

НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ

Інститут (факультет) біотехнології та екологічного контролю
Кафедра біотехнології і мікробіології
Освітній ступінь бакалавр
Спеціальність 162 «Біотехнології та біоінженерія»
(шифр і назва)
Освітньо-професійна програма «Біотехнології: фармацевтична, промислова, харчова, природоохоронна»
(назва)

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри біотехнології і мікробіології

Пирог Т.П.

«17» березня 2020 року

З А В Д А Н Н Я

НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ ЗДОБУВАЧА

Міщука Анатолія Павловича

(прізвище, ім'я, по батькові)

1. Тема роботи Культивування *Saccharopolyspora erythraea* для одержання Еритроміцину

керівник роботи Буценко Л.М., к.б.н., доцент
(прізвище, ім'я, по батькові, науковий ступінь, вчене звання)

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

2. Строк подання здобувачем роботи 01 червня 2020 року

3. Вихідні дані до роботи біологічний агент *Saccharopolyspora erythraea* цільовий продукт: Еритроміцин

4. Зміст розрахунково-пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно розробити) РОЗДІЛ 1. Характеристика цільового продукту. РОЗДІЛ 2. Обґрунтування та характеристика *Saccharopolyspora erythraea*. РОЗДІЛ 3. Техніко-економічне обґрунтування. РОЗДІЛ 4. Біосинтез еритроміцину. РОЗДІЛ 5. Обґрунтування вибору технологічної схеми. РОЗДІЛ 6. Матеріальний баланс і розрахунок обладнання виробництва еритроміцину. РОЗДІЛ 7. Специфікація обладнання. РОЗДІЛ 8. Опис технологічної схеми виробництва еритроміцину. РОЗДІЛ 9. Контроль виробництва еритроміцину. РОЗДІЛ 10. Автоматизація ділянки виробництва еритроміцину.

5. Перелік графічного матеріалу

Технологічна схема виробництва еритроміцину – 2 аркуші формату А1 та 1 аркуш А3. Апаратурна схема виробництва метіоніну – 3 аркуші формату А1. Схема автоматизації ділянки висушування кристалічного осаду 1 аркуш формату А3. Схема біосинтезу еритроміцину на 1 аркуші А3.

6. Консультанти розділів роботи

Розділ	Прізвище, ініціали та посада консультанта	Підпис, дата	
		завдання видав	завдання прийняв
10	Клименко Олег Миколайович доцент, к.т.н., кафедра автоматизації та комп'ютерних технологій систем управління	23.03.2020	24.04.2020

7. Дата видачі завдання _____ «17» березня 2020 року _____

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№ з/п	Назва етапів виконання кваліфікаційної роботи	Строк виконання етапів роботи	Примітка
1	Вступ.	6.03.20-9.03.20	
2	Характеристика еритроміцину.	6.03.20-9.03.20	
3	Характеристика <i>Saccharopolyspora erythraea</i> .	10.03.20-20.03.20	
4	Техніко-економічне обґрунтування.	15.03.20-30.03.20	
5	Біосинтез еритроміцину.	20.03.20-30.03.20	
6	Обґрунтування вибору технологічної схеми виробництва еритроміцину.	30.03.20-10.04.20	
7	Матеріальний баланс і розрахунок обладнання виробництва еритроміцину.	30.03.20-10.04.20	
8	Специфікація обладнання.	08.04.20-15.04.20	
9	Опис технологічної схеми виробництва еритроміцину.	10.04.20-20.04.20	
10	Контроль виробництва еритроміцину.	20.04.17-10.05.20	
11	Автоматизація ділянки виробництва еритроміцину.	20.04.20-10.05.20	
12	Оформлення пояснювальної записки.	15.05.20-25.05.20	
13	Виконання графічної частини роботи.	10.04.20-20.05.20	

Здобувач _____

(підпис)

Міщук А.П.

(прізвище та ініціали)

Керівник роботи _____

(підпис)

Буценко Л.М.

(прізвище та ініціали)

РЕФЕРАТ

Представлено кваліфікаційну роботу виробництва еритроміцину (ЕР) культивуванням *Saccharopolyspora erythraea* NCIMB 8594, який синтезує 0,8 г/л на середовищі, де основним джерелом вуглецю є м'яса. Еритроміцин – макролідний антибіотик, що використовують для лікування інфекційно-запальних захворювань та є попередником для трансформації до напівсинтетичного антибіотика азитроміцину. Розраховано річну потребу цільового продукту – 192 кг, щоб здійснити імпортозаміщення для фармацевтично підприємства ПАТ «Вітаміни».

Технологія виробництва еритроміцину складається з допоміжних робіт (приготування миючих та дезінфікуючих засобів; підготовка виробничих приміщень, аераційного повітря, обладнання й комунікацій; приготування та стерилізація титрувальних агентів, піногасника, м'ясно-пропанолового розчину для підживлення; підготовка реагентів для стадії екстракції й кристалізації; приготування та стерилізація поживних середовищ для етапів підготовки посівного матеріалу та виробничого біосинтезу), основних технологічних процесів (отримання робочої культури *S. erythraea* NCIMB 8594; вирощування інокуляту в колбах на качалках, двох інокуляторах, посівному апараті та виробничому ферментері; мікрофільтрація на модульній фільтраційній установці; концентрування розчину на роторно-плівковому випарнику; екстракція й реекстракція; отримання сухого еритроміцину трьома послідовними операціями: кристалізація, фільтрація на нутч-фільтрі й висушування в сушарці з киплячим шаром), стадії пакування маркування та відвантаження готової продукції (пакування в поліетиленові пакети та волокнисті барабани, маркування) та знешкодження рідких та газоподібних відходів.

Кваліфікаційна робота викладена на 182 стор. друкованого тексту, містить 31 таблиця, 35 рисунків і складається з вступу, десяти розділів, списку використаної літератури (88 джерел), додатків та графічної частини (5 креслень формату А1 та 3 креслень формату А3).

Ключові слова: еритроміцин, макролідний антибіотик, штам-продуцент *Saccharopolyspora erythraea*, біосинтез, виділення, очищення, біомаса, екстрагент, екстракція, кристалізація, сушарка.

ЗМІСТ

РЕФЕРАТ	3
ВСТУП	6
РОЗДІЛ 1. ХАРАКТЕРИСТИКА ЦІЛЬОВОГО ПРОДУКТУ	8
1.1. Фізико-хімічні особливості еритроміцину	8
1.2. Еритроміцин як лікарський засіб	9
1.3. Реєстраційні дані лікарського засобу «Еритроміцину»	14
РОЗДІЛ 2. ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТА ХАРАКТЕРИСТИКА БІОЛОГІЧНОГО АГЕНТА	16
2.1. Обґрунтування вибору біологічного агента та поживного середовища для його культивування	16
2.2. Розрахунок складу поживного середовища	21
2.3. Морфолого-культуральні та фізіолого-біохімічні ознаки біологічного агента	24
2.4. Таксономічний статус біологічного агента	26
РОЗДІЛ 3. ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ	28
3.1. Потреба у цільвому продукті	28
3.2. Розрахунок потужності виробництва	31
3.3. Розрахунок кількості виробничих циклів та геометричного об'єму ферментера	32
3.4. Розрахунок кількості стадій підготовки посівного матеріалу	32
РОЗДІЛ 4. БІОСИНТЕЗ ЦІЛЬОВОГО ПРОДУКТУ	37
4.1. Шляхи катаболізму ростового субстрату у біологічного агента	37
4.2. Біотрансформація ростового субстрату у цільовий продукт	39
РОЗДІЛ 5. ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ	42
5.1. Обґрунтування доферментаційних процесів та виробничого біосинтезу	42
5.1.1. Обґрунтування способу культивування <i>S. erythraea</i> NCIMB 8594	42
5.1.2. Обґрунтування вибору ферментера для культивування	43
5.1.3. Вибір миючих та дезінфікуючих засобів	44
5.1.4. Підготовка аераційного повітря	51
5.1.5. Обґрунтування стадії підготовки обладнання і комунікацій	52
5.1.6. Розрахунок кількості розчину для підживлення	53
5.1.7. Особливості підготовки та стерилізації поживного середовища	54

5.2. Обґрунтування стадій виділення й очищення цільового продукту	57
5.2.1 Обґрунтування вибору способу відділення біомаси.....	57
5.2.2. Обґрунтування вибору способу концентрування	60
5.2.3. Обґрунтування вибору способу екстракції еритроміцину.....	62
5.2.4. Вибір способу кристалізації	65
5.2.5. Вибір технології відділення кристалів еритроміцину	66
5.2.6. Обґрунтування вибору способу сушіння кристалічного осаду.....	66
5.3. Обґрунтування вибору упаковки для готового продукту	72
РОЗДІЛ 6. ПРОДУКТОВИЙ РОЗРАХУНОК, МАТЕРІАЛЬНИЙ БАЛАНС НА ПАРТІЮ ГОТОВОГО ПРОДУКТУ, РОЗРАХУНОК ТЕХНОЛОГІЧНОГО ОБЛАДНАННЯ.....	74
РОЗДІЛ 7. СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ	109
РОЗДІЛ 8. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ ЧАСТИНИ.....	117
РОЗДІЛ 9. КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА.....	137
9.1. Міжопераційний контролю виробництва	137
9.1.1. Мікробіологічний контроль	137
9.2. Методи визначення показників росту і синтезу.....	138
9.2.1. Концентрація біомаси	138
9.2.2 Концентрація цільового продукту	139
9.3. Методи визначення показників джерела вуглецю та азоту	142
9.3.1. Метод визначення редукуючих цукрів	142
9.3.2. Метод визначення амінного азоту	142
9.4. Методи контролю готового продукту	143
9.4.1. Метод визначення вологості	143
9.4.2. Метод ідентифікації еритроміцину	145
9.4.3. Кількісне визначення еритроміцину	147
9.5. Карта постадійного контролю.....	150
РОЗДІЛ 10. АВТОМАТИЗАЦІЯ ДІЛЯНКИ	164
СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ	174

ВСТУП

Макролідні антибіотики (МА) являють собою велике сімейство інгібіторів синтезу білків, що представляють великий клінічний інтерес через їх застосування у людській медицині. Одним із представників цієї групи є ЕР – хімічна речовина, яка містить макроциклічне лактонне кільце, зв'язане з вуглеводневими залишками. Ця сполука є антибіотиком широкого спектра дії та попередником для хімічної трансформації до макролідів з більшою біодоступністю та кислотною стійкістю, наприклад, азитроміцину [1, 2].

Сучасна медицина немислима без антибактеріальних препаратів, які успішно застосовуються у пацієнтів з різними захворюваннями. В останні роки в медичну практику впроваджено багато нових антибіотиків різних фармакологічних груп. Найбільшу увагу лікарів та вчених привертає група макролідів. Цьому сприяє зростання частоти медикаментозної алергії до пеніцилінів і цефалоспоринів в медичній практиці (до 10% випадків), а також неефективність бета-лактамів при інфекціях, викликаних внутрішньоклітинними збудниками. МА є однією з найбільш безпечних груп антимікробних препаратів. Небажані реакції при їх використанні в цілому зустрічаються дуже рідко [3, 4].

Фармацевтичне виробництво України, фактично на 80 % зорієнтоване на випуск генеричних лікарських засобів і продовжує залишатися таким. Відсутність нових інноваційних розробок свідчить про певну залежність від іноземних розробок нових лікарських засобів, які є дорогими та малодоступними для значної частини населення. Зважаючи на аналіз експортно-імпортних операцій фармацевтичної продукції України з країнами ЄС, на ринку показав на значне зростання імпорту та від'ємного сальдо експорту [5]. На території України немає жодного підприємства, що виробляє субстанцію ЕР [6].

Це свідчить про необхідність активізації винахідницької діяльності у фармацевтичній галузі, особливо у створенні ЕР. Такі дії вплинуть позитивно на конкурентоспроможність держави на внутрішньому та зовнішньому ринках у довгостроковій перспективі та приведе до заміщення імпортованої субстанції еритроміцину вітчизняною, внаслідок чого державні ресурси будуть спрямовані на

підтримку вітчизняного виробника, а не іноземного.

Для забезпечення населення високоякісним фармацевтичним препаратом на основі біотехнологічної субстанції еритроміцину, постає проблема при виборі: біологічного агента, ростового субстрата, апаратури, технології виділення й очищення цільового продукту. З багатьох відомих штамів *S. erythraea* потрібно обрати саме той, який буде відповідати вимогам промислового штаму. Ростовий субстрат повинен характеризуватися легкістю засвоєння та низькою собівартістю, доцільно звертати увагу на відходи інших виробництв. Технологічне обладнання мусить відповідати технологічним і конструктивним вимогам. При виборі технології виділення й очищення потрібно зменшити виробничі витрати на цій стадії, шляхом впровадження останніх досягнень науки й техніки.

Метою даної роботи є отримання й моделювання ділянки виробництва (апаратурна і технологічна схеми) субстанції еритроміцину бактеріями *S. erythraea* NCIMB 8594 у вигляді сухих кристалів EP для подальшої реалізації.

Зростання потреби макролідів у наш час обумовлено збільшенням кількості хворих на інфекційно-запальні захворювання. З літератури відомо, що в Україні немає біотехнологічної дільниці для виробництва EP. Зважаючи на це, створення проєктів на тему виробництва EP, який є антибіотиком широкого спектра дії та попередником для трансформації до напівсинтетичних макролідів є **актуальним** в наш час.

Новизною кваліфікаційної роботи є застосування штаму *S. erythraea* NCIMB 8594 з метою надсинтезу EP. Перевагою даного продуцента є здатність синтезувати 0,8 г/л EP [7, 8] на відносно дешевому ростовому субстраті, де основною сировиною є м'яса. Відносна вартість 1 мг еритроміцину при культивуванні цього штаму становить 0,0039 грн.

Для оптимізації технологічних стадій виділення й очищення запропоновано використання модульної мікрофільтраційної установки та вибір тридеканола, як екстрагуючої речовини, що дозволило зменшити втрати на 30 % [9, 10].

РОЗДІЛ 1. ХАРАКТЕРИСТИКА ЦІЛЬОВОГО ПРОДУКТУ

ЕР – антибіотик, який належить до групи МА. Фармацевтично розподілений продукт складається з трьох компонентів: еритроміцину А, В і С, де еритроміцин А являє собою основний компонент. Синтезується грампозитивними бактеріями *Saccharopolyspora erythrea* [1].

1.1. Фізико-хімічні особливості еритроміцину

Хімічна назва ЕР - (2R, 3S, 4S, 5R, 8R, 10R, 11R, 12R, 13R)-5-(3-amino-3, 4,6-trideoxy-N, N-dimethyl-D-xylo-hexopyranosyloxyb)-13-ethyl-6, 11,12-trihydroxy-2,4,6, 8,10, 12-hexamethyl-9-oxotridecan-13-olide, а хімічна формула – $C_{37}H_{67}NO_{13}$. CAS-номер - 114-07-8. $M_m = 733,95$ г/моль [11].

Хімічні властивості. Точка плавлення = 191 °С; ліпофільність (log P) в системі (P_{ow}) октанол-вода = 3,06; питома оптична оберտальна здатність $[\alpha] = -78$ град при 25 ° С; розчинність в воді при температурі 25 °С = 1,44 мг/л; вільно розчинний у спиртах та помірно в ефірах; рН насиченого розчину = 8-10,5; константа дисоціації pKa = 8,9 [11].

Структурною характеристикою ЕР є 14-лактонне кільце, утворене в результаті полімеризації пропіонатних і малонатних одиниць та присутність залишків вуглеводів (дезозаміну й мікарози) (рис. 1.1.) [12].

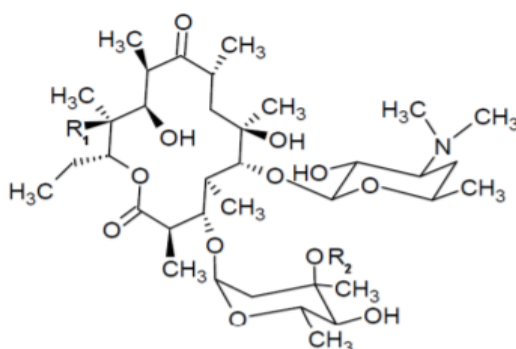


Рис. 1.1. Структурна формула ЕР [11]

					НУХТ БТЕК 04.03.05. КР ПЗ			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розробив	Міщук А.П.				РОЗДІЛ 1. ХАРАКТЕРИСТИКА ЦІЛЬОВОГО ПРОДУКТУ	Літ.	Арк.	Аркушів
Керівник	Буценко Л.М.						8	182
Консультант						Кафедра БТМ		
Зав. каф.	Пирог Т.П.							

Різні типи ЕР відрізняються розташування молекули гідрогену, гідроксильної або метильної групи на місцях радикалів R₁, R₂ (рис. 1.1.). Різницю між еритроміцином А, В і С зображено у *табл. 1.1.* Найбільш важливим і специфічним є тип А. Він використовується для виробництва напівсинтетичних антибіотиків азитроміцину й кларитроміцину [11, 12].

Таблиця 1.1.

Різні типи еритроміцину

Типи	R ₁	R ₂
А	-ОН	-CH ₃
В	-Н	-CH ₃
С	-ОН	-Н

1.2. Еритроміцин як лікарський засіб

Лікарські препарати на основі активної речовини еритроміцину широко використовують при лікуванні інфекційно-запальних захворювань слизових оболонок і шкіри. Він є одним з найбільш безпечних антибіотиків, які використовуються в клінічній практиці. Попри те, що небажані реакції при його застосуванні спостерігаються досить часто - у 21-32% пацієнтів, більшість яких (за винятком дуже рідкісних випадків кардіотоксичності й псевдомембранозного коліту) не становить загрози для життя пацієнтів [13].

ЕР – кристалічний порошок білого кольору без запаху, з гірким смаком і високою гігроскопічністю [14]. Відповідно до системи АТС (Anatomical Therapeutic Chemical (ATC) classification system), яка прийнята ВООЗ як міжнародний стандарт методології для здійснення статистичних досліджень в галузі використання лікарських засобів в різних країнах, має код АТС J01FA01. Розглянемо код АТС детальніше:

- J - протимікробні засоби для системного застосування;
- J01 - антибактеріальні засоби для системного застосування;
- J01F - макроліди, лінкозаміди та стрептограміни;
- J01FA – макроліди;
- J01FA01 – еритроміцин [15].

Механізм бактерицидної дії. Антимікробна дія ЕР обумовлена порушенням в клітинах бактерій синтезу білка на етапі трансляції. Молекула макролідного антибіотика оборотно зв'язується з пептидил-трансферазним центром на рибосомі (50S-субодиниці), що призводить до від'єднання від рибосоми зростаючого пептидного ланцюга, приєднаного до тРНК (пептидил-тРНК). У результаті припиняється процес формування та нарощування поліпептиду (рис. 1.2.). ЕР може зв'язатися з 50S-субодиницею бактеріальної рибосоми на будь-якій стадії рибосомального циклу [16, 17, 18].

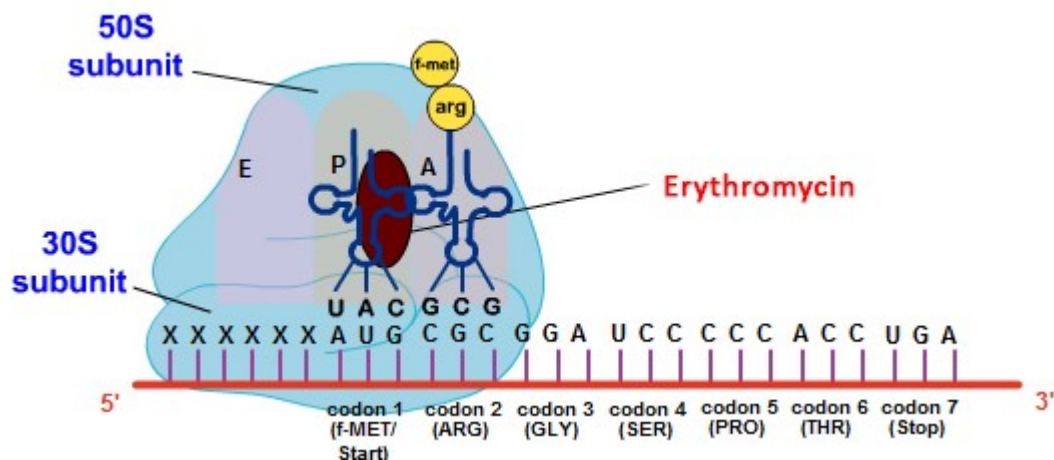


Рис. 1.2. Механізм бактерицидної дії молекули ЕР [20]

Молекули МА зазвичай чинять бактеріостатичну дію. Але при високих концентраціях у вогнищі інфекції та щодо тих мікроорганізмів, які перебувають у фазі росту, вони можуть виявляти бактерицидний ефект. Таким чином, вони діють на β -гемолітичний стрептокок групи А, пневмокок, менінгокок, збудників коклюшу та дифтерії [1, 17].

Ще однією важливою особливістю ЕР є його імуномодельовальна та протизапальна активність. Він здатний накопичуватися в нейтрофільних гранулоцитах і макрофагах і разом з ними транспортуватися у вогнище запалення. Взаємодія макролідів з макрофагами проявляється зниженням активності вільнорадикального окиснення, зменшенням виділення прозапальних і збільшенням - протизапальних цитокінів, активацією хемотаксису і фагоцитозу, поліпшенням мукоциліарного кліренсу, зменшенням секреції слизу [2, 17].

Стійкість мікроорганізмів до ЕР. Відомо, що стійкість мікроорганізмів до

макролідів може бути обумовлена трьома різними механізмами: модифікацією клітини-мішені (рибосомальна субодинаця 50S), інактивацією й активним виведенням препарату. Під дією метилази еритроміцин втрачає здатність зв'язування з рибосомами (MLSB-фенотип), а мікроорганізм набуває високого рівня стійкості (Мінімальна інгібуюча концентрація >32-64 мг/л). Інший поширений механізм обумовлений активним виведенням препарату (М-фенотип). В результаті формується стійкість до еритроміцину, але менш виражена (МІК 1-32 мг/л), ніж в попередньому випадку [19, 20].

Спектр антимікробної активності. Еритроміцин проявляє активність відносно грампозитивних бактерій: *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus viridans*, *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Corynebacterium minutissimum*, *Listeria monocytogenes*; грамнегативних бактерій: *Bordetella pertussis*, *Legionella pneumophila*, деяких штамів *Haemophilus influenzae*, *Mycoplasma pneumoniae*, а також відносно *Entamoeba histolytica*, *Chlamydia trachomatis*, *Treponema pallidum* [16, 18].

Фармакокінетика. Еритроміцин всмоктується у травному тракті, при цьому швидкість всмоктування залежить від індивідуальних особливостей організму. Біодоступність становить 30-65%. Максимальна концентрація у крові відзначається через 2 години після прийому. Розподіляється у більшості тканин і рідин організму, проникає крізь плацентарний бар'єр і в грудне молоко. Зв'язування з білками плазми становить 70-90%. Метаболізується у печінці, частково – з утворенням неактивних метаболітів. Значна частина еритроміцину виводиться з організму з жовчю і тільки 2-5% – у незміненому стані із сечею. Період напіввиведення – 80-120 хв при нормальній функції нирок [21].

Форми випуску. ЕР випускається у вигляді різних лікарських форм для перорального і парентерального введення (табл. 1.2.) [13].

Форми випуску ЕР

Препарат	Лікарська форма	Доза
Еритроміцин основа	таблетки	0,1 и 0,25 г
	таблетки з кишковорозчинним покриттям	0,2; 0,25; 0,333 и 0,5 г
	капсули, що містять кишковорозчинні пелети	0,25 г
	мазі	0,1 г/г
Еритроміцин естолат	таблетки	0,5 г
	капсули	0,25 г
	суспензії	0,125 г / 5 мл і 0,250 г / 5 мл
Еритроміцин стеарат	таблетки	0,25; 0,333 и 0,5 г
Еритроміцин етилсукцинат	таблетки	0,4 г
	суспензії	0,2 г/5 мл и 0,4 г/5 мл
	порошок для приготування суспензії	0,2 г/5 мл
	гранули для приготування суспензії	0,4 г/5 мл
Еритроміцину фосфат	порошок у флаконах для приготування ін'єкційного розчину	0,05; 0,1 и 0,2 г
Еритроміцину лактобіонат	розчин для ін'єкцій у флаконах	0,3 и 1,0 г
	порошок у флаконах для приготування ін'єкційного розчину	0,5 г

Примітка* інформація в таблиці взята з літературного джерела [13].

Однак в Україні за даними Державного реєстру лікарських засобів України готовий препарат «Еритроміцин» випускається у формі:

- таблетки, вкриті оболонкою, кишковорозчинні по 100 мг по 10 таблеток у блістері; по 1 або 2 блістери у пачці з картону - ПАТ «Вітаміни»;
- таблетки по 100 мг, по 20 таблеток у блістері; по 1 блістеру в пачці з картону - ПАТ «Борщагівський хіміко-фармацевтичний завод» [6].

Показання до застосування. ЕР застосовують при інфекціях дихальних шляхів Британський національний формуляр (БНФ), у тому числі атипова пневмонія^{ВООЗ, БНФ}; дифтерія БНФ; еритразма; гонорея; сифіліс^{ВООЗ, БНФ}; лістеріоз; хвороба легіонерів^{ВООЗ}; інфекції у стоматології та офтальмології^{ВООЗ, БНФ}, інфекції спричинені мікроорганізмами, стійкими до β-лактамних антибіотиків, пеніциліну^{ВООЗ, БНФ}, тетрацикліну, левоміцитину, хлорамфеніколу, стрептоміцину [22].

Спосіб застосування та дози. Застосовують перорально, дозу встановлюють індивідуально, залежно від локалізації та тяжкості перебігу інфекції, чутливості збудника; призначають дорослим по 200-500 мг 4 рази на добу^{ВООЗ, БНФ} (1-2 г/добу); вища разова доза - 500 мг, максимальна добова доза - 2 г; дітям: дітям 3-6 років - по 500-700 мг/добу; 6-8 років - по 700 мг/добу; 8-14 років - до 1 г/добу (розділивши добову дозу на 4 прийоми); понад 14 років - у дозі для дорослих^{БНФ}; після зникнення симптомів захворювання застосовують ще протягом 2 днів [22].

Галузі використання. ЕР внесено до Державного формуляра ЛЗ України (одинадцятий випуск, 2019 р.), регіонального та локального формулярів [22]. У Національному переліку основних лікарських засобів зі змінами та доповненнями (Постанова Кабміну України № 180 від 16.03.2017 р.) серед макролідів наявні 3 лікарські препарати: еритроміцин, азитроміцин та кларитроміцин. Оновлений перелік основних ЛЗ ВООЗ (20-те видання, 2017 р.) містить лише 2 МА: азитроміцин і кларитроміцин. До Британського Національного формуляра (British National Formulary) ЛЗ, який містить міжнародну систематизовану інформацію про ЛЗ та особливості їх клінічного застосування у світовій медичній практиці, включено 4 МА: еритроміцин, азитроміцин, кларицид і телітроміцин. Також еритроміцин включено до клінічної настанови для лікування негоспітальної пневмонії та Державного формуляру ЛЗ України [23].

ЕР проникає через плаценту, але концентрація у сироватці крові плода низька. Немає адекватних і добре контрольованих досліджень у вагітних жінок. Тому цей препарат слід використовувати під час вагітності тільки у разі крайньої необхідності з урахуванням співвідношення ризик/користь [21]. Наприклад, ВООЗ рекомендує еритроміцин як антибіотик вибору для профілактики у жінок з передчасним

розривом передпластових оболонок [24].

Міжнародний комітет Міжнародного епізоотичного бюро (МЕБ) на своїй 75-й Генеральній сесії у травні 2007 року одностайно прийняв Перелік антимікробних агентів щодо їх важливості для ветеринарної медицини. Цей список було додатково оновлено та прийнято у травні 2013 року та у травні 2015 року делегатами Всесвітньої асамблеї МЕБ. Відповідно МА віднесено до групи критично важливих препаратів, а еритроміцин дозволено застосовувати для тварин: птиця, велика рогата худоба, кози, вівці, коні, свині, кролі, риба, бджоли. Еритроміцин використовують для лікування мікоплазмозу у свиней та птиці, геморагічного кишкового захворювання у свиней (*Lawsonia intracellularis*), абсцесів печінки (*Fusobacterium necrophorum*) та респіраторних інфекцій у великої рогатої худоби [25].

ЕР використовують як попередник для хімічної трансформації до напівсинтетичного антибіотика азитроміцину. Його структурна особливість підвищує кислотостійкість препарату - в 300 разів у порівнянні з еритроміцином. Крім підвищеної стійкості до дії соляної кислоти, азитроміцин, порівняно з еритроміцином, має поліпшені фармакокінетичні властивості і більш широкий спектр антимікробної активності. Зокрема, азитроміцин здатний більшою мірою, ніж еритроміцин, проникати через клітинну оболонку грамнегативних мікроорганізмів і проявляти більше виражену активність проти *H. influenzae*, а також діяти на деяких представників сімейства *Enterobacteriaceae* [4, 26].

1.3. Реєстраційні дані лікарського засобу «Еритроміцину»

На даний момент часу виробництво препарату «Еритроміцин» в Україні зареєстровано двома фармацевтичними компаніями (табл. 1.3.).

Таблиця 1.3.

Порівняння нормативної документації

Виробник	Публічне акціонерне товариство "Науково-виробничий центр "Борщагівський хіміко-фармацевтичний завод", Україна	ПАТ "ВІТАМІНИ", Україна
1	2	3
Реєстраційне посвідчення	UA/3701/01/01	UA/8709/01/01
Наказ МОЗ	№1942 від 13.09.2019	№1141 від 15.06.2018

1	2	3
Термін дії ресстараційного посвідчення	з 03.09.2015 по 03.09.2020	необмежений з 15.06.2018
Умови відпуску:	за рецептом	за рецептом
Термін придатності	3 роки	2 роки
Дозволено рекламування	ні	ні
Заявник	Публічне акціонерне товариство "Науково-виробничий центр "Борщагівський хіміко- фармацевтичний завод", Україна	ПАТ "Вітаміни", Україна
Література	[27]	[28]

Примітка. * – Дані наведено станом на травень 2020 року.

РОЗДІЛ 2. ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТА ХАРАКТЕРИСТИКА БІОЛОГІЧНОГО АГЕНТА

Актиноміцети – порядок грампозитивних бактерій класу актинобактерій, містить різноманітні за формою клітин бактерії, яких об'єднує здатність утворювати за сприятливих умов вегетативне тіло, що інколи називають «міцелієм». Колишня назва актиноміцетів – «променисті грибки» пов'язана з зовнішньою схожістю цієї групи бактерій з мікроскопічними грибами: талом більшості актиноміцетів має форму тонких розгалужених ниток (гіф), що складають в діаметрі 0,2 - 2 мкм. Основна відмінність актиноміцетів від мікроскопічних грибів – це відсутність ядра в клітинах, клітинна стінка містить пептидоглікан та не містить хітин і целюлозу [29, 30]. До цього порядку відносять бактерії *S. erythraea*, які мають здатність до утворення EP [31].

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

Для того щоб визначитись з біологічним агентом ми будемо порівнювати наступні штами бактерій *S. erythraea* – продуцентів еритроміцину: E3, МТСС 1103, NRRL23338 та NCIMB 8594. Підсумкову характеристику одержання еритроміцину за допомогою різних продуцентів (*табл. 2.1*).

Ці дані засвідчують, що найнижча концентрація еритроміцину спостерігається у бактерій *S. erythraea* МТСС 1103 – 0,5 г/л, а найвища у *S. erythraea* NCIMB 8594 – 0,8 г/л. Тривалість культивування актиноміцетних бактерій *S. erythraea* МТСС 1103 становить 264 год, а з використанням *S. erythraea* E3 – 96 год. Проте даних наведених у *таблиці 2.1*, не вистачає для порівняння продуцентів, тому потрібно також порівняти вартість поживного середовища (*табл. 2.2*).

					НУХТ БТЕК 04.03.05. КР ПЗ					
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата						
Розробив		Міщук А.П.			РОЗДІЛ 2. ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТА ХАРАКТЕРИСТИКА БІОЛОГІЧНОГО АГЕНТА					
Керівник		Буценко Л.М.						Літ.	Арк.	Аркушів
Консультант										
Зав. каф.		Пирог Т.П.						16	182	
					Кафедра БТМ					

Особливості одержання макролідного антибіотика еритроміцину за допомогою *S. erythraea* E3, *S. erythraea* NRRL23338, *S. erythraea* MTCC 1103 та *S. erythraea* NCIMB 8594

Біологічний агент	Склад поживного середовища, г/л	Тривалість культивування, год	Концентрація ЕР, мг/л	Особливості процесу біосинтезу	Викор. літ.
1	2	3	4	5	6
<i>S. erythraea</i> E3	<ul style="list-style-type: none"> • кукурудзяний крохмаль – 40; • соєве борошно – 30; • декстрин – 30; • соєве масло – 10; • CaCO₃ – 6; • (NH₄)₂S0₄ – 2. 	96	600	Ферментація відбувається в колбах на качалках об'ємом 500 мл із вмістом середовища 60 мл. Інкубували при t = 34 ± 1 °C на роторному шейкері при 200 об/хв. Початкове значення рН	<i>Li Y. Y.</i> Systems perspectives on erythromycin biosynthesis by comparative genomic and transcriptomic analyses of <i>S. erythraea</i> E3 and NRRL23338 strains / Y. Y. Li, X. V. Chang, W. B. Yu. // BMC Genomics. – 2013. – №14. – С. 1–13.
<i>S. erythraea</i> MTCC 1103	<ul style="list-style-type: none"> • Жом цукрової тростини – 30 (3%); • CaCO₃ – 5. • кукурудзяний екстракт – 4; • (NH₄)₂S0₄ – 3; • NaCl – 2,5. 	264	500	Ферментація відбувається в колбах на качалках об'ємом 250 мл із вмістом середовища 50 мл. Інкубували при t = 28 ± 1 °C на роторному шейкері при 200 об/хв.	<i>Subathra D. C.</i> Strain improvement and optimization studies for enhanced production of erythromycin in bagasse based medium using <i>Saccharopolyspora</i>

1	2	3	4	5	6
					<i>erythraea</i> MTCC 1103 / D. C. Subathra, L. A. Saini, S. P. Rastogi. // 3 Biotech. – 2013. – №5. – С. 23–31.
<i>S. erythraea</i> NCIMB 8594	<ul style="list-style-type: none"> • меляса – 60; • н-пропанол – 10 мл (1 % (об'єм.)); • CaCO₃ – 5; • кукурудзяний екстракт – 4; • (NH₄)₂SO₄ – 2; • NaCl – 2,5. 	144	800	Ферментація відбувається в колбах на качалках об'ємом 250 мл із вмістом середовища 50 мл. Інкубували при t = 30 ± 1 °С на роторному шейкері при 200 об/хв.	<i>El-Enshasy H. A.</i> Improvement of erythromycin production by <i>Saccharopolyspora erythraea</i> in molasses based medium through cultivation medium optimization / H. A. El-Enshasy, N. A. Mohamed, M. A. Farid. // Bioresource Technology. – 2008. – №99. – С. 4263–4268.

Таблиця 2.2.

**Вартість компонентів поживного середовища для культивування продуцентів
S. erythraea E3, *S. erythraea* MTCC 1103 та *S. erythraea* NCIMB 8594**

Продуцент	Компонент поживного середовища, г/л	Ціна компонента, грн/кг*	Вартість компонента (грн) на 1 л середовища	Джерело інформації*
<i>S. erythraea</i> E3	Кукурудзяний крохмаль – 40	26	1,0	1
	Соево борошно – 30	81	2,4	2
	Декстрин – 30	39	1,2	3
	Соеве масло – 10	312	3,1	4
	CaCO ₃ – 6	32	0,2	5
	(NH ₄) ₂ S ₀ ₄ – 2	50	0,1	6
	Вартість 1 л середовища становить 8 грн			
<i>S. erythraea</i> MTCC 1103	Жом цукрової тростини – 30 (3%)	15	0,5	7
	Кукурудзяний екстракт – 4	55	0,2	8
	CaCO ₃ – 5	32	0,2	5
	(NH ₄) ₂ S ₀ ₄ – 3;	50	0,2	6
	NaCl – 2,5;	65	0,2	9
	Вартість 1 л середовища становить 1,3 грн			
<i>S. erythraea</i> NCIMB 8594	меяса – 60;	25	1,5	10
	н-пропанол – 10 мл (1 % (об'єм.));	90	0,9	11
	CaCO ₃ – 5	32	0,2	5
	кукурудзяний екстракт – 4	55	0,2	8
	NaCl – 2,5	65	0,2	9
	(NH ₄) ₂ S ₀ ₄ – 2	50	0,1	6
	Вартість 1 л середовища становить 3,1 грн			

Примітка. * – Ціни наведено станом на травень 2020 р.

1. [tortino.com.ua/product/krohmal-kukurudzyanyj-500-g/;](http://tortino.com.ua/product/krohmal-kukurudzyanyj-500-g/)
2. <https://sz.lviv.ua/boroshno-vysivky-shroty/boroshno/boroshno-soeve;>
3. <http://snabhim.com.ua/dekstrin;>
4. www.aromasoap.com.ua/zhidkie-masla/soevoe-maslo-rafinirovannoe.html#/-500;

5. <https://snabhim.com.ua/kalcij-uglekislyj>;
6. https://mendelevmarket.com/himreaktivy/ammoniy/sulfat_ammoniya/ammoniy_sernokislyy.html;
7. https://vdeltadept4.trustpass.alibaba.com/product/50045405909-231147430/Supply_Sugarcane_Bagasse_Silage_Sugar_cane_Silage_Block_High_Protein_For_Animal_Feed_Best_Price.html;
8. <https://agro-smart.com.ua/product/ekstrakt-kukuruznyy>;
9. <https://mendelevmarket.com/himreaktivy/natriy/hlorid-natrija/natrij-hloristij-farm.html>;
10. <http://patoka.org.ua/>;
11. <https://3605727.com.ua/izopropilovyj-spirt-99-7-izopropanol-2-propanol>.

Дані, наведені у *табл. 2.2.*, засвідчують, що середовище для культивування *S. erythraea* MTCC 1103 – ціна якого 1,3 грн є в шість разів дешевшим, ніж середовище для культивування *S. erythraea* E3, оскільки загальна собівартість середовища становить 8 грн та приблизно у 2 рази ніж для *S. erythraea* NCIMB 8594 – ціна середовища 3,1 грн.

Врахувавши вартість поживного середовища та вихід цільового продукту можемо підбити підсумки (*табл. 2.3.*).

Таблиця 2.3

Умовна вартість 1 мг цільового еритроміцину при культивуванні *S. erythraea* E3, *S. erythraea* MTCC 1103 та *S. erythraea* NCIMB 8594

Біологічний агент	Вартість 1 л середовища, грн	Концентрація еритроміцину, мг/л	Умовна вартість 1 мг цільового продукту, грн/мг	Тривалість культивування, год	Кількість утвореного еритроміцину за годину, мг/год
1	2	3	4	5	6
<i>S. erythraea</i> E3	8	600	0,013	96	6,2
<i>S. erythraea</i> MTCC 1103	1,3	500	0,0026	264	1,8

1	2	3	4	5	6
<i>S. erythraea</i> NCIMB 8594	3,1	800	0,0039	144	5,6

Проаналізувавши результати які наведені в табл. 2.1, 2.2, 2.3, я дійшов до висновку що найбільш ефективним продуцентом ЕР являється *S. erythraea* NCIMB 8594. По-перше, вихід ЕР більше як 1,3-1,5 раза ніж у штамів Е3 та МТСС 1103 відповідно. По-друге, кількість утвореного ЕР за годину вища у 3 рази ніж у МТСС 1103. За значенням умовної вартості найкращий вибір – штам МТСС 1103, його умовна вартість нижча понад 1,5 раза ніж у NCIMB 8594, проте час культивування більше у 2 рази, що є економічно не вигідним рішенням для виробництва в промислових масштабах.

2.2. Розрахунок складу поживного середовища

Основною вимогою до поживних середовищ є те, що вони повинні містити всі елементи, з яких складається клітина, причому в такій формі, в якій мікроорганізми здатні їх засвоювати [32].

Основними компонентами поживного середовища, від концентрації яких залежить накопичення біомаси (ріст мікроорганізмів) та біосинтез цільового продукту, є джерело вуглецю та азоту. Інші компоненти середовища (джерело сірки, фосфору та інших елементів) зазвичай містяться у надлишку [32].

Хімічний склад мікробної клітини. До складу бактеріальної клітини входять наступні елементи (в % до маси сухої речовини): вуглець – 50; кисень – 20; азот – 10 – 14; водень – 8; фосфор – 3; сірка, калій, натрій - 1; кальцій, магній, хлор – 0,5; залізо – 0,2; решта елементів – близько 0,3 [33].

*Перевірочний розрахунок для вирощування бактерій штаму *S. erythraea* NCIMB 8594 – продуцента ЕР.*

Тривалість культивування – 144 год [9, 10], концентрація ЕР в культуральній рідині становить – 0,8 г/л [9, 10], а концентрація біомаси – 10,2 г/л [9, 10].

Розрахунок вмісту в середовищі джерела вуглецевого живлення.

Потреби для синтезу ЕР. Як джерело вуглецю для одержання еритроміцину

використовується меляса. Вміст вуглеводів у мелясі становить понад 50% [34].

Розрахуємо, скільки вуглецю (за елементом С) міститься в 0,8 г ЕР. Молекулярна маса ЕР ($C_{37}H_{67}NO_{13}$) становить 733,95 г. Отже, у 733,95 г ЕР міститься 444 г вуглецю, а в 0,8 г ЕР $(444 \times 0,8) / 733,95 = 0,484$ г вуглецю.

Далі розрахуємо, у скількох грамах вуглеводів міститься 0,484 г вуглецю, враховуючи, що вміст вуглецю у вуглеводах меляси становить 50%. Отже, у 100 г вуглеводів міститься 50 г вуглецю, а 0,484 г вуглецю міститься у $(0,484 \times 100) / 50 = 0,968$ г вуглеводів.

Оскільки у мелясі міститься 50 % вуглеводів, то для одержання 0,8 г ЕР, вміст меляси у середовищі повинен бути $0,969 \times 2 = 1,936$ г/л. Враховуючи, що при вирощуванні мікроорганізмів на вуглеводах (наприклад, глюкозі) близько 40% субстрату окислюється до CO_2 для одержання енергії, необхідної для конструктивного метаболізму, вміст меляси у середовищі становитиме $(1,936 \times 0,4) + 1,936 = 2,71$ г/л.

Потреби для синтезу біомаси. У біомасі міститься 50 % вуглецю, отже вміст вуглецю у 10,2 г біомаси становить $10,2 \times 0,5 = 5,1$ г. Ця кількість вуглецю міститься у $(5,1 \times 100) / 50 = 10,2$ г вуглеводів.

У перерахунку на мелясу одержимо 20,4 г/л. Враховуючи 40 % втрат субстрату на «холосте окислення», для одержання 10,2 г/л біомаси у середовище необхідно внести $(20,4 \times 0,4) + 20,4 = 28,56$ г/л меляси.

Отже, загальний вміст меляси у середовищі для біосинтезу, необхідний для синтезу біомаси (10,2 г/л) та ЕР (0,8 г/л), становить $28,56 + 2,71 = 31,27$ г/л.

Розрахунок вмісту в середовищі джерела неорганічного азотного живлення.

Потреби для синтезу біомаси. Припустимо, що у біомасі міститься 10 % азоту. Таким чином, у 10,2 г біомаси вміст азоту (за елементом N) становить 1,02 г. Продукт ЕР асимілює як джерела азотного живлення мінеральний (амонійний) та органічний азот. Для одержання ЕР в промислових умовах використовується середовище, яке містить як джерело мінерального азоту сульфат амонію $(NH_4)_2SO_4$ або хлорид амонію NH_4Cl . В середовище для промислового культивування еритроміцину (табл. 2.1) використовували сульфат амонію.

Потреби для синтезу еритроміцину. Азот входить до складу не тільки біомаси, а й ЕР. Розрахуємо вміст азоту в середовищі, необхідний для одержання 0,8 г/л ЕР. Молекулярна маса ЕР становить 733,95. У 733,95 г ЕР міститься 14 г азоту (N), тоді у 0,8 г ЕР вміст азоту становить $(0,8 \times 14) / 733,95 = 0,015$ г.

Розрахунок вмісту органічного азоту в м'ясі та кукурудзяному екстракті

Кукурудзяний екстракт є джерелом органічного азоту, який засвоюється продуцентом еритроміцину. Таким органічним азотом є аміний азот і частково білковий (зокрема, коротколанцюгові поліпептиди). Концентрація доступного для бактерій органічного азоту (за елементом N) у кукурудзяному екстракті становить 10 % [35]. Отже, у 4 г кукурудзяного екстракту міститься $(10 \times 4) / 100 = 0,4$ г азоту.

Крім того, до складу м'яса входить аміний азот (0,5 % до маси сухих речовин) [34]. Розрахуємо кількість азоту, що міститься у 60 г м'яса. Вміст сухих речовин у м'ясі становить 75 %, тобто у 60 г м'яса міститься $60 \times 0,75 = 45$ г сухих речовин. Отже, вміст амінного азоту у м'ясі становить $(0,5 \times 45) / 100 = 0,23$ г.

Сумарний вміст азоту у кукурудзяному екстракті та м'ясі становить $0,4 + 0,23 = 0,63$ г/л. Кількість азоту, необхідна для синтезу біомаси та еритроміцину становить $1,02 + 0,015 = 1,035$ г/л. З врахуванням азоту, що міститься у кукурудзяному екстракті та м'ясі, у середовище повинно бути внесено $1,035 - 0,63 = 0,41$ г/л. Цю кількість азоту необхідно компенсувати $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, або джерелом мінерального азоту. В середовищі зазначеного складу (табл. 2.2) вказано, що кількість сульфату амонію становить 2 г/л.

Розрахуємо кількість сульфату амонію, необхідну для одержання 0,41 г азоту. Молекулярна маса $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ становить 132. Отже, у 132 г сульфату амонію міститься 28 г азоту (N), тоді $(132 \times 0,41) / 28 = 1,9$ г солі.

Інші компоненти середовища.

Джерелами таких необхідних для росту культури *S. erythraea* елементів, як магній, кальцій і залізо є м'яса та кукурудзяний екстракт.

Висновок. Тобто в середовищі, що наведено достатня кількість джерела вуглецю та азоту.

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

Saccharopolyspora erythraea, раніше відома як *Streptomyces erythraeus*, є видом актиноміцетів роду *Saccharopolyspora*. *S. erythraea* – це грампозитивна бактерія, яка утворює нитки або гіфи у вигляді міцелію (рис. 2.1.), тобто утворює подібність міцелію, який дуже добре розвинений. Розмножується конідіями. Будова аналогічна грибам, але з тоншими прокаріотними гіфами, які містять багато нуклеоїдів і не завжди розділені на окремі клітини [30].

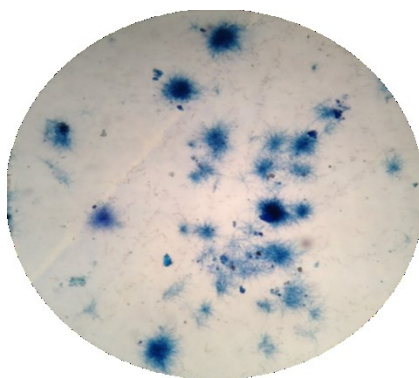


Рис. 2.1. Культура *Saccharopolyspora erythraea* під мікроскопом (x90) [30]

Бактерії цього роду є мезофілами, температурний оптимум 28-30 °С. По відношенню до кисню – аероби [36]. При культивуванні рівень рН середовища повинен складати 7,0 [37]. За типом живлення хемоорганогетеротрофи.

Міцелій, який розвивається на ростовому субстраті, розгалужений, діаметр - 0,4-0,6 мкм, гіфи спіральні, сегментовані у вигляді намиста-ланцюжка. Вегетативний міцелій розвинений, розгалужений, тонкий [38].

Існує три морфологічні форми *S. erythraea* у різні часи культивування та для різних початкових концентрацій спор: а) вільний міцелій, б) скупчення, в) скупчення у вигляді згустку (рис. 2.2.) [39].

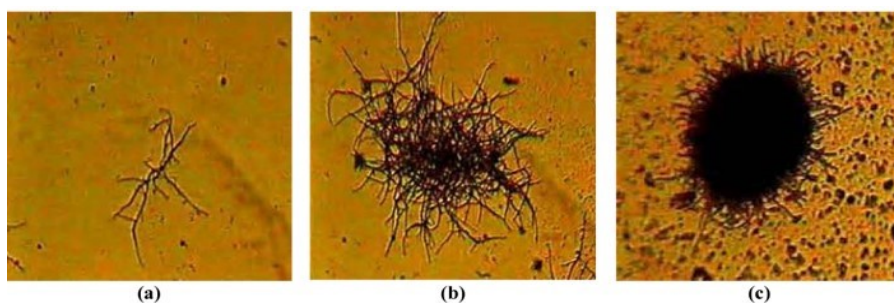


Рис. 2.2. Різні морфологічні типи *S. erythraea* [37]

На вівсяному середовищі на 14 добу колонії основного типу досягають 2-3 мм в діаметрі, мають круглу форму з кратером по середині й білим субстратним міцелієм. У загальній популяції присутні колонії основного типу в кількості 80-86%, а також 8-12% колоній з темно-сірим повітряним міцелієм, які виділяють в агар темно-коричневий пігмент, і 6-7% світло-коричневі колонії з поганою споруляцією [38].

На середовищі, що містить крохмаль, кукурудзяний екстракт і солі, переважають колонії круглої форми, діаметром 2-3 мм, матові, білого кольору, поглиблені в агар. Поверхня колоній радіально-складчаста, профіль випуклий, без кратера, край фестончастий, консистенція суха, щільна. У популяції 7-8 % колоній світло-коричневого кольору, круглої форми, діаметром 4-5 мм, що мають матову концентрично-складчасту поверхню, з фестончатими краєм і плоским профілем. Є 3-5% колоній коричневого кольору, діаметром 2-3 мм, не поглиблених в агар [38].

На спеціальному середовищі для бактерій роду *Streptomyces* DSMZ Medium 65 (г/л): агар – 12, солодовий екстракт – 10, глюкоза – 4, дріжджовий екстракт – 4, CaCO₃ – 2, колонії *S. erythraea* NCIMB 8594 мають характерний ріст: форма колоній – неправильна; діаметр колоній 1,5 мм ± 0,1; поверхня колоній – зморшкувата; профіль колоній – кратероподібний; колір колоній – червоно-помаранчевий та з виділення пігменту червоно-помаранчевого кольору; блискучість – колонія має певні відблиски білого кольору; край колоній – зубчастий; структура колоній – однорідна з дрібною зернистістю (рис. 2.3.).



Рис. 2.3. Колонії *S. erythraea* NCIMB 8594 на середовищі DSMZ Medium 65

Ферментує глюкозу, фруктозу, сахарозу, мальтозу, інозитол, сорбіт, рамнозу, маніт, не ферментує лактозу [36, 38]. Реакція на гідроліз крохмалю - початок знебарвлення на 1-у добу, повне знебарвлення на 4-у добу. Розрідження желатину спостерігається з 10 по 20 добу, пептонізація молока - з 11 по 20 добу [38].

2.4. Таксономічний статус біологічного агенту

Згідно з першим видання «Bergey's Manual of Systematic Bacteriology» (1984 – 1986 pp.) *Streptomyces erythreus* віднесено до [32]:

Царство	<i>Procaryotae</i>
Відділ	<i>Firmicutes</i>
Клас	<i>Thallobacteria</i>
Порядок	<i>Actinomycetales;</i>
Родина	<i>Streptomycetaceae;</i>
Рід	<i>Streptomyces</i>
Вид	<i>erythreus</i>

Відповідно до видання Бергі – 9 («Bergey's Manual of Determinative Bacteriology» - Керівництво Бергі з ідентифікації бактерій) всі бактерії було поділено на 35 груп, а *Streptomyces erythreus* віднесено до 25 групи «Стрептоміцети та близькі роди». Результати досліджень, проведених К.Р Везе та Е. Стекебрандтом у першій половині 80-х років ХХ ст., показали, що за аналізу нуклеотидних послідовностей 16S рРНК бактерії поділяються на 11 основних груп. Актинобактерії *Streptomyces erythreus* увійшли до 1 групи «Грампозитивні бактерії»; підгрупи *Actinomycetes* [32].

Оскільки фенетопива класифікація застаріла, вийшло друге видання «Bergey's Manual of Systematic Bacteriology», в якому було реалізовано філогенетичну класифікацію та поділено на 5 томів. Відповідно до 5 тому «The Actinobacteria» бактерії *Streptomyces erythreus* було перейменовано на *Saccharopolyspora erythraea* та віднесено до:

Домен	<i>Bacteria</i>
Відділ	<i>Actinobacteria</i>
Клас	<i>Actinobacteria</i>

Підклас	<i>Actinobacteridae</i>
Порядок	<i>Actinomycetales</i>
Підпорядок	<i>Pseudonocardineae</i>
Родина	<i>Pseudonocardiaceae</i>
Рід	<i>Saccharopolyspora</i>
Вид	<i>erythraea</i>

РОЗДІЛ 3. ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ

3.1. Потреба у цільовому продукті

В Україні дуже розповсюджені інфекційно-запальні захворювання, які мають бактеріальну етіологію та уражають різні органи та системи організму. В Україні щороку на інфекційні хвороби хворіють від 616 991 до 1020947 осіб (без урахування грипу та ГРВІ) [41]. Для подальшого аналізу візьмемо середнє значення 818696 осіб.

На *рис. 3.1* наведені результати АТС/DDD-аналізу АБП. DDDs – кількість визначених середніх добових доз, які спожиті хворими на певній території (Україна) [42, 43]. Отже, МА (азитроміцин, еритроміцин) є одними із лідерів за кількістю спожитих DDDs в Україні.

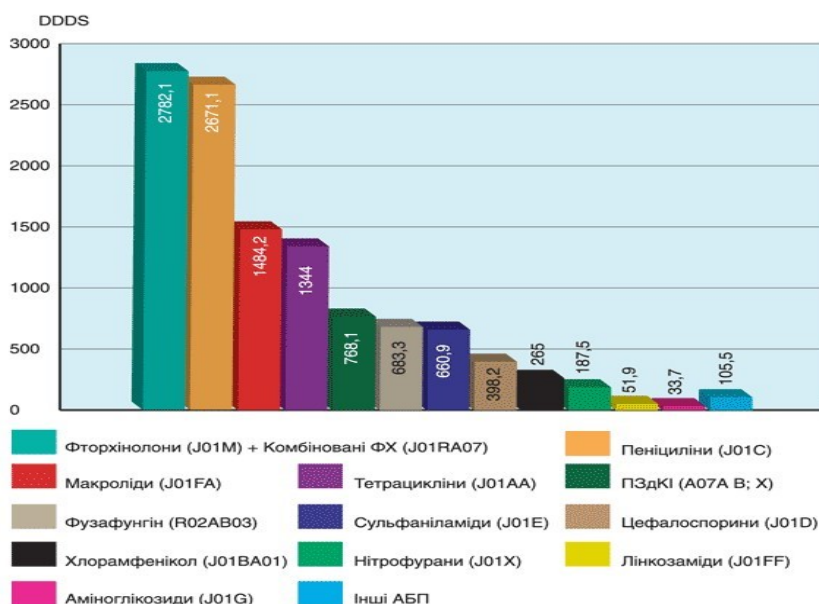


Рис. 3.1. Обсяги споживання АБП (АТС групи) за кількістю DDSs протягом року [43]

Оскільки існує велика конкуренція на фармацевтичному ринку і до того ж цей препарат випускається за рецептом [6, 21], тоді можна припустити, що його прийматимуть всього 5 % осіб від загальної кількості хворих – 40948 осіб, що використають цей лікарський засіб для лікування інфекційно-запальних захворювань.

НУХТ БТЕК 04.03.05. КР ПЗ

Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розробив		Мищук А.П.			РОЗДІЛ 3. ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ	Літ.	Арк.	Аркушів
Керівник		Буценко Л.М.					28	182
Консультант						Кафедра БТМ		
Зав. каф.		Пирог Т.П.						

Припустимо, що дорослих та дітей у віці понад 14 років 70 % – 28664 осіб. А 30% – діти у віці менш як 14 років – 12284. 70% з них у віці від 8 до 14 років – 8600 дітей. 15% у віці від 6 до 8 років – 1842 дітей. 15% у віці від 3 до 6 років – 1842 дітей.

Курс лікування – 5-14 днів. Для дорослих та дітей у віці понад 14 років застосовують по 200-500 мг 4 рази на добу; вища разова доза – 500 мг, добова – 2 г. Дітям: від 3 до 6 років – 500-700 мг на добу; від 6 до 8 років – 700 мг на добу; від 8 до 14 років – до 1 г на добу, розділивши добову дозу на 4 прийоми [21, 22].

Розрахуємо кількість кг ЕР для річного забезпечення дорослих та дітей старших 14 років:

$$X_{п1} = \tau \cdot d_1 \cdot n_1 / 1000 = 14 \cdot 2 \cdot 28664 / 1000 = 802,6 \text{ кг},$$

де τ – тривалість прийому препарату, приймаємо максимальне значення – 14 днів; d_1 – максимальна добова доза 2 г; n_1 – кількість потенційно інфекційно хворих у віці понад 14 років, які будуть приймати ЕР – 28664 осіб.

Розрахуємо кількість ЕР для річного забезпечення дітей віком 8-14 років:

$$X_{п2} = \tau \cdot d_2 \cdot n_2 / 1000 = 14 \cdot 1 \cdot 8600 / 1000 = 120,4 \text{ кг},$$

де τ – 14 днів; d_2 – максимальна добова доза 1 г; n_2 – кількість потенційно інфекційно хворих у віці від 8 до 14 років, які будуть приймати ЕР – 8600 осіб.

Розрахуємо кількість ЕР для річного забезпечення дітей віком 6-8 років:

$$X_{п3} = \tau \cdot d_3 \cdot n_3 / 1000 = 14 \cdot 0,7 \cdot 1842 / 1000 = 18,1 \text{ кг},$$

де τ – 14 днів; d_3 – максимальна добова доза 0,7 г; n_3 – кількість потенційно інфекційно хворих у віці від 6 до 8 років, які будуть приймати ЕР – 1842 осіб.

Розрахуємо кількість ЕР для річного забезпечення дітей віком 3-6 років:

$$X_{п4} = \tau \cdot d_4 \cdot n_4 / 1000 = 14 \cdot 0,7 \cdot 1842 / 1000 = 18,1 \text{ кг},$$

де τ – 14 днів; d_4 – максимальна добова доза 0,7 г; n_4 – кількість потенційно інфекційно хворих у віці від 3 до 6 років, які будуть приймати ЕР – 1842 осіб.

Загальний підсумок всіх даних приведено в *табл. 3.1*.

Вихідні дані для розрахунку річної потреби в ЕР

Категорії хворих, що застосовують ЕР	Доза препарату на добу, г	Тривалість прийому, днів	Кількість препарату (в г) на повний курс лікування 1 людини	Кількість хворих, що потенційно використовували ЕР в Україні в 2019 році	Загальна кількість кг ЕР на всіх хворих
1	2	3	4	5	6
Лікування інфекційно-запальних захворювань (дорослі та діти > 14 років)	2	14	28	28664	802,6
Лікування інфекційно-запальних захворювань (діти від 8 до 14 років)	1	14	14	8600	120,4
Лікування інфекційно-запальних захворювань (діти від 6 до 8 років)	0,7	14	9,8	1842	18,1
Лікування інфекційно-запальних захворювань	0,7	14	9,8	1842	18,1

1	2	3	4	5	6
(діти від 3 до 6 років)					
Разом:	4,4	56	61,6	40948	959,2

Отже, відповідно до даних *табл. 3.1* загальна кількість кг ЕР ($G_{\text{гп}}$) для потреб всього населення в Україні на 1 рік становить 959,2 кг.

3.2. Розрахунок потужності виробництва

Згідно з «Державним реєстром лікарських засобів України» станом на 2019 рік виробництвом таблеток «Еритроміцин» в Україні займаються два потужні підприємства, проте субстанції еритроміцину вони закупають в імпортерських компаній: Юнімакс Кемікалс Пвт. Лтд., Індія та Еркрос, С.А., Іспанія [6].

Проаналізувавши ринок продаж лікарського препарату «Еритроміцин», ми припустимо, що за потужністю продаж Публічного акціонерного товариства "Науково-виробничий центр "Борщагівський хіміко-фармацевтичний завод" займає 80 % ринку, а ПАТ "Вітаміни" 20 %. Пропонуємо зробити імпортозаміщення для фармацевтичного підприємства ПАТ "Вітаміни", тобто потрібно виготовляти:

$$G_{\text{гп}} = 959,2 \times 0,2 = 191,9 = 192 \text{ кг ЕР.}$$

Оскільки даний антибіотик виробляється за допомогою високопродуктивного штаму мікроорганізмів *S. erythraea* NCIMB 8594, то знаючи синтезувальну здатність продуцента, можемо розрахувати кількість культуральної рідини, яку необхідно одержати.

Продуцент еритроміцину – високопродуктивний штам мікроорганізмів *S. erythraea* NCIMB 8594, синтезують 0,8 г ЕР на 1 літр культуральної рідини [7, 8].

Кількість культуральної рідини, необхідної для отримання 192 кг ЕР становить:

$$0,0008 \text{ кг} - 1 \text{ л};$$

$$X = 240000 \text{ л або } 240 \text{ м}^3$$

$$192 \text{ кг} - X;$$

Враховуючи сумарні втрати цільового продукту при виділенні понад 30 % [9, 10], необхідно отримати таку кількість культуральної рідини:

$$V_{кр} = 240/(1-0,3) = 342,9 = 343 \text{ м}^3.$$

3.3. Розрахунок кількості виробничих циклів та геометричного об'єму ферментера

Для забезпечення України антибіотиком еритроміцином, потрібно одержати (з врахуванням втрат при виділенні) 343 м^3 культуральної рідини ($V_{гп}$) (підрозділ 3.2).

Розрахуємо, скільки культуральної рідини потрібно отримати за цикл ферментації, аби розрахувати кількість стадій приготування посівного матеріалу.

Приймаємо кількість робочих трудоднів ($T_{рд}$) 250, тоді кількість продукту на добу ($V_{д}$) становитиме:

$$V_{д} = V_{гп}/T_{рд} = 343/250 = 1,37 \text{ м}^3.$$

Кількість продукту за цикл ($V_{кр}$) буде становити:

$$V_{кр} = (K_1 \cdot V_{д} \cdot T_{цф})/24 = (1,1 \cdot 1,37 \cdot 152)/24 = 9,54 \text{ м}^3/\text{цикл},$$

де $T_{цф}$ – цикл роботи ферментера, який включає тривалість виробничого біосинтезу (144 год) [7, 8] та час підготовки ферментера до роботи (8 год). K_1 – коефіцієнт запасу, що

враховує можливість нестерильних операцій ($K_1 = 1,1 - 1,5$).

Підготовка ферментатора включає: миття та огляд (1,5 год), перевірка на герметичність (1 год), підігрів апарату (0,5), стерилізація (1 год), охолодження (1 год), завантаження середовища (1,5 год), засів (0,5 год), вивантаження культуральної рідини (1 год) [44].

$9,54 \text{ м}^3$ культуральної рідини ($V_{цк}$) можна отримати у ферментері, геометричний об'єм якого має становити:

$$V_{г} = V_{цк} / K_{зап} = 9,54/0,6 = 15,90 \text{ м}^3,$$

де $K_{зап} = 0,6$ – коефіцієнт заповнення ферментера.

Найближчий за геометричним об'ємом ферментер $V_{ф} = 16 \text{ м}^3$ [44].

Уточнюємо коефіцієнт заповнення

$$K_{зф} = V_{цк}/V_{ф} = 9,54/16 = 0,60, \text{ що не перевищує заданого значення.}$$

3.4. Розрахунок кількості стадій підготовки посівного матеріалу

За виробничий цикл отримують $V_{кр} = 9,54 \text{ м}^3$ культуральної рідини.

При одержанні культуральної рідини потрібно врахувати її втрати в результаті

краплевиносу через колектор відпрацьованого повітря, які становлять 15% для ферментеру та посівного апарату; 10 % для інокуляторів.

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

$$V_{\text{роб.1}} = V_{\text{кр}} / (1 - E_{\text{ф}}) = 9,54 / (1 - 0,15) = 11,22 \text{ м}^3,$$

де $E_{\text{ф}}$ – втрати культуральної рідини під час біосинтезу.

Виробничий біосинтез здійснюють у ферментері з робочим об'ємом $V_{\text{роб.1}} = 11,22 \text{ м}^3$.

При вибраному коефіцієнті заповнення $K_{\text{зап}} = 0,6$ розраховують можливий геометричний об'єм ферментера ($V_{\text{ф}}$), що становить $V_{\text{ф}} = V_{\text{роб.1г}} / K_{\text{зап}} = 11,22 / 0,6 = 18,70 \text{ м}^3$.

Найближчий за геометричним об'ємом ферментер $V_{\text{сф}} = 20 \text{ м}^3$ [44], та уточнюємо прийнятий раніше коефіцієнт заповнення.

$$K_{\text{зап1}} = V_{\text{роб.1}} / V_{\text{сф}} = 11,22 / 20 = 0,56.$$

Уточнений коефіцієнт заповнення перебуває у вибраних межах, отже геометричний об'єм ферментера вибрано вірно.

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

Тоді кількість поживного середовища в ферментері буде становити:

$$V_{\text{пс1}} = V_{\text{роб.1}} / (1 + X_{\text{ф}}) = 11,22 / (1 + 0,1) = 10,20 \text{ м}^3,$$

де $X_{\text{ф}} = 0,1$ – доза посівного матеріалу для ферментера.

Кількість посівного матеріалу становить $V_{\text{пм1}} = V_{\text{роб.1}} - V_{\text{пс1}} = 11,22 - 10,20 = 1,02 \text{ м}^3$.

Для одержання $1,02 \text{ м}^3$ інокуляту в посівному апараті враховуємо втрати в результаті краплевиносу через колектор відпрацьованого повітря, які становлять 15%.

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

$$V_{\text{роб.2}} = V_{\text{пм1}} / (1 - E_{\text{па}}) = 1,02 / (1 - 0,15) = 1,20 \text{ м}^3.$$

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

Тоді кількість поживного середовища в посівному апараті буде становити:

$$V_{\text{пс2}} = V_{\text{роб.2}} / (1 + X_{\text{па}}) = 1,20 / (1 + 0,1) = 1,09 \text{ м}^3,$$

де $X_{\text{па}} = 0,1$ – доза інокуляту для посівного апарату.

Кількість посівного матеріалу для посівного апарату становить:

$$V_{\text{пм2}} = V_{\text{роб.2}} - V_{\text{пс2}} = 1,20 - 1,09 = 0,11 \text{ м}^3 \text{ або } 110 \text{ л.}$$

Кількість інокуляту $V_{\text{роб.2}} = 1,13 \text{ м}^3$ можна одержати під час культивування бактерій у посівному апараті геометричним об'ємом $V_{\text{па2}} = V_{\text{роб.2}} / K_{\text{зап}} = 1,20 / 0,6 = 2 \text{ м}^3$.

Найближчий за геометричним об'ємом ферментер $V_{\text{сф}} = 2 \text{ м}^3$ [44], уточнюємо прийнятий раніше коефіцієнт заповнення.

$$K_{\text{з1}} = V_{\text{роб.2}} / V_{\text{сф}} = 1,20 / 2 = 0,6.$$

Для одержання 110 л посівного матеріалу в інокуляторі враховуємо втрати в результаті краплєвиносу через колектор відпрацьованого повітря, які становлять 10%.

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

$$V_{\text{роб.3}} = V_{\text{пм2}} / (1 - E_{\text{ін}}) = 110 / (1 - 0,1) = 122,22 \text{ л.}$$

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

Тоді кількість поживного середовища в інокуляторі буде:

$$V_{\text{пс3}} = V_{\text{роб.3}} / (1 + X_{\text{ін}}) = 122,22 / (1 + 0,1) = 111,11 \text{ л,}$$

де $X_{\text{ін}} = 0,1$ – доза посівного матеріалу для інокулятора.

Кількість посівного матеріала для інокулятора становить:

$$V_{\text{пм3}} = V_{\text{роб.3}} - V_{\text{пс3}} = 122,22 - 111,11 = 11,11 \text{ л.}$$

Кількість інокуляту $V_{\text{роб.3}} = 129,41 \text{ л}$ можна одержати під час культивування бактерій в інокуляторі геометричним об'ємом $V_{\text{ін3}} = V_{\text{роб.3}} / K_{\text{зап}} = 122,22 / 0,6 = 203,7 \text{ л.}$

Найближчий за геометричним об'ємом ферментер $V_{\text{сф}} = 250 \text{ л}$ [44], уточнюємо прийнятий раніше коефіцієнт заповнення.

$$K_{з1} = V_{роб.3} / V_{сф} = 122,22 / 250 = 0,48.$$

Для одержання 11,11 л посівного матеріалу в малому інокуляторі враховуємо втрати в результаті краплевиносу через колектор відпрацьованого повітря, які становлять 10 %.

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

$$V_{роб.4} = V_{пм3} / (1 - E_{ін}) = 11,11 / (1 - 0,1) = 12,34 \text{ л.}$$

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

Тоді кількість поживного середовища в малому інокуляторі буде становити

$$V_{пс4} = V_{роб.4} / (1 + X_{ін}) = 12,34 / (1 + 0,1) = 11,22 \text{ л,}$$

де $X_{ін} = 0,10$ – доза посівного матеріалу для інокулятора.

Кількість посівного матеріалу становить:

$$V_{пм4} = V_{роб.4} - V_{пс4} = 12,34 - 11,22 = 1,12 \text{ л.}$$

Кількість інокуляту $V_{роб.4} = 13,87$ л можна одержати під час культивування бактерій в малому інокуляторі геометричним об'ємом $V_{ін4} = V_{роб.4} / K_{зап} = 12,34 / 0,6 = 20,57$ л.

Найближчий за геометричним об'ємом ферментер $V_{сф} = 20$ л [44], уточнюємо прийнятий раніше коефіцієнт заповнення.

$$K_{з1} = V_{роб.4} / V_{сф} = 12,34 / 20 = 0,62.$$

Кількість інокуляту для засіву малого інокулятора $V_{пм4} = 1,12$ л можна одержати

культивуванням бактерій у колбах на качалці. Для цього використовують качалочні колби об'ємом $V_{колб} = 750$ мл та коефіцієнтом заповнення $K_{зк} = 0,2$.

Тоді кількість колб для отримання посівного матеріалу становитиме:

$$N_{колб} = V_{пм4} / (V_{колб} \cdot K_{зк}) = 1120 / (750 \cdot 0,2) = 7,47.$$

Таким чином, для одержання посівного матеріалу необхідно 8 качалочних колб.

Отже, процес одержання посівного матеріалу для забезпечення виробничого біосинтезу еритроміцину у ферментері об'ємом 20 м^3 з коефіцієнтом заповнення $0,6$

буде проходити у чотири етапи (рис. 3.2).

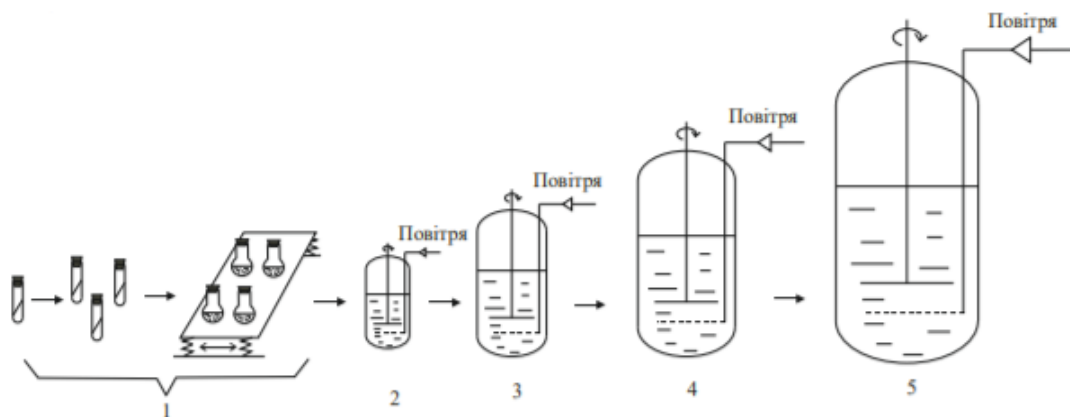


Рис. 3.2. Схема приготування посівного матеріалу *S. erythraea* NCIMB 8594

Примітка. * 1 – вирощування в лабораторії (на скошеному агаризованому середовищі в пробірках і на рідкому поживному середовищі в колбах на качалці); 2–4 – вирощування в інокуляторах та посівному апараті об'ємом (м³): 2 – 0,02; 3 – 0,25; 4 – 2; 5 - виробничий біосинтез 20 м³.

Таким чином, за результатами розрахунків для біосинтезу еритроміцину *S. erythraea* NCIMB 8594 приймаємо до встановлення один ферментер об'ємом 20 м³, посівний апарат об'ємом 2 м³, один інокулятор об'ємом 0,25 м³ і один інокулятор об'ємом 20 л.

РОЗДІЛ 4. БІОСИНТЕЗ ЦІЛЬОВОГО ПРОДУКТУ

4.1. Шляхи катаболізму ростового субстрату у біологічного агента

Джерелом вуглецю та енергії при вирощуванні *Saccharopolyspora erythraea* NCIMB 8594 є меляса [7, 8]. Згідно Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes катаболізм меляси у *Saccharopolyspora erythraea* NCIMB 8594 відбувається шляхом гідролізу О- та S-глікозильних сполук ростового субстрату у сахарозу під дією глюкозамілази (КФ 3.2.1.3), потім відбувається гідроліз О- та S-глікозильних сполук сахарози за рахунок альфа-глюкозидази (КФ 3.2.1.20) з утворення глюкози та фруктози. Фруктоза за участю фруктокінази (КФ 2.7.1.4) перетворюється на фруктозо-6-фосфат, де остання за глюкозо-6-фосфат ізомерази (КФ 5.3.1.9) перетворюється на глюкозо-6-фосфат. Глюкокіназа (КФ 2.7.1.2) активує перетворення глюкозо-6-фосфат у глюкозу [45].

Таким чином, утворена глюкоза залучається до гліколізу і перетворюється у піруват за рахунок наступних реакцій: глюкоза за участю компоненту ЕПСВ глюкозо PTS системи (КФ 2.7.1.199) перетворюється на глюкозо-6-фосфат, де шляхом ізомерації за глюкозо-6-фосфат ізомерази (КФ 5.3.1.9) перетворюється на фруктозо-6-фосфат, де остання фосфорилується за 6-фосфотрикінази та 6-фруктозо 1,6-бісфосфатази (КФ 2.7.1.11, КФ 3.1.3.11) у фруктозо-1,6-дифосфат. Фруктозо-1,6-дифосфат розщеплюється далі фруктозо-бісфосфатною альдолазою (КФ 4.1.2.13) на два фосфорильовані C₃-фрагмента, а саме гліцеральдегід-3-фосфат і діоксиацетонфосфат – перетворюються один в інший шляхом ферментативної активності триозофосфат ізомерази (КФ 5.3.1.1). До подальшого катаболізму глюкози залучається гліцеральдегід 3-фосфат, який під дією гліцеральдегід-3-фосфатдегідрогенази (КФ 1.2.1.12) окиснюється до 1,3-дифосогліцерату, який у свою чергу під дією фосфогліцераткінази (КФ 2.7.2.3) переходить у 3-фосфогліцерат. Ферментативна дія фосфогліцератмутази залежної (КФ 5.4.2.11) на

					НУХТ БТЕК 04.03.05. КР ПЗ			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата	РОЗДІЛ 4. БІОСИНТЕЗ ЦІЛЬОВОГО ПРОДУКТУ	Літ.	Арк.	Аркушів
Розробив		Мишук А.П.					37	182
Керівник		Буценко Л.М.						
Консультант								
Зав. каф.		Пирог Т.П.						Кафедра БТМ

3-фосфогліцерат індукує його перетворення на 2-фосфогліцерат. Під дією енолази (КФ 4.2.1.11) 2-фосфогліцерат переходить у фосфоенолпіруват. Кінцевою стадією перетворення є утворення пірувату з фосфоенолпірувату під дією піруваткінази (КФ 2.7.1.40) [46].

Схему катаболізму меляси наведено на *рис. 4.1* [45, 46].

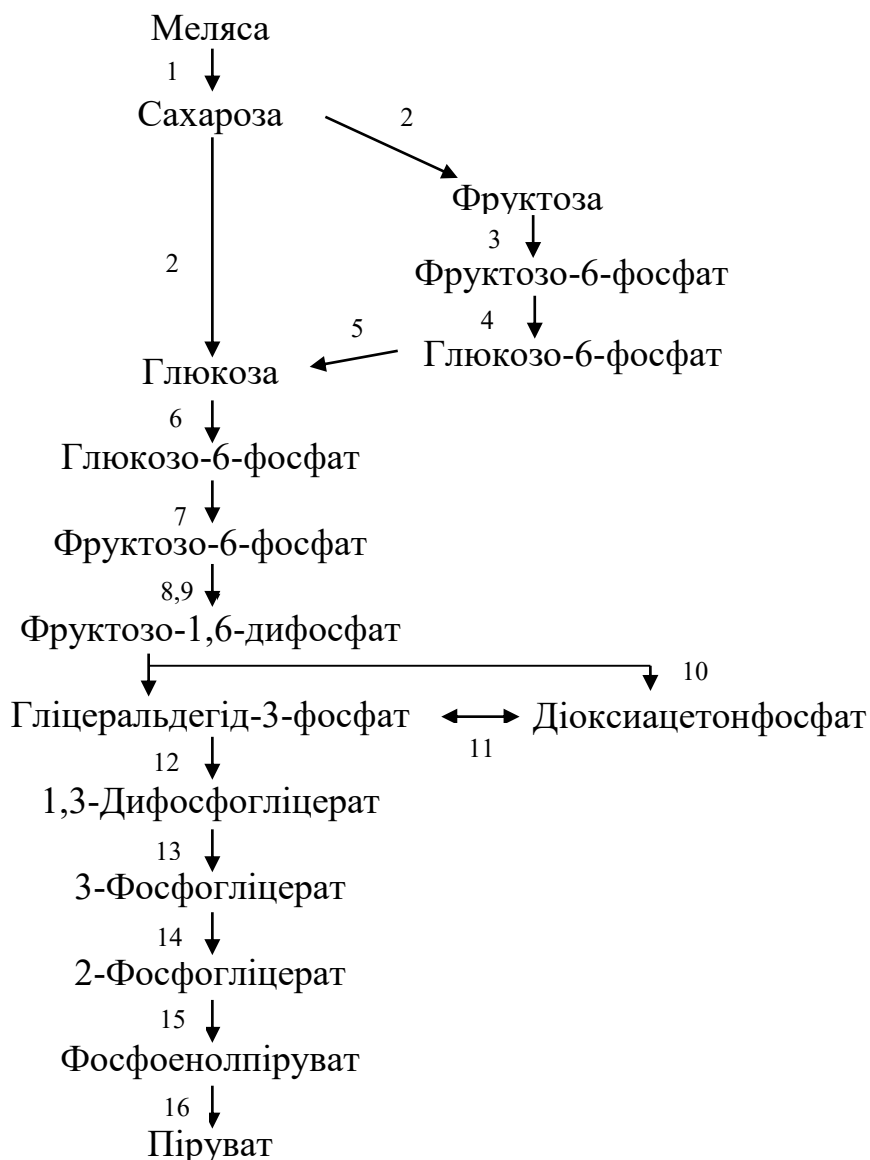


Рис 4.1. Катаболізм меляси у Saccharopolyspora erythraea NCIMB 8594 [45, 46]

Ферменти: 1 – глюкозамілаза (КФ 3.2.1.3); 2 – альфа-глюкозидаза (КФ 3.2.1.20); 3 – фруктокіназа (КФ 2.7.1.4); 4 – глюкозо-6-фосфат ізомераза (КФ 5.3.1.9); 5 – глюккіназа (КФ 2.7.1.2); 6 – компонент ЕПСВ глюкозо PTS системи (КФ 2.7.1.199); 7 – глюкозо-6-фосфат ізомераза (КФ 5.3.1.9); 8 – 6-фосфоглюкокіназа (КФ 2.7.1.11); 9 – 6-фруктозо 1,6-бісфосфатаза (КФ 3.1.3.11); 10

– фруктозо-бісфосфатна альдолаза (КФ 4.1.2.13); 11 – триозофосфат ізомераза (КФ 5.3.1.1); 12 – гліцеральдегід-3-фосфатдегідрогеназа (КФ 1.2.1.12); 13 – фосфогліцераткіназа (КФ 2.7.2.3); 14 – фосфогліцератмутаза залежна (КФ 5.4.2.11); 15 – енолаза (КФ 4.2.1.11); 16 – піруваткіназа (КФ 2.7.1.40).

4.2. Біотрансформація ростового субстрату у цільовий продукт

При рості *Saccharopolyspora erythraea* NCIMB 8594 з використанням меляси як джерела вуглецю, внаслідок гліколізу (рис. 4.1), утворюється піруват. Далі піруват залучається до ЦТК через ацетил-КоА.

У процесі біосинтезу макролідних антибіотиків є два основні аспекти:

- походження лактонного циклу;
- походження вуглеводів.

Згідно Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes основа структури макроциклу 14-членного макролідного антибіотика еритроміцину утворюється в результаті полімеризації пропіонатних і метилмалонатних одиниць. Також у складі еритроміцину присутні залишки вуглеводів дезозаміну і мікарози [47, 48].

Анаплеротичними реакціями, які забезпечують поповнення втрат інтермедіатів ЦТК при рості на мелясі є реакції:

- карбоксилювання фосфоенілпірувату з утворенням оксалоацетату під дією фосфоенілпіруваткарбоксилази (КФ 4.1.1.32);
- карбоксилювання пірувату з утворення оксалоацетату під дією піруваткарбоксилази (КФ 6.4.1.1);
- карбоксилювання пірувату з утворенням малату під дією малатдегідрогенази (КФ 1.1.1.37) [32, 46].

Вуглеводні складові еритроміцину (мікароза і дезозамін) синтезуються з глюкози-1-фосфат. Глюкозо-6-фосфат під дією 6-фосфоглюкокінази (КФ 2.7.1.11) перетворюється на глюкозо-1-фосфат, яка під дією дТДФ-глюкозосинтази (КФ 2.7.7.24) трансформується у дТДФ-D-глюкозу, яка за участю дТДФ-глюкозо-4,6-дегідратази (КФ 4.2.1.46) перетворюється на дТДФ-4-оксо-6-дезоксид-глюкозу. Ця сполука далі трансформується у дТДФ-3,4-диоксо-2,6-дидеоксид-глюкозу (фермент NDP-4-кето-6-дезоксид-глюкоза 2,3-дегідратаза КФ 4.2.1.159), яка під

дією дТДФ-4-кетогексозо 2,3-редуктази (КФ 1.1.1.-) перетворюється на дТДФ-4-оксо-2,6-дидеокси-D-аллозу. Під дією NDP-4-кетогексозо 3-С-метилтрансферази (КФ 2.1.1.-) дТДФ-4-оксо-2,6-дидеокси-D-аллоза переходить у дТДФ-3-метил-4-оксо-2,6-дидеокси-D-глюкозу, яка у свою чергу під дією дТДФ-4-дезоксиглюкозо 3,5-епімерази (КФ 5.1.3.-) трансформується у дТДФ-3-метил-4-оксо-2,6-дидеокси-L-аллозу. Кінцевою стадією перетворення є утворення дТДФ-L-мікарози під дією дТДФ-4-кетогексозо 4-редуктази (КФ 1.1.1.-). Друга вуглеводна складова антибіотика - дТДФ-D-дезозамін утворюється в результаті чотирьох послідовних реакцій з дТДФ-4-оксо-6-дезоксиглюкозо. Під дією дТДФ-4-аміно-4,6-дидеокси-D-глюкозо трансамінази (КФ 2.6.1.33) дТДФ-4-оксо-6-дезоксиглюкоза трансформується у дТДФ-4-аміно-4,6-дидеокси-D-глюкозу, яка у свою чергу під дією дТДФ-4-аміно-4,6-дидеокси-D-глюкозо-аміак-ліази (КФ 4.3.1.30) перетворюється на дТДФ-3-оксо-4,6-дидезоксиглюкозу. Ця сполука далі трансформується у дТДФ-3-аміно-3,4,6-тридеоксиглюкозу (фермент дТДФ-3-аміно-3,4,6-тридеокси-α-D-глюкозо трансаміназа КФ 2.6.1.106), яка під дією дТДФ-3-аміно-3,4,6-тридеокси-альфа-D-глюкопіранозо N, N-диметилтрансферази (КФ 2.1.1.234) переходить у дТДФ-D-дезозамін [48].

Макроцикл 14-членного макролідного антибіотика еритроміцину утворюється з пропіоніл-КоА і метилмалоніл-КоА. Для утворення пропіоніл-КоА піруват під дією піруватдегідрогенази (КФ 2.3.1.12) перетворюється на ацетил-КоА, який у свою чергу трансформується у пропіоніл-КоА (фермент ацетил-КоА ацетилтрансфераза КФ 2.3.1.16). Метилмалоніл-КоА утворюється двома шляхами: при перетворенні пропіоніл-КоА та сукциніл-КоА. Перший шлях, пропіоніл-КоА під дією пропіоніл-КоА карбоксилази (КФ 6.4.1.3) перетворюється на метилмалоніл-КоА. Другий шлях сукциніл-КоА трансформується у L-метилмалоніл-КоА (фермент метилмалоніл-КоА мутаза КФ 5.4.99.2), який у свою чергу під дією метилмалоніл-КоА епімерази (КФ 5.1.99.1) переходить у метилмалоніл-КоА. Після утворення метилмалоніл-КоА й пропіоніл-КоА відбувається реакція полімеризації цих слолук під дією 6-дезоксиритронолід-В-синтази (КФ 2.3.1.94) з утворенням 6-дезоксиритронолід В, який трансформується у еритронолід В (фермент 6-дезоксиритронолід-В-

гідроксилаза КФ 1.14.15.35). дТДФ-L-мікароза конденсується з еритронолід В (фермент еритронолід мікарозилтрансфераза КФ 2.4.1.328) з утворенням 3-О-а-мікарозил-еритронолід В. У процесі конденсації дТДФ-D-дезозаміну з 3-О-а-мікарозил-еритронолід В утворюється еритроміцин D (фермент 3-альфа-мікарорилеритронолід В дезозамінілтрансфераза КФ 2.4.1.278), з якого далі синтезуються еритроміцин В, С і А. Еритроміцин D трансформується у еритроміцин А двома шляхами:

➤ під дією еритроміцин 3-О-метилтрансферази (КФ 2.1.1.254) перетворюється на еритроміцин В, який у свою чергу трансформується у еритроміцин А (фермент еритроміцин 12-гідроксилаза КФ 1.14.13.154);

під дією еритроміцин 12-гідроксилази (КФ 1.14.13.154) перетворюється на еритроміцин С, який у свою чергу трансформується у Еритроміцин А (фермент 3-О-метилтрансферази КФ 2.1.1.254) [47].

РОЗДІЛ 5. ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ

5.1. Обґрунтування доферментаційних процесів та виробничого біосинтезу

5.1.1. Обґрунтування способу культивування *S. erythraea* NCIMB 8594

Культивування продуцента еритроміцину *S. erythraea* NCIMB 8594 потрібно здійснювати за температури 30 °С, значення рН 7,0, при аерації [7, 37, 49]. Зважаючи на параметри культивування існує ризик ймовірної контамінації сторонніми мезофільними й нейтрофільними мікроорганізмами. По-перше, потрібно слідкувати за асептичністю проведення процесу під час підготовки робочої культури та засіву поживних середовищ. По-друге, чистоту процесу підготовки інокуляту та біосинтезу підтримують шляхом проведення ряду підготовчих дій: прибирання виробничих приміщень; підготовка обладнання, комунікацій та повітря; санітарно-гігієнічна підготовка персоналу; стерилізація поживних середовищ та допоміжних розчинів.

Культивування ЕР можна здійснювати наступними способами:

- на поверхні щільних середовищ або в тонкому шарі рідких середовищ, коли мікроорганізми отримують кисень прямо з повітря;
- в рідких середовищах (глибинне культивування). В цьому випадку мікроорганізми використовують розчинений в середовищі кисень [50].

При виборі способу культивування варто зважати на ефективність процесу. Для продуцента ЕР доцільно використовувати глибинне культивування, оскільки вдасться досягти ряд переваг: обладнання менш трудомістке та потребує менше виробничих площ; зменшується ймовірність можливої контамінації; легкість автоматизації; більший вихід цільового продукту [51].

Глибинне культивування буває періодичним та безперервним. Зважаючи на те, що ЕР є вторинним метаболітом, тобто максимальний його синтез відбувається у стаціонарній фазі, підтримання продуцента у фазі експоненційного росту є недоцільним [32]. Таким чином, обираємо періодичний спосіб культивування.

					НУХТ БТЕК 04.03.05. КР ПЗ		
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата	РОЗДІЛ 5. ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ		
Розробив		Міщук А.П.			Літ.	Арк.	Аркушів
Керівник		Буценко Л.М.				42	182
Консультант					Кафедра БТМ		
Зав. каф.		Пирог Т.П.					

По відношенню до кисню *S. erythraea* NCIMB 8594 є облигатним аеробом, тому в процесі росту мікроорганізму забезпечують аерацію подачею стерильного очищеного повітря.

Оскільки, середовище для біосинтезу містить 60 г/л меляси, а початкова концентрація джерела вуглецю може бути 3 %, щоб не допустити каботолітичну репресію та збільшення лаг-фази, тоді початкова концентрація меляси в середовищі становить 30 г/л, а іншу частину вносять як дробне підживлення.

Меляса має здатність до піноутворення, тому потрібно передбачити наявність піногасника. Для зменшення економічних витрат, пропонується використовувати пропанол, який є компонентом поживного середовища. Тобто, 1/3 частину пропанолу передбачаємо як піногасник, а 2/3 як компонент підживлювального розчину.

Отже, підсумовуючи вище зазначену інформацію, культивування продуцента EP проводиться глибинним способом, в періодичній системі з дробним підживленням, на рідкому поживному середовищі з аерацією та підтриманням рН і температури на оптимальному рівні – 7,0, 30 °C відповідно.

5.1.2. Обґрунтування вибору ферментера для культивування

З огляду на фізіолого-біохімічні й морфолого-культуральні особливості, вибираємо ферментер який створить оптимальні умови для росту й розвитку штаму продуцента.

Подача очищеного стерильного повітря відбувається через барботер. Збільшити інтенсивність масопередачі можна за допомогою механічного перемішуючого пристрою, що сприяє збільшенню кратності контакту між рідкою і газовою фазами, що впливає на інтенсивність масообміну на фазовому переході газ-рідина [52].

Актинобактерії *S. erythraea* NCIMB 8594 утворюють псевдоміцелій, тому при виборі перемішуючого пристрою для гомогенізації варто звертати увагу на можливий вплив надлишкових зрізових зусиль перемішувального пристрою. Оптимальним вибором є турбінні мішалки, які працюють за принципом відцентрового насоса, тобто втягують рідину всередину і внаслідок відцентрової

сили відкидають її до периферії, надаючи рідині не кругового, а радіального руху. Обов'язковим є встановлення відбиваючих перегородок (радіальні планки біля стінок апарата), тому, що якщо їх немає, то утворюється глибока воронка, яка може доходити до дна апарата. Найчастіше встановлюють 4 таких перегородки [53].

Для запобігання піноутворення будемо використовувати механічний спосіб піногасіння. У верхній частині ферментера встановлюється спеціальний пристрій, який по команді датчика рідини буде обертатися, тим самим розпилюючи пропанол по всій поверхні апарата.

Для підтримання рН на рівні 7,0, апарат повинен бути оснащеним датчиком Рн, який буде сигналізувати і передавати сигнал для автоматично відкриття подачі лужного або кислого розчину.

Для забезпечення оптимальної температури культивування – 30 °С, ферментер оснащується сорочкою і датчиком температури.

З замовленням щодо виробництва ферментера з заданими параметрами можна звернутися до фірми «Biotron Inc.» (Корея). Ферментер об'ємом 20 м³ лінійки LiFlus SP (рис. 5.1) оснащений можливістю внесення інокуляту в стерильних умовах, встановлено датчики контролю тиску, рН, температури, рівня піни, передбачається наявність перемішуючого пристрою. Є наявність портів для відбору проб для аналізу біомаси, кількості ЕР та мікробіологічного контролю [54].



Рис. 5.1. Ферментер об'ємом 20 м³ лінійки LiFlus SP [54]

5.1.3. Вибір миючих та дезінфікуючих засобів

Виробництво антибіотику еритроміцину здійснюється упродовж 250 днів (див. розділ 3). Виробництво включає наступні відділи: цех виробничого біосинтезу

(окреме приміщення оскільки об'єм ферментера 20 м³), підготовки посівного матеріалу, лабораторне відділення для проведення аналітичного та мікробіологічного контролю (рН-метр, бокси, автоклави, термостати та інш.), качалочне приміщення.

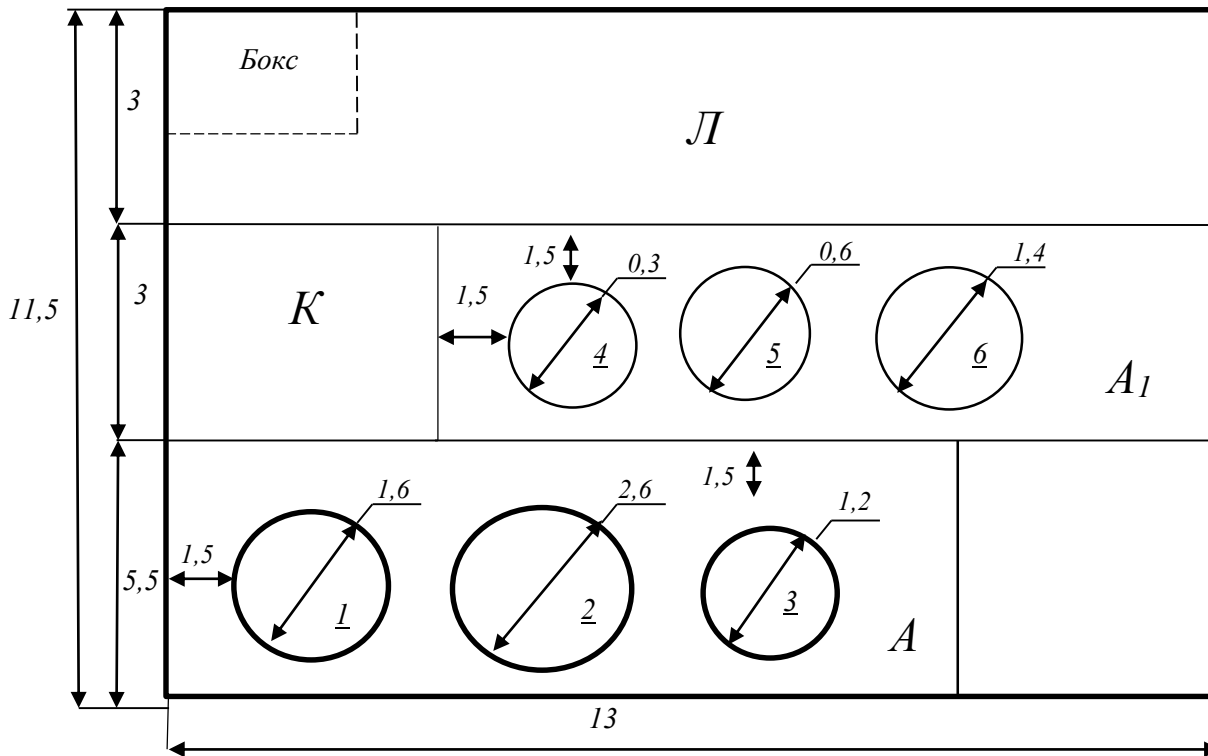
Ширина проходів між ємнісними апаратами складає 1 метр. Відстань між стінами та апаратами становить 1,0 - 1,5 метра. Габаритні розміри обладнання наведено у *табл 5.1*.

Таблиця 5.1

Габаритні розміри основного обладнання для виробництва EP *Saccharopolyspora erythraea* NCIMB 8594

Обладнання	Геометричний розмір, м ³	Діаметр, мм
1	2	3
Ферментер	20	2600
Реактор-змішувач для УБС	12,5	1800
Реактор змішувач для 6%-ї НСІ	0,03	350
Реактор-змішувач для 6%-го NaOH	0,03	350
Реактор-змішувач підживлювального розчину	1,6	1200
Реактор-змішувач для карбонату кальцію	0,63	800
Посівний апарат	2	1400
Реактор-змішувач композиції А	0,25	700
Реактор-змішувач композиції Б	1,0	1000
Реактор-змішувач композиції В	0,16	600
Інокулятор	0,16	600
Реактор-змішувач композиції А	0,02	300
Реактор-змішувач композиції Б	0,1	500
Реактор-змішувач композиції В	0,02	300
Інокулятор	0,02	300
Всього	38,5	-

На *рис. 5.2* наведено приблизний план приміщення для виробництва еритроміцину *Saccharopolyspora erythraea* NCIMB 8594



*Рис. 5.1. План виробничого приміщення для виробництва еритроміцину *Saccharopolyspora erythraea* NCIMB 8594*

Примітка. * А – цех виробничого біосинтезу (1 – реактор змішувач УБС; 2 - ферментер для виробничого біосинтезу об'ємом 20 м³; 3 - реактор-змішувач для приготування підживлюючого розчину); А₁ – вирощування інокуляту (4 - інокулятор об'ємом 0,02 м³; 5 - інокулятор об'ємом 0,16 м³; 6 - посівний апарат 2 м³); Л – мікробіологічна лабораторія; К – приміщення з качалками.

Згідно даним наведеним в *табл. 5.1.*, загальний об'єм ферментеру, реакторів-змішувачів та інокуляторів для вирощування посівного матеріалу та виробничого біосинтезу становить 34 м³.

Для забезпечення чистоти виробничих приміщень, миття підлоги проводиться щодня, тобто 250 разів. Також, раз на місяць здійснюється генеральне прибирання (оброблюються стіни, підлога, вікна тощо), тобто 9 разів. Для розрахунку кількості миючих засобів необхідно розрахувати приблизну площу оброблення мийними та дезінфікуючими засобами, враховуючи площу підлоги виробничого приміщення та

площу стін на висоту 2,5 м.

Оптимальна площа підлоги цеху виробничого біосинтезу еритроміцину становить 44 м² (8·5,5), для вирощування інокуляту - 27 м² (9·3), для качалочної кімнати – 12 м² (4·3) та мікробіологічної лабораторії становить 39 м² (13·3); загальна площа стін – ((11,5×2,5) + (13×2,5)) × 2 = 61,3 м².

Загальна площа поверхні обробки миючими та дезінфікуючими засобами наведена у *табл. 5.2*.

Таблиця 5.2

Розрахунок загальної площі миття та/або дезінфекції приміщень

Приміщення	Площа підлоги, м ²	Площа стін, м ²	Загальна площа, м ²
Цех виробничого біосинтезу	44	33,8	77,8
Цех вирощування інокуляту	27	30	57
Качалочна	12	17,5	29,5
Мікробіологічна лабораторія	39	40	79
Загальна площа	122	121,3	243,3

Для проведення розрахунку витрат мийних та/або дезінфікуючих засобів приймаємо, що обладнання та комунікації підлягають очищенню перед кожним виробничим циклом (кількість циклів становить 40), тобто 41 раз (додаткове миття після останнього циклу). Підлога миється кожен робочий день, тобто 250 разів; стіни, вікна та двері – раз на місяць (9 разів). Чистота повітря в приміщеннях повинна відповідати встановленим нормам, отже, обираємо періодичність включення стельових бактерицидних ламп – 1 годину після кожного генерального прибирання та 30 хвилин кожного робочого дня.

Узагальнені дані щодо розрахунку площі миття та/або дезінфекції за весь період виробництва наведено в *табл. 5.3*.

**Розрахунок загальної площі миття та/або дезінфекції оброблюваного об'єкту
за весь період виробництва еритроміцину**

Об'єкт миття та/або дезінфекції	Площа (об'єм) оброблюваного об'єкту, м ² (м ³)	Кількість процесів миття та/або дезінфекції за весь період виробництва	Загальна площа (об'єм) миття та/або дезінфекції об'єкту за весь період виробництва, м ² (м ³)
Обладнання, комунікація, тара, інвентар	38,5	41	1578,5
Підлога	122	250	30500
Стіни, двері, вікна	121,3	9	1091,7

Обґрунтування вибору мийних та дезінфікувальних засобів

Обирати мийні та дезінфікувальні засоби потрібно ті, які зареєстровані в Україні й дозволені до використання на підприємствах фармацевтичної промисловості. При використанні мийно-дезінфекційних засобів поєднують стадії миття та дезінфекції об'єктів в одній операції. Потрібно чергувати дезінфекційні та антисептичні засоби кожні 1-3 місяці з метою запобігання розвитку та розповсюдженню стійких варіантів мікроорганізмів [55].

Миття обладнання. Миття ферментеру, інокуляторів, реакторів-збірників загальним об'ємом 38,5 м³ відбуватиметься за допомогою циркуляційної безрозбірної СІР-мийки. Об'єм мийного засобу складатиме близько 20 % кожного з відповідних об'ємів обладнання. Всього для одного циклу необхідно 7,7 м³ робочого розчину мийного засобу, а для всього періоду виробництва – $7,7 \times 41 = 315,7$ м³.

Для дезінфекції стін, підлоги, вікон та дверей. Загальна площа поверхні підлоги, стін, вікон та дверей складає $30500 + 1092 = 31592$ м², отже кількість робочого розчину за весь період виробництва становить : $(31592 \times 100)/1000 = 3159$ л або 3,16 м³. Вартість концентратів мийних та дезінфікувальних засобів та їх витрати при виробництві наведено в *табл. 5.4*.

Узагальнена характеристика витрат мийних та дезінфікуючих засобів для виробництва ЕР

Назва мийного/ дезінфікуючого засобу	Об'єкт миття та/або дезінфекції	Концентрація робочого розчину, %	Загальна площа (об'єм) миття та/або дезінфекції об'єкту за весь період виробництва	Кількість робочого розчину за весь період виробництва, м ³	Вартість 1 л/кг мийного або дезінфікуючого засобу, грн*	Вартість 1 л робочого розчину, грн	Загальна вартість миття та/або дезінфекції за весь період виробництва, грн
СІР 200 ¹	Обладнання, комунікації, інвентар, комунікація	1,0	1578,5	315,7	581	5,81	1834217
Біомой ²		0,3	1578,5	315,7	186	0,56	176792
СІР 100 ³		1,0	1578,5	315,7	525	5,25	1657425
Саніфект ⁴	Стіни, підлога, вікна, двері, інвентар, тара	2,0	31592	3,16	370	7,4	23384
Dez-15 ⁵		1,0	31592	3,16	84	0,84	2655
ProKlenz® ONE ⁶		3,0	31592	3,16	374	11,2	35392
Біолонг «концентрат» ⁷		1,0	31592	3,16	265	2,65	8374

Примітка. * ціни наведено станом на травень 2020 року. 1. <https://us.vwr.com/store/product/4619495/cip-200-acid-cleaner-steris>; 2. <https://hlorka.in.ua/p607423965-biomoj.html>; 3. <https://www.opticsplanet.com/steris-cip-100-detergent-system-5gal-1d1005.html>; 4. <https://interdez.com.ua/product/dezinficiruyuschee-sredstvo-saniffekt-interdez-kiev>; 5. https://primaterra.ua/p1079212558-moyuschee-sredstvo-dlya.html?gclid=Cj0KCQjwzZj2BRDVARIsABs3I9JtC2ZcNf2fAtHfchReVbSPx834KIWCVT5VHezfqahpFCvrj7WfdDUaAhdREALw_wcB; 6. <https://us.vwr.com/store/product/17973986/proklenz-one-alkaline-detergent-steris>; 7. https://epicentrk.ua/ua/shop/dezinfitsiruyuschee-sredstvo-biolong-s-moyuschimi-svoystvami-1-l.html?gclid=Cj0KCQjwzZj2BRDVARIsABs3I9KP4U6G-HB1cDUUkIZicsLUcxj5IpZcB8uPYCxoFf2TlbsLVHipD60aAuGQEALw_wcB.

Приклад розрахунку вартості 1 л робочого розчину мийного засобу «Біомой»: Вартість 1 л засобу складає 144 грн, концентрація його робочого розчину – 0,3 %, що говорить про те, що в 1000 мл робочого розчину – 3 мл (0,003 л) концентрату. Отже, $144 \cdot 0,003 = 0,432$ грн/л робочого розчину, тоді для всього періоду $0,432 \cdot 315,7 \cdot 1000 = 136382,4$. Аналогічно розраховують вартість 1 л робочого розчину для решти миючих або дезінфікуючих засобів.

Проаналізувавши дані з *табл. 5.4* можна зробити такі висновки:

- для миття обладнання, доцільно використовувати мийний засіб «Біомой», зважаючи на найнижчу вартість;
- для щоденного миття та дезінфекції стін, підлоги, вікон та дверей – «Dez-15», а для генерального прибирання «Біолонг», оскільки вони є безпечними для персоналу, мають високу дезінфікуювальну здатність та низьку вартість.

«Біомой» – багатокомпонентний, поліфункціональний, біоактивний миючий засіб з дезінфікуючим ефектом. Робочі розчини безбарвні, не ушкоджують оброблювані вироби, і мають виражені емульгуючі й миючими властивостями, легко видаляють білково-жирову плівку, добре змиваються, не залишаючи нальоту на оброблюваних поверхнях. Належить до мало небезпечних речовин при нанесенні на шкіру (4 клас небезпеки відповідно до ГОСТу 12.1.007). Допускається зберігати невикористаний робочий розчин протягом 14 діб за умови зберігання в тарі з щільно закритими, тобто робочі розчини з терміном зберігання не більше 14 днів, придатні для миття [56].

Склад: алкілбензолсульфонат натрію (сульфонол) 5,0-8,0; лужна протеаза 1,0-1,1 (діючі речовини); натрію карбонат; диспергатор; наповнювач [56].

«Dez-15» – це концентрований миючий засіб з дезінфікуючим ефектом широкого спектра дії, містить активний хлор. Застосовується для видалення білкових забруднень, неприємних запахів, добре знежирює поверхні і бореться з грибок і цвілью.

Склад: вода демінералізована, гіпохлорит натрію, гідроксид натрію, 5-15% неіоногенні ПАВ, глюконат натрію.

«Біолонг» – призначення для проведення поточної, профілактичної та

остаточної дезінфекції на всіх об'єктах, які підлягають санітарному огляду. Належить до мало небезпечних речовин при нанесенні на шкіру (4 клас небезпеки відповідно до ГОСТу 12.1.007).

Склад: бензалконію хлорид - від 8 до 14%; н-октадецил диметил пропіл амонію хлорид - від 1 до 4%, ізопропіловий спирт - 11-20%.

5.1.4. Підготовка аераційного повітря

S. erythraea NCIMB 8594 є аеробом [49], тому для розвитку і синтезу цільового продукту необхідною умовою є подача до ферментера стерильного аераційного повітря. Підготовка повітря проводиться з метою очищення повітря від механічних часток, джерел контамінації та стабілізації термодинамічних показників.

Система підготовки повітря складається з трьох послідовно з'єднаних підсистем: очищення від пилу і стиснення; приведення повітря до термодинамічного стану з певною температурою і вологість для утворення аерозолу; відділення аерозолу у фільтрах грубого і тонкого очищення [57].

Перша підсистема. Атмосферне повітря забирають на висоті двох метрів над рівнем даху будівлі. Оскільки висота виробничої будівлі становить 10 м (7 м – висота стін, 0,5 м – фундамент, 1,5 м – дах), атмосферне повітря відбирається на висоті 11 м. Насамперед повітря потрапляє у фільтри попереднього очищення, в яких звільняється від грубого аерозолу – пилу. Фільтри попереднього очищення не тільки захищають компресори від забруднення, а й істотно знижують кількість контамінантів, які могли б потрапити у другу підсистему [57, 58].

Після цього повітря стискають у турбокомпресорі до 0,35 – 0,5 МПа. Тиск повітря за компресором визначають із розрахунку тиску на подолання опору в системі підготовки повітря, тиску стовпа рідини у ферментаторі та створення в ньому тиску 0,13 - 0,14 МПа. Стиснення повітря в компресорі приводить до підвищення його температури до 120 – 250 °С і збільшення вмісту вологи на одиницю об'єму [57].

Друга підсистема. У разі високого вмісту вологи у вихідному атмосферному повітрі під час його охолодження конденсується ще більше вологи. Щоб забезпечити випадання вологи в краплевловлювачі, повітря «переохолоджують до температури

25-40 °С в теплообмінному апараті. Надалі, для забезпечення надійної роботи фільтрів другого і третього рівнів, повітря нагрівають до температури 70-90 °С. При таких температурах не відбувається конденсація пари води на волокнах фільтра. З цією метою повітря після краплевловлювача підігрівають у теплообміннику, при цьому допускається часткове підмішування гарячого повітря після компресора. Кількість підмішуваного повітря визначається умовами відносної вологості, яка не повинна перевищувати 40 % [57].

Третя підсистема. Складається з двох фільтрів другого (головний) і третього рівнів очищення. На головному фільтрі очищають повітря для усіх ферментаторів цеху. З головного фільтра повітря колектором подається в індивідуальні фільтри третього рівня, встановлені на кожному ферментаторі незалежно від його місткості. У процесі експлуатації фільтрів необхідна їхня стерилізація. Найефективнішим способом є нагрівання вологою парою і витримка впродовж певного часу при температурі 125-130 °С. Вища температура спричиняє деструкцію герметизму цих прокладок у фільтрах. Після стерилізації фільтрувальний матеріал висушують гарячим повітрям [57].

В лабораторних боксах, де працюють з культурою продуцента та інокулятом, для стерилізації повітря використовують ультрафіолетові лампи.

5.1.5. Обґрунтування стадії підготовки обладнання і комунікацій

Підготовка обладнання й комунікацій при виробництві ЕР складається з п'яти послідовних стадій (рис. 5.2).

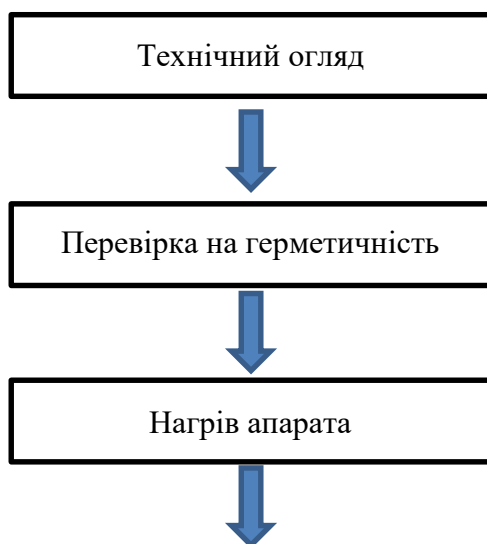




Рис. 5.1. Стадії підготовки обладнання

Починається зі **стадії технічного огляду (ТО)**. Після миття та ополіскування ємнісного обладнання проводять технічний огляд, для того щоб виявити можливі неущільнення в комунікаціях та запірній арматурі на обладнанні. При знаходженні неущільнень проводять підтягування різьбових з'єднань [57].

Наступна стадія – **перевірка на герметичність**. Доцільно використовувати техніку дослідження за допомогою індикаторного газу, суть методу зводиться до приєднання випробуваного обладнання до порту течієпошукача гелію і видалення повітря шляхом вакуумування обладнання. Гелій вводять (зазвичай з газового балона) через розпилювач всередину випробуваного обладнання і витік виявляють за допомогою течієпошукача, який показує і величину швидкості витіку. Витік індикаторного газу визначають за величиною дисбалансу коефіцієнта теплопровідності між індикаторним газом і повітрям [58].

Стадія стерилізації обладнання та комунікацій. Обладнання та комунікації безпосередньо контактують з культуральною рідиною, тому для запобігання контамінації проводять наступні дії:

- нагрів апарата ($t_n = 80-90\text{ }^\circ\text{C}$);
- витримування за температури стерилізації апаратури, індивідуальних фільтрів, відпрацьованого повітря ($t_{ct} = 130-135\text{ }^\circ\text{C}$) та подання стерильного повітря, підтримуючи надмірний тиск 0,15-0,3 МПа (щоб уникнути попадання сторонньої мікрофлори);
- охолодження ($t_{ox} = 30-40\text{ }^\circ\text{C}$, надлишковий тиск $P = 0,003-0,005\text{ МПа}$) [55, 57].

5.1.6. Розрахунок кількості розчину для підживлення

Для виробничого біосинтезу ЕР, що продукується штамом *S. erythraea* NCIMB 8594 необхідно приготувати м'ясно-пропанолове підживлення.

Концентрація меляси у середовищі становить 60 г/л. Це досить висока концентрація для початкового культивування, тому необхідно розбити її на розчини для підживлення. Приймаємо стартову концентрацію меляси – 30 г/л. Залишок буде становити:

$$D_g = 60 - 30 = 30 \text{ г/л.}$$

До складу середовища для виробничого біосинтезу входять такі продукти як меляса та кукурудзяний екстракт, при перемішуванні вони мають властивість, утворювати піну. Тому пропанол, що вноситься в концентрації 1 % (об'єм.) буде застосовуватись як речовина, що стимулює синтез ЕР 2/3 частини та як піногасник 1/3. Об'єм середовища для виробничого біосинтезу становить 9,54 м³ (див. розділ 3), тоді пропанолу вносять 63,6 л, а меляси 286,2 кг.

Для даного підживлюючого розчину приймаємо концентрацію 30 %, тоді кількість буде становити:

$$G_p = 100 \cdot (C_1 + C_2) / 30 = 100 \cdot (286,2 + 63,6) / 30 = 1166 \text{ л,}$$

де C_1 – 286,2 кг, концентрація меляси в розчині; C_2 – 63,6 л, концентрація пропанолу (2/3 частини).

Також визначаємо час початку і швидкість внесення розчину для підживлення. Приймаємо, що підживлення починається з 72 години культивування і продовжується до 132 години та вноситься кожні 10 годин. Отже, швидкість підживлення буде становити:

$$V = 1166 \cdot 10 / (132 - 72) = 184,33 \text{ л на кожні 10 годин}$$

5.1.7. Особливості підготовки та стерилізації поживного середовища

Максимальний синтез еритроміцину (0,8 г/л за 144 год) досягається за умов росту штаму *S. erythraea* NCIMB 8594 на середовищі такого складу (г/л): початкова концентрація меляси – 30; пропанол – 10 мл; CaCO₃ – 5; кукурудзяний екстракт – 4; NaCl – 2,5; (NH₄)₂SO₄ – 2 [7, 8]. У процесі культивування, починаючи з 72 години культивування і до 132, через кожні 10 год здійснюють дробне внесення 30 % м'ясо-пропанолового розчину.

Вирощування інокуляту відбувається на середовищі такого складу (г/л): меляса – 30; CaCO₃ – 5; кукурудзяний екстракт – 4; NaCl – 2,5; (NH₄)₂SO₄ – 2.

Згідно з розрахунками, що наведені у *розділі 3*, виробничий біосинтез еритроміцину здійснюється у ферментері об'ємом 20 м³, що містить 10,20 м³ середовища. Одержання інокуляту відбувається у чотири етапи (вирощування в колбах на качалках, двох інокуляторах та посівному апараті об'ємом 20, 250 і 2000 л відповідно).

Підготовка і стерилізація поживного середовища для вирощування інокуляту у колбах на качалці. На першому етапі для вирощування посівного матеріалу в колбах потрібно 1,22 л поживного середовища (див. *розділ 3*). Розділяємо поживне середовище на композиції, залежно від режиму стерилізації та взаємодії компонентів:

Композиція А: меляса, кукурудзяний екстракт – режим стерилізації: 112 °С, 20-30 хв, 0,05 МПа.

Композиція Б: (NH₄)₂SO₄ та NaCl – режим стерилізації: 131 °С, 40-60 хв, 0,15 МПа.

Композиція В: CaCO₃ – режим стерилізації: 131 °С, 40-60 хв, 0,15 МПа.

Меляса та кукурудзяний екстракт (компоненти А) є термолабільними і потребують м'якого режиму стерилізації. Солі (компоненти Б) при стандартній для солей температурі. Карбонат кальцію (компонент В) стерилізують окремо, щоб запобігти утворенню малорозчинної сполуки сульфат кальцію. Стерилізацію композицій А Б і В здійснюють в автоклаві з вертикальним завантаженням.

Підготовка і стерилізація поживного середовища для вирощування посівного матеріалу в інокуляторі об'ємом 20 л. На другому етапі підготовки інокуляту потрібно одержати 11,2 л поживного середовища (див. *розділ 3*). Композиції поживного середовища ідентичні як і для стадії колб на качалках. Стерилізацію композицій А Б і В будемо проводити в автоклаві з вертикальним завантаженням.

Композиція А: меляса, кукурудзяний екстракт – режим стерилізації: 112 °С, 20-30 хв, 0,05 МПа.

Композиція Б: (NH₄)₂SO₄ та NaCl – режим стерилізації: 131 °С, 40-60 хв, 0,15 МПа.

Композиція В: CaCO₃ – режим стерилізації: 131 °С, 40-60 хв, 0,15 МПа.

Підготовка і стерилізація поживного середовища для вирощування посівного матеріалу в інокуляторі об'ємом 250 л. На третьому етапі підготовки інокуляту потрібно одержати 111 л поживного середовища (див. *розділ 3*).

Композиція А: меляса, кукурудзяний екстракт – режим стерилізації: 112 °С, 20-30 хв, 0,05 МПа.

Композиція Б: (NH₄)₂SO₄ та NaCl – режим стерилізації: 131 °С, 40-60 хв, 0,15 МПа.

Композиція В: CaCO₃ – режим стерилізації: 131 °С, 40-60 хв, 0,15 МПа.

Композиції А і В стерилізують в окремих реакторах. Композицію Б стерилізуємо безпосередньо в інокуляторі попередньо розмішавши її в реакторі-змішувачі.

Підготовка і стерилізація поживного середовища для вирощування посівного матеріалу в інокуляторі об'ємом 2 м³. На четвертому етапі підготовки інокуляту потрібно одержати 1,09 м³ поживного середовища. Поживне середовище ділимо на такі ж композиції як і на трьох попередніх етапах (див. *розділ 3*).

Композиція А: меляса, кукурудзяний екстракт – режим стерилізації: 112 °С, 20-30 хв, 0,05 МПа.

Композиція Б: (NH₄)₂SO₄ та NaCl – режим стерилізації: 131 °С, 40-60 хв, 0,15 МПа.

Композиція В: CaCO₃ – режим стерилізації: 131 °С, 40-60 хв, 0,15 МПа.

Композиції А і В стерилізують в окремих реакторах. Композицію Б стерилізуємо безпосередньо в інокуляторі попередньо розмішавши її в реакторі-змішувачі.

Підготовка і стерилізація поживного середовища для вирощування посівного матеріалу в інокуляторі об'ємом 20 м³. Для виробничого біосинтезу одержати 10,20 м³ поживного середовища. Врахуємо, що у нас 1166 л (підрозділ 5.1.6) підживлювального розчину та 34 л пропанолу (піногасник), та кількість рідини для стерилізації карбонату кальцію 550 л, тоді середовище для стерилізації в УБС становить 8,5 м³.

Таку кількість середовища можна простерилізувати в УБС-10, потужністю 10 м³/год. Загальний час стерилізації поживного середовища становить $\tau = 8,5/10 \cdot 60 = 51$ хв (≈ 1 год). Розчин усіх компонентів поживного середовища (меляса, сульфат амонію, хлорид натрію та карбонат кальцію) готується в одному реакторі-змішувачі, а потім перекачуються в реактор-змішувач (об'єм 12,5 м³), що вже є елементом УБС.

Також для виробничого біосинтезу потрібен мелясно-пропаноловий підживлюючий розчин об'ємом 1166 л. Приготування та стерилізація буде здійснюватися в реакторі-змішувачі об'ємом 1,6 м³. Стерилізація карбонату кальцію буде в реакторі об'ємом 1 м³.

5.2. Обґрунтування стадій виділення й очищення цільового продукту

Культуральна рідина містить як цільовий продукт (позаклітинний антибіотик еритроміцин), так і залишки поживного середовища, продукти метаболізму та клітини продуцента. Виділення й очищення цільового продукту включає такі етапи:

- відділення біомаси;
- концентрування;
- екстракція еритроміцину;
- кристалізація;
- відділення кристалічного осаду;
- сушка.

5.2.1 Обґрунтування вибору способу відділення біомаси

Культуральна рідина після біосинтезу містить цільовий продукт – позаклітинний макролідний антибіотик EP. Для того щоб виділити його від псевдоміцеліальної маси продуцента *S. erythraea* NCIMB 8594, продуктів метаболізму, залишків поживного середовища необхідно отримати пермеат, що містить еритроміцин. З літератури можна виділити два основні методи:

1. фільтрація на фільтрах безперервної та періодичної дії [9];
2. мікрофільтрація на мембранних фільтраційних модулях [9, 53].

Принципова різниця між цими процесами полягає у тому, що при простому фільтруванні на фільтрувальній перегородці утворюється шар осаду, який забиває її

пори. При цьому продуктивність фільтрування з часом зменшується. При мембранному процесі шар осаду, тобто частинок, які за своїм розміром більші за розмір пор мембрани, не затримується на перегородці, а виноситься з апарата у вигляді концентрату [60].

Оскільки культуральна рідина актиноміцетів відноситься до рідин, що важко фільтруються, то перед проведенням фільтрування на фільтрах періодичної та безперервної дії потрібно провести її підготовку, а саме:

- теплова коагуляція при нагріванні гострою парою до температури від 98 до 100 °С;
- охолодження до 38-40 °С;
- хімічна коагуляція з використанням хлориду кальцію і гідрофосфатом амонію з доведенням рН середовища до 8,0 [9].

Наступним етапом є фільтрація, наприклад на фільтр пресах, вихід на стадії фільтрації 60 % [60]. Автоматичні фільтр-преси ФПАКМ цілком відповідають GMP. Робоча поверхня типових фільтр-пресів: 25...800 м²; тобто, вони призначені для високопродуктивних процесів. Проте цей метод має суттєві недоліки для використання у промислових масштабах:

- велика витрата хімічних реагентів на проведення хімічної коагуляції й відповідно до цього витрати на них;
- низький вихід на стадії фільтрації шляхом інактивації антибіотика при проведенні теплової та хімічної коагуляції культуральної рідини;
- велика витрата пари на проведення теплової коагуляції й відповідно витрати на його використання;
- низька швидкість фільтрації культуральної рідини, що стримує розширення виробництва;
- при проведенні теплової та хімічної коагуляції утворюється ангідроеритроміцин - продукт деградації еритроміцину, що призводить до зниження якості готового препарату й обумовлює необхідність його

перероблювання, яке пов'язана з втратами цільового продукту і використанням додаткової сировини;

- лімітувальний фактор по швидкості фільтрації є стадія промивки міцелію. Швидкість промивання міцелію в 3 рази нижче швидкості фільтрації культуральної рідини;
- утворений в результаті хімічної коагуляції наповнювач $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, близько 4000 т в рік [9].

Для спрощення технологічного процесу, зниження сировинних і енергетичних витрат шляхом виключення стадій теплової та хімічної коагуляції й в кінцевому підсумку зниження собівартості готового препарату, використовують фільтрацію культуральної рідини на мембранних мікрофільтраційних модулях. Вони складаються з керамічних фільтрувальних елементів, на внутрішню поверхню яких нанесено напівпроникну мембрану з волокнистих монокристалів карбїду кремнію з розміром пор від 0,2 до 1,0 мкм [7].

Відомо, що на напівпроникних перегородках можуть відокремлювати як дрібні частинки механічних домішок, так і окремі клітинні організми й частинки (наприклад, дріжджові клітини продуктів біосинтезу) [53, 60].

Опис технологічного процесу. На фільтрацію подають культуральну рідину, яка не піддається тепловій та хімічній коагуляції. В залежності від активності еритроміцину в культуральній рідині перед подачею на фільтрацію розбавляють водою в співвідношенні від 1:1 до 1:3, що забезпечує вищу швидкість фільтрації шляхом зниження в'язкості фільтрованого розчину. Фільтрація культуральної рідини відбувається в тангенціальному режимі (рис. 5.2) з високою лінійною швидкістю потоку фільтрованої рідини в каналі фільтраційного елементу (від 4 до 6 м/с), яка забезпечує високу швидкість фільтрації культуральної рідини, діаметр пор 0,2 мкм, температура мікрофільтрації 40 °С. У режимі тангенціальної фільтрації рідина рухається уздовж мембрани з великою швидкістю, при цьому потік рідини, що циркулює багаторазово перевищує потік фільтрату. Промивання системи фільтрації після кожної операції фільтрації культуральної рідини здійснюють в замкнутому контурі без розбору фільтрувальних елементів модулів. Ресурс фільтрувальних

елементів (без розбирання для промивання) становить 3 роки. Тривалість процесу миття і регенерації кермемичних мембран складає 30 хв [9, 53].



Рис. 5.2. Тангенціальна фільтрація на мікрофільтраційних модулях [9]

Після процесу мікрофільтрації отримують два розчини:

- *концентрат*: частинки, розмір яких більший за розмір пор, затримуються селективним шаром і накопичуються усередині циркуляційного контура. Осад, що утворюється над мембраною безперервно змивається циркуляційним потоком, швидкість якого складає 4-6 м/с;
- *пермеат*: частинки рідини й частинки, розмір яких менше розміру пор, під дією тиску (0,5-3,5 кгс/см²) проходять через мембранну поверхню фільтраційних елементів і безперервно виводяться з модуля. Дефіцит рідини в модулі заповнюється постійним підживленням новою фільтрованою рідинною [53, 60].

Для подальших розрахунків втрати ЕР на стадії мікрофільтрації приймаємо 10 %.

Висновок. застосовуючи технологію мікрофільтрації можна отримати перевагу над процесами фільтрації на фільтрах періодичної та безперервної дії, шляхом виключення теплової та хімічної коагуляції культуральної рідини:

- ✓ вищий вихід на стадії фільтрації до 90-92%;
- ✓ вища якість готового препарату внаслідок виключення утворення продукту деградації еритроміцину – ангідроеритроміцину;
- ✓ менші витрати на сировину й енерговитрати.

5.2.2. Обґрунтування вибору способу концентрування

Під час мікрофільтрації буде відбуватися процес діалізу, проте концентрування діалізованого супернатанту не відбувається. Тому після стадії

відділення біомаси доцільно проводити концентрування. При виборі способу концентрування роблять акцент не тільки на ступінь концентрування, а й на вихідну якість очищеного продукту. Щоб забезпечити процес такими показниками, варто звертати увагу на процес випарювання й ультрафільтрацію. Ультрафільтраційні установки широко використовують в фармацевтичній промисловості, проте порівнюючи з випарними установками, значним недоліком є їх висока вартість.

Також широкого застосування отримав процес випарювання. Існують різні методи, однак найчастіше використовують поверхневе випаровування, що проводиться шляхом нагрівання розчину на теплообмінній поверхні шляхом підведення теплоти до розчину через стінку теплообмінного апарата від гріючої пари. Як теплоносій застосовують водяну пару, яка в цьому випадку називається гріючою. Утворена під час випарювання розчину пара називається вторинною, її теплоту може бути використано в теплообмінних апаратах, які працюють під меншим тиском [53].

Процес випаровування для рідин, що містять антибіотики доцільно проводити при температурі 60 °С, себто процес здійснюється під вакуумом. Це дає можливість використати для обігрівання апарату пару низького тиску. Перевагою процесу випарювання від вакуумом є зменшення втрат теплоти в навколишнє середовище, а також збільшення корисної різниці температур між гріючою парою та розчином. Це дає змогу зменшити поверхню теплообміну та габарити всього вакуум-випарного апарата [53].

Існує велика різноманітність конструкцій випарних апаратів. Нині є тенденція до зменшення кількості типів і конструктивних різновидів апаратів внаслідок уніфікації вузлів та деталей. Для мікробіологічної промисловості найкращим вибором є роторно-плівковий випарник, через те, що протікає значно швидше, ніж в «традиційних» випарниках, з меншими енерговитратами та більшим коефіцієнтом виходу. Ємності роторно-плівкового випарника виготовляються з нержавіючої сталі. Основними перевагами є:

- ✓ модульність і технологічність конструкцій;
- ✓ використання великої різниці температур між що гріючою парою та

випарювальним розчином, що дозволяє повністю зберегти склад первинного продукту;

- ✓ висока теплонапруженість теплообмінної поверхні та низька металоємність конструкції;
- ✓ високий енергетичний потенціал вторинної пари;
- ✓ малий час перебування вихідного продукту в апараті при його вертикальному компонуванні – 10-30 с;
- ✓ високий ступінь випарювання [53, 61].

Отже, розглянувши різні процеси концентрування розчинів та типи апаратів, зважаючи на всі переваги, оптимальним вибором є роторно-плівковий випарний апарат.

5.2.3. Обґрунтування вибору способу екстракції еритроміцину

Існує два типи екстракції: рідинна і твердофазна. Оскільки після мікрофільтрації на екстракцію подається пермеат (рідка реакційна суміш), то доцільно застосовувати рідинну екстракцію. Основною перевагою екстракції перед іншими способами виділення цільових продуктів є низька робоча температура, як правило, кімнатна, що дуже важливо, при виділенні еритроміцину.

Екстрагування є дифузійним процесом. Рухомою силою його є різниця концентрацій цільового компонента в двох фазах, що стикаються. Цільовий компонент переміщується в сторону меншої концентрації з однієї фази в іншу [53].

Рідинна екстракція - процес вилучення одного або кількох компонентів з розчинів (реакційних мас) за допомогою селективних розчинників (екстрагентів). При взаємодії з екстрагентом у ньому добре розчиняються тільки компоненти, що вилучаються (еритроміцин), і значно слабше або зовсім не розчиняються інші компоненти. Отже, при екстракції відбувається не тільки вилучення цільової речовини, але й її очищення [61].

В результаті екстракції одержують:

- екстракт - розчин вилученої речовини;
- рафінат - відпрацьований вихідний розчин.

З літератури відомі такі способи екстракції ЕР:

- екстракція хлороформом [61], недоліком цього методу є токсичність реагенту та невелика ступінь екстракції;
- екстракція етилацетатом [61], невелика ступінь екстракції, велика розчинність в воді, летючість (великі втрати екстрагента), пожежонебезпечність.
- екстракція бутилацетатом [10, 61], недоліком цього методу є велика розчинність бутилацетату в воді (0,5 г в 100 мл), летючість (великі втрати екстрагента), пожежонебезпечність.
- екстракція тридеканолом [10].

Вибір відповідного розчинника є основною метою в будь-якому процесі екстракції. Порівняння двох основних розчинників при виділенні ЕР (табл. 5.5).

Таблиця 5.5

Порівняння двох основних розчинників при виділенні ЕР

Параметр	Бутилацетат	Тридеканол
Ступінь виділення при 20 °С і при співвідношенні об'ємів фаз 1:1, %	88	100
Втрати екстрагента при одноразовій екстракції на 100 г екстрагенту, г	0,50	0,01
Стадія реекстракції	Двухстадійна реекстракція: 1. Реекстракція водним розчином ксилоти (рН 4-8) 2. Повторна екстракція бутилацетатом 3. Повторна реекстракція розчином кислоти (рН 4-8)	Реекстракція буферним розчином з рН = 3,9 - 6,3
Вихід на стадії реекстракції, %	80	100

Примітка.* Інформація в таблиці взята з літературного джерела [10].

Потоки: С – реакційна суміш; Е – екстрагент; ЕТ – екстракт; ВФ- водна фаза; ЦБ – цитратний буфер; Р – рафінат.

Верхня межа значення рН буферного розчину для реекстракції - 6,3, визначається тим, що зі збільшенням значення рН йде зменшення ступеня реекстракції. Нижня межа значення рН буферного розчину - 3,9, визначається тим, що при більш низькому значенні рН за час реекстракції відбувається часткова інактивація еритроміцину. Оптимальним є значення рН 4,8 [10].

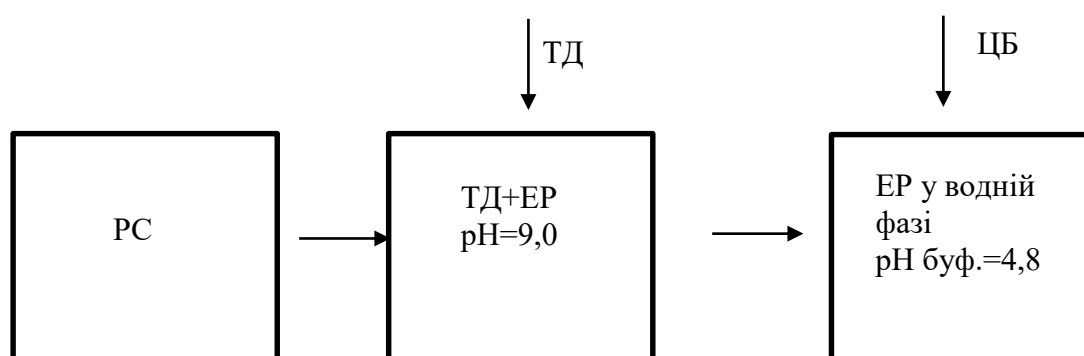


Рис. 5.4. Екстракція ЕР тридеканолом

Висновок. Для виділення ЕР з водних або нативних розчинів в якості екстрагента пропонується використовувати тридеканол. Його використання призводить до різкого зменшення втрати екстрагента при вищому ступені вилучення, ніж при використанні інших екстрагентів. Крім того, пропонований екстрагент нелеткий і не пожежонебезпечний. Завдяки цьому вдасться скоротити загальну кількість стадій процесу. Всі перераховані переваги роблять цей спосіб виділення ЕР більш безпечним і дешевим.

5.2.4. Вибір способу кристалізації

Кристалізацією називають процес виділення твердої фази у вигляді кристалів з розчинів і розплавів. Кристалізація є дифузійним процесом. Під час його здійснення відбувається масообмін між рідкою і твердою фазами. У результаті масообміну речовина переходить з рідкою фази у тверду [53].

Після екстракції екстракт перекачують у збірник для подальшої кристалізації. Отримання кристалів еритроміцину досягається доведенням рН водної фази до 10,5 внесенням 10 % розчином гідроксиду натрію. При цьому випадає осад еритроміцину. Якщо концентрація ЕР у водному розчині, що залишається (рН = 10-10,5) достатньо

велика, то її одразу направляють на стадію екстракції для вилучення по описаній схемі (див. *рис. 5.3, 5.4*); тридеканол після реекстракції відразу направляється знову на екстракцію, оскільки регенерації екстрагент не потребує. Таким чином, є можливість створити безперервний замкнутий цикл фактично без втрат ЕР [10].

Зазвичай у виробничих умовах, процес кристалізації протікає з невеликою швидкістю, кількість центрів кристалізації невелика, а в результаті утворюються великі кристали, які легше фільтруються, утримують менше вологи під час промивання та скоріше висушуються, ніж дрібні [53, 62].

Еритроміцин випадає в осад протягом 40-100 хв, температура кристалізація ± 35 °С [10]. Для подальших розрахунків втрати ЕР на стадії кристалізації приймемо 6 %.

5.2.5. Вибір технології відділення кристалів еритроміцину

Після процесу кристалізації, кристали ЕР випадають в осад, їх необхідно відділити від реакційного середовища. Найпростішим способом відділення є процес фільтрування реакційної рідини, де цільовим продуктом є осад (кристали).

Вибір фільтру. Оскільки після кристалізації, на фільтрацію надходить невелика кількість рідини, то встановлення фільтрів безперервної дії, таких як барабанний вакуум фільтр, дисковий вакуум фільтр є економічно не вигідним рішенням, через велику площу фільтрування. Статичні друк-фільтри потребують кожно серійної заміни фільтруючої перегородки, що вимагає трудомісткої ручної робота [53].

Отже, для відділення кристалів ЕР від реакційної суміші доцільно використовувати нутч-фільтри. Основні переваги використання нутч-фільтрів:

- ✓ можна обігрівати (запобігає кристалізації) або охолоджувати нутч (знижує розчинність осаду);
- ✓ досить оперативний поділ речовини на фази: тверду, рідку;
- ✓ проста конструкція, немає необхідності застосування дорогого обладнання;

досить довгий термін служби [53].

5.2.6. Обґрунтування вибору способу сушіння кристалічного осаду

Сушінням називають процес вилучення вологи з твердих, вологих,

пастоподібних та рідких матеріалів шляхом її випаровування та відводу пари, що утворюється. При цьому матеріал видаляється шляхом дифузії з внутрішніх шарів до поверхні та випаровуванням її в навколишнє середовище. Сушіння є заключним етапом обробки ЕР, для наступного транспортування і зберігання [53].

Метою цього процесу є підвищення стійкості матеріалів під час зберігання, поліпшення якісних показників, зменшення маси з метою транспортування. Вологу з матеріалів можна видалити різними способами: механічним, фізико-хімічним і тепловим. Механічні та фізико-хімічні використовують переважно в лабораторній практиці. При тепловому способі волога випаровується з поверхні матеріалу і дифундує в навколишнє повітря, яке видаляє вологу з сушарки. Із цього випливає, що сушіння називають тепловий процес, при якому вологість зменшується [60, 61].

Зважаючи на великий обсяг сушильних апаратів, розглянемо ряд факторів. В основному, властивості матеріалу, який сушиться, а саме:

- час сушіння;
- агрегатний стан;
- температура нагріву яка допускається;
- токсичність, забруднення та ін [53].

Крім того, важливо розглянути рівномірність сушіння, вимоги до системи пиловловування.

Порушення структури кристалів відбувається при температурі 191 °С [11]. Якщо тривалість дії сушильного агента температури 110-120 °С не більше 45 хвилин, то це не впливає на антибактеріальну дію еритроміцину.

Конвективні сушарки найбільш поширений тип сушильних апаратів, що використовують. Прикладом конвективної сушарки є камерні. Вони універсальні, прості, однак внаслідок сушіння в нерухомому товстому шарі сушарки мають низьку продуктивність. У сушарках стрічкового типу сушіння матеріалу проводиться безперервно при атмосферному тиску. Проте сушарки цього типу відносно громіздкі та мають невисоку продуктивність [53].

При сушінні з псевдозрідженим шаром збільшується поверхня контакту фаз і

за рахунок цього – скорочення палива. Тепловтрати від стінок обмежені зоною киплячого шару, висота якої 1000-1500 мм., температура стінок в зоні дорівнює температурі киплячого шару) приблизно 120-150 °С). Також важливо відмітити, що максимальна одинична потужність установок киплячого шару в 1,2-1,5 разів більша, ніж в барабанних сушарках. При виборі установок киплячого шару відбувається суттєве зниження металоємності і вартості апаратів, зменшення виробничої площі, простота автоматизації та регулювання [53].

Область допустимих розмірів частинок матеріалу, що сушиться в киплячому шарі, знаходиться в межах 100-150 мкм, а область оптимальних розмірів починається вище, приблизно від 500 мкм [53, 61].

Тому, зважаючи на переваги сушарок з псевдозрідженим станом, їх варто використовувати при сушінні кристалів еритроміцину.

Вибір обладнання для післяферментаційних процесів

Для відділення біомаси та концентрування пермеату передбачаємо встановлення модульної установки BTS-CMS-MF (рис. 5.5) продуктивністю до 16 м³, країна виробник Велика Британія.

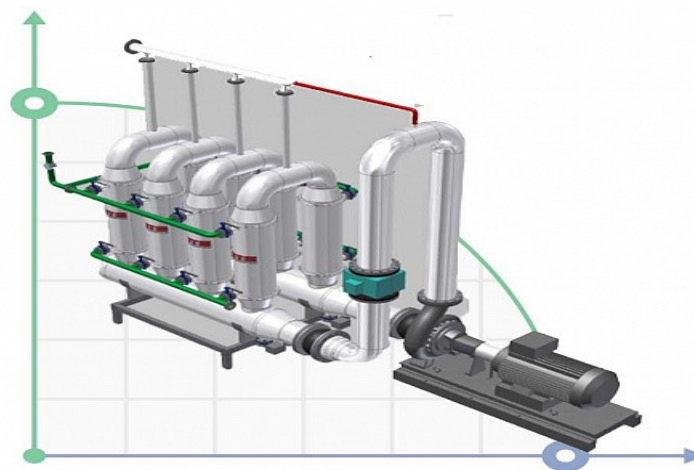


Рис. 5.5. Модульна установка BTS-CMS-MF [63]

Фільтраційний модуль складається кількох фільтраційних апаратів, циркуляційного відцентрового насоса, живлячого насоса, теплообмінного пристрою, вхідного і вихідного колекторів, несучої рами, вентилів, манометрів, витратомірів, сполучної арматури, силового пульта [63].

Принцип роботи. Побудований за принципом циркуляційної петлі для

створення режиму фільтрації в поперечному потоці (тангенціальна фільтрація). Фільтрована рідина подається в модуль живлячим насосом. У середині модуля фільтрована рідина під дією циркуляційного насоса безперервно прокачується по циркуляційному контуру, що створюється сполученими послідовно декількома фільтраційними апаратами, теплообмінником і циркуляційним насосом [53, 63].

Тобто під дією тиску частина рідини проходить через мембрану (пермеат) і віддається з установки. Концентрат послідовно проходить через усі фільтраційні модулі з відведенням пермеату від кожного модуля. Система управління дозволяє експлуатувати установку в автоматичному режимі [53, 63].

Після відділення біомаси, пермеат потрібно концентрувати. Для цього використовують роторно-плівковий випарний апарат Реору, країна виробниц Китай.

Принцип роботи (рис. 5.6). Всередині грючої камери 3, яка оточена нагрівальною паровою оболонкою 4, є ротор 5 з лопатями 6. Ротор приводиться в обертання з частотою 1-3 с⁻¹. Надходячи в апарат, розчин розбризкується диском 2, що обертається разом з валом ротора, настінки корпусу апарату і стікає у вигляді тонкої плівки під дією сили тяжіння. Під час стікання розчин концентрується внаслідок випаровування розчинника. Вторинна пара виходить з апарата через сепаратор 1. Проміжок між лопаттю і стінкою апарата становить 0,4-1,5 мм. Час перебування рідини в апараті становить 10-30 с [53]

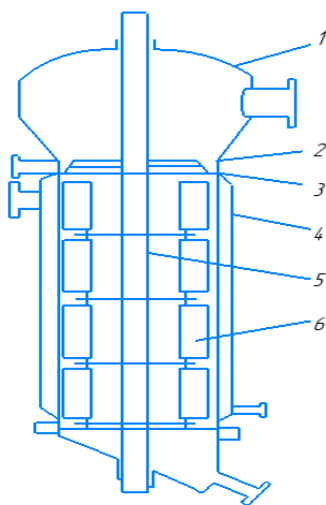


Рис. 5.6. Роторно-плівковий випарний апарат

Концентрат надходить на стадію екстракції. Для екстракції ЕР

використовують багатоступеневий змішувально-відстійний екстрактор. Приблизний об'єм реакційної суміші на стадії екстракції становить: $5620+5620+10 = 11250$ л. Тому передбачаємо встановлення багатоступеневі змішувача-відстійника-PLANT продуктивністю 8000 л/год (сума обох фаз) компанії De dietrich (Франція) (рис. 5.7) [64].



Рис. 5.7. Двохступеневий змішувально-відстійний екстрактор [64]

Після екстракції отриманий розчин надходить до реактора-змішувача для проведення кристалізації. Передбачаємо встановлення реактора-змішувача, фірми De dietrich (Франція) об'ємом $12,5 \text{ м}^3$, габаритні розміри (мм): $d = 1800$; $h = 2700$; матеріал - полірована обшивка з нержавіючої сталі 316L, оптимізація перемішування Glaslock, оснащений паровою сорочкою, перемішуючий пристрій до 150 об/хв [65].

По закінченню етапу кристалізації, EP випадає в осад у вигляді кристалів, які потрібно відділити від суміші. На фільтрацію надходить 7741 л реакційної рідини, тому передбачаємо встановлення нутч-фільтру FNB-3S Filter Dryer 8 м^3 , фірми «Bachiller» (Іспанія) (рис. 5.8) [66].



Рис. 5.8. Нутч-фільтр FNB-3S Filter Dryer 8 м^3 [66]

Особливість нутч-фільтра. Робота під надлишковим тиском. У складі конструкції - корпус з сорочкою, знімна кришка і дно. Перегородка для фільтрації знаходиться на опорній решітці. В її якості можуть виступати перфоровані листи, шари волокон або захисна сітка. Вище фільтрувальної перегородки знаходиться друга перегородка - кільцева. Вона підтримує осад під час вивантаження. Дно може повертатися і опускатися таким чином, щоб видаляти осад з перегородки було максимально зручно. Нутч-фільтр обладнується штуцерами, які видаляють фільтрат, а також подають в фільтр повітря і суспензію. Важлива деталь фільтра - запобіжний клапан, який не дозволяє тиску підійматися вище допустимих значень. Фільтрація при підвищеній температурі знижує в'язкість фільтрату і збільшує продуктивність фільтра. Для підвищення температури сорочку найчастіше наповнюють насиченим паром [66, 67].

Після того як кристали еритроміцину відфільтрували від реакційної суміші, продукт необхідно висушити до залишкової вологи $W = 4-5 \%$.

Для сушіння напівпродукту передбачаємо встановлення сушарки з киплячим (псевдозрідженим) шаром продуктивністю 8 л, компанії «STE» (Іспанія) (рис. 5.9). Сушарки цієї компанії дозволено використовувати відповідно до GMP, EHEDG та FDA. Основні характеристики:

- вбудований AISI 316L, дзеркально полірований $Ra < 0,5$;
- PCL + HMI в ручному та автоматичному режимах, з редагуванням програм;
- стійкість до тиску 12 бар [68].



Рис. 5.9. Сушарка з киплячим (псевдозрідженим) шаром компанії STE [68]

Принцип роботи (рис. 5.10). Вологий матеріал шнековим живильником (ШЖ),

подається в шар продукту, що «кипить» на газороздільній решітці в апараті з киплячим шаром (АКШ). Атмосферне повітря подається газодувкою (ГД) в калорифер (К), де нагрівається шляхом конденсації грючої пари до температури 150 °С, а потім надходить під решітку (АКШ). Повітря виходить з великою швидкістю з отворів газорозподільної решітки. Нагріте повітря змушує кристали еритроміцину перейти в псевдозріджений стан та висушує його. Сухий продукт безперервно вивантажується дозатором (Д) на стрічковий транспортер (СТ). Відпрацьоване повітря очищується в циклоні (Ц). Пил вивантажується з циклону та разом з сухим матеріалом, як готовий продукт, подається стрічковим транспортером на склад або на подальшу переробку [53, 68].

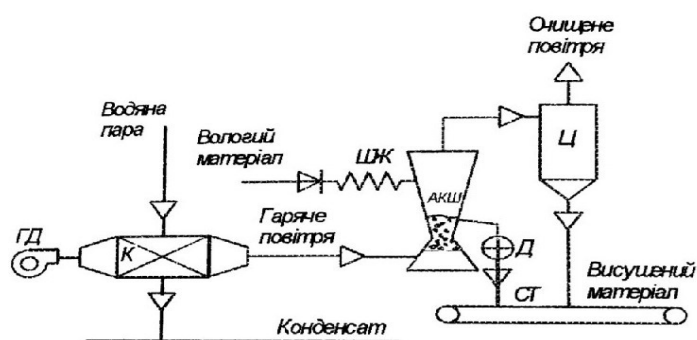


Рис. 5.10. Принципова схема сушарки з киплячим шаром [53, 68]

5.3. Обґрунтування вибору упаковки для готового продукту

Порошок еритроміцину має слабо гігроскопічні властивості [11]. Відповідно до НД повинен бути білого або білого з жовтуватим відтінком кольору. Особливі умови до зберігання є захист від фізичних та хімічних чинників.

Оптимальним рішенням є подвійні пакети, зварені по шву, з поліетиленової плівки товщиною не менше 0,05 мм або з комбінованих плівок (ВОРА (Viaxis)) з поліетиленовим покриттям товщиною не менше 0,05 мм. Фасувати субстанції потрібно по 1 кг та зберігати захищеному від світла місці, при температурі не вище 25 °С, в герметичній упаковці. Для легкості транспортування поліетиленові пакети фасують у волокнисті барабани (*рис. 5.11*) [69, 70].



Рис. 5.11. Вторинна упаковка для транспортування ЕР [69]

РОЗДІЛ 6. ПРОДУКТОВИЙ РОЗРАХУНОК, МАТЕРІАЛЬНИЙ БАЛАНС НА ПАРТІЮ ГОТОВОГО ПРОДУКТУ, РОЗРАХУНОК ТЕХНОЛОГІЧНОГО ОБЛАДНАННЯ

Згідно з ТЕО потреба в субстанції антибіотика еритроміцину складає $G_{нт} = 192$ кг. За умовами замовника цю кількість антибіотика потрібно виробити за $T_{рд} = 250$ днів. За даними [7, 8] максимальний синтез антибіотика ($P_{кр} = 0,8$ г/л за 144 год) досягається за умов росту штаму *S. erythraea* NCIMB 8594 при концентрації біомаси $X_{кр} = 10,2$ г/л на середовищі такого складу (г/л): меляса – $C_1 = 60,0$; пропанол – $C_2 = 10,0$ мл; карбонат кальцію – $C_3 = 5,0$; кукурудзяний екстракт – $C_4 = 4,0$; хлорид натрію – $C_5 = 2,5$; сульфат амонію – $C_6 = 2,0$. Всього – $C_{\Sigma\phi} = 83,5$ г/л. Посівний матеріал вирощують на поживному середовищі такого складу (г/л): меляса – $C_1 = 30,0$; карбонат кальцію – $C_2 = 5,0$; кукурудзяний екстракт – $C_3 = 4,0$; хлорид натрію – $C_4 = 2,5$; сульфат амонію – $C_5 = 2,0$. Всього – $C_{\Sigma\phi 2} = 43,5$ г/л.

Відповідно до нормативно-технічної документації вміст сухих речовин в готовому продукті СРгп має складати не менше 94%. Для подальших розрахунків приймаємо наступні початкові дані: час циклу роботи ферментера $T_{цф} = T_{\phi} + T_{по} = 144 + 8 = 152$ год, де $T_{по}$ – час підготовчих операцій (див. додаток 3); коефіцієнт запасу (втрати культуральної рідини або посівного матеріалу від нестерильних операцій 1,1-1,5) $K_1 = 1,1$; коефіцієнт заповнення ферментера, частка, (0,5 - 0,65); приймаємо $K_{з\phi} = 0,6$; коефіцієнт заповнення посівного апарата, частка $K_{па} = 0,6$; коефіцієнт заповнення інокулятора, частка $K_{ін} = 0,6$; коефіцієнт заповнення колб, частка $K_{кол} = 0,2$; коефіцієнт заповнення збірника, частка (0,7-0,8) $K_{зб} = 0,8$.

Сумарні втрати при виділенні готового продукту (сума всіх втрат на стадіях виділення готового продукту), частка $E_{св} = 0,3$; кількість посівного матеріалу для виробничих ферментерів, частка (0,05-0,1) $X_{\phi} = 0,1$; для посівного апарату, частка (0,02-0,1) $X_{па} = 0,1$; для інокуляторів, частка (0,02-0,1) $X_{ін} = 0,1$; для качалочних колб,

					НУХТ БТЕК 04.03.05. КР ПЗ			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розробив		Міщук А.П.			РОЗДІЛ 6. МАТЕРІАЛЬНИЙ БАЛАНС І РОЗРАХУНОК ОБЛАДНАННЯ	Лім.	Арк.	Аркуші
Керівник		Буценко Л.М.					74	182
Консультант						Кафедра БТМ		
Зав. каф.		Пирог Т.П.						

частка (0,02-0,1); $X_{\text{кол}}=0,1$; втрати культуральної рідини при біосинтезі, частка (0,1-0,2) $E_{\text{ф}} = 0,15$; втрати посівного матеріалу у процесі його культивування в посівному апараті, частка (0,1-0,2) $E_{\text{па}} = 0,15$; в інокуляторах, частка (0,05-0,1) $E_{\text{ін}} = 0,1$; втратою під час вирощування в колбах на качалках через їх незначну кількість нехтуємо.

Розрахунок партій продукту (виробничих циклів)

Кількість продукту на добу, $G_{\text{нтд}} = G_{\text{нт}}/T_{\text{рд}} = 192/250 = 0,77$ кг / добу

Кількість антибіотика за цикл, $G_{\text{цк}} = G_{\text{пд}} \cdot T_{\text{цф}}/24 = 0,77 \cdot 152 / 24 = 4,88$ кг/цикл

Об'єм КР, що зливається за одну ферментацію (циклу) з урахуванням втрат за виробничий цикл ($E_{\text{св}}$) $V_{\text{кр}} = K_1 \cdot G_{\text{цк}} \cdot \text{CP}_{\text{гп}}/P_{\text{кр}}(1-E_{\text{св}}) = 1,1 \cdot 4,88 \cdot 0,94/0,8 \cdot (1-0,3) = 9,01$ м³.

Кількість ферментацій (циклів) на рік $N_{\text{цк}} = G_{\text{нт}}/G_{\text{цк}} = 192/4,88 = 39,35$.

Округлюємо кількість циклів до цілого $N_{\text{цк}} = 40$.

Приготування та стерилізація поживних середовищ для виробничого культивування та вирощування посівного матеріалу

Приготування та стерилізація поживного середовища для виробничого біосинтезу

Кількість поживного середовища (ПС) та посівного матеріалу (ПМ) в ферментері до культивування становить:

$$V_{\text{ф}} = V_{\text{кр}}/(1-E_{\text{ф}}) = 9\,010/(1-0,15) = 10600 \text{ л.}$$

Кількість поживного середовища в ферментері складе:

$$V_{\text{псф}} = V_{\text{ф}}/(1+X_{\text{ф}}) = 10\,600/(1+0,1) = 9636,4 \text{ л} = 9,64 \text{ м}^3.$$

Необхідна кількість посівного матеріалу для засіву ферментера:

$$V_{\text{пмф}} = V_{\text{ф}} - V_{\text{псф}} = 10\,600 - 9\,636,36 = 963,64 \text{ л.}$$

При вибраному коефіцієнті заповнення ферментера $K_3 = 0,6$ його приблизний геометричний об'єм ферментера складе $V_{\text{гф}} = V_{\text{ф}}/K_3 = 10,6/0,6 = 17,67 \text{ м}^3$.

Найближчий за геометричним об'ємом ферментер об'ємом 20 м³ [44].

Визначаємо кількість стадій вирощування посівного матеріалу

Оскільки кількість посівного матеріалу становить $X_{\text{ф}} = X_i = X_{\text{колб}} = 10\%$ від кількості поживного середовища визначаємо кількість посівного матеріалу для інших стадій.

Приблизна кількість посівного матеріала для інших стадій становитиме:

Посівний матеріал з інокулятора геометричним об'ємом $V_{ін} = 2 \text{ м}^3$

$$V_{пмф} = 964 \text{ л} \quad V_{ін} = V_{пмф}/K_3 = 0,964/0,6 = 1,6 \text{ м}^3$$

За додатком 4 обираємо інокулятор геометричним об'ємом 2 м^3

Посівний матеріал з інокулятора геометричним об'ємом $V_{ін} = 0,16 \text{ м}^3$

$$V_{пін1} = V_{пмф} \cdot X_{ін} = 964 \cdot 0,1 = 96,4 \text{ л} \quad V_{ін} = V_{пін1}/K_3 = 96,4/0,6 = 160,7 \text{ л}$$

Обираємо інокулятор геометричним об'ємом $0,16 \text{ м}^3$ [44].

Посівний матеріал з інокулятора геометричним об'ємом 20 л

$$V_{пін2} = V_{пін1} \cdot X_{ін} = 96,4 \cdot 0,1 = 9,64 \text{ л} \quad V_{ін} = V_{пін2}/K_3 = 9,64/0,6 = 16,01 \text{ л}$$

Обираємо інокулятор геометричним об'ємом 20 л [44].

Посівний матеріал з качалочних колб $V_{пмк} = V_{пін2} \cdot X_{ін} = 9,64 \cdot 0,1 = 0,964 \text{ мл}$;

Всього колб – $n_{колб} = V_{пмк}/V_{колб} \cdot K_{3колб} = 0,964/0,75 \cdot 0,2 = 7 \text{ колб}$.

Отже, підготовка посівного матеріала включатиме 4 стадії.

Приготування та стерилізація поживного середовища для виробничого біосинтезу в ферментері геометричним об'ємом 20 м^3

Згідно з прийнятим складом поживного середовища для виробничого біосинтезу загальні витрати компонентів на визначений об'єм поживного середовища $V_{пс}$ складають:

$$G_{заг} = V_{псф} \cdot C_{\Sigmaф} = 9,64 \cdot 83,5 = 805 \text{ кг, в тому числі, кг або л:}$$

$$\text{Меляса} \quad G_1 = G_{ф} \cdot C_1 / C_{\Sigmaф} = 805 \cdot (60,0/83,5) = 578,4$$

$$\text{Пропанол} \quad G_2 = G_{ф} \cdot C_2 / C_{\Sigmaф} = 805 \cdot (10,0/83,5) = 96,4$$

$$\text{Карбонат кальцію} \quad G_3 = G_{ф} \cdot C_3 / C_{\Sigmaф} = 805 \cdot (5,0/83,5) = 48,2$$

$$\text{Кукурудзяний екстракт} \quad G_4 = G_{ф} \cdot C_4 / C_{\Sigmaф} = 805 \cdot (4,0/83,5) = 38,6$$

$$\text{Хлорид натрію} \quad G_5 = G_{ф} \cdot C_5 / C_{\Sigmaф} = 805 \cdot (2,5/83,5) = 24,1$$

$$\text{Сульфат амонію} \quad G_6 = G_{ф} \cdot C_6 / C_{\Sigmaф} = 805 \cdot (2,0/83,5) = 19,3$$

Оскільки, карбонат кальцію стерилізуємо окремо, то розрахуємо $V_{пск}$:

$$V_{пск} = G_3 / C_{\Sigmaф} = 48,2/83,5 = 0,577 \text{ м}^3 = 577 \text{ л}$$

Стерилізація карбонату кальцію буде здійснюватися в окремому реакторі гострою парою, приймаємо $K_{кон} = 0,1$, тоді загальна кількість конденсату становитиме:

$$V_k = V_{\text{пск}} \cdot K_{\text{кон}} = 577 \cdot 0,1 = 57,7 \text{ л}$$

Загальна кількість води, необхідної для розбавлення карбонату кальцію, буде становити:

$$V_v = V_{\text{пск}} - V_k - G_3 = 577 - 57,7 - 48,2 = 471,1 \text{ л.}$$

Табл. 6.1

Склад композицій для стерилізації карбонату кальцію

Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	Кількість для приготування 577 л середовища, кг (л)	Композиція	Об'єм композиції, V, л
CaCO ₃	5,0	48,2	Б	577
Вода		471,1		
Конденсат		57,7		
Разом:		577		577

Розрахунок розчину для підживлення

Необхідна кількість розчину для підживлення який містить 30 г/л меляси у перерахунок на кількість поживного середовища виробничого культивування буде становити:

Потрібно визначити загальну кількість меляси для підживлення:

$$D_1 = 30 \cdot 9,64 = 289,2 \text{ кг меляси.}$$

Пропанолу в середовищі для виробничого біосинтезу 1 % (об'єм.) – 96,4 л. Для покращення виробничого біосинтезу візьмемо 2/3 частини пропанолу – 64,2 л і 1/3 для піногасіння – V_п – 32,2 л.

Концентрація субстрату у підживлюючому розчині, враховуючи, що вона не повинна перевищувати 40 %. Для даного підживлюючого розчину приймаємо концентрацію 30 %, тоді кількість розчину буде становити:

$$G_p = 100 \cdot (289,2 + 64,2) / 30 = 1178 \text{ л розчину.}$$

Стерилізація мелясно-пропанолового розчину буде здійснюватися в окремому

реакторі гострою парою, приймаємо $K_{\text{кон}} = 0,1$, тоді загальна кількість конденсату становитиме:

$$V_k = V_{\text{пск}} \cdot K_{\text{кон}} = 1178 \cdot 0,1 = 117,8 \text{ л}$$

Отже, $V_{\text{пж}} = V_k + G_p = 1295,8$

Швидкість підживлення буде становити:

$$V = 1178 \cdot 10 / (132 - 72) = 196,3 \text{ л на кожні 10 годин}$$

Приготування і стерилізацію підживлювального м'ясно-пропанолового розчину (289,2 кг м'яса, 64,2 л пропанолу та 824,6 л води). Приблизний геометричний об'єм реактора при заданому $K_{\text{зб}} = 0,6$: $V_p = V_{\text{пж}} / K_{\text{зб}} = 1,3 / 0,6 = 2,1 \text{ м}^3$.

Табл. 6.2

Склад композицій для стерилізації підживлювального розчину

Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	Кількість для приготування 9,64 м ³ середовища, кг (л)	Об'єм композиції, V, л
Пропанол	6,67	64,2	1295,8
М'яса	30,0	289,2	
Вода		824,6	
Конденсат		117,8	
Разом:		1296	1296

Стерилізація в УБС

Кількість середовища яке необхідно простерилізувати в УБС:

$$V_{\text{псубс}} = V_k - V_{\text{пж}} - V_{\text{п}} - V_{\text{пск}} = 9640 - 1296 - 32,2 - 577 = 7735 \text{ л} = 7,74 \text{ м}^3.$$

Згідно з прийнятим складом загальні витрати компонентів на визначений об'єм поживного середовища становлять:

$$G_{\text{убс}} = G_{\text{заг}} - G_2 - G_3 - (G_1/2) = 803,5 - 96,4 - 48,2 - (578,4/2) = 369,7.$$

Тоді загальна кількість конденсату, що утворюється при стерилізації ПС в УБС становитиме:

$$V_k = V_{\text{псф}} \cdot K_{\text{кон}} = 7,74 \cdot 0,2 = 1,55 \text{ м}^3.$$

Загальна кількість води, необхідної для розбавлення компонентів поживного середовища, буде:

$$V_{\text{в}} = V_{\text{псубс}} - V_{\text{к}} - G_{\text{убс}} = 7740 - 1550 - 369,7 = 5820 \text{ л.}$$

Оскільки об'єм поживного середовища для виробничого ферментера (без конденсату) становить $V_{\text{пс}} = 7,74 \text{ м}^3$, приймаємо рішення щодо використання для стерилізації УБС потужністю $10 \text{ м}^3/\text{год}$.

Для спрощення розрахунків приймемо, що густина компонентів приблизно дорівнює густині води, тобто $1 \text{ л} = 1 \text{ кг}$.

Розраховуємо кількість води для розчинення покомпонентно, л:

Меляса $V_{1\text{в}} = V_{\text{в}} \cdot (C_1 / C_{\Sigma\phi}) = 5820 \cdot (30,0 / 38,5) = 4535,1$

Кукурудзяний екстракт $V_{4\text{в}} = V_{\text{в}} \cdot (C_4 / C_{\Sigma\phi}) = 5820 \cdot (4,0 / 38,5) = 604,7$

Хлорид натрію $V_{5\text{в}} = V_{\text{в}} \cdot (C_5 / C_{\Sigma\phi}) = 5820 \cdot (2,5 / 38,5) = 377,9$

Сульфат амонію $V_{6\text{в}} = V_{\text{в}} \cdot (C_6 / C_{\Sigma\phi}) = 5820 \cdot (2,0 / 38,5) = 302,3$

Всього: 5820 л

Табл. 6.3

Склад композицій для стерилізації в УБС

Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	Кількість для приготування $7,74 \text{ м}^3$ середовища, кг (л)	Композиція	Об'єм композиції, V, л
Меляса	30,0	289,2		7741
Кукурудзяний екстракт	4,0	38,6		
NaCl	2,5	24,1		
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	2,0	19,3		
Вода		5820		
Конденсат		1550		

1	2	3	4	5
Разом:		7741		7741

В табл. 6.4 підведені підсумки матеріального балансу для виробничого біосинтезу

Табл. 6.4

Склад композицій для виробничого біосинтезу

Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	Кількість для приготування 9,64 м ³ середовища, кг (л)	Об'єм композиції, V, л
1	2	3	4
Композиції для стерилізації в УБС			
Меляса	30,0	289,2	7741
Кукурудзяний екстракт	4,0	38,6	
NaCl	2,5	24,1	
(NH ₄) ₂ SO ₄	2,0	19,3	
Вода		5820	
Конденсат		1550	
Компоненти для приготування підживлювального розчину			
Меляса	30,0	289,2	1296
Пропанол	6,67	64,2	
Вода		824,6	
Конденсат		117,8	
Піногасник			
Пропанол	3,33	32,2	32,2
Стерилізація карбонату кальцію			

1	2	3	4
CaCO ₃	5,0	48,2	577
Вода		471,1	
Конденсат		57,7	
Разом:		9646	9646

Приготування та стерилізація поживного середовища для вирощування посівного матеріалу в інокуляторі геометричним об'ємом 2 м³

Кількість поживного середовища та посівного матеріалу в інокуляторі становить:

$$V_{\text{па}} = V_{\text{пмф}} / (1 - E_{\text{па}}) = 0,964 / (1 - 0,15) = 1,134 \text{ м}^3 = 1134 \text{ л.}$$

Кількість поживного середовища в посівному апараті становить:

$$V_{\text{пспа}} = V_{\text{па}} / (1 + X_{\text{па}}) = 1134 / (1 + 0,1) = 1,031 \text{ м}^3 = 1031 \text{ л.}$$

Необхідна кількість посівного матеріалу для засіву посівного апарата:

$$V_{\text{пммін}} = V_{\text{па}} - V_{\text{пспа}} = 1134 - 1031 = 103 \text{ л.}$$

Згідно з прийнятим складом загальні витрати компонентів на визначений об'єм поживного середовища $V_{\text{псап}}$ становлять:

$$G_{\text{заг}} = V_{\text{пспа}} \cdot C_{\Sigma} = 1,031 \cdot 43,5 = 44,85 \text{ кг, в тому числі, кг:}$$

Меляса $G_1 = G_{\text{заг}} \cdot C_1 / C_{\Sigma\text{ф}2} = 44,85 \cdot (30,0 / 43,5) = 30,93$

Карбонат кальцію $G_3 = G_{\text{заг}} \cdot C_2 / C_{\Sigma\text{ф}2} = 44,85 \cdot (5,0 / 43,5) = 5,16$

Кукурудзяний екстракт $G_4 = G_{\text{заг}} \cdot C_3 / C_{\Sigma\text{ф}2} = 44,85 \cdot (4,0 / 43,5) = 4,13$

Хлорид натрію $G_5 = G_{\text{заг}} \cdot C_4 / C_{\Sigma\text{ф}} = 44,85 \cdot (2,5 / 43,5) = 2,57$

Сульфат амонію $G_6 = G_{\text{заг}} \cdot C_5 / C_{\Sigma\text{ф}2} = 44,85 \cdot (2,0 / 43,5) = 2,06$

Стерилізація компонентів в композиціях буде здійснюватися в окремих реакторах гострою парою, приймаємо $K_{\text{кон}} = 0,1$, тоді загальна кількість конденсату становитиме:

$$V_{\text{к}} = V_{\text{пспа}} \cdot K_{\text{кон}} = 1031 \cdot 0,1 = 103,1 \text{ л}$$

Загальна кількість води, необхідної для розбавлення компонентів поживного середовища, буде становити:

$$V_B = V_{\text{пспа}} - V_K - G_{\text{заг}} = 1031 - 103,1 - 44,85 = 883,05 \text{ л.}$$

Розраховуємо кількість води для розчинення покомпонентно, л:

Меляса	$V_{1B} = V_B \cdot (C_1 / C_{\Sigma\phi 2}) = 883,05 \cdot (30,0 / 43,5) = 609$
Карбонат кальцію	$V_{2B} = V_B \cdot (C_2 / C_{\Sigma\phi 2}) = 883,05 \cdot (5,0 / 43,5) = 101,5$
Кукурудзяний екстракт	$V_{3B} = V_B \cdot (C_3 / C_{\Sigma\phi 2}) = 883,05 \cdot (4,0 / 43,5) = 81,2$
Хлорид натрію	$V_{4B} = V_B \cdot (C_4 / C_{\Sigma\phi 2}) = 883,05 \cdot (2,5 / 43,5) = 50,75$
Сульфат амонію	$V_{5B} = V_B \cdot (C_5 / C_{\Sigma\phi 2}) = 883,05 \cdot (2,0 / 43,5) = 40,6$

Розраховуємо кількість конденсату покомпонентно, л

Меляса	$V_{1K} = V_K \cdot (C_1 / C_{\Sigma\phi 2}) = 103,1 \cdot (30,0 / 43,5) = 71,10$
Карбонат кальцію	$V_{2K} = V_K \cdot (C_2 / C_{\Sigma\phi 2}) = 103,1 \cdot (5,0 / 43,5) = 11,85$
Кукурудзяний екстракт	$V_{3K} = V_K \cdot (C_3 / C_{\Sigma\phi 2}) = 103,1 \cdot (4,0 / 43,5) = 9,48$
Хлорид натрію	$V_{4K} = V_K \cdot (C_4 / C_{\Sigma\phi 2}) = 103,1 \cdot (2,5 / 43,5) = 5,93$
Сульфат амонію	$V_{5K} = V_K \cdot (C_5 / C_{\Sigma\phi 2}) = 103,1 \cdot (2,0 / 43,5) = 4,74$

Формування композиції:

Таблиця 6.5

Склад композицій для стерилізації середовища для вирощування посівного матеріалу в посівному апараті об'ємом 2 м³

Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	Кількість для приготування 1,031 м ³ середовища, кг (л)	Композиція	Об'єм композиції, V, л
Меляса	30,0	30,93	А	152,53
кукурудзяний екстракт	4,0	4,13		
Вода		105,18		
Конденсат		12,29		
(NH ₄) ₂ SO ₄	2,0	2,06		

1	2	3	4	5
NaCl	2,5	2,57	Б	759,96
Вода		676,5		
Конденсат		78,83		
CaCO ₃	5,0	5,16	В	118,51
Вода		101,5		
Конденсат		11,85		
Разом:		1031		1031

Приготування та стерилізація поживного середовища для вирощування посівного матеріалу в інокуляторі геометричним об'ємом 0,16 м³

Кількість поживного середовища та посівного матеріалу в інокуляторі становить:

$$V_{\text{ін}} = V_{\text{пммін}} / (1 - E_{\text{ін}}) = 103 / (1 - 0,1) = 114,44 \text{ л.}$$

Кількість поживного середовища в інокуляторі становить:

$$V_{\text{псін}} = V_{\text{ін}} / (1 + X_{\text{ін}}) = 114,44 / (1 + 0,1) = 104,04 \text{ л.}$$

Необхідна кількість посівного матеріалу для інокулятора:

$$V_{\text{пмін}} = V_{\text{ін}} - V_{\text{псін}} = 114,44 - 104,04 = 10,4 \text{ л.}$$

Згідно з прийнятим складом загальні витрати компонентів на визначений об'єм поживного середовища $V_{\text{псап}}$ становлять:

$$G_{\text{заг}} = V_{\text{псін}} \cdot C_{\Sigma} = 104,04 \cdot 43,5 = 4526 \text{ г, в тому числі покомпонентно, г:}$$

М'яса $G_1 = G_{\text{заг}} \cdot C_1 / C_{\Sigma\phi 2} = 4526 \cdot (30,0 / 43,5) = 3121,4$

Карбонат кальцію $G_3 = G_{\text{заг}} \cdot C_2 / C_{\Sigma\phi 2} = 4526 \cdot (5,0 / 43,5) = 520,2$

Кукурудзяний екстракт $G_4 = G_{\text{заг}} \cdot C_3 / C_{\Sigma\phi 2} = 4526 \cdot (4,0 / 43,5) = 416,2$

Хлорид натрію $G_5 = G_{\text{заг}} \cdot C_4 / C_{\Sigma\phi} = 4526 \cdot (2,5 / 43,5) = 260,1$

Сульфат амонію $G_6 = G_{\text{заг}} \cdot C_5 / C_{\Sigma\phi 2} = 4526 \cdot (2,0 / 43,5) = 208,1$

Стерилізація компонентів в композиціях буде здійснюватися в окремих реакторах гострою парою, приймаємо $K_{\text{кон}} = 0,1$, тоді загальна кількість конденсату

становитиме:

$$V_k = V_{\text{псін}} \cdot K_{\text{кон}} = 104,04 \cdot 0,1 = 10,4 \text{ л}$$

Загальна кількість води, необхідної для розбавлення компонентів поживного середовища, буде становити:

$$V_v = V_{\text{псін}} - V_k - G_{\text{заг}} = 104,04 - 10,4 - 4,526 = 89,11 \text{ л.}$$

Розраховуємо кількість води для розчинення покомпонентно, л:

Меляса $V_{1в} = V_v \cdot (C_1 / C_{\Sigma\phi 2}) = 89,11 \cdot (30,0/43,5) = 61,46$

Карбонат кальцію $V_{2в} = V_v \cdot (C_2 / C_{\Sigma\phi 2}) = 89,11 \cdot (5,0/43,5) = 10,24$

Кукурудзяний екстракт $V_{3в} = V_v \cdot (C_3 / C_{\Sigma\phi 2}) = 89,11 \cdot (4,0/43,5) = 8,19$

Хлорид натрію $V_{4в} = V_v \cdot (C_4 / C_{\Sigma\phi 2}) = 89,11 \cdot (2,5/43,5) = 5,12$

Сульфат амонію $V_{5в} = V_v \cdot (C_5 / C_{\Sigma\phi 2}) = 89,11 \cdot (2,0/43,5) = 4,10$

Розраховуємо кількість конденсату покомпонентно, л:

Меляса $V_{1к} = V_k \cdot (C_1 / C_{\Sigma\phi 2}) = 10,4 \cdot (30,0/43,5) = 7,17$

Карбонат кальцію $V_{2к} = V_k \cdot (C_2 / C_{\Sigma\phi 2}) = 10,4 \cdot (5,0/43,5) = 1,19$

Кукурудзяний екстракт $V_{3к} = V_k \cdot (C_3 / C_{\Sigma\phi 2}) = 10,4 \cdot (4,0/43,5) = 0,96$

Хлорид натрію $V_{4к} = V_k \cdot (C_4 / C_{\Sigma\phi 2}) = 10,4 \cdot (2,5/43,5) = 0,60$

Сульфат амонію $V_{5к} = V_k \cdot (C_5 / C_{\Sigma\phi 2}) = 10,4 \cdot (2,0/43,5) = 0,48$

Формування композиції:

Таблиця 6.6

Склад композицій для стерилізації середовища для вирощування посівного матеріалу в інокуляторі 0,16 м³

Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	Кількість для приготування 104,04 л середовища, кг (л)	Композиція	Об'єм композиції, V, л
1	2	3	4	5
Меляса	30,0	3,12		

1	2	3	4	5
кукурудзяний екстракт	4,0	0,416	А	
Вода		10,88		
Конденсат		1,27		
(NH ₄) ₂ SO ₄	2,0	0,208	Б	76,40
NaCl	2,5	0,260		
Вода		68,00		
Конденсат		7,93		
CaCO ₃	5,0	0,520	В	11,95
Вода		10,24		
Конденсат		1,19		
Разом:		104,04		104,04

Приготування та стерилізація поживного середовища для вирощування посівного матеріалу в інокуляторі геометричним об'ємом 20 л

Кількість поживного середовища та посівного матеріалу в інокуляторі становить:

$$V_{in2} = V_{пммін} / (1 - E_{in}) = 10,4 / (1 - 0,1) = 11,56 \text{ л.}$$

Кількість поживного середовища в інокуляторі становить:

$$V_{псін2} = V_{in2} / (1 + X_{in}) = 11,56 / (1 + 0,1) = 10,51 \text{ л.}$$

Необхідна кількість посівного матеріалу для засіву інокулятора з колб:

$$V_{пмін2} = V_{in2} - V_{псін} = 11,56 - 10,51 = 1,05 \text{ л.}$$

Згідно з прийнятим складом загальні витрати компонентів на визначений об'єм поживного середовища $V_{псап}$ становлять:

$$G_{заг} = V_{псін2} \cdot C_{\Sigma} = 10,51 \cdot 43,5 = 457,19 \text{ г, в тому числі покомпонентно, г:}$$

$$\text{Меляса} \quad G_1 = G_{заг} \cdot C_1 / C_{\Sigmaф2} = 457,19 \cdot (30,0 / 43,5) = 315,30$$

$$\text{Карбонат кальцію} \quad G_3 = G_{заг} \cdot C_2 / C_{\Sigmaф2} = 457,19 \cdot (5,0 / 43,5) = 52,55$$

$$\text{Кукурудзяний екстракт} \quad G_4 = G_{заг} \cdot C_3 / C_{\Sigmaф2} = 457,19 \cdot (4,0 / 43,5) = 42,04$$

$$\text{Хлорид натрію} \quad G_5 = G_{\text{заг}} \cdot C_4 / C_{\Sigma\phi} = 457,19 \cdot (2,5/43,5) = 26,28$$

$$\text{Сульфат амонію} \quad G_6 = G_{\text{заг}} \cdot C_5 / C_{\Sigma\phi_2} = 457,19 \cdot (2,0/43,5) = 21,02$$

Стерилізація компонентів в композиціях буде здійснюватися в окремих реакторах гострою парою, приймаємо $K_{\text{кон}} = 0,1$, тоді загальна кількість конденсату становитиме:

$$V_k = V_{\text{пін2}} \cdot K_{\text{кон}} = 10,51 \cdot 0,1 = 1,05 \text{ л}$$

Загальна кількість води, необхідної для розбавлення компонентів поживного середовища, буде становити:

$$V_v = V_{\text{пін2}} - V_k - G_{\text{заг}} = 10,51 - 1,05 - 0,066 = 9,39 \text{ л.}$$

Розраховуємо кількість води для розчинення покомпонентно, л.

$$\text{Меляса} \quad V_{1v} = V_v \cdot (C_1 / C_{\Sigma\phi_2}) = 9,39 \cdot (30,0/43,5) = 6,48$$

$$\text{Карбонат кальцію} \quad V_{2v} = V_v \cdot (C_2 / C_{\Sigma\phi_2}) = 9,39 \cdot (5,0/43,5) = 1,08$$

$$\text{Кукурудзяний екстракт} \quad V_{3v} = V_v \cdot (C_3 / C_{\Sigma\phi_2}) = 9,39 \cdot (4,0/43,5) = 0,86$$

$$\text{Хлорид натрію} \quad V_{4v} = V_v \cdot (C_4 / C_{\Sigma\phi_2}) = 9,39 \cdot (2,5/43,5) = 0,54$$

$$\text{Сульфат амонію} \quad V_{5v} = V_v \cdot (C_5 / C_{\Sigma\phi_2}) = 9,39 \cdot (2,0/43,5) = 0,43$$

Розраховуємо кількість конденсату покомпонентно, л

$$\text{Меляса} \quad V_{1k} = V_k \cdot (C_1 / C_{\Sigma\phi_2}) = 1,05 \cdot (30,0/43,5) = 0,724$$

$$\text{Карбонат кальцію} \quad V_{2k} = V_k \cdot (C_2 / C_{\Sigma\phi_2}) = 1,05 \cdot (5,0/43,5) = 0,121$$

$$\text{Кукурудзяний екстракт} \quad V_{3k} = V_k \cdot (C_3 / C_{\Sigma\phi_2}) = 1,05 \cdot (4,0/43,5) = 0,097$$

$$\text{Хлорид натрію} \quad V_{4k} = V_k \cdot (C_4 / C_{\Sigma\phi_2}) = 1,05 \cdot (2,5/43,5) = 0,06$$

$$\text{Сульфат амонію} \quad V_{5k} = V_k \cdot (C_5 / C_{\Sigma\phi_2}) = 1,05 \cdot (2,0/43,5) = 0,048$$

Формування композиції:

Таблиця 6.7

Склад композицій для стерилізації середовища для вирощування посівного матеріалу в інокуляторі 20 л

Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	Кількість для приготування 10,51 л	Композиція	Об'єм композиції, V, л

		середовища, кг (л)		
Меляса	30,0	0,315	А	1,675
кукурудзяний екстракт	4,0	0,042		
Вода		1,18		
Конденсат		0,138		
(NH ₄) ₂ SO ₄	2,0	0,021	Б	7,581
NaCl	2,5	0,026		
Вода		6,747		
Конденсат		0,787		
CaCO ₃	5,0	0,053	В	1,254
Вода		1,08		
Конденсат		0,121		
Разом:		10,51		10,51

Приготування та стерилізація поживного середовища для вирощування посівного матеріалу в колбах на качалці

Кількість поживного середовища та посівного матеріалу в колбах становить:

$$V_{\text{псм}} = V_{\text{кол}} = 1,05$$

Кількість поживного середовища в колбах становить:

$$V_{\text{пск}} = V_{\text{кол}} / (1 + X_{\text{кол}}) = 1,05 / (1 + 0,1) = 0,955 \text{ л.}$$

Необхідна кількість посівного матеріалу для засіву колб:

$$V_{\text{пмк}} = V_{\text{кол}} - V_{\text{пск}} = 1,05 - 0,955 = 0,095 = 95 \text{ мл.}$$

Згідно з прийнятим складом загальні витрати компонентів на визначений об'єм поживного середовища $V_{\text{псап}}$ становлять:

$$G_{\text{заг}} = V_{\text{пск}} \cdot C_{\Sigma} = 0,955 \cdot 43,5 = 41,54 \text{ г, в тому числі покомпонентно, г:}$$

Меляса $G_1 = G_{\text{заг}} \cdot C_1 / C_{\Sigma\phi 2} = 41,54 \cdot (30,0 / 43,5) = 28,65$

Карбонат кальцію $G_3 = G_{\text{заг}} \cdot C_2 / C_{\Sigma\phi 2} = 41,54 \cdot (5,0 / 43,5) = 4,77$

Кукурудзяний екстракт	$G_4 = G_{\text{заг}} \cdot C_3 / C_{\Sigma\phi 2} = 41,54 \cdot (4,0/43,5) = 3,82$
Хлорид натрію	$G_5 = G_{\text{заг}} \cdot C_4 / C_{\Sigma\phi} = 41,54 \cdot (2,5/43,5) = 2,39$
Сульфат амонію	$G_6 = G_{\text{заг}} \cdot C_5 / C_{\Sigma\phi 2} = 41,54 \cdot (2,0/43,5) = 1,91$

Враховуючи малу кількість компонентів, їх стерилізація проводиться в колбах в автоклаві, при цьому конденсат не утворюється.

Загальна кількість води, необхідної для розбавлення компонентів поживного середовища, буде становити: $V_{\text{в}} = V_{\text{пск}} - G_{\text{заг}} = 955 - 41,54 = 913,46$ мл.

Розраховуємо кількість води для розчинення покомпонентно, мл.

Меляса	$V_{1\text{в}} = V_{\text{в}} \cdot (C_1 / C_{\Sigma\phi 2}) = 913,46 \cdot (30,0/43,5) = 629,97$
Карбонат кальцію	$V_{2\text{в}} = V_{\text{в}} \cdot (C_2 / C_{\Sigma\phi 2}) = 913,46 \cdot (5,0/43,5) = 104,99$
Кукурудзяний екстракт	$V_{3\text{в}} = V_{\text{в}} \cdot (C_3 / C_{\Sigma\phi 2}) = 913,46 \cdot (4,0/43,5) = 83,99$
Хлорид натрію	$V_{4\text{в}} = V_{\text{в}} \cdot (C_4 / C_{\Sigma\phi 2}) = 913,46 \cdot (2,5/43,5) = 52,51$
Сульфат амонію	$V_{5\text{в}} = V_{\text{в}} \cdot (C_5 / C_{\Sigma\phi 2}) = 913,46 \cdot (2,0/43,5) = 42,00$

Формування композиції:

Таблиця 6.8

Склад композицій для стерилізації середовища для вирощування посівного матеріалу в колбах на качалках

Компонент поживного середовища	Вміст, мг/мл	Кількість для приготування 955 мл середовища, г (мл)	Композиція	Об'єм композиції, V, мл
1	2	3	4	5
Меляса	30,0	28,65	А	129,88
кукурудзяний екстракт	4,0	3,82		
Вода		97,41		
(NH ₄) ₂ S0 ₄	2,0	1,91		

1	2	3	4	5
NaCl	2,5	2,39	Б	715,36
Вода		711,05		
CaCO ₃	5,0	4,77	В	109,76
Вода		104,99		
Разом:		955		955

Матеріальний розрахунок післяферментаційних процесів

При розрахунках кількості абсолютно сухих речовин у культуральній рідині необхідно врахувати те, що під час біосинтезу складові поживного середовища зазнають перетворення на цільовий продукт – еритроміцин, біомасу продуцента *Saccharopolyspora erythraea* NCIMB 8594, баластні речовини. При цьому частина компонентів втрачається через краплинонос, частина ростового субстрату (джерела вуглецю) окислюється до вуглекислого газу і води для одержання енергії (генерації АТФ), необхідної для процесів конструктивного метаболізму. Тому, ці перетворення необхідно врахувати як втрати при біосинтезі (E_{bc}). Приймаємо значення $E_{bc} = 60\%$.

Кількість абсолютно сухих речовин в поживному середовищі для виробничого біосинтезу

$$G_{заг} = V_{псф} \cdot C_{\Sigma ф} = 9,64 \cdot 83,5 = 805 \text{ кг.}$$

Кількість абсолютно сухих речовин в посівному матеріалі з врахуванням втрат при вирощуванні в посівному апараті геометричним об'ємом 2 м^3 $E_{па} = 0,15$ (частка)

$$G_{заг} = V_{пспа} \cdot C_{\Sigma} = 1,031 \cdot 43,5 = 44,85 \text{ кг,}$$

де $V_{пспа} = 1,031$

$$G_{загп} = G_{заг} \cdot (1 - E_{па}) = 37,40 \text{ кг.}$$

Загальна кількість абсолютно сухих речовин $G_{срф}$ у середовищі для виробничого біосинтезу становить:

$$G_{срф} = G_{загф} + G_{загп} = 805 + 37,40 = 842,40 \text{ кг.}$$

Кількість втрат абсолютно сухих речовин $G_{втб}$ у культуральній рідині в процесі виробничого біосинтезу з врахуванням коефіцієнта втрат $E_{bc} = 0,6$ (частка):

$$G_{\text{втб}} = G_{\text{срф}} \cdot E_{\text{бс}} = 842,40 \cdot 0,6 = 505,44 \text{ кг.}$$

Кількість абсолютно сухих речовин в культуральній рідині, що йде на подальшу переробку, становить:

$$G_{\text{сркр}} = G_{\text{срф}} - G_{\text{втб}} = 842,40 - 505,44 = 337 \text{ кг.}$$

Кількість культуральної рідини після виробничого біосинтезу, кг:

$$G_{\text{кр}} = V_{\text{кр}} \cdot \rho_{\text{кр}} = 9,01 \cdot 1040 = 9370,4 \text{ кг,}$$

де $\rho_{\text{кр}}$ – середня густина культуральної рідини $\rho_{\text{кр}} = 1040 \text{ кг/м}^3$.

Визначаємо кількість абсолютно сухої біомаси (АСБ) в культуральній рідині:

$$G_{\text{асб}} = V_{\text{кр}} \cdot X_{\text{кр}} = 9,01 \cdot 10,2 = 91,9 \text{ кг.}$$

Визначаємо кількість абсолютно сухого антибіотику (АСА) в культуральній рідині:

$$G_{\text{аса1}} = V_{\text{кр}} \cdot P_{\text{кр}} = 9,01 \cdot 0,8 = 7,2 \text{ кг.}$$

Кількість абсолютно сухих баластних речовин в культуральній рідині становить:

$$G_{\text{брв}} = G_{\text{сркр}} - G_{\text{асб}} - G_{\text{аса1}} = 337 - 91,9 - 7,2 = 238 \text{ кг.}$$

Кількість води, що міститься в культуральній рідині, складе:

$$G_{\text{води}} = G_{\text{кр}} - G_{\text{асб}} - G_{\text{аса1}} - G_{\text{брв}} = 9370,4 - 91,9 - 7,2 - 238 = 9033 \text{ л.}$$

Розрахунок стадії відділення біомаси та концентрування на мікрофільтраційних модулях

Для того щоб інтенсифікувати процес мікрофільтрації культуральну рідину в залежності від активності перед подачею на фільтрацію розбавляють водою в співвідношенні від 1:1 до 1:3, прийmemo співвідношення 1:2, також рН.

Об'єм суспензії культуральної рідини, що йде на подальшу переробку складає:

$$V_{\text{кр}} = G_{\text{кр}} + (G_{\text{кр}} \cdot 2) = 9,01 + (9,01 \cdot 2) = 27 \text{ м}^3.$$

Біомаса містить вологи від 65...85% вологи, прийmemo $W_{\text{кл}} = 0,75$ (частка), тоді кількість вологої біомаси в культуральній рідині становитиме:

$$G_{\text{вб}} = G_{\text{асб}} / (1 - W_{\text{кл}}) = 91,9 / (1 - 0,75) = 367,6 \text{ кг.}$$

Вологий осад містить 10...15 % міжклітинної вологи, прийmemo $W_{\text{мв}} = 0,13$ (частка), тоді загальна кількість вологого осаду, що видаляється з культуральної рідини $V_{\text{кр}}$ складе:

$$G_{\text{осв}} = G_{\text{вб}} / (1 - W_{\text{мв}}) = 367,6 / (1 - 0,13) = 422,5 \text{ кг.}$$

Маса вологого осаду, який одержують під час фільтрування 1 м³ суспензії:

$$m_o = G_{\text{осв}} / V_{\text{кр}} = 422,5 / 28,1 = 15,0 \text{ кг/м}^3.$$

Об'єм волого осаду в суспензії становить:

$$V_{\text{осв}} = G_{\text{осв}} \cdot 1000 / \rho_{\text{ос}} = 422,5 \cdot 1000 / 1040 = 406,3 \text{ л}$$

Втрати суспензії при фільтруванні складають:

$$V_{\text{втф}} = V_{\text{кр}} \cdot 1000 \cdot E_{\text{мф1}} = 27 \cdot 1000 \cdot 0,08 = 2160 \text{ л,}$$

де $E_{\text{мф}} = 0,1$ (коефіцієнт втрат при фільтруванні, частка).

Об'єм отриманого пермеату з урахуванням втрат при фільтруванні:

$$V_{\text{фгм}} = V_{\text{кр}} - V_{\text{осв}} - V_{\text{втф}} = 27000 - 406,3 - 2160 = 24434 \text{ л.}$$

Маса абсолютно сухих речовин у пермеаті становить, кг:

$$G_{\text{фт}} = (G_{\text{сркр}} - G_{\text{асб}}) = 336,96 - 91,9 = 245 \text{ кг.}$$

Вміст сухих речовин у фільтраті становить:

$$C_{\text{рф}} = G_{\text{фт}} \cdot 100 / V_{\text{фгм}} = 245 \cdot 100 / 24434 = 1,0 \text{ мас. \%}$$

Концентрування розчину на роторно-плівковому випарнику

Приймаємо ступінь концентрування $K_k = 4$, $E_k = 0,02$.

Втрати при концентруванні складають:

$$V_{\text{втф}} = V_{\text{кр}} \cdot E_k = 24434 \cdot 0,02 = 489 \text{ л,}$$

де $E_k = 0,02$ (коефіцієнт втрат при фільтруванні, частка).

Об'єм концентрату еритроміцину з врахуванням коефіцієнта концентрування при складатиме:

$$V_{\text{пр}} = (V_{\text{фгм}} / K_k) - E_k = (24434 / 4) - 489 = 5620 \text{ л.}$$

Вміст сухих речовин у концентраті становить:

$$C_{\text{кт}} = G_{\text{фт}} \cdot 100 / V_{\text{кон}} = 245 \cdot 100 / 5987 = 4,1 \text{ мас. \%}$$

Маса баластних речовин у концентраті складає:

$$G_{\text{бр}} = G_{\text{фт}} - G_{\text{мф}} = 245 - 232,8 = 12,2 \text{ кг.}$$

Маса абсолютно сухого антибіотику у концентраті складає:

$$G_{\text{аса2}} = G_{\text{аса1}} \cdot (1 - E_{\text{мф}}) = 7,2 \cdot (1 - 0,1) = 6,48 \text{ кг.}$$

Об'єм розчинника, що випаровувався після концентрування становить:

$$V_{\text{фт}} = V_{\text{фгм}} - V_{\text{пр}} - E_k = 24434 - 5620 - 489 = 18325 \text{ л.}$$

Розрахунок стадії екстракції й реекстракції

Для стадії екстракції еритроміцину до пермеату додають тридеканол у співвідношенні 1:1 та доводять рН до 9,0, тобто на 1 м³ додають 2 л (5,62·2= 11,3 л) тоді кількість реакційної суміші становить:

$$V_{pc} = V_{пр} + V_{ек} = 5620 + 5620 + 11,3 = 11251 \text{ л.}$$

де $V_{ек}$ = об'єм тридеканолу.

Після цього еритроміцин переходить у органічну фазу, а ми відділяємо водну фазу, припустимо, що її 30 % від $V_{пр}$:

$$V_{вф} = 5620 \cdot 0,3 = 1686 \text{ л.}$$

Тоді втрата $E_{ек}$ на стадії екстракції становить:

$$V_{вт} = V_{pc} \cdot 0,03 = (11251 - 1686) \cdot 0,03 = 287 \text{ л.}$$

Тоді кількість органічної фази, що йде на стадію рекстракції становить:

$$V_{оф} = V_{pc} - V_{вф} - V_{вт} = 11251 - 1686 - 287 = 9278 \text{ л.}$$

На стадії рекстракції еритроміцин переходить у водну фазу, шляхом внесення цитратного буфера у співвідношенні 2 реакційної суміші: 1 цитратний буфер. Тоді об'єм реакційної суміші на цій стадії буде становити:

$$V_{pc2} = V_{оф} + V_{цб} = 9278 + 4639 = 13917 \text{ л.}$$

Врахуємо втрати на стадії реекстракції $E_{рк}$:

$$V_{pc3} = V_{pc2} \cdot E_{рк} = 13917 \cdot 0,03 = 418 \text{ л.}$$

Оскільки тридеканол не потребує регенерації, розрахуємо кількість екстрагента, який отримаємо після стадії реекстракції:

$$V_{ек2} = V_{ек} \cdot (1 - E_{ре}) = 5620 \cdot (1 - 0,03) = 5451 \text{ л.}$$

Таким чином, можемо розрахувати кількість реекстракту, який надходить на стадію кристалізації:

$$V_{pc4} = V_{pc2} - V_{pc3} - V_{ек2} = 13917 - 418 - 5451 = 8048 \text{ л.}$$

Маса абсолютно сухого ЕР у реекстракті складає:

$$G_{аса3} = G_{аса2} \cdot (1 - E_{ек} - E_{ре}) = 6,48 \cdot (1 - 0,03 - 0,03) = 6,1 \text{ кг.}$$

Розрахунок стадії кристалізації й фільтрації напівпродукту

Після екстракції розчин еритроміцину підкислюють для рідинної протирозчинної кристалізації для того щоб відбулося випадіння його в осад при рН

10,5. Об'єм рідини, яка надходить на кристалізацію становить $V_{кр} = 8048$ л. Розчин 10 % гідроксиду натрію розраховується в співвідношенні 2 л на 1 м^3 реакційної суміші. Тобто якщо у нас 8048 л реакційної суміші, то потрібно додати 16,1 л 10 % розчину гідроксиду натрію.

Об'єм суміші на стадії кристалізації становить:

$$V_{pc5} = V_{кр} + V_{цб} = 8048 + 16,1 = 8064 \text{ л.}$$

Маса абсолютно сухого кристалічного осаду еритроміцину з урахуванням втрат при кристалізації ($E_{кр} = 0,04$) становить:

$$G_{aca4} = G_{aca3} / (1 - E_{кр}) = 6,1 \cdot (1 - 0,04) = 5,86 \text{ кг.}$$

Втрати на стадії кристалізації:

$$V_{вт} = V_{pc5} \cdot E_{кр} = 8064 \cdot 0,04 = 323 \text{ л.}$$

Об'єм суспензії з врахуванням втрат:

$$V_{сп} = V_{pc5} \cdot (1 - E_{кр}) = 8064 \cdot (1 - 0,04) = 7741 \text{ л.}$$

Після суспензії направляється на етап фільтрації НУТЧ-фільтр.

Маса абсолютно сухого кристалічного осаду еритроміцину з урахуванням втрат при фільтрації ($E_{ф} = 0,04$) становить:

$$G_{aca5} = G_{aca4} / (1 - E_{ф}) = 5,86 \cdot (1 - 0,04) = 5,6 \text{ кг.}$$

Кристалічний осад еритроміцину у суспензії містить близько 10 % вологи. Загальна кількість вологого осаду, який видаляють із суспензії становить:

$$G_{осв} = G_{aca3} / (1 - W_{мв}) = 5,6 / (1 - 0,1) = 6,22 \text{ кг.}$$

Розрахуємо об'єм осаду після фільтрації при густині еритроміцину становить $\rho_{ос} = 1250 \text{ кг/м}^3$:

$$V_{aca} = G_{осв} \cdot 1000 / \rho_{ос} = 6,22 \cdot 1000 / 1250 = 5,0 \text{ л.}$$

Втрати суспензії при фільтрації складають ($E_{ф} = 0,04$):

$$V_{втф} = V_{пр} \cdot E_{сф} = 7741 \cdot 0,04 = 310 \text{ л.}$$

Об'єм фільтрату з урахуванням втрат становить:

$$V_{фгм} = V_{пр} - V_{aca} - V_{втф} = 7741 - 6,22 - 310 = 7425 \text{ л.}$$

Сушіння концентрату в псевдорозрідженому стані

Далі на стадію сушіння у псевдозрідженому шарі надходить відфільтрований осад еритроміцину. Маса висушеного еритроміцину з врахуванням коефіцієнта

втрат при сушінні $E_{\text{сш}} = 0,04$ (частка) сухої речовини з повітрям, що виходить з сушарки, при стандартному вмісті сухих речовин в готовому продукті $CP_{\text{гп}} = (1 - W_{\text{в}}) = 0,94$ (частка) становить:

$$G_{\text{сш}} = G_{\text{аса5}} \cdot (1 - E_{\text{сш}}) / CP_{\text{гп}} = 5,6 \cdot (1 - 0,04) / 0,94 = 5,7 \text{ кг}$$

Маса води, що підлягає видаленню з врахуванням коефіцієнта втрат при сушінні $E_{\text{сш}} = 0,04$ (частка):

$$W_{\text{сш}} = G_{\text{осв}} \cdot (1 - E_{\text{сш}}) - G_{\text{сш}} = 6,22 \cdot (1 - 0,04) - 5,7 = 0,27 \text{ кг}$$

Після сушіння отримуємо готовий кристалічний порошок еритроміцину для фармацевтичного застосування, який не потребує додавання наповнювача. У подальшому даний порошок може бути використаний як діюча речовина для виготовлення таблеток, капсул, розчинених солей.

Розрахунок стадії ПМВ: пакування, маркування, відвантаження

Сухий порошок еритроміцину розфасовують у подвійні поліетиленові пакети по 1 кг. Втрати при фасуванні складають $E_{\text{уп}} = 0,01$ (частка). Кількість порошку для фасування з урахуванням втрат складає:

$$G_{\text{уп}} = (G_{\text{сш}} + G_{\text{нап}}) \cdot (1 - E_{\text{уп}}) = (5,7 + 0) \cdot (1 - 0,01) = 5,64 \text{ кг.}$$

Кількість пакетів при фасуванні за один цикл складає:

$$N_{\text{пк}} = G_{\text{уп}} / N_{\text{п}} = 5,64 / 1 = 6 \text{ пакетів.}$$

Механічні втрати порошку при фасуванні становлять:

$$G_{\text{втм}} = (G_{\text{сш}} + G_{\text{нап}}) - G_{\text{уп}} = (5,7 + 0) - 5,64 = 0,06 \text{ кг.}$$

Похибка продуктового розрахунку становить:

$$\Delta = [G_{\text{уп}} - G_{\text{пкгп}}] \cdot 100 / G_{\text{уп}} = [5,64 - 5,2] \cdot 100 / 5,64 = 7,8 \text{ \%}$$

Отримане значення менше заданого діапазону точності $\pm 10 \text{ \%}$. Отже, можна зробити висновок, що продуктовий розрахунок зроблено вірно.

Розрахунок матеріального балансу (із врахуванням кількості стадій підготовки посівного матеріалу, розрахованої у розділі 1 «Техніко-економічне обґрунтування

Матеріальний баланс на один цикл виробничого біосинтезу

№ з/п	Використано		Отримано	
	Назва сировини і напівпродукту	Кількість, кг, дм ³	Назва кінцевого продукту, відходів та втрат	Кількість, кг, дм ³
1	2	3	4	5
1.	ПРИГОТУВАННЯ ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА ДЛЯ ВИРОЩУВАННЯ ІНОКУЛЯТУ В КОЛБАХ НА КАЧАЛКАХ, г (мл)			
1.1	Меяса	28,65	Нестерильне ПС	955
1.2	Карбонат кальцію	4,77		
1.3	Кукурудзяний екстракт	3,82		
1.4	Хлорид натрію	2,39		
1.5	Сульфат амонію	1,91		
1.6	Вода	913,45		
	Всього:	955	Всього:	955
2	Стерилізація поживного середовища			
2.1	Нестерильне ПС	955	Стерильне ПС	955
	Всього:	955	Всього:	955
3	ВИРОЩУВАННЯ ПОСІВНОГО МАТЕРІАЛУ В КОЛБАХ НА КАЧАЛКАХ			
3.1	Стерильне ПС	955	Посівний матеріал	1050
3.2	Посівний матеріал з колб на качалках	95		
	Всього:	1050	Всього:	1050
4.	ПРИГОТУВАННЯ ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА ДЛЯ ІНОКУЛЯТОРА ОБ'ЄМОМ, 20 л, кг (дм ³)			

1	2	3	4	5
4.1	Меляса	0,315	Нестерильне ПС	9,46
4.2	Карбонат кальцію	0,053		
4.3	Кукурудзяний екстракт	0,042		
4.4	Хлорид натрію	0,026		
4.5	Сульфат амонію	0,021		
4.6	Вода	9,0		
	Всього:	9,46	Всього:	9,46
5	СТЕРИЛІЗАЦІЯ ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА ДЛЯ ІНОКУЛЯТОРА ОБ'ЄМОМ 20 л			
5.1	Нестерильне ПС	9,46	Стерильне ПС	10,51
5.2	Конденсат	1,05	Втрат немає	0,0
	Всього:	10,51	Всього:	10,51
6.	ВИРОЩУВАННЯ ПОСІВНОГО МАТЕРІАЛУ В ІНОКУЛЯТОРІ ОБ'ЄМОМ 20 л			
6.1	Стерильне ПС	10,51	Посівний матеріал	10,4
6.2	Посівний метеріл з колб	1,05		
6.3	Втрати (частка)	0,10		1,16
	Всього:	11,56	Всього:	11,56
7	ПРИГОТУВАННЯ ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА ДЛЯ ІНОКУЛЯТОРА ОБ'ЄМОМ 0,16 м ³			
7.1	Меляса	3,12	Нестерильне ПС	93,64
7.2	Карбонат кальцію	0,520		
7.3	Кукурудзяний екстракт	0,416		
7.4	Хлорид натрію	0,260		
7.5	Сульфат амонію	0,208		

1	2	3	4	5
7.6	Вода	89,12		
	Всього:	93,64	Всього:	93,64
8	СТЕРИЛІЗАЦІЯ ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА ДЛЯ ІНОКУЛЯТОРА ОБ'ЄМОМ 0,16 м ³			
8.1	Нестерильне ПС	93,64	Стерильне ПС	104,0
8.2	Конденсат	10,39		
	Всього:	104,0	Всього:	104,0
9	ВИРОЩУВАННЯ ПОСІВНОГО МАТЕРІАЛУ В ІНОКУЛЯТОРІ ОБ'ЄМОМ 0,16 м ³			
9.1	Стерильне ПС	104,0	Посівний матеріал	103,0
9.2	Посівний матеріал з інокулятора об'ємом 20 л	10,4		
9.3	Втрати (частка)	0,10		11,4
	Всього:	114,4	Всього:	114,4
10	ПРИГОТУВАННЯ ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА ДЛЯ ПОСІВНОГО АПАРАТУ ОБ'ЄМОМ 2 м ³			
10.1	М'яса	30,93	Нестерильне ПС	928,05
10.2	Карбонат кальцію	5,16		
10.3	Кукурудзяний екстракт	4,13		
10.4	Хлорид натрію	2,57		
10.5	Сульфат амонію	2,06		
10.6	Вода	883,2		
	Всього:	928,1	Всього:	928,1
11	СТЕРИЛІЗАЦІЯ ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА В ПОСІВНОМУ АПАРАТІ ОБ'ЄМОМ 2 м ³			

1	2	3	4	5
11.1	Нестерильне ПС	928,1	Стерильне ПС	1031,1
11.2	Конденсат	103,0		
	Всього:	1031,1	Всього:	1031,1
12.	ВИРОЩУВАННЯ ПОСІВНОГО МАТЕРІАЛУ В ПОСІВНОМУ АПАРАТІ ОБ'ЄМОМ 2 м ³			
12.1	Стерильне ПС	1031,1	Посівний матеріал	964
12.2	Посівний матеріал з інокулятора об'ємом 160 л	103		
12.3	Втрати (частка)	0,15		170,1
	Всього:	1134,1	Всього:	1134,1
13	ПРИГОТУВАННЯ ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА ДЛЯ ВИРОБНИЧОГО БІОСИНТЕЗУ			
13.1	Меяса	578,4	Нестерильне ПС	7710
13.2	n-пропанол	96,4		
13.3	Карбонат кальцію	48,2		
13.4	Кукурудзяний екстракт	38,6		
13.5	Хлорид натрію	24,1		
13.6	Сульфат амонію	19,3		
13.7	Вода	6905		
	Всього:	7710	Всього:	7710
14	СТЕРИЛІЗАЦІЯ ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА ДЛЯ ВИРОБНИЧОГО БІОСИНТЕЗУ			
14.1	Нестерильне ПС	7710	Стерильне ПС	9640
14.2	Розбавлення конденсатом – 20%	1930		

1	2	3	4	5
	Всього:	9640	Всього:	9640
15.	ВИРОБНИЧИЙ БІОСИНТЕЗ			
15.1	Стерильне поживне середовище	8132,8	Культуральна рідина фільтрацію	9012,5
15.2	Посівний матеріал з посівного апарата 2 м ³	964		
15.3	Підживлювальний розчин	1475		
15.4	Піногасник	32,2		
15.5	Втрати (частка)	0,15	Втрати (кількість)	1590,5
	Всього:	10603	Всього:	10603
16.	МІКРОФІЛЬТРАЦІЯ			
16.1	КР на мікрофільтрацію, л	9000	Пермеат	24434
16.2	Розведення водою	18000	Вологий осад	406
	Втрати (частка)	0,08	Втрати	2160
	Всього:	27000	Всього:	27000
17.	КОНЦЕНТРУВАННЯ			
17.1	Пермеат	24434	Концентрат	5620
17.2			Розчинник	18325
17.3	Втрати (частка)	0,02	Втрати	489
	Всього:	24434	Всього:	24434
18.	ЕКСТРАКЦІЯ І РЕЕКСТРАКЦІЯ			
18.1	Концентрат	5620	Водна фаза	1686
18.2	Хлорид натрію	11,3		
18.3	Екстрагент	5620	Реекстракт	8048
18.4	Цитратний буфер	4639	Екстрагент	5451
18.5	Втрати ₁ (частка) на екстракції	0,03	Втрати ₁	287

18.6	Втрати ₂ (частка) на реекстракції	0,03	Втрати ₂	418
	Всього:	15890	Всього:	15890
19.	КРИСТАЛІЗАЦІЯ			
19.1	Реекстракт	8048		7741
19.2	Гідроксид натрію	16,1		
	Втрати (частка)	0,04		323
	Всього:	8064		8064
20.	ВІДДІЛЕННЯ КРИСТАЛІВ ЕРИТРОМІЦИНУ ФІЛЬТРУВАННЯМ			
20.1	Реакційна суміш, л	7741	Вологий осад	6,22
			Маточний розчин	7425
	Втрати (частка)	0,04	Втрати	310
	Всього:	7741	Всього	7741
21.	СУШІННЯ КРИСТАЛІВ ЕРИТРОМІЦИНУ			
21.1	Вологий осад, кг	6,22	Сухий антибіотик	5,7
			Видалена волога	0,27
	Втрати (частка)	0,04	Втрати	0,25
	Всього:	6,22	Всього:	6,22
22.	ФАСУВАННЯ, УПАКУВАННЯ ГОТОВОГО ПРОДУКТУ			
22.1	Готовий продукт, кг	5,7	Упакований продукт	5,64
22.2	Пакети			
	Втрати (частка)	0,01	Втрати	0,06
	Всього:	5,7	Всього:	5,7

Оскільки, кількість культуральної рідини згідно матеріального балансу (9012,5 л) співпадає із кількістю культуральної рідини, розрахованою відповідно пункту підрозділу розрахунок партій продукту ($V_{кр} = 9,01 \text{ м}^3$) розрахунку партій продукту, вважаємо, що матеріальний баланс зроблено вірно.

Розрахунок ферментаційної та ємнісної апаратури

За результатами продуктового розрахунку та матеріального балансу здійснюють розрахунок ферментаційної та ємнісної апаратури для приготування та

стерилізації компонентів поживного середовища. Приймають наступні коефіцієнти заповнення апаратури K :

K_{ϕ} - коефіцієнт заповнення ферментера, посівного апарата, інокулятора, частка:

- барботажного - 0,45 - 0,55
- комбінованого (з механічним перемішуванням) - 0,5 - 0,65.
- Коефіцієнт заповнення качалочних колб $K_{\text{кол}} = 0,18-0,2$
- Коефіцієнт заповнення збірників - 0,7- 0,85.

При виборі геометричного об'єму ферментаційної та ємнісної апаратури керуються даними виробника або стандартними таблицями [44].

Якщо перевірочний коефіцієнт не вкладається у вибрані межі, то змінюють кількість апаратів і відповідно їх сумарний геометричний об'єм.

Уточнюючий розрахунок кількості ферментерів

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

$$V_{\text{гф}} = V_{\phi}/K_3 = 10,6/0,6 = 17,7 \text{ м}^3.$$

Найближчий за номінальним об'ємом ферментер: $V_{\text{нф}} = 20 \text{ м}^3$ [44].

Кількість виробничих ферментерів при заданому K_3 :

$$N_{\text{фр}} = V_{\text{гф}}/V_{\text{нф}} = 17,7/20 = 0,89 - \text{приймаємо } 1$$

Уточнюємо коефіцієнт заповнення вибраних з таблиці ферментерів:

$$K_{3\phi} = V_{\phi}/(V_{\text{нф}} \cdot N_{\text{фр}}) = 10,6/20 \cdot 1 = 0,53.$$

Оскільки уточнений коефіцієнт заповнення не перевищує заданих меж (0,5 – 0,65), то приймаємо до установки ферментерів $N_{\text{фр}} + 1$ запасний.

Уточнюючий розрахунок кількості інокуляторів для отримання інокуляту об'ємом $1,13 \text{ м}^3$

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

$$V_{\text{гпа}} = V_{\text{па}}/K_3 = 1,13/0,6 = 1,88 \text{ м}^3.$$

Найближчий за номінальним об'ємом апарат: $V_{\text{ппа}} = 2,0 \text{ м}^3$ [44].

Кількість посівних апаратів при заданому K_3 :

$$N_{\text{пар}} = V_{\text{гпа}} / V_{\text{ппа}} = 1,88 / 2,0 = 0,94 - \text{приймаємо } 1$$

Уточнюємо коефіцієнт заповнення вибраних з таблиці посівних апаратів:

$$K_{3\text{па}} = V_{\text{па}} / (V_{\text{ппа}} \cdot N_{\text{пар}}) = 1,13 / (2,0 \cdot 1) = 0,57.$$

Оскільки уточнений коефіцієнт заповнення не перевищує заданих меж (0,5 – 0,65), то приймаємо до установки посівних апаратів $N_{\text{пар}} + 1$ запасний.

Уточнюючий розрахунок кількості інокуляторів для отримання інокуляту об'ємом 114,4 л

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

$$V_{\text{гін1}} = V_{\text{ін1}} / K_3 = 114,4 / 0,6 = 190,6 \text{ л.}$$

Найближчий за номінальним об'ємом інокулятор: $V_{\text{нін1}} = 160 \text{ л}$ [44].

Кількість інокуляторів при заданому K_3 :

$$N_{\text{інр1}} = V_{\text{гін1}} / V_{\text{нін1}} = 190,6 / 160 = 1,2 - \text{приймаємо } 1.$$

Уточнюємо коефіцієнт заповнення вибраних з таблиці інокуляторів:

$$K_{3\text{ін1}} = V_{\text{ін1}} / (V_{\text{нін1}} \cdot N_{\text{інр1}}) = 114,4 / (160 \cdot 1) = 0,72.$$

Оскільки уточнений коефіцієнт заповнення перевищує задані межі (0,5 – 0,65), то обираємо інший геометричний об'єм інокулятора, який замовляємо у виробника, $V_{\text{нін}} = 200 \text{ л}$. Тоді уточнений коефіцієнт заповнення буде

$$K_{3\text{ін1}} = V_{\text{ін1}} / V_{\text{нін1}} = 114,4 / 200 = 0,57.$$

Отже, приймаємо до установки інокуляторів $N_{\text{інр}} + 1$ запасний.

Уточнюючий розрахунок кількості інокуляторів для отримання інокуляту об'ємом 11,56 л

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

$$V_{\text{гін2}} = V_{\text{ін2}} / K_3 = 11,56 / 0,6 = 19,3 \text{ л.}$$

Найближчий за номінальним об'ємом інокулятор: $V_{\text{нін2}} = 20 \text{ л}$.

Кількість інокуляторів при заданому $K_{3\text{ін}}$:

$$N_{\text{інр2}} = V_{\text{гін2}} / V_{\text{нін2}} = 19,3 / 20 = 0,97 - \text{приймаємо } 1$$

Уточнюємо коефіцієнт заповнення вибраних з таблиці інокуляторів:

$$K_{3\text{ін2}} = V_{\text{ін2}} / (V_{\text{нін2}} \cdot N_{\text{інр2}}) = 11,56 / 20 = 0,58.$$

Оскільки уточнений коефіцієнт заповнення не перевищує задані межі (0,5 –

0,65), приймаємо до установки інокуляторів $N_{\text{інр}} + 1$ запасний.

Уточнюючий розрахунок кількості качалочних колб

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

$$V_{\text{гколб}} = V_{\text{колб}}/K_{\text{колб}} = 1,05/0,2 = 5,25 \text{ л.}$$

Об'єм 1 качалочної колби $V_{\text{нколб}} = 0,750 \text{ л.}$

Кількість качалочних колб при заданому $K_{\text{колб}}$:

$$N_{\text{колб}} = V_{\text{гколб}}/V_{\text{нколб}} = 5,25/0,75 = 7 - \text{приймаємо } 7 \text{ колб.}$$

Розрахунок кількості реакторів-змішувачів для приготування та стерилізації поживного середовища

Для вибору реакторів-змішувачів, збірників користуються таблицями композицій (Табл. 6.1; 6.2; 6.3; 6.4; 6.5; 6.6; 6.7; 6.8) та таблицею Технічних характеристик ферментерів [44].

Уточнюючий розрахунок кількості реакторів-змішувачів для приготування середовища для виробничого біосинтезу в ферментері об'ємом 20 м³

Композицію А готують в реакторі-змішувачі УБС. Композицію Б готують в окремому реакторі і після приготування подають безпосередньо в ферментер не піддаючи стерилізації. Стерилізацію компонентів поживного середовища в об'ємі $V_{\text{ст}} = V_{\text{псубс}} - V_{\text{кон}} = 7,74 - 1,55 = 6,2 \text{ м}^3$ проводять в УБС потужністю 10 м³/год. Час стерилізації становить $t = 6,2/10 = 0,62 \text{ год.}$ Стерильне поживне середовище з УБС передається в попередньо простерилізований ферментер.

а) Підбираємо геометричний об'єм реактора-змішувача УБС (композиція А). Приблизний геометричний об'єм реактора-змішувача при заданому $K_{\text{зб}} = 0,8$: $V_{\text{УБС}} = V_{\text{ст}}/K_{\text{зб}} = 6,2/0,8 = 7,75 \text{ м}^3$.

Вибираємо найближчий за номінальним об'ємом реактор: $V_{\text{нр}} = 8 \text{ м}^3$ [44]. Кількість реакторів при заданому $K_{\text{зб}}$ становить: $N_{\text{р}} = V_{\text{УБС}}/V_{\text{нр}} = 7,75/8 = 1,0$. Приймаємо до установки 1 реактор.

Уточнюємо коефіцієнт заповнення реактора: $K_{\text{зр}} = V_{\text{ст}}/(V_{\text{нр}} \cdot N_{\text{р}}) = 6,2/(8 \cdot 1) = 0,78$ Оскільки уточнений коефіцієнт заповнення лежить в заданих межах (0,7 – 0,85), то приймаємо до установки кількість реакторів УБС – 1.

б) Підбираємо геометричний об'єм реактора-змішувача для приготування розчину для підживлення. Об'єм підживлювального розчину становить: $V_{\text{пж}} = V_{\text{пс}} - V_{\text{кон}} = 1,3 - 0,12 = 1,18 \text{ м}^3$. Приблизний геометричний об'єм реактора-змішувача при заданому $K_{зб} = 0,8$:

$$V_{\text{Бг}} = V_{\text{пж}}/K_{зб} = 1,18 / 0,8 = 1,48 \text{ м}^3$$

Вибираємо найближчий за номінальним об'ємом реактор: $V_{\text{нр}} = 1,6 \text{ м}^3$ [44]. Кількість реакторів при заданому $K_{зб}$ становить: $N_{\text{Бр}} = V_{\text{Бг}}/V_{\text{нр}} = 1,48/1,6 = 0,93$. Приймаємо - 1 од. Уточнюємо коефіцієнт заповнення реактора: $K_{зр} = V_{\text{пж}}/(V_{\text{нр}} \cdot N_{\text{Бр}}) = 1,18/(1,6 \cdot 1) = 0,73$.

Оскільки уточнений коефіцієнт заповнення лежить в заданих межах (0,7 – 0,85), приймаємо до установки кількість реакторів для приготування композиції Б – 1 + 1 запасний.

в) Підбираємо геометричний об'єм реактора-змішувача для приготування розчину карбонату кальцію. Об'єм розчину становить: $V_{\text{пс}} = V_{\text{пск}} - V_{\text{кон}} = 0,58 - 0,06 = 0,52 \text{ м}^3$. Приблизний геометричний об'єм реактора-змішувача при заданому $K_{зб} = 0,8$:

$$V_{\text{Бг}} = V_{\text{пск}}/K_{зб} = 0,52 / 0,8 = 0,65 \text{ м}^3$$

Вибираємо найближчий за номінальним об'ємом реактор: $V_{\text{нр}} = 0,63 \text{ м}^3$ [44]. Кількість реакторів при заданому $K_{зб}$ становить: $N_{\text{Бр}} = V_{\text{Бг}}/V_{\text{нр}} = 0,65/0,63 = 1$. Приймаємо - 1 од. Уточнюємо коефіцієнт заповнення реактора: $K_{зр} = V_{\text{пск}}/(V_{\text{нр}} \cdot N_{\text{Бр}}) = 0,52/(0,63 \cdot 1) = 0,82$.

Оскільки уточнений коефіцієнт заповнення лежить в заданих межах (0,7 – 0,85), приймаємо до установки кількість реакторів для приготування композиції Б – 1 + 1 запасний.

Для корегування рН в процесі виробничого біосинтезу вибираємо ємності для розчинів кислоти та лугу із розрахунку 2 л на 1 м^3 поживного середовища.

Кількість кислоти для підкислення виробничого біосинтезу становить = 19,2 л.

Підбираємо геометричний об'єм реактора для хлоридної кислоти (6 %). Приблизний геометричний об'єм мірника при заданому $K_{зб} = 0,8$ складе.

$$V_{\text{грк}} = V_{\text{рк}}/K_{зб} = 19,2/0,8 = 24 \text{ л}$$

Вибираємо найближчий за номінальним об'ємом реактор-мірник: $V_{\text{нрк}} = 30$ л [44]. Уточнюємо коефіцієнт заповнення реактора:

$K_{\text{зр}} = V_{\text{рк}}/(V_{\text{нр}} \cdot N_{\text{р}}) = 19,2/(30 \cdot 1) = 0,64$, що допустимо. Приймаємо до використання 1 реактор – мірник для розчину кислоти.

Підбираємо геометричний об'єм реактора-мірника для розчину гідроксиду натрію (6 %). Кількість 0,6 н розчину гідроксиду натрію становить 19,2 л.

Вибираємо найближчий за номінальним об'ємом реактор-мірник: $V_{\text{нрл}} = 30$ л [44].

Приймаємо до використання 1 реактор-мірник для приготування та стерилізації розчину луку.

Кількість пропанолу для піногасіння виробничого біосинтезу становить = 32,2 л. Підбираємо геометричний об'єм збірника для пропанолу. Приблизний геометричний об'єм мірника при заданому $K_{\text{зб}} = 0,8$ складе.

$$V_{\text{грк}} = V_{\text{рк}}/K_{\text{зб}} = 32,2/0,8 = 40 \text{ л}$$

Вибираємо найближчий за номінальним об'ємом реактор-мірник: $V_{\text{нрк}} = 40$ л [44]. Уточнюємо коефіцієнт заповнення реактора:

$K_{\text{зр}} = V_{\text{рк}}/(V_{\text{нр}} \cdot N_{\text{р}}) = 32,2/(40 \cdot 1) = 0,8$, що допустимо. Приймаємо до використання 1 реактор – мірник для розчину кислоти.

Розрахунок кількості реакторів-змішувачів для приготування середовища для вирощування посівного матеріалу в посівному апараті об'ємом 2 м^3

а) Підбираємо геометричний об'єм реактора-змішувача для композиції А. Приблизний геометричний об'єм реактора-змішувача при заданому $K_{\text{зб}} = 0,8$:

$$V_{\text{Аг}} = V_{\text{А}}/K_{\text{зб}} = 152,53/0,8 = 190,7 \text{ л} = 0,19 \text{ м}^3$$

Вибираємо найближчий за номінальним об'ємом реактор: $V_{\text{нр}} = 0,25 \text{ м}^3$ [44].

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

$$N_{\text{р}} = V_{\text{Аг}}/V_{\text{нр}} = 190/250 = 0,76. \text{ Приймаємо} - 1 \text{ од.}$$

Уточнюємо коефіцієнт заповнення реактора:

$$K_{\text{зр}} = V_{\text{А}}/(V_{\text{нр}} \cdot N_{\text{р}}) = 190/(250 \cdot 1) = 0,76$$

Оскільки уточнений коефіцієнт заповнення лежить практично в заданих межах (0,7 – 0,85), то приймаємо до установки кількість реакторів для приготування

композиції А – 1.

Після приготування композиція А стерилізується в реакторі, а потім передається до посівного апарату.

б) Підбираємо геометричний об'єм реактора-змішувача для композиції Б. Приблизний геометричний об'єм реактора-змішувача при заданому $K_{36} = 0,8$:

$$V_{AГ} = V_B / K_{36} = 759,96 / 0,8 = 949,95 \text{ л} = 0,95 \text{ м}^3$$

Вибираємо найближчий за номінальним об'ємом реактор: $V_{нр} = 1,0 \text{ м}^3$ [44].

Кількість реакторів при заданому K_{36} становить:

$$N_p = V_{BГ} / V_{нр} = 0,95 / 1,0 = 0,95. \text{ Приймаємо} - 1 \text{ од.}$$

Уточнюємо коефіцієнт заповнення реактора:

$$K_{зр} = V_B / (V_{нр} \cdot N_p) = 0,76 / (1 \cdot 1) = 0,76$$

Оскільки уточнений коефіцієнт заповнення лежить практично в заданих межах (0,7 – 0,85), то приймаємо до установки кількість реакторів для приготування композиції Б – 1.

Після приготування композиція Б передається до посівного апарату, де стерилізується.

в) Підбираємо геометричний об'єм реактора-змішувача для композиції В. Приблизний геометричний об'єм реактора-змішувача при заданому $K_{36} = 0,8$:

$$V_{BГ} = V_B / K_{36} = 118,51 / 0,8 = 148,1 \text{ л} = 0,15 \text{ м}^3$$

Найближчий за номінальним об'ємом реактор: $V_{нр} = 0,16 \text{ м}^3$ [14].

Кількість реакторів при заданому K_{36} становить:

$$N_p = V_{BГ} / V_{нр} = 0,15 / 0,16 = 0,94. \text{ Приймаємо} - 1 \text{ од.}$$

Уточнюємо коефіцієнт заповнення реактора:

$$K_{зр} = V_B / (V_{нр} \cdot N_p) = 0,12 / (0,16 \cdot 1) = 0,75.$$

Оскільки уточнений коефіцієнт заповнення лежить практично в заданих межах (0,7 – 0,85), то приймаємо до установки кількість реакторів для приготування композиції В – 1.

Після приготування композиція В стерилізується в реакторі, а потім передається до посівного апарату.

Розрахунок кількості реакторів-змішувачів для приготування середовища для

вирощування посівного матеріалу в інокуляторі об'ємом 160 л

Композиції для приготування поживного середовища готуються в реакторах-змішувачах для інокулятора об'ємом 160 л.

а) Підбираємо геометричний об'єм реактора-змішувача для композиції А. Приблизний геометричний об'єм реактора-змішувача при заданому $K_{36} = 0,8$:

$$V_{Aг} = V_A/K_{36} = 15,69/0,8 = 19,6 \text{ л}$$

Найближчий за номінальним об'ємом реактор: $V_{нр} = 20 \text{ л}$ [44].

Кількість реакторів при заданому K_{36} становить:

$$N_p = V_{Aг}/V_{нр} = 19,6/20 = 0,98. \text{ Приймаємо - 1 од.}$$

Уточнюємо коефіцієнт заповнення реактора:

$$K_{зр} = V_A/(V_{нр} \cdot N_p) = 15,69/ (20) = 0,79$$

Оскільки уточнений коефіцієнт заповнення лежить в заданих межах (0,7 – 0,85).

Отже, приймаємо до установки кількість реакторів для приготування композиції А – 1 запасний. Після приготування композиція А стерилізується в реакторі, а потім передається до інокулятора для змішування.

б) Підбираємо геометричний об'єм реактора-змішувача для композиції Б. Приблизний геометричний об'єм реактора-змішувача при заданому $K_{36} = 0,8$:

$$V_{Бг} = V_B/K_{36} = 76,4/0,8 = 95,5 \text{ л}$$

Найближчий за номінальним об'ємом реактор: $V_{нр} = 100 \text{ л}$.

Кількість реакторів при заданому K_{36} становить:

$$N_p = V_{Бг}/V_{нр} = 95,5/100 = 0,96. \text{ Приймаємо – 1 од.}$$

Уточнюємо коефіцієнт заповнення реактора:

$$K_{зр} = V_B/(V_{нр} \cdot N_p) = 76,4/ (100 \cdot 1) = 0,76$$

Приймаємо до установки кількість реакторів для приготування композиції Б – 1 запасний.

Після приготування композиція Б передається до інокулятору, де стерилізується.

в) Підбираємо геометричний об'єм реактора-змішувача для композиції В. Приблизний геометричний об'єм реактора-змішувача при заданому $K_{36} = 0,8$:

$$V_{Br} = V_B/K_{зб} = 11,95/0,8 = 14,9 \text{ л.}$$

Найближчий за номінальним об'ємом реактор: $V_{nr} = 20 \text{ л}$ [44].

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

$$N_p = V_{Br}/V_{nr} = 14,9/20 = 0,75. \text{ Приймаємо } - 1 \text{ од.}$$

Уточнюємо коефіцієнт заповнення реактора:

$$K_{зр} = V_B/(V_{nr} \cdot N_p) = 11,95/(20 \cdot 1) = 0,6.$$

Оскільки уточнений коефіцієнт заповнення менший заданих меж (0,7 – 0,85), то обираємо інший геометричний об'єм реактора, який замовляємо у виробника, $V_{nr2} = 15 \text{ л}$. Тоді уточнений коефіцієнт заповнення буде:

$$K_{зр} = V_B/(V_{nr2} \cdot N_p) = 11,95/(15 \cdot 1) = 0,8.$$

Приймаємо до установки кількість реакторів для приготування композиції Б – 1 запасний.

Після приготування композиція В стерилізується в реакторі, а потім передається до інокулятора для змішування.

Розрахунок кількості реакторів-змішувачів для приготування середовища для вирощування посівного матеріалу в інокуляторі геометричним об'ємом 20 л

Розрахунок реактора-змішувача для культуральної рідини після процесу біосинтеза

Підбираємо геометричний об'єм реактора-змішувача для культуральної рідини після процесу біосинтеза. Приблизний геометричний об'єм реактора-змішувача при заданому $K_{зб} = 0,8$:

$$V_{крг} = V_{кр}/K_{зб} = 9,01 + (9,01 \cdot 2) = 27 \text{ м}^3.$$

Продуктивність мікрофільтраційної установки 16 м^3 , тому доцільно встановити реактор-змішувач об'ємом: $13,5/0,8 = 16,9 \text{ м}^3$. Мікрофільтрація буде проходити у дві стадії: спочатку $13,5 \text{ м}^3$ і потім ще раз $13,5 \text{ м}^3$.

Найближчий за номінальним об'ємом реактор: $V_{nr} = 20 \text{ м}^3$.

Оскільки номінальний та приблизний об'єм реактора співпадають уточнення коефіцієнта заповнення реактора не проводимо.

Відповідно цей реактор використовується в процесі фільтрації культуральної рідини.

РОЗДІЛ 7. СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ

Специфікація обладнання, зображеного на апаратурній схемі, наведена в *табл. 7.1*

Таблиця 7.1

Специфікація обладнання ділянки допоміжних робіт, виробничого біосинтезу та післяферментаційних робіт виробництва ЕР

Позиція	Найменування	Кількість	Технічна характеристика (виробника)
1	2	3	4
З-1 Н-2 Р-3 Н-4 Д-5	СІР-мийка	1	СІР-мийка складається з двох ємностей, одна оснащена перемішувачем – 20-150 об/хв, паровою сорочкою, двома відцентровими насосами та об'ємно вагоми дозатором. Виробник: «GEA Pharm» (Німеччина) ¹
ПЗ-6	Пристрій для забору повітря	1	Пристрій для забору повітря OBR 260 T-2K, обладнаний металевою сіткою для видалення механічних забруднень, корпус, виготовлений з листового металу, покритого електростатичним порошком робоча температура від -30 до +60 °С. Виробник: «Bahcivan Motor» (Туреччина) ²
Ф-7	Фільтр грубої очистки повітря	1	Фільтр DF 0404 з керамічним фільтруючим елементом, призначений для фільтрації великих твердих частинок і емульсій розміром до 10 мкм з стисненого повітря. Клас 4 - ISO 8573-1. Виробник: «OMI» (Італія) ³
К-8	Компресор	1	Магнітний інверторний компресор модель BLT-15A PM+. Робочий тиск 7-10 бар, потужність 0,41-1,72 м ³ /хв. Виробник: «Volait» (Китай) ⁴
Т-9	Теплообмінник-охолоджувач	1	Теплообмінник-охолоджувач може бути налаштований на вертикальний потік повітря (стандартний) або горизонтальний потік повітря (на вибір). Посилений захист від корозії, включаючи гальванічні плавці та епоксидне покриття всього пучка труб. Робоча температура -30 °С до 150 °С. Виробник: «Dry Coolers» (США) ⁵

					НУХТ БТЕК 04.03.05. КР ПЗ		
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата			
Розробив		Мищук А.П.			Літ.	Арк.	Аркушів
Керівник		Буценко Л.М.				109	182
Консультант					Кафедра БТМ		
Зав. каф.		Пирог Т.П.					
					РОЗДІЛ 7. СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ		

Продовження табл. 7.1

1	2	3	4
P-10	Ресивер	1	Ресивер об'єм 0.25 – 0.90 м ³ , тиск 11-50 бар. Внутрішня та зовнішня гальванізація гарячого занулення до DIN EN ISO 1461, конструкція до стандарту AD-2000. Виробник: «Kaeser» (Німеччина) ⁶
T-11	Теплообмінник-нагрівач	1	Повітренагрівач AirToAir Welded. Максимальний робочий тиск 1,5 МПа, робоча температура 180 °С. В якості матеріалу використовується нержавіюча сталь, тому конденсація води не є критичною. Виробник: «Kelvion» (Німеччина) ⁷
Ф-12	Головний фільтр	1	Фільтр моделі NFC. Рейтингова шкала N 779: 2012 - G4, ефективність очистки - 90≤AM. HDPE / нетканий синтетичний / скловолокно. Температура до 145 °С. Виробник «Netfil» (Індія) ⁸
Обладнання для приготування поживного середовища для інокулятора об'ємом 160 л			
P-16	Реактор-змішувач для приготування та нагріву розчину солей	1	Реактор-змішувач об'ємом 100 л лінійки KOS-JB23, з нержавіючої сталі, оснащений паровою сорочкою та гомогенізуючим пристроєм (10-250 об/хв), d=500 мм, h=750 мм. Виробник: «Kosbest» (Китай) ⁹
P-17	Реактор-змішувач для приготування та стерилізації карбонату кальцію	1	Реактор-змішувач об'ємом 20 л, оснащений пропелерною мішалкою (10-200 об/хв) виготовлений із нержавіючої сталі 304, d=300 мм, h=450 мм. Виробник: «Laboao» (Китай) ¹⁰
P-20	Реактор-змішувач для приготування та стерилізації кукурудзяного екстракту та меляси	1	Реактор-змішувач об'ємом 20 л, оснащений пропелерною мішалкою (10-200 об/хв) виготовлений із нержавіючої сталі 304, d=300 мм, h=450 мм. Виробник: «Laboao» (Китай) ¹⁰
Обладнання для приготування поживного середовища для посівного апарата об'ємом 2000 л			
P-25	Реактор-змішувач для приготування та нагріву розчину солей	1	Реактор-змішувач об'ємом 1 м ³ лінійки KOS-JB23, з нержавіючої сталі, оснащений паровою сорочкою та гомогенізуючим пристроєм (10-200 об/хв), d=1000 мм, h=1500 мм. Виробник: «Kosbest» (Китай) ⁹

1	2	3	4
P-29	Реактор-змішувач для приготування та стерилізації карбонату кальцію	1	Реактор-змішувач об'ємом 250 л лінійки Pharma reactor. Полірована обшивка з нержавіючої сталі 316L, оптимізація перемішування OptiMix (20-300 об/хв), оснащений паровою сорочкою, d=700 мм, h=1050. Виробник: «De dietrich» (Франція) ¹¹
P-33	Реактор-змішувач для приготування та стерилізації кукурудзяного екстракту та меляси	1	Реактор-змішувач об'ємом 160 л лінійки Pharma reactor. Полірована обшивка з нержавіючої сталі 316L, оптимізація перемішування OptiMix (20-300 об/хв), оснащений паровою сорочкою, d=600 мм, h=900. Виробник: «De dietrich» (Франція) ¹¹
Обладнання для приготування поживного середовища ферментера об'ємом 20 м ³			
P-39	Реактор-змішувач для приготування та стерилізації підживлювального розчину	1	Реактори-змішувачі 1,6 м ³ , лінійки Pharma reactor. Полірована обшивка з нержавіючої сталі 316L, оптимізація перемішування OptiMix, оснащений паровою сорочкою. Швидкість перемішування мішалки (80-300 об/хв), d=1000 мм, h=1500. Виробник: «De dietrich» (Франція) ¹¹
P-58	Реактор-змішувач для приготування та стерилізації карбонату кальцію	1	Реактори-змішувачі 0,63 м ³ , лінійки Pharma reactor. Полірована обшивка з нержавіючої сталі 316L, оптимізація перемішування OptiMix, оснащений паровою сорочкою. Швидкість перемішування мішалки (80-300 об/хв), d=800 мм, h=1200. Виробник: «De dietrich» (Франція) ¹¹
P-47	Реактор-змішувач середовища для УБС	1	Реактор-змішувач об'ємом 8 м ³ лінійки KOS-JB23, з нержавіючої сталі, оснащений паровою сорочкою та гомогенізуючим пристроєм (10-200 об/хв), d=1600 мм, h=2400 мм. Виробник: «Kosbest» (Китай) ⁹
УБС–10: P–49 H–50 T–51 K–52 T–53 T–54 H–55	Установка безперервної стерилізації	1	Установка складається з реактора–змішувача об'ємом 8 м ³ , два відцентрових насоси з магнітною муфтою, колонки швидкісного нагріву, теплообмінника–витримувача та теплообмінника–рекуператора
Обладнання для приготування допоміжних розчинів			

1	2	3	4
P-41	Реактор-змішувач для приготування хлоридної кислоти	1	Реактор-змішувач об'ємом 30 л лінійки KOS-JB23, з нержавіючої сталі, гомогенізуючим пристроєм (10-250 об/хв), d=350 мм, h=525 мм. Виробник: «Kosbest» (Китай) ⁹
P-43	Реактор-змішувач для приготування та стерилізації гідроксиду натрію	1	Реактор-змішувач об'ємом 30 л, оснащений пропелерною мішалкою (10-200 об/хв) виготовлений із нержавіючої сталі 304, d=350 мм, h=525. Виробник: «Laboao» (Китай) ¹⁰
3-45	Збірник для пропанолу	1	Збірник об'ємом 40 л, виготовлений із нержавіючої сталі 304, d=400 мм, h=600 мм. Виробник: «Green Distillation» (Китай) ¹²
Допоміжне обладнання			
Д-19, 24, 27	Дозатор об'ємно-ваговий	3	Автоматичні об'ємно-вагові дозатори компанії – електронні ваги, які забезпечені контролем дозування. Багатоточне дозування за допомогою обертового екстрактора. Конструкція згідно стандартів DIN 1055 та Єврокоду UNI ENV 1991-4. Місткість до 10 кг (л) точність до 0,2 г (мл). Виробник: «TECHNOSILOS» Італія ¹³
Д-5, 31, 44, 56	Дозатор об'ємно-ваговий	4	Місткість до 50 кг (л) точність до 0,8 г (мл). Виробник: «TECHNOSILOS» Італія ¹³
Д-37, 46	Дозатор об'ємно-ваговий	2	Місткість до 500 кг (л) точність до 8 г (мл). Виробник: «TECHNOSILOS» Італія ¹³
Д-66, 70	Дозатор об'ємно-ваговий		Місткістю 5000 кг (л) точність до 80 г (мл). Виробник: «TECHNOSILOS» Італія ¹³
Ф-15, 18, 21, 23, 28, 32, 36, 38, 42, 57, 60	Фільтр індивідуальної очистки	11	HEPA фільтри моделі Super Flow тип F (IES-RP-CC001.3). Корпус алюміній анодований, E = 99,999% до 99,9999%, фільтруючі носії виготовлені з високоякісного імпортного мікро-тонкого боросилікатного паперу зі скловолокна. Виробник: «Тріјата» (Індія) ¹⁴
Н-26, 40, 48, 62, 64, 68, 72, 76	Насос відцентровий	8	Насос відцентровий з магнітною муфтою DM 10. Продуктивність до 1-13 м ³ /год, температурні параметри середовища, що перекачується від +3

Продовження табл. 7.1

1	2	3	4
			до +95 °С. Виробник: «DEBEM», Італія ¹⁵
Н-30, 34, 59		3	Насос відцентровий з магнітною муфтою ТМВ 10. Продуктивність 0,05-0,73 м ³ /год, температурні параметри середовища, що перекачується від 0 до +65 °С. Виробник: «DEBEM», Італія ¹⁶
Обладнання для підготовки інокуляту			
ЗП-13 ІН-14	Інокулятор	1	Біореактор об'ємом 20 л лінійки LiFlus SP, оснащений турбінною мішалкою (10-500 об/хв) та засівним пристроєм, система моніторингу на основі ПК, виготовлений із нержавіючої сталі SUS316L, d=300 мм, h=450 мм. Виробник: «Biotron» Австралія ¹⁷
I-24	Інокулятор	1	Біореактор лінійки LiFlus SP (100-200 л) об'ємом 160 л. З нержавіючої сталі SUS316L, система моніторингу на основі ПК, самоочищення з двома миючими СІР головками, турбінна мішалка (10-500 об/хв), d=600 мм, h=900. Виробник: «Biotron» Австралія ¹⁸
ПА-37	Посівний апарат	1	Біореактор компанії «Biotron» лінійки LiFlus SP. Об'єм 2 м ³ , з нержавіючої сталі (SUS316L), система моніторингу на основі ПК, самоочищення з двома миючими СІР головками, парова сорочка, гомогенізуючий пристрій, турбінна мішалка (10-500 об/хв), d=1200 мм, h=1800. Виробник: «Biotron» Австралія ¹⁹
ФР-63	Ферментер		Біореактор компанії «Biotron» лінійки LiFlus SP. Об'єм 20 м ³ , з нержавіючої сталі (SUS316L), система моніторингу на основі ПК, самоочищення з двома миючими СІР головками, парова сорочка, гомогенізуючий пристрій, турбінна мішалка (10-500 об/хв), d=2600 мм, h=3900. Виробник: «Biotron» Австралія ¹⁹
Обладнання для післяферментаційних процесів			
3-63	Збірник для культуральної рідини	1	Збірник об'ємом 20 м ³ лінійки KOS-JB23, з нержавіючої сталі, d=2600 мм,

Продовження табл. 7.1

1	2	3	4
			h=3900 мм. Виробник: «Kosbest» (Китай) ⁹
МФ-65	Мікрофільтраційна установка	1	Модульна мікрофільтраційна установка BTS-CMS-MF продуктивністю 16 м ³ , матеріал нержавіюча сталь SUS304. Фільтруюча поверхня 728 керамічних мембранних модулів CMF19040-100n та 8 модулів CMV91-30-1016mm з нанесеною напівпроникною мембраною з волокнистих кристалів карбиду кремнію – розмір пор 0,2-1 мкм. Сенсорний екран із PLC програмою Siemens S7-300. Насос подачі Andritz – потужність 100 м ³ /год, циркуляційний насос Andritz потужністю 1500 м ³ /г, насос на виході Andritz потужністю 50 м ³ /год. Виробник: «BTS Engineering» Велика Британія ²⁰
Концентрування розчину			
ВА-66	Роторно-плівковий випарний апарат	1	Роторно-плівковий випарний апарат, складається з сепаратору, розбризкуючого диска, гріючої камери, парова оболонка, ротором з лопатями. Виробник: «Reony» Велика Китай ²¹
Приготування допоміжних речовин для процесу екстракції та реекстракції			
P-68	Реактор для приготування цитратного буфера	1	Реактор-змішувач об'ємом 6,3 м ³ лінійки KOS-JB23, з нержавіючої сталі, гомогенізуючим пристроєм (10-250 об/хв), d=1600 мм, h=2400 мм. Виробник: «Kosbest» (Китай) ⁹
P-69	Реактор-змішувач для приготування гідроксиду натрію	1	Реактор-змішувач об'ємом 20 л, оснащений пропелерною мішалкою (10-200 об/хв) виготовлений із нержавіючої сталі 304, d=300 мм, h=450. Виробник: «Laboao» (Китай) ¹⁰
З-72	Збірник для тридеканола	1	Збірник об'ємом 8 м ³ лінійки KOS-JB23, з нержавіючої сталі, d=1600 мм, h=2400 мм. Виробник: «Kosbest» (Китай) ⁹
Екстракція та реекстракція			
ЕК-74	Змішувально-відстійний екстрактор	1	Змішувач-відстійник QVF виготовлений з боросилікатного скла. Ємність відстійників 8000 л, діапазон швидкостей мішалки Stirrer

Продовження табл. 7.1

1	2	3	4
			0-550 об/хв, потужність насосів для дозування 250-7500 л/год. Турбінні мішалки QVF® виготовлені з PTFE, розташовані над вхідним отвором подачі екстрагенту, це створює максимальний радіальний потік, всмоктувальна мішалка QVF виготовлена з боросилікатного скла, кільця зчеплення DN300mm виготовлені з нержавіючої сталі. Виробник: «De dietrich» Франція ²²
Допоміжне обладнання для кристалізації			
P-75	Реактор-змішувач для приготування гідроксиду натрію	1	Реактор-змішувач об'ємом 20 л, оснащений пропелерною мішалкою (10-200 об/хв) виготовлений із нержавіючої сталі 304, d=300 мм, h=450. Виробник: «Laboao» (Китай) ¹⁰
Обладнання для проведення кристалізації			
P-76	Реактор-змішувач для кристалізації	1	Реактор-змішувач для кристалізації об'ємом 12,5 м ³ , габаритні розміри (мм): d - 1800 мм; h - 2700 мм, матеріал - полірована обшивка з нержавіючої сталі 316L, оптимізація перемішування OptiMix (30-250 об/хв), оснащений паровою сорочкою. Виробник: «De dietrich» Франція ¹¹
Обладнання для відділення кристалічного осаду			
Ф-78	НУТЧ-фільтр	1	Нутч-фільтр FNB-3S Filter Dryer – робоча потужність 8 м ³ , робочий тиск 3 бара, конструкція відповідно до ASME VIII div.1 – AD-2000 – EN-13445, обшивка нержавіюча сталь AISI 316L, функції нагрівання та охолодження, система герметизації SUPERCLAMP, вивантаження осаду боковим клапаном. Виробник: «Bachiller», Іспанія ²³
Обладнання для висушування			
СП-80	Сушарка з псевдозрідженим станом	1	Сушарка з псевдозрідженим станом продуктивністю 8 л, зроблена відповідно до стандартів GMP, EHEDG та FDA. Матеріал – нержавіюча сталь AISI 316L та поліроване дзеркало Ra <0,5. PCL + HMI в ручному та автоматичному режимах, з редагуванням програм; стійкість до тиску 12 бар. Виробник: «STE» Іспанія ²⁴

1	2	3	4
Обладнання для пакування та маркування			
АМП-82	Стіл для пакування та маркування	1	Стіл для пакування та маркування
Допоміжне обладнання			
ПЄ-79, 81	Переносна ємність	2	Переносні ємності об'ємом 10 кг

Примітка.* Пошук і підбір обладнання здійснювався з використанням наступних електронних джерел:

1. <https://www.gea.com/en/products/cleaners-sterilizers/cip-sip/cip-for-pharma.jsp>;
2. <https://mir-ventilacii.com.ua/p87859817-ventilyator-obr-260.html>;
3. <http://www.enteksys.ru/catalog/magistralnye-filtry-omi/gruboj-ochistki-df>;
4. <https://www.bolaiteaircompressor.com/product/blt-pm-permanent-magnetic-inverter-compressor>;
5. <http://drycoolers.com/products/air-cooled-heat-exchangers>;
6. <https://www.kaeser.com/int-en/products/compressed-air-storage-and-pressure-maintenance/air-receivers/>;
7. <https://www.kelvion.com/products/product/airtoair/>;
8. http://www.netfil-ind.com/index.php?option=com_content&view=article&id=32&Itemid=146;
9. <https://www.kosbest.com/kos-jb23-mixing-tank-with-movable-cart-high-pressure-mixer-reactor-tank.html>;
10. <https://www.laboao.com/products/jacketed-glass-reactor/20l-jacketed-glass-reactor>;
11. <https://www.dedietrich.com/en/solutions-and-products/reaction/glass-lined-reactor/pharma-reactor>;
12. https://www.alibaba.com/product-detail/20l-electric-plug-flow-cosmetic-mixer_60762779804.html?spm=a2700.7724857.normalList.7.256b2affkdNNMV&s=p;
13. <https://www.directindustry.com/prod/technosilos/product-200002-2149953.html>;
14. <http://www.trijamafilters.com/clean-room-filters.html>;
15. https://www.debem.com.ua/nasos/nasosy_s_magnitnoj_muftoj/dm10/;
16. http://promnasos.com/catalog/centrifugal_chemical_pumps/argal/3400/;
17. https://biotron.en.ecplaza.net/products/liflus-sp30l-70l-fermenter_297662;
18. https://biotron.en.ecplaza.net/products/liflus-sp100l-200l-fermenter_297672;
19. https://biotron.en.ecplaza.net/products/liflus-sp30l-70l-fermenter_297662;
20. https://promnasos.pro/catalog/inzhiniring/filtratsionnye_ustanovki/ultrafiltratsiya/mikrofiltratsionnaya_ustanovka_na_keramicheskikh_membranakh_bts cms mf/;
21. <https://www.separator-centrifuge.com/sale-12620840-stainless-steel-cbd-extraction-system-line-with-rotary-evaporator-falling-film-evaporator-distillati.html>;
22. <https://www.dedietrich.com/en/solutions-and-products/extraction/liquid/liquid-extraction/mixer-settler-plant>;
23. <https://bachiller.com/en/agitated-nutsche-filters/nutsche-filter-dryer/#features>;
24. https://stetecpharm.com/our-products/fluidized-bed-dryers/fluidized-bed-dryer/?gclid=Cj0KCQjw0pfzBRCOARIsANi0g0sJFoGUfV55RwWXTV4kD6AxOVh0f_wdQfhGRAts9CRBna3vRXwYUwsaAr3bEALw_wcB.

шують до повного розчинення, потім для зручності з цієї ємності відбирають потрібну кількість миючого засобу для миття (до ДР 1.2.2).

ДР 1.2. Підготовка виробничих приміщень

ДР 1.2.1. Щоденне прибирання.

Щоденне прибирання приміщень проводиться за допомогою мийно-дезінфікуючого засобу «Dez-15» (від ДР 1.1.2) концентрацією 1 %. Під час щоденного прибирання миють підлогу та протирають ззовні апаратуру. Для перевірки мікробіологічної чистоти проводять мікробіологічний контроль (КУО < 800/см²). Відпрацьований розчин направляється (до ЗВ 16.1).

ДР 1.2.2. Генеральне прибирання

Генеральне прибирання заплановано проводять 1 раз на місяць включаючи миття дверей, стін та вікон, обробку повітроводів і вентиляційних камер, або при виявленні контамінації. При генеральному прибиранні використовують 1 % розчин дезінфікуючого засобу «Біолонг» (від ДР 1.1.3). Для перевірки мікробіологічної чистоти проводять мікробіологічний контроль (КУО < 300/см²). Відпрацьований розчин направляється (до ЗВ 16.1).

ДР 1.3 Підготовка обладнання та комунікацій

ДР 1.3.1. Миття та ополіскування обладнання

Для миття обладнання та комунікацій застосовують 0,3 % розчин «Біомой» у (від ДР. 1.1.1). Робочий розчин від СІР станції відцентровим насосом (Н-4) подають на миття обладнання. Робочим розчином промивають обладнання протягом 1 год при перемішуванні. Ополіскування здійснюють технічною водою кімнатної температури. Відпрацьований розчин направляється (до ЗВ 16.1).

ДР 1.3.2. Технічний огляд

Після миття та ополіскування ємкісного обладнання проводять його технічний огляд з метою виявлення можливих неущільнень в комунікаціях та запірній арматурі на обладнанні. У разі їх знаходження проводять підтягування різьбових з'єднань.

ДР 1.3.3. Перевірка обладнання на герметичність

Здійснюють пошук неущільнень за допомогою галогенових течієпошукачів. В апарат вносять невелику кількість гелію, знову закривають усю запірну арматуру.

Апарат нагрівають до температури 80 °С і збільшують тиск до 0,2 МПа. Пари гелію проникають через неущільнення і виявляються у разі наближення щупа течієпошукача до них. Тривалість операції – 1 год. У разі виявлення неущільнень здійснюють їх ліквідацію.

ДР 1.3.4. Стерилізація обладнання

Попередньо перед стерилізацією апарат нагрівають до температури 80 - 90 °С подачею глухої пари. Після досягнення температури відкривають усю запірну арматуру і подають насичену гостру водяну пару в апарат через барботер або нижній спуск, попередньо відкривши вентиль виходу відпрацьованого повітря для видалення повітря з апарату. При досягненні температури стерилізації $t_{ст} = 130-135$ °С закривають усю запірну арматуру на апараті, крім парової, і витримують заданий час стерилізації. При стерилізації апарата паралельно стерилізуються індивідуальні фільтри стерильного та відпрацьованого повітря. Після закінчення стерилізації у через барботер подають стерильне повітря, підтримуючи надмірний тиск 0,15—0,3 МПа. Після чого для охолодження до температури 30–40 °С і надлишкового тиску $P = 0,003-0,005$ МПа закривають запірну арматуру подачі пари та подають в сорочку холодну воду, для запобігання конденсації пари в апарат подають стерильне повітря.

ДР 2. Підготовка аераційного повітря

ДР 2.1. Забір атмосферного повітря

Атмосферне повітря забирають через повітрязабірник (ПЗ-6) на висоті 11 м.

ДР 2.2. Попереднє грубе очищення повітря

Попередню очистку повітря здійснюють у фільтрі (Ф-7), що забезпечує ступінь очищення 75 %.

ДР 2.3. Компресування повітря

Стиснення повітря відбувається за допомогою компресора (К-8), при цьому створюється тиск величиною 0,4 МПа, температура повітря підвищується від 220 до 250 °С. Знищується значна кількість контамінуючої мікрофлори.

ДР 2.4. Охолодження повітря та видалення зайвої вологи

Зайву вологу видаляють піддаванням повітря швидкому охолодженню до 20 °С у теплообмінному апараті (Т-9), після чого подають на ресивер (Р-10) для

видалення зайвої вологи до $W = 60 \%$.

ДР 2.5. Нагрівання повітря

Для запобігання утворення конденсату пари, охолоджене повітря у теплообміннику (Т-11) нагрівають до температури $35 \text{ }^\circ\text{C}$.

ДР 2.6. Очищення повітря в головному фільтрі

Повітря пропускають через головний фільтр (Ф-12), в якому фільтрувальним матеріалом є скловолокно. Ступінь очищення становить $E = 90 \%$.

ДР 2.7. Очищення повітря в індивідуальному фільтрі

Перед кожним апаратом встановлюють індивідуальний фільтр в якому фільтруючим матеріалом є мікро-тонкий боросилікатний папер із скловолокна. Ступінь очищення становить $E = 99,999 \%$.

ДР 3. Приготування та стерилізація титрувальних агентів

ДР 3.1. Приготування 6-% розчину HCl

У реактор-змішувач (Р-41) об'ємом 30 л наливають 16,6 л питної води, далі за допомогою мірного циліндру відміряють і додають 135 мл 36% розчину HCl на 1 л (2241 мл), перемішують до утворення однорідної суспензії за допомогою мішалки (80 об/хв). Після приготування подають самопливом у ферментер (ФР-61).

ДР 3.2. Приготування та стерилізація 6-% розчину NaOH для ферментера об'ємом 20 м³

На технічних вагах зважують 1067 г кристалічного NaOH. Наважку переносять в реактор-змішувач (Р-43) об'ємом 30 л, добавляють 18133 мл питної води і перемішують до повного розчинення за допомогою мішалки (80 об/хв), та стерилізують при температурі 131°C упродовж 50 хв, тиск 0,15 МПа (18 мл 6 % NaOH = 1 г кристалічного NaOH). Потім подають самопливом у ферментер (ФР-61).

ДР 4. Приготування пропанолу

ДР 4.1. Приготування пропанолу

Через об'ємно-ваговий дозатор (Д-44) зважують 32,2 л пропанолу та подають у збірник (З-55). Подача пропанолу як піногасника відбувається при реагуванні датчика для піногасіння.

ДР 4. Приготування і стерилізація 30 % розчину меляси та пропанолу для підживлення

ДР 4.1. Приготування і стерилізація розчину меляси та пропанолу для підживлення

Через об'ємно-ваговий дозатор (Д-37) зважують 289,2 кг меляси. Наважку переносять в реактор-змішувач (Р-39) об'ємом 1,6 м³, доливають 824,6 л питної води і перемішують до повного розчинення, та стерилізують при температурі 112 °С упродовж 30 хв, тиск 0,05 МПа. Після стерилізації через об'ємно-ваговий дозатор (Д-37) зважують 64,2 л пропанолу та добавляють в простелізований розчин меляси, перемішуючи до повного розчинення. За допомогою відцентрового насосу (Н-40) подають композицію в ферментер (ФР-61).

ДР 6. Підготовка реагентів для екстракції й кристалізації

ДР 6.1. Приготування 1 М розчину гідроксиду натрію

Для приготування 11,3 л 1 М розчину гідроксиду натрію на технічних вагах зважують 452 г кристалічного гідроксиду натрію. Наважку подають у реактор об'ємом 20 л (Р-70), доливають 10,85 л питної води й гомогенізують. Після приготування подають самопливом в змішувально-відстійний екстрактор (ЕК-74).

ДР 6.2. Приготування тридеканолу

Через об'ємно-ваговий дозатор (Д-71) зважують 5620 л тридеканолу та спрямовують у збірник об'ємом 8 м³ (З-72). Після приготування відцентровим насосом (Н-73) подають композицію в змішувально-відстійний екстрактор (ЕК-74).

ДР 6.3. Приготування цитратного буфера

Для приготування 4649 л цитратний буфера рН 4,8 у реактор об'ємом 6,3 м³ (Р-68) через об'ємно-ваговий дозатор (Д-67) зважують: 409,1 кг - лимоннокислого натрію 0,1-н., 55,8 кг - HCl 0,1-н. [70], доливають 5184,1 л питної води й перемішують гомогенізуючим пристроєм до повного розчинення (80 об/хв). Після приготування за допомогою відцентрового насосу (Н-69) подають буфер в змішувально-відстійний екстрактор (ЕК-74).

ДР 6.4. Приготування 10 % розчину гідроксиду натрію

Для приготування 16,1 л 10 % розчину гідроксиду натрію на технічних вагах

зважують 1,61 кг кристалічного гідроксиду натрію. Наважку подають у реактор об'ємом 20 л (Р-74), доливають 14,5 л питної води й перемішують до повного розчинення (80 об/хв). Після приготування подають самопливом в змішувально-відстійний екстрактор (Р-76).

ДР 7. Підготовка сушильного агента

ДР 7.1. Нагрів очищеного повітря

Атмосферне повітря подається газодувкою в калорифер, де нагрівається за рахунок конденсації гріючої пари до температури 130 °С, а потім подається в сушарку з псевдозрідженим станом (СШ-80) для висушування кристалічного осаду ЕР.

ДР 8. Приготування та стерилізація поживного середовища

ДР 8.1 Приготування та стерилізація поживного середовища для вирощування інокуляту об'ємом 955 мл в колбах на качалках

Вміст компонентів для приготування 955 мл середовища наведено у *табл. 8.1*.

Таблиця 8.1

Розрахунок вмісту компонентів для приготування 955 мл середовища

Компонент поживного середовища	Вміст, мг/мл	Кількість для приготування 955 мл середовища, г (мл)	Композиція	Об'єм композиції, V, мл
1	2	3	4	5
Меляса	30,0	28,65	А	129,88
кукурудзяний екстракт	4,0	3,82		
Вода		97,41		
(NH ₄) ₂ S ₀ ₄	2,0	1,91	Б	715,36
NaCl	2,5	2,39		
Вода		711,05		

1	2	3	4	5
CaCO ₃	5,0	4,77	В	109,76
Вода		104,99		
Разом:		955		955

ДР 8.1.1 Приготування і стерилізація композиції А

На технічних вагах зважують 28,65 г меляси і 3,82 г кукурудзяного екстракту. Наважки поміщають у колбу об'ємом 250 мл, доливають 97,41 мл питної води, перемішують. Закривають колбу ватно-марлевою пробкою і стерилізують в автоклаві при температурі 112 °С, тиску 0,05 МПа упродовж 30 хв.

ДР 8.1.2 Приготування і стерилізація композиції Б

На технічних вагах зважують 1,91 г (NH₄)₂S₀₄ і 2,39 г NaCl. Наважки поміщають у колбу об'ємом 1 л, доливають 711,05 мл питної води, перемішують. Закривають колбу ватно-марлевою пробкою і стерилізують в автоклаві при температурі 131 °С, тиску 0,15 МПа упродовж 50 хв.

ДР 8.1.3 Приготування і стерилізація композиції В

На технічних вагах зважують 4,77 г CaCO₃. Наважку поміщають у колбу об'ємом 250 мл, доливають 104,99 мл питної води, перемішують. Закривають колбу ватно-марлевою пробкою і стерилізують в автоклаві при температурі 131 °С, тиску 0,15 МПа упродовж 50 хв.

ДР 8.2. Приготування та стерилізація поживного середовища для вирощування посівного матеріалу в інокуляторі об'ємом 20 л

Для одержання посівного матеріалу для наступних операцій на даному етапі необхідно приготувати 10,51 л поживного середовища.

Вміст компонентів для приготування 10,51 л поживного середовища наведено в табл. 8.2

Розрахунок вмісту компонентів для приготування 10,51 л поживного середовища

Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	Кількість для приготування 10,51 л середовища, кг (л)	Композиція	Об'єм композиції, V, л
Меляса	30,0	0,315	А	1,675
кукурудзяний екстракт	4,0	0,042		
Вода		1,18		
Конденсат		0,138		
(NH ₄) ₂ S ₀ ₄	2,0	0,021	Б	7,581
NaCl	2,5	0,026		
Вода		6,747		
Конденсат		0,787		
CaCO ₃	5,0	0,053	В	1,254
Вода		1,08		
Конденсат		0,121		
Разом:		10,51		10,51

ДР 8.2.1 Приготування і стерилізація композиції А

На технічних вагах зважують 315 г меляси і 42 г кукурудзяного екстракту. Наважки поміщають у колбу об'ємом 2 л, доливають 1,18 л питної води, перемішують. Закривають колбу ватно-марлевою пробкою і стерилізують в автоклаві при температурі 112 °С, тиску 0,05 МПа упродовж 30 хв. Після стерилізації додають до інокулятора (ІН-14).

ДР 8.2.2 Приготування і стерилізація композиції Б

На технічних вагах зважують 21 г (NH₄)₂S₀₄ і 26 NaCl. Наважки поміщають у

колбу об'ємом 10 л, доливають 6,75 л питної води, перемішують. Закривають колбу ватно-марлевою пробкою і стерилізують в автоклаві при температурі 131 °С, тиску 0,15 МПа упродовж 50 хв. Після стерилізації додають до інокулятора (ІН-14).

ДР 8.2.3 Приготування і стерилізація композиції В

На технічних вагах зважують 53 г CaCO₃. Наважку поміщають у колбу об'ємом 2 л, доливають 1,08 л питної води, перемішують. Закривають колбу ватно-марлевою пробкою і стерилізують в автоклаві при температурі 131 °С, тиску 0,15 МПа упродовж 50 хв. Після стерилізації додають до інокулятора (ІН-14).

ДР 8.3. Приготування та стерилізація поживного середовища для вирощування посівного матеріалу в інокуляторі об'ємом 0,16 м³

Для одержання посівного матеріалу для наступних операцій на даному етапі необхідно приготувати 104,04 л поживного середовища.

Вміст компонентів для приготування 104,04 л поживного середовища наведено в *табл. 8.3*

Таблиця 8.3

Розрахунок вмісту компонентів для приготування 104,04 л поживного середовища

Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	Кількість для приготування 104,04 л середовища, кг (л)	Композиція	Об'єм композиції, V, л
1	2	3	4	5
Меляса	30,0	3,12	А	15,69
кукурудзяний екстракт	4,0	0,416		
Вода		10,88		
Конденсат		1,27		
(NH ₄) ₂ S0 ₄	2,0	0,208		

1	2	3	4	5
NaCl	2,5	0,260	Б	76,40
Вода		68,00		
Конденсат		7,93		
CaCO ₃	5,0	0,520	В	11,95
Вода		10,24		
Конденсат		1,19		
Разом:		104,04		104,04

ДР 8.3.1. Приготування та стерилізація композиції А

Через об'ємно-ваговий дозатор (Д-19) зважують 3,12 кг меляси та 416 г кукурудзяного екстракту. Наважки переносять у реактор-змішувач об'ємом 20 л (Р-23), доливають 10,88 л питної води, вмикають мішалку (80 об/хв) та перемішують до повного розчинення. Після чого, подають гостру пару в апарат до температури 112 °С, тиск 0,05 МПа та стерилізують упродовж 30 хв. Отриману простерилізовану суспензію із реактора самопливом подають у попередньо простерилізований інокулятор об'ємом 0,16 м³ (ІН-22).

ДР 8.3.2. Приготування та стерилізація композиції Б

На технічних вагах зважують 208 г (NH₄)₂S₀₄ та 260 г NaCl. Наважки переносять у реактор-змішувач об'ємом 100 л (Р-16), доливають 68,00 л питної води, вмикають мішалку (80 об/хв) та перемішують до повного розчинення. Отриману суспензію із реактора самопливом подають у попередньо простерилізований інокулятор (ІН-22), де стерилізують композицію гострою парою при температурі 131 °С, тиск 0,15 МПа упродовж 50 хв.

ДР 8.3.3. Приготування та стерилізація композиції В

На технічних вагах зважують 520 г CaCO₃. Наважку переносять у реактор-змішувач об'ємом 20 л (Р-17), доливають 10,24 л питної води, вмикають мішалку (80 об/хв) та перемішують до повного розчинення. Стерилізують композицію гострою парою при температурі 131 °С, тиск 0,15 МПа упродовж 50 хв. Отриману

простерилізовану суспензію із реактора самопливом подають у попередньо простерилізований інокулятор (ІН-22).

ДР 8.4. Приготування та стерилізація поживного середовища для вирощування посівного матеріалу в посіному апараті об'ємом 2 м³

Для одержання посівного матеріалу для наступних операцій на даному етапі необхідно приготувати 1,031 м³ поживного середовища.

Вміст компонентів для приготування 1,031 м³ поживного середовища наведено в табл. 8.4

Таблиця 8.4

Розрахунок вмісту компонентів для приготування 1,031 м³ поживного середовища

Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	Кількість для приготування 1,031 м ³ середовища, кг (л)	Композиція	Об'єм композиції, V, л
1	2	3	4	5
Меляса	30,0	30,93	А	152,53
кукурудзяний екстракт	4,0	4,13		
Вода		105,18		
Конденсат		12,29		
(NH ₄) ₂ SO ₄	2,0	2,06	Б	759,96
NaCl	2,5	2,57		
Вода		676,5		
Конденсат		78,83		
CaCO ₃	5,0	5,16	В	118,51
Вода		101,5		
Конденсат		11,85		

1	2	3	4	5
Разом:		1031		1031

ДР 8.4.1. Приготування та стерилізація композиції А

Через об'ємно-ваговий дозатор (Д-31) зважують 30,93 кг меляси та 4,13 кг кукурудзяного екстракту. Наважку переносять у реактор-змішувач об'ємом 250 л (Р-33), доливають 105,18 л питної води, вмикають мішалку (80 об/хв) та гомогенізують. Після чого, подають гостру пару в апарат до температури 112 °С, тиск 0,05 МПа та стерилізують упродовж 30 хв. Отриману простерилізовану суспензію із реактора перекачують відцентровим насосом (Н-34) у попередньо простерилізований посівний апарат об'ємом 2 м³ (ПА-35).

ДР 8.4.2. Приготування та стерилізація композиції Б

Через об'ємно-ваговий дозатор (Д-24) зважують 2,06 кг (NH₄)₂S₀₄ та 2,57 NaCl. Наважки спрямовують у реактор-змішувач об'ємом 1 м³ (Р-25), доливають 676,5 л питної води, вмикають мішалку (80 об/хв) та гомогенізують. Отриману суспензію із реактора перекачують відцентровим насосом (Н-26) у попередньо простерилізований посівний апарат (ПА-35), де стерилізують композицію гострою парою при температурі 131 °С, тиску 0,15 МПа упродовж 50 хв.

ДР 8.4.3. Приготування та стерилізація композиції В

Через об'ємно-ваговий дозатор (Д-27) зважують 5,16 кг CaCO₃. Наважку спрямовують у реактор-змішувач об'ємом 160 л (Р-29), доливають 101,5 л питної води, вмикають мішалку (80 об/хв) та гомогенізують. Стерилізують композицію гострою парою при температурі 131 °С, тиск 0,15 МПа упродовж 50 хв. Отриману простерилізовану суспензію із реактора перекачують відцентрового насосу (Н-30) у попередньо простерилізований посівний апарат (ПА-35).

ДР 8.5. Приготування та стерилізація поживного середовища для виробничого біосинтезу в ферментері об'ємом 20 м³

Для вирощування інокуляту на даному етапі необхідно приготувати 7,74 м³ поживного середовища. Вміст компонентів для приготування 7,74 м³ поживного середовища наведено в табл. 8.5

Розрахунок вмісту компонентів для приготування 7,74 м³ поживного середовища

Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	Кількість для приготування 7,74 м ³ середовища, кг (л)	Композиція	Об'єм композиції, V, л
Меляса	30,0	289,2	А	7341
Кукурудзяний екстракт	4,0	38,6		
NaCl	2,5	24,1		
(NH ₄) ₂ SO ₄	2,0	19,3		
Вода		5820		
Конденсат		1550		
Разом:		7741		7741

ДР 8.5.1. Приготування та стерилізація композиції А

Через об'ємно-ваговий дозатор (Д-46) зважують 289,2 кг меляси, 38,6 кг кукурудзяного екстракту, 24,1 кг NaCl, 19,3 кг (NH₄)₂SO₄. Наважки спрямовують у реактор-змішувач (Р-47), доливають 5820 л води, вмикають мішалку (80 об/хв) та гомогенізують. Далі за допомогою УБС-10 проводиться стерилізація компонентів. Простерилізовану композицію перекачують відцентровим насосом (Н-55) у попередньо простерилізований ферментер об'ємом 20 м³ (ФР-61).

ДР 8.5.2 Приготування та стерилізація композиції Б

Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	Кількість для приготування 0,577 м ³ середовища, кг (л)	Композиція	Об'єм композиції, V, л
1	2	3	4	5

1	2	3	4	5
CaCO ₃	5,0	48,2	Б	519,3
Вода		471,1		
Конденсат		57,7		
Разом:		577		577

Через об'ємно-ваговий дозатор (Д-56) зважують 48,2 кг CaCO₃. Наважки переносять у реактор-змішувач об'ємом 630 л (Р-58), доливають 471,1 л питної води, вмикають мішалку (80 об/хв) та гомогенізують. Після чого, подають гостру пару в апарат до температури 131 °С, тиск 0,15 МПа та стерилізують упродовж 50 хв. Отриману простерилізовану суспензію із реактора перекачують відцентровим насосом (Н-59) у попередньо простерилізований ферментер (ФР-61).

ТП 9. Підготовка посівного матеріалу

*ТП 9.1. Підтримання колекційної культури *S.erythraea* NCIMB 8594*

Колекційну культуру *S.erythraea* NCIMB 8594 зберігають в пробірках зі скошеним агаризованим середовищем ISP-2 при температурі 2-4 °С. [7]. Пересіви здійснюють кожні 2–3 місяці. Всі роботи з колекційною культурою проводяться строго в асептичних умовах.

*ТП. 9.2. Одержання робочої культури *S.erythraea* NCIMB 8594 на агаризованому середовищі*

Чашки петрі з агаризованим середовищем складу ISP-2 (г/л): агар – 20, солодовий екстракт – 10, дріжджовий екстракт – 4, декстроза – 4, інокуляють культурою *S.erythraea* NCIMB 8594 та інкубують при температурі 28 °С упродовж 24 год. Відсутність сторонньої мікробіоти.

*ТП 9.3. Вирощування культури *S.erythraea* NCIMB 8594 на агаризованому середовищі*

Отримані ізольовані колонії *S.erythraea* NCIMB 8594 пересівають в пробірки зі скошеним агаризованим середовищем ISP-2 та інкубують при температурі 28 °С упродовж 10 діб.

ТП 9.4. Вирощування інокуляту в колбах на качалках

Для вирощування рідкого посівного матеріалу у колбу об'ємом 1 л із 717,35 мл розчину композиції Б (від ДР 8.1.2) в асептичних умовах вносять 129,88 мл розчину композиції А (від ДР 8.1.1) та 109,76 мл розчину композиції В (від ДР 8.1.3). Перемішують і розливають стерильним мірним циліндром (200 мл) по 136,7 мл у сім качалочних колб об'ємом 750 мл.

У пробірку з робочою культурою *S.erythraea* NCIMB 8594, вирощену на агаризованому середовищі ISP-2, вносять 5 мл фізіологічного розчину, суспендують клітини, піпеткою відбирають одержану спорову суспензію і вносять у колби з розлитим поживним середовищем. Для засіву однієї колби використовують спорову суспензію (в концентрації $1 \cdot 10^8$ спор/мл).

Культивування *S.erythraea* NCIMB 8594 здійснюють в колбах на качалці (200 об/хв) впродовж 90 год, температура 30 °С. Після вирощування інокуляту здійснюють мікробіологічний контроль в кожній колбі.

Після перевірки посівного матеріалу на відсутність сторонньої мікробіоти, в лабораторному боксі посівний матеріал зливають в стерильну засівну колбу об'ємом 2 л.

ТП 9.5. Вирощування посівного матеріалу в інокуляторі об'ємом 20 л

В простерилізований інокулятор (І-14), вносять в асептичних умовах композицію А (від ДР 8.2.1), композицію Б (від ДР 8.2.2), композицію В (від ДР 8.2.3). Перед внесенням посівного матеріалу, відбирають пробу для проведення мікробіологічного контролю.

Посівний матеріал (від ТП 9.4) подають в асептичних умовах через стерильну засівну колбу, об'ємом 2 л.

Вмикають мішалку, подають стерильне повітря в барботер, для підтримання температури 30 °С подають глуху пару в рубашку, швидкість обертання мішалки 160 об/хв та культивують впродовж 72 год. Кожні 8 год відбирають проби для проведення мікробіологічного контролю.

ТП 9.6. Вирощування посівного матеріалу в інокуляторі об'ємом 160 л

В простерилізований інокулятор (ІН-22), самопливом подають в асептичних умовах композицію А (від ДР 8.3.1), композицію Б (від ДР 8.3.2), композицію В (від

ДР 8.3.3). Перед внесенням посівного матеріалу, відбирають пробу для проведення мікробіологічного контролю.

Посівний матеріал (від *ТП 9.5*) перекачують через трубу перетискування з інокулятора (ІН-14).

Вмикають мішалку, подають стерильне повітря в барботер, для підтримання температури 30 °С подають глуху пару в рубашку, швидкість обертання мішалки 160 об/хв та культивують впродовж 72 год. Кожні 8 год відбирають проби для проведення мікробіологічного контролю.

ТП 9.7. Вирощування посівного матеріалу в посівному апараті об'ємом 2 м³

В посівний апарат (П-35), за допомогою відцентрових насосів перекачують (Н-26, Н-30, Н-34) в асептичних умовах композицію А (від *ДР 8.4.1*), композицію Б (від *ДР 8.4.2*), композицію В (від *ДР 8.4.3*). Перед внесенням посівного матеріалу, відбирають пробу для проведення мікробіологічного контролю.

Посівний матеріал (від *ТП 9.6*) перекачують через трубу перетискування з інокулятора (ІН-22).

Вмикають мішалку, подають стерильне повітря в барботер, для підтримання температури 30 °С подають глуху пару в рубашку, швидкість обертання мішалки 160 об/хв та культивують впродовж 72 год. Кожні 8 год відбирають проби для проведення мікробіологічного контролю.

ТП 10. Біосинтез

ТП 10.1. Виробниче культивування

У ферментер (ФР-61) після УБС відцентривомі насосами (Н-55, 59) подається стерильна композиція А (від *ДР 8.5.1*) та композиція Б (від *ДР 8.5.2*). Перед внесенням посівного матеріалу, відбирають пробу для проведення мікробіологічного контролю.

Посівний матеріал (від *ТП 9.7*) перекачують через трубу перетискування з інокулятора (ПА-38).

Для культивування швидкість перемішування становить 160 об/хв, надлишковий тиск 0,02 МПа та температура 30 °С. Тривалість культивування становить 144 год. Відсутність сторонньої мікробіоти. Додатково вносять мелясно–

пропаноловий розчин для підживлення. Починаючи з 72 години виробничого біосинтезу до 132 години кожні 10 годин буде подаватися 39,72 л розчину (від ДР 5.1).

Також з метою запобігання піногасіння по сигналу датчика подається пропанол (від ДР 4.1).

Кожні 8 год відбирають проби для проведення мікробіологічного контролю та починаючи з 72 години відбирають проби для визначення концентрації еритроміцину та біомаси. Процес культивування зупиняється при досягненні концентрації ЕР 0,8 г або 144 год.

Для регулювання рН (6,8-7,0) процесу біосинтезу по сигналу датчика подається 6 % розчину HCl (від ДР 3.1) або 6 % розчин NaOH (від ДР 3.2).

ТП 11. Відділення біомаси

ТП 11.1. Мікрофільтрація й концентрування на мембранних фільтраційних модулях

Культуральну рідину об'ємом 9,01 м³ (від ДР 10.1) відцентровим насосом (Н-62) подають двома порціями по 4,5 м³ в збірник культуральної рідини об'ємом 20 м³ (З-63) де розводять з 9 м³ питною водою у співвідношенні 1:2.

Зі збірника відцентровим насосом (Н-64) перекачують культуральну рідину на модульну мікрофільтраційну установку (МФ-65) для мікрофільтрації та концентрування в тангенціальному режимі з високою лінійною швидкістю потоку фільтрованої рідини в каналі фільтраційного елементу (від 4 до 6 м/с), діаметр пор 0,2 мкм, температура проведення процесу 40 °С. Продуктивність мікрофільтраційної установки 13,5 м³/год. Час фільтрації становить – 2 години. Концентрат перекачують відцентровим насосом мікрофільтраційної установки на стадію концентрування ЕР (до ТП 12.1).

Вологий осад направляється до знешкодження твердих відходів (до ЗВ 16.3).

ТП 12. Концентрування розчину

ТП 12.1. Концентрування розчину на роторно-плівковому випарному апараті

Після мікрофільтрації (від ТП 11.1) 24434 л пермеату перекачують на стадію концентрування. Концентрують шляхом нагріву пермеату до 60 °С при вакуумі, час

перебування рідини в установці 20 с, коефіцієнт випарювання 4. Після закінчення процесу 5620 л концентрат подають на стадію екстракції ЕР (до *ТП 13.1*).

ТП 13. Виділення еритроміцину

ТП 13.1. Екстракція еритроміцину

На змішувально-відстійний екстрактор (ЕК-74), а саме у ємнісний апарат з мішалкою подається 5620 л концентрату, доводять рН до 9,0 подачею 1 М розчину гідроксиду натрію (*від ДР 6.1*) та перекачують відцентровим насосом (Н-73) 5620 л екстрагента тридеканолу (*від ДР 6.2*). Перемішують 10-15 хв при 80 об/хв та зливають у відстійник. У відстійнику реакційна суміш поділяється на водну й органічну фазу (відповідно до густини фаз). Органічну фазу подають в наступний ємнісний апарат з мішалкою (*до ТП 13.2*).

Водна фаза направляється до знешкодження рідких відходів (*до ЗВ 16.1*).

ТП 13.2. Реекстракція еритроміцину

У другий ємнісний апарат з мішалкою подається органічна фаза реакційної суміші (*від ТП 13.1*), також для реекстракції перекачують відцентровим насосом (Н-69) 4639 л цитратного буфера від реактора (Р-67). Перемішують 5 хв при 80 об/хв та зливають у другий відстійник, де відбувається утворюється реекстракт й тридеканол. Тридеканол не потребує відновленню, тому його знову подають в збірник (З-71). Реекстракт подають на стадію кристалізації (*до ТП 14.1*).

ТП 14. Отримання сухого еритроміцину

ТП 14.1. Кристалізація еритроміцину

У реактор-змішувач об'ємом 12,5 м³ (Р-65) перекачують 8048 л реекстракту відцентровим насосом екстракційної установки (*від ТП 13.2*) та доводять рН до 10,5 подачею 10 % розчину гідроксиду натрію (*від ДР 6.4*). ЕР випадає у осад протягом 40-100 хв, температура кристалізація ± 35 °С. Реакційну суміш перекачують відцентровим насосом (Н-76) на стадію фільтрації (*до ТП 14.2*)

ТП 14.2. Фільтрація осаду на НУТЧ фільтри

Після кристалізації (*від ТП 14.1*) реакційна суміш фільтрується на нутч-фільтрі (Ф-78) продуктивністю 8 м³, діаметр пор 120 мкм, фільтр працює під атмосферним тиском (600 мм. рт. ст). Після фільтрації 5,6 кг кристалічний осад вивантажують у

переносну ємність та спрямовують на стадію висушування (до *ТП 14.3*).

Маточний розчин направляється до знешкодження рідких відходів (до *ЗВ 16.1*).

ТП 14.3. Висушування кристалів еритроміцину

Вологий осад ЕР (від *ТП 14.2*) завантажують до сушарки з киплючим шаром (СШ-80) та подають під решітку сушильної установки підготовлений сушильний агент температура 130 °С (від *ДР 7.1*). Готовий висушений продукт спрямовують на етап ПМА (до *ПМВ 15.1*).

ПМВ 15. Пакування, маркування та відвантаження готової продукції

ПМВ 15.1. Пакування в поліетиленові пакети

Сухий порошок після висушування (від *ТП 14.3*) розфасовують у подвійні поліетиленові пакети по 1 кг кожний.

ПМВ 15.2. Пакування в волокнистий барабан

Поліетиленові пакети (від *ПМВ 15.1*) розфасовують у волокнисти барабан, вкладають документ на АФІ (назва підприємства-виробника, масу нетто, номер партії, термін та умови зберігання, особливі відмітки) та спрямовують на маркування.

ПМВ 15.3. Маркування

Фінальний етап виробництва на якому відбувається нанесення назви цільового продукту, дати виготовлення та продукція відвантажується на склад.

ЗВ 16. Знешкодження відходів

Для очищення рідких відходів (від *ДР 1.2.1, 1.2.2, 1.3.1, 13.1, 14.2*), їх спрямовують у комбінований (гібридний) біореактор, який складається з двох частин: верхня частина (25-40% від загального обсягу) заповнена завантаженням і функціонує як анаеробний біофільтр, а нижня, що не заповнена завантажувальним матеріалом, являє собою UASB-зону. Біореактор можна розглядати як анаеробний біофільтр з «укороченим» шаром завантаження або як UASB-реактор з газо-муло віддільним пристроєм у вигляді завантажувального матеріалу. Досвід експлуатації гібридних біореакторів показав, що сильного обростання завантажувального матеріалу біоплівки не спостерігається, концентрація біомаси в завантажувальному

шарі становить 2-6 кг/м³.

Для очищення газоподібних відходів (від ДР 1.3.3, 1.3.4, 1.3.4, 9.5, 9.6, 9.7, 10.1, 14.3), їх спрямовують у систему «циклон + фільтр сітчастий (Ц-ФС)». Ефективність цієї системи становить 99,97 %.

Підраховано (від ДР 11.1), що на цикл виробництва еритроміцину утворюється 91,9 кг сухого міцелію *Saccharopolyspora erythrae* NCIMB 8594, 238 кг баластних речовин. Пропоную систему термічної деконтамінації біологічних відходів. Ефективність термічної обробки визначається декількома критеріями: час, температура. Перевагами використання безперервної системи:

- легке керування процесами (два параметри – час та температура);
- безпека (відсутність роботи з хімікатами);
- компактність (можна розмістити у будь-якому приміщенні).

РОЗДІЛ 9. КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА

9.1. Міжопераційний контролю виробництва

Упродовж процесу біосинтезу з періодичністю 6-8 годин відбирають проби культуральної рідини для визначення концентрації біомаси та ЕР, проведення мікробіологічного контролю, а також вмісту джерела вуглецю (різноманітні цукри) та азоту (кукурудзяний екстракт). Карту постадійного контролю зображено у *табл. 9.2.*

9.1.1. Мікробіологічний контроль

Мікробіологічний контроль здійснюється двома послідовними стадіями: **прямий висів** на агаризовані середовища та **мікроскопіювання**.

Прямий висів проводять на 3 середовища: МПА (для виявлення бактерій), СА (для грибів та дріжджів), DSMZ Medium 65 (для виявлення бактерій роду *Streptomyces*).

На МПА візуально можна побачити круглі колонії 2-4 мм в діаметрі, покритих білуватим міцелієм.

На середовищі DSMZ Medium 65 спостерігається *S. erythraea* NCIMB 8594 утворює колонії: форма колоній – неправильна; діаметр колоній 1,5 мм ± 0,1; поверхня колонії – зморшкувата; профіль колонії – кратероподібний; колір колоній – червоно-помаранчевий та з виділення пігменту червоно-помаранчевого кольору; блискучість – колонія має певні відблиски білого кольору; край колоній – зубчастий; структура колоній – однорідна з дрібною зернистістю (*рис. 9.1*).

Після виявлення колоній проводять **мікроскопіювання** у світловому полі мікроскопа. Для цього попередньо готують репарат «роздавлена крапля»: у центр знежиреного предметного скла наносять краплю фізіологічного розчину й вносять до неї за допомогою бактеріологічної петлі невелику кількість культури бактерій, змішують. На досліджуваний матеріал кладуть покривне скло так, щоб не було пухирців повітря. Мікроскопіювання проводять при збільшенні у 90 разів [71].

					НУХТ БТЕК 04.03.05. КР ПЗ			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розробив	Мицук А.П.				РОЗДІЛ 9. КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА	Літ.	Арк.	Аркушів
Керівник	Буценко Л.М.						133	182
Консультант						Кафедра БТМ		
Зав. каф.	Пирог Т.П.							

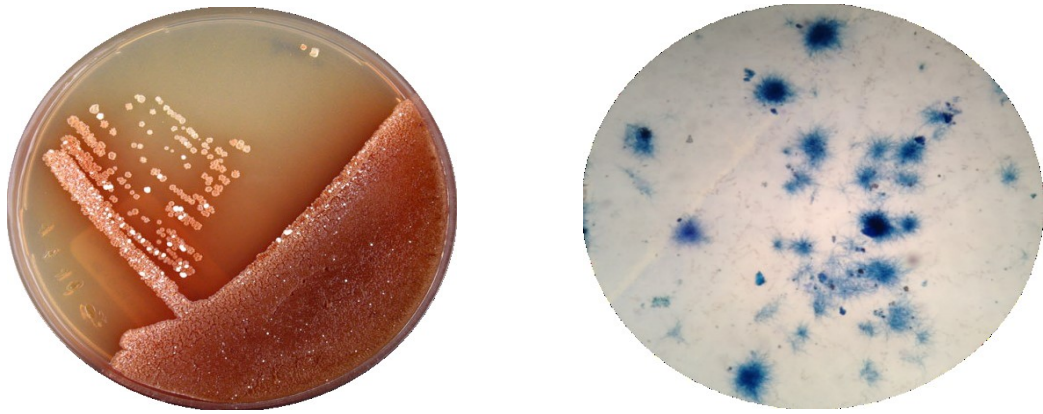


Рис. 9.1. Культура S. erythraea NCIMB 8594: а) на середовищі DSMZ Medium 65; б) у світловому полі мікроскопа (x90) [40]

Також потрібно провести мікробіологічний контроль стерильності поживних середовищ для вирощування культури. Для цього перед засівом відбирають 1 мл рідкого поживного середовища та гомогенізують у пробірці з 9 мл стерильної питної води. Потім градуйованою піпеткою відбирають 0,1 мл проби та засівають на поверхню МПА та СА. Внесену пробу рівномірно розподіляють по поверхні середовищ за допомогою стерильного шпателя Дригальського. Чашки інкубують в термостаті при температурі 32-34 °С протягом 1-2 діб для МПА та при температурі 24-26 °С протягом 3-5 діб для СА

9.2. Методи визначення показників росту і синтезу

9.2.1. Концентрація біомаси

Біомасу *S. erythraea* NCIMB 8594 визначають методом прямого визначення.

Принцип методу:

Кількісне визначення, що базується на точному вимірюванні маси досліджуваного компонента аналізованої суміші до та після відділення вологи.

Техніка аналізу:

Ферментаційний бульйон фільтрують через сухий попередньо зважений фільтрувальний папір Whatman № 1 (*рис. 9.2*) і кілька разів промивають дистильованою водою.



Рис 9.2. Фільтрувальний папір Whatman № 1

Промиті клітини висушують в сушильній шафі за температури 100 °С до отримання постійної маси [71].

$$X_B = (X_1 - m_{\text{п}}) - X_2,$$

де X_1 – початкова маса; $m_{\text{п}}$ – маса фільтруючого паперу; X_2 – кінцева (постійна) маса.

9.2.2 Концентрація цільового продукту

Принцип методу:

Поділ компонентів суміші, заснований на різниці в рівноважному розподілі їх між двома незмішуваними фазами, одна з яких нерухома, а інша рухома (елюент).

Матеріали та реактиви:

Дигідроортофосфат калію, гідроортофосфат калію, ацетонітрил для ВЕРХ, розчин аміаку 25%, дибутиловий ефір, н-бутилацетат, етилацетат, ультрачиста вода (готують за допомогою системи Milli-Q) [72].

Обладнання та прилади:

Ін'єкцію зразків у високоефективну рідинну хроматографію (ВЕРХ) проводити за допомогою гамільтону 50 мкл; розділення та кількісне визначення ЕР та пов'язаних з ним речовин проводити за допомогою системи HPLC Shimadzu LC-10AD VP від компанії Shimadzu, оснащеної діодним детектором масиву; LC-розчин використовувати для збору і обробки даних; хроматографічний поділ проводити за допомогою аналітичної колонки Shim-Pack CLC-C18 (250 × 4,6 мм І.Д., 5 мкм) від Shimadzu; суміш 10 ммоль/л⁻¹ буферного дигідрогенфосфатного буфера та ацетонітрилу (55:45) довести до рН 7,0, а швидкість потоку 1,0 мл/хв⁻¹ використовувати як рухливу фаза в режимі ізократичного елюювання; об'єм ін'єкції

становить 50 мкл для всіх зразків, і виявлення проводять на довжині хвилі 205 нм; температуру колонки контролювати на значенні 50 °С; для поділу фаз використовувати мікрофугу еппендорф моделі 5415С та центрифугу Hettich EBA 20 [72].

Техніка аналізу:

Приготування стандартних розчинів та дослідних зразків. Стандартні розчини, що містять 10 мг/мл⁻¹ еритроміцину А, 1 мг/мл⁻¹ еритроміцину В, 1 мг/мл⁻¹ еритроміцину С, потрібно готувати в ацетонітрилі та зберігати в холодильнику при температурі 4 °С. Стабільність стандартного розчину (3 дні). Робочі розчини готують щодня шляхом розведення стандартних розчинів перед використанням [72].

LPE-VE визначення EP:

Показник рН культуральної рідини відіграє дуже важливу роль у ефективності визначення (рис. 9.3). Таким чином, шляхом змішування зразка з органічним розчинником (н-бутилацетат) EP та пов'язані з ним речовини екстрагують в органічну фазу. Початковий рН культуральної рідини знаходиться в межах 6,6-7,2. Тому екстракцію аналітів проводять в діапазоні рН = 8–12, використовуючи концентрований розчин аміаку (25% мас./мас.) [72].

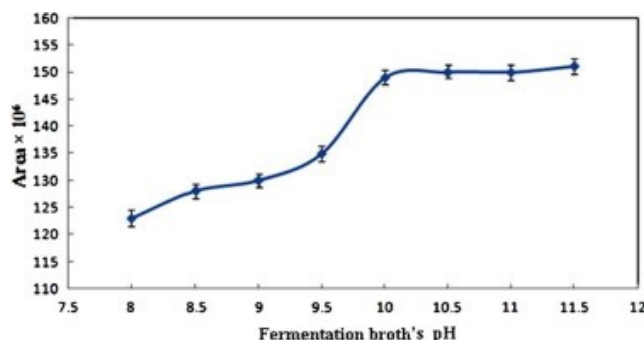


Рис. 9.3. Вплив рН ферментаційного бульйону на екстрагування аналітів [72]

Для процесу зворотної екстракції нейтральні молекули, присутні в органічній фазі, повинні бути екстраговані в акцепторний розчин шляхом протонування аналітів. У цьому випадку рН розчину акцептора повинен бути кислим, щоб іонізувати аналітичні речовини. Тому, рН буферного розчину встановлюють до 5,0 (рис. 9.4) [24].

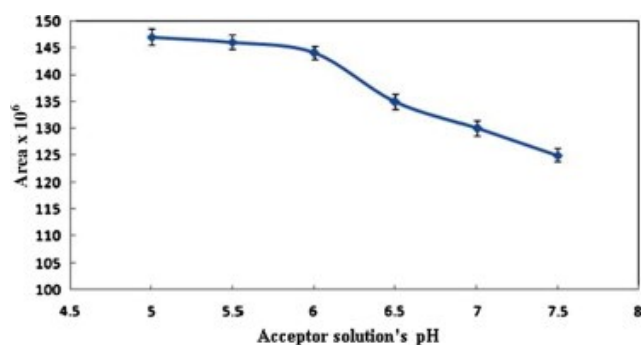


Рис. 9.4. Вплив рН розчину акцептора на вилучення аналітів [72]

500 мкл зразка ферментаційного бульйону з доведеним рН 10, що містить ЕР, поміщають в 1,5 мл мікропробірку, додають 500 мкл н-бутилацетату (як екстракційний розчинник). Суміш акуратно струшують протягом 5 хв. Надалі мікрофугують при 13000 об/хв протягом 15 хв. Потім органічну фазу, що містить аналіти, змішують з 500 мкл акцепторного розчину з рН 5. Центрифугують при 3000 об/хв протягом 5 хв, дві фази відокремлюються і 50 мкл розчину акцептора відбирають та вводять у ВЕРХ. Вся схема процедури показана на *рис. 9.5* [72].

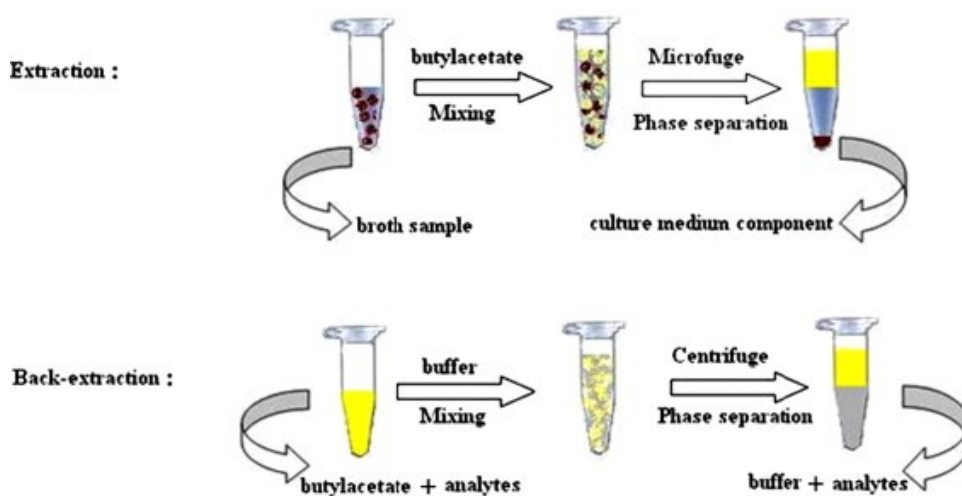


Рис. 9.5. Схема визначення еритроміцину [72]

Екстракція рідкої фази із зворотною реекстракцією є дуже швидким та простим способом вилучення та визначення міліграма на мілілітр концентрації еритроміцину з культуральної рідини. Простота та економічність запропонованого методу роблять його досить привабливим у порівнянні з LLE або SPE. Найважливішою перевагою запропонованого способу є здатність відділення та очищення аналізованих речовин від складних речовин. Ця методика швидка, економічна, практична та підходить для звичайного контролю якості еритроміцину

в культуральній рідині [72].

9.3. Методи визначення показників джерела вуглецю та азоту

9.3.1. Метод визначення редукуючих цукрів

Принцип методу:

Вимір зменшення поглинання мідно ліжного розчину при 670 нм після 3 хв нагрівання, що дозволяє визначати концентрацію речовин, що редукують в діапазоні 0,5 ... 1,5 мг/мл в перерахунку на глюкозу [73].

Обладнання та прилади:

Спектрофотометр Shimadzu UV-Probe 1650 PC, фотоколориметр КФК-2МП, центрифуга, водяна баня [73].

Матеріали та реактиви:

Два розчини об'ємом 500 мл: 1 розчин (8,650 г пентагідриду сульфату міді (II) в дистильованій воді) і 2 (25,0 г сегнетової солі, 2,0 г жовтої кров'яної солі і 37,5 г гідроксиду натрію в дистильованій воді [73].

Техніка аналізу:

Попередньо для аналізу відібрану пробу культуральної рідини центрифугують. 2 мл супернатанту додають в пробірку, де змішано по 2 мл розчину 1 й 2 та 2 мл розчину. Потім реакційну суміш нагрівають на водяній бані при температурі 100 °С, 3 хв та визначають оптичну густина при 670 нм на фотоколориметрі КФК-2МП [73].

Рівняння для розрахунку кількості редукуючих цукрів:

$$PB = A_{\text{поч}} - A_{\text{кін}} + 0,012/0,2946,$$

де $A_{\text{поч}}$, $A_{\text{кін}}$ – оптична густина до і після проведення аналізу; 0,012 поправка, пов'язана зі збільшенням поглинання при 670 нм мідно-лужного розчину при нагріванні протягом 3 хв; 0,2946 – тангенс кута нахилу прямої градуированої залежності [73].

9.3.2. Метод визначення амінного азоту

Принцип методу:

Здатність більшості амінокислот і пептидів утворювати розчинні комплексні сполуки з міддю (мідний спосіб). Надлишок міді відтитровують, а її кількість,

еквівалентну амінному азоту, переводять в сіль оцтової кислоти і визначають кількісно йодометричним титруванням [74].

Обладнання та прилади:

Мірна колба місткістю 50 мл; паперовий фільтр [74].

Матеріали та реактиви:

Розчин хлориду міді, розчин тризаміщеного фосфату натрію, боратний буферний розчин, суспензія фосфорнокислої міді, розчин тимолфталейну, 0,01н розчин тіосульфату натрію, 80% оцтова кислота [74].

Техніка аналізу:

У мірну колбу місткістю 50 мл поміщають 10 мл попередньо підготовленої проби (так само як і для визначення редукуючих цукрів), додають 3-4 краплі тимолфталейну і 1н розчин гідроксиду натрію до блідо-блакитного забарвлення. Обережно при перемішуванні доливають 30 мл суспензії фосфорнокислої міді і доводять до мітки дистильованою водою. Отриману суміш після перемішування фільтрують через паперовий фільтр, перефільтровуючи перші порції фільтрату. Прозорий фільтрат (10 мл) підкислюють 0,5 мл 80% оцтової кислоти, додають до нього 1 г йодистого калію і після розмішування відтитровують йод, що виділився 0,01н розчином тіосульфату натрію. Під кінець титрування додають 1-2 краплі розчину крохмалю. Титрування закінчують при знебарвленні розчину від однієї краплі тіосульфату натрію [74].

Кількість витраченого на титрування тіосульфату натрію, помноженого на 0,28, дає вміст амінного азоту в 10 мл фільтрату, що відповідає 2 мл культуральної рідини з урахуванням розведення. Рівняння для розрахунку кількості редукуючих цукрів:

$$Na = 0,28 \cdot n \cdot 100/2,$$

де n – кількість 0,01н розчину тіосульфату натрію, що пішов на титрування йоду, що виділився, мл [74].

9.4. Методи контролю готового продукту

9.4.1. Метод визначення вологості

Принцип роботи

Гравіметричному метод аналізу з відділенням зайвої вологи від вмісту основного компонента. Тобто про вміст вологи в твердій речовині судять по зменшенню маси зразка після впливу теплового випромінювання до постійної маси [75].

Обладнання та прилади:

Аналізатор вологості OHAUS MB27 [75].

Техніка аналізу:

За НТД вологість готової субстанції еритроміцину повинна становити 4 %. Для визначення вологості готового продукту можна використовувати сучасні аналізатори вологості OHAUS MB27 (рис. 9.6). Завдяки сучасній технології нагріву і вбудованих високоточних електронних ваг аналізатор OHAUS MB27 проводить швидкий і точний аналіз вологості. Визначення вмісту вологи проводиться гравіметричним методом. Аналізатор вологості з галогенним типом теплового випромінювання на досліджуваний зразок, під дією якого відбувається втрата вологи, виконує функції дисперсного середовища. Галогенний тип випромінювання теплової енергії забезпечує майже миттєвий перехід в робочий стан аналізатора вологи після його включення, збільшує швидкість проведення процесу вимірювання і дозволяє проводити експрес контроль. Результати експериментальних досліджень представлені у відповідності до вимог до міжнародних протоколів GLP / GMP [75].



Рис. 9.6. Аналізатор вологості лабораторний (галогенний) OHAUS MB27 [75]

9.4.2. Метод ідентифікації еритроміцину

Принцип методу:

Спектрофотометричний метод, що базується на визначенні спектра поглинання або вимірюванні світлопоглинання при певній довжині хвилі, яка відповідає максимуму кривої поглинання досліджуваної речовини. Аналіз здійснюють за поглинанням речовинами монохроматичного випромінювання у ІЧ-ділянках спектра [76].

Обладнання:

ІЧ-Фур'є спектрофотометр Agilent Cary 630 [77].

Техніка аналізу:

50 мг еритроміцину змішують з 1 мл хлороформу, сушать 3 години при температурі 60 °С, тиск 5 мм. рт. ст. й визначають спектр [77].

ІЧ-спектр еритроміцину наведено у *рис. 9.7*:

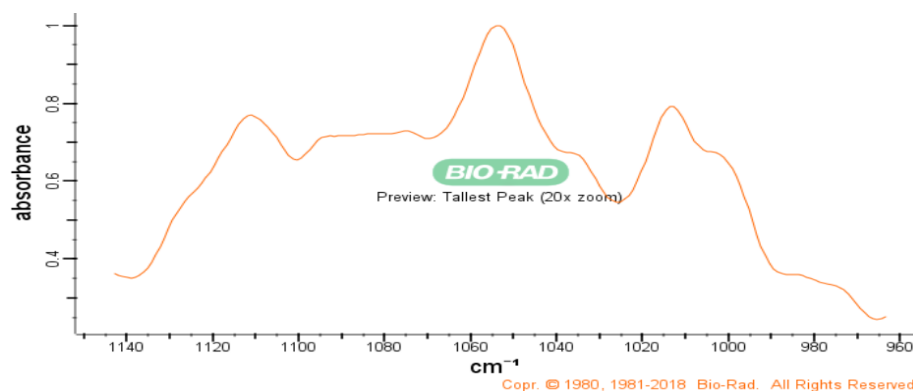


Рис. 9.7. ІЧ-спектр еритроміцину [78]

9.4.2. Визначення антимікробної активності субстанції еритроміцину

Визначення активності еритроміцину проводять диско-дифузійним методом (стандартизований EUCAST) визначення чутливості тест-штаму *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 до ЕР [79].

Для оцінки чутливості бактерій *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 використовують агар Мюллера-Хінтон (МХА) без додаткових добавок. Бактеріальна суспензія повинна відповідати щільності 0,5 за стандартом мутності МакФарланд. Використання вищого або нижчого навантаження може приводити до формування зони пригнічення росту меншого або більшого діаметру, відповідно [79].

Принцип методу:

Диско-дифузійний метод - базується на вивченні зон затримки росту мікроорганізму навколо паперового диску, який просочений антибіотиком. В залежності від зон затримки росту визначають стійкі, помірно-стійкі та чутливі штами мікроорганізмів до того чи іншого антибіотика [80].

Підготовка стандарту мутності:

МакФарланд. Для приготування стандарту мутності, потрібно дотримуватися такого ходу приготування:

- додати 0,5 мл розчину BaCl_2 з концентрацією 0,048 моль / л (1,175% розчин $\text{BaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$) до 99,5 мл розчину H_2SO_4 з концентрацією 0,18 моль/л (0,36 N) (1% v/v) і ретельно перемішати до отримання гомогенної суспензії;
- приготовану суспензію розливають в герметично пробірки, з можливим закриттям, такого ж діаметру, як і для приготування бактеріальної суспензії;
- зберігати приготовлений стандарт необхідно в темряві при кімнатній температурі;
- безпосередньо перед використанням приготований стандарт необхідно ретельно струшувати на вортексі [79].

Підготовка інокуляту та середовища для аналізу:

На живильне середовище – МХА інокують бактеріальну суспензію *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 - 0,5 за стандартом мутності МакФарланд та інкубують – при температурі $35 \pm 1^\circ\text{C}$, 18 ± 2 год, аерація.

Для проведення аналізу на попередньо інокульований агар Мюллера-Хінтона наносять диски із вмістом еритроміцину ФЗС (стандартний зразок ДФУ) – 15 мкг та диски з 15 мкг дослідного еритроміцину. Кількість дисків на одній чашці Петрі має бути обмеженою, для запобігання перекривання зон пригнічення росту, а також взаємодії між антибіотиками. На одну чашку діаметром 90 мм слід поміщати не більше 6 дисків, а на чашку діаметром 150 мм - не більше 12 дисків [79].

Облік результатів та визначення чутливості бактерій до ЕР диско-дифузійним методом:

При вимірюванні зон пригнічення росту навколо дисків з еритроміцином слід орієнтуватися на зону повного пригнічення росту мікроорганізмів, яка визначається неозброєним оком, при розташуванні чашки на відстані приблизно 30 см від очей. Вимірювання зон пригнічення росту необхідно проводити з точністю до міліметра за допомогою лінійки, штангенциркуля або спеціального автоматичного прилада для обліку результатів визначення чутливості диско-дифузійним методом. Для вимірювання зон пригнічення росту на оптично-прозорому середовищі – МХА, чашку Петрі із закритою кришкою, розташовують дном догори на темну матову поверхню, так щоб світло падало на неї під кутом 45 ° (облік у відбитому світлі) (рис. 9.8) та визначають зони затримки росту тест-штаму: при вмісті 15 мкг еритроміцину, вони повинні становити 26 мм, проте допускають значення 23-29 значення розраховане EUCAST [79].



Рис. 9.8. Вимірювання зон пригнічення росту *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 на чашках з МХА [79]

9.4.3. Кількісне визначення еритроміцину

Для визначення кількості еритроміцину та супутніх домішок проводять хроматографічне дослідження.

Матеріали та реактиви:

Розчин А – 1,75 г двоосновного фосфату калію додати в 50 мл води, регулюють розведеною фосфорною кислотою (1 на 10) або 0,2 N гідроксидом натрію до рН 9,0,

додати 400 мл води, 165 мл третинного бутилового спирту, і 30 мл ацетонітрилу. Розбавляють водою до 1000 мл і перемішують.

Рухома фаза – готують суміш розчину А, ацетонітрилу та води у співвідношенні 5:2:1.

Розчинник – суміш буфера з рН 7 та метанолу у співвідношенні 15:1.

Буфер рН 3,5 – 20 мл розчину з рН 7 довести до 3,5 фосфорною кислотою.

Стандартний розчин – зважити 100 мг еритроміцину ФЗС в мірну колбу, об'ємом 25 мл, додати 5 мл метанолу, розчинити, розвести розчинником та перемішати.

Розведений стандартний розчин – 3,0 мл стандартного розчину додають в мірну колбу об'ємом 100 мл, розвести з розчинником до потрібного об'єму, і перемішати. Цей розчин містить приблизно 0,12 мг еритроміцину ФЗС на мл.

Стандартний розчин еритроміцину В і С – додають близько 5 мг кожного з еритроміцин В ФЗС і Еритроміцин С ФЗС, і точно зважують, в 25-мл мірну колбу, додають 5 мл метанолу, щоб розчинити, потім розбавити розчинником до об'єму, і перемішати.

Розчин із роздільною здатністю – в мірну колбу об'ємом 10 мл додати приблизно 2 мг еритроміцину ФЗС, пов'язаного сполукою N RS, додати 0,4 мл стандартного препарату, розбавите стандартним розчином еритроміцину В і С, перемішати.

Розчин енолового розчину еритроміцину А для визначення часу затримки - розчинити приблизно 10 мг Еритроміцину ФЗС у 2 мл метанолу. Додати 10 мл буфера рН 3,5, перемішати і дати настоятися близько 30 хвилин [30].

Хроматографічна система:

Рідинний хроматограф Agilent 1260 Infinity II оснащений детектором 215 нм. Швидкість потоку становить 2 мл/хв. Елюють розчини і реєструють площі піків. Відносні часи утримування близько 0,56 для еритроміцину родинного з'єднання N (N-demethylerythromycin A); 0,61 для еритроміцину С; 1,0 для еритроміцину А; 1,6 для еритроміцину В. Час утримування еритроміцину А енольними ефіром піку становить приблизно 3,2 [77].

Техніка аналізу:

Окремо вводять 100 мкл стандартного препарату, розведеного стандартного препарату, стандартного розчину еритроміцину В і С та дослідного препарату в хроматограф, записують хроматограми протягом періоду часу, достатнього для включення пік ефіру еритроміцину $E_{\text{нол}}$, якщо він присутній. Проводять замір площі пікових реакцій та рахують відсоток еритроміцину А у порції дослідного еритроміцину за формулою:

$$25 \cdot (C_a \cdot P/W) \cdot (r_u/r_a),$$

де C_a – концентрація еритроміцину мг на мл в стандартному препарат; P - позначений відсоток еритроміцину А в еталонному розчині; W - кількість еритроміцину в мг, взята для приготування дослідного розчину; r_u і r_a - пікові реакції на еритроміцин А в хроматограмах, отриманих з дослідного розчину та еталонного розчину відповідно.

Відсоток еритроміцину В і С рахують за формулою:

$$25 \cdot (C_s \cdot P/W) \cdot (r_u/r_s),$$

де C_s – концентрація еритроміцину В і С мг на мл в стандартному препарат; P - позначений відсоток еритроміцину В і С в еталонному розчині; W - кількість еритроміцину в мг, взята для приготування дослідного розчину; r_u і r_s - пікові реакції на еритроміцин в хроматограмах, отриманих з дослідного розчину та еталонного розчину еритроміцину В і С відповідно [77].

9.5. Карта постадійного контролю

Карту постадійного післяферментаційного контролю одержання EP культивуванням *S. erythraea* NCIMB 8594 наведено у табл. 9.1.

Таблиця 9.1

Карта постадійного контролю біосинтезу EP

Номер контрольної точки та назва стадії	Об'єкт контролю і показник, що визначається або регулюються	Засоби та методи контролю	Періодичність перевірки та порядок відбору проб	Нормативна характеристика показника, що визначається
1	2	3	4	5
Кт, Кх 1.1.1. Приготування робочого розчину Біомою	Концентрація робочого розчину «Біомою»	Годинник, тахометр, хімічний метод	Після приготування розчину	T = 30 хв, w = 100 об/хв, C = 0,3 %
Кх 1.1.2. Приготування робочого розчину «Dez-15»	Концентрація робочого розчину «Dez-15»	Хімічний метод	Після приготування розчину	C = 1 %
Кх 1.1.3. Приготування робочого розчину «Біолонг»	Концентрація робочого розчину «Біолонг»	Хімічний метод	Після приготування розчину	C = 1 %
ДР 1.2. Підготовка виробничих приміщень				
Км 1.2.1. Щоденне прибирання	Підлога, ручки дверей, чистота	Візуальний огляд Мікробіологічний контроль звивів з поверхонь	Під час прибирання	Відсутність пилу та бруду КУО < 800/см ²

1	2	3	4	5
Км 1.2.2. Генеральне прибирання	Підлога, двері, стіни, вікна, обладнання, чистота	Візуальний огляд, Мікробіологічний контроль звивів з поверхонь	Під час прибирання	Чисте приміщення, відсутність пилу та бруду КУО < 300/см ²
ДР 1.3. Підготовка обладнання та комунікацій				
Кт, Кх 1.3.1. Миття та ополіскування обладнання	Мийний розчин, обладнання, температура розчину, тривалість, чистота	Термометр технічний, годинник	Під час проведення операції обробки	T=1 год, t _{води} = 30 °С, C = 0,3 %
Кт 1.3.2. Технічний огляд	Обладнання	Візуальний огляд	Під час операції	Відсутність несправностей
Кт 1.3.3. Перевірка на герметичність	Герметичність роботи обладнання, час роботи, тиск	Манометр технічний, годинник	Тиск визначається під час перевірки на герметичність	T=1 год, P=0,2 МПа,
Кт, Км 1.3.4. Стерилізація обладнання	Обладнання, температура стерилізації, час стерилізації, стерильність	Манометр технічний, годинник, мікробіологічний контроль	Тиск визначається під час стерилізації, мікробіологічний контроль після стерилізації	t = 131 °С, P = 0,15 МПа, T=1,5 год, відсутність мікробіоти
ДР 2. Підготовка аераційного повітря				
Кт 2.2. Грубе очищення повітря	Повітря на виході з фільтра, ступінь очищення, перепад тисків	Манометр, перевірка ступеня очищення згідно паспорту фільтра	Після очистки повітря у фільтрі грубого очищення	E = 75 %, тиск згідно паспорту

Продовження табл. 9.1

1	2	3	4	5
Кт 2.3 Компресування повітря	Стиснене повітря, температура, тиск	Манометр технічний, термометр	Після компресування повітря	$P = 0,4 \text{ МПа}$ $t = 220-250 \text{ }^\circ\text{C}$
Кт 2.4 Охолодження повітря та видалення зайвої вологи	Охоложене повітря, повітря після видалення зайвої вологи, температура	Термометр технічний, психрометричний метод	Після охолодження повітря та видалення зайвої вологи	$t = 20 \text{ }^\circ\text{C}$, $W = 60 \%$
Кт 2.5 Нагрівання повітря	Нагріте повітря, температура	Термометр технічний	Після нагрівання повітря	$t = 35 \text{ }^\circ\text{C}$
Кт 2.6. Очищення повітря в головному фільтрі	Очищене повітря, ступінь очищення, перепад тисків	Манометр, перевірка ступеня очищення згідно паспорту фільтра	Після очистки повітря у фільтрі головного очищення	$E = 90 \%$, тиск згідно паспорту
Кт 2.7. Очищення повітря в індивідуальному фільтрі	Очищене повітря, ступінь очищення	Перевірка ступеня очищення згідно паспорту фільтра	Після очистки повітря в індивідуальному фільтрі	$E = 99,999 \%$
Кт, Кх 3.1. Приготування розчину НСІ для підкислення середовища для біосинтезу в ферментері об'ємом 20 м^3	Швидкість перемішування Концентрація розчину НСІ,	тахометр технічний, хімічний метод,	Кількість обертання мішалки під час приготування, концентрація визначається після приготування розчину	$w = 80 \text{ об/хв}$, $C = 6 \%$

1	2	3	4	5
Кх, Кт, Км 3.2. Приготування і стерилізація розчину NaOH для підлужнення середовища для біосинтезу в ферментері об'ємом 20 м ³	Швидкість перемішування, температура стерилізації, час стерилізації, тиск, стерильність, концентрація розчину NaOH	Тахометр технічний, термометр технічний, годинник, манометр технічний, мікробіологічний контроль, хімічний метод	Кількість обертів мішалки під час перемішування, температура визначається безперервно під час стерилізації, мікробіологічний і хімічний контроль після стерилізації	w = 80 об/хв, t = 131 °С, T = 50 хв, P = 0,15 МПа, відсутність мікробіоти, C = 6 %
ДР 5. Приготування і стерилізація підживлюючого розчину				
Кт, Км 5.1. Приготування і стерилізація композиції підживлюючого розчину	Швидкість перемішування, температура стерилізації, час стерилізації, тиск, концентрація, стерильність, швидкість перемішування	Тахометр технічний, термометр технічний, годинник, манометр технічний, мікробіологічний контроль, хімічний метод	Кількість обертів мішалки під час перемішування, температура підтримується безперервно під час стерилізації, мікробіологічний контроль після стерилізації	w = 80 об/хв, t = 112 °С, T = 30 хв, P = 0,05 МПа, C=30 %, відсутність мікробіоти
Підготовка реагентів для екстракції та кристалізації				
Кт, Кх 6.1. Приготування розчину NaOH для підлужнення	Швидкість перемішування, концентрація розчину NaOH	Тахометр технічний, хімічний метод	Кількість обертів мішалки під час перемішування, хімічний контроль після стерилізації	w = 80 об/хв, C=1 М

Продовження табл. 9.1

1	2	3	4	5
пермеату на етапі екстракції				
Кт, Кх 6.3. Приготування цитратного буфера реекстракції еритроміцину	Швидкість перемішування, рН розчину	Тахометр технічний, хімічний метод	Кількість обертів мішалки під час перемішування, хімічний контроль після стерилізації	w = 80 об/хв, рН=4,8
Кт, Кх 6.4. Приготування розчину NaOH для підлужнення реакційної суміші на стадії кристалізації	Швидкість перемішування, концентрація розчину NaOH	Тахометр технічний, хімічний метод	Кількість обертів мішалки під час перемішування, хімічний контроль після стерилізації	w = 80 об/хв, С=10 %
Кт 7.1 Підготовка сушильного агента	Температура сушильного агента	Тахометр технічний	Температуру визначають після приготування	t = 131 °C
ДР 8.1 Приготування і стерилізація поживного середовища для вирощування інокуляту об'ємом 955 мл в колбах на качалках				
Кт, Км 8.1.1 Приготування і стерилізація композиції А	Композиція А температура стерилізації, час стерилізації, тиск, стерильність	Термометр технічний, годинник, манометр технічний, мікробіологічний контроль	Температура підтримується безперервно під час стерилізації, мікробіологічний контроль після стерилізації	t = 112 °C, T = 30 хв, P = 0,05 МПа, відсутність мікробіоти
Кт, Км 8.1.2.	Композиція Б температура стерилізації, час	Термометр технічний, годинник, манометр технічний,	Температура підтримується безперервно,	t = 131 °C, T = 50 хв, P = 0,15 МПа, відсутність мікробіоти

1	2	3	4	5
Приготування і стерилізація композиції Б	стерилізації, тиск, стерильність	мікробіологічний контроль	мікробіологічний контроль після стерилізації	
Кт, Км 8.1.3. Приготування і стерилізація композиції В	Композиція В температура стерилізації, час стерилізації, тиск, стерильність	Термометр технічний, годинник, манометр технічний, мікробіологічний контроль	Температура підтримується безперервно, мікробіологічний контроль після стерилізації	t = 131 °С, Т = 50 хв, Р = 0,15 МПа, відсутність мікробіоти
ДР 8.2. Приготування та стерилізація поживного середовища для вирощування посівного матеріалу в інокуляторі об'ємом 20 л				
Кт, Км 8.2.1	Композиція А температура стерилізації, час	Термометр технічний, годинник, манометр технічний,	Температура підтримується безперервно під час стерилізації,	t = 112 °С, Т = 30 хв, Р = 0,05 МПа, відсутність мікробіоти
Приготування і стерилізація композиції А	стерилізації, тиск, стерильність	мікробіологічний контроль	мікробіологічний контроль після стерилізації	
Кт, Км 8.2.2. Приготування і стерилізація композиції Б	Композиція Б температура стерилізації, час стерилізації, тиск, стерильність	Термометр технічний, годинник, манометр технічний, мікробіологічний контроль	Температура підтримується безперервно, мікробіологічний контроль після стерилізації	t = 131 °С, Т = 50 хв, Р = 0,15 МПа, відсутність мікробіоти
Кт, Км 8.2.3. Приготування і стерилізація композиції В	Композиція В температура стерилізації, час	Термометр технічний, годинник, манометр технічний,	Температура підтримується безперервно, мікробіологічний контроль після стерилізації	t = 131 °С, Т = 50 хв, Р = 0,15 МПа, відсутність мікробіоти

1	2	3	4	5
	стерилізації, тиск, стерильність	мікробіологічний контроль		
ДР 8.3. Приготування та стерилізація поживного середовища для вирощування посівного матеріалу в інокуляторі об'ємом 160 л				
Кт, Км 8.3.1 Приготування і стерилізація композиції А	Композиція А Швидкість перемішування, температура стерилізації, час стерилізації, тиск, стерильність	Тахометр технічний, термометр технічний, годинник, манометр технічний, мікробіологічний контроль	Кількість обертів мішалки під час приготування, температура підтримується безперервно під час стерилізації, мікробіологічний контроль після стерилізації	w = 80 об/хв, t = 112 °С, T = 30 хв, P = 0,05 МПа, відсутність мікробіоти
Кт, Км 8.3.2. Приготування і стерилізація композиції Б	Композиція Б Швидкість перемішування, температура стерилізації, час стерилізації, тиск, стерильність	Тахометр технічний, термометр технічний, годинник, манометр технічний, мікробіологічний контроль	Кількість обертів мішалки під час приготування, температура підтримується безперервно, мікробіологічний контроль після стерилізації	w = 80 об/хв, t = 131 °С, T = 50 хв, P = 0,15 МПа, відсутність мікробіоти
Кт, Км 8.3.3. Приготування і стерилізація композиції В	Композиція В Швидкість перемішування, температура стерилізації, час стерилізації, тиск, стерильність	Тахометр технічний, термометр технічний, годинник, манометр технічний, мікробіологічний контроль	Кількість обертів мішалки під час приготування, температура підтримується безперервно під час стерилізації, мікробіологічний контроль після стерилізації	w = 80 об/хв, t = 131 °С, T = 50 хв, P = 0,15 МПа, відсутність мікробіоти

1	2	3	4	5
ДР 8.4. Приготування та стерилізація поживного середовища для вирощування посівного матеріалу в посівному апараті об'ємом 2000 л				
Кт, Км 8.4.1 Приготування і стерилізація композиції А	Композиція А Швидкість перемішування, температура стерилізації, час стерилізації, тиск, стерильність	Тахометр технічний, термометр технічний, годинник, манометр технічний, мікробіологічний контроль	Кількість обертів мішалки під час приготування, температура підтримується безперервно під час стерилізації, мікробіологічний контроль після стерилізації	$w = 80$ об/хв, $t = 112$ °С, $\tau = 30$ хв, $P = 0,05$ МПа, відсутність мікробіоти
Кт, Км 8.4.2. Приготування і стерилізація композиції Б	Композиція Б Швидкість перемішування, температура стерилізації, час стерилізації, тиск, стерильність	Тахометр технічний, термометр технічний, годинник, манометр технічний, мікробіологічний контроль	Кількість обертів мішалки під час приготування, температура підтримується безперервно під час стерилізації, мікробіологічний контроль після стерилізації	$w = 80$ об/хв, $t = 131$ °С, $T = 50$ хв, $P = 0,15$ МПа, відсутність мікробіоти
Кт, Км 8.4.3. Приготування і стерилізація композиції В	Композиція В Швидкість перемішування, температура стерилізації, час стерилізації, тиск, стерильність	Тахометр технічний, термометр технічний, годинник, манометр технічний, мікробіологічний контроль	Кількість обертів мішалки під час приготування, температура підтримується безперервно під час стерилізації, мікробіологічний контроль після стерилізації	$w = 80$ об/хв, $t = 131$ °С, $T = 50$ хв, $P = 0,15$ МПа, відсутність мікробіоти
ДР 8.5. Приготування та стерилізація поживного середовища для виробничого біосинтезу в ферментері об'ємом 20 м³				

1	2	3	4	5
Кт, Км 8.5.1. Приготування і стерилізація композиції А	Композиція А Швидкість перемішування, температура стерилізації, час стерилізації, тиск, стерильність	Тахометр технічний, термометр технічний, годинник, манометр технічний, мікробіологічний контроль	Кількість обертів мішалки під час приготування розчину, температура підтримується безперервно безперервно під час стерилізації, мікробіологічний контроль після стерилізації	$w = 80$ об/хв, $t = 131$ °С, $P = 0,15$ МПа, $T = 48$ хв, відсутність мікробіоти
Кт, Км 8.5.2. Приготування і стерилізація композиції Б	Композиція Б Швидкість перемішування, температура стерилізації, час стерилізації, тиск, стерильність	Тахометр технічний, термометр технічний, годинник, манометр технічний, мікробіологічний контроль	Кількість обертів мішалки під час приготування, температура підтримується безперервно під час стерилізації, мікробіологічний контроль після стерилізації	$w = 80$ об/хв, $t = 131$ °С, $T = 50$ хв, $P = 0,15$ МПа, відсутність мікробіоти
ТП 9. Підготовка посівного матеріалу				
Кт, Км 9.1. Підтримка колекційної культури культура <i>S.</i> <i>erythraea</i> NCIMB 8594	Колекційна культура <i>S.</i> <i>erythraea</i> NCIMB 8594, частота персівання, температура, мікробіологічна чистота культури	Термометр технічний, ведення документообігу	Температура визначається під час зберігання	$t = 3-4$ °С, $N_{\text{пер}} = 2-3$ місяці, відсутність сторонньої мікробіоти
Кт, Км 9.2.	Робоча культура <i>S.</i> <i>erythraea</i> NCIMB 8594,	Термометр технічний, годинник,	Температура визначається під час культивування,	$t = 28$ °С, $T = 24$ год,

Продовження табл. 9.1

1	2	3	4	5
Одержання робочої культури <i>S. erythraea</i> NCIMB 8594 на агаризованих середовищах	тривалість культивування, температура, мікробіологічна чистота культури	мікробіологічний контроль	мікробіологічний контроль після культивування	відсутність сторонньої мікробіоти
Кт, Км 9.3. Вирощування культури <i>S. erythraea</i> NCIMB 8594 на агаризованих середовищах	Робоча культура культура <i>S. erythraea</i> NCIMB 8594, тривалість культивування, температура, мікробіологічна чистота культури	Термометр технічний, годинник, мікробіологічний контроль	Температура визначається під час культивування, мікробіологічний контроль після культивування	t = 28 °C, T = 10 діб, відсутність сторонньої мікробіоти
Кт, Км 9.4 Вирощування інокуляту в колбах на качалках	Посівний матеріал, температура, швидкість перемішування, тривалість культивування, мікробіологічна чистота	Термометр технічний, тахометр, годинник, мікробіологічний контроль	Температура визначається під час культивування, мікробіологічний контроль після культивування	t = 30° C, τ = 90 год, w = 200 об/хв, відсутність сторонньої мікробіоти
Кт, Км 9.5 Вирощування посівного матеріалу в інокуляторі об'ємом 20 л	Посівний матеріал, температура, швидкість перемішування, тривалість культивування,	Термометр технічний, тахометр, годинник, мікробіологічний контроль	Температура визначається під час культивування, мікробіологічний контроль після культивування	t = 30 °C, τ = 72 год, w = 160 об/хв, відсутність сторонньої мікробіоти

Продовження табл. 9.1

1	2	3	4	5
	мікробіологічна чистота			
Кт, Км 9.6 Вирощування посівного матеріалу в інокуляторі об'ємом 160 л	Посівний матеріал, швидкість перемішування, тривалість культивування, температура, мікробіологічна чистота культури	Термометр технічний, годинник, тахометр, мікробіологічний контроль	Температура визначається під час культивування, мікробіологічний контроль після культивування	t = 30 °С, τ = 72 год, w = 160 об/хв, відсутність сторонньої мікробіоти
Кт, Км 9.7 Вирощування посівного матеріалу в посівному апараті об'ємом 2000 л	Посівний матеріал, швидкість перемішування, тривалість культивування, температура, мікробіологічна чистота культури	Термометр технічний, годинник, тахометр, мікробіологічний контроль	Температура визначається під час культивування, мікробіологічний контроль після культивування	t = 30° С, τ = 72 год, w = 160 об/хв, відсутність сторонньої мікробіоти
ТП 10. Виробничий біосинтез				
Кх, Кт, Км 10.1. Виробничий біосинтез в ферментері 20 м ³	Культуральна рідина, рН, температура, швидкість перемішування, мікробіологічна чистота	годинник, термометр технічний, рН-метр, мікробіологічний контроль	рН визначається під час культивування, температура визначається безперервно, концентрація еритроміцину після закінчення процесу	τ = 144 год, t = 30 °С, рН = 7, w = 160 об/хв, Р _{ер} = 0,8 г/л, Р _б = 10,2

1	2	3	4	5
			культивування, концентрація ЕР визначають починаючи з 72 години (кожні 6-8 год), концентрацію біомаси визначають після культивування	
ТП 11. Відділення біомаси				
Кт 11.1. Мікрофільтрація й концентрування на мікрофільтраційних модулях	Температура, час, потужність установки, діаметр пор	Термометр технічний, годинник, датчик для вимірювання потужності установки, по швидкості протікання рідини	Температура, час і потужність визначаються безперервно під час мікрофільтрації, газово- адсорбційний метод проводять перед мікрофільтрацією, індукційний витратомір	$t = 40\text{ }^{\circ}\text{C}$, $\tau = 120\text{ хв}$, $W = 13,5\text{ м}^3/\text{год}$, $d = 0,2$ мкм
ТП 12. Концентрування розчину				
Кт 12.1. Концентрування розчину на роторному плівковому випарному апараті	Температура, час, коефіцієнт концентрування	Термометр технічний, годинник, датчик для визначення виходу концентрату та вторинної пари	Температура, час, концентрування визначаються безперервно під час процесу	$t = 60\text{ }^{\circ}\text{C}$, $\tau = 20\text{ с}$, $k_k = 4$
ТП 13. Виділення еритроміцину				

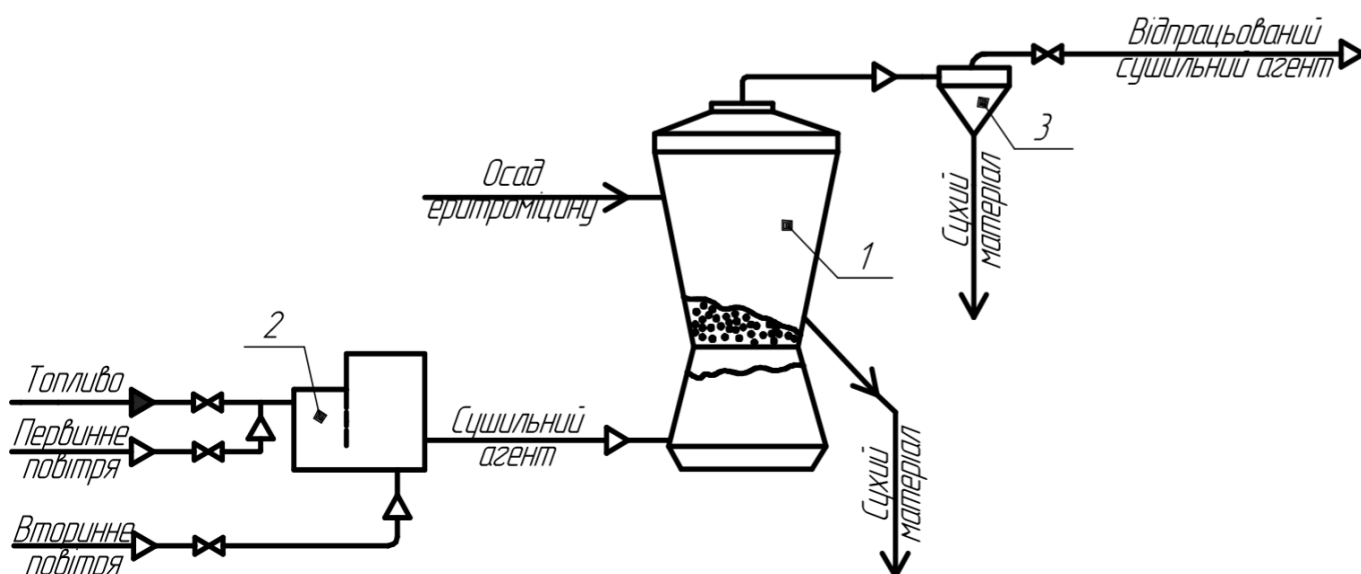
1	2	3	4	5
Кт 13.1. Екстракція еритроміцину	Час, оберти мішалки, рН	Годинник, тахометр, рН метр	Час, оберти мішалки й рН визначаються безперервно	$\tau = 10-15$ хв, $w = 80$ об/хв, рН = 9,0
Кт 12.2. Реекстракція еритроміцину	Час, оберти мішалки	Годинник, тахометр	Час, оберти мішалки визначаються безперервно	$\tau = 5$ хв, $w = 80$ об/хв
ТП 13. Отримання сухого еритроміцину				
Кт, Кх 13.1. Кристалізація еритроміцину	Температура, час, рН реакційної суміші	Термометр технічний, годинник, рН метр	Температура, час і рН визначаються безперервно під час кристалізації	$t = 35$ °С, $\tau = 40-100$ хв, рН = 10-10,5
Кт 13.2. Фільтрація осаду на НУТЧ фільтрі	Діаметр пор, тиск фільтрації	По швидкості протікання рідини, манометр	Тиск визначається безперервно під час фільтрації, а діаметр пор перед фільтрацією	$d = 125$ мкм, $P = 600$ мм.рт.ст
Кт 13.3. Висушування кристалів еритроміцину	Температура гарячого повітря, вологовміст готового продукту, тиск	Манометричний термометр, термогравіметричний вологомір, манометр	Температура і тиск визначається безперервно під час сушки, вологовміст продукт визначаємо по масі (розрахунок) і після сушки	$t = 135$ °С, $f = 4$ %, $P = 3-4$ кПа
ПМВ 14. Пакування, маркування та відвантаження готової продукції				
Кт 14.1. Пакування в поліетиленові пакети	Вага готового виробу, герметичність та кількість пакетів	Ваги, візуальний контроль	Після пакування в поліетиленові пакети	$n = 6$ шт по 1кг кожний

Закінчення табл. 9.1

1	2	3	4	5
Кт 14.2. Пакування в волокнисті барабани	Герметичність, кількість барабанів, документ про АФІ	Ваги, візуальний контроль	Перед пакування перевірити наявність документа про АФІ та герметичність після пакування в волокнистий барабан	n = 1 шт
Кт 14.3. Маркування	Назви цільового продукту, дата виготовлення	Візуальний контроль по бланку контролю готової продукції	Під час маркування	Правильність маркування

РОЗДІЛ 10. АВТОМАТИЗАЦІЯ ДІЛЯНКИ

При виборі задач автоматичного регулювання необхідно виходити з технологічних вимог до підтримання технологічних параметрів на заданому рівні (стабілізуюче регулювання), або їх зміни у відповідності від часу (програмне управління) або від зміни інших технологічних параметрів (слідкуюче регулювання). При формуванні задач автоматичного регулювання дуже важливо правильно визначитись з вибором регулюючих змінних, тобто за рахунок зміни яких матеріальних або енергетичних потоків можна ефективно реалізувати управляючу дію.



Примітка* 1 – апарат з киплячим шаром; 2 – топка; 3 – циклон.

Рис. 10.1. Машино-апаратна схема технологічного процесу

Розробка системи автоматизації – це «з'єднувальна» ланка технолога і спеціаліста з автоматизації. Саме від правильності створення цього документу залежить правильність вибору засобів автоматизації, реалізація необхідних функцій і, звісно, зручність роботи з створеною системою.

В результаті аналізу технологічного процесу зроблені висновки, що автоматизація цього технологічного процесу повинна забезпечувати (табл. 10.1):

1. Контроль і регулювання температури сушильного агента, який поступає в

НУХТ БТЕК 04.03.05. КР ПЗ				
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата
Розробив	Міщук А.П.			
Керівник	Буценко Л.М.			
Консультант	Клименко О.М.			
Зав. каф.	Пирог Т.П.			
РОЗДІЛ 10. АВТОМАТИЗАЦІЯ ДІЛЯНКИ				
		Літ.	Арк.	Аркушів
			164	182
Кафедра БТМ				

апарат з киплячим шаром, шляхом зміни подачі вторинного повітря в топку.

2. Контроль і регулювання температури киплячого шару в апараті з киплячим шаром, шляхом зміни подачі пального для нагріву.

3. Контроль і регулювання співвідношення «паливо – повітря» для оптимального режиму згоряння палива в топці шляхом зміни подачі первинного повітря.

4. Контроль і регулювання висоти киплячого шару шляхом вимірювання різниці тиску та регулюванням клапаном спеціального напрямного апарату з поворотними лопатками, встановленими на всмоктувальному патрубку димососа.

5. Контроль і регулювання тиску в апараті з киплячим шаром, щоб не допустити проникнення запиленних газів з апарату в робоче приміщення через завантажувальну течку.

Таблиця 10.1

Розробка системи автоматизації

№ з.п	Машина, агрегат, установка	Параметр, місце відбору сигналу	Припустиме значення параметра	Вид автоматизації	Характер контролю чи управління	Засоби управління та контролю, реалізації управляючої дії
1	2	3	4	5	6	7
1	Топка	Температура, трубопровід до апарату з КШ	130 °С ± 4 °С	Контроль	Відображення, реєстрація	АРМ оператора
				Регулювання	Стабілізація	Вплив на витрату вторинного повітря
2	Апарат з КШ	Температура, киплячий шар	130 °С ± 4 °С	Контроль	Відображення, реєстрація	АРМ оператора
				Регулювання	Стабілізація	Вплив на витрату пального
3	Топка	Співвідношення «паливо – повітря» в топку, трубопровід палива і первинного повітря	1:4	Контроль	Відображення, реєстрація	АРМ оператора
				Регулювання	Стабілізація	Вплив на витрату

1	2	3	4	5	6	7
						первинного повітря
4	Апарат з КШ	Різниця тиску, що регулює висоту шару	100 Па ± 2 Па	Контроль	Відображення, реєстрація	АРМ оператора
				Регулювання	Стабілізація	Вплив на витрату клапану напрямного апарата
5	Апарат з КШ	Різниця перепаду тиску, зверху і під ґраткою апарата з КШ	65 кПа ± 2 кПа	Контроль	Відображення, реєстрація	АРМ оператора
				Регулювання	Стабілізація	Вплив на витрату матеріалу, виведеного з сушарки

Виходячи з умов виробництва обираються новітні засоби автоматизації, що мають похибку не більше 1%, задовольняють потреби в надійності та швидкодії. Для зручності підключення та економії на модулях контролера обираються датчики з уніфікованим вхідним сигналом 4-20 мА. Використовуються вихідні уніфіковані сигнали 0-10 В.

На функціональній схемі автоматизації передбачено наступні контури.

У **першому** контурі автоматичного контролю і управління, необхідно контролювати й регулювати температуру сушильного агента. Вимірюється з допомогою датчика Sitrans TF2 (1а) [82] з уніфікованими вихідними сигналами 4-20 мА, які поступають на модуль аналогових входів контролера. МПК програмно реалізує ПІ-регулятор і видає сигнал на модуль аналогових виходів. Спостереження за зміною передбачається на АРМі оператора-технолога зі збереженням (реєстрація) цих змін в його архіві. Управляючий сигнал 0-10 В поступає на перетворювач електричного сигналу в електропневматичний перетворювач SMC ITV (1б) [83], який подається на регулюючий клапан LDM RV111 (1в) [84] для стабілізації на заданому значенні за рахунок зміни витрати клапаном на даному трубопроводі.

У **другому** контурі автоматичного контролю і управління, необхідно контролювати й регулювати температуру в сушарці з киплячим шаром. Вимірюється з допомогою датчика Sitrans TF2 (2а) [82] з уніфікованими вихідними сигналами 4-

20 мА, які поступають на модуль аналогових входів контролера. МПК програмно реалізує ПІ-регулятор і видає сигнал на модуль аналогових виходів. Спостереження за зміною передбачається на АРМі оператора-технолога зі збереженням (реєстрація) цих змін в його архіві. Управляючий сигнал 0-10 В поступає на перетворювач електричного сигналу в електропневматичний перетворювач SMC ITV (2б) [83], який подається на регулюючий клапан LDM RV111 (2в) [84] для стабілізації на заданому значенні за рахунок зміни витрати клапаном на даному трубопроводі.

У **третьому** контурі автоматичного контролю й управління, необхідно контролювати й регулювати співвідношення витрати палива-повітря у співвідношенні 1:4. Вимірюється незалежними каналами регулятора УЗОР-01С (3а) [85] для вимірювання тиску газу і тиску\перепаду повітря, два канали вимірювання положення виконавчих механізмів (реостатні датчики) і забезпечує підтримку заданого графіка співвідношення паливо-повітря незалежно від зміни, із заданою точністю, приєднувального тиску газу. Спостереження за зміною передбачається на АРМі оператора-технолога зі збереженням (реєстрація) цих змін в його архіві. МПК програмно реалізує ПІ-регулятор і видає сигнал на модуль аналогових виходів. Управляючий сигнал 0-10 В поступає на перетворювач електричного сигналу в електропневматичний перетворювач SMC ITV (2б) [83], який подається на регулюючий клапан LDM RV111 (3в) [84] для стабілізації на заданому значенні за рахунок зміни витрати клапаном на даному трубопроводі.

У **четвертому** контурі автоматичного контролю й управління, необхідно контролювати й регулювати різницю тиску в апараті з КШ. Вимірюється й регулюється вимірювальним перетворювачем PDT (4а) [86] з уніфікованими вихідними сигналами 4-20 мА, який поступає на модуль аналогових входів контролера. МПК програмно реалізує ПІ-регулятор і видає сигнал на модуль аналогових виходів. Спостереження за зміною передбачається на АРМі оператора-технолога зі збереженням (реєстрація) цих змін в його архіві. МПК програмно реалізує ПІ-регулятор і видає сигнал на модуль аналогових виходів. Управляючий сигнал 0-10 В поступає на перетворювач електричного сигналу в електропневматичний перетворювач SMC ITV (4б) [83] який подається на

механічний варіатор CV 10 (4в) [83] для стабілізації на заданому значенні за рахунок зміни робочих обертів.

У п'ятому контурі автоматичного контролю й управління, необхідно контролювати й регулювати тиск розрідження в верхній частині апарата. Вимірюється з допомогою датчика тиску САПФІР 22 ДИВ 2320 (5а) [88] з уніфікованими вихідними сигналами 4-20 мА, який поступає на модуль аналогових входів контролера. Спостереження за зміною передбачається на АРМі оператора-технолога зі збереженням (реєстрація) цих змін в його архіві. МПК програмно реалізує ПІ-регулятор і видає сигнал на модуль аналогових виходів. Управляючий сигнал 0-10 В поступає на перетворювач електричного сигналу в електропневматичний перетворювач SMC ITV (4б) [83] який подається на регулюючий клапан LDM RV111 (5в) [84] для стабілізації на заданому значенні за рахунок зміни витрати клапаном на трубопроводі напрямного апарата.

Вибір приладів для автоматизації

Перетворювач температури SITRANS TF2 (рис. 10.2). Переваги застосування цього датчика:

- ✓ міцний корпус з нерж. стали з двома варіантами з'єднання;
- ✓ висока точність вимірювання;
- ✓ точна індикація з дозволом в $1/100$ ° С в макс. діапазоні вимірювання;
- ✓ захисна трубка з нерж. стали з високою стійкістю;
- ✓ сигналізація +/- перевищення граничного значення на РК, а також за допомогою червоного світлоіндукуючого діода (СІД) [82].



Рис 10.2. Перетворювач температури SITRANS TF2 [82]

Електропневматичний перетворювач SMC ITV (рис. 10.3). Переваги застосування цього перетворювача:

- ✓ можливість вибору пристрою з електричним аналоговим або цифровим (2 біт / 4 біт / 10 біт) входом / аналоговим або дискретним виходом;
- ✓ високий рівень лінійності, відтворюваності і чутливості;
- ✓ наявність індикації вихідного тиску;
- ✓ придатний для модульного монтажу;
- ✓ виконання з керуванням по RS-232C, PROFIBUS DP, DeviceNet, CC-Link [83].



Рис 10.3. Електропневматичний перетворювач SMC ITV [83]

Регулятора УЗОР-01С для вимірювання тиску газу і тиску\перепаду повітря (рис. 10.4). Переваги застосування:

- ✓ показує й ініціює теплове навантаження об'єкта;
- ✓ управління частотним приводом або клапанами;
- ✓ сигналізує відхилення;
- ✓ регулює співвідношення по режимній карті [85].



Рис 10.4. Регулятора УЗОР-01С [85]

Вимірювальний перетворювач різниці тисків PDT (рис. 10.5). Перетворює

вимірювану величину в нормований сигнал 0-10V, 4..20mA або RS485 / Modbus RTU.
Приєднувальна різьба - 1/4 NPT, G1/4 [86].



Рис 10.5. PDT вимірювальний перетворювач різниці тисків [86]

Датчик-перетворювач САПФІР-22 ДІВ (рис. 10.6). Універсальний комбінований перетворювач тиску, тому що поєднує в собі одночасно датчик надлишкового тиску і датчик вакууметричного тиску води, масла, кисню, повітря та інших речовин і використовується для перетворення вимірюваних показників в особливий уніфікований сигнал, що є на виході аналоговим сигналом постійного струму або цифровим сигналом [88].



Рис. 10.6. Датчик перетворювач САПФІР-22 ДІВ [88]

Специфікація на всі засоби автоматизації наведено у *табл. 10.2.*

Специфікація на засоби автоматизації

№ п/п	№ позиції за схемою	Найменування і технічна характеристика виробу	Тип, марка	Одиниця вимірювання	К-ть	Виробник
1	2	3	4	5	6	7
1	1а, 2а	Вимірювальний мікропроцесорний перетворювач температури з вбудованим платиновим термометром опору Pt100 в захистній трубці із нержавіючої сталі, показуючий з світловою сигналізацією. Вихідний сигнал 4-20 мА Вимірювальний діапазон температур -50...+200°С.	Sitrans TF2	Шт.	2	Siemens, Німеччина [82]
2	1б, 2б, 3б, 4б, 5б	Електропневматичний перетворювач ITV складається з впускного і випускного електромагнітного клапанів, які з'єднані з пневматичною камерою управління. У камері закріплена мембрана, яка своїм жорстким центром через шток з'єднана з клапаном. Вихідний уніфікований сигнал 0-10 В. Точність показів $\pm 2\%$ від повного діапазону регулювання	ITV	Шт.	5	SMC, Японія [83]
3	1в, 2в, 3в, 5в	Пневматичний виконавчий механізм 2-х позиційний для трьохходових прохідних клапанів Ду – 40 мм. Тип приводу ANT3-5.20. Матеріал корпусу чугун.	RV111 R3/T	Шт.	4	LDM, Чехія [84]
4	3а	Регулятор співвідношення паливо-повітря виготовлений в пластмасовому корпусі з розміщеними в середині нього платами. На лицьовій панелі приладу розташовані органи управління і сигналізації. Робочий діапазон тисків 0 ... + 10 кПа. Складається з двох первинних перетворювачів (САПФІР, ДКО); двох показуючих тягонапоромірів; регулятор співвідношення газ/повітря. Вихідний уніфікований сигнал 0-10 В.	Узор-01С	Шт.	1	КП, Україна [88]

1	2	3	4	5	6	7
5	4а	Вимірювальний перетворювач різниці тисків виготовлений у корпусі зі ступенем захисту IP66, виконаному з алюмінію або нержавіючої сталі, знаходиться мікропроцесорний підсилювач, що формує вихідний уніфікований сигнал. Конструкція корпусу дає можливість повороту місцевого індикатора на 90 °, повороту корпусу по відношенню до приймача тисків в межах 0-355 °, а також вибір напрямку введення кабелю. Вихідний уніфікований сигнал 0-10 В.	PDT	Шт.	1	СБТ-групи [86]
6	4в	3-х фазний механічний варіатор, клас ізоляції В5, Частота обертання двигуна, 800 об/хв.	CV 10	Шт.	1	CMR Group, Італія [87]
7	5а	Датчик-перетворювач тиску поєднує в собі одночасно датчик надлишкового тиску і датчик вакууметричного тиску води, масла, кисню, повітря та інших речовин і використовується для перетворення вимірюваних показників в особливий уніфікований сигнал, що є на виході аналоговим сигналом постійного струму або цифровим сигналом. Верхня межа вимірювань надлишкового тиску і розрідження – (-0,3 кПа +0,3 кПа). Основна похибка - 0,25 %.	САПФІР 22 ДИВ 2310	Шт.	1	Стандарт-М, Україна [88]

Автоматизація докорінно змінює характер організації виробничого процесу та праці. У порівнянні з поточним методом виробництва, де робітник виконує протягом тривалого часу невелику за обсягом операцію диференційованого виробничого процесу, в автоматизованому виробництві тільки висококваліфіковані оператори й налагоджувальники контролюють роботу машин і регулюють їх дії.

Автоматизація виробництва підвищує надійність і продовжує термін роботи устаткування, полегшує й оздоровляє умови праці, підвищує безпеку праці й робить його престижнішим, скорочує текучість робочої сили й економить затрати праці, збільшує кількість й підвищує якість продукції, прискорює процес стирання відмінностей між працею розумовою і фізичною.

Оскільки метою будь-якого виробництва є зменшення виробничих та економічних втрат при більшому прибутку. То завдяки автоматизації виробничої дільниці

планується збільшення прибутку виробництва, поліпшення якості субстанції еритроміцину, зменшення втрат сировини та електроенергії, а також, створення більш оптимальних умов праці для працівників.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. *Dinos G. P.* The macrolide antibiotic renaissance // *British Journal of Pharmacology*. – 2017. – V. 174. – № 18. – P. 2967–2983.
2. Макроліди [Електронний ресурс] // Режим доступу до ресурсу: <https://www.pharmencyclopedia.com.ua/article/1308/makroli-di>.
3. *Назаренко О.М., Твардовский В.И., Загорский С.Э.* Возможности применения макролидов в амбулаторной педиатрической практике // *Медицинские новости*. – 2012. – №3. – С. 29–32.
4. *Dubravko J.A, Antolovic R.P.* From Erythromycin to Azithromycin and New Potential Ribosome-Binding Antimicrobials // *Antibiotics*. – 2016. – V. 5. – № 3. – P. 2–13.
5. *Груздова Т. В., Т. М. Юхновська.* Перспективи розвитку фармацевтики та біотехнологій із приєднанням України до угоди асоціації з Європейським союзом // *Економіка*. – 2014. – С. 63–77.
6. Еритроміцин [Електронний ресурс] // Режим доступу до ресурсу: <http://www.drlz.com.ua/>.
7. *El-Enshasy H. A., Mohamed N. A., Farid M. A.* Improvement of erythromycin production by *Saccharopolyspora erythraea* in molasses based medium through cultivation medium optimization // *Bioresource Technology*. – 2008. – V. 99. – № 10. – P. 4263–4268.
8. *Osman A. P.* Recent Advances in Biotechnology. – Delft, The Netherlands: Bentham Books, 2018. – P. 406–407. – V. 4. – ISSN: (2468-5372).
9. Пат. RU 2203952 РБ. Способ выделения эритромицина. / Каминская М.И., Устюжанина И.Ю., Пшеничников В.Г. – Опубл. 10.05.2003.
10. Пат. ВУ 12348 РБ. Способ выделения эритромицина. / Куваева З.И., Агабалаев А.А., Качерська С.П. – Опубл. 30.08.2009.
11. Erythromycin [Electronic Resource] // Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/12560>.
12. *Lachnit C. A., Liebig M. P., Klink P. A.* Erythromycin [Electronic Resource] // Available from: https://www.chemie.tu-darmstadt.de/fessner/lehre_s01/damocles/chronologisch/2010/erythromycin.de.jsp.

13. 14-членные антибиотики [Electronic Resource] // Available from: <http://www.antibiotic.ru/books/macrolid/mclld06.shtml>.
14. Erythromycin [Electronic Resource] // Available from: <http://elephantcare.org/resources/formulary/drug-index/erythromycin/>.
15. Antiinfectives for Systemic Use: Erythromycin [Electronic Resource] // Available from: https://www.whocc.no/atc_ddd_index/?code=J01FA01.
16. Erythromycin: Indications [Electronic Resource] // Available from: <https://www.infomed.ch/100drugs/erytphar.html>.
17. *Ткаченко Т. І.* Макроліди одна з найбезпечніших груп антимікробних засобів // *Фармацевт практик.* – 2019. – №4. – С. 32–33.
18. Mechanism of Action of Macrolides [Electronic Resource] // Available from: <https://pharmaxchange.info/2011/06/mechanism-of-action-of-macrolides/>.
19. *Матвеев А. В., Крашенинников А. Е., Егорова Е. А.* Вопросы безопасности эритромицина // *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия.* – 2018. – Т. 20. – №3. – С. 199–204.
20. Механизмы устойчивости к антибактериальным препаратам отдельных групп [Электронный ресурс] // Режим доступа до ресурсу: <http://www.antibiotic.ru/index.php?doc=98>.
21. Еритроміцин (Erythromycin) [Електронний ресурс] // Режим доступу до ресурсу: <https://compendium.com.ua/dec/268278/>.
22. Державний формуляр лікарських засобів. Випуск одинадцятий. – К. 2019.
23. *Кишкан І. Г.* Фармакоєкономічний аналіз макролідних та азалідних антибіотиків // *Клінічна та експериментальна патологія.* – 2019. – Т. 18. – №3. – С. 38–44.
24. WHO recommendation on the prophylactic antibiotic of choice in women with preterm prelabour rupture of membranes [Electronic Resource] // Available from: <https://extranet.who.int/rhl/topics/preconception-pregnancy-childbirth-and-postpartum-care/pregnancy-complications/prelabour-rupture-membranes/who-recommendation-prophylactic-antibiotic-choice-women-preterm-prelabour-rupture-membranes>.

25. *Stetsko T. I., Muzyka V. P., Hunchak V. M.* Critically important antimicrobial preparations for veterinary medicine // Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. – 2018. – V. 20. – № 87. – P. 19–26.
26. *Фещенко Ю. И.* Применение современных макролидов в пульмонологической практике [Электронный ресурс] // Режим доступа до ресурсу: <http://www.ifp.kiev.ua/doc/staff/makrolid.htm>.
27. Еритроміцин [Электронный ресурс] // Режим доступа до ресурсу: <http://www.drlz.com.ua/ibp/ddsite.nsf/all/shlz1?opendocument&stype=2A3A7E6E72EDCF3DC22584780033EB85>.
28. Еритроміцин [Электронный ресурс] // Режим доступа до ресурсу: <http://www.drlz.com.ua/ibp/ddsite.nsf/all/shlz1?opendocument&stype=2E835217F1697A38C22582B0003D4999>.
29. Актиноміцети (Actinomycetales) [Электронный ресурс] // Режим доступа до ресурсу:
[https://vue.gov.ua/%D0%90%D0%BA%D1%82%D0%B8%D0%BD%D0%BE%D0%BC%D1%96%D1%86%D0%B5%D1%82%D0%B8_\(Actinomycetales\)](https://vue.gov.ua/%D0%90%D0%BA%D1%82%D0%B8%D0%BD%D0%BE%D0%BC%D1%96%D1%86%D0%B5%D1%82%D0%B8_(Actinomycetales)).
30. *Сергеева А. Г., Куимова Н. Г.* Актиномицеты как продуценты биологически активных веществ // Бюллетень. – 2006. – №22. – С. 88–90.
31. *Sayed A. M., Abdel-Wahab N. M.* *Saccharopolyspora*: an underexplored source for bioactive natural products // Journal of Applied Microbiology. – 2019. – P. 1–16.
32. *Пирог Т. П.* Загальна мікробіологія: Підруч. – 2-е вид., доп. і перероб. – К: НУХТ, 2010. – 632 с.
33. *Зінченко М. Г.* Біохімічні і мікробіологічні основи харчової та бродильної технології: навч. посібник Харків. – НТУ «ХП», 2009. – 188 с.
34. Меляса [Электронный ресурс] // Режим доступа до ресурсу: <http://diamantsugar.com.ua/ua/page-melyasa>.
35. Азотсодержащее сырье [Электронный ресурс] – Режим доступа до ресурсу: <http://www.spec-kniga.ru/tehnohimicheski-kontrol/obshchaya-tekhnologiya->

mikrobiologicheskikh-proizvodstv/tipovaya-skhema-mikrobiologicheskogo-proizvodstva-pitatelnye-sredy.html.

36. *Saccharopolyspora erythraea* [Electronic Resource] // Available from: <https://bacdive.dsmz.de/strain/13444#ref9612>.
37. Subathra D. C., Saini L. A., Rastogi S. P. Strain improvement and optimization studies for enhanced production of erythromycin in bagasse based medium using *Saccharopolyspora erythraea* MTCC 1103 // 3 Biotech. – 2013. – V. 5. – № 1. – P. 23–31.
38. RU 2142509 C2. Штамм *Saccharopolyspora erythraea* С - 77 – продуцент антибиотика грамицидина. / Сергеева А.В., Шушеначева Е.В., Мичурина Т.В. – Опубл. 10.08.2008.
39. Ghosvand H. B, Bonakdarpour B. P., Heydarian S. M. The inter-relationship between inoculum concentration, morphology, rheology and erythromycin productivity in submerged cultivation of *Saccharopolyspora erythraea* // Brazilian Journal of Chemical Engineering. – 2011. – V. 28. – № 4. – P. 565–574.
40. *Saccharopolyspora erythraea* [Electronic Resource] // Available from: <https://www.dsmz.de/collection/catalogue/details/culture/DSM-40517>.
41. Слабкий Г. О., Шатило В. Й., Шнута О.О. Характеристика оптимізованої функціонально-організаційної моделі надання первинної медико-санітарної допомоги при інфекційних та паразитарних хворобах // Україна. Здоров'я нації. – 2015. – №4. – С. 27–32.
42. Вивчення споживання лікарських засобів за анатомо-терапевтично-хімічною класифікацією та встановленими добовими дозами (АТС/DDD – методологія) : метод. рек. / [А. М. Морозов та ін.]. – К., 2013. – 34 с.
43. Аспекти реальної практики споживання антибактеріальних препаратів за результатами інтегрованого аналізу їх продажу в аптеці [Електронний ресурс] // Режим доступу до ресурсу: <http://rpht.com.ua/ua-issue-article-1348>.
44. Основи проектування біотехнологічних виробництв: метод. рекомендації до викон. курс. проекту для студ. напряму підготовки 6.051401 «Біотехнологія» ден.

форми навч. / уклад. Т.П. Пирог, Ю.В. Карлаш, В.О. Красінько. – К.: НУХТ, 2015.
– 92 с.

45. Starch and sucrose metabolism - *Saccharopolyspora erythraea* [Electronic Resource] // Available from: https://www.genome.jp/kegg-bin/show_pathway?sen00500.
46. Glycolysis/Gluconeogenesis - *Saccharopolyspora erythraea* [Electronic Resource] // Available from: https://www.genome.jp/kegg-bin/show_pathway?sen00010.
47. Biosynthesis of 12-, 14- and 16-membered macrolides - *Saccharopolyspora erythraea* [Electronic Resource] // Available from: https://www.genome.jp/kegg-bin/show_pathway?sen00522.
48. Polyketide sugar unit biosynthesis - *Saccharopolyspora erythraea* [Electronic Resource] // Available from: https://www.genome.jp/kegg-bin/show_pathway?sen00523.
49. *Saccharopolyspora erythraea* [Electronic Resource] // Available from: <http://bmap.wishartlab.com/organisms/477>.
50. *Пляцук Л.Д.* Екологічна біотехнологія: принципи створення біотехнологічних виробництв : навчальний посібник / Л. Д. Пляцук, Є. Ю. Черниш. – Суми : Сумський державний університет, 2018. – 293 с.
51. Загальна характеристика мікроорганізмів і способи їх культивування [Електронний ресурс] // Режим доступу до ресурсу: https://moodle.znu.edu.ua/pluginfile.php?file=/236895/mod_resource/content/1/2.pdf.
52. *Резенчук О. Є.* Класифікація та аналіз роботи ферментів з пневматичним перемішуванням / О. Є. Резенчук, В. М. Поводзинський, В. Ю. Шибецький. // Наукові вісті НТУУ "КПІ". – 2011. – С. 79–84.
53. *Стасевич М.В.* Обладнання технологічних процесів фармацевтичних та біотехнологічних виробництв: підручник [для вищ. навч. закл.] М.В. Стасевич., А.О. Милянч., І.О. Гузьова [та ін.]. – Львів: «Новий світ-2000», 2017. - 410 с.
54. Biotron Inc. - LiFlus SP [Electronic Resource] // Available from: https://biotron.en.ecplaza.net/products/liflus-sp2ton-30ton-fermenter_297685.
55. Конспект лекцій з дисципліни «Асептика біотехнологічних виробництв» освітньо-професійної програми другого (магістерського) рівня вищої освіти зі

- спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія» усіх форм навчання / Укл.: Головей О.П., Гуляєв В.М. – Кам'янське, ДДТУ, 2017 р., 140 с.
56. Биомой, методические рекомендации [Электронный ресурс] // Режим доступа до ресурсу: <https://dezmed.com.ua/ru/instruktsiia/item/biomoj-metodicheskie-rekomendatsii-instruktsiya-po-primeneniyu>.
57. *Пирог Т.П., Игнатова О.А.* Загальна біотехнологія: Підручник. – К.: НУХТ, 2009. – 336 с.
58. Системи підготовки стисненого повітря [Електронний ресурс] // Режим доступу до ресурсу: https://wiki.tntu.edu.ua/%D0%A1%D0%B8%D1%81%D1%82%D0%B5%D0%BC%D0%B8_%D0%BF%D1%96%D0%B4%D0%B3%D0%BE%D1%82%D0%BE%D0%B2%D0%BA%D0%B8_%D1%81%D1%82%D0%B8%D1%81%D0%BD%D0%B5%D0%BD%D0%BE%D0%B3%D0%BE_%D0%BF%D0%BE%D0%B2%D1%96%D1%82%D1%80%D1%8F.
59. ГОСТ Р ЕН 12298-2012 Биотехнология. Оборудование. Методы испытаний на герметичность.
60. *Стасевич М.В.* Обладнання технологічних процесів фармацевтичних та біотехнологічних виробництв: навч. посібник для студ. вищ. навч. заклад. / М.В. Стасевич, А.О. Милянч, І.О. Гузьова [та ін.]; за ред. В.П. Новікова. – Вінниця: Нова книга, 2012. – 408 с.
61. *Сидоров Ю.І.* Процеси і апарати хіміко-фармацевтичної промисловості / Ю.І. Сидоров, В.І. Чуєшов, В.П. Новіков. – Вінниця: Нова книга, 2010. – 816 с.
62. *Коростелева Н.И.* Биотехнология: учебное пособие / Н.И. Коростелева, Т.В. Громова, И.Г. Жукова. Барнаул: Изд-во АГАУ, 2006. – 127 с.
63. Микрофилтрационная установка BTS-CMS-MF [Электронный ресурс] // Режим доступа: https://prom-nasos.pro/catalog/inzhiniring/filtratsionnye_ustanovki/ultrafiltratsiya/mikrofiltratsionnaya_ustanovka_na_keramicheskikh_membranakh_bts_cms_mf/.

64. Mixer-settler-Plant [Electronic Resource] // Available from: <https://www.dedietrich.com/en/solutions-and-products/extraction/liquid/liquid-extraction/mixer-settler-plant>.
65. Mixer reactor with Glasslock system [Electronic Resource] // Available from: <https://www.dedietrich.com/en/solutions-and-products/reaction/mixing/glaslockr-system>.
66. Nutsche filter FNB-S [Electronic Resource] // Available from: <https://bachiller.com/en/agitated-nutsche-filters/nutsche-filter-dryer/#features>.
67. Нутч фильтры [Электронный ресурс] // Режим доступа до ресурсу: <http://spbactive.ru/production/nutsche-filter/>.
68. Fluidized bed dryer // Available from: https://stetecpharm.com/our-products/fluidized-bed-dryers/fluidized-bed-dryer/?gclid=Cj0KCQjw0pfzBRCOARIsANi0g0sJFoGUfV55RwWXTV4kD6AxOVh0f_wdQfhGRAts9CRBna3vRXwYUwsaAr3bEALw_wcB.
69. Эритромицин Базового сырья ВР, ЕР, USP CAS 114-07-8 [Электронный ресурс] // Режим доступа до ресурсу: <http://www.fengchengroup.net/pharmaceutical-api/antibiotics/china-erythromycin-base-suppliers-china.html>.
70. Приготовление буферных растворов [Электронный ресурс] // Режим доступа до ресурсу: <http://agro-archive.ru/metody-issledovaniya/951-prigotovlenie-bufernyh-rastvorov.html>.
71. Загальна мікробіологія і вірусологія: лабораторний практикум для студ. освітнього ступеня «Бакалавр» спец. 162 «Біотехнології та біоінженерія» денної форми навч. / уклад. Т.П. Пирог, М.М. Антонюк. – К.: НУХТ, 2016. – 110 с.
72. *Fahimeh K.N., Attar H.H., Nikjahb S.P.* Determination of erythromycins in fermentation broth using liquid phase extraction with back extraction combined with high performance liquid chromatography // *Arabian Journal of Chemistry*. – 2010. – P. 1–4.
73. *Хабаров Ю.Г., Камакина Н.Д., Вешняков В.А.* Фотометрический метод определения редуцирующих сахаров в растворах // ИВУЗ. «Лесной журнал». – 2008.

74. Определение аминного азота (медный способ) [Электронный ресурс] // Режим доступа до ресурсу: <https://alternativa-sar.ru/tehnologu/pivo-i-napitki/meledina-syrie-i-materialy-v-pivovarenii/907-prilozhenie-5-opredelenie-aminnogo-azota>.
75. Анализатор влажности лабораторный (галогенный) OHAUS MB27 [Электронный ресурс] // Режим доступа до ресурсу: <https://simvolt.ua/analizator-vlazhnosti-laboratornuu-galogennyu-ohaus-mb27.html>.
76. Спектрофотометрия [Электронный ресурс] // Режим доступа до ресурсу: <https://www.pharmencyclopedia.com.ua/article/596/spektrofotometriya>.
77. Erythromycin [Electronic Resource] // Available from: http://www.uspbper.com/usp32/pub/data/v32270/usp32nf27s0_m30180.html.
78. Erythromycin [Electronic Resource] // Available from: <https://spectrabase.com/spectrum/HLTZAy42S5U>.
79. Сухурукова М. В. Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам [Электронный ресурс] // Режим доступа до ресурсу: https://fedlab.ru/upload/medialibrary/7ec/kochetov-ag.-rekomendatsii-po-opredeleniyu-chuvstvitelnosti-mikroorganizmov-k-ab_-15.11.2014.pdf.
80. Диско-дифузийный метод (ДДМ) [Электронный ресурс] // Режим доступа до ресурсу: https://imdlab.com.ua/library/blog_ddm.
81. Erythromycin [Electronic Resource] // Available from: http://www.uspbper.com/usp32/pub/data/v32270/usp32nf27s0_m30180.html.
82. Преобразователь температуры SITRANS TF2 [Электронный ресурс] // Режим доступа до ресурсу: <http://www.pkimpex.ru/opisanie/preobrazovatel-temperature-sitrans-tf2>.
83. Электропневматический преобразователь SMC ITV [Электронный ресурс] // Режим доступа до ресурсу: <http://www.smc-pneumatics.com.ua/elektropnevmaticheskiy-preobrazovatel-itv/>.
84. Клапан регулирующий LDM RV111 [Электронный ресурс] // Режим доступа до ресурсу: <https://boiler.ua/klapan-reguliruushchiy-ldm-rv111-r3-t-s-elektroprivodom-ant3-5.20-chugunnyu-du-40/>.

85. Узор-01С [Электронный ресурс] // Режим доступа до ресурсу: <http://tckvp.com.ua/magazin/product/uzor-01s#shop2-tabs-2>.
86. PDT измерительный преобразователь разности давлений [Электронный ресурс] // Режим доступа до ресурсу: <https://www.teren.com.ru/pressure/pdt>.
87. Механический вариатор CV 10 [Электронный ресурс] – Режим доступа до ресурсу: <https://provent.com.ua/product/mekhanicheskiy-variator-cv-10/>.
88. Датчик-перетворювач САПФІР-22 ДІВ [Электронный ресурс] – Режим доступа до ресурсу: http://standart-m.com.ua/kipia/datchiki-davleniya/datchiki-sapfir-22-div_-sapfir-22-da_-sapfir-22-dv?mova=uk.