того ж ферменту перетворюється в 2-оксоглутарат. Останній за допомогою ізоцитрат дегідрогенази (КФ 1.1.1.41) перетворюється в сукциніл-КоА, який

під дією двох ферментів: сукциніл-КоА синтетази (КФ 6.2.1.4) і сукцинатної тіокінази (КФ 6.2.1.5) перетворюється в сукцинат. Дія сукцинатдегідрогенази (КФ 1.3.5.1) індукує утворення фумарату, який далі під дією фумаратгідратази (КФ 4.2.1.2) перетворюється в малат. Малат за участю малатдегідрогенази (КФ 1.1.1.37) перетворюється в оксалоацетат [16].

З 2-оксоглутарату і ацетил-КоА за допомогою гомоцитратсинтази (КФ 2.3.3.14) утворюється гомоцитрат, який далі за участю гомоаконітази (КФ 4.2.1.-), гомоаконітатгідратази (КФ 4.2.1.36), гомоізоцитратдегідрогенази (КФ 1.1.1.87), 2-аміноадипаттрансамінази (КФ 2.6.1.39) перетворюється на 2-аміноадипінову кислоту, з якої за допомогою L-2-аміноадипатредуктази (КФ 1.2.1.95), сахаропіндегідрогенази (НАДФ+ залежної) (КФ 1.5.1.10), сахаропіндегідрогенази (НАД+ залежної) (КФ 1.5.1.7) утворюється **лізин** [17].

З 2-оксоглутарату за участю ферментів: аспарат-трансамінази (КФ 2.6.1.1), аланін-трансамінази (КФ 2.6.1.2), орнітин карбамоїлтрансферази (КФ 2.1.3.3), аргініносукцинатної синтази (КФ 6.3.4.5) та аргініносукциналазної ліази (КФ 4.3.2.1) утворюється **аргінін** [18].

З 2-оксоглутарату за допомогою омега-амідази (КФ 3.5.1.3) та глутамат-синтази (КФ 1.4.1.14) утворюється **глутамат**, який далі за допомогою глутамінсинтетази (КФ 6.3.1.2) перетворюється в **глутамін**. Також глутамат за допомогою L-глутамат гамаполуальдегіддегідрогенази (КФ 1.2.1.88) та піролін-5-карбоксилат редуктази (КФ 1.5.1.2) перетворюється в **пролін** [19].

З ксилулозо-5-фосфату, який утворився в пентозофосфатному циклі, утворюється еритрозо-4-фосфат, який взаємодіючи з ФЕП утворює C<sub>7</sub>-сполуку за участю 3-дезоксидезокси-7-офсфогептулонатсинтетази (КФ 2.5.1.54). Далі за допомогою 3-дегідрохінат синтетази (КФ 4.2.3.4) утворюється 3-дегідрохінат, який під дією ферментів: 3-дегідрохінат дегідратази (КФ 4.2.1.10) та шикімаатдегідрогенази (КФ 1.1.1.25) утворює шикімаат. За допомогою шикімаат-кінази (КФ 2.7.1.71), 3-фосфошикімаат-1-карбоксивінілтрансферази (КФ 2.5.1.19) та хоризмаат-синтази (КФ 4.2.3.5)

шикімат перетворюється в хоризмат. Хоризмат за участю гідросифенілпіруватсинтетази (КФ 5.4.99.5) пертворюється в префенат, який далі пертворюється в **L-фенілаланін** за допомогою префенатдегідратази (КФ 4.2.1.51). Також префенат за участю ферментів: префенатдегідрогенази (КФ 1.3.1.13), тирозин трансамінази (КФ 2.6.1.5) та ароматичної амінокислотної трансамінази (КФ 2.6.1.57 ) утворює **L-тирозин**. Антранілат утворюється з хоризмату за допомогою антранілат-синтетази (КФ 4.1.3.27), з якого за участю ферментів: антранілат фосфобосилтрансферази (КФ 2.4.2.18), фосфорибосилантранілат-ізомерази (КФ 5.3.1.24), індол-3-гліцерин-фосфатної синтази (КФ 4.1.1.48) та триптофан-синтази (КФ 4.2.1.20) синтезується **L-триптофан** [20].

З пірувату за допомогою ацетолактатної синтетази (КФ 2.2.1.6), дигідроксиізовалератдегідрогенази (КФ 1.1.1.86), ацетогідроксикислотна дегідрогенази (КФ 4.2.1.9) та трансамінази В (КФ 2.6.1.42) утворюється **ізолейцин** і **валін**. Також з пірувату за участю ферментів КФ 2.2.1.6, КФ 1.1.1.86, КФ 4.2.1.9, 2-ізопропілмалат синтази (КФ 2.3.3.13), 3-ізопропілмалат дегідратази (КФ 4.2.1.33), 3-ізопропілмалат дегідрогеназа (КФ 1.1.1.85), амінокислотна амінотрансфераза з розгалуженим ланцюгом (КФ 2.6.1.42) утворюється **лейцин**. З пірувату за допомогою аланінтрансамінази (КФ 2.6.1.2) утворюється **аланін** [19,21].

З оксалоацетату утворюється **аспартат** за допомогою аспартат-трансамінази (КФ 2.6.1.1), який далі під дією аспартат кінази (КФ 2.7.2.4), аспартат-семіальдегід дегідрогенази (КФ 1.2.1.11), гомосериндегідрогенази (КФ 1.1.1.3) та аспаргінова синтетаза (КФ 6.3.5.4) утворюється **аспарагін**. З аспартату за участю ферментів: КФ 2.7.2.4, КФ 1.2.1.11, КФ 1.1.1.3, гомосерин кінази (КФ 2.7.1.39), треонін синтетази (КФ 4.2.3.1) утворюється **треонін**. Також з аспартату за допомогою КФ 2.7.2.4, КФ 1.2.1.11, КФ 1.1.1.3, гомосерин ацетилтрансферази (КФ 2.3.1.31), цистатіонінової гамма-синтази (КФ 2.5.1.48), гомоцистеїн S-метилтрансферази (КФ 2.1.1.10) та гомоцистеїн метилази (КФ 2.1.1.14) утворюється **метіонін** [19,22].

## РОЗДІЛ 5

### ОБГРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ

#### 5.1. Обґрунтування до ферментаційних процесів та виробничого біосинтезу

##### 5.1.1. Обґрунтування способу культивування і типу ферментера

###### Вибір умов і способу культивування

За типом дихання аспергілли є аеробами. Температурний діапазон зростання 26-36 °С . Оптимальна температура росту 32 °С . Утворюють фізазу при рН 5,5, за типом живлення відносяться до гетеротрофних організмів, засвоюють вуглець з органічних сполук. Надходження в клітину розчинених у воді речовин відбувається шляхом дифузії і осмосу через всю поверхню тіла і регулюється цитоплазматичною мембраною, необхідна аерація, під час біосинтезу необхідно забезпечити асептичні умови, культивування проводять періодичним способом без підживлення [23].

###### *Способи культивування мікроорганізмів*

Культивування можна проводити поверхневим або глибинним, періодичним та безперервним методами, в аеробних або анаеробних умовах. Спосіб культивування залежить від кінцевої мети культивування: накопичування біомаси або отримання окремого продукту життєдіяльності мікроорганізму (метаболіту).

Поверхневий метод. Поверхнєве культивування заключається у вирощуванні аеробних мікроорганізмів на поверхні рідких і твердих поживних середовищ. При цьому мікроорганізми отримують кисень безпосередньо із повітря. У зв'язку з цим при поверхневому культивуванні стараються збільшити площину зіткнення середовища з повітрям. При поверхневому культивуванні на рідких середовищах мікроорганізми ростуть

					НУХТ БТЕК 04.01.13 КР ПЗ		
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата			
Розроб.		Роженко А.В.			Літ.	Арк.	Аркушів
Перевір.		Воронцов О. О.				35	39
Консультант					Кафедра БТМ		
Н. Контр.							
Затверд.		Пирог Т.П.					
Розділ 5. Обґрунтування вибору технологічної схеми					35		

у вигляді плівок (наприклад, при виробництві лимонної кислоти)

Глибинний метод. Цей метод культивування використовують на рідких середовищах, в яких мікроорганізми розвиваються по всій товщі. Поєднання поживного середовища і мікроорганізмів які ростуть в ньому називають культуральною рідиною. Так як мікроорганізми можуть утилізувати тільки розчинний в воді кисень, розчиніть кисню у воді невелика, то для забезпечення росту аеробів їх необхідно постійно збагачувати киснем. Процес підведення кисню в глибину рідкого середовища називається аеруванням. Аерування здійснюється шляхом продування стерильного повітря через культуральну рідину.

Примусову аерацію в ферментаторах поєднують із перемішуванням середовища за допомогою мішалок, які обертаються із частотою від десятків до тисяч обертів за хвилину. Це забезпечує максимальний контакт клітин із киснем повітря, із поживними речовинами, різко збільшується поверхність стикання клітин і дозволяє підтримувати максимальну швидкість утворення виводу і метаболітів із клітин.

**Перевага глибинного культивування** заключається у тому, що цей спосіб не потребує великих площ і громіздкого обладнання, об'єм ферментаторів можна збільшити за рахунок збільшення висоти. Перевагою являється також простота обслуговування, можливість автоматизації, а головне, зручність видалення непошкодженого цільного продукту із культуральної рідини.

Глибинне культивування мікроорганізмів може бути періодичним або безперервним. При періодичному методі культивування весь об'єм поживного середовища засівають чистою культурою і вирощування ведуть в оптимальних умовах відповідний час до накопичення потрібної кількості цільового продукту. Оскільки культивування ведеться на поживному середовищі (в стаціонарних умовах), який не відновлюється клітини весь час знаходяться в умовах які змінюються. Спочатку мікроорганізми мають усі поживні речовини, а потім поступово їх кількість зменшується і починається

отруєння шкідливими продуктами обміну. В зв'язку з цим культура в своєму розвитку проходить чотири фази росту і розмноження, на протязі яких змінюються розміри клітин, швидкість розмноження, морфологічні і фізіологічні властивості [24].

### **Вибір типу ферментеру**

Установки глибинного культивування забезпечені блоками дистанційного вимірювання тиску в біореакторі і його сорочці, блоками дистанційного контролю інтенсивності аерації повітрям або газовою сумішшю (кисню та азоту, кисню і вуглекислого газу, повітря і вуглекислого газу, азоту та вуглекислого газу).

Блок автоматичного керування дозволяє контролювати і підтримувати на заданому рівні програмну стерилізацію біореактора і арматури, швидкість обертання мішалки та дистанційний контроль відкриття або закриття вентилів і регулюючих клапанів [25].

Оскільки *Aspergillus* міцеліальний гриб, то перемішуючим пристроєм буде лопатева мішалка. Для культивування даного мікроорганізму підійде ферментер моделі Sinotech для виробництва ферментів:

- Ферментер Sinotech оснащений паровою сорочкою
- Геометричний об'єм 100 м<sup>3</sup>
- Матеріал – нержавіюча сталь
- Оснащений лопатевою мішалкою, швидкість перемішування 0-500 об/хв
- Наявна контрольно-вимірювальна апаратура
- Автоматична система управління
- Габарити: висота-8000 мм, діаметр-4000 мм
- Виробник – “Sinotech International Group” (Китай) [26].

#### **5.1.2. Обґрунтування вибору стадії підготовки аераційного повітря**

Однією з важливих задач біотехнології є одержання великої кількості стерильного повітря. У найбільших масштабах стерильне повітря

застосовується в процесах ферментації для аерації. В атмосферному повітрі, поряд з інертними газами, азотом, киснем, двоокисом вуглецю, містяться пари води і дрібнодисперсні частки. Більш 30% маси частки мають розмір 1–2 мкм і близько 50% – менше 0,5 мкм. До складу дисперсних часток, поряд з частками пилу, кіптяви, входять клітини і спори мікроорганізмів як у вільному, так і в сорбованому на пилових частках вигляді.

Температура і вологість зовнішнього повітря, кількість у ньому порошин і мікроорганізмів непостійні і залежать:

- від часу року (мікроорганізмів влітку в 10 разів більше, ніж узимку)
- погодних умов – найбільша кількість пилу і, відповідно, мікроорганізмів приходить на суху вітряну погоду;
- географічного розташування підприємства;
- висоти забору повітря

Найбільша кількість мікробів у поверхні землі, з висотою концентрація їх зменшується та стає постійною на рівні близько 30 м над землею. Найпростіший спосіб стерилізації повітря - фізичне видалення мікроорганізмів фільтрацією через волокнисті або мембранні фільтри (набивні фільтри надтонким волокном, скловолокном, тканиною Петрянова, фільтри з пористого фторопласту) і т.д.

### **Очищення повітря**

Вітчизняним і закордонним досвідом показано, що технологічно й економічно виправданим у промисловості є спосіб очищення повітря за допомогою *волокнистих і пористих матеріалів*. Таким шляхом вдається одержати повітря зі ступенем чистоти 99,9999%. Зважені в повітрі частки затримуються волокнистим матеріалом завдяки інерційному і дифузійному механізмам осадження. Механізм інерційного осадження: коли повітряний потік починає обтікати нитку волокна на своєму шляху, зважені в цьому потоці частки рухаються по інерції, відхиляються від потоку повітря й осаджуються на волокні. Ефект інерційного осадження високий на порівняно

грубих волокнах для відносно великих часток і високих швидкостей повітря. Малі частки здатні до броунівського руху. Волокна частки, що рухаються поблизу, дифундують у випадкових напрямках і можуть затримуватися на поверхні волокон. Цей ефект осадження збільшується зі зменшення діаметра волокна фільтруючого матеріалу, діаметра частки і швидкості повітря.

У головних фільтрах для грубого очищення використовують наступні фільтруючі матеріали:

- грубе базальтове волокно;
- високооб'ємний нетканий фільтруючий матеріал, або тканина

Камінської. Особливістю цього матеріалу є те, що в прядильний розчин при його виготовленні вводять антисептик гексахлорофен, тому фільтри, заповнені такою тканиною, не піддають стерилізації;

- склозрізи

В індивідуальних фільтрах для тонкого очищення повітря використовують фільтри Петріянова (ФП) із тканиною Петріянова, що складається з ультратонких полімерних волокон, сформованих у виді тканини на марлевій підкладці. В даний час виготовляють багато видів ФП. Також для індивідуальних фільтрів використовують базальтове надволокно з якого роблять базальтові папери і картон, що володіють достатньою механічною міцністю.

В останні роки для тонкого очищення повітря використовують тверді пористі перегородки з пластмас і металокераміки. Перевагою цих матеріалів у порівнянні з волокнистими є стабільність структури, стійкість до підвищених температур, простота конструктивного оформлення, легкість обслуговування фільтрів. Істотний недолік – високий перепад тиску. Найбільше застосування знаходять фільтруючі матеріали з фторопласта і металокераміки у виді втулок ФЕП – фільтруючий елемент патронного типу. Для стерилізації повітря рекомендують також мембрани з діаметром пір 0,45 мкм. Пористість мембран досягає 80%. Видалення мікроорганізмів за

допомогою мембрани засновано на ситовому ефекті.

**1. Перша підсистема.** Атмосферне повітря забирають турбокомпресором через забірну шахту висотою 20–30 м (концентрація мікроорганізмів стабілізована). Спочатку повітря попадає в фільтри попереднього очищення, де воно звільняється від грубого аерозолі – пилу. Фільтри попереднього очищення захищають компресори від забруднення та істотно знижують кількість контамінантів, що могли б потрапити в другу підсистему.

Повітря стискають у турбокомпресорі до 0,35–0,5 МПа. Тиск стиску повітря в компресорі визначають з розрахунку тиску на подолання опору в системі повітряпідготовки, тиску стовпа рідини у ферментаторі і створення в ньому тиску 0,13–0,14 МПа. Стиснення повітря в компресорі приводить до підвищення його температури до 120–250°C та збільшенню вологовмісту на одиницю об'єму.

**2. Друга підсистема.** У випадку високого вмісту вологи у вихідному атмосферному повітрі конденсується ще більша кількість вологи при його охолодженні. Випадання вологи на фільтрах неприпустимо, оскільки це приводить до злипання волокон і утворенню каналів, і тоді ефекти, осадження часток на волокні не проявляються. Крім того, на зволжених волокнах фільтрів можливе розмноження осілих мікроорганізмів, що приводить до додаткового забруднення повітря. Щоб забезпечити випадання вологи в каплевловлювачі, повітря "переохолоджують" до температури 25–40°C в теплообмінному апараті. Потім, для забезпечення надійної роботи фільтрів 2-го і 3-го рівнів, повітря нагрівають до температури 70–90°C. При таких температурах виключається конденсація пар води на волокнах фільтра. З цією метою повітря після бризковловлювача підігрівають у теплообміннику, при цьому допускається часткове підмішування гарячого повітря після компресора. Кількість повітря, що підмішується, визначається умовами відносної вологості, що не повинна бути більше 40%.

**3. Третя підсистема** складається з двох фільтрів другого і третього

рівнів очищення. Фільтр другого рівня, або головний фільтр звичайно розташований на території заводу поруч з цехом. На головному фільтрі очищають повітря для усіх ферментаторів цеху. З головного фільтра повітря по колектору подається в індивідуальні фільтри третьої рівня, встановлені на кожному ферментаторі, незалежно від його місткості. Конструкція індивідуального фільтра залежить від типу використовуваного фільтруючого матеріалу. При експлуатації фільтрів необхідна їхня стерилізація. Найбільш ефективним методом є нагрівання вологою парою і витримка протягом визначеного часу при температурі 120–130°C. Застосування більш високої температури викликає деструкцію герметизуючих прокладок у фільтрах. Після стерилізації фільтруючий матеріал висушують гарячим повітрям [27].

### **Етапи підготовки аераційного повітря**

- Забір повітря відбувається з атмосфери з висоти 6 метрів над рівнем даху (необхідна висота повинна бути не менше 2 м) виробничої будівлі, за допомогою повітрозабірника. Повітрозабірник обладнаний металевою сіткою для видалення забруднень.

- Повітря фільтрується фільтром з керамічним картриджем F 0010 DF для видалення механічних частинок більше 10 мкм, пропускна здатність фільтра 1170 л/хв. E=90%.

- Для стискання повітря використовуємо компресор 10HP 7.5KW потужністю 1м<sup>3</sup>/хв.

- Стиснення повітря супроводжується його сильним нагріванням, тому після компресорів повітря надходить у холодильник. Щоб видалити з повітря зайву вологу, його необхідно прохолоджувати до температури нижче крапки роси. Теплообмінник-охолоджувач (нагрівач) МНТА-15 продуктивністю 47 кВт. В залежності від пори року в теплообмінник подається холодна вода або пара низького тиску. Температура повітря на виході регулюється швидкістю подачі теплоносія. В холодний період року температура повітря передбачена на рівні 20±2°C, в теплий — 23±2°C. W = 60 %.

- Перед фільтрами встановлюють одну більшу ємність (ресивер), який

служить для вирівнювання тиску в системі й забезпечення рівномірної подачі повітря на фільтри. Для зберігання стисненого повітря використовуємо ресивер ARIACOM SV 200-11P об'ємом 200 л.

- Підігрів повітря відбувається в теплообміннику-нагрівачі *МНТА-15* до температури, вищої від температури культивування на  $5 - 10^{\circ}\text{C}$ , тобто до  $40^{\circ}\text{C}$ , його вологість становить  $W = 40\%$ .

- Далі повітря очищується в головному фільтрі TRION Forever Filter®, фільтруюча поверхня складається з алюмінієвих пластин, ефективність очищення досягає 95%.

- Далі повітря надходить до індивідуального фільтра (тонкої очистки) ОМІ 04А.0570.Н зі скловолокна, продуктивністю  $300\text{ м}^3/\text{год}$  ефективність очищення досягає 99,99%.

Повітря, що відводиться з ферментатора після аерації культури, що росте, очищається в системі фільтрів і викидається в атмосферу.

### 5.1.3. Вибір мийних та дезінфікуючих засобів

Оброблюваний об'єкт – стіни, підлога.

Підлогу та стіни мийуть пролонгованими засобами 1 раз на тиждень.

Для дезінфекції стін і підлоги в харчовому виробництві підходять такі засоби як “ЛЕГІОН САНІТАЙЗЕР”, “Divosan Extra VT55”, “ITS WATER DEZ-300”, “PuroTech Пентасол 234”, “Sviteco-PIP Interior Cleaner”, “ОНИКО «ДЕЗОХЛОРИН»”.

#### Способи дезінфекції:

- **Занурення у розчин**

занурюванням у робочий розчин дезінфекційного засобу посуду, білизни, іграшок, виробів медичного призначення, предметів догляду за хворими, інвентарю, дрібної тари тощо

- **Засипання сухим засобом**

засипанням залишків їжі, виділень, сміттєзбірників, ґрунту тощо дезінфекційними засобами, які виробляють у формі порошку, гранул;

- **Зрошення поверхні**

Особливості дезінфекції шляхом зрошення:

До дезінфекції шляхом зрошення вдаються при необхідності обробки великої площі, наприклад, цілого приміщення або навпаки, маленьких і важкодоступних поверхонь. Сутність цього способу знезараження полягає в тому, що розчин дезінфекційних засобів за допомогою спеціальних пристосувань (гідропультів і розпилювачів рідини) розпорошується до аерозолі, який покриває оброблювані об'єкти.

Варто відзначити, що при використанні деззасобів способом зрошення відбувається подразнення верхніх дихальних шляхів і очей. Тому дезінфекція обов'язково повинна проводитися з використанням засобів індивідуального захисту: респіраторів, окулярів, рукавичок і спецодягу.

З огляду на подразнюючий вплив деззасобів, обробку шляхом зрошення в приміщенні проводять виключно у відсутності людей. Після закінчення часу витримки в приміщенні проводять вологе прибирання з метою видалення залишків деззасобів з поверхонь.

- **Протирання**

Особливості дезінфекції шляхом протирання:

Дезінфекція шляхом протирання є протирання поверхонь ганчір'ям, змоченим в робочий розчин деззасоби. Таким способом знезаражують:

Поверхні приміщення (підлога, стіни, стелі, двері);

Поверхні меблів;

Сантехнічне обладнання;

Професійну техніку, обладнання, прилади.

Дезінфекція шляхом протирання проводиться з використанням різних дезінфікуючих засобів. Так, робочі розчини дезінфікуючих засобів готують з рідких і твердих концентратів. А використання комбінованих деззасобів, до складу яких додатково входять миючі компоненти дозволяє поєднати в одному процесі дезінфекцію і миття поверхонь.

Крім того, для знезараження невеликих або важкодоступних поверхонь можуть використовуватися готові до застосування засоби для експрес-

дезінфекції. Такі поверхні можна дезінфікувати шляхом протирання ганчір'ям, зрошеної аерозольним засобом для експрес-дезінфекції або спиртовими серветками.

### **Аерозольне розпилення**

#### **Сучасні вимоги до дезінфікуючих засобів**

Дані засоби повинні бути:

- Добре розчинними у воді;
- Легко і повністю змиватись при споліскуванні;
- Не мати стійкого запаху і бути безбарвними;
- Не володіти агресивною дією щодо матеріалів, з яких виготовлені доїльне обладнання та молочний інвентар;
- Володіти слабкою корозійною активністю;
- Бути стійкими при зберіганні;
- Не знижувати активності протягом тривалого часу;
- Бути пожежо- і вибухобезпечними;
- Бути безпечними для довкілля та повністю розпадатися на нешкідливі сполуки;
- Мати широкий спектр протимікробної активності;
- Діяти бактерицидно щодо патогенних та умовно-патогенних мікроорганізмів в присутності органічних речовин, солей твердості і мікроорганізмів в біоплівках;
- Не володіти подразнюючою дією на шкіру рук;
- За токсикологічною характеристикою бути нетоксичними або малотоксичними [28].

Миючі та дезінфікуючі засоби повинні відповідати таким вимогам:

- виражені миючі властивості (миюча здатність не менше 90,0%);
- виражена дезінфікуюча здатність (не менше 90,0%);
- повне змочування поверхонь із різних конструктивних матеріалів;

- низька агресивність по відношенню до конструктивних матеріалів, призначених для виготовлення технологічного обладнання, комунікацій, інвентаря;

- повне змивання з робочих поверхонь об'єктів підприємства при мінімальних втратах води вироблюваної продукції.

Для стерилізації стін та підлоги приміщень обираємо деззасіб "ЛЕГІОН САНІТАЙЗЕР" (діюча речовина, мас., %: 25,0 - полігексаметиленгуанідину гідро хлориду), оскільки він проявляє унікальну пролонговану бактерицидну дію, оброблені поверхні зберігають дезінфікуючу здатність тривалий час, до 7-ми днів.

**Фізичні та хімічні властивості:** ПГПМГ не леткий, некорозієактивний, нетоксичний, не викликає алергії не накопичується в організмі. Препарат не має запаху, розчини його безбарвні, не горючий, не вибухонебезпечний, при кімнатній температурі стабільний необмежений час. Концентрат ПГМГ (25% -ний розчин) зберігає свою стабільність і активність не менше 3-х років. Розчини ПГМГ неагресивні по відношенню до нержавіючої сталі, алюмінію, інших металів, а також до бетону, дереву, керамічній плитці, гумі, пластмас, тканин.

**Опис:** Бактерицидні властивості гуанідинових речовин обумовлені руйнівним електрохімічним впливом на оболонку клітини (клітинну мембрану), яка грає роль молекулярного фільтра, що захищає цитоплазматичну мембрану від руйнівних токсинів. Щоб подіяти на клітку, антибактеріальний препарат повинен проникнути через цей шар. Застосовується у фунгіцидах, використовують проти цвілі. [29].

Крім того, засіб "Легіон САНІТАЙЗЕР" має такі властивості:

❖ Виявляється активність по відношенню до широкого спектру бактерій, вірусів, грибків;

❖ Не формує резистентні форми мікроорганізмів;

❖ Відноситься до 4-го класу малонебезпечних сполук;

❖ Не має запаху, не подразнює шкіру і слизові оболонки;

- ❖ Стабільний і безпечний при зберіганні і транспортуванні;
- ❖ Не володіє агресивним впливом на оброблюваний матеріал;
- ❖ Засіб негорючий, пожежо- та вибухобезпечний, екологічно безпечний;
- ❖ Не містить альдегідів, спиртів, активного хлору

Засіб наноситься на поверхню до повного зволоження. Необхідно почекати експозицію до повного випаровування вологи. На поверхні оброблюваної поверхні утворюється мікрошар діючої речовини, який забезпечує тривалу бактерицидну дію. Засіб зареєстровано, має висновок санітарно-епідеміологічної експертизи. Отже, деззасіб «ЛЕГІОН САНІТАЙЗЕР» відповідає сучасним вимогам дезінфікуючих засобів. [30].

### ІНСТРУКЦІЯ

#### **ЩОДО ЗАСТОСУВАННЯ ДЕЗІНФЕКЦІЙНОГО ЗАСОБУ «ЛЕГІОН САНІТАЙЗЕР» (LEGION SANITIZER)**

1. Перед проведенням дезінфекції необхідно провести механічну очистку, миття та, при необхідності, знежирення поверхонь (приміщень, обладнання, тари, інвентарю), в тому числі, які контактують з питною водою.

2. Робочі розчини засобу готують у промаркованих ємностях, які виготовлені із будь-яких матеріалів, шляхом розведення засобу водою та наступного перемішування до повного його розчинення з подальшою витримкою на протязі однієї години. Для приготування робочих розчинів засобу використовують питну воду.

3. З метою дезінфекції застосовують робочий розчин препарату «ЛЕГІОН САНІТАЙЗЕР» в концентрації 0,5-1,0% по препарату і нормі витрат робочого розчину - 100 мл / м<sup>2</sup> з дотриманням часу експозиції 30 хвилин (при профілактичній дезінфекції).

4. Дезінфекцію об'єктів робочими розчинами «ЛЕГІОН САНІТАЙЗЕР» виконують способами протирання, зрошення, замочування, заливання або занурення.

5. Робочі розчини засобу не знебарвлюють тканини, не фіксують органічні забруднення, проявляють змочувальні та дезодоруючі властивості,

що підсилюються при підвищенні температури розчинів до 30-90° С. Миючі властивості підсилюються при додаванні до них кальцинованої соди (30,0 г/л). Засіб не сумісний з милами, аніонними поверхнево-активними речовинами, концентрованими розчинами хлоровмісних сполук.

б. Проведення вологого прибирання після дезінфекції засобом «ЛЕГІОН САНІТАЙЗЕР», тобто спеціальне змивання дезінфікуючого засобу з оброблених поверхонь не потрібне.

LEGION SANITIZER має антимікробну активність відносно грамнегативних і грампозитивних бактерій (включаючи мікобактерії туберкульозу), вірусів (в тому числі вірусів ентеральних і парентеральних гепатитів, ВІЛ, поліомієліту, аденовірусів, вірусів грипу, вірусу пташиного грипу - штаму АН5N1, герпесу та інших вірусів), грибів роду Кандида, трихофітон, цвілі.

Також обраний засіб можна використовувати для миття дверей, столів, інших твердих меблів та вікон, їх ретельно протирають ганчір'ям або щіткою, які змочені робочим розчином засобу. Щоденне вологе прибирання приміщень, оброблених дезінфікуючим засобом «ЛЕГІОН САНІТАЙЗЕР», проводять водою кімнатної температури без застосування мила і миючих засобів.

#### **Особливості засобу:**

- Не містить токсичних компонентів - активний хлор, альдегідів, фенолів
- Має бактерицидну (включаючи спорові бактерії та туберкульоз), віруліцидну (включаючи віруси гепатиту та віл-інфекції) та фунгіцидну (включаючи кандидоз, дерматофіти) дію
- Має довготривалу (продовжану) корисну дію
- Може використовуватись у присутності людей
- Має нейтральний показник РН
- Немає запаху. не викликає алергії
- Попереджує та знищує біообростання (біоплівку)
- Не призводить до корозії поверхонь та обладнання

- Просте обслуговування в експлуатації та зберіганні
- Безпечний для людини, тваринного, рослинного світу та навколишнього середовища [31].

Отже, обраний дезінфікуючий засіб відповідає сучасним вимогам дезінфікуючих засобів. Дезінфекцію підлоги та стін деззасобом «ЛЕГІОН САНІТАЙЗЕР» будемо здійснювати зрошенням, оскільки дезінфекції підлягає досить велика площа. Необхідно дезінфікувати стіни та підлогу в трьох приміщеннях, оскільки наявні ферментери на 10 м<sup>3</sup> та 100 м<sup>3</sup>, які плануємо розташувати в окремих приміщеннях (в першому приміщенні будуть розташовані ферментери на 10 л, 100 л та 1000 л) [32].

Оброблюваний об'єкт – ферментери та інше технологічне обладнання

Технологічне обладнання миють засобами 1 раз на тиждень.

Для дезінфекції ферментерів підходять такі засоби як “Ласепт 344-М”, “Асептопол 76”, “VertoSept 1”, “STERILIO A”, “WP 35”, “ЛАСЕПТ РАПІД”.

Для стерилізації ферментерів в харчовому виробництві обираємо деззасіб “Ласепт 344-М”

( діючі речовини,%: 10,0- додецилбіспропілентриамін;

13,0- алкілдиметилбензиламонію хлорид;

7,0 дидецилдиметиламонію хлорид).

«ЛАСЕПТ 344-М» - дезінфікуючий засіб з мийними властивостями виробництва ТОВ «Лабораторія антисептики» (ТУ У 20.2-3827992-001:2012), є прозорою рідиною від безбарвної до жовтого кольору із специфічним запахом, що добре змішується з водою. Концентрований дезінфікуючий засіб з чудовим мийним ефектом на основі суміші четвертинних амонієвих сполук 1-го і 3-го покоління і третинного аміну.

Властивості деззасобу:

- ❖ Володіє широким спектром дії (вирулоцидним, фунгіцидну, бактерицидну в т.ч. туберкулоцидним)
- ❖ Добре сумісний з оброблюваними поверхнями
- ❖ Ефективний в жорсткій воді

- ❖ Ефективний у присутності органічних речовин (при білковій навантаженні)
- ❖ Володіє підвищеними миючими властивостями
- ❖ Володіє дезодоруючими властивостями
- ❖ Може використовуватися в присутності людей
- ❖ Перешкоджає виробленню мікроорганізмами резистентності [33].

Засіб «ЛАСЕПТ 344-М» має бактерицидні властивості щодо грамнегативних та грампозитивних бактерій (включаючи збудників туберкульозу), віруліцидні (включаючи віруси гепатитів, вірус СНІД/ВІЛ, поліомієліту, віруси грипу, аденовірус), фунгіцидні (включаючи гриби роду Кандида, дерматофіти, дріжджі). Засіб «ЛАСЕПТ 344-М» застосовується для мийки, профілактичної дезінфекції та санітарної обробки будь-яких видів устаткування, інвентарю, тари, виготовлених із всіх видів матеріалів.

## ІНСТРУКЦІЯ

### **ЩОДО ЗАСТОСУВАННЯ ДЕЗІНФІКУЮЧОГО ЗАСОБУ З МИЙНОЮ ВЛАСТИВІСТЮ «ЛАСЕПТ 344-М»**

1. Розчини засобу «ЛАСЕПТ 344-М» застосовують для мийки та дезінфекції устаткування, інвентарю, тари, виготовлених з будь-якого матеріалу, виробничих приміщень..

2. Санітарна обробка технологічного обладнання, інвентарю, тари та виробничих приміщень включає в себе механічну очистку, мийку і профілактичну дезінфекцію розчинами «ЛАСЕПТ 344-М» та промивку холодною водопровідною водою до відсутності залишкових кількостей дезінфікуючого засобу.

3. Мийку і дезінфекцію розчинами «ЛАСЕПТ 344-М» проводять способом промивання, протирання, замочування, занурення й зрошення. Обробку об'єктів способом зрошення проводять за допомогою спеціального устаткування, домагаючись рівномірного й рясного змочування. Робочі розчини засобу ефективні при кімнатній температурі. При застосуванні

робочих розчинів підвищеної температури (40-60 °С) їх антимікробні та миючі властивості значно підвищуються.

4.Нерозбірні трубопроводи промивають теплою водою від залишків сировини, потім вставляють заглушки й заливають на 2-4 години 0,3 % - ний розчин засобу «ЛАСЕПТ 344-М» з наступним промиванням холодною водою.

5.Розбірні трубопроводи спочатку відмивають від харчових залишків холодною або теплою водою, промивають гарячим лужним миючим розчином з наступним промиванням водою й дезінфікують зануренням у 0,3 % - ний розчин засобу «ЛАСЕПТ 344-М» після чого промивають струменем води або в проточній воді до відсутності залишкових кількостей дезінфікуючого засобу.

6.Мийку і дезінфекцію дрібного інвентарю й посуду здійснюють зануренням на 30 хвилин у ванни з 0,3 % - ним розчином засобу «ЛАСЕПТ 344-М» з наступним промиванням водою. Мийку і дезінфекцію великого інвентарю (візки, ящики й т.п.) як металевого, так і дерев'яного, проводять зрошенням 0,4 % - ним розчином засобу «ЛАСЕПТ 344-М» машинами або пристроями, що розприскують, після чого промивають водою [34].

## **ІНСТРУКЦІЯ**

### **ЩОДО ЗАСТОСУВАННЯ ДЕЗІНФІКУЮЧОГО ЗАСОБУ**

#### **“ДЕЗАНОЛ ОКСО”**

Склад засобу, вміст діючих та допоміжних речовин, мас. %: пероксид водню у межах 49-59 (діюча речовина), срібло колоїдне, стабілізуючі добавки.

❖ Форма випуску і фізико-хімічні властивості засобу: Однорідна прозора рідина зі специфічним запахом пероксиду водню. Виявляє окислювальні властивості. Добре розчиняється у воді. Водні розчини засобу “Дезанол оксо” прозорі, безбарвні, мають помірний запах пероксиду водню. Профілактична, поточна та заключна дезінфекція, генеральні прибирання, дезінфекція поверхонь приміщень, приладів в харчовій промисловості.

❖ Спектр антимікробної дії: засіб “Дезанол оксо” має бактерицидні (включаючи збудників туберкульозу), віруліцидні (включаючи збудників гепатитів, ВІЛ, кишкових вірусних інфекцій), фунгіцидні (включаючи збудників кандидозів та дерматомікозів, плісняві гриби) та спороцидні властивості.

❖ Засіб “Дезанол оксо”, відповідно до вимог ГОСТ 12.1.007, належить до помірно небезпечних речовин (3 клас небезпеки) при введенні в шлунок та до мало небезпечних речовин (4 клас небезпеки) при нанесенні на шкіру. Не виявляє сенсibiliзуючих властивостей. У нативній формі подразнює шкіру і слизову оболонку очей. У рекомендованих з метою дезінфекції та стерилізації концентраціях не виявляє шкірноподразнювальних властивостей, не подразнює слизову оболонку очей. У насичених концентраціях, що створюються у приміщенні під час дезінфекції об’єктів робочим розчином засобу, не подразнює слизову оболонку верхніх дихальних шляхів та очей.

❖ Поверхні (столи, тверді меблі) зрошують із розрахунку 100 мл/м<sup>2</sup> поверхні або ретельно протирають ганчір’ям, яке змочують робочим розчином засобу (норма витрат 100 мл/м<sup>2</sup> поверхні) [35, 36].

#### **5.1.4. Особливості підготовки і стерилізації поживного середовища**

##### **Особливості підготовки і стерилізації поживного середовища для одержання інокуляту в колбах на качалках**

❖ У відповідності з прийнятим складом поживного середовища (згідно ТЕО) для отримання інокуляту загальні витрати компонентів на визначений об’єм поживного середовища  $V_{\text{пск}}$  складуть:

$G_{\text{заг}} = V_{\text{пск}} \cdot C_{\Sigma} = 0,445 \cdot 24,41 = 0,011$  кг, в тому числі:

Сахароза  $G_1 = G_{\text{заг}} \cdot C_1 / C_{\Sigma} = 0,011 \cdot 19 / 24,41 = 0,0086$

$\text{NH}_4\text{NO}_3$   $G_2 = G_{\text{заг}} \cdot C_2 / C_{\Sigma} = 0,011 \cdot 5 / 24,41 = 0,0023$

$\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$   $G_3 = G_{\text{заг}} \cdot C_3 / C_{\Sigma} = 0,011 \cdot 0,25 / 24,41 = 0,0001$

$\text{KH}_2\text{PO}_4$   $G_4 = G_{\text{заг}} \cdot C_4 / C_{\Sigma} = 0,011 \cdot 0,16 / 24,41 = 0,0001$

Розрахунок кількості води для приготування поживного середовища для качалочних колб. Оскільки об'єм поживного середовища в колбах складає  $V_{\text{пск}}=0,445$  л, стерилізацію проводять в автоклаві, тоді конденсат не утворюється. Кількість води необхідної для розбавлення компонентів поживного середовища буде  $V_{\text{в}} = V_{\text{пск}} - G_{\text{заг}} = 0,445 - 0,011 = 0,434$  л.

Таблиця 5.1

**Розрахунок вмісту компонентів для приготування 0,445 л середовища**

Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	Кількість для приготування 0,445 л середовища, кг (л)	Композиція	Об'єм композиції, л
Сахароза	19	0,0086	А	0,140
Вода		0,131		
$\text{NH}_4\text{NO}_3$	5	0,0023	Б	0,155
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,25	0,0001		
Вода		0,153		
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	0,16	0,0001	В	0,150
Вода		0,150		
Конденсат		-		-
<b>Всього</b>		<b>0,445</b>		<b>0,445</b>

На першому етапі для отримання посівного матеріалу (об'ємом 0,48 л) в колбах потрібно приготувати 0,445 л поживного середовища.

◆ Розчин сахарози об'ємом 0,140 л (0,0093 кг сахарози та 0,131 л води) стерилізуємо в окремій колбі (1 л) при температурі 112 °С,  $p=0,05$  МПа, упродовж 30 хв. Для стерилізації компонентів обираємо автоклав з вертикальним завантаженням LS-10HD об'ємом 10 л.

◆ Розчин  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  об'ємом 0,155 л (0,0025 кг; 0,0001 кг; відповідно та 0,153 л води) стерилізують в одній колбі (0,2 л) при температурі 131 °С,  $p=0,15$  МПа, упродовж 40 хв.

◆ Розчин  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  об'ємом 0,150 л (0,0001 кг та 0,150 л води) стерилізують в одній колбі (0,2 л) при температурі 131 °С,  $p=0,15$  МПа, упродовж 40 хв.

◆ До колби з розчином сахарози стерильно вносимо розчини солей,

перемішуємо, після охолодження середовища стерильним 1% NaOH доводять рН до 5,5 та вносять посівний матеріал (0,04 л) з пробірок із скошеним агаризованим середовищем. Отриманий розчин об'ємом 0,485 л розподіляємо на 4 колби (750 мл,  $\kappa.з.=0,2$ ). Втрати посівного матеріалу у процесі його культивування в колбах становлять 0,005 л (частка  $E_{\text{кол}} = 0,01$ ). Отже, в кінці культивування об'єм посівного матеріалу буде становити 0,48л.

### **Особливості підготовки і стерилізації поживного середовища**

#### **для вирощування інокуляту в інокуляторах та посівних апаратах**

❖ У відповідності з прийнятим складом поживного середовища (згідно ТЕО) для отримання інокуляту загальні витрати компонентів на визначений об'єм поживного середовища  $V_{\text{псін}}$  складуть:

$G_{\text{заг}} = V_{\text{псін}} \cdot C_{\Sigma} = 4,82 \cdot 24,41 = 0,118$  кг, в тому числі:

Сахароза  $G_1 = G_{\text{заг}} \cdot C_1 / C_{\Sigma} = 0,118 \cdot 19 / 24,41 = 0,092$

$\text{NH}_4 \text{NO}_3$   $G_2 = G_{\text{заг}} \cdot C_2 / C_{\Sigma} = 0,118 \cdot 5 / 24,41 = 0,024$

$\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$   $G_3 = G_{\text{заг}} \cdot C_3 / C_{\Sigma} = 0,118 \cdot 0,25 / 24,41 = 0,001$

$\text{KH}_2\text{PO}_4$   $G_4 = G_{\text{заг}} \cdot C_4 / C_{\Sigma} = 0,118 \cdot 0,16 / 24,41 = 0,001$

Розрахунок кількості води для приготування поживного середовища для інокулятора

Стерилізацію композиції А проводять в автоклаві, тоді конденсат не утворюється. Стерилізація композиції Б буде здійснюватись в інокуляторі гострою парою, приймаємо  $K_{\text{кон}} = 0,1$  Тоді загальна кількість конденсату становитиме  $V_{\text{к}} = V_{\text{псін}} \cdot K_{\text{кон}} = 4,82 \cdot 0,1 = 0,482$  л. Кількість води необхідної для розбавлення компонентів поживного середовища складатиме:  $V_{\text{в}} = 4,82 - 0,118 - 0,331 = 4,372$  л.

*Таблиця 5.2*

#### **Розрахунок вмісту компонентів для приготування 4,82 л середовища**

Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	Кількість для приготування 4,82 л середовища, кг (л)	Композиція	Об'єм композиції, л

Сахароза	19	0,092	А	1,51
Вода		1,418		
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	5	0,024	Б	3,31
MgSO <sub>4</sub> · 7 H <sub>2</sub> O	0,25	0,001		
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0,16	0,001		
Вода		2,954		
Конденсат		0,331		
<b>Всього</b>		<b>4,82</b>		<b>4,82</b>

На другому етапі для отримання посівного матеріалу (об'ємом 4,8 л) в інокуляторі об'ємом 10 л потрібно приготувати 4,82 л поживного середовища.

♦ Розчин сахарози об'ємом 1,51 л (0,092 кг сахарози та 1,266 л води) стерилізуємо в одній колбі (2 л) при температурі 112 °С, р=0,05 МПа, упродовж 30 хв (конденсат – 0,151 л). Всього – 1,51 л.

♦ Розчин NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O і KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> об'ємом 3,31 л (0,024 кг; 0,001 кг; 0,001 кг відповідно та 2,954 л води) готують в реактор-змішувачі (4 л), потім подають до інокулятора, де стерилізують при температурі 131 °С, р=0,15 МПа, упродовж 40 хв. (конденсат – 0,331 л). Всього – 3,31 л. Перед стерилізацією до розчину додаємо 6% розчин HCl для доведення рН розчину до 4,5.

❖ До інокулятора подають простерилізований розчин сахарози. Після перемішування та охолодження середовища стерильним NaOH доводять рН до 5,5 та вносять посівний матеріал з колб (0,48 л), отримуємо розчин об'ємом 5,3 л. Для підтримання рН 5,5 в процесі культивування готуємо 6% NaOH. Втрати посівного матеріалу у процесі його культивування в інокуляторі становлять 0,5 л (частка E<sub>ін</sub> = 0,1). Отже, в кінці культивування об'єм посівного матеріалу буде становити 4,8 л.

❖ У відповідності з прийнятим складом поживного середовища (згідно ТЕО) для отримання інокуляту загальні витрати компонентів на визначений об'єм поживного середовища V<sub>псін</sub> складуть:

$$G_{\text{заг}} = V_{\text{псін}} \cdot C_{\Sigma} = 47,9 \cdot 24,41 = 1,17 \text{ кг, в тому числі:}$$

$$\text{Сахароза} \quad G_1 = G_{\text{заг}} \cdot C_1 / C_{\Sigma} = 1,17 \cdot 19 / 24,41 = 0,91$$

$$\text{NH}_4\text{NO}_3 \quad G_2 = G_{\text{заг}} \cdot C_2 / C_{\Sigma} = 1,17 \cdot 5 / 24,41 = 0,24$$

$$\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O} \quad G_3 = G_{\text{заг}} \cdot C_3 / C_{\Sigma} = 1,17 \cdot 0,25 / 24,41 = 0,01$$

$$\text{KH}_2\text{PO}_4 \quad G_4 = G_{\text{заг}} \cdot C_4 / C_{\Sigma} = 1,17 \cdot 0,16 / 24,41 = 0,01$$

Розрахунок кількості води для приготування поживного середовища для інокулятора

Оскільки, стерилізація компонентів в композиціях буде здійснюватись в окремих реакторах (в реакторі-змішувачі для композиції А; в інокуляторі для композиції Б) гострою парою, приймаємо  $K_{\text{кон}} = 0,1$  Тоді загальна кількість конденсату становитиме  $V_{\text{к}} = V_{\text{псін}} \cdot K_{\text{кон}} = 47,9 \cdot 0,1 = 4,79$  л. Кількість води необхідної для розбавлення компонентів поживного середовища буде  $V_{\text{в}} = V_{\text{псін}} - G_{\text{заг}} - V_{\text{к}} = 47,9 - 1,17 - 4,79 = 41,94$  л.

Загальну кількість води перерозподіляємо по композиціям таким чином:

- До 30 % - на розбавлення сахарози – 12,58 л
- До 10 % - на розбавлення солей у реакторі змішувачі (4,2 л), інша кількість води (25,16 л) подається в інокулятор. Солі з водою (29,62 л) стерилізуються в інокуляторі.

Таблиця 5.3

**Розрахунок вмісту компонентів для приготування 47,9 л середовища**

Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	Кількість для приготування 47,9 л середовища, кг (л)	Композиція	Об'єм композиції, л
Сахароза	19	0,91	А	14,98
Вода		12,58		
Конденсат		1,49		
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	5	0,24	Б	32,92
MgSO <sub>4</sub> · 7 H <sub>2</sub> O	0,25	0,01		
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0,16	0,01		
Вода		29,36		
Конденсат		3,3		
<b>Всього</b>		<b>47,9</b>		<b>47,9</b>

На третьому етапі для отримання посівного матеріалу (об'ємом 47,5 л) в інокуляторі об'ємом 100 л потрібно приготувати 47,9 л поживного

середовища.

◆ Розчин сахарози 14,98 л (0,91 кг сахарози та 12,58 л води) стерилізуємо в реактор-змішувачі (20 л) при температурі 112 °С,  $p=0,05$  МПа, упродовж 30 хв (конденсат – 1,49 л). Всього – 14,98 л.

◆ Розчин  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  і  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  об'ємом 4,46 л (0,24 кг; 0,01 кг; 0,01 кг відповідно та 10% води – 4,2 л) готують в реактор-змішувачі (6 л), потім подають до інокулятора, додають залишок води (25,16 л) та стерилізують при температурі 131 °С,  $p=0,15$  МПа, упродовж 40 хв (конденсат – 3,3 л). Всього – 32,92 л. Перед стерилізацією до розчину додаємо 6% розчин  $\text{HCl}$  для доведення рН розчину до 4,5.

◆ До інокулятора подають простерилізований розчин сахарози. Після перемішування та охолодження середовища стерильним  $\text{NaOH}$  доводять рН до 5,5 та вносять посівний матеріал (4,8 л) від інокулятора об'ємом 10 л, отримуємо розчин об'ємом 52,7 л. Для підтримання рН 5,5 в процесі культивування готуємо 6%  $\text{NaOH}$ . Втрати посівного матеріалу у процесі його культивування в інокуляторі становлять 5,2 л (частка  $E_{\text{ін}} = 0,1$ ). Отже, в кінці культивування об'єм посівного матеріалу буде становити 47,5 л.

❖ У відповідності з прийнятим складом поживного середовища (згідно ТЕО) для отримання інокуляту загальні витрати компонентів на визначений об'єм поживного середовища  $V_{\text{пспа}}$  складуть:

$G_{\text{заг}} = V_{\text{пспа}} \cdot C_{\Sigma} = 474,7 \cdot 24,41 = 11,59$  кг, в тому числі:

Сахароза  $G_1 = G_{\text{заг}} \cdot C_1 / C_{\Sigma} = 11,59 \cdot 19 / 24,41 = 9,02$

$\text{NH}_4\text{NO}_3$   $G_2 = G_{\text{заг}} \cdot C_2 / C_{\Sigma} = 11,59 \cdot 5 / 24,41 = 2,37$

$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$   $G_3 = G_{\text{заг}} \cdot C_3 / C_{\Sigma} = 11,59 \cdot 0,25 / 24,41 = 0,12$

$\text{KH}_2\text{PO}_4$   $G_4 = G_{\text{заг}} \cdot C_4 / C_{\Sigma} = 11,59 \cdot 0,16 / 24,41 = 0,08$

Розрахунок кількості води для приготування поживного середовища для посівного апарата

Оскільки, стерилізація компонентів в композиціях буде здійснюватись в окремих реакторах (в реакторі-змішувачі для композиції А; в посівному апараті для композиції Б) гострою парою, приймаємо  $K_{\text{кон}} = 0,1$  Тоді загальна

кількість конденсату становитиме  $V_k = V_{\text{пспа}} \cdot K_{\text{кон}} = 474,7 \cdot 0,1 = 47,47$  л.

Кількість води необхідної для розбавлення компонентів поживного середовища буде  $V_v = V_{\text{пспа}} - G_{\text{заг}} - V_k = 474,7 - 11,59 - 47,47 = 415,64$  л.

Загальну кількість води перерозподіляємо по композиціям таким чином:

- До 30 % - на розбавлення сахарози – 124,7 л
- До 10 % - на розбавлення солей у реакторі змішувачі (41,56 л), інша кількість води (249,38 л) подається в посівний апарат. Солі з водою (287,85 л) стерилізуються в посівному апараті.

Таблиця 5.4

**Розрахунок вмісту компонентів для приготування 474,7 л середовища**

Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	Кількість для приготування 474,7 л середовища, кг (л)	Композиція	Об'єм композиції, л
Сахароза	19	9,02	А	148,5
Вода		124,7		
Конденсат		14,8		
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	5	2,37	Б	326,2
MgSO <sub>4</sub> · 7 H <sub>2</sub> O	0,25	0,12		
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0,16	0,08		
Вода		290,94		
Конденсат		32,6		
<b>Всього</b>		<b>474,7</b>		<b>474,7</b>

На четвертому етапі для отримання посівного матеріалу (об'ємом 470 л) в посівному апараті об'ємом 1 м<sup>3</sup> потрібно приготувати 474,7 л поживного середовища.

◆ Розчин сахарози 148,5 л (9,02 кг сахарози та 124,7 л води) стерилізуємо в реактор-змішувачі (200 л) при температурі 112 °С, р=0,05 МПа, упродовж 30 хв (конденсат – 14,8 л). Всього – 148,5 л.

◆ Розчин NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O і KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> об'ємом 42,82 л (2,37 кг; 0,12 кг; 0,08 кг відповідно та 10% води – 41,56 л) готують в реактор-змішувачі (60 л), потім подають до інокулятора, додають залишок води

(249,38 л) та стерилізують при температурі 131 °С, р=0,15 МПа, упродовж 40 хв. (конденсат – 32,6 л). Всього – 326,2 л. Перед стерилізацією до розчину додаємо 6% розчин НСІ для доведення рН розчину до 4,5.

◆ До інокулятора подають простерилізований розчин сахарози. Після перемішування та охолодження середовища стерильним NaOH доводять рН до 5,5 та вносять посівний матеріал (47,5 л) від інокулятора об'ємом 100 л, отримуємо розчин об'ємом 522,2 л. Для підтримання рН 5,5 в процесі культивування готуємо 6% NaOH. Втрати посівного матеріалу у процесі його культивування в посівному апараті становлять 52,2 л (частка  $E_{па} = 0,1$ ). Отже, в кінці культивування об'єм посівного матеріалу буде становити 470 л.

❖ У відповідності з прийнятим складом поживного середовища (згідно ТЕО) для отримання інокуляту загальні витрати компонентів на визначений об'єм поживного середовища  $V_{пспа}$  складуть:

$G_{заг} = V_{пспа} \cdot C_{\Sigma} = 4,6 \cdot 24,41 = 112$  кг, в тому числі:

Сахароза  $G_1 = G_{заг} \cdot C_1 / C_{\Sigma} = 112 \cdot 19 / 24,41 = 87,18$

$NH_4NO_3$   $G_2 = G_{заг} \cdot C_2 / C_{\Sigma} = 112 \cdot 5 / 24,41 = 22,94$

$MgSO_4 \cdot 7H_2O$   $G_3 = G_{заг} \cdot C_3 / C_{\Sigma} = 112 \cdot 0,25 / 24,41 = 1,15$

$KH_2PO_4$   $G_4 = G_{заг} \cdot C_4 / C_{\Sigma} = 112 \cdot 0,16 / 24,41 = 0,73$

Розрахунок кількості води для приготування поживного середовища для посівного апарату

Оскільки об'єм поживного середовища у ферментері складає  $V_{псф} = 4,6$  м<sup>3</sup>, приймаємо рішення щодо використання для стерилізації УБС потужністю 5 м<sup>3</sup>/год. Тоді кількість конденсату становитиме  $V_k = V_{пспа} \cdot K_{кон} = 4,6 \cdot 0,2 = 0,92$  м<sup>3</sup> = 920 л. Кількість води необхідної для розбавлення компонентів поживного середовища буде  $V_v = V_{пспа} - G_{заг} - V_k = 4600 - 112 - 920 = 3568$  л.

*Таблиця 5.5*

### Розрахунок вмісту компонентів для приготування 4600 л середовища

Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	Кількість для приготування 4,6 м <sup>3</sup> середовища, кг

		(л)
Сахароза	19	87,18
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	5	22,94
MgSO <sub>4</sub> · 7 H <sub>2</sub> O	0,25	1,15
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0,16	0,73
Вода		3568
Конденсат		920
<b>Всього</b>		<b>4600</b>

На п'ятому етапі для отримання посівного матеріалу (об'ємом 4560 л) в посівному апараті об'ємом 10 м<sup>3</sup> потрібно приготувати 4600 л поживного середовища.

◆ Оскільки об'єм поживного середовища більше 3 м<sup>3</sup>, то стерилізацію проводимо в УБС-5 (потужність 5 м<sup>3</sup>/год). Загальний розчин сахарози і солей складає 3680 л (сахароза – 87,18 кг, NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> – 22,94 кг, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O – 1,15 кг, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> – 0,73 кг, вода – 3568 л) готуємо в реакторі-змішувачі (5 м<sup>3</sup>), стерилізують при температурі 131 °С, упродовж 3,68/5= 45 хв (конденсат – 920 л). Всього – 4600 л. Компоненти завантажуються починаючи з тих, які мають найменшу температуру стерилізації, після чого завантажують солі для запобігання випадання осаду.

◆ Поживне середовище подають до посівного апарату, охолоджують та вносять посівний матеріал (470 л) від посівного апарату об'ємом 1 м<sup>3</sup>, отримуємо розчин об'ємом 5070 л. Для підтримання рН 5,5 в процесі культивування готуємо 6% NaOH. Втрати посівного матеріалу у процесі його культивування в посівному апараті становлять 507 л (частка E<sub>па</sub> = 0,1). Отже, в кінці культивування об'єм посівного матеріалу буде становити 4560 л.

### **Особливості підготовки і стерилізації поживного середовища для виробничого біосинтезу**

❖ У відповідності з прийнятим складом поживного середовища для виробничого біосинтезу загальні витрати компонентів на визначений об'єм поживного середовища V<sub>псф</sub> складуть:

$$G_{\text{заг}} = V_{\text{псф}} \cdot C_{\Sigma} = 45,5 \cdot 24,41 = 1111 \text{ кг, в тому числі:}$$

$$\text{Сахароза} \quad G_1 = G_{\text{заг}} \cdot C_1 / C_{\Sigma} = 1111 \cdot 19 / 24,41 = 864,77$$

$$\text{NH}_4\text{NO}_3 \quad G_2 = G_{\text{заг}} \cdot C_2 / C_{\Sigma} = 1111 \cdot 5 / 24,41 = 227,57$$

$$\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O} \quad G_3 = G_{\text{заг}} \cdot C_3 / C_{\Sigma} = 1111 \cdot 0,25 / 24,41 = 11,38$$

$$\text{KH}_2\text{PO}_4 \quad G_4 = G_{\text{заг}} \cdot C_4 / C_{\Sigma} = 1111 \cdot 0,16 / 24,41 = 7,28$$

Розрахунок кількості води для приготування поживного середовища для виробничого ферментера

Кількість води визначають за наступною формулою  $V_{\text{в}} = V_{\text{псф}} - G_{\text{заг}} - V_{\text{к}}$ , де  $V_{\text{к}} = V_{\text{псф}} \cdot K_{\text{кон}}$  - розбавлення виробничого поживного середовища конденсатом пари при його стерилізації,  $K_{\text{кон}}$  – частка конденсату у загальній кількості води, що йде на приготування поживного середовища. Залежно від способу та обладнання, яке використовують для стерилізації компонентів поживного середовища, величина  $K_{\text{кон}}$  може складати:

- у разі стерилізації компонентів у колбах в автоклаві  $K_{\text{кон}} = 0$

- у разі стерилізації компонентів у збірнику/інокуляторі/посівному апараті  $K_{\text{кон}} = 0,1$

- у разі стерилізації компонентів в УБС  $K_{\text{кон}} = 0,2$ .

Оскільки об'єм поживного середовища у ферментері складає  $V_{\text{псф}} = 45,5 \text{ м}^3$ , приймаємо рішення щодо використання для стерилізації УБС потужністю  $50 \text{ м}^3/\text{год}$ . Тоді кількість конденсату становитиме  $V_{\text{к}} = V_{\text{псф}} \cdot K_{\text{кон}} = 45,5 \cdot 0,2 = 9,1 \text{ м}^3 = 9100 \text{ л}$ . Кількість води необхідної для розбавлення компонентів поживного середовища буде  $V_{\text{в}} = V_{\text{псф}} - G_{\text{заг}} - V_{\text{к}} = 45500 - 1111 - 9100 = 35289 \text{ л}$ .

*Таблиця 5.6*

**Розрахунок вмісту компонентів для приготування 45500 л середовища**

Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	Кількість для приготування $45,5 \text{ м}^3$ середовища, кг (л)
Сахароза	19	864,77
$\text{NH}_4\text{NO}_3$	5	227,57
$\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	0,25	11,38
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	0,16	7,28
Вода		35289
Конденсат		9100

<b>Всього</b>	<b>45500</b>
---------------	--------------

Для виробничого біосинтезу у ферментері об'ємом 100 м<sup>3</sup> потрібно приготувати 45500 л поживного середовища.

◆ Оскільки об'єм поживного середовища більше 3 м<sup>3</sup>, то стерилізацію проводимо в УБС-50 (потужність 50 м<sup>3</sup>/год). Загальний розчин сахарози і солей складає 36400 л (сахароза – 864,77 кг, NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> – 227,57 кг, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O – 11,38 кг, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> – 7,28 кг, вода – 35289 л) готуємо в реакторі-змішувачі (50 м<sup>3</sup>). Стерилізують при температурі 131 °С, упродовж 36,4/5= 44 хв (конденсат – 9100 л). Всього – 45500 л. Компоненти завантажуються починаючи з тих, які мають найменшу температуру стерилізації, після чого завантажують солі для запобігання випадання осаду.

◆ Поживне середовище подають до ферментера, охолоджують та вносять посівний матеріал (4560 л) від посівного апарату об'ємом 10 м<sup>3</sup>, отримуємо розчин об'ємом 50060 л. Для підтримання рН 5,5 в процесі культивування готуємо 6% NaOH. Втрати посівного матеріалу у процесі його культивування в посівному апараті становлять 10010 л (частка E<sub>ф</sub> = 0,2). Отже, в кінці культивування об'єм культуральної рідини буде становити 40050 л.

## **5.2. Обґрунтування стадій виділення та очищення цільового продукту**

### **Вибір способу відокремлення біомаси та відповідного обладнання**

Першим етапом на шляху виділення і очищення цільового продукту є розділення вмісту ферментера на супернатант і біомасу клітин.

Оскільки продуцент міцеліальний гриб (*Aspergillus niger*) та об'єм культуральної рідини складає 40 м<sup>3</sup>, то для відділення біомаси розглянемо цетрифугування та фільтрацію [37].

Центрифугування – поділ під дією відцентрових сил. Найбільш часто використовується для відділення дріжджів або бактерій у виробництві кормової біомаси. Центрифугування застосовується при щільності часток від 400 до 900 нм; ультрацентрифугування – від 10 нм до 1 мкм. Центрифугування використовують для виділення вірусів, клітинних органел,

високомолекулярних сполук. Даний спосіб вимагає більш дорогого устаткування, ніж фільтрування, тому він застосовується, якщо:

- 1) суспензія фільтрується занадто повільно;
- 2) виникає необхідність максимального звільнення культуральної рідини від частинок, що в ній містяться;
- 3) потрібно забезпечити безперервний процес сепарації, коли фільтри розраховані на періодичну дію.

Фільтрація – пропускання суспензії через фільтруючий матеріал, під дією різниці тисків рідина проходить через пори і збирається у вигляді фільтрату, а тверді частинки – біомаса, на фільтруючій мембрані. Фільтрація через тканинні фільтри проводиться для частинок розміром від 10 мкм до 1 мм.

*Перевагою рамних прес-фільтрів є розвинена фільтруюча поверхню і загальна надійність конструкції. Рамні фільтри дуже поширені в системах поділу суспензій при очищенні шламових вод і підвищення сухості осаду. Серед переваг таких фільтрів (в порівнянні з аналогічним цільовим обладнанням):*

- можливість отримання щільно стиснутого осаду; оптимальне співвідношення вартості / функціональності;
- низькі витрати матеріалів на виготовлення; підвищена стійкість до зношування і корозії;
- автоматичне видалення осаду
- простота використання, висока ремонтпридатність (без необхідності відключення систем в процесі обслуговування та ремонту фільтрів);
- висока відносна площа поверхні, що фільтрує (в порівнянні із загальним розміром обладнання);
- можливість модульного нарощування фільтруючих секцій (і відповідного збільшення загальної продуктивності агрегату);

- значний ступінь очищення фільтровану суспензій (в тому числі з низькою часткою твердих частинок);
- низькі енерговитрати на привід (нульові - при роботі від стисненого повітря з цехових магістралей);

Оскільки *Aspergillus niger* - міцеліальний гриб, то доцільно використати рамний фільтр-прес (для відділення біомаси). До переваг також слід віднести тривалий термін експлуатації (близько 50 років) при періодичній заміні фільтруючої тканини не частіше ніж один раз на 1-2 роки [38].

Принцип роботи: основним елементом установки є пакет фільтрувальних рам і плит, встановлених на рамі. У плиті передбачені канали для подачі суспензії і відведення фільтрату. У середині рами, яка ставиться по черзі, між двома плитами, в процесі фільтрації накопичується тверда фаза суспензії або розчину.

Після біосинтезу культуральна рідина об'ємом 40,05 м<sup>3</sup> від збірника культуральної рідни об'ємом 50 м<sup>3</sup> за допомогою відцентрового насосу CSF з регульованою подачею продуктивністю 20 м<sup>3</sup>/год подається на фільтрацію. Для фільтрації обираємо рамний фільтр-прес продуктивністю 20 м<sup>3</sup>/год. Даний фільтр-прес безпечний та простий у використанні, має високу швидкість фільтрації. Для фільтрації можуть бути використані як тканини, так і фільтрувальний картон, який встановлюється в спеціальні пази у рами [39].



Рис. 1.1. Рамний фільтр-прес для біомаси FDA cGMP 20 Cu Ft

## **Вибір способу відділення спор гриба з нативного розчину та концентрування ферменту, вибір відповідного обладнання**

Для відділення спор гриба з нативного розчину (щоб уникнути виникнення аспергільозу в сільськогосподарських птахів) можна використати мембранну фільтрацію.

### Види мембранної фільтрації:

Мікрофільтрація — процес фільтрації, який очищує рідину або газ проходженням через мікропористу напівпроникну мембрану. Типовий розмір пори такої мембрани становить від 0,1 до 10 мкм.

Ультрафільтрування призначене для концентрування розчинених високомолекулярних сполук. Розміри пір ультрафільтраційних мембран варіюють від 0,05 мкм до 1 нм. До переваг ультрафільтрації можна віднести низький робочий тиск, тривалий термін служби мембранних елементів, компактне розташування в порівнянні з традиційними схемами, повна автоматизація.

Нанофільтрація дозволяє видаляти частинки в розміром в нанометри, звідси і термін «нанофільтрація». Молекули органічних речовин з молекулярною масою 200-400 затримуються. Крім того, затримуються розчинені солі на 20-98% [40].

Оскільки розмір спор гриба *Aspergillus niger* становить 4-5 мкм [41], розмір молекули фітази близько 30-35 кДа [42].

Тоді для відділення спор та одночасного концентрування фермента діаметр пор УФ мембрани складатиме 60 кДа.

Препарат фітаза (ГЗх) за промисловими вимогами не потребує тонкого очищення. Отже, для одночасного відділення спор та концентрування фермента обираємо ультрафільтрацію.

Для ультрафільтрації обираємо промислову систему ультрафільтрації Ecosoft UF потужністю 20 м<sup>3</sup> / год, яка характеризується повною автоматизацією та диспетчерським контролем обладнання, простотою у використанні та обслуговуванні.



*Рис. 1.2.* Промислова система ультрафільтрації Ecosoft UF-20 [43]

Розчин об'ємом  $35,7 \text{ м}^3$  отриманий після фільтрації на рамному фільтр-пресі відводиться з фільтра у ємність об'ємом  $40 \text{ м}^3$ , за допомогою насосу відцентрового насосу CSF з регульованою подачею продуктивністю  $20 \text{ м}^3/\text{год}$  подається на ультрафільтрацію, після чого повертається до збірника  $40 \text{ м}^3$ .

#### **Вибір способу сушіння та відповідного обладнання**

Сушіння – процес видалення вологи з матеріалів, при якому використовують теплову енергію для її випаровування та відведення пари, що утворюється. Сушіння є кінцевою стадією виробництва багатьох продуктів мікробного синтезу.

Оскільки фермент фітаза термолабільний фермент (інактивується при температурі  $65^\circ\text{C}$ ), тому сушіння потрібно проводити при температурі  $60^\circ\text{C}$ . Такі параметри сушіння можна досягти у вакуумній сушарці, до того ж фітаза буде отримана у вигляді порошку.

Враховуючі такі характеристики фермента найкраще підійде вакуумна низькотемпературна розпилювальна сушарка.

Після ультрафільтрації концентрована суміш об'ємом  $25,7 \text{ м}^3$  із збірника на  $40 \text{ м}^3$  подається до сушильної установки за допомогою відцентрового насосу CSF з регульованою подачею ( $9 \text{ т/год}$ ). Для сушіння обираємо вакуумну низькотемпературну розпилювальну сушарку.



*Рис. 1.5.* Вакуумна низькотемпературна розпилювальна сушарка

Розробники давно намагались вирішити проблему швидкого сушіння термочутливих матеріалів, так як звичайна вакуумна або розпилювальна сушка веде до серйозного пошкодження біологічної активності або структури матеріалів, також стояли такі проблеми як тривалий час сушки, низька енергоефективність і переточки масивного матеріалу після сушіння.

Після тривалого вивчення і практики, розробники прийшли до висновків що ефективно вирішити проблему сушіння термочутливих матеріалів може технологія низькотемпературної розпилювальної сушки і ретельно спроектували новий тип низькотемпературної розпилювальної сушарки, що поєднує переваги сушарки і вакуумної сушарки, що забезпечує швидко (1 секунда) сушку матеріалів при температурі повітря близько 80 ° С (мінімальна температура 50° С) (температура сушіння регулюється за допомогою ПД-регулятора (60 °С) оскільки фітази *A. niger* має максимальну температуру 55–60 °С (фітаза інактивується при температурі 65°С) в залежності від конкретних властивостей вихідної сировини і вимог, що пред'являються до кінцевого продукту). Весь процес розпилювальної сушки здійснюється в вакуумному середовищі; значне зниження температури сушки матеріалу і вирішує проблему розпилювальної сушки термочутливих матеріалів. На виході отримуємо продукт вологістю близько 5%. Розпилювальна сушка може відповідати вимогам великомасштабного промислового виробництва.

[44, 45, 46].

### **Стандартизація препарату та вибір відповідного обладнання**

(1 г препарату містить фітазу – 5000 од).

При стандартизації продукту додається наповнювач – бентоніт або мука зернових культур. Кормовий бентоніт застосовується як: природна мінеральна добавка в комбікорми, раціони сільськогосподарських тварин. Бентоніт - це унікальна колоїдна глина вулканічного походження, яка володіє адсорбційними, сполучними властивостями, дисперсністю, вологопоглинаючою здатністю. До складу бентонітів входять багато життєво необхідних тваринному організму елементів.

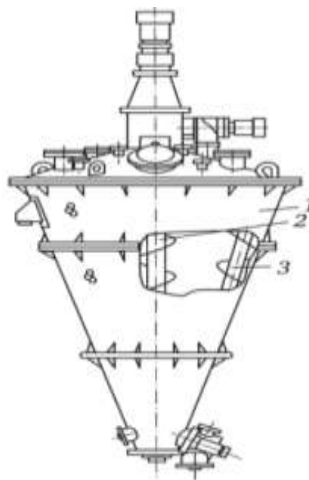
Мука зернових культур містить крохмаль (60-70%), білки, жири та мінеральні солі. Також містить клітковину, але погіршує його засвоюваність. Бентоніт покращує перетравність корму, використання поживних речовин, адсорбує в шлунково-кишковому тракті і виводить з нього токсини, володіє бактерицидними властивостями, не токсичний, не канцерогенний, підвищує імунітет, середньодобові прирости живої маси. Також бентоніт дешевший за муку зернових культур.

Кормовий бентоніт 4000 грн / т [47]

Мука зернових культур 6500-9000 грн / т [48]

Для стандартизації біологічно активних речовин застосовують різні типи змішувачів, які можуть бути періодичними та безперервними. Коли необхідно змішати два або більше сухих препаратів або ввести наповнювач використовують змішувачі періодичної дії планетарних методів. Представником таких змішувачів є тип ПШ. Сипучий матеріал, який підлягає змішуванню завантажують через верхній штуцер в кришці в необхідних кількостях. При обертанні шнека матеріал піднімається його витками вгору близько стінок корпусу. Потім матеріал рухається до осі корпусу, де утворюється спадний потік матеріалу. У вузькій частині корпусу матеріал знову захоплюється витками шнека і піднімається вгору [49].

Фітаза після сушіння (31 кг) за допомогою пересувної ємності об'ємом 40 л подається до планетарно-шнекового змішувача.



*Рис. 1.6.* Планетарно-шнековий змішувач типу ПШ

1 – камера для змішування, 2 – центральний шнек, 3 – похилий шнек

### **Пакування в поліетиленову упаковку та вибір відповідного обладнання**

Фітаза пакується в мішки по 20 кг або в поліетиленові пакети по 1 кг. Для фермерських господарств зручніше застосувати пакети по 1 кг, оскільки це є оптимальним для кількості худоби на фермах [50].

Для пакування найкраще підійдуть Zip-Lock пакети, оскільки вони зручні у використанні та подовжують термін зберігання після відкриття.

Після стандартизації готовий препарат подається до фасувально-пакувального автомату.



*Рис. 1.7.* Фасувально-пакувальний автомат



Рис. 1.8. Препарат Ладозим Проксі (активність 5000 од/г)

Препаративна форма: нерозчинний порошок

Упаковка: Zip-Lock пакет. Маса: 1 кг

Для упаковки використовують фасувально-пакувальний автомат продуктивністю 18-20 уп/хв. [51].

### Маркування та вибір відповідного обладнання

Для маркування продукції використовують автомат для виготовлення етикеток Dibal сериї LS-4000+ [52].



Рис. 1.9. Автомат для виготовлення етикеток Dibal сериї LS-4000+

На етикетці повинно бути вказано:

- Норма витрати препарату, г/т корму (для свиней всіх вікових груп – 100 г/т, для курей – 60 г/т)
- Фармакологічні властивості (кормова добавка Ладозим Проксі здійснює гідроліз солей міо-інозит-гексакисфосфорної кислоти (фітатів) до міоінозиту та неорганічного фосфату)
- Застосування (застосовують як біодобавку у годівлі свійських тварин і птиці. Завдяки дії препарату зростає засвоєння фосфору із зернової складової раціону, що дозволяє

зменшити введення фосфоровмісних добавок. Для профілактики появи рахіту у поросят)

- Склад (1 грам препарату містить фітазу – не менше 5000 од)
- Термін зберігання (9 місяців)
- Умови зберігання (зберігати у сухому місці за температури  $-25^{\circ}\text{C}$  до  $+25^{\circ}\text{C}$ )
- Виробник

**Отже, загальна схема отримання готового продукту:**

- ❖ Відділення біомаси на рамному фільтр-пресі
- ❖ Ультрафільтрація
- ❖ Сушіння у вакуумній низькотемпературній розпилювальній сушарці
- ❖ Стандартизація (5000 од/г)
- ❖ Пакування в поліетиленову упаковку
- ❖ Маркування
- ❖ Пакування в групову тару

**Орієнтовний продуктивний розрахунок з врахуванням особливостей процесів і втрат по кожній стадії виділення та очищення цільового продукту**

Враховуючи, що концентрація біомаси для грибів становить 10 г/л, то об'єм відфільтрованого розчину становитиме  $40\,050\,000\text{ (г)} \times 10\text{ (г)} / 1000\text{ (г)} = 400\,500\text{ г}$  біомаси (міцелію);  $40,05\text{ (м}^3) - 0,4\text{ (м}^3) = 39,65\text{ м}^3$  нативного розчину. *Втрати при відділенні міцелію з культуральної рідини* складатимуть 10%:  $39,65\text{ (м}^3) \times 0,1 = 3,97\text{ м}^3$ . Тоді з врахування втрат об'єм отриманого нативного розчину становитиме,  $39,65 - 3,97 = 35,7\text{ м}^3$ . Отже, для фільтрації обираємо рамний фільтр-прес з продуктивністю  $20\text{ м}^3/\text{год}$ .

КР містить 0,1% сухої речовини: фермент ( $44 / 40050 = 0,001$  або 0,1%). Тоді перед концентруванням відсоток вологи становить 99,9%. Оскільки розчин після концентрування має містити 80 % вологи, то:  $35,7 \times 80\text{ (\%)} / 99,9$

(%) =  $28,6 \text{ м}^3$  препарату з вологістю 80% (без врахування втрат). *Втрати при ультрафільтрації* складатимуть 10%:  $28,6 \times 0,1 = 2,86 \text{ м}^3$ . З врахуванням втрат об'єм препарату становитиме  $28,6 - 2,86 = 25,7 \text{ м}^3$ . Отже, для ультрафільтрації обираємо ультрафільтраційну установку продуктивністю  $20 \text{ м}^3/\text{год}$ .

Після чого препарат відправляють на сушіння для видалення залишкової вологи. Згідно **п.3.3** після сушіння отримуємо 31 кг фітази (10% втрат при сушінні враховано). Отже, необхідно випарити 25664,8 л вологи:  $44 \times 0,8 = 35,2 \text{ кг}$  (кількість фітази в рідині після концентрування, 20% втрати),  $25700 - 35,2 = 25664,8 \text{ л}$ .

$44 \times 0,1 = 4,4 \text{ кг}$  (втрати при сушінні),  $35,2 - 4,4 = 31 \text{ кг}$  фітази (з врахуванням втрат). Отже, для сушіння обираємо низькотемпературну вакуумну розпилювальну сушарку продуктивністю за випаровуваною вологою  $8 \text{ т/год}$ .

Активність фітази в культуральній рідині становить  $25,8 \text{ од/мл}$  ( $25800 \text{ од/г}$ ). *Втрати активності фітази* становлять:  $25800 \text{ (од/л)} / 1,1 \text{ (г/л)} = 23455 \text{ (од/г)}$  одиниці активності в 1 г сухої фітази, де  $1,1 \text{ (г/л)}$  – концентрація фітази в КР,  $25800 \text{ (од/л)}$  – активність фітази в КР.

$23455 \times 0,7 = 16419 \text{ (од/г)}$  одиниці активності в 1 г сухої фітази (з врахуванням втрат).

При стандартизації до висушеного препарату додається нейтральний наповнювач (харчовий бентоніт). Отже, для того, щоб виконалась умова: “1 грам препарату містить фітазу – не менше  $5000 \text{ од/г}$ ”, висушений препарат потрібно перемішати з наповнювачем в 3,28 раз ( $16419 / 3,28 = 5006 \text{ од/г}$ ). Отримуємо  $31 \times 3,28 = 101 \text{ кг}$  готового препарату за 1 цикл.

**5.3. Підбір технологічного обладнання для після ферментаційних стадій з урахуванням матеріальних потоків по стадіях**

№ п/п	Назва стадії (операції)	Матеріальні потоки на стадії	Кількість по стадіях			Необхідне обладнання	
			Надійшло	Втрати	Вийшло		
1	2	3	4	5	6	7	
<b>ТП 3 Зберігання культуральної рідини</b>							
1	ТП 6. Зберігання культуральної рідини	КР	40,05 м <sup>3</sup> (40050 л)	-	40,05 м <sup>3</sup> (40050 л)	Збірник КР об'ємом 50 м <sup>3</sup>	
<b>ТП 7. Відділення біомаси</b>							
2	ТП 7.1. Фільтрування культуральної рідини	Біомаса	0,4 м <sup>3</sup> (в 40,05 м <sup>3</sup> КР)	-	0,4 м <sup>3</sup>	Пересувна ємність об'ємом 450 л для біомаси	Рамний фільтр прес продуктивністю 20 м <sup>3</sup> /год (час роботи 2 год)
		Нативний розчин із спорами гриба	39,65 м <sup>3</sup>	10% (3,97 м <sup>3</sup> )	35,7 м <sup>3</sup>	Збірник об'ємом 40 м <sup>3</sup>	
<b>ТП 8. Відділення спор гриба та концентрування ферменту</b>							
3	ТП 8.1. Ультрафільтрація	Нативний розчин із спорами гриба	35,7 м <sup>3</sup>	35,7 × 80 (%) / 99,9 (%) = 28,6 м <sup>3</sup> препарату з вологістю 80% +10 % втрат	28,6 – 2,86 = 25,7 м <sup>3</sup> (вологість 80%)	Збірник об'ємом 30 м <sup>3</sup>	Промислова система ультрафільтрації Ecosoft UF-20 20 м <sup>3</sup> /год (час роботи 1,8 год)

				(2,86 м <sup>3</sup> )			
<b>ТП 9. Сушіння</b>							
4	ТП 9.1. Сушіння у низькотемпературній розпилювальній сушарці	Препарат вологістю 80%	25,7 т	44×0,1=4,4 кг (втрати при сушінні), 35,2 - 4,4 = 31 кг фітази (з врахуванням втрат). 44 × 0.8 = 35,2 кг (кількість фітази в рідині після концентрування, 20% втрати), 25700 – 35,2 = 25664,8 л необхідно випарити	31 кг (вологість 5%)	Пересувна ємність об'ємом 40 л	Вакуумна низькотемпературна розпилювальна сушарка LSP-2000 (час роботи 3,2 год)
<b>ТП 10. Стандартизація</b>							
5	ТП 10.1. Введення наповнювача	Препарат вологістю 5%	31 кг	-	31 + 70 (бентоніт) = 101 кг готового препарату	Планетарно-шнековий змішувач ПШ-6300. Робочий об'єм камери, м <sup>3</sup> : 6 (час роботи 0,5 год)	
<b>ПМВ 11. Пакування, маркування, відвантаження</b>							
6	ПМВ 11.1. Фасування, пакування, маркування	Готовий препарат вологістю 5%	101 кг	-	101 кг	Фасувально-пакувальний автомат. Продуктивність, уп/хв: 18-20. Автомат для виготовлення етикеток Dibal серії LS-4000+. Продуктивність: 40 етикеток на хвилину (час роботи 5 год)	

**РОЗДІЛ №6**  
**СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ**

*Таблиця 6.1*

<b>Позиція</b>	<b>Найменування</b>	<b>Кількість</b>	<b>Технічна характеристика</b>	<b>Примітка</b>
<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>
ПЗ-1	Повітрозабірник	1	Обладнаний металевою сіткою для видалення механічних забруднень	1
Ф-2	Фільтр грубої очистки повітря	1	Фільтр F 0010 DF Матеріал картриджа – керамічний. Пропускна здатність - 1170 л/хв Різьба, вхід / вихід - 1/2 дюйма E=90%. Виробник “ОМІ” (Італія)	2
К-3	Компресор	1	Компресор 10HP 7.5KW Потужність - 1 м <sup>3</sup> /хв Робочий тиск – 13 атм Виробник – Італія	3
Т-4	Теплообмінник охолоджувач	1	Титановий теплообмінник-охолоджувач (нагрівач) МНТА-15 Продуктивність 47 кВт Виробник – Китай	4
Р-5	Ресивер	1	Ресивер ARIACOM SV 200-11P Об’єм – 200 л Робочий тиск – 11 атм Виробник – “ARIACOM” (Італія)	5
Т-6	Теплообмінник нагрівач	1	Титановий теплообмінник-охолоджувач (нагрівач) МНТА-15 Продуктивність 47 кВт Виробник – Китай	6

<b>НУХТ БТЕК 04.01.13 КР ПЗ</b>				
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата
Розроб.		Роженко А.В.		
Перевір.		Воронцов О. О.		
Консультант				
Н. Контр.				
Затверд.		Пирог Т.П.		
Розділ 6. Специфікація обладнання				
			Літ.	Арк.
				74
			Кафедра БТМ	
			74	

Ф-7	Головний фільтр	1	<p>Модель TRION Forever Filter®</p> <p>Фільтруюча поверхня складається з алюмінієвих пластин</p> <p>Ефективність очищення досягає 95%</p> <p>Виробник – “TRION” (США)</p>	7
Ф-8 Ф-9 Ф-10 Ф-11	Індивідуальний фільтр (фільтр тонкої очистки)	4	<p>Фільтр тонкої очистки ОМІ 04А.0570.Н</p> <p>Фільтруючий матеріал – скловолокно</p> <p>Продуктивність 300 м<sup>3</sup>/год</p> <p>Максимальний тиск – 16 атм</p> <p>Ступінь очистки – 0,01 мкм</p> <p>E=99,99%</p> <p>Виробник “ОМІ” (Італія)</p>	8
Р-1	Реактор-змішувач для приготування титрувального розчину НСІ	1	<p>Реактор-змішувач з паровою сорочкою та перемішуючим пристроєм</p> <p>Загальний об’єм - 400 л</p> <p>Швидкість перемішування 0-600 об/хв.</p> <p>Габарити: висота-1200 мм, діаметр-600 мм</p> <p>Виробник – “TOPACELAB” (Китай)</p>	9
Р-2	Реактор- змішувач для приготування та стерилізації титрувального розчину NaOH для середовища об’ємом 4600 л	1	<p>Реактор-змішувач з паровою сорочкою та перемішуючим пристроєм</p> <p>Загальний об’єм - 12 л</p> <p>Швидкість перемішування 0-600 об/хв.</p> <p>Габарити: діаметр-200 мм, висота-400 мм</p> <p>Виробник – “TOPACELAB” (Китай)</p>	10
Р-3	Реактор- змішувач для приготування та стерилізації титрувального розчину NaOH для середовища об’ємом 45500 л	1	<p>Реактор-змішувач з паровою сорочкою та перемішуючим пристроєм</p> <p>Загальний об’єм - 120 л</p> <p>Швидкість перемішування 0-600 об/хв.</p> <p>Габарити: висота-1000 мм, діаметр-400 мм</p> <p>Виробник – “TOPACELAB” (Китай)</p>	11
Р-4	Реактор-змішувач для приготування розчину солей для інокулятора об’ємом 10 л	1	<p>Реактор-змішувач з паровою сорочкою та перемішуючим пристроєм</p> <p>Загальний об’єм - 4 л</p> <p>Швидкість перемішування 0-600 об/хв.</p> <p>Габарити: діаметр-140 мм, висота-280 мм</p> <p>Виробник – “Shanghai Kesheng Instrument” (Китай)</p>	13
Р-5	Реактор-змішувач для приготування та стерилізації	1	<p>Реактор-змішувач з паровою сорочкою та перемішуючим пристроєм</p> <p>Загальний об’єм - 20 л</p>	14

	розчину сахарози для інокулятора об'ємом 100 л		Швидкість перемішування 0-600 об/хв. Габарити: діаметр-300 мм, висота-400 мм Виробник – “Lab1st” (Китай)	
P-6	Реактор-змішувач для приготування розчину солей для інокулятора об'ємом 100 л	1	Реактор-змішувач з паровою сорочкою та перемішуючим пристроєм Загальний об'єм - 6 л Швидкість перемішування 0-600 об/хв. Габарити: діаметр-150 мм, висота-350 мм Виробник – “Shanghai Kesheng Instrument” (Китай)	15
P-7	Реактор-змішувач для приготування та стерилізації розчину сахарози для інокулятора об'ємом 1 м <sup>3</sup>	1	Реактор-змішувач з паровою сорочкою та перемішуючим пристроєм Загальний об'єм - 200 л Швидкість перемішування 0-600 об/хв. Габарити: діаметр-500 мм, висота-1100 мм Виробник – “Lab1st” (Китай)	16
P-8	Реактор-змішувач для приготування розчину солей для інокулятора об'ємом 1 м <sup>3</sup>	1	Реактор-змішувач з паровою сорочкою та перемішуючим пристроєм Загальний об'єм - 60 л Швидкість перемішування 0-600 об/хв. Габарити: висота-720 мм, діаметр-330 мм Виробник – “Lab1st” (Китай)	17
P-11	Реактор-змішувач для приготування поживного середовищем для посівного апарата об'ємом 10 м <sup>3</sup>	1	Реактор-змішувач з паровою сорочкою та перемішуючим пристроєм Загальний об'єм – 5 м <sup>3</sup> Швидкість перемішування 0-200 об/хв. Габарити: діаметр-1500 мм, висота-3000 мм Виробник – “Русредмед” (Росія)	18
P-12	Реактор-змішувач для приготування поживного середовищем для виробничого ферментера об'ємом 100 м <sup>3</sup>	1	Реактор-змішувач з паровою сорочкою та перемішуючим пристроєм Загальний об'єм – 50 м <sup>3</sup> Швидкість перемішування 56 об/хв. Габарити: діаметр-3000 мм, висота-7200 мм Виробник – "СибМашПолімер" (Росія)	19
УБС-1	УБС-5	1	Продуктивність 5 м <sup>3</sup> /год. Установка складається із приймальної ємності, відцентрового насоса, нагрівач-стерилізатор, трьох витримувачів, пробовідбірник, теплообмінник-рекуператор, теплообмінник-охолоджувач, насос для подачі стерильного поживного середовища в посівний апарат	20
УБС-2	УБС-50	1	Продуктивність 50 м <sup>3</sup> /год. Установка складається із приймальної ємності,	21

			відцентрового насоса, нагрівач-стерилізатор, трьох витримувачів, пробовідбірник, теплообмінник-рекуператор, теплообмінник-охолоджувач, насос для подачі стерильного поживного середовища в посівний апарат	
ЗП-1	Засівний пристрій	1	Засівний бачок для внесення посівного матеріалу в інокулятор в стерильних умовах Матеріал- нержавіюча сталь	22
ФР-1	Інокулятор об'ємом 10 л	1	Інокулятор Sinotech оснащений паровою сорочкою Геометричний об'єм 10 л Матеріал – нержавіюча сталь Оснащений лопатевою мішалкою, швидкість перемішування 0-500 об/хв Наявна контрольно-вимірювальна апаратура Автоматична система управління Габарити: висота-400 мм, діаметр-200 мм Виробник – “Sinotech International Group” (Китай)	23
ФР-2	Інокулятор об'ємом 100 л	1	Інокулятор Sinotech оснащений паровою сорочкою Геометричний об'єм 100 л Матеріал – нержавіюча сталь Оснащений лопатевою мішалкою, швидкість перемішування 0-500 об/хв Наявна контрольно-вимірювальна апаратура Автоматична система управління Габарити: висота-800 мм, діаметр-400 мм Виробник – “Sinotech International Group” (Китай)	24
ФР-3	Посівний апарат об'ємом 1 м <sup>3</sup>	1	Посівний апарат Sinotech оснащений паровою сорочкою Геометричний об'єм 1 м <sup>3</sup> Матеріал – нержавіюча сталь Оснащений лопатевою мішалкою, швидкість перемішування 0-500 об/хв Наявна контрольно-вимірювальна апаратура Автоматична система управління Габарити: висота-1760 мм, діаметр-880 мм Виробник – “Sinotech International Group” (Китай)	25
ФР-4	Посівний апарат об'ємом 10 м <sup>3</sup>	1	Посівний апарат Sinotech оснащений паровою сорочкою Геометричний об'єм 10 м <sup>3</sup> Матеріал – нержавіюча сталь	26

			Оснащений лопатевою мішалкою, швидкість перемішування 0-500 об/хв Наявна контрольно-вимірювальна апаратура Автоматична система управління Габарити: висота-4000 мм, діаметр-2000 мм Виробник – “Sinotech International Group” (Китай)	
ФР-5	Виробничий ферментер об’ємом 100 м <sup>3</sup>	1	Ферментер Sinotech оснащений паровою сорочкою Геометричний об’єм 100 м <sup>3</sup> Матеріал – нержавіюча сталь Оснащений лопатевою мішалкою, швидкість перемішування 0-500 об/хв Наявна контрольно-вимірювальна апаратура Автоматична система управління Габарити: висота-8000 мм, діаметр-4000 мм Виробник – “Sinotech International Group” (Китай)	27
Н-1 Н-3	Насос відцентровий	2	Відцентровий насос CSF Матеріал – нержавіюча сталь Продуктивність 400 л/год Виробник – “КСК Автоматизація” (Україна)	28
Н-2		1	Відцентровий насос CSF Матеріал – нержавіюча сталь Продуктивність 40 л/год Виробник – “КСК Автоматизація” (Україна)	29
Н-4		1	Відцентровий насос CSF Матеріал – нержавіюча сталь Продуктивність 10 л/год Виробник – “КСК Автоматизація” (Україна)	31
Н-5		1	Відцентровий насос CSF Матеріал – нержавіюча сталь Продуктивність 50 л/год Виробник – “КСК Автоматизація” (Україна)	32
Н-6		1	Відцентровий насос CSF Матеріал – нержавіюча сталь Продуктивність 15 л/год Виробник – “КСК Автоматизація” (Україна)	33

Н-7	Насос відцентровий	1	Відцентровий насос CSF Матеріал – нержавіюча сталь Продуктивність 500 л/год Виробник – “КСК Автоматизація” (Україна)	34
Н-8		1	Відцентровий насос CSF Матеріал – нержавіюча сталь Продуктивність 150 л/год Виробник – “КСК Автоматизація” (Україна)	35
Н-9		1	Відцентровий насос CSF Матеріал – нержавіюча сталь Продуктивність 12 м <sup>3</sup> /год Виробник – “КСК Автоматизація” (Україна)	36
Н-10 Н-11		2	Відцентровий насос CSF Матеріал – нержавіюча сталь Продуктивність 140 м <sup>3</sup> /год Виробник – “КСК Автоматизація” (Україна)	37
Д-1 Д-2 Д-3 Д-4 Д-5 Д-6 Д-7 Д-8 Д-9 Д-10	Дозатор об’ємно-ваговий	13	Ваговий дискретний дозатор-витратомір для сипких продуктів для дозування сипких продуктів Продуктивність: 2-5 т/год Точність зважування - 0,1%. Виробник – "Техноваги" (Україна)	38

P-13	Збірник	1	Збірник об'ємом 50 м <sup>3</sup> Габарити: діаметр-3000 мм, висота-7200 мм Виробник – "СибМашПолімер" (Росія)	39
P-14		1	Пересувна ємність об'ємом 450 л	40
P-15		1	Збірник об'ємом 40 м <sup>3</sup> Габарити: діаметр-2600 мм, висота-6800 мм Виробник – "СибМашПолімер" (Росія)	41
P-16		1	Пересувна ємність об'ємом 40 л	42
ФП-1	Рамний фільтр-прес для біомаси FDA cGMP 20 Cu Ft	1	Кількість фільтруючих плит (шарів): 67. Тканина фільтру: Поліпропілен без протікання, EDPM, ущільнений Продуктивність, м <sup>3</sup> /год: 20. Розмір плит, мм: 800×800. Виробник – " SC filtration" (Китій)	43
УФ-2	Промислова система ультрафільтрації Ecosoft UF-20	1	Робочий тиск, бар: 2-3 Робоча температура, °С: 10-25 Електрична потужність, кВт: 0,5 Продуктивність, м <sup>3</sup> /год: 20. Виробник – " Ecosoft" (Німеччина)	44
С-3	Вакуумна низькотемпературна розпилювальна сушарка LSP-2000	1	Вага, т: 11. Об'єм, м <sup>3</sup> : 15. Температура повітря для сушіння: 60-65 °С (можливе регулювання) Продуктивність по волозі, що випаровують, т/год: 8. Тиск стиснутого повітря для сушіння продукту, МПа: 0,15 Тиск в сушарці, МПа: 0.01-0,05 Виробник – " LABOAO" (Китай)	45
P-17	Планетарно-шнековий змішувач ПШ-6300		Робочий об'єм камери, м <sup>3</sup> : 6 Продуктивність, т/год: 1 Робочий тиск в пневмоциліндрі, МПа: 0,4 – 0,6. Робоча температура, °С: до 30. Швидкість обертання шнека навколо своєї осі, об/хв: 59. Потужність електродвигуна привода шнека, кВт: 10.	46
ФП-5	Фасувально-пакувальний автомат	1	Продуктивність, уп/хв: 18-20. Потужність, кВт: 1.	47

			Тиск стиснутого повітря, МПа: 0,6. Упаковочний матеріал: поліетиленові пакети. Габарити, мм: 940×920×1710. Виробник – (Росія)	
М-6	Автомат для виготовлення етикеток Dibal серії LS–4000+	1	Корпус: нержавіюча сталь AISI 304 і анодований алюміній. Транспортна стрічка Матеріал і характеристики: жорсткий або еластичний поліуретан в залежності від області застосування машини і схвалено FDA консоль управління. Матеріал: нержавіюча сталь «Qwertу» клавіатура і графічний РК-дисплей з підсвічуванням. Регулювання висоти верхнього етикетувальника з консолі управління. Продуктивність: 40 етикеток на хвилину. Тип друку: Пряма термодрук (DT) або термотрансферний друк (TT) етикеток Виробник – " Dibal " (Іспанія)	48
Н-12	Насос відцентровий	1	Відцентровий насос CSF Матеріал – нержавіюча сталь Продуктивність 100 м <sup>3</sup> /год Виробник – “КСК Автоматизація” (Україна)	49
Н-13 Н-14		2	Відцентровий насос CSF Матеріал – нержавіюча сталь Продуктивність 20 м <sup>3</sup> /год Виробник – “КСК Автоматизація” (Україна) Н-14 (20 м <sup>3</sup> /год; 9 т/год)	50
П-7	Ящики		Ящики з гофрованого картону	51

**Примітка:**

- 2: [https://www.autom.com.ua/ua/oborudovanie\\_sto/kompressory\\_fini/filter\\_ochistki\\_vozduha/f0010-df/](https://www.autom.com.ua/ua/oborudovanie_sto/kompressory_fini/filter_ochistki_vozduha/f0010-df/)
- 3: [https://russian.alibaba.com/product-detail/italy-electric-10hp-7-5kw-air-compressor-screw-air-compressor-62482653628.html?spm=a2700.md\\_ru\\_RU.deiletai6.3.43dc7aafWutoYs](https://russian.alibaba.com/product-detail/italy-electric-10hp-7-5kw-air-compressor-screw-air-compressor-62482653628.html?spm=a2700.md_ru_RU.deiletai6.3.43dc7aafWutoYs)
- 4,6: [https://russian.alibaba.com/product-detail/titanium-tube-heat-exchanger-mhta-3--229288017.html?spm=a2700.galleryofferlist.normal\\_offer.d\\_image.4cee5c53LrWTL0](https://russian.alibaba.com/product-detail/titanium-tube-heat-exchanger-mhta-3--229288017.html?spm=a2700.galleryofferlist.normal_offer.d_image.4cee5c53LrWTL0)
- 5: <https://astar-compressors.ru/catalog/resivery-200-litrov/sv-200-11p/>
- 7: <http://www.trion.lviv.ua/methods.html>
- 8: <https://prom.ua/p998230929-0095-filtr-tonkoj.html?&primelead=MS4wOQ>
- 12,13,15: [https://russian.alibaba.com/product-detail/kesheng-brand-1-5l-volume-double-layer-glass-reactor-62424667683.html?spm=a2700.galleryofferlist.normal\\_offer.d\\_image.63922e15iBjeXk](https://russian.alibaba.com/product-detail/kesheng-brand-1-5l-volume-double-layer-glass-reactor-62424667683.html?spm=a2700.galleryofferlist.normal_offer.d_image.63922e15iBjeXk)
- 9-11: [https://russian.alibaba.com/product-detail/2l-3l-5l-10l-20l-30l-50l-80l-100l-150l-200l-chemical-mixing-reactors-saturation-vessel-jacketed-glass-reactor-with-high-quality-62348193728.html?spm=a2700.galleryofferlist.normal\\_offer.d\\_image.268152d0r0ZtOg](https://russian.alibaba.com/product-detail/2l-3l-5l-10l-20l-30l-50l-80l-100l-150l-200l-chemical-mixing-reactors-saturation-vessel-jacketed-glass-reactor-with-high-quality-62348193728.html?spm=a2700.galleryofferlist.normal_offer.d_image.268152d0r0ZtOg)
- 14,16,17: [https://russian.alibaba.com/product-detail/10-20-30-50-100-200-liter-double-layer-borosilicate-walled-glass-chemical-reactor-62203601400.html?spm=a2700.galleryofferlist.normal\\_offer.d\\_image.45325303sDCUud&s=p](https://russian.alibaba.com/product-detail/10-20-30-50-100-200-liter-double-layer-borosilicate-walled-glass-chemical-reactor-62203601400.html?spm=a2700.galleryofferlist.normal_offer.d_image.45325303sDCUud&s=p)
- 18: <https://rusredmet.ru/reaktor-s-peremeshivayuschim-ustroy>
- 19: [https://www.sibmashpolymer.ru/proekty/rektori\\_s\\_peremesh\\_ustroistvom](https://www.sibmashpolymer.ru/proekty/rektori_s_peremesh_ustroistvom)
- 20,21: [https://studref.com/324400/meditsina/sterilizatsiya\\_zhidkostey](https://studref.com/324400/meditsina/sterilizatsiya_zhidkostey)
- 28-37: <https://www.kck.ua/dir/armature/pumps/centrifugal/csf/1535.html>
- 23-27: [https://russian.alibaba.com/product-detail/5l-10l-50l-100l-200l-1000l-bioreactor-stainless-steel-1600101010853.html?spm=a2700.galleryofferlist.normal\\_offer.d\\_image.6352b4723RYb2W](https://russian.alibaba.com/product-detail/5l-10l-50l-100l-200l-1000l-bioreactor-stainless-steel-1600101010853.html?spm=a2700.galleryofferlist.normal_offer.d_image.6352b4723RYb2W)
- 38: <https://www.vostok.dp.ua/ukr/catalog/scale/doza/product.html?id=4117>
- 40: [https://www.autom.com.ua/ua/oborudovanie\\_sto/kompressory\\_fini/filter\\_ochistki\\_vozduha/f0010-df/](https://www.autom.com.ua/ua/oborudovanie_sto/kompressory_fini/filter_ochistki_vozduha/f0010-df/)
- 41: [https://russian.alibaba.com/product-detail/italy-electric-10hp-7-5kw-air-compressor-screw-air-compressor-62482653628.html?spm=a2700.md\\_ru\\_RU.deiletai6.3.43dc7aafWutoYs](https://russian.alibaba.com/product-detail/italy-electric-10hp-7-5kw-air-compressor-screw-air-compressor-62482653628.html?spm=a2700.md_ru_RU.deiletai6.3.43dc7aafWutoYs)
- 42: [https://russian.alibaba.com/product-detail/titanium-tube-heat-exchanger-mhta-3--229288017.html?spm=a2700.galleryofferlist.normal\\_offer.d\\_image.4cee5c53LrWTL0](https://russian.alibaba.com/product-detail/titanium-tube-heat-exchanger-mhta-3--229288017.html?spm=a2700.galleryofferlist.normal_offer.d_image.4cee5c53LrWTL0)
- 43,44: <https://astar-compressors.ru/catalog/resivery-200-litrov/sv-200-11p/>
- 45: [https://russian.alibaba.com/product-detail/titanium-tube-heat-exchanger-mhta-3--229288017.html?spm=a2700.galleryofferlist.normal\\_offer.d\\_image.4cee5c53LrWTL0](https://russian.alibaba.com/product-detail/titanium-tube-heat-exchanger-mhta-3--229288017.html?spm=a2700.galleryofferlist.normal_offer.d_image.4cee5c53LrWTL0)
- 39-41: [https://www.sibmashpolymer.ru/proekty/rektori\\_s\\_peremesh\\_ustroistvom](https://www.sibmashpolymer.ru/proekty/rektori_s_peremesh_ustroistvom)
- 43: <https://sambocreeck.com/collections/filter-presses/products/biomass-fda-cgmp-filter-press-20-cu-ft>
- 54: <https://ecosoft.com/ecosoft-uf-20-industrial-ultrafiltration-system/>
- 45: <https://www.etwinternational.ru/1-5-low-temperature-spray-dryer-51418.html>, <http://www.myvapor-dryer.com/news/six-advantages-of-low-temperature-spray-dryer-31444644.html>
- 46: [file:///E:/Downloads/Danylov\\_Aparaty\\_2008%20\(5\).pdf](file:///E:/Downloads/Danylov_Aparaty_2008%20(5).pdf)
- 47: <https://obyava.ua/ua/avtomat-dlya-fasovki-sypuchih-produktov-v-pakety-doy-pak-vesovym-sposobom-141157.html>
- 48: [https://dibal.ua/hm/weighing\\_and\\_labelling\\_ls4000p.htm](https://dibal.ua/hm/weighing_and_labelling_ls4000p.htm)
- 49-50: <https://www.kck.ua/dir/armature/pumps/centrifugal/csf/1535.html>

## РОЗДІЛ 7

### ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ

#### ДР 1. Підготовка аераційного повітря

##### ДР 1.1. Забір повітря

Атмосферне повітря забирають турбокомпресором через забірну шахту яка розташована на 3 м в висоту від даху будівлі, де концентрація мікроорганізмів стабілізована. Повітрозабірник обладнаний металевою сіткою для видалення забруднень.

##### ДР 1.2. Попереднє грубе очищення

Повітря фільтрується фільтром з керамічним картриджем F 0010 DF для видалення механічних частинок більше 10 мкм, пропускна здатність фільтра 1170 л/хв., ефективність очищення досягає 90%.

##### ДР 1.3. Компресування повітря

Для стискання повітря використовуємо компресор 10HP 7.5KW потужністю 1м<sup>3</sup>/хв., тиск складає 13 атм, температура 120°C.

##### ДР 1.4. Охолодження та видалення вологи

Теплообмінник-охолоджувач (нагрівач) МНТА-15 продуктивністю 47 кВт. Температура повітря на виході регулюється швидкістю подачі теплоносія, температура 25°C, вологість 60 %.

##### ДР 1.5. Нагрів повітря

Підігрів повітря відбувається в теплообміннику-нагрівачі МНТА-15 до температури, вищої від температури культивування на 5 – 10 °С, тобто до 35 °С, його вологість становить 40 %. Перед теплообмінником нагрівачем встановлюються додаткові компресор та ресивер (підготовка повітря для сушарки)

					НУХТ БТЕК 04.01.13 КР ПЗ			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Роженко А.В.			Розділ 7. Опис технологічної схеми	Літ.	Арк.	Аркушів
Перевір.		Воронцов О. О.					83	18
Консультант						Кафедра БТМ		
Н. Контр.								
Затверд.		Пирог Т.П.						

## ДР 1.6. Очищення на головному фільтрі

Повітря очищується в головному фільтрі TRION Forever Filter®, фільтруюча поверхня складається з алюмінієвих пластин, ефективність очищення досягає 95%.

## ДР 1.7. Очищення повітря на індивідуальному фільтрі

Повітря надходить до індивідуального фільтра (тонкої очистки) ОМІ 04А.0570.Н зі скловолокна, продуктивністю 300 м<sup>3</sup>/год ефективність очищення досягає 99,99%.

## ДР 2. Приготування титрувальних розчинів

### ДР 2.1. Приготування 6% розчину НСІ

2 мл 6% розчину НСІ вноситься на 1 л середовища для доведення рН до 4,5 (оскільки солі стерилізуємо разом необхідно уникнути випадіння осаду).

Позначимо параметри початкового 36%-го розчину цифрою 1, а розчину, який треба приготувати, цифрою 2..

$$\omega_1(\text{HCl})=36\%$$

$$\rho_1 = 1,18 \text{ г/см}^3$$

$$\omega_2(\text{HCl})=6\%$$

$$\rho_2 = 1,0279 \text{ г/см}^3$$

Для розрахунку використовуємо формулу масової частки:

$$\omega = \frac{m_x}{m_{\text{р-ну}}} \times 100\% ; \quad m_{\text{р-ну}} = V \times \rho$$

1) Даних для першого розчину недостатньо для розрахунку за формулою масової частки, тому використовуємо цю формулу для знаходження маси другого розчину, перевівши об'єм у мл:

$$m_{\text{р-ну}2} = 1000 \times 1,0279 = 1027,9 \text{ г}$$

2) Знаходимо масу розчиненої речовини в цьому розчині:

$$m_{x2} = \frac{\omega_2 \times m_{\text{р-ну}2}}{100} = \frac{6 \times 1027,9}{100} = 61,674 \text{ г (HCl)}$$

3) Маса розчиненої речовини однакова в обох розчинах тобто

$$m_{x1} = m_{x2}$$

4) Знаходимо масу першого розчину:

$$m_{\text{р-ну1}} = \frac{m_{x1}}{\omega_1} \times 100\% = \frac{61,674}{36} \times 100\% = 171,32 \text{ г}$$

5) Знаходимо об'єм першого розчину:

$$V_1 = \frac{m_{\text{р-ну1}}}{\rho_1} = \frac{171,32}{1,18} = 145,19 \text{ мл}$$

6) Кількість води для другого розчину:  $1000 - 145 = 855$  мл

Отже, для приготування 1 л 6% розчину HCl необхідно до 855 мл води додати 145 мл 36% розчину HCl.

Для приготування 363 л 6% розчину HCl необхідно до 310 води додати 53 л 36% розчину HCl. Титрувальний розчин готується в реакторі змішувачі об'ємом 400 л; продуктивність насоса CSF (H-1) складає 400 л/год.

## **ДР 2.2. Приготування та стерилізація 1% і 6% розчинів NaOH**

### **ДР 2.2.1. Приготування та стерилізація 1% розчину NaOH для інокулятора об'ємом 10 л**

2 мл розчину 6% NaOH вноситься на 1 л середовища для доведення рН до 5,5. Для середовища об'ємом 5,3 л необхідно приготувати 100 мл 1% NaOH. Зі складу беруть сухий NaOH, який являє собою білі, непрозорі кристали. Розрахунок проводимо аналогічно з ДР 2.2.1.

Густина NaOH складає  $2,13 \text{ г/см}^3$ .

Маса розчину:  $100 \times 2,13 = 213 \text{ г}$

Оскільки в 100 г розчину міститься 1 г NaOH, то в 213 г розчину міститиметься  $213 \times 1/100 = 2,13 \text{ г NaOH}$ . Отже, для приготування 100 мл 1% розчину NaOH потрібно 2,13 г NaOH.

В колбу об'ємом 200 мл вносимо 2,13 г сухого NaOH та додаємо 97,87 мл питної води. Розчин лугу об'ємом 100 мл стерилізують в автоклаві при температурі  $131 \text{ }^\circ\text{C}$  упродовж 40 хв.

### **ДР 2.2.2. Приготування та стерилізація 6% розчину NaOH для інокулятора об'ємом 100 л**

2 мл розчину 6% NaOH вноситься на 1 л середовища для доведення рН до

5,5. Для середовища об'ємом 52,7 л необхідно приготувати 105,4 мл 6% NaOH. Зі складу беруть сухий NaOH, який являє собою білі, непрозорі кристали. Розрахунок проводимо аналогічно з ДР 2.2.1.

Маса розчину:  $105,4 \times 2,13 = 224,5$  г

Оскільки в 100 г розчину міститься 6 г NaOH, то в 224,5 г розчину міститиметься  $224,5 \times 6 / 100 = 13,5$  г NaOH. Отже, для приготування 105,4 мл 6% розчину NaOH потрібно 13,5 г NaOH.

В колбу об'ємом 500 мл вносимо 13,5 г сухого NaOH та додаємо 91,9 мл питної води. Розчин лугу об'ємом 105,4 мл стерилізують в автоклаві при температурі 131 °C упродовж 40 хв.

### **ДР 2.2.3. Приготування та стерилізація 6% розчину NaOH для посівного апарата об'ємом 1 м<sup>3</sup>**

2 мл розчину 6% NaOH вноситься на 1 л середовища для доведення рН до 5,5. Для середовища об'ємом 522,2 л необхідно приготувати 1044,4 мл 6% NaOH. Зі складу беруть сухий NaOH, який являє собою білі, непрозорі кристали.

Розрахунок проводимо аналогічно з ДР 2.2.1.

Маса розчину:  $1044,4 \times 2,13 = 2224,6$  г

Оскільки в 100 г розчину міститься 6 г NaOH, то в 2224,6 г розчину міститиметься  $2224,6 \times 6 / 100 = 133,5$  г NaOH. Отже, для приготування 1044,4 мл 6% розчину NaOH потрібно 133,5 г NaOH.

В колбу об'ємом 2 л вносимо 133,5 г сухого NaOH та додаємо 910,9 мл питної води. Розчин лугу об'ємом 1044,4 мл стерилізують в автоклаві при температурі 131 °C упродовж 40 хв.

### **ДР 2.2.4. Приготування та стерилізація 6% розчину NaOH для посівного апарату об'ємом 10 м<sup>3</sup>**

2 мл розчину 6% NaOH вноситься на 1 л середовища для доведення рН до 5,5. Для середовища об'ємом 5070 л необхідно приготувати 10140 мл 6% NaOH. Зі складу беруть сухий NaOH, який являє собою білі, непрозорі кристали.

Розрахунок проводимо аналогічно з ДР 2.2.1.

Маса розчину:  $10140 \times 2,13 = 21598,6$  г

Оскільки в 100 г розчину міститься 6 г NaOH, то в 21598,6 г розчину міститиметься  $21598,6 \times 6 / 100 = 1295,9$  г NaOH. Отже, для приготування 10140 мл 6% розчину NaOH потрібно 1295,9 г (1,3 кг) NaOH.

На технічних вагах зважують 1,3 кг сухого натрій гідроксиду, поміщають в реактор об'ємом 12 л та додають 8,8 л питної води; продуктивність насосу CSF (Н-2) складає 40 л/год)

#### **ДР 2.2.5. Приготування та стерилізація 6% розчину NaOH для виробничого ферментера об'ємом 100 м<sup>3</sup>**

2 мл розчину 6% NaOH вноситься на 1 л середовища для доведення рН до 5,5. Для середовища об'ємом 50060 л необхідно приготувати 100120 мл 6% NaOH. Зі складу беруть сухий NaOH, який являє собою білі, непрозорі кристали. Розрахунок проводимо аналогічно з ДР 2.2.1.

Маса розчину:  $100120 \times 2,13 = 213256$  г

Оскільки в 100 г розчину міститься 6 г NaOH, то в 213256 г розчину міститиметься  $213256 \times 6 / 100 = 12795,4$  г NaOH. Отже, для приготування 100120 мл 6% розчину NaOH потрібно 12795 г (12,8 кг) NaOH.

На технічних вагах зважують 12,8 кг сухого натрій гідроксиду, поміщають в реактор об'ємом 120 л та додають 87,3 л питної води; продуктивність насосу CSF (Н-3) складає 400 л/год.

### **ДР 3. Приготування та стерилізація поживних середовищ**

#### **ДР 3.1. Приготування і стерилізація поживного середовища для вирощування інокуляту в колбах на качалках**

Для вирощування інокуляту необхідно приготувати 0,445 л поживного середовища. Джерелом вуглецю в середовищі є сахароза, джерелом азоту –  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ . Вирощування інокуляту відбувається в 4 колбах на 750 мл (к.з.=0,2).

Об'єм готового поживного середовища та посівного матеріалу у колбах з врахуванням втрат при культивуванні, частка,  $E_{\phi} = 0,01$  складе 0,445 л і 0,04 л відповідно (0,005 л - втрати).

Таблиця 4.1

**Розрахунок вмісту компонентів для приготування 0,445 л середовища**

Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	Кількість для приготування 0,445 л середовища, кг (л)	Композиція	Об'єм композиції, л
Сахароза	19	0,0086	А	0,140
Вода		0,131		
$\text{NH}_4\text{NO}_3$	5	0,0023	Б	0,155
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,25	0,0001		
Вода		0,153		
$\text{K}_2\text{HPO}_4$	0,16	0,0001	В	0,150
Вода		0,150		
Конденсат		-		-
<b>Всього</b>		<b>0,445</b>		<b>0,445</b>

*ДР 3.1.1. Приготування і стерилізація композиції А*

На технічних вагах зважують 0,0086 кг сахарози. Наважку поміщають у колбу об'ємом 1 л, додають 0,131 л питної води, перемішують. Закривають колбу ватно-марлевою пробкою і стерилізують в автоклаві при температурі 112 °С,  $p=0,05$  МПа, упродовж 30 хв.

*ДР 3.1.2. Приготування і стерилізація композиції Б*

Зважуємо  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  - 0,0023 кг,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  – 0,0001 кг. Солі поміщаємо в колбу об'ємом 0,2 л додаємо 0,153 л питної води. Розчин солей стерилізують в автоклаві при температурі 131 °С,  $p=0,15$  МПа, упродовж 40 хв.

*ДР 3.1.3. Приготування і стерилізація композиції В*

Зважуємо  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  – 0,0001 кг, поміщаємо в колбу об'ємом 0,2 л додаємо 0,150 л питної води. Розчин стерилізують в автоклаві при температурі 131 °С,  $p=0,15$  МПа, упродовж 40 хв.

*ДР 3.1.4. Змішування композицій*

До колби з композицією А стерильно вносимо композицію Б і В,

перемішуємо. Після охолодження стерильним 1% NaOH доводять рН до 5,5 та вносять посівний матеріал. Поживне середовище розподіляємо на 4 колби (750 мл, к.з.=0,2). З врахуванням втрат при культивуванні (0,005 л) об'єм посівного матеріалу становитиме 0,48 л.

### **ДР 3.2. Приготування і стерилізація поживного середовища для вирощування інокуляту в інокуляторі об'ємом 10 л**

Для одержання посівного матеріалу в інокуляторі об'ємом 10 л, потрібно приготувати 4,82 л поживного середовища. Для засіву даного інокулятора потрібно внести 0,48 л посівного матеріалу з колб. Кількість поживного середовища та посівного матеріалу в інокуляторі становить 5,3 л.

*Таблиця 4.2*

#### **Розрахунок вмісту компонентів для приготування 4,82 л середовища**

Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	Кількість для приготування 4,82 л середовища, кг (л)	Композиція	Об'єм композиції, л
Сахароза	19	0,092	А	1,51
Вода		1,418		
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	5	0,024	Б	3,31
MgSO <sub>4</sub> · 7 H <sub>2</sub> O	0,25	0,001		
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0,16	0,001		
Вода		2,954		
Конденсат		0,331		
<b>Всього</b>		<b>4,82</b>		<b>4,82</b>

#### *ДР 3.2.1. Приготування і стерилізація композиції А*

На технічних вагах зважують 0,092 кг сахарози. Наважку поміщають у колбу на 2 л та додають 1,418 л питної води. Стерилізують при температурі 112 °С, р=0,05 МПа, упродовж 30 хв.

#### *ДР 3.2.2. Приготування і стерилізація композиції Б*

Зважуємо NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> - 0,024 кг, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O – 0,001 кг, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> – 0,001 кг, додаємо 2,954 л питної води, перемішуємо в реакторі на 4 л (Р-4) та подаємо до інокулятора (ФР-1) за допомогою насоса CSF продуктивністю 10 л/год (Н-

4); для уникнення випадання осаду фосфату магнію додаємо 6% HCl, доводячи рН розчину до 4,5 (від Р-1). Стерилізують в інокуляторі при температурі 131 °С, р=0,15 МПа, упродовж 40 хв. Після чого до інокулятора подають простерилізований розчин сахарози.

З врахуванням втрат при культивуванні 10% (краплевинос) об'єм посівного матеріалу становитиме 4,8 л.

### **ДР 3.3. Приготування і стерилізація поживного середовища для вирощування інокуляту в інокуляторі об'ємом 100 л**

Для одержання посівного матеріалу в посівному апараті об'ємом 100 л, потрібно приготувати 47,9 л поживного середовища. Для засіву даного інокулятора потрібно внести 4,8 л посівного матеріалу. Кількість поживного середовища та посівного матеріалу в інокуляторі становить 52,7 л.

*Таблиця 4.3*

#### **Розрахунок вмісту компонентів для приготування 47,9 л середовища**

Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	Кількість для приготування 47,9 л середовища, кг (л)	Композиція	Об'єм композиції, л
Сахароза	19	0,91	А	14,98
Вода		12,58		
Конденсат		1,49		
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	5	0,24	Б	32,92
MgSO <sub>4</sub> · 7 H <sub>2</sub> O	0,25	0,01		
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0,16	0,01		
Вода		29,36		
Конденсат		3,3		
<b>Всього</b>		<b>47,9</b>		<b>47,9</b>

#### *ДР 3.3.1. Приготування і стерилізація композиції А*

На технічних вагах зважують 0,91 кг сахарози. Наважку поміщають в реактор на 20 л (Р-5) і за допомогою об'ємно-вагового дозатора додають 12,58 л питної води. Для кращого розчинення у сорочку реактора подають гарячу пару. Стерилізують при температурі 112 °С, р=0,05 МПа, упродовж 30 хв.

### ДР 3.3.2. Приготування і стерилізація композиції Б

Зважуємо  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  - 0,24 кг,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  – 0,01 кг,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  – 0,01 кг, додаємо 4,2 л питної води (10%), перемішуємо в реакторі на 6 л (Р-6) та подаємо до інокулятора (ФР-2) за допомогою насоса CSF продуктивністю 15 л/год (Н-6); до інокулятора подаємо іншу кількість води (25,16 л), для уникнення випадання осаду фосфату магнію додаємо 6%  $\text{HCl}$ , доводячи рН розчину до 4,5 (від Р-1). Стерилізують в інокуляторі при температурі 131 °С,  $p=0,15$  МПа, упродовж 40 хв. Після чого до інокулятора подають простерилізований розчин сахарози (від Р-5) за допомогою насоса CSF продуктивністю 50 л/год(Н-5).

З врахуванням втрат при культивуванні 10% (краплевинос) об'єм посівного матеріалу становитиме 47,5 л.

### ДР 3.4. Приготування і стерилізація поживного середовища для вирощування інокуляту в посівному апараті об'ємом 1 м<sup>3</sup>

Для одержання посівного матеріалу в посівному апараті об'ємом 1 м<sup>3</sup>, потрібно приготувати 474,7 л поживного середовища. Для засіву даного інокулятора потрібно внести 470 л посівного матеріалу. Кількість поживного середовища та посівного матеріалу в посівному апараті становить 522,2 л.

Таблиця 4.4

### Розрахунок вмісту компонентів для приготування 474,7 л середовища

Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	Кількість для приготування 474,7 л середовища, кг (л)	Композиція	Об'єм композиції, л
Сахароза	19	9,02	А	148,5
Вода		124,7		
Конденсат		14,8		
$\text{NH}_4\text{NO}_3$	5	2,37	Б	326,2
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,25	0,12		
$\text{K}_2\text{HPO}_4$	0,16	0,08		
Вода		290,94		
Конденсат		32,6		
<b>Всього</b>		<b>474,7</b>		<b>474,7</b>

#### *ДР 3.4.1. Приготування і стерилізація композиції А*

На технічних вагах зважують 9,02 кг сахарози. Наважку поміщають у збірник, обладнаний сорочкою, на 200 л (Р-7) і за допомогою об'ємно-вагового дозатора додають 124,7 л питної води. Для кращого розчинення у сорочку збірника подають гарячу пару. Стерилізують при температурі 112 °С, р=0,05 МПа, упродовж 30 хв.

#### *ДР 3.4.2. Приготування і стерилізація композиції Б*

Зважуємо  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  - 2,37 кг,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  – 0,12 кг,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  – 0,08 кг, додаємо 41,56 л питної води (10%), перемішуємо в реакторі на 60 л (Р-8) та подаємо до посівного апарату (ФР-3) за допомогою насоса CSF продуктивністю 150 л/год (Н-8); до інокулятора подаємо іншу кількість води (249,38 л), для уникнення випадання осаду фосфату магнію додаємо 6%  $\text{HCl}$ , доводячи рН розчину до 4,5 (від Р-1). Стерилізують в посівному апараті при температурі 131 °С, р=0,15 МПа, упродовж 40 хв. Після чого до посівного апарата подають простерилізований розчин сахарози (від Р-7) за допомогою насоса CSF продуктивністю 500 л/год (Н-7).

. З врахуванням втрат при культивуванні 10% (краплевинос) об'єм посівного матеріалу становитиме 470 л.

#### **ДР 3.5. Приготування і стерилізація поживного середовища для вирощування інокуляту в посівному апараті об'ємом 10 м<sup>3</sup>**

Для одержання посівного матеріалу в посівному апараті об'ємом 10 м<sup>3</sup>, потрібно приготувати 4600 л поживного середовища. Для засіву даного інокулятора потрібно внести 470 л посівного матеріалу. При стерилізації в УБС конденсат складає 20%. Кількість поживного середовища та посівного матеріалу в посівному апараті становить 5070 л.

*Таблиця 4.5*

#### **Розрахунок вмісту компонентів для приготування 4600 л середовища**

Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	Кількість для приготування 4,6 м <sup>3</sup>
--------------------------------	------------	---

		середовища, кг (л)
Сахароза	19	87,18
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	5	22,94
MgSO <sub>4</sub> · 7 H <sub>2</sub> O	0,25	1,15
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0,16	0,73
Вода		3568
Конденсат		920
<b>Всього</b>		<b>4600</b>

Стерилізацію поживного середовища проводимо в УБС-5 (потужність 5 м<sup>3</sup>/год), оскільки об'єм поживного середовища > 3 м<sup>3</sup>. При безперервній стерилізації використовують більш високі температури і меншу тривалість витримання при цій температурі.

Перший апарат, у якому середовище нагрівається до температури стерилізації, називається стерилізатором, нагрівальною колонкою або колонкою для стерилізації поживного середовища.

Другий апарат, де стерилізуєму масу витримують при певній температурі стерилізації, називається витримувачем. Він призначений для продовження часу стерилізації й досягнення максимальної загибелі мікрофлори. Апарат може бути виконаний у вигляді циліндричної ємності, колони з полками або тарілками, що забезпечують найбільш рівномірний прогрів всієї маси середовища, або у вигляді спірального теплообмінника.

Третій апарат - це теплообмінник, призначений для охолодження стерильного поживного середовища до температури оптимальної для засівання.

#### *ДР 3.5.1. Приготування і стерилізація поживного середовища*

На технічних вагах зважують 87,18 кг сахарози, NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> – 22,94 кг, MgSO<sub>4</sub> · 7 H<sub>2</sub>O – 1,15 кг, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> – 0,73 кг, додаємо 3568 л питної води (розчин готуємо в реакторі об'ємом 5 м<sup>3</sup>), після чого отриманий розчин перекачується насосом CSF продуктивністю 12 м<sup>3</sup>/год (Н-9) до реактор-змішувача на 5 м<sup>3</sup> (Р-11). Для стерилізації компонентів поживного середовища використовуємо установку безперервної стерилізації УБС-5; Стерилізують при температурі

131 °С, упродовж 45 хв. Компоненти завантажуються починаючи з тих, які мають найменшу температуру стерилізації, після чого завантажують солі для запобігання випадання осаду.

Поживне середовище подають до посівного апарату (ФР-4), охолоджують, вносять посівний матеріал 470 л (від ФР-3) через трубу перетискування. Для підтримання рН 5,5 в процесі культивування додаємо 6% NaOH (від Р-2). З врахуванням втрат при культивуванні 10% (краплевинос) об'єм посівного матеріалу становитиме 4560 л.

### **ДР 3.6. Приготування і стерилізація поживного середовища для виробничого біосинтезу в ферментері об'ємом 100 м<sup>3</sup>**

Для одержання посівного матеріалу в посівному апараті об'ємом 10 м<sup>3</sup>, потрібно приготувати 45500 л поживного середовища. Для засіву даного інокулятора потрібно внести 4560 л посівного матеріалу. При стерилізації в УБС конденсат складає 20%. Об'єм готового поживного середовища та посівного матеріалу у виробничому ферментері з врахуванням втрат при біосинтезі, частка,  $E_{\phi} = 0,2$  складе 50060 л.

*Таблиця 4.6*

#### **Розрахунок вмісту компонентів для приготування 45500 л середовища**

Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	Кількість для приготування 45,5 м <sup>3</sup> середовища, кг (л)
Сахароза	19	864,77
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	5	227,57
MgSO <sub>4</sub> · 7 H <sub>2</sub> O	0,25	11,38
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0,16	7,28
Вода		35289
Конденсат		9100
<b>Всього</b>		<b>45500</b>

Стерилізацію поживного середовища проводимо в УБС-50 (потужність 50 м<sup>3</sup>/год), оскільки об'єм поживного середовища > 3 м<sup>3</sup>.

#### *ДР 3.6.1. Приготування і стерилізація поживного середовища*

На технічних вагах зважують 864,77 кг сахарози,  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  – 227,57 кг,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$  – 11,38 кг,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  – 7,28 кг, додаємо 35289 л питної води (розчин готуємо в реакторі об'ємом  $50 \text{ м}^3$ ), після чого отриманий розчин перекачується насосом CSF продуктивністю  $140 \text{ м}^3/\text{год}$  (Н-10) до реактор-змішувача на  $50 \text{ м}^3$  (Р-12). Для стерилізації компонентів поживного середовища використовуємо установку безперервної стерилізації УБС-50; Стерилізують при температурі  $131 \text{ }^\circ\text{C}$ , упродовж 45 хв. Компоненти завантажуються починаючи з тих, які мають найменшу температуру стерилізації, після чого завантажують солі для запобігання випадання осаду.

Поживне середовище подають до ферментера (ФР-5), охолоджують, вносять посівний матеріал 4560 л (від ФР-4) через трубу перетискування. Для підтримання рН 5,5 в процесі культивування додаємо 6% NaOH (від Р-3). З врахуванням втрат при культивуванні 20% (краплевинос) об'єм культуральної рідини становитиме 40050 л, яку далі перекачують до збірника КР насосом CSF продуктивністю  $140 \text{ м}^3/\text{год}$  (Н-11).

#### **ТП 4. Підготовка посівного матеріалу**

##### **ТП 4.1. Підтримання колекційної культури**

Культуру *Aspergillus niger* зберігали в холодильнику при температурі  $+4 \text{ }^\circ\text{C}$  на скошеному агарі. Культуру необхідно пересівати через кожні 2 місяці, оскільки середовище буде пересихати.

##### **ТП 4.2. Одержання робочої культури**

Колекційну культуру, що зберігалася в пробірках з середовищем ГКА, розсівають петлею до ізольованих колоній на чашки Петрів із середовищем ГКА і вирощують при температурі  $30 \text{ }^\circ\text{C}$  упродовж 60 годин.

##### **ТП 4.3. Вирощування робочої культури на агаризованому середовищі**

Ізольовані колонії пересівають мікробіологічною петлею в пробірки зі скошеним ГКА та інкубують при температурі  $30 \text{ }^\circ\text{C}$  протягом 60 год.

##### **ТП 4.4. Вирощування інокуляту в колбах на качалках**

З колби об'ємом 1 л ( від ДР 3.1.4) середовище стерильним мірним циліндром вносять у 4 колби об'ємом 750 мл (к.з. = 0,2). Робочу культуру від

*ТП 4.3.* суспендують 5 мл стерильного фізрозчину. Для засіву однієї колби використовують суспензію з однієї пробірки. Культивування здійснюють на качалці (220 об/хв) впродовж 60 год. Після вирощування інокуляту здійснюють мікробіологічний контроль в кожній колбі. Після перевірки посівного матеріалу на відсутність сторонньої мікробіоти в лабораторному боксі посівний матеріал зливають в стерильну засівну колбу об'ємом 1 л.

#### **ТП 4.5. Вирощування посівного матеріалу в інокуляторі об'ємом 10 л**

В інокулятор об'ємом 10 л з композицією А об'ємом 1,51 л (від *ДР 3.2.1*), композицією Б об'ємом 3,31 л (від *ДР 3.2.2*). Вносять посівний матеріал 480 мл (від *ТП 4.4*) через засівний пристрій, після чого включають аерацію, перемішуючий пристрій (лопатева мішалка), в сорочку інокулятора подають пару та холодну воду для підтримки температури середовища. В процесі культивування додають NaOH (від *ДР 2.2.1*) для підтримання оптимального рН 5,5. Культивування здійснюють при температурі 30°C упродовж 60 год.

#### **ТП 4.6. Вирощування посівного матеріалу в інокуляторі об'ємом 100 л**

В інокулятор об'ємом 100 л з композицією А об'ємом 14,98 л (від *ДР 3.3.1*), композицією Б об'ємом 32,92 л (від *ДР 3.3.2*). Вносять через трубу перетискування посівний матеріал – 4,8 л (від *ТП 4.5*), після чого включають аерацію, перемішуючий пристрій (лопатева мішалка), в сорочку інокулятора подають пару та холодну воду для підтримки температури середовища. В процесі культивування додають 6% NaOH для підтримання оптимального рН 5,5 (від *ДР 2.2.2*). Культивування здійснюють при температурі 30°C упродовж 60 год.

#### **ТП 4.7. Вирощування посівного матеріалу в посівному апараті об'ємом 1м<sup>3</sup>**

В посівний апарат об'ємом 1 м<sup>3</sup> з композицією А об'ємом 148,5 л (від *ДР 3.4.1*), композицією Б об'ємом 326,2 л (від *ДР 3.4.2*). Вносять через трубу перетискування посівний матеріал – 47,5 л (від *ТП 4.6*), після чого включають аерацію, перемішуючий пристрій (лопатева мішалка), в сорочку посівного

апарата подають пару та холодну воду для підтримки температури середовища. В процесі культивування додають 6% NaOH для підтримання оптимального рН 5,5 (від ДР 2.2.3). Культивування здійснюють при температурі 30°C упродовж 60 год.

#### **ТП 4.8. Вирощування посівного матеріалу в посівному апараті об'ємом 10 м<sup>3</sup>**

В посівний апарат об'ємом 10 м<sup>3</sup> з поживним середовищем (від ДР 3.5.1). Вносять через трубу перетискування посівний матеріал – 470 л (від ТП 4.7), після чого включають аерацію, перемішуючий пристрій (лопатева мішалка), в сорочку посівного апарата подають пару та холодну воду для підтримки температури середовища. В процесі культивування додають 6% NaOH для підтримання оптимального рН 5,5 (від ДР 2.2.4). Культивування здійснюють при температурі 30°C упродовж 60 год.

#### **ТП 5. Біосинтез**

##### **ТП 5.1. Виробниче культивування у ферментері об'ємом 100 м<sup>3</sup>**

У ферментер об'ємом 100 м<sup>3</sup> з поживним середовищем (від ДР 3.6.1). Вносять через трубу перетискування посівний матеріал – 4560 л (від ТП 4.8) після чого включають аерацію, перемішуючий пристрій (лопатева мішалка), в сорочку ферментера подають пару та холодну воду для підтримки температури середовища. Культивування здійснюють при температурі 30°C, упродовж 120 год. В процесі культивування додають 6% NaOH для підтримання оптимального рН 5,5 (від ДР 2.2.5). Культивування припиняється коли концентрація фітази становитиме 1,1 г/л (активність 25800 од/л).

#### **ТП 6. Зберігання культуральної рідини**

Після біосинтезу культуральна рідина об'ємом 40,05 м<sup>3</sup> за допомогою відцентрового насосу CSF продуктивністю 100 м<sup>3</sup>/год (Н-12) надходить до збірника культуральної рідини об'ємом 50 м<sup>3</sup> (Р-13).

#### **ТП 7. Відділення біомаси**

##### **ТП 7.1. Фільтрування культуральної рідини**

Культуральна рідина від збірника об'ємом  $50 \text{ м}^3$  перекачується відцентровим насосом CSF з регульованою подачею ( $20 \text{ м}^3/\text{год}$ ) (Н-13) до рамного фільтр-преса *SSPF220* продуктивністю  $20 \text{ м}^3/\text{год}$  (ФП-1) для відділення біомаси. Культуральна рідина під тиском  $0,2 \text{ МПа}$  подається всередину пакета щільно притиснутих до рам, різної товщини, фільтрувальних плит, обтягнутих фільтрувальною тканиною. Усередині рам накопичується твердий осад, який потім автоматично видаляється та збирається в пересувній ємності об'ємом  $450 \text{ л}$  (Р-14), а рідкий фільтрат просочується крізь тканину і відводиться з фільтра у ємність об'ємом  $40 \text{ м}^3$  (Р-15).

## **ТП 8. Відділення спор гриба та концентрування фермента**

### **ТП 8.1. Ультрафільтрація**

Нативний розчин ( $35,7 \text{ м}^3$ ) від збірника об'ємом  $40 \text{ м}^3$  (Р-15) подається до ультрафільтраційної установки (УФ-2) за допомогою відцентрового насоса CSF з регульованою подачею ( $20 \text{ м}^3/\text{год}$ ) (Н-14).. Отриманий розчин об'ємом  $25,7 \text{ м}^3$  подається на сушіння.

## **ТП 9. Сушіння**

### **ТП 9.1. Сушіння у вакуумній низькотемпературній розпилювальній сушарці**

Далі зконцентрований розчин об'ємом  $25,7 \text{ м}^3$  направляється до вакуумної низькотемпературної розпилювальної сушарки LSP-2000 продуктивністю  $8 \text{ т/год}$  (С-3) за допомогою насоса CSF з регульованою подачею продуктивністю  $9 \text{ т/год}$  (Н-14). Повітря через фільтр і нагрівач надходить в повітряний розподільник у верхній частині сушарки, нагрітий, спірально і рівномірно подається в сушарку. Вихідна рідина в резервуарі надходить до відцентрового розпилювача у верхній частині сушарки, де розпорошується на маленькі пароподібні краплі, які при контакті з гарячим повітрям температурою  $60^\circ\text{C}$  в прямоточному потоці швидко випаровуються і висушуються в готовий продукт за дуже короткий час. Повітря відкачують вакуумним насосом до тиску  $0,01\text{-}0,05 \text{ МПа}$ . Подають нагріте повітря (безперервно) тиском не більше  $0,15 \text{ МПа}$  в камеру для сушіння матеріалу. Весь подальший процес сушіння

проводиться під вакуумом (тиск в камері 0,01-0,05 МПа) з постійним відтоком повітря (для створення розрідження).

Низький тиск у сушильній камері підвищує термодинамічні параметри видалення води, що дозволяє сушити при значно знижених температурах. Сушарка працює шляхом створення вакууму, щоб зменшити тиск у розпилювальній камері нижче тиску водяної пари [17].

Готовий продукт, об'ємом 31 кг та вологістю 5%, вивантажується з нижньої частини сушильної колонки і циклонного сепаратора та збирається в пересувній ємності об'ємом 40 л (Р-16). Охолоджуючий засіб охолоджує відпрацьований газ, виведений з випарника і збирає сконденсовану воду, що утворюється при охолодженні. Засіб охолодження включає в себе конденсатор для охолодження і конденсації відпрацьованих газів, блок охолодження для циркуляції холодоагенту в конденсаторі, і приймач бака для збору конденсованої води, що генерується конденсатором.

## **ТП 10. Стандартизація**

### **ТП 10.1. Введення наповнювача**

Препарат об'ємом 31 кг направляється до планетарно-шнекового змішувача типу ПШ-6300 (Р-17), додається наповнювач (бентоніт) в об'ємі 70 кг. Швидкість обертання шнека навколо своєї осі 59 об/хв.

## **ПМВ 11. Пакування, маркування, відвантаження**

### **ПМВ 11.1. Фасування, пакування, маркування**

Після стандартизації готовий препарат масою 101 кг подається до фасувально-пакувального автомату, продуктивністю 18-20 уп/хв. (ФП-5). Фасувально-пакувальний автомат запаковує препарат в Zip-Lock пакети масою по 1 кг кожен. Після чого пакети надходять до автомату для виготовлення етикеток Dibal сериї LS-4000+, продуктивністю 40 етикеток на хвилину (М-6). На кожній етикетці вказується відповідна характеристика готового препарату фітази (п. 5.2).

### **ПМВ 11.2. Пакування в групову тару**

Готову продукцію пакують в ящики з гофрованого картону (П-7), після чого відправляють на склад.

## **ЗВ 12. Знешкодження відходів**

### **ЗВ 12.1. Знешкодження твердих відходів.**

Вермікомпостування: метод вежі (п. 10.2.2)

### **ЗВ 12.2. Знешкодження газоподібних відходів.**

Циклон+фільтр (п. 10.2.3)

### **ЗВ 12.3. Знешкодження рідких відходів.**

Використовують аеротенк: біореактор МакІСІ (п. 10.2.1)

**РОЗДІЛ 8**  
**КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА**

**8.1. Карта постадійного контролю доферментаційних процесів**

*Таблиця 8.1*

Номер контрольної точки та назва стадії	Об'єкт контролю та показник, що визначається	Засоби та методи контролю	Періодичність перевірки та відбору проб	Нормативні значення показника
1	2	3	4	5
Кт, Км.2.2.1, 2.2.2, 2.2.3, 2.2.4, 2.2.5 <i>Приготування та стерилізація 6% розчину NaOH для інокуляторів, посівних апаратів та виробничого ферментера</i>	Тиск, температура, час, стерильність	Манометр, термометр, годинник, мікробіологічний контроль	Температура визначається безперервно під час стерилізації. Мікробіологічний контроль після стерилізації	P = 0,15 МПа, t = 131 °С, τ = 40 хв Відсутність мікробіоти
Кт, Км. 3.1.1 <i>Приготування і стерилізація поживного середовища для вирощування інокуляту в колбах на качалках</i>  <i>Приготування і стерилізація композиції А</i>	<b>Композиція А</b> Тиск, температура, час, стерильність	Манометр, термометр, годинник, мікробіологічний контроль	Температура визначається безперервно під час стерилізації. Мікробіологічний контроль після стерилізації	P = 0,05 МПа, t = 112 °С, τ = 30 хв Відсутність мікробіоти
Кт, Км. 3.1.2 <i>Приготування і стерилізація композиції Б</i>	<b>Композиція Б</b> Тиск, температура, час, рН, стерильність	Манометр, термометр, годинник, мікробіологічний контроль, рН-метр	Температура визначається безперервно під час стерилізації. Мікробіологічний контроль після стерилізації	P = 0,15 МПа, t = 130 °С, τ = 50 хв рН = 4,5
			НУХТ БТЕК 04.01.13 КР ПЗ	
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата
<i>Розроб.</i>	<i>Роженко А.В.</i>			
<i>Перевір.</i>	<i>Воронцов О. О.</i>			
<i>Консультант</i>				
<i>Н. Контр.</i>				
<i>Затверд.</i>	<i>Пирог Т.П.</i>			
Розділ 8. Контроль виробництва			Літ.	Арк.
			101	12
			Кафедра БТМ	101

				Відсутність мікробіоти
Кт, Км. 3.1.3 <i>Приготування і стерилізація композиції В</i>	<b>Композиція В</b> Тиск, температура, час, рН, стерильність	Манометр, термометр, годинник, мікробіологічний контроль, рН-метр	Температура визначається безперервно під час стерилізації. Мікробіологічний контроль після стерилізації	P = 0,15 МПа, t = 130 °С, τ = 50 хв рН = 4,5 Відсутність мікробіоти
Кт, Км 3.1.4 <i>Змішування компонентів</i>	<b>Композиції А,Б,В</b> Стерильність	Мікробіологічний контроль	Мікробіологічний контроль після стерилізації	Відсутність мікробіоти
Кт, Км. 3.2.1, 3.3.1, 3.4.1 <i>Приготування і стерилізація поживного середовища для вирощування інокуляту в інокуляторах на 10 л, 100 л та посівному апараті на 1м<sup>3</sup></i> <i>Приготування і стерилізація композиції А</i>	<b>Композиція А</b> Тиск, температура, час, стерильність	Манометр, термометр, годинник, мікробіологічний контроль	Температура визначається безперервно під час стерилізації. Мікробіологічний контроль після стерилізації	P = 0,05 МПа, t = 112 °С, τ = 30 хв Відсутність мікробіоти
Кт, Км. 3.2.2, 3.3.2, 3.4.2 <i>Приготування і стерилізація композиції Б</i>	<b>Композиція Б</b> Тиск, температура, час, рН, стерильність	Манометр, термометр, годинник, мікробіологічний контроль, рН-метр	Температура визначається безперервно під час стерилізації. Мікробіологічний контроль після стерилізації	P = 0,15 МПа, t = 130 °С, τ = 50 хв рН = 4,5 Відсутність мікробіоти
Кт, Км. 3.5.1, 3.6.1 <i>Приготування і стерилізація поживного середовища в УБС</i>	Температура, час, рН, стерильність. Поживне середовище, стерильність	Манометр, термометр, годинник, мікробіологічний контроль	Температура визначається безперервно під час стерилізації. Мікробіологічний контроль після стерилізації	t = 130 °С, τ = 40 хв Відсутність мікробіоти
Кт, Км. 4.1 <i>Підтримання колекційної культури на скошеному агарі</i>	Колекційна культура <i>Aspergillus niger</i> L-4. Морфологічна однорідність, відсутність сторонньої мікробіоти, відсутність неконтрольованих мутацій.	Термометр, годинник, мікробіологічний контроль	Мікробіологічний контроль кожні 2 місяці	t = +4 °С, пересів кожні 2 місяці, відсутність сторонньої мікробіоти

	Температура, час			
Кт, Км. 4.2 <i>Одержання робочої культури</i>	Колекційна культура <i>Aspergillus niger L-4</i> . Морфологічна однорідність, відсутність сторонньої мікробіоти, відсутність неконтрольованих мутацій. Температура, час	Термометр, годинник, мікробіологічний контроль	Мікробіологічний контроль проводять кожні 8 год	$t = 30\text{ }^{\circ}\text{C}$ , $\tau = 60\text{ год}$ , відсутність сторонньої мікробіоти
Кт, Км. 4.3 <i>Вирощування культури на агаризованому середовищі</i>	Колекційна культура <i>Aspergillus niger L-4</i> . Морфологічна однорідність, відсутність сторонньої мікробіоти, відсутність неконтрольованих мутацій. Температура, час	Термометр, годинник, мікробіологічний контроль	Мікробіологічний контроль проводять кожні 8 год	$t = 30\text{ }^{\circ}\text{C}$ , $\tau = 60\text{ год}$ , відсутність сторонньої мікробіоти
Кт, Кх, Км. 4.4 <i>Вирощування інокуляту в колбах на качалках</i>	Посівний матеріал. Температура, рН, тривалість вирощування, частота обертів качалки, мікробіологічна чистота культури, концентрація біомаси	Термометр технічний, годинник, технічний тахометр, рН-метр, мікробіологічний контроль. Паперовий фільтр та сушильна шафа (для визначення концентрації біомаси в пробі)	Температура і швидкість обертання контролюються і підтримуються автоматично протягом всього часу вирощування, мікроскопіювання – кожні 8 годин	$t = 30\text{ }^{\circ}\text{C}$ , $\tau = 60\text{ год}$ , $\omega = 220\text{ об/хв}$ , $\text{pH} = 5,5$ відсутність сторонньої мікробіоти $X_{\text{біомаси}} = 10\text{ г/л}$
Кт, Кх, Км. 4.5 <i>Вирощування культури в інокуляторі об'ємом 10 л</i>	Посівний матеріал. Температура, рН, тривалість вирощування, частота обертів мішалки, мікробіологічна чистота культури, морфологічна відповідність організмів, концентрація біомаси	Термометр технічний, годинник, технічний тахометр, рН-метр, мікроскоп, Паперовий фільтр та сушильна шафа (для визначення концентрації біомаси в пробі)	Температура і швидкість обертання контролюються і підтримуються автоматично протягом всього часу вирощування, мікроскопіювання – кожні 8 годин	$t = 30\text{ }^{\circ}\text{C}$ , $\tau = 60\text{ год}$ , $\omega = 125\text{ об/хв}$ , $\text{pH} = 5,5$ відсутність сторонньої мікробіоти $X_{\text{біомаси}} = 10\text{ г/л}$
Кт, Кх, Км. 4.6 <i>Вирощування культури в інокуляторі об'ємом 100 л</i>	Посівний матеріал. Температура, рН, тривалість вирощування, частота обертів мішалки,	Термометр технічний, годинник, технічний тахометр, рН-метр,	Температура і швидкість обертання контролюються і підтримуються	$t = 30\text{ }^{\circ}\text{C}$ , $\tau = 60\text{ год}$ , $\omega = 125\text{ об/хв}$ ,

	мікробіологічна чистота культури, морфологічна відповідність організмів, концентрація біомаси	мікроскоп, Паперовий фільтр та сушильна шафа (для визначення концентрації біомаси в пробі)	автоматично протягом всього часу вирощування, мікроскопіювання – кожні 8 годин	pH = 5,5 відсутність сторонньої мікробіоти $X_{\text{біомаси}} = 10 \text{ г/л}$
Кт, Кх, Км. 4.7 <i>Вирощування культури в посівному апараті об'ємом 1 м<sup>3</sup></i>	Посівний матеріал. Температура, pH, тривалість вирощування, частота обертів мішалки, мікробіологічна чистота культури, морфологічна відповідність організмів, концентрація біомаси	Термометр технічний, годинник, технічний тахометр, pH-метр, мікроскоп, Паперовий фільтр та сушильна шафа (для визначення концентрації біомаси в пробі)	Температура і швидкість обертання контролюються і підтримуються автоматично протягом всього часу вирощування, мікроскопіювання – кожні 8 годин	$t = 30 \text{ }^\circ\text{C}$ , $\tau = 60 \text{ год}$ , $\omega = 125 \text{ об/хв}$ , pH = 5,5 відсутність сторонньої мікробіоти $X_{\text{біомаси}} = 10 \text{ г/л}$
Кт, Кх, Км 4.8 <i>Вирощування культури в посівному апараті об'ємом 10 м<sup>3</sup></i>	Посівний матеріал. Температура, pH, тривалість вирощування, частота обертів мішалки. Мікробіологічна чистота культури, концентрація біомаси	Термометр технічний, годинник, технічний тахометр, pH-метр, мікроскоп, Паперовий фільтр та сушильна шафа (для визначення концентрації біомаси в пробі)	Температура і швидкість обертання контролюються і підтримуються автоматично протягом всього часу вирощування, мікроскопіювання – кожні 8 годин	$t = 30 \text{ }^\circ\text{C}$ , $\tau = 60 \text{ год}$ , $\omega = 125 \text{ об/хв}$ , pH = 5,5 відсутність сторонньої мікробіоти $X_{\text{біомаси}} = 10 \text{ г/л}$
Кт, Кх, Км 5.1 <i>Виробниче культивування в ферментері об'ємом 100 м<sup>3</sup></i>	Культуральна рідина. Температура, pH, тривалість культивування, частота обертів мішалки. Мікробіологічна чистота культури, концентрація біомаси, концентрація фітази	Термометр технічний, годинник, технічний тахометр, pH-метр, мікроскоп, Паперовий фільтр та сушильна шафа (для визначення концентрації біомаси в пробі) Спектрофотометр або установка VP Shimadzu LC-10A VP (для визначення концентрації фітази в пробі)	Температура і швидкість обертання контролюються і підтримуються автоматично протягом всього часу вирощування, мікроскопіювання – кожні 8 годин	$t = 30 \text{ }^\circ\text{C}$ , $\tau = 120 \text{ год}$ , $\omega = 125 \text{ об/хв}$ , pH = 5,5 відсутність сторонньої мікробіоти $X_{\text{біомаси}} = 10 \text{ г/л}$ $X_{\text{фітази}} = 1,1 \text{ г/л}$ $A_{\text{фітази}} = 25800 \text{ од/л}$

## 8.2. Мікробіологічний контроль

*Мікробіологічний контроль стерильності поживного середовища:*

Пробу простерилізованого поживного середовища об'ємом 200 мл відбирають кожні 8 годин, здійснюють прямий висів на чашки Петрі з відповідним агаризованим поживним середовищем і подальшим інкубуванням.

*Посіви здійснюють* шляхом відбору стерильною піпеткою 0,1 г проби простерилізованого поживного середовища і нанесення її на поверхню відповідного поживного середовища. Внесену пробу рівномірно розподіляють по поверхні середовища за допомогою стерильного шпателя Дригальського. Чашки з посівами завертають у папір і поміщають у термостат для інкубації при температурі 32-34 °С протягом 1-2 діб для МПА та при температурі 24-26 °С протягом 3-5 діб для СА.

*Мікробіологічний контроль посівного матеріалу:*

Мікробіологічний контроль можна здійснювати двома методами: прямим висівом на агаризовані поживні середовища і мікроскопіюванням. Прямий висів здійснюється посівом культуральної рідини до ізолюваних колоній на чашки Петрі з м'ясо-пептонним агаром (МПА) для виявлення бактерій, та глюкозо-картопляним агаром (ГКА) або сусло-агаром (СА) – грибів та дріжджів. Мікроскопіювання проводять на електронному мікроскопі. В асептичних умовах, за допомогою стерильної петлі наносять невелику краплину культуральної рідини, розподіляють по склу за допомогою бактеріальної петлі (діаметр мазка близько 1 см). Мазок висушують без нагрівання, при кімнатній температурі, до повного випаровування вологи. Потім на абсолютно сухий препарат за допомогою скляної палички наносять 1-2 краплини імерсійного масла. Після роботи ватую, змоченою етиловим спиртом, знімають залишки масла з імерсійного об'єктива. [53].

### 8.3. Показники росту і синтезу цільового продукту

#### 8.3.1. Концентрація біомаси

Для визначення концентрації біомаси міцелій гриба відокремлювали від культуральної рідини фільтруванням. Паперовий фільтр розміщують у скляну лійку й фільтрують через нього точно вимірний обсяг КР, від 5 до 10 мл. Осад на фільтрі багаторазово промивають підкисленою дистильованою водою. Отриманий міцелій висушують в сушильній шафі при температурі 105 ° С до постійної маси. Концентрацію біомаси розраховують в грамах сухої речовини на 1 л середовища [54].

#### 8.3.2. Концентрація цільового продукту

Одиниця активності фітази (од.): Кількість ферменту, який вивільняє 1 мкмоль неорганічного фосфату з фітази за 1 хв.

Після проведення спектрофотометрії кількість виділених неорганічних фосфатів визначають за градууювальним графіком, побудованому як функція оптичної щільності від молярної концентрації фосфатів, мкмоль / см<sup>3</sup>.

*Аналіз фермента в культуральній рідині (спектрофотометричний метод):* для проведення аналізу до неочищеного розведеного розчину ферменту (1:10) мл додавали буфер ацетату Na, що містить 2 мМ CaCl<sub>2</sub> (як активатор) та фітату Na (по 0,5 мл). Суміш інкубували при 40 ° С на водяній бані протягом 45 хв, після чого додавали трихлороцтової кислоти для припинення реакції. Пробу суміші (0,5 мл) змішували з 4 мл ацетону 2: 1: 1, 10 мМ молібдата амонію та 5 н сірчаної кислоти та 0,4 мл 1 М лимонної кислоти. Кількість вивільненого вільного фосфату визначали спектрофотометрично. Фермент характеризувався широкою специфічністю субстрату. Зв'язування барвника з білком спричиняє зміщення максимуму поглинання барвника з 465 до 595 нм, а моніторинг збільшується поглинанням при 595 нм. Цей аналіз є дуже відтворюваним та швидким, завдяки тому, що процес зв'язування барвника практично закінчується приблизно за 2 хв з хорошою стійкістю кольору протягом 1 години. Немає

ніяких втручань з боку катіонів, таких як натрій або калій, або з вуглеводів, таких як сахароза [55].

### **8.3.3. Концентрація джерела вуглецю і азоту**

*Мікроелектронний біосенсор для визначення вмісту сахарози.* Сенсори виготовляють на одній підкладці за мікроелектронною технологією і розташовують під єдиною біохімічною матрицею. Для оброблення вихідних сигналів використовують мікропроцесор. Такий підхід до проектування біосенсорів дасть змогу з великою достовірністю визначати концентрацію речовини з урахуванням впливу багатьох побічних факторів, а інтегральні лінійки таких сенсорних комплексів з використанням відповідних біохімічних матриць забезпечать реєстрацію концентрації різноманітних речовин. Амперометрична секція містить ланцюжок планарних мікроелектродів, за допомогою яких здійснюють вимірювання сили струму і визначають його середнє значення за результатами показників із трьох електродів. А вимірювання кількості тепла, яке виділяється під час біохімічної реакції, виконується тонкоплівковими датчиками температури диференційного типу. Вихідні сигнали інтегрального біосенсора обробляються мікропроцесором за допомогою електронного блока. Для підвищення точності виміру використовують не один, а три електроди. Термометричну секцію було створено на основі двох терморезисторів (термоопорів) із платини у вигляді змійки, де один є вимірювальним, а другий — порівняльним. Вимірювальний термістор та вимірювальні електроди покриті чутливим біохімічним шаром, що його підбирають для кожної вимірюваної речовини.

Шар біологічного матеріалу формували у три етапи: наносили полівінілхлорид, потім суміш ферменту з глутаровим альдегідом та нітроцелюлозу. На ділянку детекції біодатчика наносили 2%-й розчин формвару в двохлористому етилені. Потім упродовж 20 хв давали можливість стекти надлишку розчину в атмосфері пари цього розчинника. Після цього конструкцію тримали в пересиченій парі для створення

пористості протягом 2–3 хв. Для визначення концентрації сахарози відбирали 200 мл середовища та використовували відповідний фермент: інвертазу. Вимірювання проводили в реакторній кюветі, де розміщено інтегральний біосенсор. Термодинамічна рівновага у вимірювальній комірці встановлювалась за 2–3 хвилини. Інформація з вимірювального блока надходила до комп'ютера, де оброблення даних здійснювали за спеціальною програмою [56].

#### *Визначення концентрації нітрат амонія*

Проби середовища об'ємом 200 мл для визначення концентрації іонів відбирали за допомогою стерильного одноразового шприца.

Визначення концентрації іонів амонію та нітрату проводилося колориметричним методом (фізико-хімічний метод кількісного визначення концентрації речовини, яка здатна поглинати світло або УФ промені за певної довжини хвилі, або здатна утворювати такі сполуки. Базується на вимірюванні оптичної густини розчинів за допомогою спеціальних приладів — електричних фотоколориметрів та спектрофотометрів, або на візуальному порівнянні інтенсивності забарвлення досліджуваного розчину з еталонними розчинами) за допомогою спектрофотометра *Hach Lange DR 5000* (Німеччина) по стандартними методиками, записаним в пам'яті приладу, з використанням комерційних наборів реактивів *Hach Lange* для визначення відповідних іонів: *LCK303*, *LCK302* і методом з реактивом Несслера для визначення амонію, *NitraVer5* для визначення нітрату [57].

#### **8.4. Показники якості готового продукту**

**Контроль вологості.** Контролюється за допомогою промислового датчика вологості (вологомір для рідких і твердих матеріалів, який визначає вологість за рахунок вимірювання діелектричної проникності). Вологість після стандартизації – 5%.

#### **Контроль активості**

Метод заснований на кількісному визначенні вмісту неорганічних фосфатів (P04), що утворюються в результаті дії ферменту фітаза на субстрат - фітат натрію (натрієву сіль фітинової кислоти) при певних стандартних умовах, шляхом їх зв'язування молібдатом натрію і відновленням двухпористим оловом з утворенням забарвленого в синій колір комплексу - молібденової сині.

За одиницю фітазної активності (1 од. ФА) приймають кількість ферменту, який каталізує гідроліз фітат натрію з утворенням 1 мкмоль неорганічного фосфату за одну хвилину в стандартних умовах (температура 37 ° С, значення рН 5,5, тривалість гідролізу - 15 хв). Інтенсивність забарвлення вимірюють фотоколориметричним методом при довжині хвилі від 650 до 700 нм. Кількість виділених неорганічних фосфатів визначають за градувальним графіком, побудованому як функція оптичної щільності від молярної концентрації фосфатів, мкмоль / см<sup>3</sup>.

#### 1. Приготування основного розчину аналізованого зразка

У плоскодонну скляну колбу поміщають наважку аналізованого зразка масою від 0,1 до 10 г з точністю до 0,2 мг і суспендують в невеликій кількості дистильованої води (до 50 см<sup>3</sup>) на магнітній мішалці протягом 15 хв. Суспензію кількісно переносять в мірну колбу місткістю 100 см<sup>3</sup> і доводять об'єм дистильованою водою до мітки. Отриману суспензію центрифугують при частоті обертання 7000 хв<sup>-1</sup> протягом 15 хв. Для аналізу використовують надосадову рідину. Розчин готують в день визначення.

#### 2. Приготування робочого розчину аналізованого зразка

Робочий розчин готують з основного розчину за пунктом 1 шляхом його розведення в дистильованій воді (наприклад, в 20 разів) таким чином, щоб при визначенні активності оптичні

щільності дослідного і контрольного розчинів знаходилися в межах робочої зони градуйованого графіка.

### 3. Проведення аналізу

У три пробірки (дві дослідні і одну контрольну) вносять по 1,0 см<sup>3</sup> робочого розчину аналізованого зразка за пунктом 2. Пробірки поміщають в ультратермостат або водяну баню з температурою (37 ±1) ° С і витримують протягом 5 хв. У дві дослідні пробірки додають по 1,0 см<sup>3</sup> розчину субстрату фітату натрію попередньо витриманого в ультратермостаті або водяній бані з температурою (37 ±1) ° С протягом 5 хв, і перемішують. Пробірки поміщають в ультратермостат або водяну баню з температурою 37 ±1 ° С на 15 хв. До контрольної пробірки вносять 1,0 см<sup>3</sup> розчину субстрату фітату натрію. До контрольної і дві дослідні пробірки додають по 2,0 см<sup>3</sup> розчину натрію молібдату і 0,5 см<sup>3</sup> робочого розчину олова хлориду і ретельно перемішують.

Пробірки (дві дослідні і одну контрольну) витримують одну хвилину при кімнатній температурі. Розчини колориметрують при довжині хвилі від 650 до 700 нм в кюветі з товщиною поглинаючого світло шару 3 мм, проти контролю на реактиви. При необхідності (опалесценція, суспензія і т. д.) розчин центрифугують при 7000 хв<sup>-1</sup>.

### 4. Обробка результатів

Молярну концентрацію фосфатів (мкмоль / см<sup>3</sup>) в дослідних і контрольних розчинах визначають за градувальним графіком. Ферментативну активність фітазою ФА, од. / г, в аналізованому зразку, розраховують за формулою:

$$\text{ФА} = \frac{(C_0 - C_k)}{ct}$$

де  $C_0$  - молярна концентрація фосфатів у дослідній пробі відповідно до градувальними графіком, мкмоль /  $\text{см}^3$ ;

$C_k$  - молярна концентрація фосфатів в контрольній пробі відповідно до градувальними графіком, мкмоль /  $\text{см}^3$ ;

$t$  - тривалість гідролізу, хв;

$c$  - масова концентрація ферментного препарату, що міститься в реакційній суміші, г /  $\text{см}^3$ , розраховується за формулою:

$$c = \frac{m}{VP}$$

де  $m$  - маса наважки ферментного препарату, г;

$V$  - об'єм наважки при приготуванні основного розчину,  $\text{см}^3$ ;

$P$  - розведення основного розчину ферментного препарату для приготування робочого розчину. За остаточний результат приймають середньоарифметичне значення результатів двох паралельних визначень, округлене до першого десяткового знака ( $X + \Delta$ ), од. / г, при довірчій ймовірності  $P = 0,95$ , де  $\Delta = 0,01 \delta X$ . Межі відносної похибки  $\delta = \pm 7\%$  при довірчій ймовірності  $P = 0,95$ .

### 5. Збіжність і відтворюваність результатів

Результати вимірювань, отримані в умовах повторюваності (збіжності), визнаються задовільними, якщо виконується умова прийнятності:

$$|X_1 - X_2| \leq r 0,01 \bar{X}$$

де  $X_1$  і  $X_2$  - результати двох паралельних визначень, отримані в умовах повторюваності при  $P = 0,95$ , од. / г;

$X$  - середнє арифметичне двох паралельних визначень, од. / г;

$r$ -межа повторюваності (збіжності), що дорівнює 5%.

Результати вимірювань, отримані в умовах відтворюваності, визнаються задовільними, якщо виконується умова прийнятності:

$$|X_1 - X_2| \leq R 0,01 \bar{X}_1$$

Де  $X_1$  і  $X_2$  - результати двох визначень, виконаних в двох різних лабораторіях, од. / г;

$\bar{X}$  - середнє арифметичне двох визначень, виконаних в двох різних лабораторіях, од. / г;

$R$  - межа відтворюваності, рівний 10%

Активність фермента після фільтрації та мікрофільтрації повинна складати 25800 од/л, а після сушіння 19866 од/л. Активність готового препарату після стандартизації повинна складати 5004 од/г [58].

Також візуально контролюється якість маркування (текст етикетки), якість пакування продукту та відповідні умови зберігання.

## РОЗДІЛ 9

### АВТОМАТИЗАЦІЯ ДІЛЯНКИ ВИРОБНИЦТВА

Для автоматизації обираємо ділянку виробничого біосинтезу (виробничий ферментер) фермента фітази міцеліальним грибом *Aspergillus niger L-4*. Культивування гриба проводять глибинним періодичним способом у ферментері на 100 м<sup>3</sup> з коефіцієнтом заповнення 0,5 впродовж 120 год в асептичних умовах.

За літературними даними максимальний синтез ферменту ( $P_{кр} = 1,1$  г/л, активність  $A_{кр} = 25,8$  од/мл) досягається за умов росту штаму *Aspergillus niger L-4* на сахарозо-мінеральному середовищі, складом, г/л:

•Сахароза – 19 (концентрацію підвищено згідно Розділ№2 “Розрахунок складу поживного середовища”);

• $NH_4NO_3$  – 5;

• $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  – 0,25;

• $KH_2PO_4$  - 0,16.

У ферментер об'ємом 100 м<sup>3</sup> з поживним середовищем . Вносять через трубу перетискування посівний матеріал, після чого включають аерацію, перемішуючий пристрій (лопатева мішалка), в сорочку ферментера подають пару та холодну воду для підтримки температури середовища. Культивування здійснюють при температурі 30°C, упродовж 120 год. В процесі культивування додають титрувальні розчини HCl та NaOH для підтримання оптимального рН 5,5. Процес культивування здійснюється при температурі 30 °C ± 1 °C, рН 5,5 ± 0,5, швидкість перемішування 125 – 140 об/хв та аерацією середовища 1,5 л ± 0,5 л/ л×год, рівень рідини в апараті складає 50,06 м<sup>3</sup> ± 2 л (поживне середовище і посівний матеріал).

					НУХТ БТЕК 04.01.13 КР ПЗ			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Роженко А.В.			Розділ 9. Автоматизація ділянки виробництва	Літ.	Арк.	Аркушів
Перевір.		Воронцов О. О.					113	5
Консультант						Кафедра БТМ		
Н. Контр.								
Затверд.		Пирог Т.П.				113		

Надлишковий тиск в апараті  $0,1 \text{ МПа} \pm 0,01 \text{ МПа}$ , тиск пари в паровій рубашці апарату  $0,22 \text{ МПа} \pm 0,02 \text{ МПа}$ .

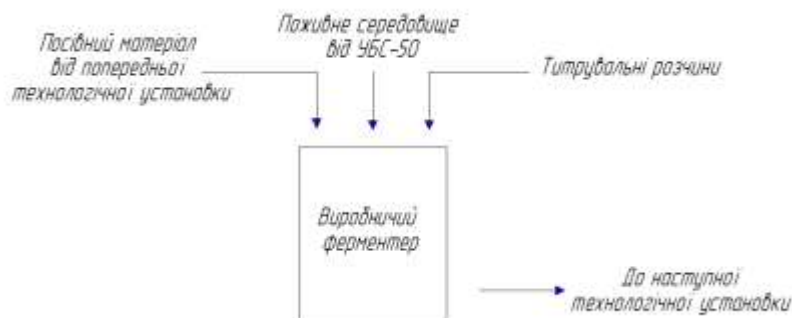


Рис.9.1 Машинно-апаратна схема технологічного процесу

Таблиця 9.1

### Завдання на розробку системи автоматизації

№ з.п	Машина, агрегат, установка	Параметр, місце відбору сигналу	Припустиме значення параметра	Вид автоматизації	Характер контролю чи управління	Засоби управління та контролю, реалізації управляючої дії
1	Виробничий ферментер	Температура середовища	$30 \text{ }^\circ\text{C} \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$	Контроль	Відображення, реєстрація	АРМ оператора
				Регулювання	Стабілізація	Вплив на витрату пари
2		Величина рН середовища	$5,5 \text{ од.рН} \pm 0,5 \text{ од.рН}$	Контроль	Сигналізація	АРМ оператора
3		Рівень рідини в ферментері	$50,06 \text{ м}^3 \pm 2 \text{ л}$	Контроль	Відображення, реєстрація	АРМ оператора
4		Концентрація розчиненого кисню	$1,5 \text{ л} \pm 0,5 \text{ л/л} \times \text{ГОД}$	Контроль	Відображення, реєстрація	АРМ оператора
				Регулювання	Слідкуюче	Вплив на витрату стисненого повітря
5	Надлишковий тиск в апараті	$0,1 \text{ МПа} \pm 0,01 \text{ МПа}$	Контроль	Відображення, реєстрація	АРМ оператора	
6	Тиск пари в	$0,22 \text{ МПа}$	Контроль	Відображення,	АРМ	

		паровий рубашці апарату	$\pm 0,02$ МПа		реєстрація	оператор а
7		Інтенсивність перемішування	125 – 140 об/хв	Контроль	Відображення, реєстрація	АРМ оператор а
				Управління	Дистанційне	Пуск, стоп з АРМа оператор а

### Опис схеми автоматизації

В першому контурі необхідно контролювати і регулювати температуру, яка має становити 30 °С (припустимі межі  $\pm 1^{\circ}\text{C}$ ). За зміною температури спостерігають на АПМі оператора. Температура вимірюється термометром опору ТСП-1588 (1а), який підходить найкраще за діапазоном вимірювання, яка становить для даного приладу  $-50\dots 130^{\circ}\text{C}$ , також в датчик вбудований перетворювач температури для перетворення збільшення активного опору термометра в уніфікований сигнал. Сигнал поступає на перетворювач електричного сигналу в пневматичний РС-28G/A (1б) і далі передається на пневматичний привід для управління клапанами типу **P152 ACL** (1в) [59, 60, 61].

У другому контурі необхідно контролювати рівень рН середовища в ферментері, рН має становити 5,5 од.рН (припустимі межі  $\pm 0,5$ ). Для цього використовується рН-комбінований електрод типу APS-Z (**2а**) з діапазоном вимірювання рН 0 ... 12 [62].

В третьому контурі необхідно контролювати рівень середовища в ферментері; рівень має становити 50,06 м<sup>3</sup> (припустимі межі  $\pm 2$  л). Для цього використовується датчик рівня рідини SHR-1-M ETI 2471205 (**3а**) [63].

В четвертому контурі необхідно контролювати концентрацію розчиненого кисню, цей показник повинен становити 1,5 л  $\pm 0,5$  л/л×год. Для цього використовується датчик розчиненого кисню ET-OXY1 (**4а**), також в датчик вбудований перетворювач кількості аераційного повітря в

уніфікований сигнал. Сигнал поступає на перетворювач електричного сигналу в пневматичний РС-28G/A (4б) і далі передається на пневматичний привід для управління клапанами типу P152 ACL (4в) [64].

**В п'ятому контурі** контролюється надлишковий тиск в апараті, це значення повинно становити 0,1 МПа (припустимі межі  $\pm 0,01$  МПа). Для цього використовується датчик тиску DSP-01 (5а).

**В шостому контурі** контролюється надлишковий тиск пари в паровій рубашці ферментера, це значення повинно становити 0,22 МПа (припустимі межі  $\pm 0,02$  МПа). Для цього використовується також датчик тиску DSP-01 (6а) [65].

**В сьомому контурі** проводять контроль та управління інтенсивністю перемішування, це значення повинно становити 125 – 140 об/хв. Для цього використовується промисловий тахометр типу С.А.1727 (7а) [66].

Таблиця 9.2

### Специфікація на прилади і засоби автоматизації

Позиція	Місце установки	Найменування характеристика приладу	Тип моделі	Виробник
1а	По місцю	Робочий діапазон вимірюваних температур, °С від 0 до +150 Умовне позначення НСХ перетворення (ГОСТ 6651) 100 П Клас допуску (ГОСТ 6651) В Схематичне зображення з'єднань (ГОСТ 6651) 2 Показник теплової інерції, с, не більше 50 Умовний тиск вимірюваного середовища Р <sub>у</sub> , МПа 1 Матеріал захисної арматури сталь 12Х 18Н 10Т, 08Х 18Н 10Т або 10Х 17Н 13М 2Т Матеріал головки прессматериала АГ - 4В	ТСП-1588	POLIKRAT (Росія)
1б 4б	На щиті	Електропневмоперетворювач, вхідний сигнал - електричний 4...20 мА, вихідний сигнал - пневматичний 20 ... 100 кПа, основна похибка 0,5%	РС-28G/A	APLISENS (Польща)
1в 4в	По місцю	Пневматичний привід для управління кранами та заслінками, управляючий сигнал 20...100кПа, приєднання від 1/2" до 1" GAS або NPT, температура робочого середовища - 10 + 180°С	P152	ACL s.r.l. (Італія)
2а	По місцю	Діапазон вимірювання: рН 0 ... 12	APS-Z	KOBOLD

		<p>Приєднання: Pg 13,5  Діапазон температури: -5 ... + 80 ° C  Тиск: до 10 бар  Електроліт: KCl-геленаполнення  Діафрагма: кераміка або ПТФЕ-кільце</p>		<b>(Німеччина)</b>
3a	По місцю	<p>Матеріал: латунь  Температура експлуатації: від - 25 ° C до + 60 ° C  Довжина зонда: 65,5 мм  Діаметр електрода: 4 мм  Різьблення: 12 мм  Перетин підключаються провідників: 2,5 мм<sup>2</sup></p>	SHR-1-M ETI 2471205	<b>ETI (Словенія)</b>
4a	По місцю	<p>Корпус датчика виконаний з нержавіючої сталі  Мембрана з платиновим/срібленим електродами  Діапазон вимірювань: 0-20 ppm.  Робоча температура до 60°C.  Діапазон робочого тиску в системі до 4 бар  Діаметр корпусу 12 мм  Різьба на корпусі PG13.5</p>	ET-OXY1	<b>ETATRON D.S. (Україна)</b>
5a 6a	По місцю	<p>Вихідний сигнал постійного струму 4-20 мА  Виконання: надлишковий, абсолютний, різниця тисків, розрідження  Діапазон вимірювань тиску: від 0 до 25 МПа (на замовлення)  Клас точності перетворювачів: 0.25 (на замовлення від 1.5 до 0.1)  Споживана потужність: не більше 1.0 ВА  Ступінь захисту корпусу IP54  Живлення від 12 до 36 В  Цифровий HART інтерфейс</p>	DSP-01	<b>ТОВ НВП ГРЕМПС (Україна)</b>
7a	По місцю	<p>Діапазон: 6-100000 об/хв, пам'ять: 4000 точок,  похибка: 1×10<sup>-4</sup></p>	C.A.1727	<b>BRENNENS TUHL (Німеччина)</b>

## РОЗДІЛ 10

### ОХОРОНА ДОВКІЛЛЯ

#### 10.1. Аналіз технологічної схеми виробництва фітази

Технологія отримання фітази включає такі доферментаційні допоміжні роботи:

- Санітарна підготовка виробництва
- Приготування та стерилізація розчинів для титрування
- Приготування та стерилізація поживних середовищ
- Ферментаційні процеси:
- Отримання посівного матеріалу
- Виробничий біосинтез
- Післяферментаційні процеси:
- Виділення фітази.

**1.Санітарна підготовка виробництва.** Проводиться миття обладнання за допомогою засобу «ЛАСЕПТ 344-М» - дезінфікуючий засіб з мийними властивостями. Обробку об'єктів способом зрошення (для ферментерів на 10 м<sup>3</sup> і 100 м<sup>3</sup>) проводять за допомогою спеціального устаткування, домагаючись рівномірного й рясного змочування. Підлогу та стіни миють пролонгованими засобами 1 раз на тиждень. Для миття стін та підлоги приміщень обираємо деззасіб “ЛЕГІОН САНІТАЙЗЕР” (діюча речовина, мас., %: 25,0 - полігексаметиленгуанідину гідро хлориду), оскільки він проявляє унікальну пролонговану бактерицидну дію, оброблені поверхні зберігають дезінфікуючу здатність тривалий час, до 7-ми днів. Поверхні (столи, тверді меблі) зрошують із розрахунку 100 мл/м<sup>2</sup> поверхні або ретельно протирають ганчір'ям, яке змочують робочим розчином засобу “Дезанол оксо”.

					<b>НУХТ БТЕК 04.01.13 КР ПЗ</b>			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Роженко А.В.			Розділ 10. Охорона довкілля	Літ.	Арк.	Аркушів
Перевір.		Воронцов О. О.					118	7
Консультант						Кафедра БТМ		
Н. Контр.								
Затверд.		Пирог Т.П.						
					118			

Відпрацьовані мийні, дезінфікуючі розчини, промивна вода прямують до каналізації, які після очищення мають залишити межі виробництва. *Отже, цей етап є місцем емісії досить великої кількості рідких відходів.*

**2. Приготування та стерилізація розчинів для титрування.** На даному етапі передбачається підготовка 6% розчину хлоридної кислоти; підготовка та стерилізація 6% розчину гідроксиду натрію. Обидва розчини використовуються для підтримання рН 5,5 під час отримання посівного матеріалу та виробничого біосинтезу. Також хлоридна кислота використовується при стерилізації розчину солей в ферментерах для уникнення випадання осаду. На даному етапі виробництва рідкі відходи можуть утворитись якщо титрувальні розчини не відповідають нормативним показникам і рівню асептики. *Отже, відходи титрувальних агентів не враховуємо у загальному об'ємі рідких відходів.*

**3. Приготування та стерилізація поживних середовищ.** Поживне середовище, яке складається з сахарози,  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  повинне відповідати якісним та хімічним показникам. При виявленні невідповідності цим факторам, можливе відбракування. Поживне середовище подається на отримання посівного матеріалу (5 етапів) та біосинтез.

**4. Отримання посівного матеріалу.** На даному етапі передбачено отримання посівного матеріалу в інокуляторах та посівному апараті. Посівний матеріал використовується для засіву виробничого ферментера. Відходи від посівного матеріалу не враховуємо у загальному об'ємі рідких відходів. Під час культивування необхідно забезпечити достатній рівень аерації поживного середовища, оскільки *Aspergillus niger* аероб. У процесі культивування виникає великий об'єм відпрацьованого повітря, в якому будуть міститись спори гриба. *Отже, даний етап є місцем емісії великих об'ємів газоповітряних відходів.*

**5. Виробничий біосинтез.** На даному етапі передбачено отримання культуральної рідини, у якій накопичується цільовий продукт – фітаза. Оскільки культуральна рідина далі надходить до збірника для виділення цільового продукту, рідкі відходи на даному етапі не враховуємо. У процесі

біосинтезу утворюється відпрацьоване повітря, в якому будуть міститись спори гриба. Отже, даний етап є місцем емісії великих об'ємів газоповітряних відходів.

**6.Виділення фітази.** Культуральна рідина зі збірника передається до рамного фільтр-преса для відділення біомаси, далі проводять ультрафільтрацію, після чого подають на сушіння. Отже, даний етап є місцем емісії великих об'ємів рідких та твердих відходів.

## 10.2. Перспективи впровадження екологізації виробництва

### 10.2.1. Система знешкодження та утилізації рідких відходів

*Біотенки* (аеротенки, де використовують іммобілізовану мікробну масу). У цих реакторах порівняно з аеротенками забезпечується краще використання кисню, а окиснювальна здатність зростає на 30 %. Іммобілізація мікроорганізмів на носії підвищує швидкість окиснення відходів у 2–3 рази.

Носіями в біотенках слугують сітки, гофроленти з полівінілхлориду, полотна з нетканинних матеріалів, конструкції із синтетичних матеріалів типу "йоржиків". Їхня здатність утримувати забруднення відповідно становить 4,5; 0,22; 0,45; 0,4 кг біомаси на 1 кг носія. Існує також модифікація біотенків – біореактори МакІСІ (рис. 10.1).

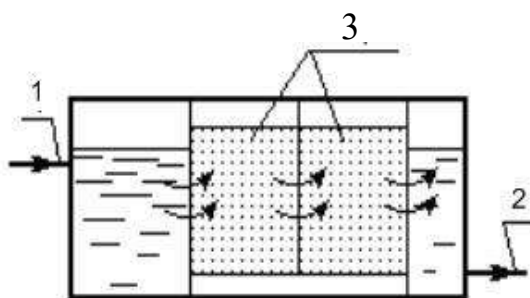


Рис. 10.1. Схема біореактора МакІСІ:

1 – подача води; 2 – відведення обчищеної води; 3 – контейнер з активним мулом

У таких реакторах стічна вода рухається по каналу й послідовно проходить через днище металевих каркасів (контейнерів), заповнених носієм іммобілізованого мулу. Носії – йоржики із синтетичних ниток – кріпляться на рамі каркаса. На одному погонному метрі йоржів утримується до 30–40 г

біологічних обростань, а в 1 м<sup>3</sup> об'єму контейнера – до 5,5–6 кг. Реактори обладнуються системою аерації. За ступенем насичення біологічними обростаннями вміст біотенка регенерується шляхом інтенсивного продування повітрям [67].

### **10.2.2. Система знешкодження та утилізації твердих відходів**

Приблизна кількість твердих відходів становитиме 20т. Є різні способи переробки великих об'ємів органічних відходів з допомогою черв'яків – від простих, що потребують великих затрат ручної праці, - до повністю автоматизованих, високотехнологічних систем (*звичайні бурти, підняті ряди, ящики, реактори*). Перед вермікомпостуванням необхідно провести термічну обробку біологічних відходів. Для утилізації біошроту використовують черв'яків *Eisenia fetida* або *Lambricus rubellus*.

Для переробки великої кількості відходів застосовують *метод вежі*. За цією технологією, черв'яків вирощують у вежі, у якій, за допомогою транспортера, зверху періодично подають біошрот, а черв'яки, перетворюючи його, постійно піднімаються у свіжі шари. Основа башти включає шлюз, через який утворені відходи, періодично відділяються на сепараторі, де відокремлюються від «неперетравлених» великих часток і окремих черв'яків. Отримані відходи можна надалі використовувати як добриво для сільського господарства

Спори аспергіл досить стійкі до дії фізичних та хімічних чинників. Кип'ятіння інактивує спори гриба протягом 5-10 хв. З хімічних речовин на *Asp.* хлорне вапно, формалін, фенол, хлорамін, їдкий натр, але у високих концентраціях (50-73%) та тривалій експозиції [68].

### **10.2.3. Система знешкодження та утилізації газоповітряних відходів**

Жорсткі вимоги до експлуатації промислових підприємств ставлять на одне з перших місць питання про очищення відпрацьованих газів. Розроблені сьогодні нові технології газоочистки не лише знижують навантаження на довкілля, але і вирішують питання раціонального використання природних ресурсів. Промислові підприємства та інші види господарства пов'язані з

викидом в приміщення і в атмосферу різних речовин, які завдають великої шкоди навколишньому середовищу та впливають на стан здоров'я працівників підприємств. У повітря можуть потрапляти аерозольні частинки у вигляді пилу, диму, туману, а також газів, пари, різні види мікроорганізмів.

Самі ж домішки використовуються як цінні продукти. Газоочищення розділяється на: очищення від зважених часток у вигляді пилу, туману; очищення газів від домішок в пароподібному і газоподібному станах, які небажані при їх подальшому використанні або викиді. У промислових газах містяться частки, які дуже різноманітні по складу, агрегатному стану, мають різну дисперсність. Від зважених часток газів очищають механічними і електричними способами. При механічному очищенні газів йде дія відцентрової сили, здійснюється фільтрація через пористі матеріали, промивання за допомогою води або інших рідин. Механічне очищення газів - це сухе газоочищення (за допомогою циклонів), фільтрація і способи "мокрого" газоочищення. Електричним же очищенням газів уловлюють частки пилу високої дисперсності, досягаючи високого коефіцієнта очищення. В цілях очищення виробничих газів від забруднень (від золи, пилу і інших твердих компонентів) були розроблені спеціальні ефективні фільтри і установки. Основний принцип їх роботи полягає у використанні електростатичного осадження твердих часток, що знаходяться в газах, у фільтрації за допомогою пористих шарів і перегородок, в промиванні газів і відділенні часток під дією гравітаційних сил. Це є інерційна сепарація. Для кожного виду виробничого процесу потрібно вводити свою газоочисну установку, конструкція якої визначається характером виробничого процесу, видом забруднень і кількістю викидів [69].

За способом очищення забрудненого повітря розрізняють апарати сухого та мокрого очищення. При цьому використовують різні методи: механічні (під дією інерційних сил), фільтрування (через тканину та листові пористі матеріали; пористу пластмасу, кераміку та металокераміку; шари з волокон, стружки, зернистих матеріалів та ін.), фізичні (під дією

електростатичних сил, енергії акустичних коливань), хімічні (розчинення, поглинання) та ін.

Для сухого очищення повітря від пилу використовують інерційні пиловловлювачі, зокрема циклони. Повітропилова суміш підводиться до корпусу циклона тангенціально із швидкістю 17-20 м/с, що забезпечує часткам пилу на внутрішній поверхні корпусу обертальний рух по спіралі донизу, де вони осідають і періодично видаляються, а очищене повітря виходить в атмосферу через розташовану в центрі трубу. Для очищення значних об'ємів повітря декілька циклонів монтуєть в одному корпусі (батареїні циклони чи мультициклони). Циклони застосовують для грубого очищення повітря від сухого, нелипкого та неволокнистого пилу з розміром часток більше 15..20 мкм (ступінь очищення від пилу становить 95...99%) і установлюють звичайно для попередньої обробки повітря перед апаратами більш глибокого очищення, наприклад, перед електрофільтрами. Циклони мають гідравлічний опір 400...700 Па.

Поширеним видом пиловловлювачів є тканинні (рукавні) фільтри. В них пил затримується в порах гладкої чи ворсистій тканини при проходженні через неї забрудненого потоку. Для видалення пилу, осадженого на тканині, її періодично струшують та продувають повітрям. Рукава виготовляють із натуральних матеріалів (бавовна, льон, вовна) та синтетичних (поліамідні, поліетиленові, поліакрилонітрильні волокна). В рукавних фільтрах досягається високий ступінь очищення повітря (98...99%) від тонкодисперсного пилу з діаметром часток більше 1 мкм.

На практиці необхідний ступінь очищення повітря не завжди може бути досягнутий в одному апараті сухого або мокрого очищення. Тому в окремих випадках застосовують двоступеневі та багатоступеневі установки. В них забруднений потік проходить один агрегат, що містить у собі ряд ступенів очищення або декілька послідовно установлених очисних апаратів одного чи різних типів [70].

#### **10.2.4. Заходи щодо зменшення об'ємів відходів**

Заміна існуючої технології та обладнання на більш екологічні; оснащення і дооснащення технологічного обладнання газоочисними установками (ГОУ); більш ефективне використання розсіює здатності атмосфери.

При виборі тих чи інших заходів необхідно по можливості виконувати оцінку їх еколого-економічної ефективності, тобто забезпечити досягнення максимального екологічного ефекту при мінімальних витратах. Для оцінки рівня екологічності як наявних, так і планованих до впровадження технологій і обладнання слід використовувати показники технічних нормативів викидів [71].

## Список використаної літератури

1. Решетніченко О.П., Крюков В.С., Антоненко П.П., Тарасенко Л.А., Глебова І.В., Зінов'єв С.В., Півень О.Т., Антіпов А.А., Милостивий Р.В. Антипоживна дія фітатів – екстрафосфорний ефект фітази. Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва. 2019, С. 6-23. doi: 10.33245/2310-9289-2019-147-1-06-23.
2. Ладозим Прокси (Фитаза). БИОПРЕПАРАТИ І КОРМОВІ ДОБАВКИ, ENZIM Feeds, 2020. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://feeds.enzim.biz/fermenty/ladozim-proksi/>
3. Phytase. Bioprocessing for Value-Added Products from Renewable Resources, 2007. [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <https://www.sciencedirect.com/topics/agricultural-and-biological-sciences/phytase>
4. Musta Ogly NM, Sharova NYu. Phytate hydrolysing activity of the *Aspergillus niger* L-4 micromycete strain. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2020;10(2):232–239. (In English)
5. Gunashree B. Shivanna, Venkateswaran Govindarajulu. Screening of asporogenic mutants of phytase-producing *Aspergillus niger* CFR 335 strain. *Microbial Ecology in Health and Disease*. 2009; 21: 5763. [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <file:///E:/Downloads/BSG-MEHD.pdf>
6. Dna encoding phytase in *aspergillus niger*, recombinant plasmid dna for phytase expression (variants), strain-producers of phytase (variants), method of phytase preparing and recombinant phytase. Patents: RU2113468C1, 2005. [Електронний ресурс] – Режим доступу: <https://patents.google.com/patent/RU2113468C1/en>
7. Герасименко В.Г., Герасименко М.О., Цвіліховський М.І. та ін. Біотехнологія. Підручник; Під общ. ред. Герасименко В.Г. К.: Фірма «ІНКОС», 2006. 647 с.
8. *Aspergillus niger*. Навчальна Китайська наукова енциклопедія, 2021. [Електронний ресурс] – Режим доступу:

<https://translate.google.com/translate?hl=uk&sl=zh-CN&u=https://baike.baidu.com/item/%25E9%25BB%2591%25E6%259B%25B2%25E9%259C%2589&prev=search&pto=aue>

9. Broderick A. J., Greenshields R. N. Sporulation of *Aspergillus niger* and *Aspergillus ochraceus* in Continuous Submerged Liquid Culture. *Journal of General Microbiology* (1981), 126,193-202.

10. Міністерство охорони здоров'я України. Про затвердження методичних рекомендацій Санітарно-мікологічні дослідження питної води. Диференціація мікроскопічних грибів за морфологічними ознаками. Опубл. 13.03.2010, №226.

11. Пирог Т.П. Загальна мікробіологія: Підруч. – 2-е вид., доп. і перероб. – К.: НУХТ, 2010. 632 с.

12. Прокопенко О. Тваринництво України. Державна служба статистики України, Статистичний збірник, 2019. [Електронний ресурс]. Режим доступу: [http://www.ukrstat.gov.ua/druk/publicat/kat\\_u/2019/zb/05/zb\\_tu2018.pdf](http://www.ukrstat.gov.ua/druk/publicat/kat_u/2019/zb/05/zb_tu2018.pdf)

13. [WWW.genome.jp/kegg/](http://www.genome.jp/kegg/) KEGG: Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes. Pathway Database.

14. Histidine metabolism - *Aspergillus niger* [Електронний ресурс] // KEGG – Режим доступу до ресурсу: [https://www.genome.jp/kegg-bin/show\\_pathway?ang00340](https://www.genome.jp/kegg-bin/show_pathway?ang00340)

15. Glycine, serine and threonine metabolism - *Aspergillus niger* [Електронний ресурс] // KEGG – Режим доступу до ресурсу: [https://www.genome.jp/kegg-bin/show\\_pathway?ang00260](https://www.genome.jp/kegg-bin/show_pathway?ang00260)

16. Citrate cycle (TCA cycle) – *Aspergillus niger* [Електронний ресурс] // KEGG – Режим доступу до ресурсу: [https://www.genome.jp/kegg-bin/show\\_pathway?ang00020](https://www.genome.jp/kegg-bin/show_pathway?ang00020)

17. Lysine biosynthesis - *Aspergillus niger* [Електронний ресурс] // KEGG – Режим доступу до ресурсу: [https://www.genome.jp/kegg-bin/show\\_pathway?ang00300](https://www.genome.jp/kegg-bin/show_pathway?ang00300)

18. Arginine biosynthesis - *Aspergillus niger* [Електронний ресурс] // KEGG – Режим доступу до ресурсу: [https://www.genome.jp/kegg-bin/show\\_pathway?ang00220](https://www.genome.jp/kegg-bin/show_pathway?ang00220)

19. Alanine, aspartate and glutamate metabolism - *Aspergillus niger* [Електронний ресурс] // KEGG – Режим доступу до ресурсу: [https://www.genome.jp/kegg-bin/show\\_pathway?ang00250](https://www.genome.jp/kegg-bin/show_pathway?ang00250)

20. Phenylalanine, tyrosine and tryptophan biosynthesis - *Aspergillus niger* [Електронний ресурс] // KEGG – Режим доступу до ресурсу: [https://www.genome.jp/kegg-bin/show\\_pathway?ang00400](https://www.genome.jp/kegg-bin/show_pathway?ang00400)

21. Valine, leucine and isoleucine biosynthesis - *Aspergillus niger* [Електронний ресурс] // KEGG – Режим доступу до ресурсу: [https://www.genome.jp/kegg-bin/show\\_pathway?ang00290](https://www.genome.jp/kegg-bin/show_pathway?ang00290)

22. Cysteine and methionine metabolism - *Aspergillus niger* [Електронний ресурс] // KEGG – Режим доступу до ресурсу: [https://www.genome.jp/kegg-bin/show\\_pathway?ang00270](https://www.genome.jp/kegg-bin/show_pathway?ang00270)

23. Беккер З.Е. Загальна характеристика *Aspergillus niger*. Казанський національний дослідницький університет, 2012.

24. Способи культивування мікроорганізмів. Мікробіологія. Національний університет харчових технологій, 2016. – 51 с.

25. Красніков Д.В. Промислові біореактори (Види, схеми, принцип роботи, переваги, недоліки). Міністерство освіти і науки Російської Федерації Саратовський державний університет імені М. Г. Чернишевського, 2013. – 7 с.

26. Біореактор з нержавіючої сталі. Sinotech International Group, 2021. [Електронний ресурс]. – Режим доступу: [https://russian.alibaba.com/product-detail/51-101-501-1001-2001-10001-bioreactor-stainless-steel-1600101010853.html?spm=a2700.galleryofferlist.normal\\_offer.d\\_image.6352b4723RYb2W](https://russian.alibaba.com/product-detail/51-101-501-1001-2001-10001-bioreactor-stainless-steel-1600101010853.html?spm=a2700.galleryofferlist.normal_offer.d_image.6352b4723RYb2W)

27. ПЕНЧУК Ю.М. Загальна біотехнологія [Електронний ресурс]: Конспект лекцій для здобув. освітнього рівня «бакалавр» спеціальності 162

«Біотехнології та біоінженерія» освітньо-проф. прог. «Біотехнологія» ден. та заоч. форм навч. / Ю.М. Пенчук. – К.: НУХТ, 2019. – 80 с.

28. Дезінфекція способами зрошення та протирання, 2019. [Електронний ресурс]. Режим доступу:

<https://septolit.ru/blogs/novosti/dezinfekciya-sposobami-oroshenie-i-protiranie>

29. Засєкін Д., Пушкова А., Димко Р., Сучасні вимоги до мийно-дезінфікуючих засобів, 2017. [Електронний ресурс]. Режим доступу:

[http://ena.lp.edu.ua:8080/bitstream/ntb/41918/2/2017\\_Zasiekin\\_D-Suchasni\\_vymohy\\_do\\_myino\\_dezinfikuiuchykh\\_74.pdf](http://ena.lp.edu.ua:8080/bitstream/ntb/41918/2/2017_Zasiekin_D-Suchasni_vymohy_do_myino_dezinfikuiuchykh_74.pdf)

30. Полігексаметиленбігуанід гідрохлорид. SuperAgronom.com, 2016-2020. [Електронний ресурс]. Режим доступу:

<https://superagronom.com/substance/poligeksametilenbiguanid-gidrohlorid-id17955>

31. Дезинфицирующее средство "Легион Санитайзер" 0,5 % универсальный 10 л. ТОВ "Аверленд", 2020. [Електронний ресурс]. Режим доступу:

<https://prom.ua/p1158574611-dezinfitsiruyuschee-sredstvo-legion.html?>

32. Інструкція щодо застосування дезінфекційного засобу «ЛЕГІОН САНІТАЙЗЕР» (LEGION SANITIZER) з метою дезінфекції та достерилізаційного очищення, Біосанлайф, 2018. [Електронний ресурс]. Режим доступу:

<https://biosan.kiev.ua/ua/produkcija/organichni-dezinfektantiv-aboorganichni-dezinfikuyuchi-zasobi.html>

33. Інструкція щодо застосування дезінфікуючого засобу з мийною властивістю «ЛАСЕПТ 344-М», Харків, 2013. [Електронний ресурс]. Режим доступу:

[https://lasept.com.ua/sites/default/files/manuals/instrukciya\\_lasept\\_344-m\\_pticya.pdf](https://lasept.com.ua/sites/default/files/manuals/instrukciya_lasept_344-m_pticya.pdf)

34. Ласепт 344-М. ЛАБОРАТОРІЯ АНТИСЕПТИКИ, 2020. [Електронний ресурс]. Режим доступу:

<https://lasept.com.ua/uk/dlya-dezinfekciyi-na-ptahopererobnyh-pidpryyemstvah/lasept-344-m>

35. Методичні вказівки щодо застосування засобу “ДЕЗАНОЛ ОКСО” з метою дезінфекції, стерилізації та достерилізаційного очищення. ТОВ “Ордема”, Київ, 2013 . [Електронний ресурс]. Режим доступу:

[file:///E:/Downloads/mv\\_dezanol\\_okso.pdf](file:///E:/Downloads/mv_dezanol_okso.pdf)

36. Державний реєстр дезінфекційних засобів 2020 рік. [Електронний ресурс]. Режим доступу:

[https://moz.gov.ua/uploads/ckeditor/%D0%B4%D0%BE%D0%BA%D1%83%D0%BC%D0%B5%D0%BD%D1%82%D0%B8/%D0%94%D0%BE%D1%81%D1%82%D1%83%D0%BF%20%D0%B4%D0%BE%20%D0%BF%D1%83%D0%B1%D0%BB%D1%96%D1%87%D0%BD%D0%BE%D1%97%20%D1%96%D0%BD%D1%84%D0%BE%D1%80%D0%BC%D0%B0%D1%86%D1%96%D1%97/2020\\_%D1%80%D0%B5%D1%94%D1%81%D1%82%D1%80%20%D0%B4%D0%B5%D0%B7%D0%B7%D0%B0%D1%81%D0%BE%D0%B1%D1%96%D0%B21.pdf](https://moz.gov.ua/uploads/ckeditor/%D0%B4%D0%BE%D0%BA%D1%83%D0%BC%D0%B5%D0%BD%D1%82%D0%B8/%D0%94%D0%BE%D1%81%D1%82%D1%83%D0%BF%20%D0%B4%D0%BE%20%D0%BF%D1%83%D0%B1%D0%BB%D1%96%D1%87%D0%BD%D0%BE%D1%97%20%D1%96%D0%BD%D1%84%D0%BE%D1%80%D0%BC%D0%B0%D1%86%D1%96%D1%97/2020_%D1%80%D0%B5%D1%94%D1%81%D1%82%D1%80%20%D0%B4%D0%B5%D0%B7%D0%B7%D0%B0%D1%81%D0%BE%D0%B1%D1%96%D0%B21.pdf)

37. Лодигін А. Д., Абакумова Е. А. Біотехнологія отримання харчових і біологічно активних добавок та їх використання в харчових виробництвах: практичні роботи. Ставрополь, 2017. 49 с.

38. Рамні фільтр-преси. ENCE GmbH, 2021. Електронний ресурс [ Режим доступу]: [https://oil-filters.ru/frame\\_filters/](https://oil-filters.ru/frame_filters/)

39. Biomass FDA cGMP Filter Press 20 Cu Ft. SC Filtration, 2021. Електронний ресурс [ Режим доступу]: <https://sambocreeck.com/collections/filter-presses/products/biomass-fda-cgmp-filter-press-20-cu-ft>

40. Види мембранної фільтрації. JSC Ion exchange technologies, 2015. Електронний ресурс [ Режим доступу]: <https://translate.google.com/translate?hl=uk&sl=ru&u=http://iotech.ru/products/osmosis&prev=search&pto=aue>

41. Broderick A. J., Greenshields R. N. Sporulation of *Aspergillus niger* and *Aspergillus ochraceus* in Continuous Submerged Liquid Culture. *Journal of General Microbiology* (198 I), 126,193-202.

42. Муста Огли Н.М., Шарова Н.Ю., Выборнова Т.В. Біосинтез фітази мікроміцетом *Aspergillus niger*. Науковий журнал НДУ ІТМО. Серія «Процеси і апарати харчових виробництв» № 1, 2020.

43. Ecosoft UF-20 industrial ultrafiltration system. Ecosoft, 2021. Електронний ресурс [ Режим доступу]: <https://ecosoft.com/ecosoft-uf-20-industrial-ultrafiltration-system/>

44. Geetha S. Characteristics of Phytase Enzyme and Its Role in Animal Nutrition. Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci. 2018, 7(03): 1006-1013. doi: [10.20546/ijcmas.2018.703.120](https://doi.org/10.20546/ijcmas.2018.703.120).

45.Вакуумна низькотемпературна розпилювальна сушарка. Copyright © 2021 ETW International. Електронний ресурс [ Режим доступу]: <https://www.etwinternational.ru/1-5-low-temperature-spray-dryer-51418.html>

46. Шість переваг розпилювальної сушарки при низькій температурі. Vaporun Intelligence Tech. Електронний ресурс [ Режим доступу]: <http://www.myvapor-dryer.com/news/six-advantages-of-low-temperature-spray-dryer-31444644.html>

47. Бентоніт кормовий. АгроВектор. Електронний ресурс [ Режим доступу]: [https://agrovektor.com/ua/physical\\_product/991867-bentonit-kormovoy.html](https://agrovektor.com/ua/physical_product/991867-bentonit-kormovoy.html)

48. Мука зернових культур. Elevatorist. Електронний ресурс [ Режим доступу]: <https://elevatorist.com/blog/read/689-dve-problemyi-ukrainskih-mukomolov-s-chem-stolknulis-pererabotchiki-pshenitsyi-v-etom-sezone>

49.Данилов І.П. Апарати мікробіологічної промисловості: навч. посібник.- Харків: НТУ, 2008. 272 с .

50. Ладозим Прокси ENZIM Feeds – Фермент. Agronet. Електронний ресурс [ Режим доступу]: <https://agronet.ua/obyavlenie/id16477-ladozim-proksi-enzim-feeds-ferment>

51. Автомат для фасування сипких продуктів в пакети, 2015. Електронний ресурс [ Режим доступу]: <https://obyava.ua/ua/avtomat-dlya-fasovki-sypuchih-produktov-v-pakety-doy-pak-vesovym-sposobom-141157.html>

52. Устаткування для автоматичного зважування та маркування DIBAL LS-4000+, 2020. Електронний ресурс [ Режим доступу]: [https://dibal.ua/htm/weighing\\_and\\_labelling\\_ls4000p.htm](https://dibal.ua/htm/weighing_and_labelling_ls4000p.htm)

53. Красінько В.О. Методи контролю біотехнологічних, фармацевтичних і харчових виробництв [Електронний ресурс]: конспект лекцій для здобув. освіт. ступ. «бакалавр» спец. 162 «Біотехнології та біоінженерія» освіт.-проф. програми «Біотехнологія» ден. і заоч. форм навч. / В.О. Красінько. – К.: НУХТ, 2019. – 252 с.

54. Загальна (промислова) біотехнологія: навчальний посібник/ М.Д. Мельничук, О.Л.Кляченко, В.В.Бородай, Ю.В.Коломієць. – Київ: ФОП Корзун Д.Ю., 2014. - 252 с.

55. Вардоян, Гаянэ Сашиковна. Біосинтез ферменту фітаза грибом *Aspergillus niger*: дис. кандидат біологічних наук. – Біотехнологія, 1999. – 129 с.

56. Стародуб М. Ф., Канюк М. І., Шмирева О. М. Мікроелектронні мікроелектронні мультипараметричні біосенсори. Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України, Київ.- Біотехнологія, Т. 1, №1, 2008. – С. 61-73.

57. Бочкова Е. А. Мікробіологічна і молекулярно-біологічна характеристика мікробних анаеробне окислення амонію-спільноти лабораторного up-flow реактора. Федеральна державна установа «Федеральний дослідний центр «Фундаментальні основи біотехнології» Російської академії наук », 2016. – С. 181.

58. Препарати ферментні. Методи визначення ферментативної активності фітази. Міжнародний стандарт ГОСТ 31487, 2012. Електронний ресурс [ Режим доступу]: <https://files.stroyinf.ru/Data2/1/4293788/4293788190.pdf>

59. Термоперетворювач опору ТСП-1588. [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <https://polikrat.com/termopreobrazovatel-soprotivleniya-tsp-1588>

60. Електропневматичний міжсистемний перетворювач РС-28G/A. [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <https://aplisens.com.ua/product/pc-28g-a/>

61. Відсічний клапан з пневмоприводом, тип P152 ACL. [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <https://www.italgaz.com.ua/ua/pneumatic-valve/angle-seat-valve-acl-p150-p152.html>

62. рН-комбінований електрод APS-Z. [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <https://www.kobold.com/pH-%D0%BA%D0%BE%D0%BC%D0%B1%D0%B8%D0%BD%D0%B8%D1%80%D0%BE%D0%B2%D0%B0%D0%BD%D0%BD%D1%8B%D0%B9-%D1%8D%D0%BB%D0%B5%D0%BA%D1%82%D1%80%D0%BE%D0%B4-%D0%B3%D0%B5%D0%BB%D0%B5%D0%BD%D0%B0%D0%BF%D0%BE%D0%BB%D0%BD%D0%B5%D0%BD%D0%BD%D1%8B%D0%B9-APS-Z>

63. Датчик рівня рідини SHR-1-M ETI 2471205. [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <https://electrocontrol.com.ua/ua/rele/datchik-urovnya-zhidkosti-shr-1-m-eti-2471205>

64. Датчик розчиненого кисню ET-OXY1. [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <https://www.etatron.com.ua/pumps/sensor/et-oxy1/ASO0003901/>

65. Основні характеристики перетворювача тиску “DSP–01”: [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://grempis.com.ua/dsp/>

66. Промисловий тахометр С.А.1727. [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://mzpo.com.ua/catalogue/taxometry/139-ca-1727.html>

67. Біотехнології в екології: навч. посібник / А.І. Горова, С.М. Лисицька, А.В. Павличенко, Т.В. Скворцова. – Д. : Національний гірничий університет, 2012. – 184 с. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <http://ir.nmu.org.ua/jspui/bitstream/123456789/2622/1/%D0%9D%D0%A2%D0%91453689.pdf>

68. Шарга Б.М., Ніколайчук В.І., Мага І.М. ВЕРМІКУЛЬТУРА. Методичні рекомендації для студентів з курсу „Ґрунтознавство”, Ужгород-2006. [Електронний ресурс]. Режим доступу: [https://www.researchgate.net/profile/Boris\\_Sharga4/publication/288664474\\_Sarga\\_B\\_M\\_Nikolajcuk\\_VI\\_Maga\\_IM\\_Vermikultura\\_Uzgorod\\_Znanna-2006-\\_126\\_s\\_Sharga\\_VM\\_Nikolaychuk\\_VI\\_Maga\\_IM\\_Vermiculture\\_Uzhgorod\\_Znannya](https://www.researchgate.net/profile/Boris_Sharga4/publication/288664474_Sarga_B_M_Nikolajcuk_VI_Maga_IM_Vermikultura_Uzgorod_Znanna-2006-_126_s_Sharga_VM_Nikolaychuk_VI_Maga_IM_Vermiculture_Uzhgorod_Znannya)

-2006-\_126\_p/links/5682887d08aebccc4e0df707/Sarga-BM-Nikolajcuk-VI-Maga-IM-Vermikultura-Uzgorod-Znanna-2006-126-s-Sharga-BM-Nikolaychuk-VI-Maga-IM-Vermiculture-Uzhgorod-Znannya-2006-126-p.pdf

69. Газоочисне устаткування та охорона атмосферного повітря. Міністерство захисту довкілля та природних ресурсів України, 2020. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://myk.dei.gov.ua/posts/247>

70. Купчик М.П., Гандзюк М.П., Степанець І Ф, Основи охорони праці/ Міністерство освіти України, Український державний університет харчових технологій, Київ 2000. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://studfile.net/preview/4497493/>

71. Плани заходів підприємств по скороченню забруднення атмосфери, сточних вод, ґрунту і скороченню накоплення промислових і побутових відходів. [Електронний ресурс]. Режим доступу: [http://othoda.net/edu/pdf2/5\\_4.pdf](http://othoda.net/edu/pdf2/5_4.pdf)

Original article / Оригинальная статья

УДК 577.152.54:661.746.5

DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2020-10-2-232-239>

## Phytate hydrolysing activity of the *Aspergillus niger* L-4 micromycete strain

© Nargul M. Musta Ogly\*, Natalya Yu. Sharova\*\*

\*University of Information Technology, Mechanics and Optics,  
St. Petersburg, Russian Federation

\*\*All-Russian Research Institute of Food Additives – a branch  
of the Federal Scientific Center named after V.M. Gorbатов,  
St. Petersburg, Russian Federation

**Abstract:** The aim of the study was to study the phytase synthesis capability of *Aspergillus niger* L-4 strain. The method for determining phytase activity is based on establishing the content of inorganic phosphates as a result of the action of phytase on the substrate under certain standard conditions by binding them with a vanadium-molybdenum reagent to form a coloured complex. The use of phytases for the hydrolysis of phytates in animal feed is important from the point of view of preserving the environment: when phytate complexes are destroyed, phosphorus is released, which performs an important structural and regulatory function, ensuring the normal development of bone and dental tissues and supporting their safety and integrity. Phosphoric acid is involved in the synthesis of kinases responsible for the normal course of chemical reactions in cells, in fat metabolism, as well as in the synthesis and breakdown of starch and glycogen. This reduces the release of undigested phosphorus into the environment. The object of the study consisted of native solutions obtained by culturing an industrial strain of acid-forming *A. niger* L-4 on various carbohydrate-containing media. The *A. niger* L-4 strain, previously selected at the All-Russian Scientific Research Institute of Food Additives for fermentation of molasses, has the ability to synthesise extracellular phytase. This paper presents the results of studies of phytase activity during the cultivation of *A. niger* L-4 on carbohydrate-containing media. It was found that in order components of the sucrose-mineral medium provide an elevated level of low-molecular-weight sugars necessary for increasing the productivity of phytase biosynthesis. Phytase activity in the native solution was shown to increase over 72 hours of fermentation to reach a value of  $25.8 \pm 0.1$  units/cm<sup>2</sup>. The phytase activity was 1.5 times higher than the fermentation process of a corn starch hydrolysate with a dextrose equivalent DE =  $21 \pm 1$  %, ensuring the productive biosynthesis of citric acid.

**Keywords:** phytase, *A. niger* L-4, corn starch, sucrose

**Information about the article:** Received November 14, 2019; accepted for publication May 29, 2020 ; available online June 30, 2020.

**For citation:** Musta Ogly NM, Sharova NYu. Phytate hydrolysing activity of the *Aspergillus niger* L-4 micromycete strain. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya* = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology. 2020;10(2):232–239. (In English) <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2020-10-2-232-239>

+CT.5



ARD 33222-2015) and a corn starch hydrolysate with DE = 21 ± 1% (STATE STANDARD 32159-2013) were used as a carbohydrate source. The source of nitrogen was ammonium nitrate (STATE STANDARD 22867-77), the source of phosphorus was potassium phosphate monosubstituted (STATE STANDARD 4198-75).

The composition of the fermentation medium, g/dm<sup>3</sup>: carbohydrate substrate (conversion to glucose) – 150; ammonium nitrate (NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>) – 2.5; magnesium sulphate seven-water (MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O) – 0.25; potassium phosphate monosubstituted (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) – 0.16; pH 6.5 [16].

The process was carried out at a temperature of:

- at the stage of inoculum mycelium production – (38±1) °C for sugar-mineral medium, (32±1) °C – for hydrolysis of starch;
- at the fermentation stage – from (29±1) °C to (34±1) °C for the sugar-mineral medium and starch hydrolysate.

The duration of the process was 120 hours.

The ages of inoculum mycelium were 24, 36, and 48 hours. The amount of inoculum mycelium to the volume of the initial nutrient medium was 15 %.

Phytase activity (PhA) was evaluated by the

colorimetric method according to GOST (RF state standard) 31487-2012. The acid content was determined by titration. The protein content was determined according to the Lowry method. The biomass content with a residual moisture content of 10 % was determined by drying at a temperature of 105±5 °C for 24 hours.

The experimental data were processed using mathematical statistics methods and Excel XP programs.

## RESULTS

Productive biosynthesis of target metabolites is affected by conditions such as age and amount of seed mycelium, fermentation temperature.

Previous studies have shown that the productive biosynthesis of amylolytic enzymes by *A. niger* micromycetic acid-forming strains is achieved using seed mycelium in an amount of 15 % of the volume of the nutrient medium having ages of 24–36 h at a fermentation temperature of 32±1 °C regardless of the carbohydrate source [17, 18].

Figure 1 show the dynamics of changes in extracellular PhA for inoculum mycelium at ages of 24 hours, 36 hours and 48 hours.

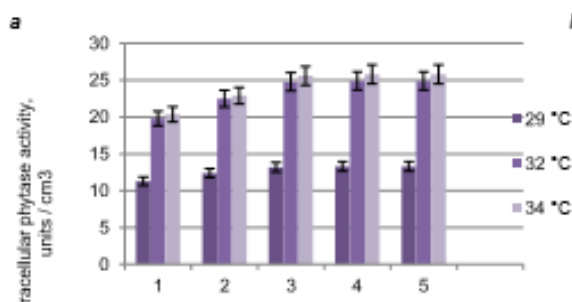
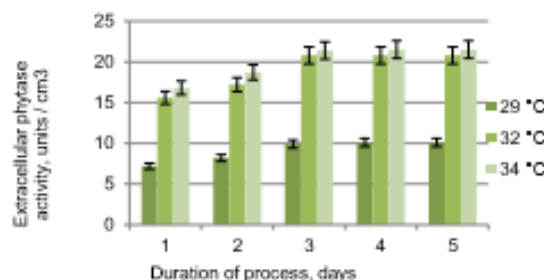
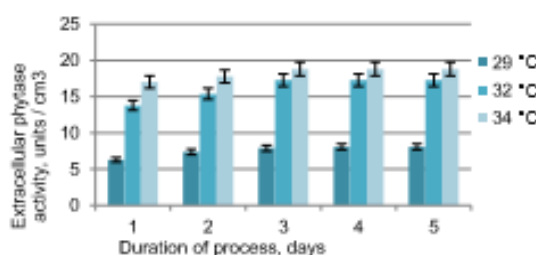


Table 2

Fermentation results of corn starch hydrolysate with DE = 21±1%  
(native solution, end of process, 120 h)

Результаты по ферментации гидролизата кукурузного крахмала с ДЕ = 21±1 %  
(нативный раствор, конец процесса, 120 ч)

Name of substrate	Enzymatic activity, u/cm <sup>3</sup>	pH	Amount of synthesised acid, g	Protein content, mg / cm <sup>3</sup>
Starch Hydrolysate	17.3±0.2	1.6	6.8±0.1	0.8±0.1
Crystalline sugar (sucrose mineral medium)	25.8±0.1	1.9	5.6±0.1	1.1±0.1

The research results showed that the maximum level of extracellular PhA is achieved using a 48-hour seed mycelium at a process temperature of 34 °C. The specific PhA (23.4±0.1 u/mg protein) exceeded that for the process proceeding at a temperature of 32 °C by 1.5–1.7 times.

Figure 2 show the dynamics of changes in PhA during cultivation of *A. niger* L-4 micromycete on a corn starch hydrolysate with DE=20.9±0.5 %.

The results of the studies showed that the phytase activity taking place during the fermentation of starch hydrolysate with DE=20.9±0.5 %, as well as during fermentation of the sugar-mineral medium, increased throughout the process, becoming most prominent at a process temperature of 34 °C with the use of seed mycelium having an age of 48 hours

The protein concentration at the end of the fermentation process of both the sucrose mineral medium and the starch hydrolysate decreased, which may be due to the synthesis of proteinases, as was revealed in other works [19]. The protein content during the fermentation of starch hydrolysate and of the sucrose-mineral medium was at the same level (Table 2).

A comparative analysis of the data showed that, in order to increase the productivity of phytase biosynthesis, a higher content of low molecular weight sugars is necessary. The studied starch hydrolysate contains glucose in an amount of 3±1 %, maltose 20±1 % and dextrans 77±1 % in

the total amount of carbohydrates. When cultivating an *Aspergillus* strain, maltose and dextrans are hydrolysed by their own amyolytic enzymes into glucose, which is involved in the process of acid formation. Sucrose-mineral medium contains only sucrose, which in the process of fermentation, under the influence of its own enzymes, hydrolyses to glucose and fructose. It is of interest to study the process of phytase biosynthesis during the fermentation of a corn starch hydrolysate with a deeper degree of hydrolysis.

Taking a comparative approach, the authors of [20] established the following parameters for productive phytase biosynthesis by means of *A. niger* micromycete-acid former: carbon source – sucrose (1.0 %); nitrogen source – ammonium nitrate (0.5 %); temperature – 30 °C; pH = 5.5.

#### CONCLUSION

The *Aspergillus niger* L-4 micromycete strain shows a high extracellular phytate hydrolysis activity. The above results allow us to conclude that the sucrose-mineral medium is an advantageous medium for productive phytase biosynthesis using *A. niger* L-4. To increase phytase activity, it is necessary to conduct studies to optimise cultivation parameters: concentration of carbohydrate and nitrogen-containing sources, macro- and microelements, pH and temperature, oxygen concentration, etc.

---

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ  
(МГС)  
INTERSTATE COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION  
(ISC)

---

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ  
СТАНДАРТ

ГОСТ  
31487—  
2012

---

**ПРЕПАРАТЫ ФЕРМЕНТНЫЕ**  
**Методы определения ферментативной  
активности фитазы**

Издание официальное



Москва  
Стандартинформ  
2012

## 4 Метод определения ферментативной активности фитазы с образованием молибденовой сини

### 4.1 Характеристика метода

4.1.1 Метод основан на количественном определении содержания неорганических фосфатов ( $PO_4$ ), образующихся в результате действия фермента фитазы на субстрат — фитат натрия (натриевую соль фитиновой кислоты) при определенных стандартных условиях, путем их связывания молибдатом натрия и восстановлением двуххлористым оловом с образованием окрашенного в синий цвет комплекса — молибденовой сини.

Метод используется при возникновении разногласий в качестве арбитражного.

4.1.2 За единицу фитазной активности (1 ед. ФА) принимают количество фермента, катализирующее гидролиз фитата натрия с образованием 1 мкмоль неорганического фосфата за одну минуту в стандартных условиях (температура — 37 °С, значение рН 5,5, продолжительность гидролиза — 15 мин).

4.1.3 Интенсивность окраски измеряют фотоколориметрическим методом при длине волны от 650 до 700 нм.

4.1.4 Количество выделенных неорганических фосфатов определяют по градуировочному графику, построенному как функция оптической плотности от молярной концентрации фосфатов, мкмоль/см<sup>3</sup>.

Метод позволяет определять от 0,05 до 0,40 мкмоль/см<sup>3</sup> фосфатов. Диапазон измерений контролируемого показателя от 500 до 8000 ед. ФА.

### 4.2 Средства измерений, вспомогательное оборудование, реактивы

4.2.1 Для определения ферментативной активности фитазы используют следующие средства измерений и оборудование:

- фотозлектроколориметр (ФЭК) любого типа, который обеспечивает измерения при длине волны от 650 до 700 нм, с погрешностью измерения коэффициента пропускания не более 1 % (не более 0,01 единицы оптической плотности);
- рН-метр с набором электродов для измерения в диапазоне от 0 до 14 рН, с пределом допускаемой погрешности в эксплуатации  $\pm 0,1$  рН;
- магнитную мешалку любой марки, которая обеспечивает скорость вращения до 800 мин<sup>-1</sup>;
- ультратермостат или водяной термостат с точностью регулирования температуры  $\pm 1$  °С;
- лабораторную центрифугу любого типа, которая обеспечивает скорость вращения не менее 7000 мин<sup>-1</sup>;
- весы лабораторные по ГОСТ 24104, высокого класса точности, с наибольшим пределом взвешивания 200 г, ценой поверочного деления 0,1 мг и пределом допускаемой погрешности в эксплуатации  $\pm 0,15$  мг; с наибольшим пределом взвешивания 1 кг, ценой поверочного деления 20 мг и пределом допускаемой погрешности в эксплуатации  $\pm 30$  мг;
- водяную баню любого типа, которая обеспечивает поддержание температуры  $(100 \pm 1)$  °С;
- таймер любого типа с погрешностью  $\pm 30$  с;
- шкаф сушильный, обеспечивающий температуру нагрева  $(120 \pm 5)$  °С;
- вытяжной шкаф любого типа;
- механическую мельницу, обеспечивающую размалывание исследуемого образца ферментного препарата до полного прохода пробы через сито;
- сито с диаметром отверстий 1,0 мм, сделанное из металлического проволочного тканого материала.

Рабочая зона градуировочного графика лежит в пределах от 0,25 до 0,60 единиц оптической плотности (ед. ОП).

Для построения каждой точки градуировочного графика вычисляют средневзвешенное значение оптической плотности трех параллельных измерений.

Градуировочный график строят для каждой новой партии реактивов, а также при замене прибора.

#### **4.4 Отбор и подготовка проб**

##### **4.4.1 Отбор проб**

Отбор проб проводят по ГОСТ 20264.0.

Анализируемые образцы в форме порошка или микрокапсулированные можно использовать без предварительной подготовки. Анализируемые образцы в форме гранул следует измельчать (например, на зерновой мельнице или в фарфоровой ступке) и просеивать через сито с диаметром отверстий не более 1 мм.

##### **4.4.2 Приготовление основного раствора анализируемого образца**

В плоскодонную стеклянную колбу помещают навеску анализируемого образца массой от 0,1 до 10 г с точностью до 0,2 мг и суспендируют в небольшом количестве бидистиллированной воды (до 50 см<sup>3</sup>) на магнитной мешалке в течение 15 мин (порошок, микрогранулы, микрокапсулы) или 60 мин (корма, кормовые смеси). Суспензию количественно переносят в мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> и доводят объем бидистиллированной водой до метки. Полученную суспензию центрифугируют при частоте вращения 7000 мин<sup>-1</sup> в течение 15 мин. Для анализа используют надосадочную жидкость.

Раствор готовят в день определения.

##### **4.4.3 Приготовление рабочего раствора анализируемого образца**

Рабочий раствор готовят из основного раствора по 4.4.2 путем его разведения в бидистиллированной воде (например, в 20 раз) таким образом, чтобы при определении активности оптические плотности опытных и контрольного растворов находились в пределах рабочей зоны градуировочного графика.

#### **4.5 Проведение анализа**

4.5.1 В три пробирки (две опытные и одну контрольную) вносят по 1,0 см<sup>3</sup> рабочего раствора анализируемого образца по 4.4.3. Пробирки помещают в ультратермостат или водяную баню с температурой  $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$  и выдерживают в течение 5 мин.

4.5.2 В две опытные пробирки добавляют по 1,0 см<sup>3</sup> раствора субстрата фитата натрия по 4.3.4, предварительно выдержанного в ультратермостате или водяной бане с температурой  $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$  в течение 5 мин, и перемешивают. Пробирки помещают в ультратермостат или водяную баню с температурой  $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$  на 15 мин.

4.5.3 В контрольную пробирку вносят 1,0 см<sup>3</sup> раствора субстрата фитата натрия по 4.3.4. В контрольную и две опытные пробирки добавляют по 2,0 см<sup>3</sup> раствора натрия молибдата по 4.3.2 и 0,5 см<sup>3</sup> рабочего раствора олова хлорида по 4.3.3 и тщательно перемешивают.

4.5.4 Пробирки (две опытные и одну контрольную) выдерживают одну минуту при комнатной температуре. Растворы колориметрируют при длине волны от 650 до 700 нм в кювете с толщиной поглощающего свет слоя 3 мм, против контроля на реактивы. При необходимости (опалесценция, взвесь и т. д.) раствор центрифугируют при 7000 мин<sup>-1</sup>.

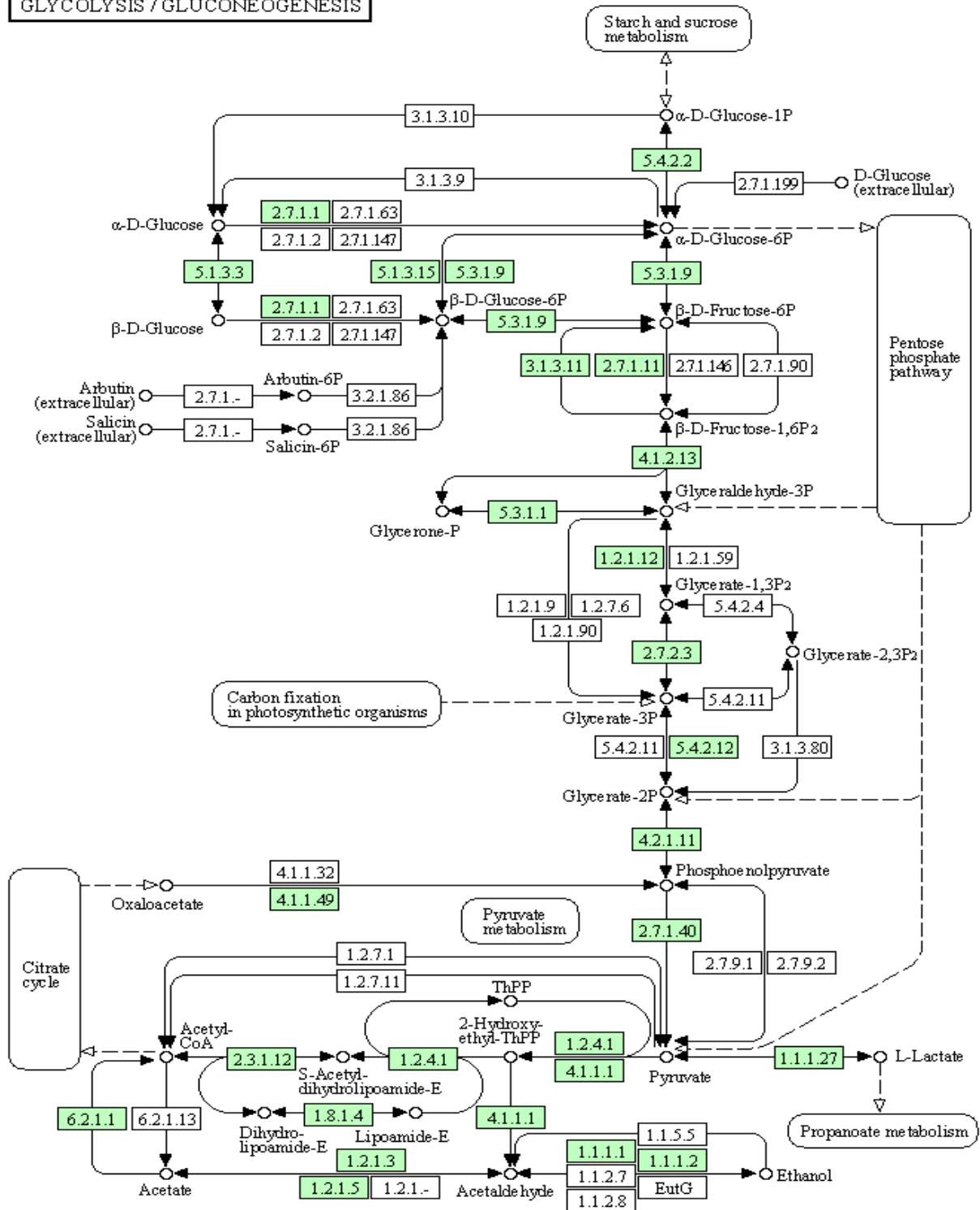


**Ферменти:**

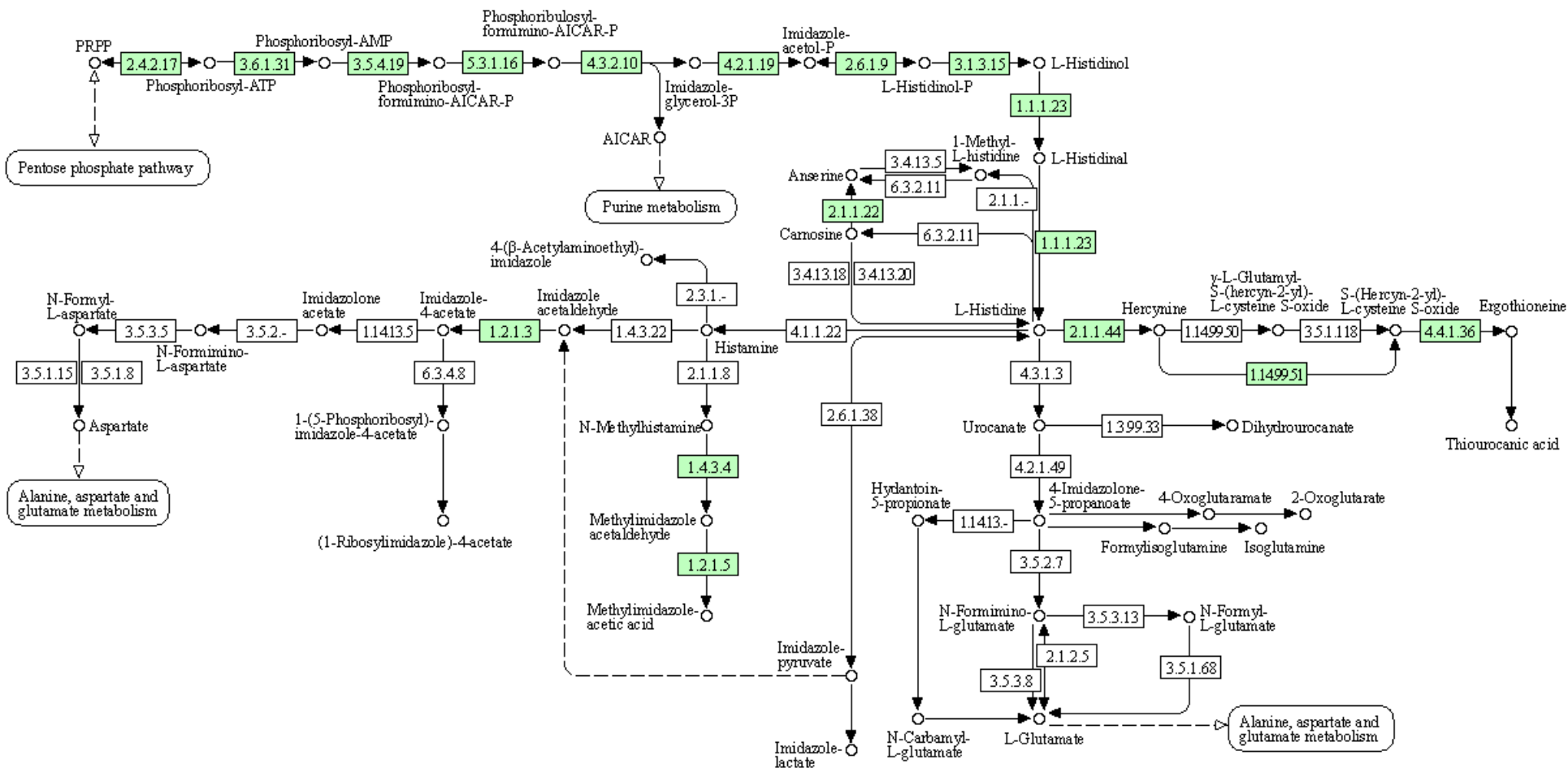
- 3.2.1.20 - альфа-глюкозидаза
- 3.2.1.26 - бета-фруктофуранозидаза
- 2.7.1.1 - гексокіназа
- 5.4.2.2 - фосфоглюкомутаза
- 5.3.1.9 - глюкозо-6-фосфат ізомераза
- 3.1.1.31 - 6-фосфоглюконолактоназа
- 1.1.1.44 - фосфоглюконатдегідрогеназа
- 1.1.1.343 - фосфоглюконатдегідрогеназа
- 5.1.3.1 - фосфорибулоза епімераза
- 2.2.1.1 - транскетолаза
- 5.3.1.9 - глюкозо-6-фосфат ізомераза
- 2.7.6.1 – фосфорибозилпірофосфат синтетаза
- 2.2.1.7 – 1-дезоксид-ксилозо-5-фосфатна синтаза
- 2.4.2.17 - фосфорибозилтрансфераза
- 3.6.1.31, 3.5.4.19, 1.1.1.23 - фосфорибозил-АТФ пірофосфогідролаза / фосфорибозил-АМФ циклогідролаза / гістидиолдегідрогеназа
- 5.3.1.16 - фосфорибозилформаїно-5-аміноімідазол карбоксамід-риботид
- 4.3.2.10 - циклаза
- 4.2.1.19 - імідазоле-глицерол-фосфатдегідратаза
- 2.6.1.9 - гістидиол-фосфатна аміотрансфераза
- 3.1.3.15 – дегідрогеназа алкоголю (НАДФ+)
- 3.1.3.11 - фруктозо-1,6-бісфосфатаза
- 2.7.1.11 - фосфофрукто кіназа
- 4.1.2.13 - фруктозодифосфат альдолаза
- 5.3.1.1 - тріозофосфатізомераза
- 1.2.1.12 - гліцераальдегідфосфатдегідрогеназа
- 2.7.2.3 - фосфогліцераткіназа
- 5.4.2.12 - монофосфогліцеромутаза
- 4.2.1.11 - енолаза
- 2.7.1.40 - піруваткіназа
- 1.1.1.95 - фосфогліцератдегідрогеназа
- 2.6.1.52 - фосфосерин трансміназа
- 3.1.3.3 - фосфосеринфосфатаза
- 2.1.2.1 - серинова альдолаза
- 2.5.1.47 - цистеїн-синтаза
- 4.1.1.49 - фосфоенолпіруват карбоксикіназа
- 2.3.3.1 - цитрат оксалоацетат ліаза
- 2.3.3.8 - децилгомоцитрат синтетаза
- 4.2.1.3 - цис-аконітаза
- 1.1.1.41 - ізоцитрат дегідрогеназа
- 6.2.1.4 - сукциніл-КоА синтетаза
- 6.2.1.5 - сукцинатнатіюкіназа
- 1.3.5.1 - сукцинтадегідрогеназа
- 4.2.1.2 - фумарат гідратаза
- 1.1.1.37 - малатдегідрогеназа
- 2.3.3.14 - гомоцитратсинтетаза
- 4.2.1.- - гомоаконітаза
- 4.2.1.36 - гомоаконітатгідратаза
- 1.1.1.87 - гомоізоцитратдегідрогеназа
- 2.6.1.39 - 2-аміноадипаттрансфераза
- 1.2.1.95 - L-2-аміноадипатредуктаза
- 1.5.1.10 - сахаропіндегідрогеназа
- 1.5.1.7 – сахаропіндегідрогеназа
- 2.6.1.1 - аспартат-трансміназа
- 2.6.1.2 - аланін трансміназа
- 2.1.3.3 - орнітин карбамоїлтрансфераза
- 6.3.4.5 – аргініносукцинатна синтаза
- 4.3.2.1 - аргініносукциральний ліаза
- 3.5.1.3 - омега-амідаза
- 1.4.1.14 - глутамат-синтаза
- 6.3.1.2 - глутамін синтетаза
- 1.2.1.88 - L-глутамат гама-полуалдегіддегідрогеназа
- 1.5.1.2 - піролін-5-карбоксилат редуктаза
- 2.5.1.54 - 3-дезоксид-7-фосфогептулатсинтетаза
- 4.2.3.4 - 3-дегідрохінат синтетаза
- 4.2.1.10 - 3-дегідрохінат дегідратаза
- 1.1.1.25 - шикімаатдегідрогеназа
- 2.7.1.71 - шикімаат-кіназа
- 2.5.1.19 - 3-фосфощикімаат-1-карбоксивінілтрансфераза
- 4.2.3.5 - хоризмат-синтаза
- 5.4.99.5 - гідроксифенілпіруватсинтетаза
- 4.2.1.51 - префенатдегідратаза
- 1.3.1.13 - префенатдегідрогеназа
- 2.6.1.5 - тирозин трансміназа
- 2.6.1.57 - ароматична-амінокислотна трансміназа ε
- 4.1.3.27 - антранілат - синтетаза
- 2.4.2.18 - антранілат фосфорибосілтрансфераза
- 5.3.1.24 - фосфорибосилантранілат-ізомераза
- 4.1.1.48 - індол-3-гліцерин-фосфатна синтаза
- 4.2.1.20 - триптофан-синтаза
- 2.2.1.6 - ацетолактатна синтетаза
- 1.1.1.86 - дигідроксиізовалератдегідрогеназа
- 4.2.1.9 - ацетогідроксикислотна дегідрогеназа
- 2.6.1.42 - трансміназа В
- 2.3.3.13 - 2-ізопропілмалат синтаза
- 4.2.1.33 - 3-ізопропілмалат дегідратаза
- 1.1.1.85 - 3-ізопропілмалат дегідрогеназа
- 2.6.1.2 - аланін трансміназа
- 2.6.1.1 - аспартат-трансміназа
- 2.7.2.4 - аспартат кіназа
- 1.2.1.11 - аспартат-семіальдегід дегідрогеназа
- 1.1.1.3 - гомоаспартатдегідрогеназа
- 6.3.4.5 - аргініносукцинатна дегідрогеназа
- 2.7.1.39 - гомосерин кіназа
- 4.2.3.1 - треонін синтетаза
- 2.3.1.31 - гомосеринацетилтрансфераза
- 2.5.1.48 - цистатіонін гамма-синтаза
- 2.1.1.10 - гомоцистеїн S-метилтрансфераза
- 2.1.1.14 - гомоцистеїн метил аза
- 4.1.1.32 – фосфоенолпіруваткарбоксилаза**
- 6.4.1.1 – піруваткарбоксилаза**
- 1.1.1.37 – малатдегідрогеназа**
- 2.3.3.8 – АТФ цитратна ліаза**
- 2.3.3.1 – цитрат синтетаза**
- 4.2.1.3 – аконітат гідролаза**
- 1.1.1.41 – ізоцитратдегідрогеназа (НАДФ+)**



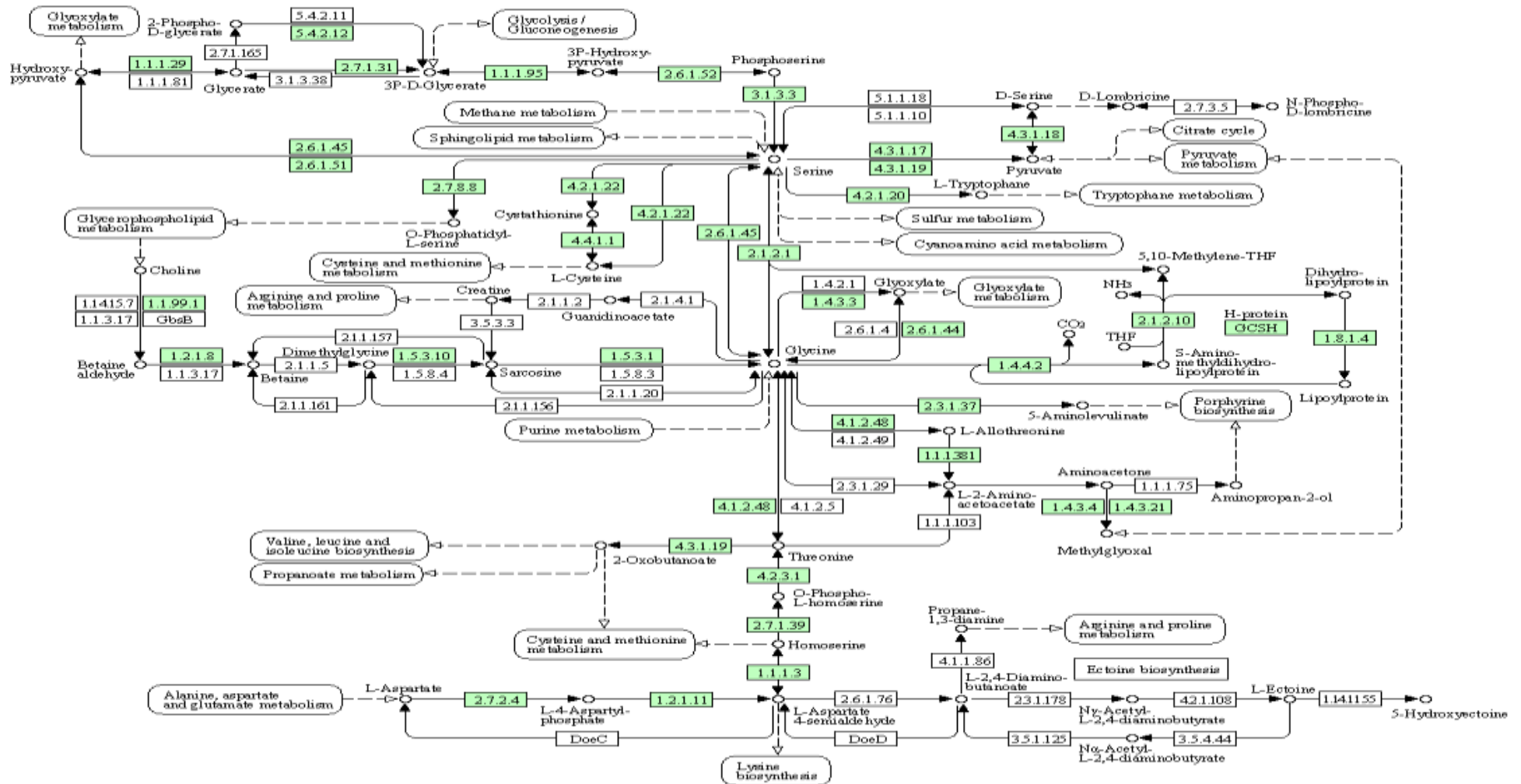
GLYCOLYSIS / GLUCONEOGENESIS

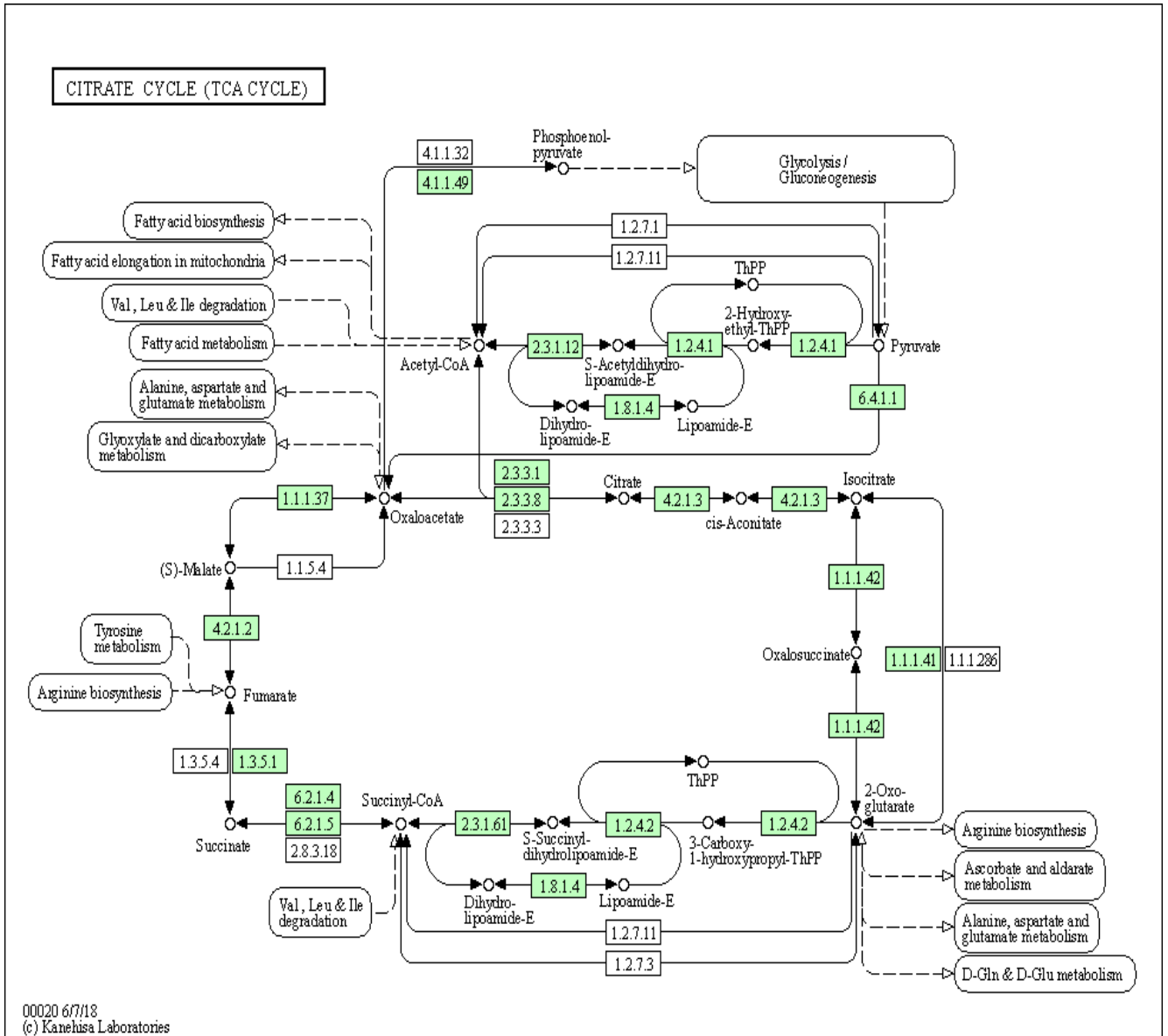


HISTIDINE METABOLISM



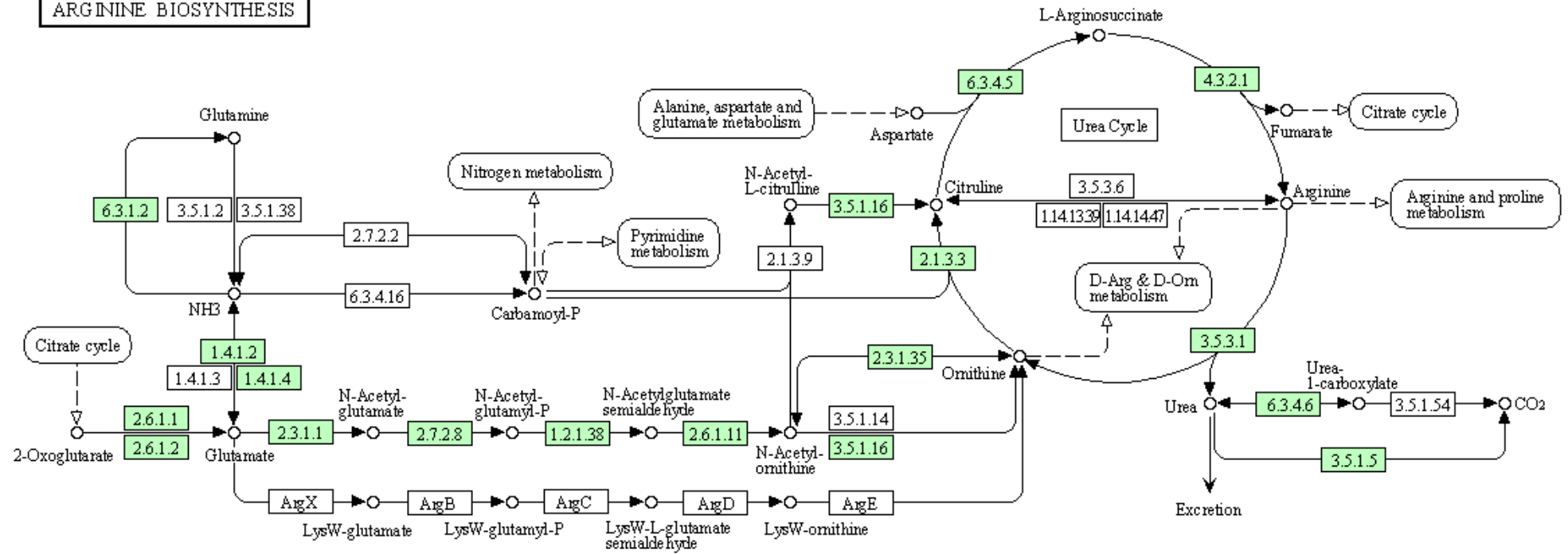
GLYCINE, SERINE AND THREONINE METABOLISM





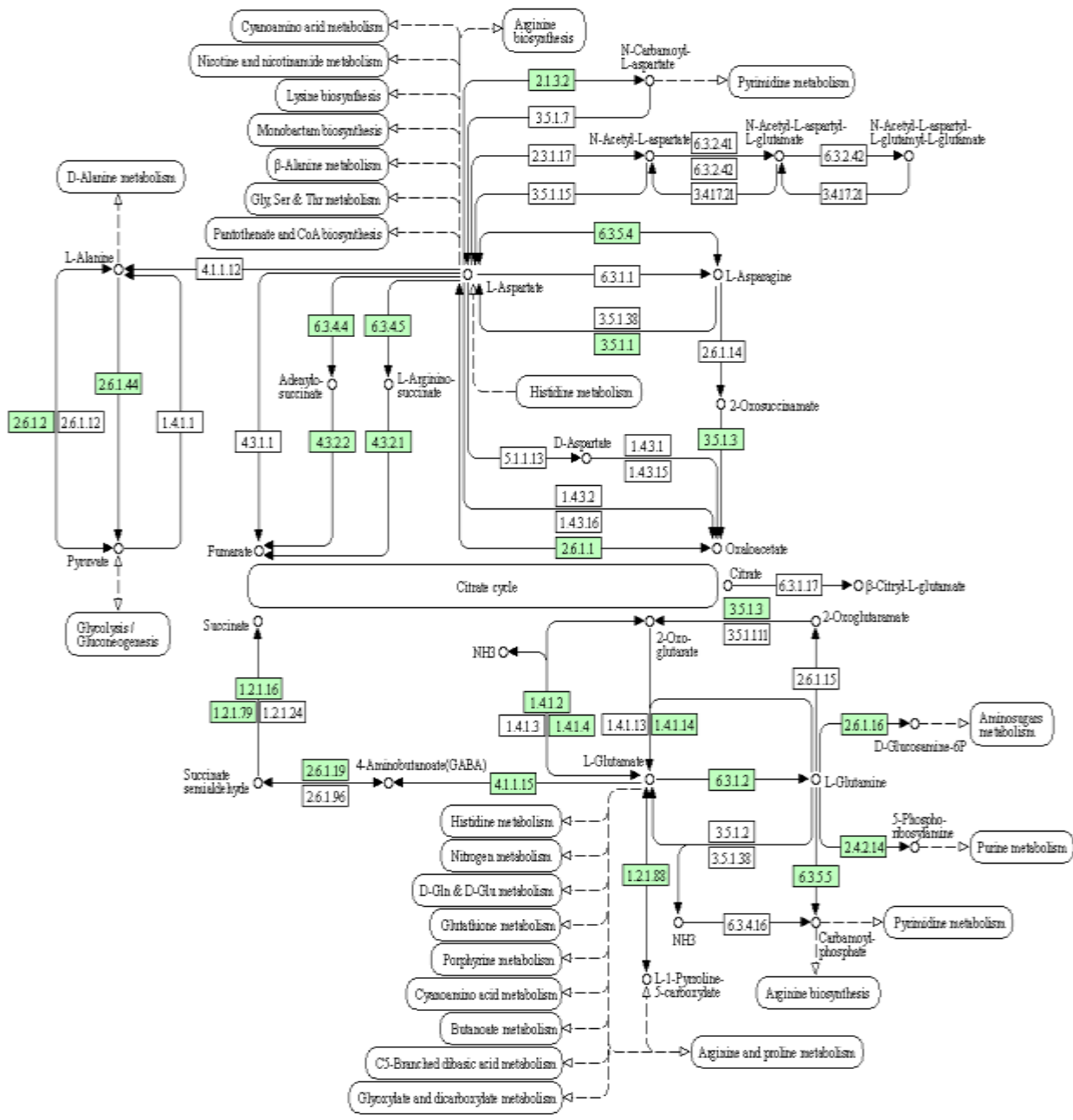


ARGININE BIOSYNTHESIS



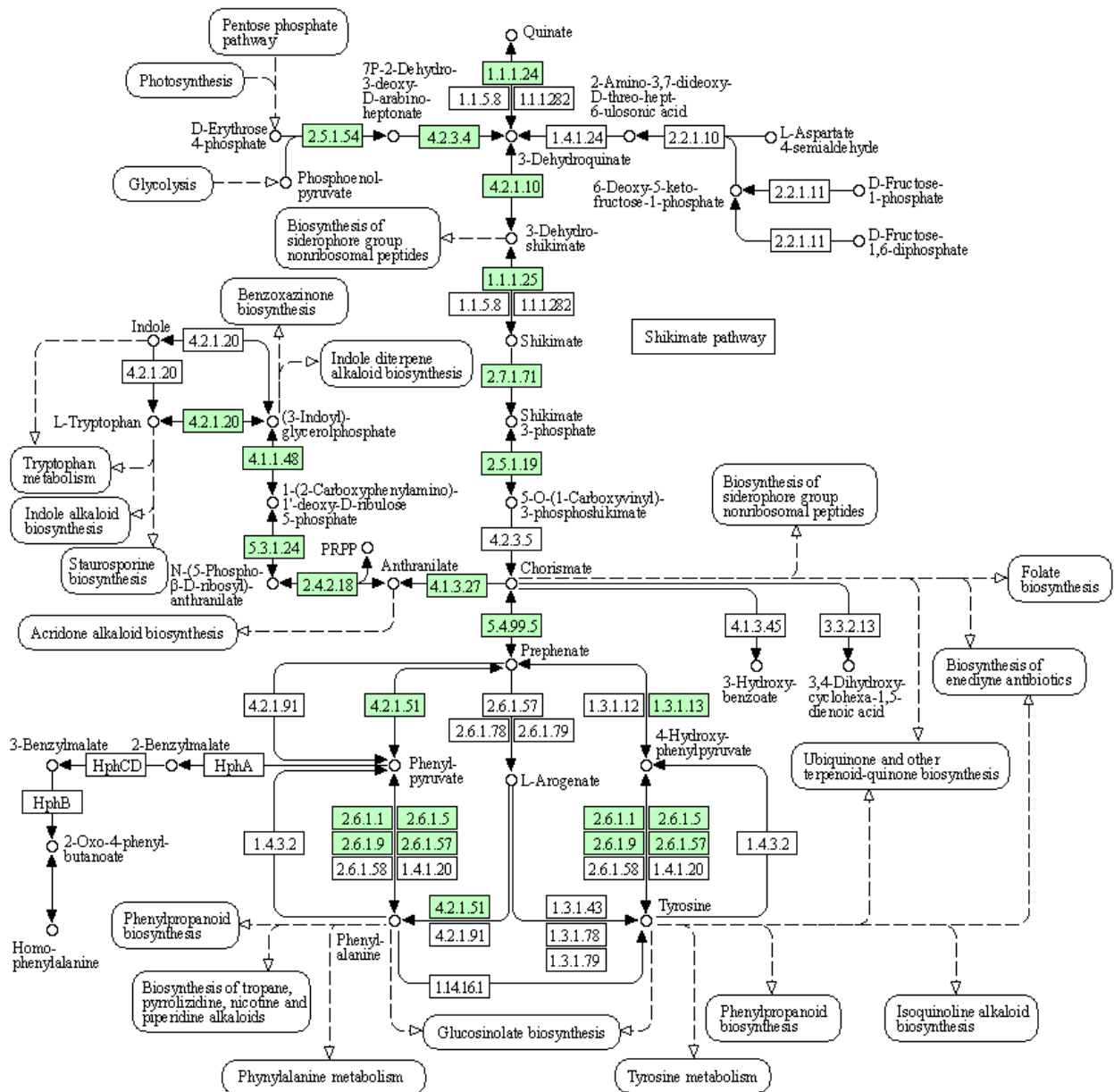
00220 7/20/17  
 (c) Kanehisa Laboratories

ALANINE, ASPARTATE AND GLUTAMATE METABOLISM

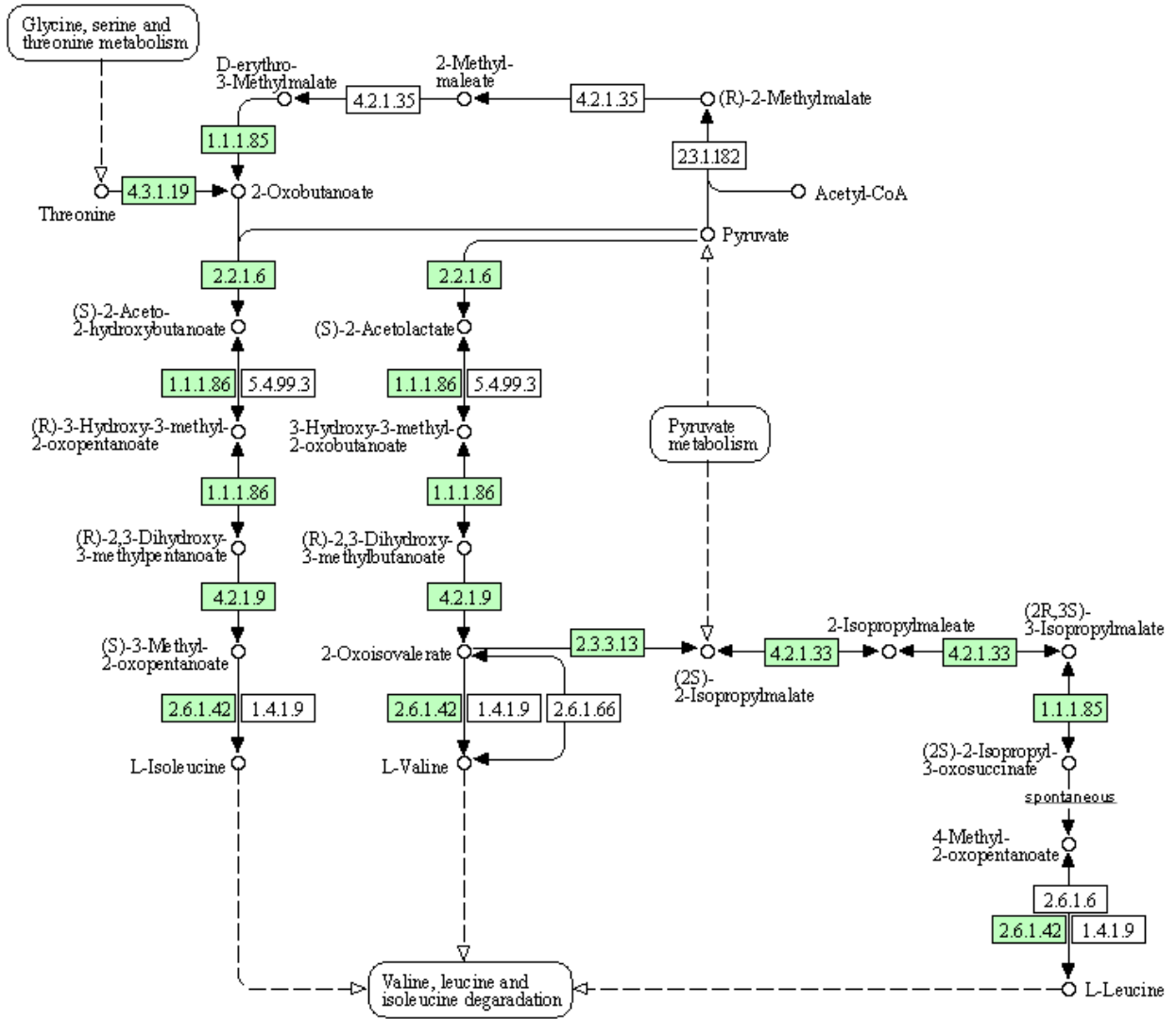


00250 8/3/18  
(c) Kazuhisa Laboratories

PHENYLALANINE, TYROSINE AND TRYPTOPHAN BIOSYNTHESIS



VALINE, LEUCINE AND ISOLEUCINE BIOSYNTHESIS



CYSTEINE AND METHIONINE METABOLISM

