

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ
Інститут (факультет) Біотехнології та екологічного контролю
Кафедра біотехнології і мікробіології

«До захисту в ЕК»

Директор інституту(декан факультету)

Наталія ГРЕГІРЧАК

(підпис)

(ім'я та прізвище)

«__» _____ лютого _____ 2024 р.

«До захисту допущено»

Завідувач кафедри

Віктор СТАБНИКОВ

(підпис)

(ім'я та прізвище)

«__» _____ лютого _____ 2024 р.

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

НА ЗДОБУТТЯ ОСВІТНЬОГО СТУПЕНЯ БАКАЛАВРА

зі спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія»

(код та назва спеціальності)

освітньо-професійної програми «Біотехнології: фармацевтична, промислова, харчова, природоохоронна»

на тему: «Культивування *Streptomyces griseus* для одержання стрептоміцину»

Виконав: здобувач 5 курсу, групи 1

ЯКОВЛЕВ Андрій Вячеславович

(прізвище, ім'я, по батькові повністю)

(підпис)

Керівник СКРОЦЬКА Оксана Ігорівна

(прізвище, ім'я, по батькові повністю)

(підпис)

Консультанти _____

(ім'я та прізвище)

(підпис)

(ім'я та прізвище)

(підпис)

(ім'я та прізвище)

(підпис)

Рецензент _____

(ім'я та прізвище)

(підпис)

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

Здобувач _____

(підпис)

Київ – 2024 р

НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ
Інститут (факультет) біотехнології та екологічного контролю
Кафедра біотехнології і мікробіології
Освітній ступінь бакалавр
Спеціальність 162 «Біотехнології та біоінженерія»

(код і назва)

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

(назва)

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри

біотехнології і мікробіології

Віктор СТАБНИКОВ

«30» жовтня 2023 року

ЗАВДАННЯ

НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ ЗДОБУВАЧА

ЯКОВЛЕВА Андрія Вячеславовича

(прізвище, ім'я, по батькові)

1. Тема роботи «Культивування *Streptomyces griseus* для одержання стрептоміцину»

керівник роботи СКРОЦЬКА Оксана Ігорівна, доцент.

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

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

2. Строк подання здобувачем роботи 29.01.2024

3. Вихідні дані до роботи: біологічний агент: *Streptomyces griseus*; цільовий продукт: стрептоміцин; геометричний об'єм ферментера: 10 м³; коефіцієнт заповнення: 0,6

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

Характеристика цільового продукту; обґрунтування вибору та характеристика

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

контроль виробництва;

5. Перелік графічного матеріалу

Технологічна схема біосинтезу стрептоміцину - 1 аркуш формату А1

Апаратурна схема біосинтезу стрептоміцину - 2 аркуші формату А1

6. Консультанти розділів роботи

Розділ	Прізвище, ініціали та посада консультанта	Підпис, дата	

7. Дата видачі завдання 30 жовтня 2023 року

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№	Назва етапів виконання кваліфікаційної роботи	Строк виконання етапів роботи	Примітка
1.	<i>Характеристика цільового продукту</i>	<i>30.10.2023– 06.11.2023</i>	
2.	<i>Обґрунтування вибору та характеристика біологічного агента</i>	<i>07.11.2023-30.11.2023</i>	
3.	<i>Техніко-економічне обґрунтування</i>	<i>01.11.2023-04.12.2023</i>	
4.	<i>Обґрунтування вибору технологічної схеми виробництва</i>	<i>05.12.2023-11.12.2023</i>	
5.	<i>Специфікація обладнання</i>	<i>12.12.2023-25.12.2023</i>	
6.	<i>Опис технологічної схеми</i>	<i>26.12.2023-31.12.2023</i>	
7.	<i>Контроль виробництва</i>	<i>01.01.2024-08.01.2024</i>	
8.	<i>Оформлення кваліфікаційної роботи</i>	<i>09.01.2024-15.01.2024</i>	
9.	<i>Оформлення графічної частини</i>	<i>16.01.2024-22.01.2024</i>	

Здобувач

(підпис)

Андрій ЯКОВЛЕВ

(ім'я та прізвище)

Керівник роботи

(підпис)

Оксана СКРОЦЬКА

(ім'я та прізвище)

РЕФЕРАТ

Кваліфікаційну роботу присвячено розробці технологічної та апаратурної схеми біосинтезу стрептоміцину штамом *Streptomyces griseus* HUT 6037, який синтезує 155 г/л цільового продукту. Розрахована потужність виробництва становить 696 м³ культуральної рідини за рік. Технологічний процес складається з допоміжних (приготування мийних засобів, підготовка аераційного повітря, приготування та стерилізація поживного середовища, титрувальних розчинів, та ін.) та основних робіт (вирощування інокуляту в колбах на качалці, інокуляторі та посівному апараті, виробничого біосинтезу).

Кваліфікаційна робота викладена на 90 сторінках друкованого тексту, містить 4 таблиці, 1 рисунок і складається з вступу, восьми розділів, списку використаної літератури (59 джерел) та графічної частини (3 креслення формату А1).

Ключові слова: стрептоміцин, *Streptomyces griseus* HUT 6037, глюкоза, біосинтез.

ЗМІСТ

ВСТУП	7
РОЗДІЛ 1. ХАРАКТЕРИСТИКА КІНЦЕВОЇ ПРОДУКЦІЇ ВИРОБНИЦТВА	9
РОЗДІЛ 2. ОБГРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТА ХАРАКТЕРИСТИКА БІОЛОГІЧНОГО АГЕНТА	13
2.1. Обґрунтування вибору біологічного агента та поживного середовища для його культивування	13
2.2. Морфолого-культуральні та фізіолого-біохімічні ознаки біологічного агента	20
2.3. Таксономічний статус біологічного агента.....	23
РОЗДІЛ 3. ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБГРУНТУВАННЯ	0
3.1. Потреба у цільовому продукті.....	0
3.2. Розрахунок потужності виробництва	3
3.3. Розрахунок кількості виробничих циклів для отримання річної потреби продукту і геометричного об'єму ферментера	4
3.4. Розрахунок кількості стадій підготовки посівного матеріалу	5
3.5. Біосинтез цільового продукту.....	6
РОЗДІЛ 4. ОБГРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ	8
4.1. Обґрунтування способу культивування і типу ферментера	8
4.2. Обґрунтування вибору стадії підготовки повітря.....	10
4.3. Особливості підготовки та стерилізації поживного середовища	11
РОЗДІЛ 5. СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ	14
РОЗДІЛ 6. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ	27
РОЗДІЛ 7. КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА	39
7.1. Карта постадійного контролю доферментаційних процесів та процесу виробничого біосинтезу.....	39
7.2. Мікробіологічний контроль	51
7.3. Показники росту і синтезу цільового продукту.....	53
7.3.1. Концентрація цільового продукту.....	53
7.3.2. Концентрація джерела вуглецю та азоту	53

РОЗДІЛ 8. ОХОРОНА ДОВКІЛЛЯ	56
8.1. Аналіз технологічної схеми виробництва цільового продукту на місцях емісії твердих, рідких та газоподібних відходів	56
8.2. Перспективи впровадження системи екологізації виробництва.....	57
8.2.1. Система знешкодження та утилізації рідких відходів	57
8.2.2. Система знешкодження та утилізації газоповітряних відходів	58
8.2.3. Система знешкодження та утилізації твердих відходів	59
СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ	60

ВСТУП

Актуальність. За сучасними даними на світовому бізнес ринку щороку на 10-15% зростає вага біотехнологічного сектору. Серед напрямків роботи біотехнологічного підприємництва ключову позицію займає промислова фармація. США є лідером цієї частини ринку тому що їх виробництво складає приблизно 50% світової продукції біотехнологічної галузі, у тому числі фармацевтичної. Серед хімотерапевтичних препаратів найбільшу долю складають саме антибіотики, незалежно від походження. Серед них препарати медичного призначення для лікування людей, тварин та біологічно активні речовини як додаток до харчових або питних сумішей для їх годування.

Досліджуваний мною антибіотик - стрептоміцин має широкий спектр антимікробної дії.

Він є активним щодо *Mycobacterium tuberculosis*, *Escherichia coli*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Salmonella spp.*, *Shigella spp.*, *Yersinia spp.*, *Klebsiella spp.*, *Haemophilus influenzae*, *Neisseria meningitidis*, *Yersinia pestis*, *Francisella tularensis*, *Brucella spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Corynebacterium diphtheriae*.

Стрептоміцин складається з речовини стрептидину, який має дисахаридний фрагмент, приєднаний у положенні 4.

Є батьком класу аміноглікозидних антибіотиків. Він відіграє роль протимікробної лікарської речовини, протимікробного агенту, антибактеріального препарату, інгібітора синтезу білка, бактеріального метаболіту та протигрибкового хімікату.

Використовується в промисловій агрономії для профілактики і лікування культурних видів рослин.

Використовується у ветеринарній практиці для лікування широкого кола

					НУХТ БТЕК 05.01.24 КР ПЗ		
Зм	Арк	№ докум.	Підпис	Дата			
Розробив		Яковлев А.В.			Лт.	Арк.	Аркушів
Перевірив		Скроцька О.І.					
Реценз.					ВСТУП Кафедра БТМ		
Н. контр.							
Затверд.		Стабніков В.П.					

поширених бактеріальних інфекцій у великої і малої рогатої худоби, у птахів .

Незважаючи на те, що стрептоміцин був першим антибіотиком, який виявився ефективним проти мікобактерій туберкульозу, він втратив популярність через резистентність до нього, і з кожним роком його ефективність зменшується при лікуванні хвороб у людей внаслідок нераціонального та неконтрольованого призначення та придбання антибіотиків.

Проте основними перевагами лікування саме стрептоміцином є його ефективність щодо більшості стрептококів, що визначає його надзвичайну ефективність у лікуванні серйозних ускладнень доволі значно поширених актуальних інфекційних бактеріальних міокардитів та ендокардитів, що запобігає розвитку функціональної недостатності клапанів серця та інвалідизації населення.

Також ефективним є стрептоміцин, з точки зору доказової медицини, і щодо лікування такої надзвичайно розповсюдженої форми туберкульозу як мультирезистентний туберкульоз у складі комплексного лікування.

Мета. Метою моєї курсової роботи є дослідження процесу культивування *Streptomyces griseus* для одержання антибіотику стрептоміцину.

Об'єктом роботи є досліджуваний препарат - антибіотик стрептоміцин.

Предметом роботи є технологія отримання стрептоміцину при культивуванні *Streptomyces griseus*.

Завдання, що потрібно розглянути в роботі:

Надати загальне визначення стрептоміцину;

Охарактеризувати таксономічний статус *Streptomyces griseus*;

Охарактеризувати фізіологічно - біохімічні ознаки *Streptomyces griseus*;

Надати характеристику морфологічним ознакам *Streptomyces griseus*;

Розглянути та обґрунтувати, провести аналіз умов отримання найбільш активних штамів *Streptomyces griseus*;

Розглянути біосинтез стрептоміцину.

РОЗДІЛ 1. ХАРАКТЕРИСТИКА КІНЦЕВОЇ ПРОДУКЦІЇ ВИРОБНИЦТВА

Стрептоміцин аміноглікозидний антибіотик особливістю якого є антимікобактеріальна дія.

Вперше стрептоміцин виділив З. А. Ваксман та інші дослідники у 1943 р. За це відкриття антибіотику, що став першим ефективним засобом у, на той час, лікуванні одної із найнебезпечніших хвороб – туберкульозу, Зельман Ваксман згодом був нагороджений Нобелівською премією.

Після численних досліджень стрептоміцин почали використовувати для лікування туберкульозу. Всього два з виділених штамів виявилися ефективними у боротьбі з туберкульозом у морських свинок та згодом були використані і для лікування людей .

А вже у 1949 році було налагоджено масове виробництво цього антибіотика у промислових масштабах, що авжеж стало проривом серед застосовуваних досі біотехнологічних антимікробних препаратів.

Стрептоміцин має великий спектр бактерицидної дії. Його визнано ефективним щодо: *Mycobacterium tuberculosis*; більшості Гр- : *Brucella spp.*, *Yersinia pestis*, *Escherichia coli*, *Salmonella spp.*, *Shigella spp.*, *Yersinia spp.*, *Klebsiella spp.* (у тому числі *Kl. pneumoniae*), *Haemophilus influenzae*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis*, *Francisella tularensis*; деяких Гр+ мікроорганізмів: *Corynebacterium diphtheriae*, *Staphylococcus spp.* Менш активний відносно *Streptococcus spp.* (в тому числі *Streptococcus pneumoniae*), *Enterobacter spp.* Слід також зазначати, що стрептоміцин не активний відносно анаеробних бактерій, *Spirochaetaceae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Rickettsia spp.*, *Proteus spp.*

Механізм бактерицидної дії полягає у зв'язуванні зі 30S-субодиницею

					НУХТ БТЕК 05.01.24 КР ПЗ				
Зм	Арк	№ докум.	Підпис	Дата					
Розробив		Яковлев А.В.			Лт.	Арк.	Аркушів		
Перевірив		Скроцька О.І.							
Реценз.					РОЗДІЛ 1. Характеристика кінцевої продукції виробництва Кафедра БТМ				
Н. контр.									
Затверд.		Стабніков В.П.							

бактеріальної рибосоми та пригнічення синтезу білка мікробної клітини. Як і всі аміноглікозиди, стрептоміцин має бактерицидну дію та перешкоджає синтезу рибосомальних пептидів/білків. Він зв'язується з частиною 16S рРНК, розташованої на меншому компоненті 30S бактеріальної рибосоми, пригнічуючи її функціональність і зупиняючи подальший синтез білка через інгібування утворення пептидного зв'язку. Аміноглікозиди є гідрофільними, тобто не володіють здатністю до проникнення через гідрофобну мембрану у структурі бактеріальної клітини. Для цього переходу була б необхідною система транспорту електронів, яка використовується під час дихального циклу клітини.

Це є ключовою причиною того, що антибіотики аміноглікозидного ряду, а зокрема і стрептоміцин, активні лише проти аеробних бактерій.

Стрептоміцин є високоефективним у монотерапії особливо небезпечних інфекцій. Зокрема, доведена активність щодо єрсинії пестіс як збудника чуми та проти хвороби туляремії, лістеріозу. Активними є сполуки стрептоміцину щодо ряду кишкових інфекцій, спричинених кишковою паличкою.

Стрептоміцин погано всмоктується із шлунково-кишкового тракту та переважно тому використовується тільки парентерально.

Даний антибіотик при глибокому внутрішньо м'язовому введенні швидко і повністю абсорбується у кров: максимальна концентрація у крові спостерігається через 1–2 години.

Часто використовується і внутрішньовенне введення ін'єкцій цього антибіотику.

Значний рівень препарату спостерігається у печінці, легенях, нирках, позаклітинній рідині [1]. Найбільші концентрації препарату, відповідно до даних сучасних мультицентрових лабораторних та інструментальних досліджень спостерігаються у жировій та підшкірно-жировій клітковині.

У зв'язку з цим, розрахунок ефективної терапевтичної дози розраховується відносно ідеальної маси тіла з поправкою, за необхідності, на скориговану масу тіла.

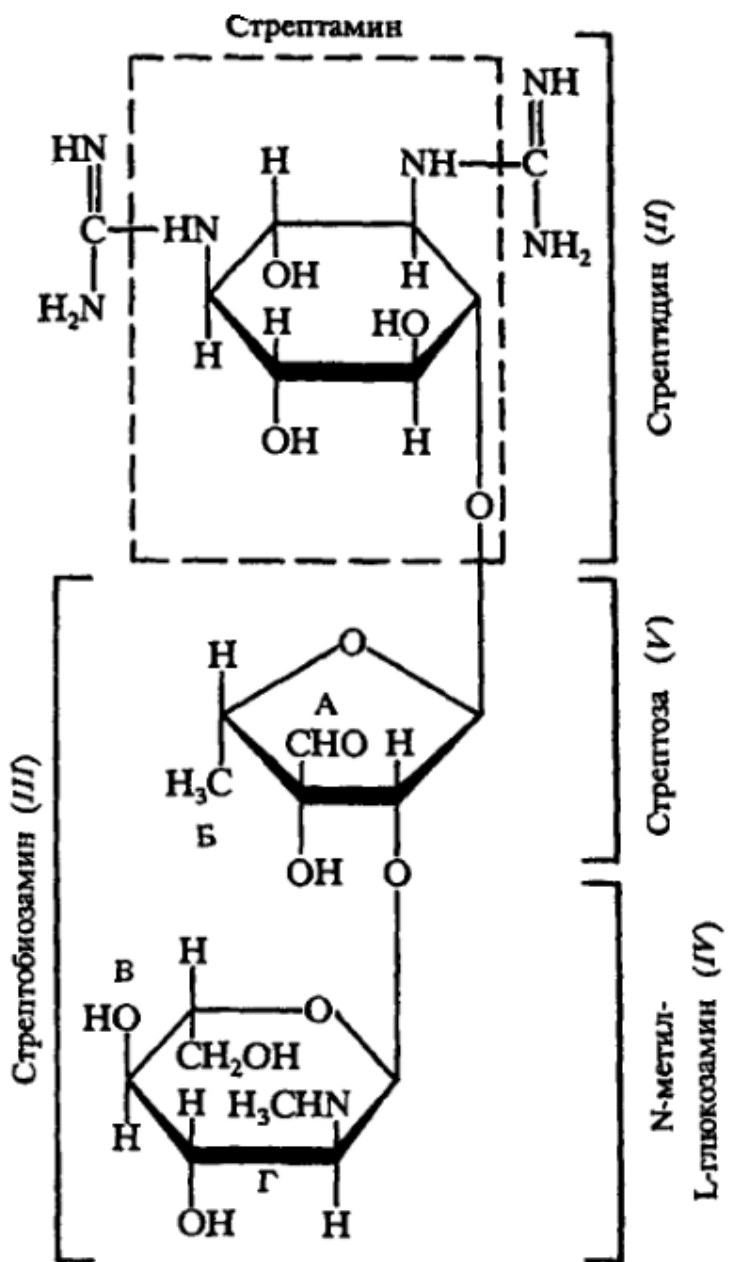


Рисунок 1.1. – Молекулярна структура стрептоміцину

Стрептоміцин є малотропним до кісткової, жирової тканин; не проникає через гематоенцефалічний бар'єр.

Проходить у плаценту й у грудне молоко.

Менше ніж на 10% зв'язується із білками крові.

За нормальної видільної функції нирок при повторному вживанні не накопичується в організмі. Період напіввиведення складає від 2 до 4 годин.

Виводиться повністю у майже незміненому вигляді нирками та не спричиняє побічних негативних реакцій або впливу на екскреторну чи фільтраційну функцію нирок.

Екскретується : нирками - (95%) в незмінному вигляді. Нейротоксичні (побічні) реакції можуть виникати при погіршенні функції нирок. [2]. Доведено, що стрептоміцин при стандартному дозуванні відповідно до інструкції та адекватного терміну курсу лікування не спричиняє серйозних токсичних побічних ефектів.

Стрептоміцин строго не рекомендується застосовувати в педіатричній практиці. Сполуки стрептоміцину вибірково через кров потрапляють до вестибулярного апарату та при неконтрольованому призначенні доведено призводить до розвитку необоротної нейросенсорної глухоти та вестибулопатій.

Стрептоміцин потрапляє у грудне молоко та через гемато-енцефалічний бар'єр, має фетотоксичний ефект.

РОЗДІЛ 2. ОБГРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТА ХАРАКТЕРИСТИКА БІОЛОГІЧНОГО АГЕНТА

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

Завдяки великому значенню у виробництві великої кількості ферментів і вторинних метаболітів з низькою молекулярною масою представники роду *Streptomyces* є найкраще вивченою групою грампозитивних Actinomycetales.

Відповідно даним дослідження, штами *Streptomyces griseus* N2-3-11, DSM 40236 та M881 культивуються на одному стандартному мінімальному середовищі (standard minimal medium (MM)) зазначеного складу. Ріст *S. griseus* N2-3-11, використовувався як основний штам у дослідженні для порівняння. Вихід стрептоміцину для мутанта M881, вирощеного в присутності А-фактора, був дуже подібним до надпродукційного штаму *S. griseus* N2-3-11. Стрептоміцин можна було виявити в супернатанті культури вперше після 13 год росту і максимальну кількість 100 мг стрептоміцину було виявлено після 36-годинного росту. Навпаки, у культурах *S. griseus* DSM 40236 стрептоміцин можна було відтворити лише після 36 годин росту. Максимальна кількість 30 мг вироблялася через 72 години. У культурі *S. griseus* M881, вирощеною без А-фактора, не було виявлено продукції стрептоміцину. Таким чином, загальний часовий хід і фазовий ріст *S. griseus* не залежить від його здатності продукувати або А-фактор, або стрептоміцин [4]. Штам *Streptomyces griseus* HUT 6037 згідно дослідженню культивувався під контролем комп'ютерної системи ферментації. Ферментація стрептоміцину з моніторингом швидкості поглинання кисню та/або швидкості виділення вуглекислого газу дозволила здійснити вискоєфективне виробництво стрептоміцину шляхом визначення часу додавання глюкози та зупинки

					НУХТ БТЕК 05.01.24 КР ПЗ			
Зм	Арк	№ докум.	Підпис	Дата				
Розробив		Яковлев А.В.			РОЗДІЛ 2. Обґрунтування вибору та характеристика біологічного агента	Лт.	Арк.	Аркушів
Перевірив		Скроцька О.І.						
Реценз.						Кафедра БТМ		
Н. контр.								
Затверд.		Стабніков В.П.						

культивування [3]. Таким чином, обираємо штам *Streptomyces griseus* HUT 6037, оскільки він надає вихід більшої кількості цільового продукту, при найменшій ціні поживного середовища у порівнянні з іншими зазначеними штамми.

Таблиця 2.1. Особливості одержання стрептоміцину на суміші ростових субстратів

Продуцент	Склад поживного середовища, г/л		Тривалість культивування, год	Концентрація продукту, мг/л	Особливості процесу біосинтезу	Література
	Компонент	Концентрація, г/л				
<i>Streptomyces griseus</i> HUT 6037	Глюкоза	25	48	155	28 °С; рН 6,5-6,9; Швидкість перемішування – 150-245 об/хв; Швидкість подачі газу – 8,5 л/хв.	[3]
	(NH ₄) ₂ SO ₄	2				
	KH ₂ PO ₄	0,4				
	NaCl	1				
	K ₂ SO ₄	6				
	MgSO ₄ ·7H ₂ O	0,2				
	FeSO ₄ ·7H ₂ O	0,01				
	ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0,05				
	L-аспарагін	7				
	CaCO ₃	2				
<i>Streptomyces griseus</i> N2-3-11	Глюкоза	9	36	115	29 °С; рН 6,5-6,9; Швидкість перемішування – 300 об/хв; Швидкість подачі газу – 1,5 л/хв	[4]
	L-аспарагін	10,8				
	(NH ₄) ₂ SO ₄	2,7				
	Tris/HCl	3,6				
	NaCl	3,06				
<i>Streptomyces griseus</i> DSM 40236	K ₂ SO ₄	0,54	72	20	29 °С; рН 6,5-6,9; Швидкість перемішування – 300 об/хв; Швидкість подачі газу – 1,5 л/хв	[4]
	KH ₂ PO ₄	0,45				
	MgSO ₄	0,144				
	CaCl ₂	0,126				
	Розчин мікроелементів*	*				
	Глюкоза	9	36	100		

<i>Streptomyces griseus</i> M881	L-аспарагін	10,8			
	(NH ₄) ₂ SO ₄	2,7			
	Tris/HCl	3,6			
	NaCl	3,06			
	K ₂ SO ₄	0,54			
	KH ₂ PO ₄	0,45			
	MgSO ₄	0,144			
	CaCl ₂	0,126			
	Розчин мікроелементів*	*			
	A-фактор	0,002			

*-Розчин мікроелементів включає у себе по 0,9 г/л: FeSO₄; ZnCl₂; CoCl₂; NH₄Mo₇O₂₄

Таблиця 2.2. Вартість поживних середовищ для культивування продуцентів стрептоміцину

Продуцент	Компонент поживного середовища	Концентрація у ПС, г/л	Ціна компонента, грн/кг	Вартість компонента (грн) на 1 л середовища	Джерело інформації (1, 2, 3)*
<i>Streptomyces griseus</i> HUT 6037	Глюкоза	25	100	2,5	1
	(NH ₄) ₂ SO ₄	2	25	0,05	2
	KH ₂ PO ₄	0,4	123	0,0492	1
	NaCl	1	13	0,013	2
	K ₂ SO ₄	6	55	0,33	2
	MgSO ₄ ·7H ₂ O	0,2	24,6	0,00492	2
	FeSO ₄ ·7H ₂ O	0,01	30	0,0003	2
	ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0,05	49	0,00245	2
	L-аспарагін	7	1130	7,01	1
	CaCO ₃	2	33	0,06	2
	Вартість 1 л середовища – 10,01 грн				
<i>Streptomyces griseus</i> N2-3-11	Глюкоза	9	100	0,9	1
	L-аспарагін	10,8	1130	12,204	1

	(NH ₄) ₂ SO ₄	2,7	25	0,0675	2
	Tris/HCl	3,6	3776,70	13,59	4
	NaCl	3,06	13	0,03978	2
	K ₂ SO ₄	0,54	55	0,0297	2
	KH ₂ PO ₄	0,45	123	0,05	1
<i>Streptomyces griseus</i> DSM 40236	MgSO ₄	0,144	84	0,012	3
	CaCl ₂	0,126	23	0,0028	2
	FeSO ₄	0,9	54	0,0486	3
	ZnCl ₂	0,9	205	0,1845	3
	CoCl ₂	0,9	3410	3,069	3
	NH ₄ Mo ₇ O ₂₄	0,9	4740	4,266	3
	Вартість 1 л середовища – 34,46 грн				
<i>Streptomyces griseus</i> M881	Глюкоза	9	100	0,9	1
	L-аспарагін	10,8	1130	12,204	1
	(NH ₄) ₂ SO ₄	2,7	25	0,0675	2
	Tris/HCl	3,6	3776,70	13,59	4
	NaCl	3,06	13	0,03978	2
	K ₂ SO ₄	0,54	55	0,0297	2

	KH ₂ PO ₄	0,45	123	0,05	1
	MgSO ₄	0,144	84	0,012	3
	CaCl ₂	0,126	23	0,0028	2
	FeSO ₄	0,9	54	0,0486	3
	ZnCl ₂	0,9	205	0,1845	3
	CoCl ₂	0,9	3410	3,069	3
	NH ₄ Mo ₇ O ₂₄	0,9	4740	4,266	3
	A-фактор	0,002	-	-	-
Вартість 1 л середовища -34,46 грн					

Примітка. * – Ціни наведено станом на травень 2023 року. 1- <https://prom.ua>; 2- <https://flagma.ua>; 3- <https://klebrig.com.ua/ua/>; 4 -<https://shop.hlr.ua/ua/>

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

За морфологічними ознаками *Streptomyces griseus* можна віднести до актинобактерій. Під час росту на багатих поживних середовищах (до яких належить МПА) актинобактерії дають так званий атиповий ріст – шкіристі щільні колонії, зазвичай не опушені повітряним міцелієм, який є типовим для штамів роду *Streptomyces*. Це грампозитивні бактерії; характеризуються складним вторинним метаболізмом [5].

Вони виробляють більше двох третин клінічно корисних антибіотиків природного походження. Стрептоміцети зустрічаються переважно в ґрунті.

Для утворення характерних спор та пігментів, прояву диференціювання бактеріям потрібні спеціальні середовища.

До таких середовищ відноситься вівсяний агар. При вирощуванні штаму на вівсяному агарі були одержані поверхневі, сіро-білого кольору колонії, діаметром від 2 до 4 мм. Вони мають округлу форму із валиком, консистенція волокниста, профіль кратероподібний, поверхня складчаста.

На 14–20-ий день розвивається добре виражений повітряний міцелій білого кольору. Із нижньої сторони колонії мають коричневий колір. Штам утворює коричневий пігмент, що через 1 – 2 місяці набуває червонуватого відтінку.

Бактерії створюють розгалужений міцелій із спорами, розташованими ланцюжками по 10 – 50 спор й більше.

Ланцюжки спор спіральної форми, проте деякі спорові ланцюжки є петлеподібні або. прямі. Клітини грампозитивні.

Streptomyces griseus відноситься до мезофілів, тому що температурний оптимум для нього складає 19–33 °C [6].

Як і інші стрептоміцети, *S. griseus* має високий вміст ГЦ у своєму геномі, в середньому 72,2 %. Вид був вперше класифікований в рамках роду *Streptomyces* Ваксманом і Хенріці в 1948 році. Дані про послідовність гена 16S рРНК були

використані для розпізнавання споріднених штамів і називаються S. скарб гена 16S рРНК грицеуса.

Фізіолого-біохімічні ознаки. *Streptomyces griseus* має повітряний міцелій. Цей повітряний міцелій має розгалуження, які мають гіфи, що утворюють ланцюжки, які називаються артроспорами. А-фактор бере участь у вторинному метаболізмі та морфологічній диференціації, також бере участь в запуску оновлення повітряного міцелію. Найкращим джерелом вуглецю для виробництва стрептоміцину та для зростання у порядку переваги є: глюкоза, маноза, крохмаль, декстрин та маніт.

L-гістидин та L-аспарагін є хорошим джерелом азоту для виробництва стрептоміцину. Також *Streptomyces griseus* можуть отримувати азот із неорганічних та органічних джерел. Їх життєвий цикл доходить до завершення зі спороутворенням.

Streptomyces griseus спорулює дуже добре, коли існує у культуральній рідині. Вони також можуть утворювати ендоспори.

Ці спори допомагають заморожувати або призупиняти життєдіяльність клітини до моменту настання сприятливих умов для розвитку продуцента.

S. griseus і споріднені йому штами є алкалофільними, тобто вони найкраще ростуть при лужних значеннях рН.

Хоча ці організми ростуть у широкому діапазоні рН (від 5 до 11), вони демонструють оптимальний ріст при рН 9, мають сірі маси спор (рис. 5.1) і сіро-жовті пігменти виникають коли ростуть колоніями.

Спори мають гладку поверхню і розташовані у вигляді прямих ланцюжків [7].

Різноманітність метаболізму *Streptomyces griseus* дозволяє їм руйнувати нерозчинні залишки інших організмів та з'єднань, включаючи й такі з'єднання, як хітин.

Сучасні дослідження свідчать, що даний штам не викликає яких-небудь захворювань. Хоча може продукувати корисний антибіотик. Також існують штами які мають здатність виробляти токсичні для людини сполуки.

Один із таких токсинів є валіноміцин. Він може призвести до набухання мітохондрій у лімфоцитах периферичної крові та апоптозу в клітин. Деякі побічні ефекти можуть включати ниркову інтоксикацію, втрату слуху й запаморочення, нейротоксичність, кропив'янку та анафілактичний шок. [8].

Таблиця 2.1 - Фізіолого-біохімічні властивості

№ п/п	Властивість	Наявність
1	Виділення амоніаку	+
2	Каталазна активність	+
3	Оксидазна активність	—
4	Аеробний ріст	+
5	Анаеробний ріст	—
6	Утилізація глюкози	—
7	Гідроліз казеїну	+
8	Гідроліз крохмалю	+
9	Гідроліз ліпідів	—
10	Уреазна активність	—
11	Утворення сірководню	—
12	Утилізація цитрату	+
13	Утворення індолу	—
14	Левансахараза	—

15	Реакція з метиловим червоним	—
16	Реакція Фогеса-Проскауера	—



Рис. 2.1. Колонії *Streptomyces griseus*

2.3. Таксономічний статус біологічного агента

Streptomyces – це рід актинобактерій, які відносяться сімейства *Streptomycetaceae*, порядку *Streptomycetales*. Цей рід є найбільшим із сімейства та налічує 668 видів. Головним середовищем існування є ґрунт та глибинні шари морської води. Цей рід відомий як продуценти багатьох антибіотиків.

Streptomyces є грампозитивними бактеріями із високим вмістом GC й характеризуються складним вторинним метаболізмом. Бактерії цього роду виробляють більш ніж дві третини клінічно корисних антибіотиків природного походження.

Streptomyces зустрічаються переважно в ґрунті та у рослинності, яка розкладається, й більшість із них утворюють спори.

Стрептоміцети мають характерний «землистим» запах, що виникає в результаті утворення метаболіту геосміну.

Streptomyces griseus, як й інші стрептоміцети має високий вміст GC в своєму геномі, у середньому 72,2%. Даний вид був вперше віднесений до роду *Streptomyces* Хенріці та Ваксманом у 1948 році. Таксономія *Streptomyces griseus* і його еволюційно споріднених штамів довго була проблемною [8]. Дані про послідовність гена 16S рРНК використовувалися для розпізнавання споріднених штамів та називаються - "скарбницею гена 16S рРНК *Streptomyces griseus*".

- Штами мають гомогенні фенотипічні властивості, проте демонструють суттєву генотипічну гетерогенність на основі геномних даних [9].

Наведена філогенетична класифікація для *S. griseus* наведена згідно другого видання Керівництва Бергі з систематики бактерій.

Streptomyces griseus відноситься до :

Домен – *Bacteria*

Тип – *Actinobacteria*

Клас – *Actinobacteria*

Порядок – *Streptomycetales*

Родина – *Streptomycetaceae*

Рід– *Streptomyces*

Вид – *Streptomyces griseus*.

РОЗДІЛ 3. ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБГРУНТУВАННЯ

3.1. Потреба у цільовому продукті

Стрептоміцин — антибіотик, що утворюється в процесі життєдіяльності променистих грибів роду *Streptomyces*. Органічна основа: N-метил-V L-глюкозамідо-в -2-стрептозидо- стрептидин. Молекулу стрептоміцину можна розглядати як трисахарид, утворений з стрептидину (аміноциклітол), і стрептози і N-метил-L-глюкозаміну. За хімічною структурою стрептоміцин належить до антибіотиків класу аміноглікозидів. Стрептоміцин належить до основних аміноцикловмісних антибіотиків. Бактерицидну дію виявляє в наслідок зв'язування з 30S-субодиницею бактеріальної рибосоми, що приводить пригнічення синтезу білка [10].

Антибіотик призначається при лікуванні вперше виявленого туберкульозу легень та туберкульозних уражень інших органів; при інфекційно-запальні процесах різної локалізації, спричинені грампозитивними та грамнегативними мікроорганізмами, чутливими до препарату: при пневмонії, спричиненій клебсієлами, при ендокардиті, чумі, туляремії, бруцельозі [11]. Тобто, враховуючі інформацію про показання препарату, стрептоміцин використовується не тільки проти туберкульозу, а також для інфекційних процесів різної локалізації, які викликані як грампозитивними, так і грамнегативними мікроорганізмами.

Стрептоміцин має широкий спектр антимікробної (бактерицидної) дії, його використання не обмежується тільки для лікування вперше виявленого туберкульозу. Він активний відносно *Mycobacterium tuberculosis*, більшості грамнегативних: *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Yersinia* spp., *Klebsiella* spp.(у тому числі *Klebsiella pneumoniae*), *Haemophilus influenzae*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis*, *Yersinia pestis*, *Francisella tularensis*, *Brucella* spp., та деяких грампозитивних

					НУХТ БТЕК 05.01.24 КР ПЗ			
Зм	Арк	№ докум.	Підпис	Дата				
Розробив	Яковлев А.В.				РОЗДІЛ 3. Техніко-економічне обґрунтування	Лт.	Арк.	Аркушів
Перевірив	Скороцька О.І.							
Реценз.						Кафедра БТМ		
Н. контр.								
Затверд.	Стабніков В.П.							

мікроорганізмів: *Staphylococcus* spp., *Corinebacterium diphtheriae*. Також активний відносно *Streptococcus* spp., (у тому числі *Streptococcus pneumoniae*), *Enterobacter* spp. Стрептоміцин не активний відносно анаеробних бактерій, *Spirochaetaceae*, *Rickettsia* spp., *Proteus* spp., *Pseudomonas aeruginosa* [10].

Оскільки у роботі буде розглянуто використання антибіотику проти інфекційних процесів різної локалізації, буде розглянуто бактеріальні інфекції дихальних шляхів. Інфекції дихальних шляхів – найпоширеніші побічні ускладнення при ГРВІ. Протягом останніх років все більше і більше практичних лікарів і мікробіологів звертає увагу на необхідність вивчення мікробіоти людини, яка, як доведено забезпечує багато фізіологічних процесів в організмі. Одночасно доведена її потенційна роль у розвитку численних ускладнень, включаючи гнійно-септичні процеси. Такі захворювання як грип та ГРВІ постійно перебувають в центрі уваги спеціалістів-медиків через свою здатність спричинювати епідемії, втягуючи в процес широкі верстви населення будь-якого віку, часто маючи тяжкий перебіг захворювання, значну питому вагу ускладнених форм, негативний вплив на соціальну та економічну діяльність суспільства в цілому. Часто причиною смертності при них стають саме бактеріальні ускладнення (пневмонії, тощо), які виникають на фоні або як наслідок перенесеного грипу чи ГРВІ у результаті формування дисбіозу ротоглотки. Якщо узагальнити отримані дані за складом основних угруповань, до яких можуть входити мікроорганізми різних родів, то можна зазначити, що представники стрептококового угруповання присутні у мікробіоценозі 97,9 % осіб, що були хворі на ГРВІ, стафілококового – у 76,0 % [12]. У хворих на грип та ГРВІ з промислового міста встановлені значні дисбіотичні зміни на слизовій оболонці дихальних шляхів у 93,3 % обстежених хворих на грип з перевагою дисбіозу III-го ступеня (48,3 %), в той час, як в рекреаційній зоні з найбільшою частотою виявлені дисбіози II-го ступеня (42,8 %). Зниження колонізаційної резистентності індигенної мікрофлори у обстежених з великого промислового міста супроводжується виділенням 12 видів умовно-патогенних мікроорганізмів, причому з найбільшою

частотою висівається *Staphylococcus aureus* (67,5 %). На слизовій оболонці носоглотки переважають асоціації з двох та трьох видів умовно-патогенних мікроорганізмів (33,3–36,0 %) [13]. Тобто, при захворюваннях на ГРВІ спостерігається виникнення дисбіозу дихальних шляхів, таке збільшення кількості умовно-патогенних мікроорганізмів може провокувати виникнення інфекційних ускладнень.

Подібна кореляція між ГРВІ та виникненням інфекційних запальних процесів дихальних шляхів також спостерігається у дітей. Частота розвитку у дітей гострого середнього отиту (ГСО) при ГРВІ складає 15-20 % випадків, частота виникнення гострого бактеріального риносинуситу (ГРС) може сягати 5-13 %. Розвиток бактеріальних ускладнень призводить до негативних медичних та економічних наслідків для пацієнта – подовження тривалості захворювання, необхідності призначення антибактеріальних препаратів і відповідно зростання медикаментозного навантаження на організм та збільшення вартості лікування [14]. У дітей часто на 3-4-ту добу гострого респіраторного захворювання виникають бактеріальні ускладнення, що зумовлюють необхідність призначення антибіотиків [15].

За захворювання на ГРВІ мають кореляційний зв'язок із статистикою на захворюваність інфекціями верхніх і нижніх дихальних шляхів, оскільки часто інфекції є побічними ускладненнями від основного захворювання ГРВІ [16]. У роботі буде розглянута статистика за захворюваністю на ГРВІ та на інфекції дихальних шляхів класу хвороб J00-J99 (J00-J06 - гострі респіраторні інфекції верхніх дихальних шляхів; J09-J18 - грип та пневмонія; J20-J22 - інші гострі респіраторні інфекції нижніх дихальних шляхів; J30-J39 - інші хвороби верхніх дихальних шляхів; J40-J47 - хронічні хвороби нижніх дихальних шляхів; J60-J70 - хвороби легень, викликані зовнішніми агентами; J80-J84 - інші респіраторні хвороби, які уражають інтерстиціальну тканину; J85-J86 - гнійні та некротичні стани нижніх дихальних шляхів; J90-J94 - інші хвороби плеври; J95-J99 - інші хвороби органів дихання) в Україні за епідемічний сезон 2021-2022, оскільки маємо більш чіткі данні про кількість населення за ці роки.

В епідемічному сезоні 2021-2022 років в Україні зареєстровано $\approx 5,9$ млн. випадків захворювань на грип та ГРВІ. По медичну допомогу з приводу захворювання на респіраторну групу інфекцій звернулось 15,5% населення країни [17]. Підсумки епідеміологічного сезону 2019-2020 року свідчать, що на ГРВІ перехворіло 4.9 млн. громадян з них 63% діти віком 0-17 років [18]. Також згідно з результатами епідеміологічного аналізу визначено, що захворюваність на хвороби органів дихання (J00-J99 - шифр за МКХ-10) складала 1 224 240 випадків [19]. J00-J99 включає у себе наступні захворювання: гострі респіраторні інфекції верхніх дихальних шляхів, пневмонії, інфекції нижніх дихальних шляхів, хронічні хвороби дихальних шляхів, хвороби плеври, гнійні та некротичні стани дихальних шляхів, тощо.

Розрахунок потреби препарату буде проводитися за потребами областей України (крім окупованих областей, оскільки статистичні дані некоректні), а саме Києва (2 962 200) та Київської області (1 924 599), Одеської (2 504 399), Дніпровської (3 278 299), Харківської (2 740 749), Львівської (2 604 758), Запорізької (1 773 440), Вінницької (1 636 059), Полтавської (1 478 444), Івано-Франківської (1 604 343), Закарпатської (1 357 047), Хмельницької (1 350 760), Житомирської (1 392 650), Черкаської (1 285 250), Рівненської (1 255 448), Миколаївської (1 215 250), Сумської (1 160 448), Тернопільської (1 137 550), Волинської (1 134 348), Херсонської (1 123 650), Чернігівської (1 083 638), Кіровоградської (1 027 049), Чернівецької (942 899) [20]. Отримуємо 5 876 777 хворих, за статистикою по ГРВІ ($37\,914\,690 \times 0,155$ (15,5%)).

3.2. Розрахунок потужності виробництва

Розрахуємо кількість стрептоміцину, яку необхідно виробити в рік, щоб забезпечити потреби населення. Спосіб застосування даного препарату становить – 0,75 г один раз на добу для дорослих, вища добова доза 2 г, для дітей – 0,5 г один раз у день. Курс лікування становить – 10 днів [11]. Стрептоміцин вводять внутрішньом'язово. Отже, $2 \times 1 \times 10 = 20$ г для дорослих та $0,5 \times 1 \times 10 = 5$ г для дітей необхідно на один курс лікування.

Отже, зробимо розрахунок потреби стрептоміцину в Україні на рік. Із усіх захворівших необхідно виділити окремо 63% дітей та окремо 37% дорослих, оскільки кількість грамів антибіотику на курс лікування для дітей та дорослих різна. Отже, для 37% дорослих на курс лікування необхідно 20 г антибіотику, для 63% дітей – 5 г антибіотику на курс лікування, тому:

Для дорослих: $(5\ 876\ 777 \times 37\%) \times 0,02\ \text{кг} = 44\ 161,424\ \text{кг/рік}$.

Для дітей: $(5\ 876\ 777 \times 63\%) \times 0,005\ \text{кг} = 18\ 798,4\ \text{кг/рік}$.

Разом для дорослих та дітей – 62 000 кг/рік.

Виробництво стрептоміцину у порошку в Україні здійснюється ПАТ "Київмедпрепарат", в свою чергу імпорт антибіотику відсутній [16], то ми хочемо забезпечити 50% від річних потреб на ринку, для цього нам потрібно отримати: $62\ 000\ \text{кг} \times 0,5 = 31\ 000\ \text{кг}$.

Оскільки вихід стрептоміцину становить 155 г/л [17], а потреба в Україні складає 31 000 кг/рік, то розрахуємо об'єм культуральної рідини за рік:

$$V_{\text{к.р. річ}} = 31\ 000 / 155 = 200\ \text{м}^3$$

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

$$V_{\text{к.р. річ}} = 200 \times 1,2 = 240\ \text{м}^3$$

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

1. Приймаємо кількість робочих днів на рік – 104.

Ефективний фонд робочого часу $N_{\text{еф}} = 104 \times 24 = 2480\ \text{год}$.

2. Розрахуємо цикл роботи ферментера:

$T_{\text{цф}} = T_{\text{ф}} + T_{\text{др}} = 48 + 14 = 62\ (\text{год})$, де

T_{ϕ} – тривалість виробничої ферментації (біосинтезу);

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

3. Кількість циклів за рік становитиме:

$$n_{\text{ц}} = N_{\text{эф}} / T_{\text{цф}} = 2480 / 62 = 40$$

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

$$V_{\text{к.р. цикл}} = V_{\text{к.р. річ}} / n_{\text{ц}} = 240 / 40 = 6 \text{ м}^3$$

Обираємо ферментер об'ємом 10 м^3 із коефіцієнтом заповнення 0,6. Об'єм культуральної рідини становить $V_{\text{к.р.}} = 6 \text{ м}^3$.

3.4. Розрахунок кількості стадій підготовки посівного матеріалу

Біосинтез

Streptomyces griseus для одержання стрептоміцину проходить у ферментері об'єм якого становить 10 м^3 ; коефіцієнт заповнення - 0,6.

Таким чином робочий об'єм ферментеру становить 6000 л (6 м^3):

$$V_{\text{роб}} = 10 \times 0,6 = 6 \text{ м}^3$$

Кількість посівного матеріалу (доза) становить 10 % від об'єму поживного середовища.

Отже, для одержання 6 м^3 культуральної рідини потрібно:

$$V_{\text{роб1}} = 6 \times 0,1 = 0,6 \text{ м}^3 \text{ або } 600 \text{ л посівного матеріалу.}$$

Таку кількість інокуляту можна одержати під час культивування бактерій у посівному апараті об'ємом 1 м^3 (1000 л) зі коефіцієнтом заповнення 0,6.

Для засіву посівного апарату (одержання $0,6 \text{ м}^3$ культуральної рідини) необхідно:

$$V_{\text{роб2}} = 0,6 \times 0,1 = 0,06 \text{ м}^3 \text{ або } 60 \text{ л посівного матеріалу.}$$

Таку кількість посівного матеріалу можна одержати у процесі вирощування бактерій у посівному апараті об'ємом $0,1 \text{ м}^3$ (100 л) з коефіцієнтом заповнення 0,6. $0,06 \text{ м}^3$ (60 л) культуральної рідини можна одержати з використанням

$$V_{\text{роб3}} = 60 \cdot 0,1 = 6 \text{ л посівного матеріалу.}$$

Таку кількість посівного одержують культивуванням біологічного агента в інокуляторі об'ємом 10 л.

Для одержання 6 л культуральної рідини потрібно мати:

$$V_{\text{роб4}} = 6 \cdot 0,1 = 0,6 \text{ л посівного матеріалу}$$

Таку кількість інокуляту 0.6 л. - можна одержати культивуванням бактерій у колбах на качалці об'ємом 750 мл та коефіцієнтом заповнення $K_{\text{зк}}=0,2$. Кількість колб становитиме:

$$N_{\text{колб}} = V_{\text{роб.4}} / (V_{\text{колб}} \times K_{\text{зк}}) = 600 / (750 \times 0,2) = 4 \text{ колби.}$$

Отже, процес одержання посівного матеріалу для забезпечення виробничого біосинтезу стрептоміцину у ферментері об'ємом 10 м^3 з коефіцієнтом заповнення 0,6 буде проходити у чотири етапи.

3.5. Біосинтез цільового продукту

Схема біотрансформації ростового субстрату наведена згідно даних Kegg відносно *Streptomyces griseus* [21].

Ферменти, що беруть участь у шляху біосинтезу:

5.4.2.2 – фосфоглюкокомутаза;

2.7.7.24 - глюкозо-1-фосфаттимідилтрансфераза;

4.2.1.46 - dTDP-глюкозо 4,6-дегідратаза;

5.1.3.13 - dTDP-4-дегідрамноза 3,5-епімераза;

1.1.1.133 - dTDP-4-дегідрамнозоредуктаза;

2.4.2.27 - dTDP-дигідрострептозо-стрептидин-6-фосфат;

3.1.3.39 - стрептоміцин-6-фосфатаза.

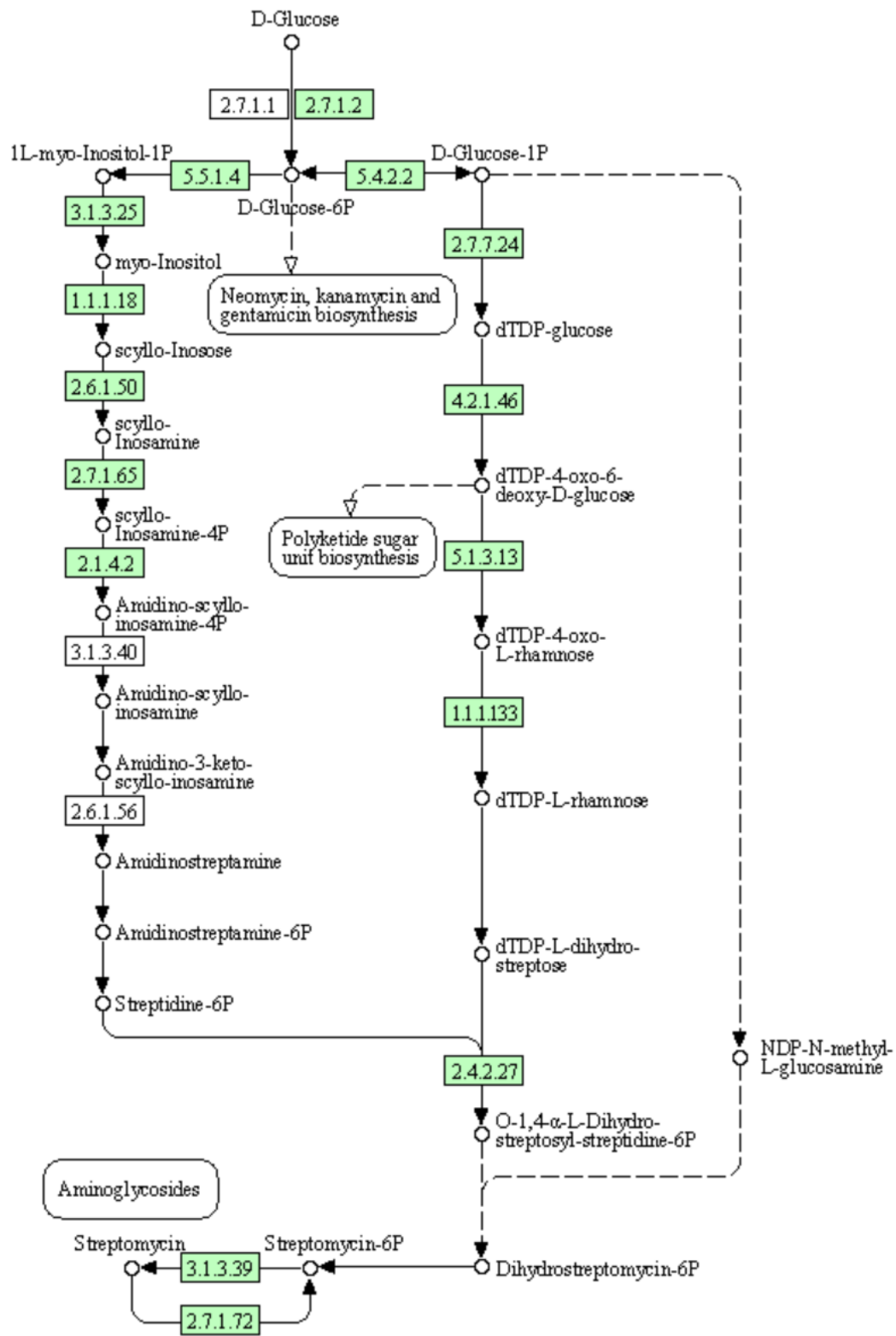


Рис. 3.2. Біосинтетичний шлях утворення стрептоміцину

РОЗДІЛ 4. ОБГРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ

4.1. Обґрунтування способу культивування і типу ферментера

Streptomyces griseus HUT 6037 являється аеробною бактерією, для якої оптимальне значення температури входить у діапазон 25-35 °С, оптимальне значення рН у діапазоні 6,5–8,0 [22]. Враховуючи можливість контамінацією сторонньою мікрофлорою, культивування буде здійснюватися з дотриманням правил асептики (використання стерильних лабораторних інструментів та посуду, стерилізація обладнання та комунікацій, підготовка стерильного повітря, дотримання правил персоналом), глибинним способом.

Для культивування підберемо ферментер 10 м³, який повинен бути оснащений наступними конструкційними елементами згідно зазначених умов і потреб – барботером, для здійснення аерації всього об’єму культуральної рідини; мішалкою для рівномірного розподілення компонентів поживного середовища, повітря та постійного перемішування; сорочкою для подачі глухої пари та здійснення процесу стерилізації та контролю температури; приладами вимірювання температури, тиску, рН, розчиненого кисню.

Оскільки об’єм ферментеру є великим, то обладнання буде виконано під особисте замовлення від виробника. Компанія Shanghai Baoxing Bio-Engineering Equipment Co., Ltd. (ВХВІО) є одним із перших виробників, що спеціалізуються на біореакторах (ферментерах), контролерах біопроцесів, а також надає послуги біоінженерії в Китаї з 1993 року. Продукти ВХВІО широко поширені, використовується в галузі освіти, наукових дослідженнях, біо-виробництві у всьому світі, і сьогодні є тисячі продуктів ВХВІО, які ідеально працюють [23].

					НУХТ БТЕК 05.01.24 КР ПЗ			
Зм	Арк	№ докум.	Підпис	Дата				
Розробив	Яковлев А.В.				РОЗДІЛ 4. Обґрунтування вибору технологічної схеми	Лт.	Арк.	Аркушів
Перевірив	Скороцька О.І.							
Реценз.								
Н. контр.								
Затверд.	Стабніков В.П.							
						Кафедра БТМ		

Ферментер від ВХВІО характеризується [23]:

- Внутрішній діаметр 2200 мм, висоту 2600 мм;
- Потужність приводу 1,5-55 кВт;
- Механічна система перемішування: безступінчасте регулювання швидкості, обертів за хвилину в ферментері: 50~1000 об/хв \pm 0,5%;
- Виявлення та контроль температури: інтелектуальне ПД-регулювання; діапазон: температура охолоджуючої води + 5 ~ 60 °С;
- Виявлення та контроль РН: 2,00~12,00 \pm 0,02, автоматичний контроль для додавання кислоти та лугу за допомогою перистальтичного насоса, з автоматичною сигналізацією;
- Виявлення та контроль DO: 0~150%, \pm 3%. З автоматичною сигналізацією. Значення DO може відповідати швидкості перемішування, потоку повітря та іншим параметрам.
- Контроль подачі: Оснащений високоякісними перистальтичними насосами для додавання матеріалів (кислот, лугів, антипіноутворювачів, культурального середовища), а подача може бути кількісною за часом.
- Антипінний контроль: перевірено деформуєчим електродом і доданим антипінним агентом за допомогою перистальтичного насоса;
- Контроль забору повітря: високоякісний роторний лічильник з ручним керуванням;
- Система контролю: система контролю бродіння з власним авторським правом на програмне забезпечення (необов'язково). Параметри можна налаштувати на автоматичне керування та зручно зберігати, дистанційне підключення до комп'ютера необов'язкове.

Ферментер об'ємом 10 м³ від ВХВІО оснащений всіма необхідними конструкційними елементами та задовольняє потреби дотримання асептичності процесу культивування *Streptomyces griseus* HUT 6037 глибинним способом.

4.2. Обґрунтування вибору стадії підготовки повітря

Streptomyces griseus HUT 6037 є аеробом [22], тому підготовка повітря є необхідним елементом процесу культивування. Повітря, що подається, має бути стерильним, для забезпечення асептичності процесу.

Забір атмосферного повітря

Забір повітря з атмосфери здійснюють через спеціальні шахти, які розташовують у найменш забруднених ділянках території підприємства на висоті 30 м, де кількість мікроорганізмів є найменшою та стабільною.

Грубе очищення повітря

Це очищення відбувається за допомогою набивних фільтрів, виготовлених з волокнистих матеріалів, за рахунок затримання крупних часток на волокнах. Таким чином компресор захищається від забруднень, та знижується кількість контамінантів.

Стабілізація термодинамічних показників повітря

Повітря стискається у компресорі, після чого температура повітря підвищується до 250 °С, далі воно подається у теплообмінник і охолоджується. Для вирівнювання тиску та стабілізації фізико-хімічних показників, наступним встановлюється ресивер. Це дозволяє у подальшому рівномірно подавати повітря на головний фільтр.

Попередня очистка повітря в головному фільтрі

Головний фільтр вловлює частинки розміром більше 1 мкм. Контроль та оцінка ефективності роботи повітряних фільтрів обов'язкові, заміну фільтрувального матеріалу проводять 2 рази на рік.

Очистка повітря в індивідуальному фільтрі

Індивідуальний фільтр вловлює частинки розміром більше 0,2 мкм. Для індивідуальної очистки повітря використовують патронні фільтри із фільтрувальною тканиною Петрянова, матеріал ФПП являє собою шар ультратонких волокон із середнім розміром 1,5 мкм нанесених на марлеву підкладку. Ступінь очищення становить $E = 99,999 \%$

4.3. Особливості підготовки та стерилізації поживного середовища

Культивування *Streptomyces griseus* HUT 6037 здійснюється на поживному середовищі складу:

- Композиція А: Глюкоза;
- Композиція Б: KH_2PO_4 ;
- Композиція В: CaCO_3 ;
- Композиція Г: $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, NaCl , K_2SO_4 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$;
- Композиція Д: L-аспарагін.

1) На першому етапі вирощування посівного матеріалу у колбах, об'єми композицій є невеликими, тому їх стерилізація відбувається у автоклаві.

Композиція А: Глюкозу об'ємом 15 г розчиняють у дистильованій воді у колбі об'ємом 100 мл, та стерилізують при 112 °С, 0,05 МПа протягом 20-30 хв.

Композиція Б: Окремо виділяємо KH_2PO_4 оскільки він утворює нерозчинні сполуки. 0,24 г KH_2PO_4 розчиняють у дистильованій воді у колбі об'ємом 50 мл, та стерилізують при 131 °С, 0,15 МПа протягом 40-60 хв.

Композиція В: Окремо виділяємо CaCO_3 , оскільки він утворює нерозчинні сполуки. 1,2 г CaCO_3 розчиняють у дистильованій воді у колбі об'ємом 50 мл, та стерилізують при 131 °С, 0,15 МПа протягом 40-60 хв.

Композиція Г: 1,2 г $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0,6 г NaCl , 3,6 г K_2SO_4 , 0,12 г $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,006 г $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,03 г $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, поміщають у 100 мл колбу та розчиняють у дистильованій воді. Стерилізують при 131 °С, 0,15 МПа протягом 40-60 хв.

Композиція Д: L-аспарагін, виділений у окрему композицію від глюкози із-за ймовірності реакції Майяра, в разі якої аспарагін із цукрами утворює канцерогенну сполуку. 4,2 г L-аспарагіну розчиняють у дистильованій воді у колбі об'ємом 50 мл та стерилізують при 112 °С, 0,05 МПа протягом 20-30 хв.

2) Для вирощування посівного матеріалу у інокуляторі об'ємом 10 л всі композиції стерилізуються також в автоклаві як у пункті 1, оскільки об'єм цих композицій невеликий.

3) Для вирощування посівного матеріалу у інокуляторі об'ємом 100 л композиції стерилізуються також в автоклаві як у пункті 1, оскільки об'єм цих композицій становить до 2,5 л.

4) Для вирощування посівного матеріалу у інокуляторі об'ємом 1 м³ композиції підготовляються наступним чином:

Композиція А: Глюкозу об'ємом 25 кг розчиняють у дистильованій воді у реакторі об'ємом 30 л та стерилізують при 112 °С, 0,05 МПа протягом 20-30 хв.

Композиція Б: 400 г KH_2PO_4 розчиняють у дистильованій воді у колбі об'ємом 1 л, та стерилізують у автоклаві при 131 °С, 0,15 МПа протягом 40-60 хв.

Композиція В: 2000 г CaCO_3 розчиняють у дистильованій воді у двох колбах по 2 л (по 1000 г CaCO_3 на кожну), та стерилізують при 131 °С, 0,15 МПа протягом 40-60 хв.

Композиція Г: 2000 г $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 1000 г NaCl , 6000 г K_2SO_4 , 200 г $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 10 г $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 50 г $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, поміщають у 10 л реактор та розчиняють у дистильованій воді. Стерилізують при 131 °С, 0,15 МПа протягом 40-60 хв.

Композиція Д: 7000 г L-аспарагіну розчиняють у дистильованій воді у реакторі об'ємом 10 л та стерилізують при 112 °С, 0,05 МПа протягом 20-30 хв.

5) Для виробничого ферментера об'ємом 10 м³ композиції підготовляються наступним чином:

Композиція А: Глюкозу об'ємом 250 кг розчиняють у дистильованій воді у реакторі об'ємом 300 л та стерилізують при 112 °С, 0,05 МПа протягом 20-30 хв.

Композиція Б: 4 кг KH_2PO_4 розчиняють у дистильованій воді у реакторі на 10 л, та стерилізують при 131 °С, 0,15 МПа протягом 40-60 хв.

Композиція В: 20 кг CaCO_3 розчиняють у дистильованій воді у реакторі об'ємом 30 л, та стерилізують при 131 °С, 0,15 МПа протягом 40-60 хв.

Композиція Г: 20 кг $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 10 кг NaCl , 60 кг K_2SO_4 , 2 кг $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 100 г $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 500 г $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, поміщають у 120 л реактор та розчиняють у дистильованій воді. Стерилізують при 131 °С, 0,15 МПа протягом 40-60 хв.

Композиція Д: 70 кг L-аспарагіну розчиняють у дистильованій воді у реакторі об'ємом 100 л та стерилізують при 112 °С, 0,05 МПа протягом 20-30 хв.

РОЗДІЛ 5. СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ

Специфікація обладнання, яке зображене на апаратурній схемі, наведена у таблиці 5.1.

Таблиця 5.1

Позиція	Найменування	Кількість	Технічна характеристика (виробник)
1	2	3	4
ПЗ-1	Повітрозабірник	1	Вентилятор даховий радіальний КРОМ-2,25 Виробник: ТОВ «Смарткомплект»; Продуктивність: 1100 м3/год; Частота обертання: 2650 об/хв; Робочий тиск: до 400 Па. [24]
Ф-2	Фільтр грубої очистки повітря	1	Basic-Flo G Виробник: «Camfil»; Клас очистки: F7; Продуктивність: 3400 м3/год; Робочий тиск: до 120 Па; Габарити, мм: 592×592×600. [25]
К-3	Компресор	1	Компресор Sierra Виробник: «Ingersoll Rand»;

					НУХТ БТЕК 05.01.24 КР ПЗ			
Зм	Арк	№ докум.	Підпис	Дата	РОЗДІЛ 5. Специфікація обладнання Кафедра БТМ			
Розробив		Яковлев А.В.						
Перевірив		Скороцька О.І.						
Реценз.								
Н. контр.								
Затверд.		Стабніков В.П.						

			Продуктивність: 780- 1554 м3/год; Робочий тиск: до 10 бар; [26]
Т-4	Теплообмінник-охолоджувач	1	Охолоджувач повітря S3 Виробник: «Jhcool»; Продуктивність: 2500 м3/год; Потужність: 0,18 кВт; Робочий тиск: до 60 Па; Габарити, мм: 560×560×690. [27]
Р-5	Ресивер	1	Receivers 137374 Виробник: «Duncan rogers»; Продуктивність: 15 м3/год; Робочий тиск: до 11 бар; [28]
Т-6	Теплообмінник-нагрівач	1	Водяний калорифер КСК 3-6 Виробник: «Промтехком»; Продуктивність: 2500 м3/год; Потужність: 50,7 кВт. [29]
Ф-7	Головний фільтр очистки повітря	1	City-Flo Виробник: «Camfil»; Клас очистки: F9; Продуктивність: 1700 м3/год; Робочий тиск: до 140 Па; Габарити, мм: 592×592×534. [30]
Д-8	Дозатор води для інокулятора на 10 л	1	Дозуючий насос EWN-R Виробник: «Iwaki»;

			<p>Продуктивність: 25,2 л/год; Робочий тиск: до 1,7 МПа; [31]</p>
ІФ-9	Індивідуальний фільтр очистки повітря	1	<p>Closepleat MXS 13 Виробник: «Camfil»; Клас очистки: Н13; Продуктивність: 760 м3/год; Робочий тиск: до 250 Па; Габарити, мм: 457×457×78. [32]</p>
І-10	Інокулятор об'ємом 10 л	1	<p>НАВІТАТ cell dw 10 Liter Виробник: «ІКА»; Оснащений сорочкою, 3-х лопатевою мішалкою, барботером. Датчики: рН, рівня піни, температури, тиску, розчиненого кисню. Габарити, мм: внутрішній діаметр 250 мм на висоту 200 мм. Потужність приводу: 0,25-0,75 кВт; Частота обертання: 25-1500 об/хв. [33]</p>
Д-11	Дозатор води для інокулятора на 100 л	1	<p>Насос дозуючий SEKO APG803NHN0000 Виробник: «SEKO S.P.A.»; Продуктивність: 100 л/год; Робочий тиск: 5 бар; Потужність: 0,025 кВт. [34]</p>

ІФ-12	Індивідуальний фільтр очистки повітря	1	<p>Closepleat MXS 13 Виробник: «Camfil»; Клас очистки: H13; Продуктивність: 760 м3/год; Робочий тиск: до 250 Па; Габарити, мм: 457×457×78. [32]</p>
І-13	Інокулятор об'ємом 100 л	1	<p>Biostat D-DCU 100 Liter Steel Bioreactor Виробник: «Sartorius»; Оснащений сорочкою, 6-лопатевою дисковою мішалкою, барботером. Датчики: рН, рівня піни, температури, тиску, розчиненого кисню. Габарити, мм: внутрішній діаметр 500 мм на висоту 500 мм. Потужність приводу: 0,75-3 кВт; Частота обертання: 20-1500 об/хв. [35]</p>
ВД-14	Ваговий дозатор для реактору на 30 л для приготування композиції А	1	<p>Ваговий дозатор сипких продуктів великими дозами ВЛД-1 Виробник: «PackTech»; Об'єм бункеру: 100 л; Продуктивність: 400 доз/год; Габарити, мм: 800×500. [36]</p>
Д-15	Дозатор води для реактору на 30 л для приготування композиції А	1	<p>Насос дозуючий SEKO APG803NNH0000 Виробник: «SEKO S.P.A.»;</p>

			<p>Продуктивність: 100 л/год; Робочий тиск: 5 бар; Потужність: 0,025 кВт. [34]</p>
P-16	Реактор на 30 л для приготування композиції А	1	<p>Скляний хімічний реактор на 30 л Виробник: «Ukrchemgroup»; Матеріал: скло GG-17; Матеріал рами - Нержавіюча сталь марки 304; Діапазон робочих температур - - 120 - 300°C; Потужність двигуна: 90 Вт; Габарити, мм: 350×300. [38]</p>
H-17	Насос від реактору на 30 л для приготування композиції А	1	<p>Перистальтичний насос HELIOS AS 15 VX-221 Виробник: «FLUIMAC»; Продуктивність: 221 л/год; Робочий тиск: 0,25 МПа; Потужність: 0,22 кВт; [38]</p>
ВД-18	Ваговий дозатор для реактору на 10 л для приготування композиції Г	1	<p>Ваговий дозатор сипких продуктів великими дозами ВЛД-1 Виробник: «PackTech»; Об'єм бункеру: 100 л; Продуктивність: 400 доз/год; Габарити, мм: 800×500. [36]</p>

Д-19	Дозатор води для реактору на 10 л для приготування композиції Г	1	Дозуючий насос EWN-R Виробник: «Iwaki»; Продуктивність: 25,2 л/год; Робочий тиск: до 1,7 МПа; [31]
Р-20	Реактор на 10 л для приготування композиції Г	1	Скляний реактор з сорочкою s212 обсяг 10 літрів Виробник: ТОВ "Титан Техникс"; Матеріал: скло GG-17; Потужність: 90 Вт; Частота обертання: 680 об/хв; Діапазон температур: від -120 °С до 300 °С; Габарити, мм: 250×200. [39]
ВД-21	Ваговий дозатор для реактору на 10 л для приготування композиції Д	1	Ваговий дозатор сипких продуктів великими дозами ВЛД-1 Виробник: «PackTech»; Об'єм бункеру: 100 л; Продуктивність: 400 доз/год; Габарити, мм: 800×500. [36]
Д-22	Дозатор води для реактору на 10 л для приготування композиції Д	1	Дозуючий насос EWN-R Виробник: «Iwaki»; Продуктивність: 25,2 л/год; Робочий тиск: до 1,7 МПа; [31]
Р-23	Реактор на 10 л для приготування композиції Д	1	Скляний реактор з сорочкою s212 обсяг 10 літрів Виробник: ТОВ "Титан Техникс";

			<p>Матеріал: скло GG-17; Потужність: 90 Вт; Частота обертання: 680 об/хв; Діапазон температур: від -120 °С до 300 °С; Габарити, мм: 250×200. [39]</p>
IФ-24	Індивідуальний фільтр очистки повітря	1	<p>Closepleat MXS 13 Виробник: «Camfil»; Клас очистки: Н13; Продуктивність: 760 м3/год; Робочий тиск: до 250 Па; Габарити, мм: 457×457×78. [32]</p>
I-25	Інокулятор об'ємом 1 м3	1	<p>Industrial-scale bioreactor 1000L Виробник: «Sysbiotech»; Матеріал: нержавіюча сталь AISI 316L; Оснащений сорочкою, мішалкою, барботером. Датчики: рН, рівня піни, температури, тиску, розчиненого кисню. Габарити, мм: внутрішній діаметр 1200 мм на висоту 1000 мм. Потужність приводу: 1,5-15 кВт; Частота обертання: 12,5-750 об/хв. [40]</p>

ВД-26	Ваговий дозатор для реактору на 300 л для приготування композиції А	1	Напівавтоматичний ваговий дозатор ДВСВ-М Виробник: «Політехнік»; Продуктивність: 700 доз/год; Максимальна вага дози: 70 кг; Габарити, мм: 980×450×780. [41]
Д-27	Дозатор води для реактору на 300 л для приготування композиції А	1	Дозатор води та рідин Виробник: «АгроТех»; Потужність: 600 л/год; Робочий тиск: 10 бар; [42]
Р-28	Реактор на 300 л для приготування композиції А	1	Реактор 300 літрів Виробник: «Стройторгсервис»; Матеріал: нержавіюча сталь AISI 316L; Габарити, мм: 800×600; Потужність приводу: 0,75-7,5 кВт; Частота обертання: 16-1000 об/хв. [43]
Н-29	Насос від реактору на 300 л для приготування композиції А		Industrial hose pump JXHIN-40-CI+SS-NR-P Виробник: «BTS Engineering»; Продуктивність: 3,28 м3/год; Робочий тиск: 16 бар; Потужність: 2,2 кВт. [44]

ВД-30	Ваговий дозатор для реактору на 10 л для приготування композиції Б	1	Ваговий дозатор сипких продуктів великими дозами ВЛД-1 Виробник: «PackTech»; Об'єм бункеру: 100 л; Продуктивність: 400 доз/год; Габарити, мм: 800×500. [36]
Д-31	Дозатор води для реактору на 10 л для приготування композиції Б	1	Дозуючий насос EWN-R Виробник: «Iwaki»; Продуктивність: 25,2 л/год; Робочий тиск: до 1,7 МПа; [31]
Р-32	Реактор на 10 л для приготування композиції Б	1	Скляний реактор з сорочкою s212 обсяг 10 літрів Виробник: ТОВ "Титан Техникс"; Матеріал: скло GG-17; Потужність: 90 Вт; Частота обертання: 680 об/хв; Діапазон температур: від -120 °С до 300 °С; Габарити, мм: 250×200. [39]
ВД-33	Ваговий дозатор для реактору на 30 л для приготування композиції В	1	Ваговий дозатор сипких продуктів великими дозами ВЛД-1 Виробник: «PackTech»; Об'єм бункеру: 100 л; Продуктивність: 400 доз/год; Габарити, мм: 800×500. [36]

Д-34	Дозатор води для реактору на 30 л для приготування композиції В	1	<p>Насос дозуючий SEKO APG803NNH0000</p> <p>Виробник: «SEKO S.P.A.»;</p> <p>Продуктивність: 100 л/год;</p> <p>Робочий тиск: 5 бар;</p> <p>Потужність: 0,025 кВт.</p> <p>[34]</p>
Р-35	Реактор на 30 л для приготування композиції В	1	<p>Скляний хімічний реактор на 30 л</p> <p>Виробник: «Ukrchemgroup»;</p> <p>Матеріал: скло GG-17;</p> <p>Матеріал рами - Нержавіюча сталь марки 304;</p> <p>Діапазон робочих температур - - 120 - 300°C;</p> <p>Потужність двигуна: 90 Вт;</p> <p>Габарити, мм: 350×300.</p> <p>[37]</p>
Н-36	Насос від реактору на 30 л для приготування композиції В	1	<p>Перистальтичний насос HELIOS AS 15 VX-221</p> <p>Виробник: «FLUIMAC»;</p> <p>Продуктивність: 221 л/год;</p> <p>Робочий тиск: 0,25 МПа;</p> <p>Потужність: 0,22 кВт;</p> <p>[36]</p>
ВД-37	Ваговий дозатор для реактору на 150 л для приготування композиції Г	1	<p>Напівавтоматичний ваговий дозатор ДВСВ-М</p> <p>Виробник: «Політехнік»;</p> <p>Продуктивність: 700 доз/год;</p> <p>Максимальна вага дози: 70 кг;</p>

			Габарити, мм: 980×450×780. [41]
Д-38	Дозатор води для реактору на 150 л для приготування композиції Г	1	Дозатор води та рідин Виробник: «АгроТех»; Потужність: 600 л/год; Робочий тиск: 10 бар; [42]
Р-39	Реактор на 150 л для приготування композиції Г	1	Скляний реактор з сорочкою S212 об'єм 150 літрів Виробник: ТОВ "Титан Техникс"; Матеріал: скло GG-17; Потужність: 90 Вт; Частота обертання: 680 об/хв; Діапазон температур: від -120 °С до 300 °С; Габарити, мм: 500×500. [45]
Н-40	Насос від реактору на 150 л для приготування композиції Г	1	Перистальтичний насос HELIOS AS 15 VX-221 Виробник: «FLUIMAC»; Продуктивність: 221 л/год; Робочий тиск: 0,25 МПа; Потужність: 0,22 кВт; [38]
ВД-41	Ваговий дозатор для реактору на 100 л для приготування композиції Д	1	Ваговий дозатор сипких продуктів великими дозами ВЛД-1 Виробник: «PackTech»; Об'єм бункеру: 100 л; Продуктивність: 400 доз/год;

			Габарити, мм: 800×500. [36]
Д-42	Дозатор води для реактору на 100 л для приготування композиції Д	1	Насос дозуючий SEKO APG803NNH0000 Виробник: «SEKO S.P.A.»; Продуктивність: 100 л/год; Робочий тиск: 5 бар; Потужність: 0,025 кВт. [34]
Р-43	Реактор на 100 л для приготування композиції Д	1	Скляний хімічний реактор на 100 л Виробник: «Ukrchemgroup»; Матеріал: скло GG-17; Матеріал рами - Нержавіюча сталь марки 304; Діапазон робочих температур - - 120 - 300°C; Частота обертів: 600 об/хв; Потужність двигуна: 90 Вт; Габарити, мм: 500×500. [46]
Н-44	Насос від реактору на 100 л для приготування композиції Д	1	Перистальтичний насос HELIOS AS 15 VX-221 Виробник: «FLUIMAC»; Продуктивність: 221 л/год; Робочий тиск: 0,25 МПа; Потужність: 0,22 кВт; [38]
ІФ-45	Індивідуальний фільтр очистки повітря	1	Closepleat MXS 13 Виробник: «Camfil»;

			<p>Клас очистки: Н13; Продуктивність: 760 м3/год; Робочий тиск: до 250 Па; Габарити, мм: 457×457×78. [32]</p>
Ф-46	Ферментер об'ємом 10 м3	1	<p>Ферментер 10 м3 Виробник: «ВХВІО»; Матеріал: нержавіюча сталь AISI 316L; Оснащений сорочкою, мішалкою, барботером. Датчики: рН, рівня піни, температури, тиску, розчиненого кисню. Потужність приводу: 1,5-55 кВт; Частота обертання: 50-1000 об/хв; Габарити, м: 2,2×2,6. [23]</p>

РОЗДІЛ 6. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ

ДР 1. Санітарна підготовка

ДР 1.1. Підготовка персоналу та періодична перевірка знань

Власник зобов'язаний забезпечити навчання персоналу, в обов'язки яких входить робота у виробничих зонах та приміщеннях зберігання та лабораторіях, що відповідають за перевірку продукції (включаючи технічний і обслуговуючий персонал, співробітників, які здійснюють прибирання), а також іншого персоналу, діяльність якого може впливати на якість продукції згідно з СТ-Н МОЗУ 42-4.0:2016.

Окрім навчання щодо теорії та практики із системи управління якістю, всі співробітники повинні проходити навчання відповідно до закріплених за ним обов'язків. Співробітники, що працюють в зонах, де контамінація становить небезпеку, у чистих зонах або в зонах, де обробляють сильнодіючі, токсичні, інфікуючі або сенсibiliзуючі речовини, повинен пройти спеціальне навчання

Всі працівники підприємств перед початком роботи повинні проходити інструктаж з техніки безпеки. Працівники чистих приміщень повинні також бути ознайомлені з правилами поведінки у чистих приміщеннях. Обов'язковою процедурою є періодична перевірка набутих знань. Співробітників, які не пройшли навчання не можна допускати у зони виробництва і контролю якості

Необхідною частиною підготовки персоналу є контроль його санітарно-гігієнічного стану. Для контролю санітарного стану персоналу потрібно проводити мікробіологічний контроль рук, шкіряного покриву та одягу.

Персонал допускається у виробничі приміщення тільки одягнутим в спеціальний одяг, який відповідає виконуваним обов'язкам працюючого. Технологічний одяг персоналу повинен відповідати класу чистоти тієї зони, у якій він працює, і виконувати своє основне призначення – максимально захищати продукт виробництва від частинок,

					НУХТ БТЕК 05.01.24 КР ПЗ			
Зм	Арк	№ докум.	Підпис	Дата				
Розробив		Яковлев А.В.			РОЗДІЛ 6. Опис технологічної схеми	Лт.	Арк.	Аркушів
Перевірив		Скороцька О.І.						
Реценз.								
Н. контр.								
Затверд.		Стабніков В.П.						
						Кафедра БТМ		

що виділяються людиною. До технологічного одягу та персоналу, призначеного для зон різних типів, пред'являються наступні вимоги: до працюючих в чистих зонах пред'являються високі вимоги по відношенню до особистої гігієни і чистоти. Перед тим як приступити до роботи спеціалісти повинні ретельно вимити руки теплою водою з милом і щіткою (протягом 1-2 хвилин). Основною метою такої механічної обробки рук – видалити поверхневу мікрофлору. Після миття руки обробляють різними дезінфікуючими засобами. В чистих приміщеннях не можна носити ручні годинники, ювелірні вироби, косметику.

ДР 1.2. Підготовка дезінфікуючих та миючих розчинів

Миючі і дезінфікуючі засоби необхідні для здійснення контролю мікробіологічної чистоти приміщення. Розчини слід тримати в попередньо очищених контейнерах (тарі) й зберігати лише протягом установлених термінів.

ДР 1.2.1. Приготування розчину миючого засобу

Після перемішування води із необхідною кількістю дез засобу отримуємо розчини необхідної концентрації для миття обладнання та комунікацій .

ДР 1.2.2. Приготування розчину пероксиду водню

Розчин готують у реакторах змішувачах шляхом розведення 33%-го розчину пероксиду водню питною водою до утворення 6%-го пероксиду водню. Термін збереження робочого розчину 5 – 6 днів.

ДР 1.2.3. Приготування розчину етилового спирту

Розчин готують у реакторах-змішувачах шляхом розведення 96% розчину етилового спирту питною водою до концентрації 76%.

ДР 1.3. Підготовка виробничих приміщень

Підготовка виробничих приміщень включає комплекс заходів, що складаються з вологого прибирання та дезінфекції поверхонь приміщень і устаткування. Дезінфікуючі й антисептичні засоби необхідно чергувати кожні 1-3 міс з метою недопущення формування і поширення стійких форм мікроорганізмів.

ДР 1.3.1. Щоденне прибирання

Прибирання проводять не рідше 1 разу на зміну. Приміщення за можливістю звільняють від устаткування, миють і дезінфікують стіни, двері, підлогу. Спочатку миють стіни і двері від стелі до підлоги. Потім миють і дезінфікують стаціонарне устаткування, і на остаток — підлогу; застосовують дезінфекційний розчин з розрахунку 200 мл на 1 м³ площі. Після дезінфекції приміщення опромінюють ультрафіолетовим світлом. Обробку виробничих приміщень D класу чистоти проводять розчином пероксиду водню (масова частка — 3 %) з мийним засобом.

ДР 1.3.2 Генеральне прибирання

Генеральне прибирання виробничих приміщень здійснюють використовуючи розчин пероксиду водню з мийним засобом. Стеля, стіни, двері та інші поверхні необхідно зрошувати з гідропульта робочим розчином в розрахунку 150-200 мл/м². Після чого приміщення закривають на 30-40 хв, надлишок розчину .

ДР 1.3.3. Миття обладнання та комунікацій

Миття обладнання і комунікацій проводять наступним чином. Спочатку миють водою (холодною/гарячою), упродовж двох хвилин з передачею води у збірник нейтралізації, перед скидом рідини у систему каналізування рідких викидів. Миття продовжують розчином миючого та дезінфікуючого засобу, при 50-60°C, протягом 1 години з поверненням розчину в збірник нейтралізації.

ДР 1.3.4. Ополіскування обладнання та комунікацій

Проводиться ополіскування питною водою, з передачею води в збірник нейтралізації.

ДР 1.3.5. Перевірка герметичності обладнання та комунікацій

Перевірку на герметичність проводять подаючи пару, яка створює надлишковий тиск. Значення тиску контролюють по датчику, якщо тиск падає це означає що обладнання має дефекти. Ємкісне обладнання на герметичність

ь перевіряють при повітряному тиску 0,5 – 0,6 МПа. Апарат з прилеглими трубопроводами перед загрузкою середовища перевіряють на герметичність під дією тиску (0,15–0,19) МПа. Всі вентиля перед установкою перевіряють гідравлічним пресуванням при тиску 0,3 МПа. Для герметизації фланців і вентилів використовують особливі прокладки з пароніту, обробленого графітом, для герметизації кришок апаратів застосовують шнур із прогумованої тканини діаметром до 19 мм, а для завантажувальних люків гуму товщиною 14 мм. Герметичність з'єднань перевіряють при надлишковому тиску пари 0,15- 0,2 МПа.

ДР 1.3.6. Стерилізація обладнання та комунікацій

При тиску 0,2 МПа здійснюється стерилізація протягом 1 години за температури 120-130 °С.

ДР 2. Підготовка аераційного повітря

ДР 2.1. Забір повітря з атмосфери

Забір повітря з атмосфери здійснюють через спеціальні шахти заввишки 8-10 м (вологість 60-90%), які розташовують у найменш забруднених ділянках території підприємства.

ДР 2.2. Механічна очистка повітря

Атмосферне повітря проходить очистку на фільтрах першого ступеня, типу ФЯР — коміркові з вінілпластиковою сіткою. Ефективність очистки складає не менш ніж 60-90%. Основна функція фільтрів першої ступеню – видалення великих часток пилу для попередження абразивного пошкодження компресора. Ефективність очистки повинна складати 90% по часткам Корунда 4 мкм та 35% по атмосферному пилу для приміщень класу D. Фільтри працюють від початкового опору 50 Па до забивання 100 – 250 Па, після чого можуть регенеруватися, але не більше 5 разів. Повітря транспортується вентилятором/компресором. Підведення та відведення повітря відбувається по трубопроводам, на яких встановлені запірні вентиля з електроуправлінням та запобіжні клапани.

ДР 2.3. Компресіювання повітря

Після попередньої очистки повітря поступає в ресивер. В ресивері відбувається усереднення та стабілізація фізико-хімічних показників повітря. Повітря з ресивера виходить під тиском 0,3 МПа, $t=200^{\circ}\text{C}$, $W=60\%$.

ДР 2.4. Очистка повітря на головному фільтрі

Стерилізація повітря відбувається на фільтрі НЕРА, діаметр пор яких – 1,5 мкм. При експлуатації фільтрів необхідна їх стерилізація. Контроль та оцінка ефективності роботи повітряних фільтрів обов'язкові. Контроль якості очистки повітря включає визначення механічних часток та мікробної контамінації, $E=98\%$.

ДР 2.5 Стерилізація повітря на індивідуальному фільтрі

Для індивідуальної очистки повітря використовують патронні фільтри із фільтрувальною тканиною Петрянова (ФПП-15-1,5). Матеріали типу ФПП забезпечують очищення повітря від тонкодисперсних аерозолів, при концентрації твердої фази до 0,5 мг /м³. Матеріал ФПП являє собою шар ультратонких волокон із середнім розміром 1,5 мкм нанесених на марлеву підкладку.

ДР 3. Приготування та стерилізація титрувальних розчинів

ДР 3.1. Приготування розчину 6% соляної кислоти

Для контролю рН на стадії культивування у ферментері на 10 л необхідно підготувати 12 мл 6% розчину соляної кислоти. Приготування відбувається у 50 мл колбі, 2 мл 36% соляної кислоти додають до 10 мл води. Розчин перемішують та стерилізують у автоклаві за температурного режиму 131 °С протягом 30-60 хв.

Для контролю рН на стадії культивування у ферментері на 100 л необхідно підготувати 120 мл 6% розчину соляної кислоти. Приготування відбувається у 200 мл колбі, 20 мл 36% соляної кислоти додають до 100 мл води. Розчин перемішують та стерилізують у автоклаві за температурного режиму 131 °С протягом 30-60 хв.

Для контролю рН на стадії культивування у ферментері на 1 м³ необхідно підготувати 1200 мл 6% розчину соляної кислоти. Приготування відбувається у 2 л колбі, 200 мл 36% соляної кислоти додають до 1000 мл води. Розчин перемішують та стерилізують у автоклаві за температурного режиму 131 °С протягом 30-60 хв.

Для контролю рН на стадії культивування у ферментері на 10 м³ необхідно підготувати 12 л 6% розчину соляної кислоти. Приготування відбувається у реакторі на 15 л, 2 л 36% соляної кислоти додають до 10 л води. Розчин перемішують за допомогою перемішуючого пристрою у реакторі, та стерилізують у реакторі за температурного режиму 131 °С протягом 30-60 хв.

ДР 3.2. Приготування розчину 6% розчину натрій гідроксиду

Для контролю рН на стадії культивування у ферментері на 10 л необхідно підготувати 12 мл 6% розчину гідроксиду натрію. Приготування відбувається у 50 мл колбі, 0,72 г гідроксиду натрію додають до 11,28 мл води. Розчин перемішують та стерилізують у автоклаві за температурного режиму 131 °С протягом 30-60 хв.

Для контролю рН на стадії культивування у ферментері на 100 л необхідно підготувати 120 мл 6% розчину гідроксиду натрію. Приготування відбувається у 200 мл колбі, 7,2 г гідроксиду натрію додають до 1012,8 мл води. Розчин перемішують та стерилізують у автоклаві за температурного режиму 131 °С протягом 30-60 хв.

Для контролю рН на стадії культивування у ферментері на 1 м³ необхідно підготувати 1200 мл 6% розчину гідроксиду натрію. Приготування відбувається у 2 л колбі, 72 г гідроксиду натрію додають до 1127 мл води. Розчин перемішують та стерилізують у автоклаві за температурного режиму 131 °С протягом 30-60 хв.

Для контролю рН на стадії культивування у ферментері на 10 м³ необхідно підготувати 12 л 6% розчину гідроксиду натрію. Приготування відбувається у реакторі на 15 л, 720 г гідроксиду натрію додають до 11,280 л води. Розчин перемішують за допомогою перемішуючого пристрою у реакторі, та стерилізують у реакторі за температурного режиму 131 °С протягом 30-60 хв.

ДР 4. Приготування та стерилізація поживних середовищ

ДР 4.1. Приготування та стерилізація поживного середовища для культивування інокуляту в колбах (600 мл)

ДР 4.1.1. Приготування композиції А

На технічних терезах зважують 15 г глюкози, переміщують у колбу невеликого об'єму та розчиняють у дистильованій воді. Перемішують, закривають колбу ватно-марлевым короком і стерилізують в автоклаві при 112 °С, 0,05 МПа протягом 20-30 хв.

ДР 4.1.2. Приготування композиції Б

На технічних терезах зважують 0,24 г KH_2PO_4 поміщають у колбу невеликого об'єму та розчиняють у дистильованій воді. Перемішують, закривають колбу ватно-марлевым короком і стерилізують в автоклаві при 131 °С, 0,15 МПа протягом 40-60 хв.

ДР 4.1.3. Приготування композиції В

На технічних терезах зважують 1,2 г CaCO_3 , поміщають у колбу невеликого об'єму та розчиняють у дистильованій воді. Перемішують, закривають колбу ватно-марлевым короком і стерилізують в автоклаві при 131 °С, 0,15 МПа протягом 40-60 хв.

ДР 4.1.4. Приготування композиції Г

На технічних терезах зважують 1,2 г $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0,6 г NaCl , 3,6 г K_2SO_4 , 0,12 г $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,006 г $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,03 г $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, поміщають у колбу невеликого об'єму та розчиняють у дистильованій воді. Перемішують, закривають колбу ватно-марлевым короком і стерилізують в автоклаві при 131 °С, 0,15 МПа протягом 40-60 хв.

ДР 4.1.5. Приготування композиції Д

На технічних терезах зважують 4,2 г L-аспарагіну, переміщують у колбу невеликого об'єму та розчиняють у дистильованій воді. Перемішують, закривають колбу ватно-марлевым короком і стерилізують в автоклаві при 112 °С, 0,05 МПа протягом 20-30 хв.

ДР 4.2. Приготування та стерилізація поживного середовища для культивування інокуляту в реакторі об'ємом 10 л

ДР 4.2.1. Приготування композиції А

На технічних терезах зважують 250 г глюкози, переміщують у 200 мл колбу та розчиняють у дистильованій воді. Перемішують, закривають колбу ватно-марлевым короком і стерилізують в автоклаві при 112 °С, 0,05 МПа протягом 20-30 хв.

ДР 4.2.2. Приготування композиції Б

На технічних терезах зважують 4 г K_2HPO_4 поміщають у колбу невеликого об'єму та розчиняють у дистильованій воді. Перемішують, закривають колбу ватно-марлевым короком і стерилізують в автоклаві при 131 °С, 0,15 МПа протягом 40-60 хв.

ДР 4.2.3. Приготування композиції В

На технічних терезах зважують 20 г CaCO_3 , поміщають у колбу невеликого об'єму та розчиняють у дистильованій воді. Перемішують, закривають колбу ватно-марлевым короком і стерилізують в автоклаві при 131 °С, 0,15 МПа протягом 40-60 хв.

ДР 4.2.4. Приготування композиції Г

На технічних терезах зважують 20 г $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 10 г NaCl , 60 г K_2SO_4 , 2 г $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,1 г $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,5 г $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, поміщають у 200 мл колбу та розчиняють у дистильованій воді. Перемішують, закривають колбу ватно-марлевым короком і стерилізують в автоклаві при 131 оС, 0,15 МПа протягом 40-60 хв.

ДР 4.2.5. Приготування композиції Д

На технічних терезах зважують 70 г L-аспарагіну, переміщають у 1 л колбу та розчиняють у дистильованій воді. Перемішують, закривають колбу ватно-марлевым короком і стерилізують в автоклаві при 112 °С, 0,05 МПа протягом 20-30 хв.

ДР 4.3. Приготування та стерилізація поживного середовища для культивування інокуляту в реакторі об'ємом 100 л

ДР 4.3.1. Приготування композиції А

На технічних терезах зважують 2500 г глюкози, переміщають у 5 л колбу та розчиняють у дистильованій воді. Перемішують, закривають колбу ватно-марлевым короком і стерилізують в автоклаві при 112 °С, 0,05 МПа протягом 20-30 хв.

ДР 4.3.2. Приготування композиції Б

На технічних терезах зважують 40 г K_2HPO_4 поміщають у 100 мл колбу та розчиняють у дистильованій воді. Перемішують, закривають колбу ватно-марлевым короком і стерилізують в автоклаві при 131 °С, 0,15 МПа протягом 40-60 хв.

ДР 4.3.3. Приготування композиції В

На технічних терезах зважують 200 г CaCO_3 , поміщають у 500 мл колбу та розчиняють у дистильованій воді. Перемішують, закривають колбу ватно-марлевым короком і стерилізують в автоклаві при 131 °С, 0,15 МПа протягом 40-60 хв.

ДР 4.3.4. Приготування композиції Г

На технічних терезах зважують 200 г $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 100 г NaCl , 600 г K_2SO_4 , 20 г $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 1 г $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 5 г $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, поміщають у 2 л колбу та розчиняють у дистильованій воді. Перемішують, закривають колбу ватно-марлевым короком і стерилізують в автоклаві при 131 оС, 0,15 МПа протягом 40-60 хв.

ДР 4.3.5. Приготування композиції Д

На технічних терезах зважують 700 г L-аспарагіну, переміщають у 2 л колбу та розчиняють у дистильованій воді. Перемішують, закривають колбу ватно-марлевым короком і стерилізують в автоклаві при 112 °С, 0,05 МПа протягом 20-30 хв.

ДР 4.4. Приготування та стерилізація поживного середовища для культивування інокуляту в реакторі об'ємом 1 м³

ДР 4.4.1. Приготування композиції А

Ваговим дозатором зважують 25 кг глюкози, переміщають у реактор на 30 л та подають воду також за допомогою дозатору. Вмикають перемішуючий пристрій, перемішують, і стерилізують при 112 °С, 0,05 МПа протягом 20-30 хв у реакторі.

ДР 4.4.2. Приготування композиції Б

На технічних терезах зважують 400 г KH_2PO_4 , поміщають у 1 л колбу та розчиняють у дистильованій воді. Перемішують, закривають колбу ватно-марлевым короком і стерилізують в автоклаві при 131 °С, 0,15 МПа протягом 40-60 хв.

ДР 4.4.3. Приготування композиції В

Ваговим дозатором зважують 2000 г CaCO_3 , поміщають у 5 л колбу та розчиняють у дистильованій воді. Перемішують, закривають колбу ватно-марлевым короком і стерилізують в автоклаві при 131 °С, 0,15 МПа протягом 40-60 хв.

ДР 4.4.4. Приготування композиції Г

Ваговим дозатором зважують 2000 г $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 1000 г NaCl , 6000 г K_2SO_4 , 200 г $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 10 г $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 50 г $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, поміщають у 10 л реактор та

подають дистильовану воду, попередньо зважену дозатором. Вмикають перемішувачий пристрій, перемішують, і стерилізують при 131 °С, 0,15 МПа протягом 40-60 хв.

ДР 4.4.5. Приготування композиції Д

Ваговим дозатором зважують 7000 г L-аспарагіну, переміщують у 10 л реактор та подають дистильовану воду, попередньо зважену дозатором.. Вмикають перемішувачий пристрій, перемішують, і стерилізують при 112 °С, 0,05 МПа протягом 20-30 хв.

ДР 4.5. Приготування та стерилізація поживного середовища для культивування інокуляту в реакторі об'ємом 10 м³

ДР 4.5.1. Приготування композиції А

Ваговим дозатором зважують 250 кг глюкози, переміщують у реактор на 300 л та подають воду також за допомогою дозатору. Вмикають перемішувачий пристрій, перемішують, і стерилізують при 112 °С, 0,05 МПа протягом 20-30 хв у реакторі.

ДР 4.5.2. Приготування композиції Б

Ваговим дозатором зважують 4 кг $\text{KН}_2\text{PО}_4$ поміщують у 10 л реактор та подають дистильовану воду, попередньо зважену дозатором. Вмикають перемішувачий пристрій, перемішують, і стерилізують при 131 °С, 0,15 МПа протягом 40-60 хв.

ДР 4.5.3. Приготування композиції В

Ваговим дозатором зважують 20 кг CaCO_3 , поміщують у 30 л реактор та подають дистильовану воду, попередньо зважену дозатором. Вмикають перемішувачий пристрій, перемішують, і стерилізують при 131 °С, 0,15 МПа протягом 40-60 хв.

ДР 4.5.4. Приготування композиції Г

Ваговим дозатором зважують 20 кг $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 10 кг NaCl , 60 кг K_2SO_4 , 2 кг $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 100 г $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 500 г $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, поміщують у 120 л реактор та подають дистильовану воду, попередньо зважену дозатором. Вмикають перемішувачий пристрій, перемішують, і стерилізують при 131 °С, 0,15 МПа протягом 40-60 хв.

ДР 4.5.5. Приготування композиції Д

Ваговим дозатором зважують 70 кг L-аспарагіну, переміщують у 100 л реактор та подають дистильовану воду, попередньо зважену дозатором. Вмикають перемішуючий пристрій, перемішують, і стерилізують при 112 °С, 0,05 МПа протягом 20-30 хв.

ТП 5. Підготовка посівного матеріалу

ТП 5.1. Підтримання музейної культури

Музейну культуру *Streptomyces griseus* HUT 6037 підтримували на комплексному середовищі (глюкоза, 10; поліпептон, 4; дріжджовий екстракт, 2; м'ясний екстракт, 2; NaCl, 5; MgSO₄·7H₂O, 0,25) при температурі 2-4 °С.

ТП 5.2. Одержання робочої культури на агаризованому середовищі

Музейну культуру пересівають методом виснажувального штриха на синтетичне середовище (глюкоза, 25; (NH₄)₂SO₄, 2; KH₂PO₄, 0,4; NaCl, 1; K₂SO₄, 6; MgSO₄·7H₂O, 0,2; FeSO₄·7H₂O, 0,01; ZnSO₄·7H₂O, 0,05; L-аспарагін, 7; CaCO₃, 2).

ТП 5.3. Одержання робочої культури в пробірках

Ізольовані колонії отримані із попереднього етапу пересівають у пробірки із скошеним агаром МПА, одна колонія пересівається у одну пробірку відповідно. Культивують у термостаті при температурі 28 °С протягом 48 год.

ТП 5.4. Вирощування інокуляту у колбах на качалках

Композиції від ДР 4.1.1, 4.1.2, 4.1.3, 4.1.4, 4.1.5 вміст колб об'єднують в асептичних умовах, перемішують і розливають по 150 мл у качалочні колби об'ємом 750 мл.

ТП 5.5. Вирощування інокуляту у посівному апараті об'ємом 10 л

В асептичних умовах від ДР 4.2.1, 4.2.2, 4.2.3, 4.2.4, 4.2.5 вміст колб об'єднують композиції, перемішують і отримане середовище асептично через конвектор передають у посівний апарат на 10 л. Перемішують за допомогою перемішуючого пристрою реактора, доводять рН за допомогою титрувальних агентів від ДР 3.1, 3.2 до показника датчика рН в діапазоні 6,5-6,9. Посівний матеріал вносять через засівну

колбу від ТП 5.4. Умови культивування, що підтримуються: 30 °С; рН 6,5-6,9; Швидкість перемішування – 150-245 об/хв; Швидкість подачі газу – 8,5 л/хв.

ТП 5.6. Вирощування інокуляту у посівному апараті об'ємом 100 л

В асептичних умовах від ДР 4.3.1, 4.3.2, 4.3.3, 4.3.4, 4.3.5 вміст колб об'єднують композиції, перемішують і отримане середовище асептично через конвектор передають у посівний апарат на 100 л. Перемішують за допомогою перемішуючого пристрою реактора, доводять рН за допомогою титрувальних агентів від ДР 3.1, 3.2 до показника датчика рН в діапазоні 6,5-6,9. Посівний матеріал вносять через трубу перетискування від ТП 5.5.. Умови культивування, що підтримуються: 30 °С; рН 6,5-6,9; Швидкість перемішування – 150-245 об/хв; Швидкість подачі газу – 8,5 л/хв.

ТП 5.7. Вирощування інокуляту у посівному апараті об'ємом 1 м³

В асептичних умовах від ДР 4.3.1, 4.3.2, 4.3.3, 4.3.4, 4.3.5 вміст реакторів об'єднують, перекачуючи у посівний апарат на 1 м³. Перемішують за допомогою перемішуючого пристрою реактора, доводять рН за допомогою титрувальних агентів від ДР 3.1, 3.2 до показника датчика рН в діапазоні 6,5-6,9. Посівний матеріал вносять через трубу перетискування від ТП 5.6. Умови культивування, що підтримуються: 30 °С; рН 6,5-6,9; Швидкість перемішування – 150-245 об/хв; Швидкість подачі газу – 8,5 л/хв.

ТП 6. Виробничий біосинтез у ферментері об'ємом 10 м³

Ферментер на 10 м³ попередньо стерилізують, та перекачують у нього стерильне поживне середовище від ДР 4.4.1, 4.4.2, 4.4.3, 4.4.4, 4.4.5. Перемішують за допомогою перемішуючого пристрою реактора, доводять рН за допомогою титрувальних агентів від ДР 3.1, 3.2 до показника датчика рН в діапазоні 6,5-6,9. Посівний матеріал вносять через трубу перетискування від ТП 5.7. Умови культивування, що підтримуються: 30 °С; рН 6,5-6,9; Швидкість перемішування – 150-245 об/хв; Швидкість подачі газу – 8,5 л/хв. Концентрація стрептоміцину – 155 г/л, концентрація біомаси – 7,6 г/л.

РОЗДІЛ 7. КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА

7.1. Карта постадійного контролю доферментаційних процесів та процесу виробничого біосинтезу

Номер контрольної точки та назва стадії	Об'єкт контролю і показник, що визначається	Засоби та методи контролю	Періодичність перевірки та порядок відбору проб	Нормативна характеристика показника, що визначається
1	2	3	4	5
<i>Кт 2.2. Механічна очистка повітря</i>	Фіксується чистота повітря на виході із фільтру грубої очистки повітря, перепад тиску	Манометр, ступінь очищення повітря	Після фільтру грубого очищення	E = 90 %; Тиск згідно паспорту фільтра
<i>Кт 2.3. Компресіонування повітря</i>	Тиск, температура повітря	Манометр, термометр	Після компресору	0,3 МПа, t=200 °С, W=60%.
<i>Кт 2.4. Очистка повітря на головному фільтрі</i>	Температура повітря, чистота повітря	Термометр, ступінь очищення повітря	Після фільтру головного очищення	E=98%.
<i>Кт 2.5. Стерилізація повітря на індивідуальному фільтрі</i>	Температура повітря, чистота повітря	Термометр, ступінь очищення повітря	Після фільтру індивідуального очищення	E=99,9%.

					НУХТ БТЕК 05.01.24 КР ПЗ			
Зм	Арк	№ докум.	Підпис	Дата				
Розробив		Яковлев А.В.			РОЗДІЛ 7. Контроль виробництва	Лт.	Арк.	Аркушів
Перевірив		Скроцька О.І.						
Реценз.						Кафедра БТМ		
Н. контр.								
Затверд.		Стабніков В.П.						

<p><i>Кт, Км, Кх 3.1.</i> <i>Приготування розчину 6% соляної кислоти</i></p>	<p>Розчин соляної кислоти, температура, тиск, час стерилізації, відсутність сторонньої мікробіоти</p>	<p>Термометр, манометр, мікробіологічний контроль</p>	<p>Температура і тиск контролюються протягом усього процесу стерилізації, після стерилізації проводиться мікробіологічний контроль</p>	<p>C=6%; 131 °C; 0,15 Мпа; протягом 40-60 хв. Відсутність сторонньої мікробіоти</p>
<p><i>Кт, Км, Кх 3.2.</i> <i>Приготування розчину 6% розчину натрій гідроксиду</i></p>	<p>Гідроксид натрію, температура, тиск, час стерилізації, відсутність сторонньої мікробіоти</p>	<p>Термометр, манометр, мікробіологічний контроль</p>	<p>Температура і тиск контролюються протягом усього процесу стерилізації, після стерилізації проводиться мікробіологічний контроль</p>	<p>C=6%; 131 °C; 0,15 Мпа; протягом 40-60 хв. Відсутність сторонньої мікробіоти</p>
<p><i>Кт, Км 4.1.1.</i> <i>Приготування композиції А</i></p>	<p>Композиція А Температура, тиск, час, стерильність</p>	<p>Термометр, манометр, мікробіологічний контроль</p>	<p>Температура і тиск контролюються протягом усього процесу стерилізації, після стерилізації проводиться мікробіологічний контроль</p>	<p>112 °C, 0,05 МПа протягом 20-30 хв, відсутність сторонньої мікробіоти</p>
<p><i>Кт, Км 4.1.2.</i> <i>Приготування композиції Б</i></p>	<p>Композиція Б</p>	<p>Термометр, манометр,</p>	<p>Температура і тиск контролюються</p>	<p>131 °C, 0,15 МПа протягом 40-60 хв,</p>

		мікробіологічний контроль	протягом усього процесу стерилізації, після стерилізації проводиться мікробіологічний контроль	відсутність сторонньої мікробіоти
<i>Кт, Км 4.1.3. Приготування композиції В</i>	Композиція В	Термометр, манометр, мікробіологічний контроль	Температура і тиск контролюються протягом усього процесу стерилізації, після стерилізації проводиться мікробіологічний контроль	131 °С, 0,15 МПа протягом 40-60 хв, відсутність сторонньої мікробіоти
<i>Кт, Км 4.1.4. Приготування композиції Г</i>	Композиція Г	Термометр, манометр, мікробіологічний контроль	Температура і тиск контролюються протягом усього процесу стерилізації, після стерилізації проводиться мікробіологічний контроль	131 °С, 0,15 МПа протягом 40-60 хв, відсутність сторонньої мікробіоти
<i>Кт, Км 4.1.5. Приготування композиції Д</i>	Композиція Д	Термометр, манометр, мікробіологічний контроль	Температура і тиск контролюються протягом усього процесу стерилізації, після	112 °С, 0,05 МПа протягом 20-30 хв, відсутність сторонньої мікробіоти

			стерилізації проводиться мікробіологічний контроль	
<i>Кт, Км 4.2.1. Приготування композиції А</i>	Композиція А Температура, тиск, час, стерильність	Термометр, манометр, мікробіологічний контроль	Температура і тиск контролюються протягом усього процесу стерилізації, після стерилізації проводиться мікробіологічний контроль	112 °С, 0,05 МПа протягом 20-30 хв, відсутність сторонньої мікробіоти
<i>Кт, Км 4.2.2. Приготування композиції Б</i>	Композиція Б	Термометр, манометр, мікробіологічний контроль	Температура і тиск контролюються протягом усього процесу стерилізації, після стерилізації проводиться мікробіологічний контроль	131 °С, 0,15 МПа протягом 40-60 хв, відсутність сторонньої мікробіоти
<i>Кт, Км 4.2.3. Приготування композиції В</i>	Композиція В	Термометр, манометр, мікробіологічний контроль	Температура і тиск контролюються протягом усього процесу стерилізації, після стерилізації проводиться	131 °С, 0,15 МПа протягом 40-60 хв, відсутність сторонньої мікробіоти

			мікробіологічний контроль	
<i>Кт, Км 4.2.4. Приготування композиції Г</i>	Композиція Г	Термометр, манометр, мікробіологічний контроль	Температура і тиск контролюються протягом усього процесу стерилізації, після стерилізації проводиться мікробіологічний контроль	131 °С, 0,15 МПа протягом 40-60 хв, відсутність сторонньої мікробіоти
<i>Кт, Км 4.2.5. Приготування композиції Д</i>	Композиція Д	Термометр, манометр, мікробіологічний контроль	Температура і тиск контролюються протягом усього процесу стерилізації, після стерилізації проводиться мікробіологічний контроль	112 °С, 0,05 МПа протягом 20-30 хв, відсутність сторонньої мікробіоти
<i>Кт, Км 4.3.1. Приготування композиції А</i>	Композиція А Температура, тиск, час, стерильність	Термометр, манометр, мікробіологічний контроль	Температура і тиск контролюються протягом усього процесу стерилізації, після стерилізації проводиться мікробіологічний контроль	112 °С, 0,05 МПа протягом 20-30 хв, відсутність сторонньої мікробіоти

<p><i>Кт, Км 4.3.2. Приготування композиції Б</i></p>	<p>Композиція Б</p>	<p>Термометр, манометр, мікробіологічний контроль</p>	<p>Температура і тиск контролюються протягом усього процесу стерилізації, після стерилізації проводиться мікробіологічний контроль</p>	<p>131 °С, 0,15 МПа протягом 40-60 хв, відсутність сторонньої мікробіоти</p>
<p><i>Кт, Км 4.3.3. Приготування композиції В</i></p>	<p>Композиція В</p>	<p>Термометр, манометр, мікробіологічний контроль</p>	<p>Температура і тиск контролюються протягом усього процесу стерилізації, після стерилізації проводиться мікробіологічний контроль</p>	<p>131 °С, 0,15 МПа протягом 40-60 хв, відсутність сторонньої мікробіоти</p>
<p><i>Кт, Км 4.3.4. Приготування композиції Г</i></p>	<p>Композиція Г</p>	<p>Термометр, манометр, мікробіологічний контроль</p>	<p>Температура і тиск контролюються протягом усього процесу стерилізації, після стерилізації проводиться мікробіологічний контроль</p>	<p>131 °С, 0,15 МПа протягом 40-60 хв, відсутність сторонньої мікробіоти</p>
<p><i>Кт, Км 4.3.5. Приготування композиції Д</i></p>	<p>Композиція Д</p>	<p>Термометр, манометр,</p>	<p>Температура і тиск контролюються</p>	<p>112 °С, 0,05 МПа протягом 20-30 хв,</p>

		мікробіологічний контроль	протягом усього процесу стерилізації, після стерилізації проводиться мікробіологічний контроль	відсутність сторонньої мікробіоти
<i>Кт, Км 4.4.1. Приготування композиції А</i>	Композиція А Температура, тиск, час, стерильність	Термометр, манометр, мікробіологічний контроль	Температура і тиск контролюються протягом усього процесу стерилізації, після стерилізації проводиться мікробіологічний контроль	112 °С, 0,05 МПа протягом 20-30 хв, відсутність сторонньої мікробіоти
<i>Кт, Км 4.4.2. Приготування композиції Б</i>	Композиція Б	Термометр, манометр, мікробіологічний контроль	Температура і тиск контролюються протягом усього процесу стерилізації, після стерилізації проводиться мікробіологічний контроль	131 °С, 0,15 МПа протягом 40-60 хв, відсутність сторонньої мікробіоти
<i>Кт, Км 4.4.3. Приготування композиції В</i>	Композиція В	Термометр, манометр, мікробіологічний контроль	Температура і тиск контролюються протягом усього процесу стерилізації, після	131 °С, 0,15 МПа протягом 40-60 хв, відсутність сторонньої мікробіоти

			стерилізації проводиться мікробіологічний контроль	
<i>Кт, Км 4.4.4. Приготування композиції Г</i>	Композиція Г	Термометр, манометр, мікробіологічний контроль	Температура і тиск контролюються протягом усього процесу стерилізації, після стерилізації проводиться мікробіологічний контроль	131 °С, 0,15 МПа протягом 40-60 хв, відсутність сторонньої мікробіоти
<i>Кт, Км 4.4.5. Приготування композиції Д</i>	Композиція Д	Термометр, манометр, мікробіологічний контроль	Температура і тиск контролюються протягом усього процесу стерилізації, після стерилізації проводиться мікробіологічний контроль	112 °С, 0,05 МПа протягом 20-30 хв, відсутність сторонньої мікробіоти
<i>Кт, Км 4.5.1. Приготування композиції А</i>	Композиція А Температура, тиск, час, стерильність	Термометр, манометр, мікробіологічний контроль	Температура і тиск контролюються протягом усього процесу стерилізації, після стерилізації проводиться	112 °С, 0,05 МПа протягом 20-30 хв, відсутність сторонньої мікробіоти

			мікробіологічний контроль	
<i>Кт, Км 4.5.2. Приготування композиції Б</i>	Композиція Б	Термометр, манометр, мікробіологічний контроль	Температура і тиск контролюються протягом усього процесу стерилізації, після стерилізації проводиться мікробіологічний контроль	131 °С, 0,15 МПа протягом 40-60 хв, відсутність сторонньої мікробіоти
<i>Кт, Км 4.5.3. Приготування композиції В</i>	Композиція В	Термометр, манометр, мікробіологічний контроль	Температура і тиск контролюються протягом усього процесу стерилізації, після стерилізації проводиться мікробіологічний контроль	131 °С, 0,15 МПа протягом 40-60 хв, відсутність сторонньої мікробіоти
<i>Кт, Км 4.5.4. Приготування композиції Г</i>	Композиція Г	Термометр, манометр, мікробіологічний контроль	Температура і тиск контролюються протягом усього процесу стерилізації, після стерилізації проводиться мікробіологічний контроль	131 °С, 0,15 МПа протягом 40-60 хв, відсутність сторонньої мікробіоти

<p><i>Кт, Км 4.5.5.</i> <i>Приготування</i> <i>композиції Д</i></p>	<p>Композиція Д</p>	<p>Термометр, манометр, мікробіологічний контроль</p>	<p>Температура і тиск контролюються протягом усього процесу стерилізації, після стерилізації проводиться мікробіологічний контроль</p>	<p>112 °С, 0,05 МПа протягом 20-30 хв</p>
<p><i>Кт, Км 5.1.</i> <i>Підтримання</i> <i>музейної</i> <i>культури</i></p>	<p>Streptomyces griseus НУТ 6037 Температура, чистота культури</p>	<p>Холодильник, мікробіологічний контроль</p>	<p>Контроль температури колекційної культури здійснюється протягом усього процесу зберігання, при оновленні культури проводять мікробіологічний контроль</p>	<p>2-4 °С, відсутність сторонньої мікробіоти</p>
<p><i>Кт, Км 5.2.</i> <i>Одержання</i> <i>робочої культури</i> <i>на агаризованому</i> <i>середовищі</i></p>	<p>Streptomyces griseus НУТ 6037 Температура, чистота культури</p>	<p>Термостат, мікробіологічний контроль</p>	<p>Контроль температури колекційної культури здійснюється протягом усього процесу вирощування, при оновленні культури</p>	<p>28 °С протягом 48 год, відсутність сторонньої мікробіоти</p>

			проводять мікробіологічний контроль	
<i>Кт, Км 5.3. Одержання робочої культури в пробірках</i>	Streptomyces griseus NUT 6037 Температура, чистота культури	Термостат, мікробіологічний контроль	Контроль температури колекційної культури здійснюється протягом усього процесу вирощування, при оновленні культури проводять мікробіологічний контроль	28 °С протягом 48 год, відсутність сторонньої мікробіоти
<i>Кт, Км 5.4. Вирощування інокуляту у колбах на качалках</i>	Посівний матеріал, температура, рН, швидкість обертів, мікробіологічна чистота	Термометр, рН- метр, тахометр, мікробіологічний контроль	Температура, швидкість перемішування, рН контролюються протягом усього процесу вирощування, після цього відбувається мікробіологічний контроль	30 оС; рН 6,5-6,9; Швидкість перемішування – 150-245 об/хв; Швидкість подачі газу – 8,5 л/хв.
<i>Кт, Км 5.5. Вирощування інокуляту у посівному</i>	Посівний матеріал, температура, рН, швидкість обертів, мікробіологічна чистота	Термометр, рН- метр, тахометр, мікробіологічний контроль	Температура, швидкість перемішування, рН контролюються	30 оС; рН 6,5-6,9; Швидкість перемішування – 150-245 об/хв; Швидкість

<p><i>апараті об'ємом 10 л</i></p>			<p>протягом усього процесу вирощування, після цього відбувається мікробіологічний контроль</p>	<p>подачі газу – 8,5 л/хв.</p>
<p><i>Кт, Км 5.6. Вирощування інокуляту у посівному апараті об'ємом 100 л</i></p>	<p>Посівний матеріал, температура, рН, швидкість обертів, мікробіологічна чистота</p>	<p>Термометр, рН-метр, тахометр, мікробіологічний контроль</p>	<p>Температура, швидкість перемішування, рН контролюються протягом усього процесу вирощування, після цього відбувається мікробіологічний контроль</p>	<p>30 оС; рН 6,5-6,9; Швидкість перемішування – 150-245 об/хв; Швидкість подачі газу – 8,5 л/хв.</p>
<p><i>Кт, Км 5.7. Вирощування інокуляту у посівному апараті об'ємом 1 м³</i></p>	<p>Посівний матеріал, температура, рН, швидкість обертів, мікробіологічна чистота</p>	<p>Термометр, рН-метр, тахометр, мікробіологічний контроль</p>	<p>Температура, швидкість перемішування, рН контролюються протягом усього процесу вирощування, після цього відбувається мікробіологічний контроль</p>	<p>30 оС; рН 6,5-6,9; Швидкість перемішування – 150-245 об/хв; Швидкість подачі газу – 8,5 л/хв.</p>
<p><i>Кт, Км, Кх 6. Виробничий</i></p>	<p>Посівний матеріал, температура, рН,</p>	<p>Термометр, рН-метр, тахометр,</p>	<p>Температура, швидкість</p>	<p>30 оС; рН 6,5-6,9; Швидкість</p>

біосинтез у ферментері об'ємом 10 м ³	швидкість обертів, концентрація біомаси та продукту, мікробіологічна чистота	мікробіологічний контроль, визначення концентрації	перемішування, рН контролюються протягом усього процесу вирощування, після цього відбувається мікробіологічний контроль	перемішування – 150-245 об/хв; Швидкість подачі газу – 8,5 л/хв. Концентрація стрептоміцину – 155 г/л, концентрація біомаси – 7,6 г/л.
--	--	--	---	--

7.2. Мікробіологічний контроль

Чистоту культури перевіряють одночасно декількома способами: візуально, мікроскопуванням і висівом на поживних середовищах.

При візуальному контролі визначають характер росту культури на поверхні штриха на скошеному агарі : якщо він однорідний, то культура вважається чистою, якщо неоднорідною - забрудненою.

Мікроскопічний контроль: якщо в препараті всі клітини морфологічно однорідні, культура чиста.

Чистоту культури перевіряють також посівом на поживні середовища. Однорідність характеру росту колоній свідчить про чистоту виділеної культури. Набір середовищ визначається особливостями виділених мікроорганізмів і їх можливих супутників.

Візуальні ознаки *Streptomyces griseus* при мікроскопіюванні наступні:

1. Спори *S. griseus* мають різну форму: бочкоподібну, овальну, бобоподібну, кулясту, циліндричну. Часто виявлялися відмінності у формі та розмірах навіть серед спор одного ланцюга.
2. Базальні частини нових гілок міцелію часто були звуженими.
3. Зрілі повітряні спори часто демонструють маленькі фрагменти прозорі плівки, що прилипають до зовнішньої стінки.

4. Повітряні спорогенні гіфи показали деякі відмінності в морфології між штамми, що ростуть на одному середовищі [49].

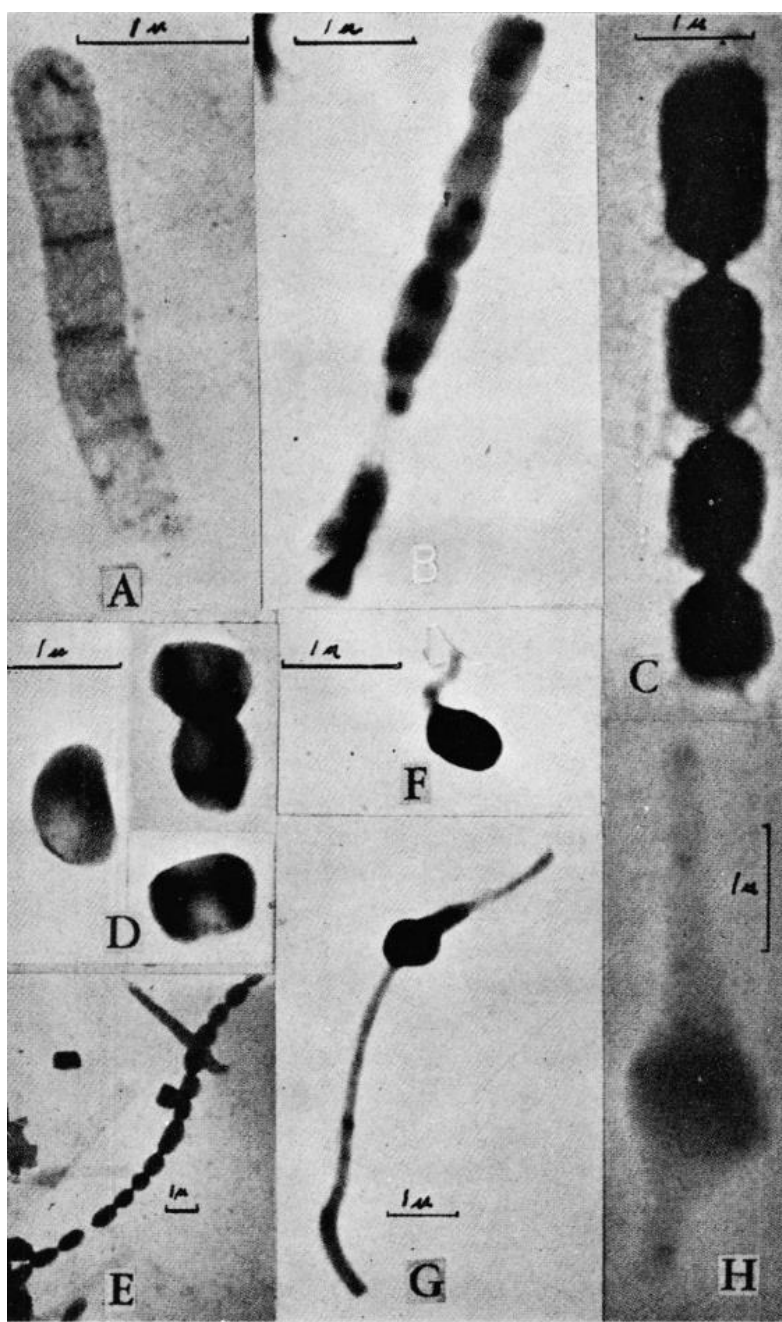


Рис. 7.1. Зображення *Streptomyces griseus* отримані за допомогою світлового та електронного мікроскопа [50]

7.3. Показники росту і синтезу цільового продукту

7.3.1. Концентрація цільового продукту

Визначення відбувається за допомогою методу ВЕРХ. В якості еталонного зразку були сульфат стрептоміцину. Реагенти: 1-гексаносульфат натрію; триосновний фосфат натрію; ацетонітрил; фосфорна кислота; одноосновний фосфат калію; трихлороцтова кислота; EDTA. Використану воду подвійно дистилювали в суцільноскляному кубі після проходження через іонообмінну колонку.

Хроматографічна система складалася з насоса Waters 600E, оснащеного автосамплером Waters 717plus та детектором PDA Waters 996. Аналітичною колонкою була колонка Prodigy ODS3 reversedphase, 5 м, 250 мм × 4,6 мм. Швидкість потоку колонки підтримували на рівні 1,3 мл/хв. Температуру колонки встановлювали на рівні 25 °C (±0,1). Довжина хвилі детектора становила 200 ± 0,2 нм. Після завершення щоденного аналізу колонку промивали сумішшю ацетонітрил:вода (65:35). Рухома фаза для вимірювання STP та STD містила буфер (20 мМ 1-гексаносульфат натрію та 25 мМ триосновний фосфат натрію, рН 6,0, розчинник А) та ацетонітрил (розчинник Б) (85:15, в/в). Перед використанням рН розчину доводили фосфорною кислотою (85%) і фільтрували через 0,22 мкм фільтр [51].

7.3.2. Концентрація джерела вуглецю та азоту

Метод визначення концентрації джерела вуглецю. Джерелом вуглецю у середовищі є глюкоза. Колориметричний метод 3,5-динітросаліцилової кислоти (DNS) широко використовувався для вимірювання цукрів із відновними властивостями, спричиненими наявністю потенційної альдегідної або кетогрупи. Метод заснований на одночасному окисненні функціональних цукрових груп і відновленні DNS до 3-аміно-5-нітросаліцилової кислоти при застосуванні лужних умов і тепла, яке поглинає світло при 540 нм.

Рекомендований IUPAC реагент DNS, що містить фенол і метабісульфіт натрію, готується наступним чином: 10,6 г DNS, 19,8 г гідроксиду натрію, 306 г солі Рошеля

(тарtrat натрію калію), 7,6 мл кристалів фенолу, розплавлених при 50 С, і 8,3 г метабісульфіту натрію розчинили в 1416 мл дистильованої води.

Розчин реактиву 3,5-динітросаліцилової кислоти (DNS) без фенолу та метабісульфіту натрію (надалі безфенольний DNS) готували наступним чином: 10 г ДНС, 16 г гідроксиду натрію та 300 г солі Рошеля (натрій калію тарtrat) розчиняли до кінцевого об'єму 1000 мл дистильованою водою.

Контрольний розчин DNS без 3,5-динітросаліцилової кислоти готували наступним чином: 16 г гідроксиду натрію та 300 г тарtrату натрію калію розчиняли дистильованою водою до кінцевого об'єму 1000 мл. Його використовували для дослідження розвитку кольору, не пов'язаного зі зниженням DNS у реакції вимірювання рівня цукру 12,4 мМ глюкози, що містить 20 мМ або цистеїну, триптофану, гліцину або гістидину. Вищезазначені реакції також проводили у воді як контроль.

Відновлюючи цукри вимірювали з використанням реагентів DNS і безфенольних DNS. Реакційні суміші містили 1,5 мл відповідного розчину відновлюючого цукру та 3 мл будь-якого реагенту DNS. Глюкозу, ксилозу, арабінозу та целобіозу використовували в діапазоні концентрацій 3,7–12,4 мМ відповідно до стандартної кривої, рекомендованої для вимірювання активності целюлаз. Реакційну суміш кип'ятили на водяній бані протягом 5 хв і охолоджували до кімнатної температури в водно-льодовій ванні. Згодом відбирають 0,2 мл зразка та розбавляють 2,5 мл дистильованої води. Оптичну густину вимірюють при 540 нм за допомогою спектрофотометра Shimadzu 1800 [52,53].

Метод визначення концентрації джерела азоту. Джерелом азоту у середовищі є $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. Для відносно великих кількостей азоту (0,5 мг і більше) підходить напівмікрометод К'ельдаля (при якому аміак відганяють із лужного розчину, збирають і визначають шляхом титрування) [54]. Результати, представлені в кожному випадку, є середнім значенням принаймні шести оцінок.

Аміак виділяли дистиляцією з водяною парою при рН 7-4 з використанням фосфатного буфера в апараті Парнаса-Вагнера протягом 4 хвилин і абсорбували 2%

розчином борної кислоти. Потім аміак титрували проти стандартної соляної кислоти, використовуючи індикатор Maza-a (змішаний індикатор, що містить бромкрезоловий зелений і метиловий червоний) [55].

РОЗДІЛ 8. ОХОРОНА ДОВКІЛЛЯ

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

У наш час питання екології та економіки тісно взаємопов'язані на всіх рівнях – відходи є не лише чинником забруднення повітря, водних ресурсів, ґрунту та інших природних компонентів, але також причиною зниження якості життя, що проявляється у зростанні захворюваності, зменшенні розміру доходів, погіршенні умов праці і відпочинку. Відходи біотехнологічного виробництва поділяють на групи: 1) тверді – біомаса продуцента, шлами та осад, рослинні відходи та сировина, залишки курячих ембріонів, тканинні культури тваринного походження, барда після бродіння; 2) рідкі – рідка частина культуральної рідини, промислова та відпрацьована вода; 3) газоподібні – відпрацьоване повітря, що викидається з ферментерів, вуглекислий газ та водень, накопичені при бродінні.

В Україні питання утилізації відходів регулюються законами «Про відходи», «Про охорону навколишнього природного середовища», «Про забезпечення санітарного та епідемічного благополуччя населення», «Про вилучення з обігу, переробку, утилізацію, знищення або подальше використання неякісної та небезпечної продукції», Кодексом України про надра, та іншими нормативно-правовими актами [56].

					НУХТ БТЕК 05.01.24 КР ПЗ		
Зм	Арк	№ докум.	Підпис	Дата			
Розробив		Яковлев А.В.			Лт.	Арк.	Аркушів
Перевірив		Скроцька О.І.					
Реценз.					РОЗДІЛ 8. Охорона довкілля Кафедра БТМ		
Н. контр.							
Затверд.		Стабніков В.П.					

8.2. Перспективи впровадження системи екологізації виробництва

8.2.1. Система знешкодження та утилізації рідких відходів

У світовій практиці все більше уваги приділяють полімерним мембранам, що мають значні переваги. Вони мають високу резистентність, витривалість, значний строк експлуатації і інші переваги.

Розглядалася поведінка мембран фірми BTS engineering, які все більше завойовують український ринок мембран і мембранного обладнання. Модулі BTS виконані з керамічної маси оксидів алюмінію, титану та цирконію. Вони мають вигляд циліндра з зовнішнім діаметром 25 мм, довжиною 1178 мм. У середині циліндричної основи є 7 каналів діаметром 6 мм, що розташовані концентрично. Загальна площа мембранної поверхні складає 0,155. Багаторазові тести показали, що мембрани BTS uF (100 нм) більш ефективні при обробці стічних вод, ніж мембрани BTS uF (200 нм).

Комбінації традиційних процесів очищення рідких відходів з мембранною обробкою дають змогу заощадити енергію і реагенти на обробку і значно спрощують увесь технологічний цикл для досягнення належних екологічних показників скиду у водойми [57].



Рис. 8.1. Зовнішній вигляд погрузних мембран

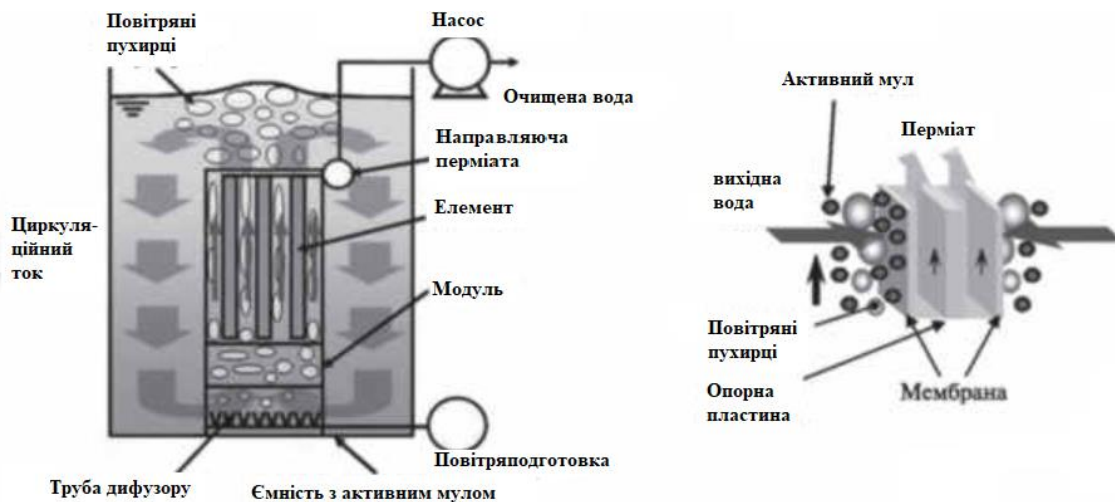


Рис. 8.2. Схема фільтрації

8.2.2. Система знешкодження та утилізації газоповітряних відходів

Гідромеханічна очистка газів (мокра очистка, промивка газів, скруберна очистка) – це один з найбільш ефективних і розповсюджених засобів пиловловлювання. У якості зрошуючої рідини найчастіше використовується вода. При вловлюванні в одному апараті одночасно твердих та газоподібних забруднюючих речовин вибір зрошуючої рідини, обумовлений процесом абсорбції.

Для реалізації процесу очистки газу краплями рідини, запилений газ промивають дисперговою (розпиленою) рідиною. Частки пилу захоплюються краплями рідини і виводяться з газового потоку.

Особливістю механічних газопромивачів є наявність пристрою, що обертається (ротор, диск), який забезпечує розбризування та перемішування рідини з газовим потоком. Для цих цілей підійдуть механічні скрубери. У механічних скруберах газ, що очищується, контактує з рідиною, що розбризується, за допомогою тіла, що обертається [58].

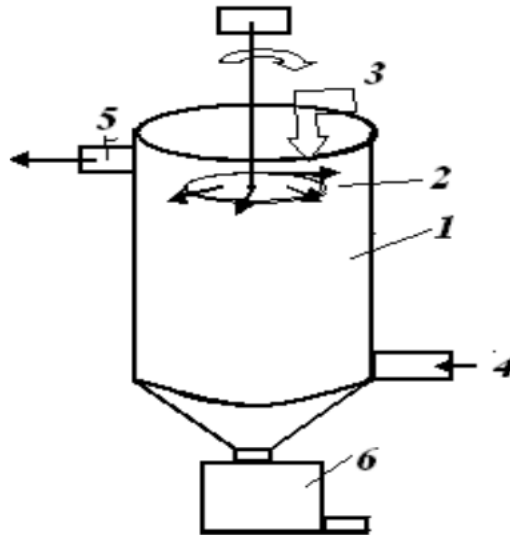


Рис. 8.1. Схема механічного скрубера: 1 – корпус, 2 – диск, що обертається, 3 – підведення води, 4 – вхід газу, 5 – вихід газу, 6 – гідрозатвор [58].

8.2.3. Система знешкодження та утилізації твердих відходів

Тверді відходи вивозяться за угодою із спеціалізованими компаніями на сховища відходів. Сховища відходів – це гідровідвали, шламосховища, шламонакопичувачі і т. д. При використанні автомобільного й залізничного транспорту для транспортування відходів відвали влаштовують плоскими, платоподібними, одноярусними, багатоярусними, терасованими висотою 30-100 м. Відсіпання проводять шарами товщиною 1,0-1,5 м з ущільненням самим автотранспортом за рахунок декількох проходок або ущільнюючими катками. Відходи можуть відсіпати з кузовів або перевантаженням конвеєрними відвалоутворювачами, екскаваторами, бульдозерами, скреперами й іншою технікою. Розвантажувальні шляхи влаштовують віялоподібно з тупиками або по кільцю [59].

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Selman A. Waksman. My life with the Microbes. — New York: Simon and Schuyster, 1954.
2. Державна Фармакопея України / Державне підприємство “Науково-експертний фармакопейний центр”. – Харків: РІРЕГ, 2001. – 556 с.
3. Shimizu, N., Odawara, Y., & Kato, K. (1992). Production of streptomycin using a computer-controlled fermentor: Addition of glucose with oxygen uptake rate and/or carbon dioxide evolution rate monitoring. *Journal of Fermentation and Bioengineering*. -1992. - 74(1): 64–66. [Електронний ресурс]. Режим доступу: doi:10.1016/0922-338x(92)90272-v.
4. T. Neumann, W. Piepersberg, J. Distler. Decision phase regulation of streptomycin production in *Streptomyces griseus*. *Microbiology*. -1996. -142:1953-1963. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://doi.org/10.1099/13500872-142-8-1953>.
5. https://www.jstage.jst.go.jp/article/antibiotics1968/28/5/28_5_345/_pdf
6. Вікторов А.П., Передер В.Г., Щербак А.В. Взаємодія ліків та їжі. - К.: Здоров'я, 1991.-240с.
7. Технологія ліків промислового виробництва: Підручник / В.І. Чуєшов, Л.М. Хохлова, О.О. Ляпунова та ін.: За ред. В.І. Чуєшова — Х.: Вид-во НФаУ; Зо-лоті сторінки, 2003. — 720 с.
8. Robert, F., Vuataz, G., Pollien, P., Saucy, F., Alonso, M.-I., Bauwens, I., & Blank, I. Acrylamide Formation from Asparagine under Low-Moisture Maillard Reaction Conditions. 1. Physical and Chemical Aspects in Crystalline Model Systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. -2004.- 52(22): 6837–6842. [Електронний ресурс]. Режим доступу: doi:10.1021/jf0492464
9. Madigan M, Martinko J, eds. (2005). *Brock Biology of Microorganisms* (11th ed.). Prentice Hall. ISBN 0-13-144329-1.

10. Кочієва О.С., Компанієць Н.С. комплекси меркурію (II) зі стрептоміцином та використання їх у фармакології та аналітичній практиці. 79 міжнародна наукова конференція молодих учених, аспірантів і студентів «наукові здобутки молоді — вирішенню проблем харчування людства у ХХІ столітті» частина 4. -2013. –с. 385. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://dspace.nuft.edu.ua/jspui/handle/123456789/13596>
11. Tabletki.ua. Стрептомицин порошок для р-ра д/ин. по 1 г №1 во флак. [Електронний ресурс]. Режим доступу: https://tabletki.ua/Стрептомицин/15612/#Способ_применения_и_дозы
12. Климнюк С.І., Покришко О.В., Савчук М.М., Романюк Л.Б., та ін. Мікробна флора ротоглотки при захворюванні на грип та ГРВІ. *Annals of Mechnikov Institute*. - 2013. -4:41-48. [Електронний ресурс]. Режим доступу: http://www.imiamn.org.ua/journal/4_2013/PDF/8.pdf
13. Тарасюк. О.О. Довкілля як ризик-фактор для розвитку ускладнень бактерійної етіології при захворюванні на ГРВІ та грип. *Гігієна та екологія*. -2013. – 22(4): 149-155. [Електронний ресурс]. Режим доступу: [http://www.irbis-nbuv.gov.ua/cgi-bin/irbis_nbuv/cgiirbis_64.exe?I21DBN=LINK&P21DBN=UJRN&Z21ID=&S21REF=10&S21CNR=20&S21STN=1&S21FMT=ASP_meta&C21COM=S&2_S21P03=FILA=&2_S21STR=Znpsnmapo_2013_22\(4\)__22](http://www.irbis-nbuv.gov.ua/cgi-bin/irbis_nbuv/cgiirbis_64.exe?I21DBN=LINK&P21DBN=UJRN&Z21ID=&S21REF=10&S21CNR=20&S21STN=1&S21FMT=ASP_meta&C21COM=S&2_S21P03=FILA=&2_S21STR=Znpsnmapo_2013_22(4)__22)
14. Мельничук Л.В., Долженко О.Г., Регульська І.Б. Проблемні питання лікування захворювань респіраторної системи дітей. *Буковинський медичний вісник*. -2017. - 2(82): 27-30. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <http://dspace.bsmu.edu.ua/handle/123456789/16048>
15. Ботьбот Ю.К., Бордій Т.А., Чабанюк О.В., Карпенко, А.В. Деякі імунологічні аспекти повторних бактеріальних ускладнень ГРВІ у дітей. *Педіатрія*. -2015. -24(3): 245-250. [Електронний ресурс]. Режим доступу: http://www.irbis-nbuv.gov.ua/cgi-bin/irbis_nbuv/cgiirbis_64.exe?I21DBN=LINK&P21DBN=UJRN&Z21ID=&S21REF=10

&S21CNR=20&S21STN=1&S21FMT=ASP_meta&C21COM=S&2_S21P03=FILA=&2_S21STR=Znpsnmapo_2015_24(3)_42

16. Василега П.А. Особливості рухової активності дітей молодшого шкільного віку у період поширення гострих респіраторних вірусних інфекцій. Актуальні проблеми сучасної медицини. -2022. -22(3-4): 216-219.

17. Я.О. Дзюблик, С.О. Соловйов, І.В. Дзюблик. Грип і пневмонія: як вони пов'язані?. Здоров'я суспільства. -2013. – 5 с. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <http://pub.inmeds.com.ua/index.php/health/article/view/635>

18. Центр громадського здоров'я МОЗ України. Епідсезон 2022/2023: його унікальність та чого слід очікувати. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://phc.org.ua/news/epidsezon-20222023-yogo-unikalnist-ta-chogo-slid-ochikuvati>

19. В.Р. Атумава, Г.Р. Григор'єва, О.С. Монакова. Аналіз динаміки показників захворюваності та смертності на хвороби органів дихання в Україні. VI Міжнародна науково-практична конференція «Інновації та перспективи сучасної науки» SSPG Publish, Стокгольм. -2023. 70-74 с.

20. Мінфін. Населення України в 2021 році. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://index.minfin.com.ua/ua/reference/people/2021/>

21. "Streptomyces griseus IFO 13350 Genome". Archived from the original on 2016-03-03. Retrieved 2008-12-02.

22. A. Gunjal, D. S. Bhagat. Chapter 7 - Diversity of actinomycetes in Western Ghats. Microbial Diversity in Hotspots. – 2022. –р.: 117-133. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-90148-2.00007-9>

23. Large-scale fermenter | bioreactor. [Електронний ресурс]. Режим доступу: https://china-fermenter.com/product/large_scale_fermenter_bioreactor

24. Вентилятор даховий радіальний КРОМ-2,25. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://smartvent.com.ua/ua/p691276802-ventilyator-kryshnyj->

radialnyj.html?source=merchant_center&gclid=CjwKCAiA3aeqBhBzEiwAxFiOBg_bKn
G7X1dMvqR1Q2LP2er73WUXLE6lOSZO7X4zSIWvKWF6w0LV5xoCy-YQAvD_BwE

25. Basic-Flo G. [Электронный ресурс]. Режим доступа:
<https://www.camfil.com/en/products/general-ventilation-filters/bag-filters/basic-flo/basic-flo-g--32971>

26. Компрессор Sierra. [Электронный ресурс]. Режим доступа: http://ingersoll-rand.com.ua/pdf/index.php?j=compressors_sierra#page/2

27. Охолоджувач повітря S3. [Электронный ресурс]. Режим доступа:
<https://tdfavorit.com.ua/ua/p493555638-ohladitel-vozdruha-18cp2.html>

28. Receivers 137374. [Электронный ресурс]. Режим доступа:
<https://www.duncanrogers.com/pneumatics/air-compressors-and-dryers/air-receivers/vertical-receivers-paint-150-20000l-8-3-13-5-bar/S020105505>

29. Водяний калорифер КСК 3-6. [Электронный ресурс]. Режим доступа:
<https://mpptk.com.ua/product/vodyanoj-kalorifer-ksk-3-6/>

30. City-Flo. [Электронный ресурс]. Режим доступа:
<https://www.camfil.com/en/products/molecular-filters/bag-filters/city-flo/city-flo--5833>

31. Дозуючий насос EWN-R. [Электронный ресурс]. Режим доступа:
<https://www.bibus.ua/produkti-rishennja/nasosi/dozujuchi-nasosi-iwaki/ewn-r-serija/>

32. Closepleat MXS 13. [Электронный ресурс]. Режим доступа:
[https://www.camfil.com/en/products/epa-hepa-and-ulpa-filters/compact-filters-\(box-type\)/closepleat/closepleat-mxs--23185](https://www.camfil.com/en/products/epa-hepa-and-ulpa-filters/compact-filters-(box-type)/closepleat/closepleat-mxs--23185)

33. НАВИТАТ cell dw 10 Liter. [Электронный ресурс]. Режим доступа:
<https://www.ika.com/en/Products-LabEq/Bioreactors-pg233/НАВИТАТ-cell-dw-10-10007652/>

34. Насос дозуючий SEKO APG803NHH0000. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://dosingtech.com.ua/uk/product/nasos-dozuyuchij-seko-apg803nhh0000-fpm/>

35. Biostat D-DCU 100 Liter Steel Bioreactor. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://www.sartorius.com/download/10106/biostat-d-dcu-customer-presentation-v2-data.pdf>

36. Ваговий дозатор сипких продуктів великими дозами ВЛД-1. [Електронний ресурс]. Режим доступу: https://pack-tech.com.ua/p953830992-vesovoj-dozator-sypuchih.html?source=merchant_center&gclid=CjwKCAiA3aeqBhBzEiwAxFiOBh1eVWYR1Yxclm2WUzQGqWxRY93CurMpL4ilB92nEBnOng_V1lM3ehoCLUAQAvD_BwE

37. Скляний хімічний реактор на 30 л. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://ukrchemgroup.com/ua/p1331231533-steklyannyj-himicheskij-reaktor.html>

38. Перистальтичний насос HELIOS AS 15 VX-221. [Електронний ресурс]. Режим доступу: https://bts.net.ua/ua/pumping-equipment-distillery/chemical-pumps/peristaltichnyj-nasos-helios-as-15-vx-221-z-zm-nnoyu-produktivn-styu-/?gclid=CjwKCAiA3aeqBhBzEiwAxFiOBgQm77S_MYOm_SvenVIp4Y2fBDlMgnyHD Bbe_APiXxiUY44HmofN3RoCXbIQAvD_BwE

39. Скляний реактор з сорочкою s212 обсяг 10 літрів. [Електронний ресурс]. Режим доступу: https://hms-ua.com/p1445439783-steklyannyj-reaktor-rubashkoj.html?source=merchant_center&utm_source=a5o5_adwords&utm_medium=cpc&utm_campaign=cid_20710473343_search&utm_term=&gclid=CjwKCAiA3aeqBhBzEiwAxFiOBunSSxjrrYRMKkBxoLfo0Agp-asewUKRh7Vdbvrr6z5oOvJ9Ei3XmRoClrsQAvD_BwE

40. Industrial-scale bioreactor 1000L. . [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://en.sysbiotech.at/industrial-scale-bioreactor-500-1000l/>

41. Напівавтоматичний ваговий дозатор ДВСВ-М. [Електронний ресурс]. Режим доступу: https://prom.ua/p1092087495-bunkernyj-dozator-dlya.html?utm_source=google_product&utm_medium=cpc&utm_content=pla&utm_campaign=KT_cpc_1&gclid=CjwKCAiA3aeqBhBzEiwAxFiOBiQVMkNZ_ToXCyUvqy55b286bFW5i080Eo6WXJnbkBIInYXCR5RNyhoCTxIQAvD_BwE

42. Дозатор води та рідин. [Електронний ресурс]. Режим доступу: https://agro-teh.com.ua/p370228267-dozator-vody-zhidkostej.html?source=merchant_center&gclid=CjwKCAiA3aeqBhBzEiwAxFiOBgRti25JMQDJ6zQJs1sAGBHifWH4cHfX_jpZqaqckSO3r3l3YWOKYBoCjvwQAvD_BwE
43. Реактор 300 літрів. [Електронний ресурс]. Режим доступу:
44. <https://stprom.com.ua/ua/p1016490435-reaktor-300-litrov.html>
45. Industrial hose pump JXHIN-40-CI+SS-NR-P. [Електронний ресурс]. Режим доступу: https://prom-nasos.com.ua/eng/catalog/pumps-by-type/peristaltic_pumps/-ndustrialniy-shlangoviy-nasos-jxhin-40-ci-ss-nr-p-328-m3-god-2-2-kvt-16-bar-380v/
46. Скляний реактор з сорочкою S212 об'єм 150 літрів. [Електронний ресурс]. Режим доступу:
47. <https://hms-ua.com/p1445473620-steklyannyj-reaktor-rubashkoj.html>
48. Скляний хімічний реактор на 100 л. . [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://ukrchemgroup.com/ua/p1331285332-steklyannyj-himicheskij-reaktor.html>
49. Ямборко Г. В. Мікробіологія з основами вірусології: метод. вказівки до лаб. занять для студентів хім. ф-ту / Г. В. Ямборко, Н. О. Єлинська, О. Ю. Зінченко, Н. Ю. Васильєва. – Одеса : Одес. нац. ун-т ім І. І. Мечникова, 2018. – 52 с.
50. Carvajal, F. Studies on the Structure of Streptomyces Griseus. Mycologia. -1946. -38(5): 587–595. [Електронний ресурс]. Режим доступу: 10.1080/00275514.1946.12024080
51. Granados, O., & Meza, G.. A direct HPLC method to estimate strepto-mycin and its putative ototoxic derivative, streptidine, in blood serum: Applica-tion to streptomycin-treated humans. Journal of Pharmaceutical and Biomed-ical Analysis. -2007. -43(2): 625–630. [Електронний ресурс]. Режим доступу: doi:10.1016/j.jpba.2006.07.036
52. Carvajal, F. Studies on the Structure of Streptomyces Griseus. Mycologia. -1946. -38(5): 587–595. [Електронний ресурс]. Режим доступу: 10.1080/00275514.1946.12024080

53. Teixeira, R. S. S., da Silva, A. S., Ferreira-Leitão, V. S., & Bon, E. P. da S. Amino acids interference on the quantification of reducing sugars by the 3,5-dinitrosalicylic acid assay mislead carbohydrase activity measurements. *Carbohydrate Research*. -2012. – 363: 33–37. [Електронний ресурс]. Режим доступу: 10.1016/j.carres.2012.09.024
54. Thompson, J., & Morrison, G.. Determination of Organic Nitrogen. Control of Variables in the Use of Nessler's Reagent. *Analytical Chemistry*. -1951. -23(8): 1153–1157. [Електронний ресурс]. Режим доступу: doi:10.1021/ac60056a029
55. Anantkrishnan, S. V., & Srinivasa Pai, K. V.. The kjeldahl method of nitrogen determination. *Proceedings of the Indian Academy of Sciences - Section A/* -1952. -36(4). [Електронний ресурс]. Режим доступу: doi:10.1007/bf03172239
56. Муренко М.О. Дотримання норм утилізації твердих і рідких відходів біотехнологічного підприємства як складова його економічної та екологічної стабільності. «Економіко-правові та управлінські аспекти розвитку суспільства: молодіжний погляд» матеріали міжнародної науково-практичної конференції. – 2019. -386-387. [Електронний ресурс]. Режим доступу: http://212.1.86.13/jspui/bitstream/123456789/3699/1/Ч.1%20Конференція_01.11.2019.pdf#page=386
57. Бондар С.М. Мембранна технологія утилізації рідких відходів харчових виробництв. Збірник тез доповідей 77 наукової конференції викладачів академії. - 2017. –с. 188. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://card-file.ontu.edu.ua/server/api/core/bitstreams/e4376ea5-907d-4f1b-a8b5-de522061068e/content>
58. Бекетов В. Є. Технології гідромеханічної очистки газів : конспект лекцій для здобувачів першого (бакалаврського) рівня вищої освіти всіх форм навчання зі спеціальності 183 – Технології захисту навколишнього середовища / В. Є. Бекетов, О. С. Ломакіна ; Харків. нац. ун-т. міськ. госп-ва ім. О. М. Бекетова. – Харків : ХНУМГ ім. О. М. Бекетова, 2022. – 75 с. [Електронний ресурс]. Режим доступу:

<https://eprints.kname.edu.ua/61894/1/Ломакіна%2C%2046Л%2C%202021%2C%20pdf.pdf>

59. Бригінець К. Д. Утилізація промислових відходів. Основи утилізації відходів: конспект лекцій (для студентів 3 курсу денної та 5 курсу заочної форм навчання напряму підготовки 6.040106 „Екологія, охорона навколишнього середовища та збалансоване природокористування”) / К. Д. Бригінець, К. О. Абашина; Харк. нац. акад. міськ. госп-ва. – Х.: ХНАМГ, 2012 – 58 с. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://eprints.kname.edu.ua/25579/1/2010%20печ.%2038Л%20Укр%20конс%20лекц%20утил.pdf>