

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ

Інститут (факультет) біотехнології та екологічного контролю
Кафедра біотехнології і мікробіології

«До захисту в ЕК»

Директор інституту(декан факультету)

(підпис) Наталія ГРЕГІРЧАК
(ім'я та прізвище)

« ___ » лютого 2024 р.

«До захисту допущено»

Завідувач кафедри

(підпис) Віктор СТАБНІКОВ
(ім'я та прізвище)

« ___ » лютого 2024 р.

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА
НА ЗДОБУТТЯ ОСВІТНЬОГО СТУПЕНЯ БАКАЛАВРА

зі спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія»
(код та назва спеціальності)

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

на тему: Культивування *Bacillus megatherium* для одержання фосфорного бактерійного добрива

Виконала: здобувачка 5 курсу, групи 1

БОЯРИН Тетяна Володимирівна
(прізвище, ім'я, по батькові повністю) _____ (підпис)

Керівник СТАБНІКОВ Віктор Петрович
(прізвище, ім'я та по батькові повністю) _____ (підпис)

Консультанти _____ (підпис)
_____ (прізвище та ініціали)

_____ (підпис)
_____ (прізвище та ініціали)

_____ (підпис)
_____ (прізвище та ініціали)

Рецензент _____ (підпис)
_____ (прізвище та ініціали)

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

Здобувач _____
(підпис)

Київ – 2024 р.

НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ

Інститут (факультет) Біотехнології та екологічного контролю

Кафедра біотехнології і мікробіології

Освітній ступінь бакалавр

Спеціальність 162 «Біотехнології та біоінженерія»

(код і назва)

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

(назва)

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри біотехнології і мікробіології

Віктор СТАБНИКОВ

“_30_” жовтня 2023 року

З А В Д А Н Н Я

НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ ЗДОБУВАЧА

БОЯРИН Тетяни Володимирівни

(прізвище, ім'я, по батькові)

1. Тема роботи Культивування *Bacillus megatherium* для одержання фосфорного бактерійного добрива

керівник роботи СТАБНИКОВ Віктор Петрович, проф., д.т.н.

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

затверджені наказом закладу вищої освіти від 06 листопада 2023 року № 913-кв

2. Строк подання здобувачем роботи 05 лютого 2024 р.

3. Вихідні дані до роботи біологічний агент: *Bacillus megatherium*, цільовий продукт: біомаса

4. Зміст пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно розробити) Розділ 1. Характеристика фосфорного бактеріального добрива на основі *Bacillus megatherium*; Розділ 2. Обґрунтування вибору та характеристика біологічного агента; Розділ 3. Техніко-економічне обґрунтування; Розділ 4. Обґрунтування вибору технологічної схеми виробництва фосфорного біодобрива; Розділ 5. Специфікація обладнання; Розділ 6. Опис технологічної схеми; Розділ 7. Контроль виробництва; Розділ 8. Охорона довкілля

5. Перелік графічного матеріалу

Технологічна схема ділянки виробничого біосинтезу – 1 аркуш формату А1; Апаратурна схема ділянки виробничого біосинтезу – 1 аркуш формату А1.

6. Консультанти розділів роботи

Розділ	Прізвище, ініціали та посада консультанта	Підпис, дата	
		завдання видав	завдання прийняв

7. Дата видачі завдання 30 жовтня 2023 року

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№	Назва етапів виконання кваліфікаційної роботи	Строк виконання етапів роботи	Примітка
1	Розділ 1. Характеристика фосфорного бактеріального добрива на основі <i>Bacillus megaterium</i>	30.10.2023 – 06.11.2023	
2	Розділ 2. Обґрунтування вибору та характеристика біологічного агента	07.11.2023 – 21.11.2023	
3	Розділ 3. Техніко-економічне обґрунтування	22.11.2023 – 30.11.2023	
4	Розділ 4. Обґрунтування вибору технологічної схеми виробництва фосфорного біодобрива	31.11.2023 – 13.12.2023	
5	Розділ 5. Специфікація обладнання	14.12.2023 – 16.12.2023	
6	Розділ 6. Опис технологічної схеми	17.12.2023 – 19.12.2023	
7	Розділ 7. Контроль виробництва	20.12.2023 – 23.12.2023	
8	Оформлення пояснювальної записки	24.12.2023 – 08.01.2024	
9	Виконання графічної частини роботи	09.01.2024 – 20.01.2024	

Здобувач _____
(підпис)

Керівник роботи _____
(підпис)

Тетяна БОЯРИН _____
(ім'я та прізвище)

Віктор СТАБНІКОВ _____
(ім'я та прізвище)

РЕФЕРАТ

Робота присвячена розробці біотехнологічного виробництва фосфорного біодобрива на основі *Bacillus megatherium*. Як біологічний агент біло обрано *Bacillus megatherium* var. *phosphaticum* ВКМ В-2357 Д, який крім збагачення добрива фосфором, ще й розщеплює недоступний фосфор в навколишньому середовищі для рослин, що робить його гарним біологічним агентом для виробництва біопрепарату для сільського господарства.

Для розрахунків техніко-економічного обґрунтування було обрано посівні площі Київської області, які станом на 2023 рік складає 1160 тис. га. Було запропоновано забезпечувати лише половину від потреби, тим самим враховуючи конкуренції на вітчизняному ринку. Також, через конкуренцію розраховано лише одну обробку земель, замість декількох на сезон, також через можливе мікробне перенавантаження. Було визначено кількість днів – 200 трудоднів. Робочий ферментер обрано об'ємом 5 м³. Коефіцієнт заповнення – 0,65.

Виробництво передбачає ряд допоміжних робіт, а саме підготовку аераційного повітря, підготовку запасного розчину мікроелементів, а також приготування та стерилізація поживного середовища. До технологічного процесу входить підготовка інокуляту, а також виробниче культивування. Під час виробництва виконують мікробіологічний контроль, визначають концентрацію біомаси, концентрацію життєздатних клітин, визначення концентрації азоту та вуглецю в середовищі.

Робота містить вступ, 5 розділів та список використаних літературних джерел, які становлять 53 посилання. В роботі наведено 10 рисунків та 13 таблиць. Кількість сторінок роботи – 67. Робота містить графічну частину, що представлена технологічною та апаратною схемами, викладеними на аркушах формату А1.

Ключові слова: біопрепарати, сільське господарство, фосфор, фосфатіомобілізуючі мікроорганізми, *Bacillus megatherium* var. *phosphaticum* ВКМ В-2357 Д.

ЗМІСТ

ВСТУП.....	6
РОЗДІЛ 1. Характеристика фосфорного бактеріального добрива на основі <i>Bacillus megaterium</i>	10
РОЗДІЛ 2. Обґрунтування вибору та характеристика біологічного агента.....	12
2.1. Обґрунтування вибору біологічного агента та поживного середовища для його культивування.....	12
2.2. Морфолого-культуральні та фізіолого-біохімічні ознаки <i>Bacillus megaterium</i>	17
2.3. Таксономічний статус <i>Bacillus megaterium</i>	19
РОЗДІЛ 3. Техніко-економічне обґрунтування.....	20
3.1. Потреба у фосфорному біодобриві.....	20
3.2. Розрахунок потужності виробництва.....	23
3.3. Розрахунок об'єму ферментера та кількості виробничих циклів.....	24
3.4. Розрахунок кількості стадій підготовки посівного матеріалу.....	25
3.5. Біосинтез біомаси <i>Bacillus megaterium</i> var. <i>phosphaticum</i> ВКМ В-2357 Д.....	25
3.5.1. Шляхи катаболізму глюкози у <i>Bacillus megaterium</i> var. <i>phosphaticum</i> ВКМ В-2357 Д.....	26
3.5.2. Біотрансформація глюкози в біомасу <i>Bacillus megaterium</i> var. <i>phosphaticum</i> ВКМ В-2357 Д.....	27
РОЗДІЛ 4. Обґрунтування вибору технологічної схеми виробництва фосфорного біодобрива.....	33
4.1. Обґрунтування способу культивування і типу ферментера.....	33
4.2. Обґрунтування вибору стадії підготовки аераційного повітря.....	35
4.3. Вибір мийних та дезінфікуючих засобів.....	37
4.4. Особливості підготовки та стерилізації поживного середовища....	43
РОЗДІЛ 5. Специфікація обладнання.....	46
РОЗДІЛ 6. Опис технологічної схеми.....	48
РОЗДІЛ 7. Контроль виробництва.....	55

7.1. Карта постадійного контролю доферментаційних процесів.....	55
7.2. Мікробіологічний контроль.....	63
7.3. Показники росту і синтезу цільового продукту.....	63
7.3.1. Концентрація біомаси.....	63
7.3.2. Концентрація життєздатних клітин.....	64
7.3.3. Визначення концентрації азоту.....	64
7.2.4. Визначення концентрації глюкози.....	65
РОЗДІЛ 8. Охорона довкілля.....	67
8.1. Аналіз технологічної схеми виробництва фосфорного біодобрива на місця емісії твердих, рідких та газоподібних відходів.....	67
8.2. Перспективи впровадження системи екологізації виробництва.....	67
8.2.1. Система знешкодження та утилізації рідких відходів.....	68
8.2.2. Система знешкодження газоповітряних викидів.....	70
8.2.3. Заходи щодо зменшення об'ємів відходів.....	72
СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ.....	74
ДОДАТКИ	

ВСТУП

У виробництві добрив в Україні спостерігається тенденція до зменшення. Якщо у 2011 році на імпорт припадало менше третини продажів добрив, то у 2017 році — вже понад дві третини. У 2018 році частка імпорту дещо знизилася, але все одно залишилася на високому рівні — 69,2%. Це означає, що власне виробництво покриває лише трохи більше третини потреб українського агросектору у добривах [1].

В Україні виробництво добрив поступово зменшується, оскільки країна залежить від Росії у постачанні газу, який є основним компонентом для виробництва добрив. Крім того, Україна втратила контроль над частиною Донбасу, де розташований завод «Стірол», який виробляє азотні добрива. А завод «Северодонецьке об'єднання «Азот»», який також виробляв азотні добрива, перенесли на непідконтрольну Україні територію. Нарешті, російські компанії, які раніше були основними постачальниками добрив в Україну, покинули український ринок [1].

Ці фактори призвели до того, що власне виробництво добрив в Україні покриває лише трохи більше 30% потреб українського агросектору. У зв'язку з цим рішення Кабміну про запровадження повного ембарго на імпорт російських мінеральних добрив є логічним кроком, який допоможе зменшити залежність України від Росії [1].

В Україні виробництво добрив у 2023 році збільшилося на 81%, але все одно залишилося нижчим, ніж у 2021 році. У 2023 році було вироблено 2,05 млн тонн добрив, що на 81% більше, ніж у 2022 році, але на 60% менше, ніж у 2021 році [2].

У 2023 році в Україні спостерігалася тенденція до зростання споживання добрив. Хоча наприкінці року споживання дещо скоротилося, загальні обсяги купівлі зросли. Обсяг імпорту добрив активно зростав у першому кварталі, а в

					<i>НУХТ БТЕК 05.01.05 КР ПЗ</i>			
<i>Змн.</i>	<i>Лист</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>				
<i>Розроб.</i>		<i>Боярин Т.В.</i>			<i>ВСТУП</i>	<i>Літ.</i>	<i>Арк.</i>	<i>Аркушів</i>
<i>Перевір.</i>		<i>Стабніков В.П.</i>					6	74
<i>Реценз.</i>						<i>Кафедра БТМ</i>		
<i>Н. Контр.</i>								
<i>Затверд.</i>		<i>Стабніков В.П.</i>						

другому знизився. Однак загальний обсяг імпорту за 10 місяців 2023 року склав 2 млн тонн, що є рекордним показником за останні два роки [2].

У виробництві фосфатних добрив на ринку України лідирує США, на частку якого припадає 24%. До війни друге місце тримала Росія з часткою 17%. В Україні виробництво фосфатних добрив залишається на низькому рівні. За останні 7 років воно скоротилося у 6,5 разів. До війни це пояснювалось різким підвищенням ціни на російський апатитовий концентрат, який був основною сировиною для українського виробництва фосфатних добрив. В останні роки підприємства намагаються перейти на алжирські та сирійські фосфорити, але їхня якість не завжди відповідає вимогам українського виробництва [3].

З фосфоровмісних добрив в Україні в основному виробляють амофос. У 2012 році було вироблено близько 130 тис. тонн амофосу. Ці обсяги не задовольняють потреби країни, тому необхідно більш повно використовувати власну сировинну базу [3].

Фосфор є одним з трьох основних макроелементів, необхідних для росту рослин. Він відіграє важливу роль у багатьох біохімічних процесах, включаючи фотосинтез, дихання, накопичення енергії та синтез нуклеїнових кислот. На ранніх етапах розвитку рослин фосфор необхідний для закладання репродуктивних частин культури, таких як квіти та плоди. Він також сприяє збільшенню кореневої системи, що робить рослини більш життєздатними та стійкими до хвороб [4].

Фосфор також допомагає у формуванні повноцінних насінин і в ранньому дозріванні сільськогосподарських культур. Дефіцит фосфору може призвести до таких проблем, як зменшення росту, зниження врожайності та погіршення якості продукції. Фосфор становить 0,2 – 0,8% від сухої ваги рослини. Він знаходиться в основному в коренях і стеблах. Фосфорні добрива можна вносити в ґрунт або листя [4].

Основною проблемою звичайних фосфорних добрив є їх недоступність для рослини. Існує два основних шляхи, за якими фосфати можуть перетворюватися в недоступну для рослин форму [4]:

- Сорбція фосфатів на поверхні мінералів ґрунту. Фосфати можуть

адсорбуватися на поверхні мінералів ґрунту, таких як глина, оксиди кремнію та заліза. Цей процес відбувається внаслідок електростатичної взаємодії між позитивними зарядами фосфатів та негативними зарядами мінералів ґрунту.

- Осадження фосфатів вільними іонами Ca^{2+} , Al^{3+} і Fe^{3+} . Фосфати можуть осаджуватися у вигляді нерозчинних сполук з вільними іонами Ca^{2+} , Al^{3+} і Fe^{3+} , які присутні в ґрунтовому розчині. Цей процес відбувається внаслідок утворення нерозчинних солей фосфатів.

Другий шлях перетворення фосфатів в недоступну для рослин форму є більш поширеним. Це пов'язано з тим, що в більшості ґрунтів присутні високі концентрації вільних іонів Ca^{2+} , Al^{3+} і Fe^{3+} [4].

Тому, як рішення, пропонується використовувати бактеріальні фосфатні добрива. Мікроорганізми можуть розчиняти фосфор, який знаходиться в ґрунті у вигляді фосфатів. Цей процес називається фосфатмобілізацією. Фосфатмобілізуючі мікроорганізми можуть бути корисні для рослин, оскільки вони допомагають їм отримувати доступ до фосфору, який в іншому випадку був би недоступний [4].

До фосфатмобілізуючих мікроорганізмів відносяться: бактерії (*Pseudomonas*, *Bacillus*, *Azotobacter* і *Rhizobium*), гриби (*Aspergillus*, *Penicillium*, *Trichoderma* і *Rhizoctonia*), актиноміцети (*Streptomyces* і *Nocardia*), водорості (*Chlorella* і *Scenedesmus*). Фосфатмобілізуючі мікроорганізми можуть розчиняти фосфор двома способами: продукцією кислот та виділенням ферментів. Для доступності фосфору потрібно одночасно використовувати фосфоровмісні добрива з фосфатмобілізуючими мікроорганізмами. Це дозволить підвищити ефективність споживання рослиною фосфор [4].

Тому, актуальністю теми є виробництва біопрепарату, що містить фосфор з метою підвищення ефективності його споживання, а також задля витіснення з українського ринку конкуренту-терористу з метою забезпечення власних агропромислових потреб [4].

Новизною теми є використання бактерій *Bacillus megaterium* var.

phosphaticum ВКМ В-2357 Д [5], які не лише розчиняють, а й додатково збагачують культуральну рідину фосфором, який так необхідний для рослин.

РОЗДІЛ 1

ХАРАКТЕРИСТИКА ФОСФОРНОГО БАКТЕРІАЛЬНОГО ДОБРИВА НА ОСНОВІ *BACILLUS MEGATERIUM*

B. megaterium являють собою дрібні, грампозитивні аеробні спороутворюючі палички розміром 2-6 мкм. Клітини містять значну кількість з'єднань фосфору. У ранній стадії розвитку це рухливі поодинокі палички, при старінні утворюють ендоспори, що локалізуються в одному з кінців клітки [6].

Бактеріальне добриво, що містить спори мікроорганізму *Bacillus megaterium*, являє собою порошок ясно-сірого або жовтуватого кольори або може бути у вигляді рідкого препарату [6].



Рис.1.1. Приклад форми випуску біодобрив, що містять бацили [7,8]

Бактерії мають здатність перетворювати складні фосфорорганічні сполуки (нуклеїнові кислоти, нуклеопротеїди і т.д.) і важкозасвоювані мінеральні фосфати в доступну для рослин форму. Крім цього бактерії виробляють біологічно активні речовини (тіамін, піридоксин, біотин, пантотенову й нікотинову кислоти та ін.), що стимулюють ріст рослини. Добриво належить до препаратів зі стимулюючим ефектом [9].

					НУХТ БТЕК 05.01. КР ПЗ			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата	РОЗДІЛ 1 ХАРАКТЕРИСТИКА ФОСФОРНОГО БАКТЕРІАЛЬНОГО ДОБРИВА НА ОСНОВІ <i>BACILLUS MEGATERIUM</i>	Лім.	Арк.	Аркушів
Розроб.	Боярин Т.В.						10	74
Перевір.	Стабніков В.П.					Кафедра БТМ		
Реценз.								
Н. Контр.								
Затверд.	Стабніков В.П.							

Ефективність біопродукту визначається можливістю бактерій, на основі яких він створений, переводити фосфорорганічні сполуки в розчинну форму, покращувати доступність живлення рослин, сприяти росту та їх розвитку шляхом забезпечення біологічно активними речовинами (вітамінами, рослинними гормонами, амінокислотами тощо), підвищувати стійкість рослин до патогенів та стресів, а також покращувати врожайність та якість продукції [9].

Препарат повинен відповідати санітарно-гігієнічним нормам, не бути шкідливим для людини і тварин, не викликати забруднення навколишнього середовища. При дотриманні правил застосування препарату і технології вирощування культур, сприятиме збільшенню врожаю і поліпшенню його якості [9].

Згідно з дослідженнями та літературними даними, бактерії в культурі прикріплюються до поверхні насіння та активізуються після посіву і починають активно накопичувати фосфор у доступній формі, рослини починають його споживати, відповідно, починають швидше рости і харчуватися; по мірі росту рослин бактерії починають розростатися і утворювати колонії, продовжують відігравати роль у накопиченні фосфору, а також мають певну антагоністичну активність по відношенню до шкідників рослин і пригнічують їхній розвиток [9].

Передпосівну обробку насіння цим препаратом слід проводити за день до або в день посіву. Насіння слід струсити (вручну або за допомогою безпестицидного протруювача) і дати йому злегка підсохнути на повітрі, подалі від прямих сонячних променів [9].

Препарат на основі *B. megaterium* має здатність перетворювати складні фосфороорганічні сполуки (нуклеїнові кислоти, нуклеопротеїди тощо) і важкозасвоювані мінеральні фосфати (пірофосфати, поліфосфати) у доступну для рослин форму. Крім того, бактерії виділяють біологічно активні речовини (тіамін, піридоксин, біотин, пантотенову і ніотинову кислоти, вітамін B12 тощо), стимулює ріст рослин, особливо на ранніх етапах його розвитку.

Препарат не замінює фосфорні добрива і не діє без них. Відноситься до числа препаратів, що володіє стимулюючим ефектом.

РОЗДІЛ 2
ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТА ХАРАКТЕРИСТИКА
БІОЛОГІЧНОГО АГЕНТА

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

В даний час впровадження біологічного сільського господарства (екологічно чисте внесення добрив і підживлення рослин у полі) має великі перспективи. Використання бактеріальних добрив пропонує новий підхід до вирішення біологічних проблем, забезпечуючи при цьому відчутну економічну вигоду.

Відомі біопрепарати на основі фосфатфіксуючих ґрунтових бактерій, отриманих шляхом культивування *B. megaterium*.

Таблиця 2.1.

Порівняння характеристик фосфатомобілізуєчих препаратів на основі
Bacillus megaterium

Штам	Склад поживного середовища г/л	Особливості культивування	Титр препарату	Тривалість процесу
1	2	3	4	5
<i>Bacillus megaterium</i> V3	Триптон – 10; Дріжджовий екстракт – 5; Mg2SO4 - 2,5;	Інкубацію проводять при 32°C, 60-70% насиченні повітря, рН = 7,2 протягом 20 годин.	1×10 ⁷	20 год

					НУХТ БТЕК 05.01.05 КР ПЗ		
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата			
Розроб.	Боярин Т.В.				РОЗДІЛ 2		
Перевір.	Стабніков В.П.				ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ		
Реценз.					ТА ХАРАКТЕРИСТИКА		
Н. Контр.					БІОЛОГІЧНОГО АГЕНТА		
Затверд.	Стабніков В.П.				Кафедра БТМ		
					Вакінчення т. 74		

<i>Bacillus megaterium</i> var. <i>phosphaticum</i> ВКМ В-2357 Д	NH ₄ Cl - 2 ; MgSO ₄ ·7H ₂ O; NaCl -0,2 ; MnSO ₄ - сліди FeSO ₄ ·7H ₂ O сліди; Глюкоза – 20; рН - 7,0;	Штам інокулюють і глибоко культивують при 31°C, швидкості перемішування 120 об/хв, рН - 7.	1,8×10 ⁹	48 год
<i>Bacillus megaterium</i> 501 GR	Дріжджовий автолізат свіжий - 20 ; Кукурудзяне борошно 10; (NH ₄)NO ₃ 0,2; K ₂ HPO ₄ 0,8; KH ₂ PO ₄ 0,2; MgSO ₄ 0,1; MnCl ₂ 0,2 мг; CuSO ₄ 2,0 мг;	Інкубацію проводять при 37°C протягом 48 годин або до максимального утворення спор.	0,5×10 ⁹	48 год

З таблиці 2.1 видно, що наведені в таблиці продуценти біопрепаратів відрізняються за титром готового біопрепарату; *B. megaterium* var. *phosphaticum* ВКМ В-2357 D мав найвищий титр кінцевого продукту - 1,8×10⁹ спор/мл при інкубації протягом 48 годин. Інші два продуценти, з яких були отримані біопрепарати, мали найнижчі титри - 1×10⁷ та 5×10⁸ спор/мл.

Для остаточного вибору біопрепарату необхідний детальний аналіз даних щодо методів, які використовувалися для культивування різних штамів з метою отримання кінцевого продукту.

Культивування *B. megaterium* V3 здійснюється на простому поживному середовищі невизначеного складу, що містить дорогі компоненти, такі як триптон і дріжджовий екстракт, і час інкубації в цьому середовищі дуже короткий - всього 20 годин, на 4-6 годин менше, ніж для інших штамів, що дозволяє знизити енерговитрати на культивування. Однак концентрація біомаси цього штаму відносно низька - лише 10⁷ КУО на літр.

Максимальна концентрація біомаси штаму *B. megaterium* var. *phosphaticum* ВКМ В-2357 D становить $1,8 \times 10^9$ КУО/мл, що вище, ніж у штаму-конкурента, але час інкубації цього штаму становить 24 години, що на чотири години довше, ніж у першого штаму (*B. megaterium* V3), але цей недолік пов'язаний з тим, що основний субстрат для культивування за параметрами рН -7 та температурою 31 °С мало чим відрізняється від попередніх штамів з точки зору енергоспоживання.

Бактерія-продуцент біомаси *B. megaterium* 501 GR є високоефективною у виробництві препаратів на основі біомаси, її продуктивність біомаси 5×10^8 КУО/мл не є найвищою, але досить значною, час інкубації 36-48 годин і температура інкубації 34°C, що трохи вище, ніж у інших бактерій-продуцентів. рН 6,8-7 і не суттєво відрізняється від інших бактерій-продуцентів. Основним недоліком цього штаму є те, що це досить складне поживне середовище з двома джерелами вуглецю та азоту: кукурудзяне борошно та дріжджова маса. Крім того, дріжджова маса повинна бути зруйнована механічно або хімічно (за допомогою лізоциму) перед приготуванням середовища. Це призводить до додаткових витрат енергії та реагентів і збільшує загальну вартість культури.

Для того, щоб точно порівняти вартість поживних середовищ для біопрепаратів, необхідно порівняти вартість компонентів середовища на літр рідкого середовища.

Таблиця 2.2

Порівняння вартості середовищ для культивування продуцентів.

Штам	Вартість 1 л середовища, грн
1	2
<i>Bacillus megaterium</i> V3	11,6
<i>Bacillus megaterium</i> var. <i>phosphaticum</i> ВКМ В-2357 Д	0,364
<i>Bacillus megaterium</i> 501 GR	1,952

Дані таблиці 2.2 вказують на те, що *B. megaterium* var. *phosphaticum* ВКМ В-2357 D має меншу вартість за 1 літр поживного бульйону, ніж *B. megaterium* V3 та *B. megaterium* 501 GR. Для кінцевого вибору найбільш ефективної основи для виробництва біологічного препарату розрахуємо умовну вартість титру.

**Умовна вартість одного титру біопрепарату при культивуванні
запропонованих продуцентів**

Штам	Вартість 1 л середовища, грн	Титр, спор/мл	Умовна вартість 1 титру, грн	Тривалість культивування, год	Титр утвореного за годину, од/год
1	2	3	4	5	6
<i>Bacillus megaterium</i> V3	11,6	$0,01 \times 10^9$	1175	20	$0,0005 \times 10^9$
<i>Bacillus megaterium</i> var. <i>phosphaticum</i> ВКМ В-2357 Д	0,36	$1,8 \times 10^9$	0,2	48	$0,0375 \times 10^9$
<i>Bacillus megaterium</i> 501 GR	1,952	$0,5 \times 10^9$	3,904	48	$0,0104 \times 10^9$

На основі порівняльної характеристики мікроорганізмів як основи виробництва бактеріальних добрив було обрано штам *B. megaterium* var. *phosphaticum* ВКМ В-2357 D, оскільки він має найвищу економічну ефективність, найнижчу вартість поживних середовищ та найвищу концентрацію біомаси. Виходячи з аналізу представлених параметрів культури та концентрації біомаси, серед трьох представлених штамів для виробництва бактеріального добрива слід обрати *B. megaterium* var. *phosphaticum* ВКМ В-2357 D.

Розрахунок по джерелу вуглецю

Вихід біомаси безпосередньо залежить від концентрації глюкози та NH_4Cl .

Глюкоза є основним субстратом і джерелом вуглецю в обраному середовищі. Хімічна формула глюкози - $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$, тому почніть з неї. Відсотковий вміст вуглецю в глюкозі (6 атомів з молекулярною масою 12) становить

$$w_1 = (100 \times 72) / 180 = 40\%.$$

Маса вуглецю в 20 г/л глюкози

$$g = (40 \times 20)/100 = 8 \text{ г/л}$$

Оскільки половина вуглецю використовується на холосте окислення під час росту продукту, масу вуглецю потрібно скоригувати на 50%. З поправкою на неактивне окислення маса вуглецю становить 4 г/л.

Оскільки вміст вуглецю в клітинній біомасі становить 50% від сухої біомаси, з 4 г/л можна отримати значну кількість біомаси:

$$G_m = 0,5/4 = 8 \text{ г/л}$$

Початкова концентрація глюкози забезпечує нормальний вихід біомаси, тому маємо перерахувати концентрацію NH_4Cl .

Розрахунок за джерелом азоту

Джерелом азоту є хлорид амонію, що входить до складу середовища.

Вміст азоту в хлориді амонію становить (NH_4Cl):

$$(14 \times 100)/53 = 26,4 \%$$

Визначаємо масу азоту в 1 л середовища:

$$G_1 = (26,4 \times 0,2)/100 = 0,052 \text{ г/л}$$

Вміст азоту в біомасі становить 10 %. Тому 0,052 г/л достатньо:

$$G_{m1} = 0,052 \times 10 = 0,52 \text{ г/л біомаси.}$$

Припустимо, що теоретичний вихід біомаси становить 5 г/л. Для накопичення такої кількості біомаси концентрацію NH_4Cl необхідно збільшити.

$$0,2 - 0,52 \text{ г/л}$$

$$5,0 - X$$

$$X = (5 \times 0,52)/0,2 = 13 \text{ г/л}$$

Склад середовища для одержання 5 г/л біомаси є насупним (г/л): глюкоза - 20; NH_4Cl - 13; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - 0,1; NaCl - 0,2; MnSO_4 - 0,001; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - 0,001.

2.2. Морфолого-культуральні та фізіолого-біохімічні ознаки *Bacillus megaterium*

Клітини *B. megaterium* var. *phosphaticum* ВКМ В-2357 Д лінійні з заокругленими кінцями. Клітини можуть розташовуватися поодинокі або попарно, утворюючи ланцюжки. Розмір клітин: 0,5-1,5 мкм; забарвлення за Грамом (кристалічний фіолетовий з наступною обробкою розчином Люголя, спиртом і

фуксином), грампозитивний, тобто утворює сферичні ендоспори. Розмножується простим мітозом [5].

B. megaterium відносяться до групи Грампозитивні палички та кокки, що утворюють ендоспори. Клітини *B. megaterium* мають вигляд прямих паличок з довжиною клітини до 4 мкм і діаметром до 1,5 мкм, із закругленими або "обрубленими" кінцями. Розташовуються поодинокі чи в парах, інколи утворюють ланцюжки (Рис.2.1). Даний рід бактерій є рухливими завдяки наявності перитрихіальних жгутиків. *B. megaterium* є спороутворюючими бактеріями. За характером спор утворюють ендоспори овальної, сферичної або циліндричної форми. Ці спори є високостійкими до багатьох несприятливих чинників. У клітині утворюється не більше однієї спори [10].

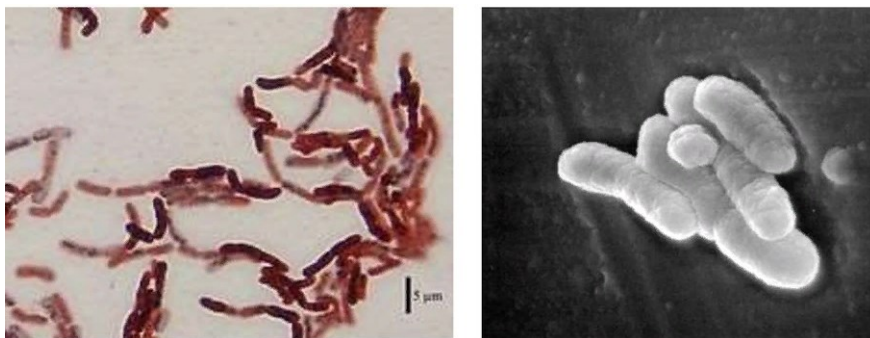


Рис.2.1. Клітини *B. megaterium* під мікроскопом [10]

На щільному поживному середовищі виростають округлі колонії з діаметром 1-5 мм (рис. 2.2). Колонії білого кольору мають рівний край, а характер поверхні – гладкий і блискучий. На МПА клітини штаму утворюють колонії брудно-білого кольору. Не виділяють пігменти в поживне середовище. На м'ясо-пептонному агарі за умов температури в 31 °С та протягом 48 годин культивування отримується колонії брудно-білого кольору. Старі колонії мають жовтий колір [5,10].



Рис. 2.2. Ріст колоній культури *B. megaterium* на щільному поживному середовищі на основі овечої крові [11]

Ріст штамів *B. megaterium* спостерігається при температурі від 3 °С до 45 °С, але найліпшою температурою вважається саме 30 °С. Оптимальний рівень рН складає 7,0. Має метаболізм дихального типу. Каталазопозитивний. В організмі цієї бактерії немає лужних протеаз. Спосіб розмноження – простий поділ. Більшість штамів *Bacillus megaterium* несуть множинні плазмиди, як правило, більше чотирьох. Однією з переваг цього мікроорганізму є широкий спектр зброджування цукрів, які є джерелами вуглеводів для нього (глюкоза, сахароза, арабіноза, ксилоза, маніт тощо). Як джерело азоту у поживних середовищах для даного мікроорганізму часто використовують кукурудзяний екстракт або кукурудзяне борошно [10].

Для штамму *B. megaterium* характерна підвищена здатність до продукування гібберелінів. Мобілізує фосфор ортофосфатів кальцію зі швидкістю 5,1 мг/л. Добре зберігається в скляних пробірках на скошеному агаризованому середовищі (на МПА з додаванням $MnSO_4$ - 10 мг/л) при температурі + 4 °С [5,10].

Штам схильний до фаголізису і є нестійким до бактеріофагів. *B. megaterium* виробляє амідазу пеніциліну, що використовується для виробництва пеніциліну. Ця бактерія також виробляє ферменти, що модифікують кортикостероїди, а також різні амінокислоти дегідрогенази та вітаміни [10].

B. megaterium має дуже широкий спектр місць існування у навколишньому середовищі. Окрім того, що це звичайна ґрунтова бактерія та ендосит, її можна

знайти в різних продуктах харчування (включаючи мед, в яких більшість мікроорганізмів не росте) та на різних поверхнях, включаючи клінічні зразки, шкіру, папір, камінь тощо. Також було виділено від коров'ячого калу та гусені імператорської молі [10].

Споруляція *B. megaterium* складається із серії послідовних біохімічних та морфологічних кроків, які призводять до перетворення живої бактерії у сплячу форму - спору. Цей процес диференціації частково регулюється на рівні транскрипції [10].

Основним регулятором споруляції є консервативний ген *Spo0A*. Спочатку *Spo0A* активується шляхом фосфорилування його регуляторного домену через багатокомпонентний фосфорелейний ланцюг, коли надходження поживних речовини до мікроорганізму обмежене. Фосфорильований *Spo0A* (*Spo0A-P*) може потім розпізнавати і зв'язуватися з певною послідовністю ДНК, з назвою "0A-box", в результаті чого транскрипція генів активується або репресується. Коли *Spo0A-P* накопичився до певного рівня, споруляція ініціюється синтезом або активацією каскаду *r* факторів у потрібний час та у потрібному місці [12].

2.3. Таксономічний статус *Bacillus megaterium*

Систематичне положення *B. megaterium* подано у таблиці 2.4.

Таблиця 2.4.

Систематичне положення *Bacillus megaterium* [10]

1	2
Надцарство	<i>Prokaryota</i>
Царство	<i>Bacteria</i>
Тип	<i>Firmicutes</i>
Клас	<i>Bacilli</i>
Порядок	<i>Bacillales</i>
Родина	<i>Bacillaceae</i>
Рід	<i>Bacillus</i>
Вид	<i>Bacillus megaterium</i>

РОЗДІЛ 3

ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ

3.1. Потреба у фосфорному біодобриві

Біологічні добрива - це препарати, які містять живі мікроорганізми, що сприяють росту та розвитку рослин. Вони можуть бути використані для підвищення врожайності сільськогосподарських культур, а також для поліпшення якості продукції [13].

Біологічні добрива діють за кількома механізмами [13]:

- Розчинення недоступних форм поживних речовин. Наприклад, фосфатмобілізуючі мікроорганізми розчиняють фосфорити, які в іншому випадку були б недоступні для рослин.

- Збільшення доступності поживних речовин. Наприклад, фіксатори азоту переводять атмосферний азот у форми, які можуть бути використані рослинами.

- Стимуляція росту та розвитку рослин. Наприклад, фітогормони, які виробляють мікроорганізми, можуть стимулювати ріст коренів, листя та плодів.

- Захист рослин від хвороб. Наприклад, антагоністи патогенів можуть знищувати збудників хвороб рослин.

Біологічні добрива можуть бути використані в різних системах землеробства, включаючи органічне виробництво. Вони є безпечними для навколишнього середовища та можуть допомогти зменшити використання мінеральних добрив [13].

Основні переваги біологічних добрив [13]:

- Підвищення врожайності. Біологічні добрива можуть підвищити врожайність сільськогосподарських культур на 10-20%.

- Покращення якості продукції. Біологічні добрива можуть покращити якість продукції, наприклад, збільшити вміст вітамінів та мікроелементів.

					<i>НУХТ БТЕК 05.01.05 КР ПЗ</i>			
<i>Змн.</i>	<i>Лист</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>				
<i>Розроб.</i>		<i>Боярин Т.В.</i>			<i>РОЗДІЛ 3 ТЕХНІКО- ЕКОНОМІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ</i>	<i>Лім.</i>	<i>Арк.</i>	<i>Аркушів</i>
<i>Перевір.</i>		<i>Стабніков В.П.</i>					20	74
<i>Реценз.</i>						<i>Кафедра БТМ</i>		
<i>Н. Контр.</i>								
<i>Затверд.</i>		<i>Стабніков В.П.</i>						

- Зменшення використання мінеральних добрив. Біологічні добрива можуть допомогти зменшити використання мінеральних добрив, що є екологічно вигідним.
- Зменшення ризику виникнення хвороб. Біологічні добрива можуть допомогти зменшити ризик виникнення хвороб рослин.

Недоліки біологічних добрив [13]:

- Необхідність правильного застосування. Біологічні добрива необхідно застосовувати правильно, щоб вони були ефективними.
- Вартість. Біологічні добрива можуть бути дорожчими, ніж мінеральні добрива.

Світовий ринок фосфорних добрив, ймовірно, продемонструє зростання приблизно на 5% протягом прогнозованого періоду. Функція фосфору в рослинах полягає в тому, щоб перетворювати поживні речовини в корисні будівельні блоки, які допомагають їм рости. Фосфор є однією з трьох основних поживних речовин, які найчастіше зустрічаються в добривах. Застосування фосфорних добрив під різні види культур сприяє росту коренів, покращує якість і міцність стебла. Таким чином, для підвищення потужності рослин і виробництва продукції рослинництва зросте попит на застосування фосфорних добрив. Крім того, протягом багатьох років світ спостерігав зростання чисельності населення, яке постійно зростає, створюючи більший попит на їжу та зміни в моделях споживання їжі. І навантаження на землю, яка є обмеженим ресурсом, також зростає. Проте приріст населення випереджав приріст земель, що призвело до зменшення сільськогосподарських угідь на душу населення. Крім того, зміна кліматичних умов погіршує здоров'я посівів і рослин. Це погіршення здоров'я посівів і рослин через кліматичні умови та зростання чисельності населення посилює глобальну увагу до підвищення врожайності, тим самим підвищивши зацікавленість виробників фосфорних добрив у виробництві більш передових, продуктивних і менш токсичних для людини добрив [14].

Тож, незважаючи на вищу вартість біодобрива, яке змушує рослини більш

ефективно використовувати фосфор для свого росту та розвитку, попит на такі препарати все одно буде лише збільшуватись через низку вищенаведених умов [14].

Для початку, пропонується проаналізувати ринок фосфатних біодобрив України. Такий аналіз показано в табл.3.1.

Таблиця 3.1

Аналіз фосфорних біопрепаратів

Назва	Виробник	Склад	Загальна кількість спор	Вартість за 1 л	Джерело
ФОСФОЛАЙФ	“ЛАЙФ БІОХЕМ”, Україна	<i>B. megaterium</i> – 2 штами <i>B. megaterium</i> var. <i>phosphaticum</i>	$1 * 10^9$ КУО/мл	310	[15]
Граундфікс	БТУ-Центр, Україна	<i>B. subtilis</i> , <i>B. megaterium</i> var. <i>phosphaticum</i> , <i>Azotobacter</i> <i>chroococcum</i> , <i>Enterobacter</i> , <i>Paenibacillus</i> <i>polymyxa</i>	$0,5-1,5 * 10^9$ КУО/мл	160	[16]
Біо-Мінераліс	Мінераліс- Україна, Україна	<i>A. chroococcum</i> , <i>B.</i> <i>megaterium</i> , <i>B.</i> <i>subtilis</i>	$5 * 10^9$ КУО/мл	441	[17]
Мікофренд	Жива Земля, Україна	<i>Streptomyces</i> sp., <i>Pseudomonas</i> , <i>Fluorescens</i> , <i>B. megaterium</i> var. <i>phosphaticum</i> , <i>B.</i> <i>subtilis</i> , <i>B.</i> <i>muciliginosus</i> , <i>Enterobacter</i> sp.	$0,5 * 10^9$ КУО/г	7000	[18]
ФОСФОР Bionorma	Bionorma, Україна	<i>B. megaterium</i> , <i>B.</i> <i>amyloliquefaciens</i> , <i>Trichoderma</i> <i>harzianum</i>	$1 * 10^9$ КУО/мл	334	[19]

Біофосфорин	ENZYM, Україна	<i>B. megaterium</i> VM 206	5×10^8 КУО/мл	296	[20]
-------------	-------------------	--------------------------------	---------------------------	-----	------

Тож, спостерігається тенденція українського виробництва, з використанням декількох мікроорганізмів одночасно. Проте, надмірне споживання таких препаратів може призводити до мікробного забруднення, що також може мати негативний вплив. З усіх препаратів, що вказано в табл.3.1. лише Біофосфорин містить один штам мікроорганізму. Тому, можна зробити висновок про потребу у моноштамовому біопрепараті, який буде задовольняти потреби споживачів і буде безпечніше за препарати, де використовуються декілька видів мікроорганізмів.

3.2. Розрахунок потужності виробництва

Станом на 2023 рік посівні площі Київської області склали засіяли 1160 тис. га [21]. Для розрахунку препарату, пропонується взяти до уваги саме моноштамовий біопрепарат Біофосфорин. Концентрація спор у цьому препараті становить 5×10^8 КУО/мл [20]. Для виробництва аналогового препарату-конкурента використовується штам *B. megaterium* var. *phosphaticum* ВКМ В-2357 Д. При культивуванні одержується $1,8 \times 10^9$ КУО/мл [5], що в принципі знаходиться в нормі для такого типу препарату. Але, у будь якого випадку (або при розбавленні до концентрації Біофосфору або ж при незміні концентрації) потрібно здійснити перерахунок.

Оскільки немає можливості точно оцінити дію препарату за кінцевої концентрації, пропонується виготовляти препарат, з такою ж самою концентрацією, що й Біофосфорин. Для цього, спочатку, визначаємо в скільки раз потрібно розбавити культуральну рідину:

$$\frac{18 \times 10^8}{5 \times 10^8} = 3,6$$

Обробка площ за допомогою Біофосфору відбувається за такого режиму: 2-5 л/га (усереднено 3,5 л). Тоді, на 1 га припадає така кількість культуральної рідини з *B. megaterium* var. *phosphaticum* ВКМ В-2357 Д:

$$\frac{3,5}{3,6} \approx 0,972 \text{ л}$$

З врахуванням габаритів посівних площ Київської області, необхідна кількість культуральної рідини на рік складає:

$$1\,160\,000 \times 0,972 \approx 1\,127\,520 \text{ л} \approx 1\,128 \text{ м}^3$$

Враховуючи те, що на українському ринку присутній лише 1 препарат подібного складу, пропонується забезпечувати 50% від потреби:

$$1\,128 \times 0,5 \approx 564 \text{ м}^3$$

З врахуванням того, щоб одержати препарат його необхідно розбавити, кількість готового препарату на рік становитиме:

$$564 \times 3,6 \approx 2030,4 \text{ м}^3$$

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

Визначено кількість робочих трудоднів – 200. Оді, визначаємо ефективний фонд робочого часу $Neф. = 200 \times 24 = 4800$ год.

Після цього, можемо прорахувати робочий цикл ферментера:

$$T_{цф} = T_{ф} + T_{др} = 20 + 6,5 = 26,5 \text{ (год), де}$$

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

$T_{др}$ – тривалість допоміжних робіт (допоміжні роботи включають: миття та огляд (1 год), перевірка на герметичність (1 год), стерилізація (1 год), охолодження (1 год), завантаження середовища (1 год), засів (0,5 год), вивантаження культуральної рідини (1 год).

Знаючи попередні дані, визначаємо скільки циклів становитиме на рік:

$$n_{ц} = \frac{4800}{26,5} \approx 181$$

Тепер, можна визначити загальний об'єм культуральної рідини, що одержується за 1 робочий цикл:

$$VKP_{ц} = VKP_{річ} / n_{ц} = 564 / 181 \approx 3,12 \text{ м}^3$$

Отже, за одержаною інформацією, маємо обрати ферментер об'ємом 5 м^3 з коефіцієнтом заповнення $K_z = 0,65$. Визначений об'єм культуральної рідини

становить $V_{к.р} = 3,25 \text{ м}^3$, що більше за розрахований, тобто обраний вірно.

3.4. Розрахунок кількості стадій підготовки посівного матеріалу

Визначений об'єм ферментера для виробничого біосинтезу біомаси *B. megaterium var. phosphaticum* ВКМ В-2357 Д складає 5 м^3 . Визначений коефіцієнт заповнення становить $K_{зап.} = 0,65$. Визначаємо за цими даними робочий об'єм ферментера:

$$V_{роб.} = V_{заг.} \times K_{зап.} = 5 \times 0,65 = 3,25 \text{ м}^3 = 3250 \text{ л.}$$

Кількість інокуляту зазвичай відповідає 10 % від об'єму поживного рідкого бульйону. Тому, щоб одержати 3250 л культуральної рідини потрібно:

$$V_{роб.1} = 3250 \times 0,1 = 325 \text{ л посівного матеріалу.}$$

Зазначену кількість інокуляту логічно отримувати у посівному апараті об'ємом $0,5 \text{ м}^3$ з коефіцієнтом заповнення 0,65.

Визначаємо кількість інокуляту, яка потрібна для посіву посівного апарату (одержання $0,325 \text{ м}^3$ культуральної рідини):

$$V_{роб.2} = 325 \times 0,1 = 32,5 \text{ л інокуляту.}$$

Цю кількість інокуляту можна одержати під час культивування бацил у інокулятору об'ємом 50 л з коефіцієнтом заповнення 0,65.

Для засіву поживного середовища в інокуляторі (одержання 32,5 л культуральної рідини) необхідно:

$$V_{роб.3} = 32,5 \times 0,1 = 3,25 \text{ л інокуляту.}$$

Таку кількість інокуляту отримують шляхом культивування бацил в інокуляторі об'ємом 5 л з коефіцієнтом заповнення 0,65.

Для засіву інокулятору (одержання 3,25 л культуральної рідини) необхідно:

$$V_{роб.4} = 3,25 \times 0,1 = 0,325 \text{ л інокуляту.}$$

Таку кількість інокуляту можна одержати культивуванням *B. megaterium var. phosphaticum* ВКМ В-2357 Д у колбах на качалці.

Процес одержання інокуляту для виробництва біопрепарату, основою якого є біомаса *B. megaterium var. phosphaticum* ВКМ В-2357 Д, відбувається у ферментері об'ємом 5 м^3 з коефіцієнтом заповнення 0,65 буде проходити у чотири етапи, четвертим етапом буде сам процес біосинтезу.

3.5. Біосинтез біомаси *Bacillus megaterium* var. *phosphaticum* ВКМ В-2357

Д

3.5.1. Шляхи катаболізму глюкози у *Bacillus megaterium* var. *phosphaticum* ВКМ В-2357 Д

За даними бази KEGG [22] для *B. megaterium* притаманний гліколітичний шлях катаболізму гліколізу. Зі схемою можна ознайомитись на рис.3.1.

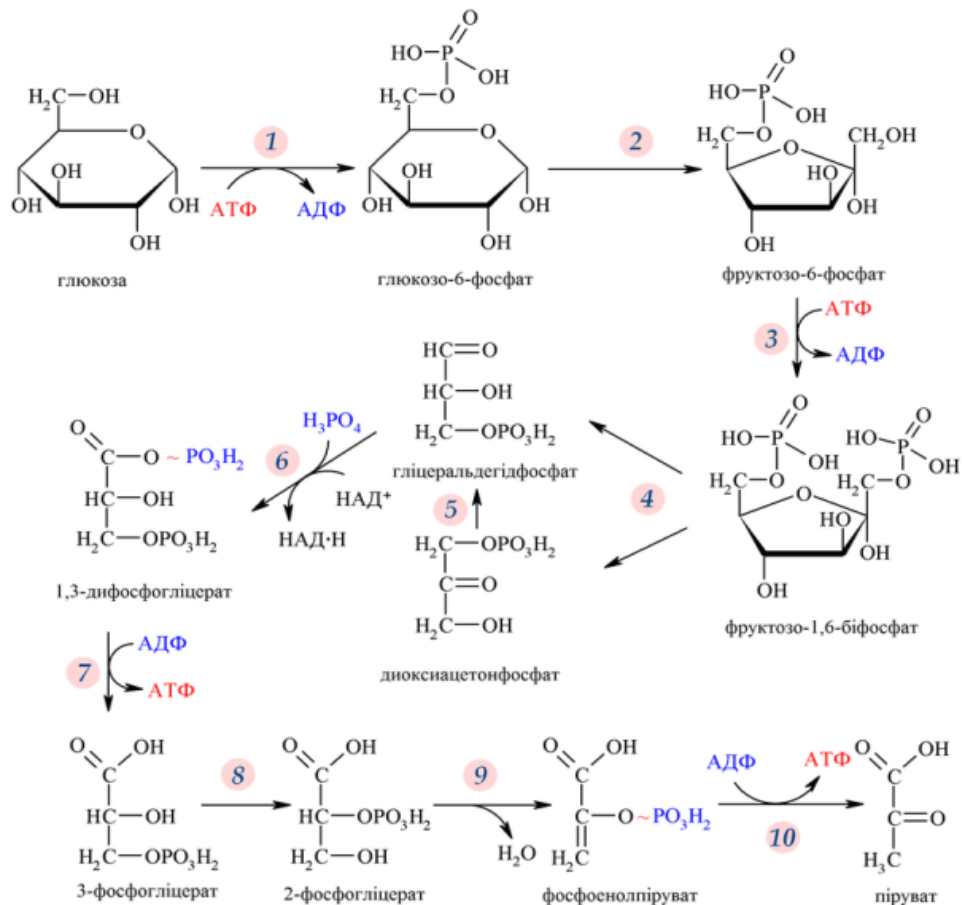


Рис.3.1. Шлях катаболізму глюкози гліколізом

Ферменти: 1 – глюкокіназа (КФ.2.7.1.2); 2 – глюкозофосфатізомераза (КФ.5.3.1.9); 3 – фосфотруктокіназа (КФ.2.7.1.11); 4 – фруктозодифосфатальдолаза (КФ.4.1.2.13); 5 – триозофосфатізомераза (КФ.5.3.1.1); 6 – гліцераальдегід трифосфат дегідрогеназа (КФ.1.2.1.12); 7 – фосфогліцераткіназа (КФ.2.7.2.3); 8 – гліцератфосфомутаза та фосфогліцератфосфомутаза (КФ.5.4.2.11, КФ.5.4.2.12); 9 – енолаза (КФ.4.2.1.11); 10 – піруваткіназа (КФ 2.7.1.40).

Розщеплення глюкози складається з низки біохімічних реакцій, кожна з яких каталізується певним ферментом. Катаболізм глюкози починається з гліколізу

(рис. 3). У цьому процесі глюкозо-6-фосфат ізомеризується глюкозофосфат-ізомеразою і фосфорилується до фруктозо-1,6-дифосфату, який потім розщеплюється до 3-фосфогліцеринового альдегіду (3-ФГА) і фосфодіефірного ацетону. Останній перетворюється на 3-фосфогліцерин за допомогою ферменту тріозофосфат-ізомерази. Таким чином, з однієї молекули глюкози утворюється дві молекули 3-ФГА. Ці реакції перетворення глюкози на 3-ФГА потребують енергії двох молекул АТФ. Кожна молекула 3-ФГА потім окислюється до 1,3-дифосфогліцеринової кислоти (1,3-ДГК).

1,3-ДГК - це високоенергетична сполука, що містить макрофосфатні зв'язки і реагує з АДФ (ферментом фосфогліцераткіназою), вивільняючи високоенергетичну фосфатну групу і викликаючи синтез молекули АТФ. Таким чином, енергія, що вивільняється під час окислення 3-ФГА, зберігається в молекулі АТФ шляхом фосфорилування субстрату. В результаті утворюється 3-фосфогліцеринова кислота (3-ФГК).

Крім того, 3-фосфогліцерин перетворюється на 2-фосфогліцерин за допомогою ферменту фосфогліцеромутази, а в результаті відщеплення води утворюється фосфоенолпіруват (ФЕП). Це також високоенергетичний фосфат, і багаті на енергію фосфатні групи переносяться піруваткіназою на АДФ з утворенням молекул АТФ і пірувату (ПКА).

Таким чином, при розщепленні однієї молекули глюкози утворюється чотири молекули АТФ, а вивільнена енергія запасається. Оскільки дві молекули АТФ спочатку використовуються для активації глюкози, чистий вихід АТФ на молекулу глюкози становить дві молекули.

3.5.2. Біотрансформація глюкози в біомасу *Bacillus megaterium* var. *phosphaticum* ВКМ В-2357 Д

Оскільки препарат є продуктом походження з біомаси, він вимагає синтезу всіх необхідних клітинних компонентів, таких як нуклеїнові кислоти, вуглеводи, білки та ліпіди.

Він також вимагає синтезу незамінних амінокислот. Попередниками амінокислот є 2-оксоглутарова кислота, оксалоцтова кислота, 3-фосфогліцерина кислота та пентозофосфатний цикл.

У пентозофосфатному циклі синтезуються такі амінокислоти гістидин, триптофан, фенілаланін і тирозин. Фенілаланін утворюється з фенілоцтової кислоти за допомогою дегідратази префенілоцтової кислоти, а кінцевий продукт утворюється в результаті низки реакцій. Глутамінова кислота, глутамін, пролін і аргінін утворюються з 2-оксалоцтової кислоти. Оксалоцтова кислота виробляє аспарагінову кислоту, аспарагін, метіонін, лізин; 3-фосфогліцерин - серин, гліцин, цистеїн, валін і лейцин. Ключовими ферментами в синтезі триптофану є 3-дезоксигліцеро-7-фосфогептуронатсинтаза перетворює хорізову кислоту в антранілову; потім індол-3-гліцеролфосфатсинтаза каталізує перетворення антранілової кислоти в індол; завершальним етапом є утворення триптофану. 4-гідроксифенілацетил-КоА під дією 2-аміноадипаттрансферази перетворюється на 4-гідроксифенілоцтову кислоту, яка в результаті серії реакцій перетворюється на тирозин під дією дегідрогенази преформінової кислоти (NADPH+). Гістидин утворюється у вигляді фосфорибозилпірофосфат каталізується до фосфорибозил-АТФ, який потім перетворюється на імідазолгліцерин. Гліцерина кислота перетворюється на 3P-D-гліцерат за допомогою гліцеролат-2-кінази і на 3P-гідроксипіруват за допомогою фосфогліцератдегідрогенази. Цей продукт каталітично перетворюється на фосфосерин. Останнім етапом є утворення серину. Гліцин утворюється наступними етапами: аденін з бетаїну перетворюється на бетаїн під дією аспаратаміногідрогенази, потім на диметилгліцин і саркозин, останній перетворюється на гліцин через серію реакцій під дією треонінсинтази; L-аспарагінова кислота, L-4-аспаратилфосфат, каталітично перетворюється на гомосерин і стає треоніном. Синтез жирних кислот відбувається в такі етапи: ацетил-КоА перетворюється на малоніл-КоА за допомогою АТФ, потім ацильні білки зв'язуються з ацетил-КоА з утворенням ацетил-ацильних білків. Ацетил-КоА і малоніл-КоА потім конденсуються. В результаті цієї реакції утворюється ацетоацетил.

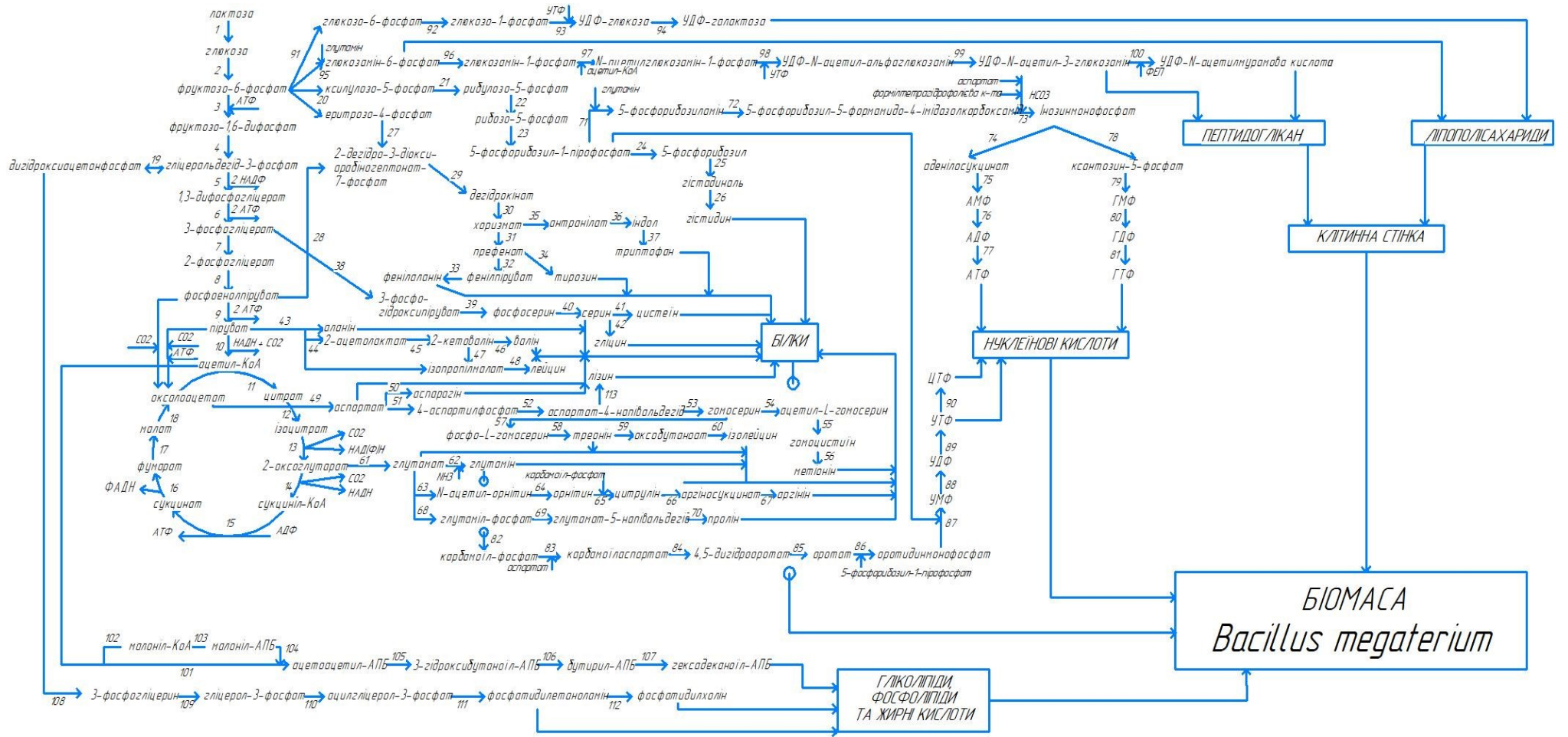


Рис.3.2. Біотрансформація глюкози в біомасу *B. megaterium*

Фермети, що відповідають за синтез фосфатидилеттаноламіну та фосфатидилхоліну: триозофосфатізомераза (19, КФ.5.3.1.1), гліцерол-3-фосфатдегідрогеназа (НАД+) (108, КФ.1.1.1.8), гліцерол-3-фосфатдегідрогеназа (НАД(Ф)+) (109, КФ.1.1.1.94), гліцерол-3-фосфат-ацилтрансфераза (110, КФ.2.3.1.15), 2-ацилгліцерофосфатацилтрансфераза (111, КФ.2.3.1.52), фосфоліпаза (112, КФ.3.1.4.4).

Фермети, що відповідають за синтез гістидину: транскетолаза (20, КФ.2.2.1.1.), рибулозо-фосфат 3-епімераза (21, КФ.5.1.3.1), рибозо-5-фосфатізомераза (22, КФ.5.1.3.6), рибозо-фосфатпірофосфокіназа (23, КФ.2.7.6.1), фосфорибозилтрансфераза (24, КФ.2.4.2.17), гістидинопглідрогеназа (25, КФ.1.1.1.23), гістидинопглідрогеназа (26, КФ.1.1.1.23).

Фермети, що відповідають за синтез фенілаланіну та тирозину: транскетолаза (20, КФ.2.2.1.1.), трансальдолаза (27, КФ. 2.2.1.2), 3-дезоксид-7-фосфохептуланатсинтаза (28, КФ.2.5.1.54), 3-дегідрокінатсинтаза (29, КФ.4.2.3.4), 3-дегідрокінатдегідратаза (30, КФ.4.2.1.10), хоризматмутаза (31, КФ.5.4.99.5), перфенатдегідратаза (32, КФ.4.2.1.51), аспартатамінотрансфераза (33, КФ.2.6.1.1), перфенатдегідрогеназа (34, КФ.4.1.3.1.12).

Фермети, що відповідають за синтез триптофану: антранілатсинтаза (35, КФ. 4.1.3.27), індол-3-гліцеролфосфатсинтаза (36, КФ.4.1.1.48), триптофансинтаза (37, КФ. 4.2.1.20).

Фермети, що відповідають за синтез серину, цистеїну, гліцину: 3-фосфогліцератдегідрогеназа (38, КФ.1.1.1.95), фосфосеринамінотрансфераза (39, КФ.2.6.1.52), фосфосеринфосфатаза (40, КФ.3.1.3.3), цистатіонінбета-синтаза (41, КФ.4.2.1.22), триптофансинтаза (42, КФ.4.2.1.20).

Фермети, що відповідають за синтез аланіну, валіну, лейцину: аланін-гліюксилаттрасаміназа (43, КФ.2.6.1.44), ацетолактатсинтаза (44, КФ.2.2.1.6), дигідроксикислотна дегідратаза (45, КФ.4.2.1.9), лейциндегідрогеназа (46, КФ.1.4.1.9), 2-ізопропілмалатсинтаза (47, КФ.2.3.3.13), лейцинтрасаміназа (48, КФ.2.6.1.6).

Ферменти, що відповідають за синтез аспартату, аспарагіну, лізину, метіоніну, треоніну, ізолейцину: аспартатамінотрансфераза (49, КФ.2.6.1.1), аспартат-аміачналігаза (50, КФ.6.3.1.1), аспартаткіназа (51, КФ. 2.7.2.4), аспартат-напівальдегіддегідрогеназа (52, КФ.1.2.1.11), діамінопімелатдекарбоксилаза (113, КФ.4.1.1.20), гомосериндегідрогеназа (53, КФ.1.1.1.3), гомосерин О-ацетилтрансфераза (54, КФ. 2.3.1.31), цистатіонін-гамма-синтаза (55, КФ.2.5.1.48), гомоцистеїн S-метилтрансфераза (56, КФ.2.1.1.10), гомосеринкіназа (57, КФ.2.7.1.39), треонінсинтаза (58, КФ.4.2.3.1), L-треонінаміак-ліаза (59, КФ.4.3.1.19), лейциндегідрогеназа (60, КФ.1.4.1.9).

Ферменти, що відповідають за синтез глютамату, глютаміну, аргініну, проліну: глютаматсинтаза (61, КФ. 1.4.1.13), глютамінсинтетаза (62, КФ.6.3.1.2), ацетилорнітинінамінтрансфераза (63, КФ.2.6.1.11), аміноацилаза (64, КФ.3.5.1.14), орнітин-карбамоїлтрансфераза (65, КФ.2.1.3.3), аргініносукцинатсинтаза (66, КФ.6.3.4.5), аргініносукцинатліаза (67, КФ.4.3.2.1), глютамат-5кіназа (68, КФ.2.7.2.11), глютамат-5-напівальдегіддегідрогеназа (69, КФ.1.2.1.41), піролін-5-карбоксилатредуктаза (70, КФ.1.5.1.2).

Ферменти, що відповідають за синтез нуклеїнових кислот: амідифосфорибозил трансфераза (71, КФ.2.4.2.14), аденін фосфорибозил трансфераза (72, КФ.2.4.2.7), циклогідролаза (73, КФ.3.5.4.10).

Ферменти, що відповідають за синтез АТФ: аденилосукцинат синтаза (74, КФ.6.3.4.4), аденилосукцинат ліаза (75, КФ.4.3.2.2), аденилат кіназа (76, КФ.2.7.4.3), нуклеозид-дифосфат кіназа (77, КФ.2.7.4.6).

Ферменти, що відповідають за синтез ГТФ: дегідрогеназа (78, КФ.1.1.1.205), синтаза (79, КФ.6.3.5.2), гуанілат кіназа (80, КФ.2.7.4.8), апіраза (81, КФ.3.6.1.5).

Ферменти, що відповідають за синтез ЦТФ та УТФ: карбамоїл-фосфат синтаза (82, КФ.6.3.5.5), аспартат-карбамоїл трансфераза (83, КФ.2.1.3.2), дигідрооротаза (84, КФ.3.5.2.3), дигідрооротат дегідрогеназа (85, КФ.1.3.1.14), уридинмонофосфат синтетаза (86, КФ.2.4.2.10), уридинмонофосфат синтетаза (87, КФ.4.1.1.23), кіназа (88, КФ.2.7.4.14), нуклеозид-дифосфат кіназа (89, КФ.2.7.4.6), синтаза (90, КФ.6.3.4.2).

Фермети, що відповідають за синтез ліпополісахаридів: глюкозо-6-фосфатізомераза (91, КФ.5.3.1.9), фосфоглюкомутаза (92, КФ.5.4.2.2), УТФ-глюкоза-1-фосфатуридилтрансфераза (93, КФ.2.7.7.9), УДФ-глюкоза 4-епімераза (94, КФ.5.1.3.2), глутамін-фруктозо-6-фосфатнатрансаміназа (95, КФ.2.6.1.16).

Фермети, що відповідають за синтез пептидоглікану: фосфоглюкозамінмутаза (96, КФ.5.4.2.10), глюкозамін-1-фосфатна N-ацетилтрансфераза (97, КФ.2.3.1.157), УДФ-N-ацетилглюкозаміндифосфорилаза (98, КФ.2.7.7.23), УДФ-N-ацетилглюкозамін 1-карбоксивінілтрансфераза (99, КФ.2.5.1.7), УДФ-N-ацетилмураматдегідрогеназа (100, КФ.1.3.1.98)

Фермети, що відповідають за синтез гліколіпідів, фосфоліпідів та жирних кислот:

Фермети, що відповідають за синтез гексадеканоїлу-АПБ: ацетил-КоА-ацилтрансфераза (101, КФ.2.3.1.16), ацетил-КоА-карбоксилаза (102, КФ.6.4.1.2), синтаза жирних кислот (103, КФ.2.3.1.85), синтаза жирних кислот (104, КФ.2.3.1.-), 3-оксоацилредуктаза (105, КФ.1.1.1.100), транс-2-деценоїлізомераза (106, КФ.5.3.3.14), транс-2-еноїл-КоА редуктаза (107, КФ. 1.3.1.38).

РОЗДІЛ 4
ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ
ВИРОБНИЦТВА ФОСФОРНОГО БІОДОБРИВА

4.1. Обґрунтування способу культивування *B. megaterium* var. *phosphaticum* ВКМ В-2357 Д і типу ферментера

Оптимальна температура культивування *B. megaterium* var. *phosphaticum* ВКМ В-2357 Д становить 31 °С, а оптимальне значення рН - 7,0 ± 0,5. Через ризик контамінації сторонніми мікроорганізмами важливо забезпечити стерильні умови культивування, яких неможливо досягти при поверхневому культивуванні. Стерильні умови досягаються шляхом стерилізації обладнання, засобів зв'язку, поживних середовищ і вентиляційного повітря. Для запобігання контамінації у ферментері створюється надлишковий тиск [5].

Виробництво біопрепаратів з бактерій *B. megaterium* var. *phosphaticum* ВКМ В-2357 наразі використовує метод періодичної глибинної культури. Хоча безперервне культивування має ряд переваг, воно не використовується через невеликі обсяги виробництва [5].

При виборі ферментера для культивування *B. megaterium* var. *phosphaticum* ВКМ В-2357 важливо звертати увагу на наступні фактори [5]:

- Ефективне перемішування: Ферментер має бути оснащений мішалкою з можливістю регулювання швидкості обертання. Це забезпечить гомогенізацію середовища і уникнення застійних зон, де бактерії можуть не отримувати необхідні поживні речовини.
- Підтримка оптимальної температури: *B. megaterium* var. *phosphaticum* ВКМ В-2357 найкраще росте при 31 °С. Тому ферментер має бути оснащений нагрівальним елементом, наприклад, сорочкою.

Також важливо зазначити, що [5]:

					НУХТ БТЕК 05.01.05 КР ПЗ					
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата						
Розроб.	Боярин Т.В.				РОЗДІЛ 4 ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ВИРОБНИЦТВА ФОСФОРНОГО БІОДОБРИВА					
Перевір.	Стабніков В.П.							Лім.	Арк.	Аркушів
Реценз.									33	74
Н. Контр.								Кафедра БТМ		
Затверд.	Стабніков В.П.									

- Існують різні типи ферментерів, тому важливо вибрати той, який найкраще відповідає вашим потребам.
- Перед використанням ферментера рекомендується ознайомитися з інструкцією виробника.

Існує багато типів ферментаторів, від стандартних до спеціалізованого виробництва, але вони класифікуються за одними і тими ж правилами [23]:

1) За типом процесу: ферментатори можуть бути без барботера (для анаеробних бактерій) або з барботером для аеробних ферментаторів, але більшість стандартних ферментаторів зазвичай оснащені барботером з системою вмикання та вимикання подачі повітря для підвищення універсальності обладнання.

2) За типом подачі енергії в ферментер: барботажні (без мішалки), тільки з мішалкою (для анаеробних процесів), комбінованого типу з мішалкою і барботером, Еріха (зі спеціально сконструйованою мішалкою), циліндричні (являють собою колбоподібну посудину великої довжини між двома рухомими елементами (циліндрами), що обертаються), ці посудини не мають широкого застосування, оскільки придатні лише для культивування вірусів, а також клітин тварин і рослин. Трубочасті ферментери - це трубки з великим співвідношенням висоти до діаметру, оснащені спеціальними пристроями для перемішування. Такі ферментери використовуються тільки для культивування в'язких середовищ. Найбільш поширеними та універсальними є бульбашкові, аеротенки та комбіновані ферментери. Оскільки бактерії є аеробними продуцентами, барботажні ферментери самі по собі не забезпечують достатньої гомогенізації середовища киснем та іншими компонентами, що важливо для швидкого зростання біомаси.

Найбільш ефективними є комбіновані ферментатори та ферментатори з барбораторами, але ферментатори з барботажною системою набагато дорожчі та складніші в обслуговуванні через складність конструкції та характеру перемішувального обладнання. Крім того, комбіновані ферментатори є найбільш сприятливими для бактерій, оскільки вони більш стійкі до кутового зсуву і менше залежать від типу мішалки. Тип мішалки підбирається таким чином, щоб забезпечити максимальну гомогенізацію середовища і швидкість перемішування

[23].

Комбінований апарат потребує барботера для подачі повітря, що дуже важливо для культивування аеробних продуцентів. Тому слід обирати комбінований ферментер-біореактор з барботером та мішалкою. Для вибору ферментера необхідно проаналізувати ринок ферментаційного обладнання, враховуючи, що об'єм обладнання еквівалентний 5000 літрів [23].

Опис обладнання: ізолювана сорочка для контролю температури та подачі пари; частини ферментатора, що контактують з продуктом, виготовлені з нержавіючої сталі 304; частини ферментатора, що не контактують з продуктом, виготовлені з нержавіючої сталі 304; система перемішування ферментатора: вал з мішалкою, подвійне торцеве ущільнення з паровим затвором, чотири камери, система контролю параметрів процесу [23].

Запропоноване обладнання має високі технічні характеристики і дозволяє легко перемикає режими перемішування та масообміну, забезпечуючи рівномірний розподіл мікроорганізмів і компонентів середовища. Оскільки *B. megaterium var. phosphaticum* ВКМ В-2357 D є аеробним організмом, ферментатор оснащено сучасним електронним контролером та датчиками для точного контролю рівня кисню [5, 23].

Повністю закрита конструкція гарантує, що атмосфера не потрапляє в обладнання, що має вирішальне значення для забезпечення асептичних умов культивування [23].



Рис.4.1. Ферментер комбінованого типу [24]

4.2. Обґрунтування вибору стадії підготовки повітря

Оскільки обраний мікроорганізм є аеробним і потребує безперервного постачання кисню під час культивування, необхідно реалізувати фазу підготовки повітря для аерації [5].

Аерація під час процесу культивування вимагає, щоб повітря, яке використовується, було стерильним і щоб можна було вибрати температуру інкубації [23].

Одним з найпростіших способів стерилізації повітря є пропускання його через волокнисті або мембранні фільтри для фізичного видалення мікроорганізмів [23].

Цей процес підготовки очищеного вентиляційного повітря складається з декількох етапів [23]:

- Вдихання з атмосфери
- Переднє очищення
- Стиснення повітря
- Стабілізація термодинамічних параметрів;
- Очищення за допомогою основних та індивідуальних фільтрів.

Цей метод очищення забезпечує чистоту повітря 99,9999%. Попереднє очищення вентиляційного повітря у фільтрах грубого очищення дає повітря з чистотою 80%. Однак очищення в основному фільтрі дає повітря з чистотою 95-99% і 99,9999% в індивідуальних фільтрах [23].

Як матеріали для фільтрів грубої очистки повітря можуть використовуватися базальтові грубі волокна, поліпропілен, скловата, полівінілхлорид і лавузан. Також використовуються металокерамічні фільтри з нержавіючої сталі або титану, які є найбільш ефективними (90-95%), оскільки витримують температуру до 700 °C і мають швидкість фільтрації 0,1 м/с [23].

В даному проекті пропонується використовувати фільтри грубої очистки типу FJP. FJP - це комірчасті повітряні фільтри, призначені для очищення повітря від пилу в різних технічних системах і мають ступінь очищення повітря близько 80% [23].

Запропонований фільтр складається з металевого каркасу, в якому розміщені касети зі скловолокна. Продуктивність кожного фільтра не перевищує 1530 м³/год. Для збільшення продуктивності фільтра до необхідного значення рамки фільтрів скручуються між собою і монтуються на загальній панелі [23].

Для індивідуального очищення повітря використовуються індивідуальні мембранні фільтри Microfluor II. Ці фільтри випускаються у вигляді фільтрувальних картриджів та капсул і можуть використовувати різні технічні рішення [23].

Фільтр розміщується перед кожним посівним і виробничим ферментером для очищення повітря від частинок діаметром 0,2 мкм. Результатом є стерильне аераційне повітря зі ступенем очищення 99,9999% [23].

Специфічною вимогою до фільтрувального матеріалу, що використовується на цьому етапі очищення, є те, що він, разом з усім обладнанням виробничої лінії, повинен регулярно стерилізуватися гарячою парою при 145°C [23].

Оскільки повітря, що виходить з ферментера, містить велику кількість мікроорганізмів і високу вологість, стерилізація повітря, що виходить з ферментера, є одним з основних етапів процесу біосинтезу. Для відділення вологи використовуються жалюзійні конструкції з низьким гідравлічним опором. Високоєфективними є сітки з нержавіючої сталі або термостійкої пластикової тканини. В результаті відокремлюється близько 99% води [23].

Таким чином, властивості та структура фторполімерного фільтра повністю відповідають даному біотехнологічному виробництву і гарантують стерильність вентиляційного повітря.

4.3. Вибір мийних та дезінфікуючих засобів

Миючі засоби відіграють важливу роль на біотехнологічному виробництві. Вони використовуються для очищення обладнання, посуду, ємностей та інших поверхонь, які контактують з біологічними матеріалами. Миючі засоби видаляють з поверхні забруднення, такі як органічні речовини, мінеральні солі, жири та масла. Вони також допомагають запобігти утворенню бактерій та інших мікроорганізмів [25].

Вибір миючого засобу для біотехнологічного виробництва залежить від виду забруднень, які необхідно видалити. Для очищення органічних речовин використовуються миючі засоби з аніонними або катіонними поверхнево-активними речовинами. Для видалення мінеральних солей використовуються миючі засоби з аніоноактивними поверхнево-активними речовинами та поліфосфатами. Для очищення жирів та масел використовуються миючі засоби з аніоноактивними або катіонними поверхнево-активними речовинами та сульфатами [25].

Миючі засоби на біотехнологічному виробництві повинні відповідати таким вимогам [25]:

- Ефективність. Миючий засіб повинен ефективно видаляти забруднення з поверхні.
- Безпека. Миючий засіб не повинен бути токсичним для біологічних матеріалів.
- Економічність. Миючий засіб повинен бути економічно ефективним у використанні.

Миючі засоби використовуються на біотехнологічному виробництві на різних етапах технологічного процесу. Вони використовуються для очищення [25]:

- Обладнання, такого як ферментатори, реактори, ємності для зберігання тощо.
- Посуду, такого як колби, пробірки, чашки Петрі тощо.
- Ємностей, таких як бака, бочки, контейнери тощо.
- Поверхонь, таких як підлоги, стіни, столи тощо.

Миючі засоби також використовуються для очищення рук персоналу, який працює на біотехнологічному виробництві. Це необхідно для запобігання забрудненню продукції [25].

Миючі засоби, які використовуються для миття обладнання, можна класифікувати за різними критеріями, такими як [25]:

- За агрегатним станом:
 - Рідкі - це найпоширеніший тип миючих засобів для миття обладнання.

Вони легко наносяться та змиваються, а також мають широкий спектр застосування.

- Порошкоподібні - це менш поширений тип миючих засобів для миття обладнання. Вони економічні у використанні, але можуть бути важкими для нанесення та змивання.

- Пастоподібні - це ще один менш поширений тип миючих засобів для миття обладнання. Вони мають густу консистенцію, яка забезпечує кращий контакт з забрудненнями.

- За призначенням:

- Загальногігієнічні - це миючі засоби, які використовуються для очищення широкого спектру поверхонь та обладнання. Вони не мають специфічних властивостей, які роблять їх придатними для певних типів забруднень.

- Спеціалізовані - це миючі засоби, які розроблені для видалення певних типів забруднень. Наприклад, існують миючі засоби для видалення жиру, нагару, іржі та інших забруднень.

- Дезінфекційні - це миючі засоби, які мають бактерицидну, фунгіцидну та віруцидну дію. Вони використовуються для очищення обладнання та поверхонь, які контактують з харчовими продуктами, медичними виробами та іншими потенційно небезпечними матеріалами.

- За хімічним складом:

- Аніонні - це найбільш поширений тип миючих засобів. Вони ефективні для видалення органічних забруднень, таких як жири, масла та білки.

- Катіонні - це менш поширений тип миючих засобів. Вони ефективні для видалення мінеральних забруднень, таких як іржа та солі.

- Неіонні - це ще один менш поширений тип миючих засобів. Вони ефективні для видалення широкого спектру забруднень.

Вибір миючого засобу для миття обладнання залежить від таких факторів, як [25]:

- Тип забруднень, які необхідно видалити

- Матеріал, з якого виготовлене обладнання
- Температура води, при якій буде проводитися миття
- Спосіб застосування миючого засобу

З врахуванням особливостей виробництва потрібно розглянути щонайменше 3 різні за типами миючих засоби, задля забезпечення ефективного миття обладнання. Таке порівняння показано в табл.4.1.

Таблиця 4.1.

Порівняння миючих засобів для виробництва біопрепарату

Тип	Назва	Концентрація робочого розчину, %	Ціна за 1 л концентрату, грн	Ціна за 1 л робочого розчину, грн	Джерело
Аніонні	Ecochem I.S.S.2008	1	205	0,205	[26]
	NVP PRO FORMULA EFIR LPR 2000	2	113	0,226	[27]
	OXIN L 101	0,3	64	0,0192	[28]
Катіонні	У43 Бланідас	0,5	61	0,0305	[29]
	RM 806	0,8	156,5	0,1252	[30]
	ПРОФІ 162	0,5	63,5	0,0316	[31]
Неіонні	PULICOTO	5	165	0,825	[32]
	УНІВЕРСАЛ	0,5	86,5	0,04325	[33]
	Chriox 5	0,1	93,2	0,00932	[34]

За економічною доцільністю з таблиці 2.1. обираємо OXIN L 101, У43 Бланідас та Chriox 5 як найдешевші миючі засоби.

Дезінфекція - це процес знищення або інактивації патогенних мікроорганізмів, таких як бактерії, віруси та гриби. Дезінфекційні препарати можуть бути у вигляді рідин, порошків, спреїв або інших форм. Вони можуть діяти за допомогою різних механізмів, таких як [35]:

- Хімічний вплив: дезінфекційні препарати можуть руйнувати клітинні стінки, мембрани або інші структури мікроорганізмів.

- Фізичний вплив: дезінфекційні препарати можуть використовуватися для нагрівання, заморожування або обробки ультрафіолетовим випромінюванням для знищення мікроорганізмів.

Вибір дезінфекційного препарату для біотехнологічного виробництва залежить від кількох факторів, включаючи [35]:

- Тип мікроорганізмів, які потрібно знищити
- Тип поверхні, яку потрібно дезінфікувати
- Час, який є доступним для дезінфекції
- Безпека дезінфекційного препарату для персоналу та навколишнього середовища

Основні види дезінфекційних препаратів, які використовуються в біотехнологічному виробництві, включають [35]:

- Хлорвмісні препарати: хлор є одним з найефективніших дезінфікуючих засобів. Він може використовуватися для дезінфекції поверхонь, обладнання та води.

- Альдегіди: альдегіди, такі як формальдегід і глутаровий альдегід, є ефективними дезінфікуючими засобами, які можуть використовуватися для дезінфекції поверхонь, обладнання та повітря.

- Оксигенвмісні препарати: перекис водню, озон і дихлороізоцетонна кислота є ефективними дезінфікуючими засобами, які можуть використовуватися для дезінфекції поверхонь, обладнання та води.

- Спирти: спирти, такі як етанол і ізопропіловий спирт, є ефективними дезінфікуючими засобами, які можуть використовуватися для дезінфекції поверхонь і обладнання.

Дезінфекційні препарати, які використовуються в біотехнологічному виробництві, повинні відповідати ряду вимог, включаючи [35]:

- Ефективність: дезінфекційний препарат повинен бути ефективним у знищенні або інактивації широкого спектра патогенних мікроорганізмів.

- Безпека: дезінфекційний препарат повинен бути безпечним для персоналу та навколишнього середовища.

- Стабільність: дезінфекційний препарат повинен бути стабільним у зберіганні та використанні.

- Легкість застосування: дезінфекційний препарат повинен бути легко застосовуватися на різних поверхнях і обладнання.

При використанні дезінфекційних препаратів в біотехнологічному виробництві необхідно дотримуватися ряду заходів безпеки, включаючи [35]:

- Захист органів дихання: при роботі з дезінфекційними препаратами необхідно використовувати захисні маски або респіратор.

- Захист шкіри: при роботі з дезінфекційними препаратами необхідно використовувати захисні рукавички та одяг.

- Очищення обладнання: обладнання, яке використовувалося для розведення або застосування дезінфекційних препаратів, необхідно ретельно очистити після використання.

Тож, за таким самими принципом, як було обрано миючі, так само обираємо дезінфікуючі засоби.

Таблиця 4.2.

Порівняння дезінфікуючих засобів для виробництва біопрепарату

Тип	Назва	Концентрація робочого розчину, %	Ціна за 1 л концентрату, грн	Ціна за 1 л робочого розчину, грн	Джерело
Хлорвмісні	Хлорактин актив	0,01	462	0,00462	[36]
	Новохлор-Екстра	0,01	79,8	0,00079	[37]
	ДЕЗхлор Екстра	0,01	450	0,0045	[38]
Альдегідні	Ласепт Макс	0,5	800	0,4	[39]
	ЕКОНОРМДЕЗ КЛАСІК	0,05	827	0,04135	[40]
	КОРЗОЛЕКС® ЕКСТРА	0,25	470	0,1175	[41]

Оксигенвмісні	Бланідас-А Оксі 35	0,1	114,3	0,1143	[42]
	OXYKVART	0,5	195	0,0975	[43]
	Serproxy	2	295	0,59	[44]

Враховуючи економічну доцільність, варто обрати Новохлор-Екстра, ЕКОНОРМДЕЗ КЛАСІК та OXYKVART

4.4. Особливості підготовки та стерилізації поживного середовища

Максимальні концентрації біомаси під час культивування *B. megaterium* var. *phosphaticum* ВКМ В-2357 D досягаються за умов вирощування на середовищах наступного складу (г/л) [5]: глюкоза - 20; NH₄Cl - 13; MgSO₄ 7H₂O - 0,1; NaCl - 0,2; MnSO₄-0,001; FeSO₄*7H₂O-0,001.

Враховуючи різні способи та умови стерилізації компонентів середовища, речовини для культивування посівного матеріалу у флаконах-качалках готують та змішують і умовно поділяють на такі склади

Компонент А: Глюкоза, оскільки глюкоза є піролітичним компонентом, цей компонент готують окремо (режим стерилізації: 112°C, тиск - 0,05 МПа, 30 хв).

Сполука В NH₄Cl, MgSO₄-7H₂O, NaCl, MnSO₄ і FeSO₄x7H₂O не взаємодіють один з одним і тому стерилізуються разом (режим стерилізації: 131 °С, тиск – 0,15 МПа упродовж 40 хв);

Проте, для компонентів MnSO₄ та FeSO₄×7H₂O треба передбачити приготування концентрованих розчинів, через їх малу кількість. В табл.4.3. показано перерахунок необхідної кількості цих солей для кожної стадії.

Таблиця 4.3.

Визначення кількості мікроелементів для кожної стадії

Стадія	Об'єм поживного середовища	Кількість MnSO ₄ на стадію, г	Кількість FeSO ₄ ×7H ₂ O га стадію, г
Колби	292,5 мл	0,0003	0,0003
Інокулятор на 5 л	2,925 л	0,003	0,003

Закінчення табл.4.3.

Інокулятор на 50 л	29,25 л	0,03	0,03
Посівний апарат на 500 л	292,5 л	0,3	0,3
Ферментер на 5 м ³	2925 л	3	3
Всього	≈3250 л	3,3333	3,3333

Тож, пропонується приготувати 0,1% розчин для мікроелементів для забезпечення належного культивування. Відповідні розрахунки показано в табл.4.4.

Таблиця 4.4

Кількість розчину тіаміну гідрохлориду, що припадає на кожен етап

Стадія	Об'єм поживного середовища на стадії, л	Кількість мікроелементів, що потрібна на стадію, г	Концентрація запасного розчину, г/л	Кількість розчину, яка потрібна, мл
Колби	292,5 мл	0,0006	1	0,18 мл
Інокулятор на 5 л	2,925 л	0,006		1,8 мл
Інокулятор на 50 л	29,25 л	0,06		18 мл
Посівний апарат на 500 л	292,5 л	0,6		180 мл
Ферментер на 5 м ³	2925 л	6		1800 мл
Всього				1999,98

Тож, для остаточного прорахунку особливостей біосинтезу будемо використовувати дані з таблиці 4.4. З особливостями підготовки поживного середовища можна ознайомитись на табл.4.5.

Таблиця 4.5.

Особливості підготовки поживного середовища для кожної стадії

Стадія		Колби	Інокулятор 5 л	Інокулятор 50 л	Посівний апарат 500 л	Ферментер 5 м ³
Об'єм поживного середовища, л		0,2925	2,925	29,25	292,5	2925
Композиція А	Перерахунок ваги композиції	Глюкоза – 5,85 г	Глюкоза – 58,5 г	Глюкоза – 585 г	Глюкоза – 5,85 кг	Глюкоза – 58,5 кг
	Об'єм композиції	106 мл	200 мл	2 л	20	200 л
	Кількість води	≈100 мл	≈140 мл	≈1,4 л	14,15 л	141,5 л
	Спосіб стерилізації	Автоклав	Автоклав	Автоклав	Реактор на 30 л	Реактор на 300 л
Композиція Б	Перерахунок ваги композиції	NH ₄ Cl – 3,6 г; MgSO ₄ ·7H ₂ O – 0,03 г; NaCl – 0,06 г; Розчин MnSO ₄ та FeSO ₄ *7H ₂ O – 0,18 мл	NH ₄ Cl – 36 г; MgSO ₄ ·7H ₂ O – 0,3 г; NaCl – 0,6 г; Розчин MnSO ₄ та FeSO ₄ *7H ₂ O – 1,8 мл	NH ₄ Cl – 360 г; MgSO ₄ ·7H ₂ O – 3 г; NaCl – 6 г; Розчин MnSO ₄ та FeSO ₄ *7H ₂ O – 18 мл	NH ₄ Cl – 3600 г; MgSO ₄ ·7H ₂ O – 30 г; NaCl – 60 г; Розчин MnSO ₄ та FeSO ₄ *7H ₂ O – 180 мл	NH ₄ Cl – 36 кг; MgSO ₄ ·7H ₂ O – 0,3 кг; NaCl – 0,6 кг; Розчин MnSO ₄ та FeSO ₄ *7H ₂ O – 1,8 л
	Об'єм композиції	192,5 мл	2725 мл	27,25 л	272,5 л	2725 л
	Кількість води	≈188 мл	≈2690 мл	≈26,86 л	≈268,63 л	≈2686,3 л
	Спосіб стерилізації	Автоклав	Інокулятор на 5 л	Інокулятор 50 л	Посівний апарат 500 л	Ферментер 5 м ³

РОЗДІЛ 5
СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ

Таблиця 5.1.

Специфікація обладнання виробництва біопрепарату

Позиція	Найменування	К-ть	Технічна характеристика (виробник)
1	2	3	4
ПЗ – 1	Повітрозабірник	1	Повітрозабірник висотою 15 м. Виконаний зі сталі нержавіючої. Обладнаний металевою сталлю сіткою.
Ф-2	Фільтр грубої очистки повітря	1	Карманний фільтр. Клас чистоти G-4. Відділяють частинки більше 5 мікрон. Рамка – з нержавіючої сталі 304. Кількість карманів – 3. Габарити: 592x592x600 мм [45].
К-3	Компресор	1	Компресор Intertool PT-0003. Продуктивність – 206 л/хв. Робочий тиск – 8 бар. Потужність двигуна – 1,5 кВт. Ресивер двигуна – 50 л [46].
Т-4 Т-6	Теплообмінник-охолоджувач Теплообмінник-нагрівач	2	Теплообмінник WHE-2024-AC. Продуктивність 130-220 л/хв. Потужність – 14 кВт. Максимальний робочий тиск – 25 бар [47].
Р-5	Ресивер	1	Ресивер об'ємом 500 л. Максимальний робочий тиск – 10 бар. Матеріал: сталь із полімерним покриттям [48].
Ф-7	Головний фільтр очистки повітря	1	Фільтр тонкої очистки стисненого повітря AF 036. Клас чистоти - F10. Робочий тиск досягає 16 бар. Фільтри можуть експлуатуватися при температурі від -1,5 до +65 градусів [49].
Ф-8 Ф-10 Ф-18 Ф-26	Фільтр індивідуальної очистки	4	Фільтр надтонкої очистки стисненого повітря AF 0076. Клас чистоти - F14. Робочий тиск досягає 1,6 МПа. Продуктивність - 78 м ³ /год. Фільтри можуть експлуатуватися при температурі від -1,5 до +65 градусів [50].
І-9	Інокулятор об'ємом 5 л	1	Біореактор XHSG-5L. Об'єм апарату – 5 л. Швидкість перемішування мішалки 30-500 об/хв. Оснащений подвійною сорочкою, датчиками контролю температури, рН, рівня кисню та піноутворення. Виконаний зі сталі нержавіючої 316 [51].

<i>НУХТ БТЕК 05.01.05 КР ПЗ</i>					
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата	
Розроб.		Боярин Т.В.			
Перевір.		Стабніков В.П.			
Реценз.					
Н. Контр.					
Затверд.		Стабніков В.П.			
РОЗДІЛ 5 СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ			Лім.	Арк.	Аркушів
				46	74
			<i>Кафедра БТМ</i>		

I-11	Інокулятор об'ємом 50 л	1	Біореактор BR500-M1. Об'єм апарату – 50 л. Матеріал – сталь нержавіюча SUS316L. Оснащений подвійною сорочкою, датчиками контролю температури, рН, рівня кисню та піноутворення [52].
Д-12 Д-16 Д-20 Д-24	Ваговий дозатор		Ваговий автоматичний дозатор «Норма-С». Продуктивність до 50 кг/хв. Точність дозування – 0,1 г. Похибка – 0,02% [53].
P-13	Реактор об'ємом 30 л	1	Реактор SSR-30L. Об'єм апарату – 20 л. Матеріал – сталь нержавіюча SUS316L. Габарити: 450*450*1150 мм. Швидкість мішалки 30-140 об/хв. Оснащений подвійною сорочкою, датчиками контролю температури [54].
Д-14 Д-17 Д-21 Д-25	Рідинний дозатор		Дозатор рідинний. Продуктивність до 9999 л/год. Робочий тиск від 0,5 атм до 10 атм. Похибка дозування не більш ніж 0,5% [55].
H-15	Насос	1	Насос НД 100/100. Продуктивність – 100 л/год. Частота обертання – 1500 об/хв [56].
П-19	Посівний апарат об'ємом 500 л	1	Біореактор BLBIO-SJA/SCA. Об'єм апарату – 500 л. Матеріал – сталь нержавіюча SUS316L. Оснащений подвійною сорочкою, датчиками контролю температури, рН, рівня кисню та піноутворення [57].
P-22	Реактор об'ємом 300 л	1	Реактор VJR300S. Об'єм апарату – 300 л. Швидкість мішалки до 500 об/хв. Робочі температури від -80°C до 250°C. Оснащений подвійною сорочкою, датчиками контролю температури [58].
H-23	Насос	1	Насос AD0300. Продуктивність – 300 л/год. Максимальний робочий тиск – 5 бар. Потужність – 0,18 кВт [59].
ФР-27	Ферментер об'ємом 5 м ³	1	Ферментер BIOTECH-5000L. Об'єм апарату – 5000 л. Кількість наповнення до 75%. Внутрішній тиск до 0,2 МПа. Оснащений подвійною сорочкою, датчиками контролю температури, рН, рівня кисню та піноутворення [60].
H-28	Насос відцентровий	1	Відцентровий насос CM MAG-P6 PP. Продуктивність - 6,5 м ³ /год. Потужність – 0,25 кВт. Максимальний тиск в системі - 5 бар Максимальна температура рідини: +50 °C [61].

РОЗДІЛ 6

ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ

ДР 1. Підготовка аераційного повітря

ДР 1.1. Забір атмосферного повітря

Повітря забирається з атмосфери через повітрозабірник (ПЗ-1) на висоті 20 м. Повітрозабірник являє собою металеву трубу діаметром 100-150 мм з сіткою.

ДР 1.2. Попередня очистка повітря від пилу та механічних домішок

Повітря проходить через фільтр грубого очищення (Ф-2), де видаляються пил і механічні частинки, і потрапляє в компресор (К-3). Ступінь очищення становить $E = 80\%$.

ДР 1.3. Стиснення повітря

Коли повітря стискається в компресорі, його температура підвищується до 120-250°C, а тиск - до $P = 0,35-0,5$ МПа.

ДР 1.4. Охолодження повітря та видалення вологи

Якщо вміст вологи у вихідному повітрі високий, то під час охолодження конденсується більше вологи. Щоб запобігти втраті вологи у вологовідділювачі (Р-5), повітря "недоохолоджується" до 20 °С у теплообміннику (Т-5). В осушувачі з абсорбентом видаляється 60% вологи.

ДР 1.5. Нагрівання повітря

Для забезпечення надійної роботи фільтра повітря підігрівається до 36 °С. Тому повітря після ресивера (Р-5) нагрівається в теплообміннику (Т-6) і частково змішується з гарячим повітрям після компресора. Кількість гарячого повітря визначається умовами відносної вологості і не повинна перевищувати 50 %.

ДР 1.6. Очищення повітря в головному фільтрі

Тонке очищення повітря від пилу та мікроорганізмів відбувається в основному фільтрі (Ф-7). Фільтруючим елементом є гофрована сталева сітка. Охолоджуюче повітря, що проходить через фільтр, очищається від пилу і

					НУХТ БТЕК 05.01.05 КР ПЗ			
<i>Змн.</i>	<i>Лист</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>				
<i>Розроб.</i>	<i>Боярин Т.В.</i>				РОЗДІЛ 6 ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ	<i>Літ.</i>	<i>Арк.</i>	<i>Аркушів</i>
<i>Перевір.</i>	<i>Стабніков В.П.</i>						48	74
<i>Реценз.</i>						Кафедра БТМ		
<i>Н. Контр.</i>								
<i>Затверд.</i>	<i>Стабніков В.П.</i>							

мікроорганізмів. Ступінь очищення становить $E=95\%$.

ДР 1.7. Очищене повітря в індивідуальному фільтрі

Кінцевий етап очищення повітря від забруднюючих речовин відбувається в індивідуальних фільтрах. Ступінь очищення становить $E = 99,99\%$.

ДР 2. Приготування запасного розчину мікроелементів

На технічних вагах зважують по 2 г $MnSO_4$ та $FeSO_4 \cdot 7H_2O$. Переносять в термостійку скляну колбу, до якої доливають 2 л води питної. Колбу закривають ватно-марлевым корком, а її вміст перемішують до повного розчинення. Одержаний розчин передають до автоклаву на стерилізацію при температурі $131^\circ C$ при 0,15 МПа. Тривалість процесу – 40 хв.

ДР 3. Приготування та стерилізація поживного середовища

ДР 3.1. Приготування та стерилізації поживного середовища для стадії підготовки інокуляту в колбах на качалках

ДР 3.1.1. Приготування та стерилізація композиції А

На технічних вагах зважують 5,85 г глюкози. Цукор пересипають до стійкої до температури скляної колби об'ємом 250 мл. Циліндром, об'ємом 100 мл, вносять 100 мл води водопровідної. Цукор перемішують із водою до повного розчинення, попередньо закривши колбу ватно-марлевым корком. Колбу віддають на стерилізацію в автоклаві при температурі $115^\circ C$ при 0,05 МПа. Тривалість процесу – 20 хв.

ДР 3.1.2. Приготування та стерилізація композиції В

На технічних вагах зважують 3,6 г хлориду амонію, 0,03 г гептагідрату сульфату магнію, 0,06 г хлориду натрію. Солі пересипають до стійкої до температури скляної колби об'ємом 500 мл. Циліндром, об'ємом 200 мл, вносять 188 мл води водопровідної. Солі перемішують із водою до повного розчинення, попередньо закривши колбу ватно-марлевым корком. Колбу віддають на стерилізацію в автоклаві при температурі $131^\circ C$ при 0,15 МПа. Тривалість процесу – 40 хв.

ДР 3.2. Приготування та стерилізації поживного середовища для стадії

підготовки інокуляту в інокуляторі на 5 л

ДР 3.2.1. Приготування та стерилізація композиції А

На технічних вагах зважують 58,5 г глюкози. Цукор пересипають до стійкої до температури скляної колби об'ємом 500 мл. Циліндром, об'ємом 200 мл, вносять 140 мл води водопровідної. Цукор перемішують із водою до повного розчинення, попередньо закривши колбу ватно-марлевым корком. Колбу віддають на стерилізацію в автоклаві при температурі 115 °С при 0,05 МПа. Тривалість процесу – 20 хв.

ДР 3.2.2. Приготування та стерилізація композиції В

На технічних вагах зважують 36 г хлориду амонію, 0,3 г гептагідрату сульфату магнію, 0,6 г хлориду натрію. Солі пересипають до інокулятора об'ємом 5 л (І-9). Циліндром, об'ємом 5 мл, вносять 2690 мл води водопровідної. Вмикають мішалку та перемішують солі із водою до повного розчинення. Кришку інокулятора закривають та встановлюють температуру стерилізації 131 °С при 0,15 МПа. Тривалість процесу – 40 хв.

ДР 3.3. Приготування та стерилізації поживного середовища для стадії підготовки інокуляту в інокуляторі на 50 л

ДР 3.3.1. Приготування та стерилізація композиції А

На технічних вагах зважують 585 г глюкози. Цукор пересипають до стійкої до температури скляної колби об'ємом 5 л. Циліндром, об'ємом 2 л, вносять 1,4 л води водопровідної. Цукор перемішують із водою до повного розчинення, попередньо закривши колбу ватно-марлевым корком. Колбу віддають на стерилізацію в автоклаві при температурі 115 °С при 0,05 МПа. Тривалість процесу – 20 хв.

ДР 3.3.2. Приготування та стерилізація композиції В

На технічних вагах зважують 360 г хлориду амонію, 3 г гептагідрату сульфату магнію, 6 г хлориду натрію. Солі пересипають до інокулятора (І-11) об'ємом 50 л. Рідинним дозатором доливають 26,86 л води водопровідної. Вмикають мішалку та перемішують солі із водою до повного розчинення. Кришку інокулятора закривають та встановлюють температуру стерилізації 131 °С при 0,15

МПа. Тривалість процесу – 40 хв.

ДР 3.4. Приготування та стерилізації поживного середовища для стадії підготовки інокуляту в посівному апараті на 500 л

ДР 3.4.1. Приготування та стерилізація композиції А

На ваговому дозаторі (Д-12) зважують 5,85 кг глюкози. Цукор пересипають до реактору (Р-13) об'ємом 30 л. Рідинним лічильником (Д-14) до реактору подають 14,15 л води водопровідної. Цукор перемішують із водою до повного розчинення за допомогою мішалки. Кришку реактора закривають та встановлюють температуру на рівні 115 °С при 0,05 МПа. Тривалість процесу – 20 хв.

ДР 3.4.2. Приготування та стерилізація композиції В

На ваговому дозаторі (Д-16) зважують 3,6 кг хлориду амонію, 30 г гептагідрату сульфату магнію, 60 г хлориду натрію. Солі пересипають до посівного апарату (П-19) об'ємом 500 л. Рідинним дозатором (Д-17) доливають 268,63 л води водопровідної. Вмикають мішалку та перемішують солі із водою до повного розчинення. Кришку посівного апарату закривають та встановлюють температуру стерилізації 131 °С при 0,15 МПа. Тривалість процесу – 40 хв.

ДР 3.5. Приготування та стерилізації поживного середовища для стадії виробничого культивування

ДР 3.5.1. Приготування та стерилізація композиції А

На ваговому дозаторі (Д-20) зважують 58,5 кг глюкози. Цукор пересипають до реактору (Р-22) об'ємом 300 л. Рідинним лічильником (Д-21) до реактору подають 141,5 л води водопровідної. Цукор перемішують із водою до повного розчинення за допомогою мішалки. Кришку реактора закривають та встановлюють температуру на рівні 115 °С при 0,05 МПа. Тривалість процесу – 20 хв.

ДР 3.5.2. Приготування та стерилізація композиції В

На ваговому дозаторі (Д-24) зважують 36 кг хлориду амонію, 0,3 кг гептагідрату сульфату магнію, 0,6 кг хлориду натрію. Солі пересипають до робочого ферментеру (Ф-27) об'ємом 5000 л. Рідинним дозатором (Д-25) доливають 268,63 л води водопровідної. Вмикають мішалку та перемішують солі із водою до повного розчинення. Кришку інокулятора закривають та встановлюють

температуру стерилізації 131 °С при 0,15 МПа. Тривалість процесу – 40 хв.

ТП 4. Підготовка посівного матеріалу

ТП 4.1 Підтримання колекційної культури

Оскільки штам *Bacillus megaterium* ВКМ В-2357 D є природним ізолятом і не має високої трансформаційної здатності, зібране культуральне середовище кріоконсервують при -70°С. Цей метод також набагато дешевший, ніж ліофілізаційне висушування або зберігання в рідкому азоті.

ТП 4.2 Одержання робочої культури на агаризованих середовищах

Культуру вносять в середовище Гаузе-2, потім інокуючи мікробіологічною голкою на ізольовані колонії в чашках Петрі з середовищем Гаузе-2 та інкубують при 31°С протягом 48 годин.

ТП 4.3 Вирощування культури на агаризованих середовищах

Пересіюють отримані колонії ізолятів (ТП 4.2) у пробірки з конічним агаризованим середовищем Гаузе-2 (використовують по одній колонії ізоляту на кожен пробірку). Ізольовані колонії висівають у пробірки на відстані не менше 1 см одна від одної. Час інкубації - 48 годин, температура - 31 °С.

ТП 4.4 Вирощування культури в колбах на качалках

Композицію А (від ДР 3.1.1) змішують разом з композицією В (від ДР 3.1.2) в строго асептичних умовах у колбі об'ємом 5 л. До цієї суміші за допомогою стерильного носика семплера додають 180 мкл розчину мікроелементів. Весь вміст перемішують та розливають на 2 стерильні колби по 145 мл готового простерилізованого поживного середовища. Туди вносять посівний матеріал з пробірок з 5 мл фізрозчину, раніше засіяних продуцентом. Параметри культивування: температура 31 °С, тривалість 48 годин.

ТП 4.5 Вирощування культури в інокуляторі на 5 л

У інокулятор (І-9), об'ємом 5 л з попередньо простерилізованою композицією В асептично з колби вносять композицію А (від ДР 3.2.1), а також, в строго асептичних умовах вносять за допомогою стерильного носа семплеру 1,8 мл розчину мікроелементів (від ДР 2). Потім культуральне середовище з колби для качалки (ТП 4.4) додають в асептичних умовах в колбу для інокуляції.

Параметри культивування: температура 31 °С, тривалість 48 год, посилена аерація.

ТП 4.6 Вирощування культури в інокуляторі на 50 л

У інокулятор (І-11), об'ємом 50 л з попередньо простерилізованою композицією В асептично з колби вносять композицію А (від ДР 3.3.1), а також, в строго асептичних умовах вносять за допомогою стерильного носа семплеру 18 мл розчину мікроелементів (від ДР 2). Потім подають культуральну рідину з минулої стадії трубою перетискування (ТП 4.5) в асептичних умовах і починають процес культивування.

Параметри культивування: температура 31 °С, тривалість 48 год, посилена аерація.

ТП 4.7 Вирощування культури в посівному апараті на 500 л

У посівний апарат, об'ємом 500 л з попередньо простерилізованою композицією В асептично, за допомогою насосу (Н-15), вносять композицію А (від ДР 3.4.1), а також, в строго асептичних умовах вносять, за допомогою стерильного циліндру, 180 мл розчину мікроелементів (від ДР 2). Потім подають культуральну рідину з минулої стадії трубою перетискування (ТП 4.6) в асептичних умовах і починають процес культивування.

Параметри культивування: температура 31 °С, тривалість 48 год, посилена аерація.

ТП 5. Біосинтез

ТП 5.1 Виробниче культивування

Виробниче культивування здійснюють у ферментері (ФР-27) об'ємом 5 м³. У ферментер, в якому попередньо була простерилізована композиція В, за допомогою насосу (Н-23) вносять стерильну композицію А (від ДР 3.5.1), а також, в асептичних умовах вносять 1,8 л розчину мікроелементів. Подають посівний матеріал за допомогою труби перетискування з стадії ТП 4.7.

Під час процесу культивування подають повітря через барботер для підтримання насиченням повітрям культуральної рідини протягом всього процесу

культивування. Тривалість культивування становить 48 год. Вирощують культуру до початку стаціонарної фази росту. Температуру культивування відповідно 31 °С.

Проби відбирають кожні 5 годин для аналізу процесу ферментації та визначення концентрації біомаси, джерел вуглецю та азоту в культуральному середовищі. Процес ферментації триває близько 48 годин і припиняється, коли концентрація біомаси досягає 5 г/л у сухому залишку.

РОЗДІЛ 7

КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА

Сьогодні біотехнології сприяють збереженню довкілля, зменшуючи ризик токсичного забруднення ґрунту та ґрунтових вод і підвищуючи продуктивність сільського господарства. У промисловості, особливо в харчовій, сільському господарстві, переробці промислових і побутових відходів, очищенні та утилізації стічних вод, виробництві біогазу та добрив, багато технологій було замінено біотехнологіями з використанням ферментів і мікроорганізмів.

Однією з найважливіших проблем сучасної біотехнології є масове виробництво біодобрив на основі ґрунтових бактерій родів *Bacillus*, *Azotobacter* і *Rhizobium* та їх широке застосування, особливо в сільському господарстві, при одночасному вивченні їх фізико-хімічних властивостей і однакових кислот для різних виробників.

Біодобрива - це здебільшого біомаса, збагачена мікроорганізмами, такими як фосфоронакопичувальні, азотфіксувальні та нітрифікуючі бактерії, які можуть підвищити врожайність сільськогосподарських культур та захистити від шкідників.

Препарати на основі рістстимулюючої фосфатфіксуючої ґрунтової бактерії *B. megaterium* підвищують врожайність зернових, технічних та овочевих культур. Ефективність цього продукту базується на мінералізації фосфорорганічних речовин, покращенні мінерального живлення рослин, стимуляції росту та розвитку рослин за рахунок забезпечення біологічно активними речовинами (вітамінами, фітогормонами, амінокислотами тощо), підвищенні стійкості рослин до фітопатогенів та стресів, покращенні врожайності та якості продукції тощо. Це визначається потенціалом бактерії.

7.1. Карта постадійного контролю доферментаційних процесів

					НУХТ БТЕК 05.01.05 КР ПЗ			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.	Боярин Т.В.				РОЗДІЛ 7 КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА	Літ.	Арк.	Аркушів
Перевір.	Стабніков В.П.						55	74
Реценз.						Кафедра БТМ		
Н. Контр.								
Затверд.	Стабніков В.П.							

Таблиця 7.1.

Карта постадійного контролю

Номер контрольної точки та назва стадії	Об'єкт контролю та показник, що визначається	Засоби та методи контролю	Періодичність перевірки та відбору проб	Нормативні значення показника
1	2	3	4	5
Кт1.2. <i>Груба очистка повітря</i>	Атмосферне повітря, ступінь чистоти повітря на виході з фільтру	Аналіз повітря до і після фільтрації	До та після проходження повітря через фільтр грубого очищення	E = 80 %
Кт 1.3 <i>Компресування повітря</i>	Стиснене повітря, тиск	Манометр	Після компресора	P = 0,4 МПа
Кт 1.4 <i>Охолодження повітря та видалення зайвої вологи</i>	Охолоджене повітря, температура, вологість	Термометр Психометричний метод	На виході з теплообмінника – охолоджувача та ресивера	t = 20 °C, W = 60 %
Кт 1.5 <i>Нагрівання повітря</i>	Нагріте повітря, температура	Термометр	Після нагрівання повітря	t = 36 °C
Кт 1.6 <i>Очищення повітря в головному фільтрі</i>	Очищене повітря, ступінь чистоти повітря на виході з фільтру, перепад тиску	Перевірка ступеня очищення Манометр	До та після проходження повітря через головний фільтр	E = 95 %

Продовження табл.7.1.

1	2	3	4	5
Кт 1.7 <i>Очищення повітря в індивідуальному фільтрі</i>	Очищене повітря, ступінь чистоти повітря на виході з фільтру	Перевірка ступеня очищення	До та після проходження повітря через індивідуальний фільтр	E = 99,99998 %
Кх, Км 2.1 <i>Приготування запасного розчину мікроелементів</i>	Сульфат марганцю та гептогфдрат сульфат заліза, концентрація, температура, час стерилізації, тиск, асептика	Хімічний метод, концентратомір, термометр, манометр, таймер, мікробіологічний метод	Парметри визначаються під час процесу	C = 0,1 %, t=131°C P = 0,15 МПа τ = 40 хв, відсутність мікробіоти
Кт, Км 3.1.1. <i>Приготування та стерилізація композиції А</i>	Композиція А, тиск, температура, час витримки, стерильність	Манометр, годинник, мікробіологічний контроль	Тиск визначається безперервно під час стерилізації, мікробіологічний контроль після стерилізації	t=115°C P = 0,05 МПа τ = 20 хв, відсутність мікробіоти
Кт, Км 3.1.2. <i>Приготування та стерилізація композиції В</i>	Композиція В, тиск, температура, час витримки, стерильність	Манометр, годинник, мікробіологічний контроль	Тиск визначається безперервно під час стерилізації, мікробіологічний контроль після стерилізації	t=131°C P = 0,15 МПа τ = 40 хв, відсутність мікробіоти

Продовження табл.7.1.

1	2	3	4	5
Кт, Км 3.2.1. <i>Приготування та стерилізація композиції А</i>	Композиція А, тиск, температура, час витримки, стерильність	Манометр, годинник, мікробіологічний контроль	Тиск визначається безперервно під час стерилізації, мікробіологічний контроль після стерилізації	t=115°C P = 0,05 МПа τ = 20 хв, відсутність мікробіоти
Кт, Км 3.2.2. <i>Приготування та стерилізація композиції В</i>	Композиція В, тиск, температура, час витримки, стерильність	Манометр, годинник, мікробіологічний контроль	Тиск визначається безперервно під час стерилізації, мікробіологічний контроль після стерилізації	t=131°C P = 0,15 МПа τ = 40 хв, відсутність мікробіоти
Кт, Км 3.3.1. <i>Приготування та стерилізація композиції А</i>	Композиція А, тиск, температура, час витримки, стерильність	Манометр, годинник, мікробіологічний контроль	Тиск визначається безперервно під час стерилізації, мікробіологічний контроль після стерилізації	t=115°C P = 0,05 МПа τ = 20 хв, відсутність мікробіоти
Кт, Км 3.3.2. <i>Приготування та стерилізація композиції В</i>	Композиція В, тиск, температура, час витримки, стерильність	Манометр, годинник, мікробіологічний контроль	Тиск визначається безперервно під час стерилізації, мікробіологічний контроль після стерилізації	t=131°C P = 0,15 МПа τ = 40 хв, відсутність мікробіоти
Кт, Км 3.4.1. <i>Приготування та стерилізація композиції А</i>	Композиція А, тиск, температура, час витримки, стерильність	Манометр, годинник, мікробіологічний контроль	Тиск визначається безперервно під час стерилізації, мікробіологічний контроль після стерилізації	t=115°C P = 0,05 МПа τ = 20 хв, відсутність мікробіоти

1	2	3	4	5
Кт, Км 3.4.2. <i>Приготування та стерилізація композиції В</i>	Композиція В, тиск, температура, час витримки, стерильність	Манометр, годинник, мікробіологічний контроль	Тиск визначається безперервно під час стерилізації, мікробіологічний контроль після стерилізації	t=131°C P = 0,15 МПа τ = 40 хв, відсутність мікробіоти
Кт, Км 3.5.1. <i>Приготування та стерилізація композиції А</i>	Композиція А, тиск, температура, час витримки, стерильність	Манометр, годинник, мікробіологічний контроль	Тиск визначається безперервно під час стерилізації, мікробіологічний контроль після стерилізації	t=115°C P = 0,05 МПа τ = 20 хв, відсутність мікробіоти
Кт, Км 3.5.2. <i>Приготування та стерилізація композиції В</i>	Композиція В, тиск, температура, час витримки, стерильність	Манометр, годинник, мікробіологічний контроль	Тиск визначається безперервно під час стерилізації, мікробіологічний контроль після стерилізації	t=131°C P = 0,15 МПа τ = 40 хв, відсутність мікробіоти
Кт, Км 4.1. <i>Підтримання колекційної культури</i>	Колекційна культура <i>Bacillus megaterium</i> ВКМ В-2357 Д, температура, частота пересівів, мікробіологічна чистота	Термометр технічний, годинник, мікробіологічний контроль	Температура протягом зберігання. Мікробіологічна чистота після вирощування культури	t = -70°C, тпересів = 3-6 місяці, відсутність сторонньої мікробіоти

Продовження табл.7.1.

1	2	3	4	5
<p>Кт, Км 4.2. Вирощування культури на агаризованих середовищах</p>	<p>Колекційна культура <i>Bacillus megaterium</i> ВКМ В-2357 Д, температура, тривалість вирощування, мікробіологічна чистота</p>	<p>Термометр технічний, годинник, мікробіологічний контроль</p>	<p>Температура визначається під час вирощування. Мікробіологічна чистота після вирощування культури</p>	<p>t = 31°C, τ = 48 год, відсутність сторонньої мікробіоти</p>
<p>Кт, Км 6.3. Вирощування культури на агаризованих середовищах</p>	<p>Робоча культура <i>Bacillus megaterium</i> ВКМ В-2357 Д, температура, тривалість вирощування, мікробіологічна чистота</p>	<p>Термометр технічний, годинник, мікробіологічний контроль</p>	<p>Температура визначається під час вирощування. Мікробіологічна чистота після вирощування культури</p>	<p>t = 31°C, τ = 48 год, відсутність сторонньої мікробіоти</p>
<p>Кт, Км 4.4. Вирощування культури в колбах на качалках</p>	<p>Посівний матеріал <i>Bacillus megaterium</i> ВКМ В-2357 Д, тривалість вирощування, температура, частота обертів качалки, мікробіологічна чистота культури</p>	<p>Годинник, термометр технічний, тахометр, мікробіологічний контроль</p>	<p>Температура і швидкість обертання контролюються і підтримуються автоматично весь час вирощування. Мікроскопіювання – після вирощування культури в колбах</p>	<p>t = 31°C, τ = 48 год, ω = 200 об/хв, відсутність сторонньої мікробіоти</p>

1	2	3	4	5
Кх, Кт, Км 4.5. Вирощування культури в інокуляторі на 5 л	Поживне середовище в інокуляторі, посівний матеріал <i>Bacillus megaterium</i> ВКМ В-2357 Д, тривалість вирощування, температура, частота обертів мішалки, надлишковий тиск, мікробіологічна чистота культури морфологічна відповідність організмів	годинник термометр технічний, тахометр, витратомір, манометр, мікроскоп	Температура і швидкість обертання контролюються і підтримуються автоматично весь час вирощування Мікроскопіювання – в кінці процесу вирощування культури в інокуляторі	t = 31°C, τ = 48 год, ω = 200 об/хв, відсутність сторонньої мікробіоти
Кх, Кт, Км 4.6. Вирощування культури в інокуляторі на 50 л	Поживне середовище в інокуляторі, посівний матеріал <i>Bacillus megaterium</i> ВКМ В-2357 Д, тривалість вирощування, температура, частота обертів мішалки, надлишковий тиск, мікробіологічна чистота культури морфологічна відповідність організмів	годинник термометр технічний, тахометр, витратомір, манометр, мікроскоп	Температура і швидкість обертання контролюються і підтримуються автоматично весь час вирощування Мікроскопіювання – в кінці процесу вирощування культури в інокуляторі	t = 31°C, τ = 48 год, ω = 200 об/хв, відсутність сторонньої мікробіоти
Кх, Кт, Км 4.7. Вирощування культури в посівному апараті на 500 л	Поживне середовище в інокуляторі, посівний матеріал <i>Bacillus megaterium</i> ВКМ В-2357 Д, тривалість вирощування, температура, частота обертів мішалки, надлишковий тиск, мікробіологічна чистота культури морфологічна відповідність організмів	годинник термометр технічний, тахометр, витратомір, манометр, мікроскоп	Температура і швидкість обертання контролюються і підтримуються автоматично весь час вирощування Мікроскопіювання – в кінці процесу вирощування культури в інокуляторі	t = 31°C, τ = 48 год, ω = 200 об/хв, відсутність сторонньої мікробіоти

Закінчення табл.7.1.

1	2	3	4	5
Кх, Кт, Км 5.1. Виробниче культивування	Поживне середовище в ферментері, посівний матеріал <i>Bacillus megaterium</i> ВКМ В-2357 Д, тривалість вирощування, температура, частота обертів мішалки, надлишковий тиск, мікробіологічна чистота культури морфологічна відповідність організмів, концентрація біомаси, концентрація життєздатних клітин	годинник термометр технічний, тахометр, витратомір, манометр, мікроскоп, спектрофотометр	Температура і швидкість обертання контролюються і підтримуються автоматично весь час вирощування Мікроскопіювання – під час вирощування культури у ферментері. Відбір проб культуральної рідини – кожні 4 год	t = 31°C, τ = 48 год, ω = 200 об/хв, відсутність сторонньої мікробіоти, C _{біомаси} = 5 г/л, C _{клітин} = 1,8 × 10 ⁹ КУО/мл

7.2. Мікробіологічний контроль

Мікробіологічний контроль обмежується мікроскопічним фарбуванням за Грамом. Для мікроскопії використовується метод "роздавленої краплі". На предметному склі готують препарат "роздавленої краплі", наносять на нього невелику краплю живильного середовища, накривають покривним склом і спостерігають за допомогою 40-кратного об'єктива або 90-кратної імерсійної системи. При оцінці морфологічних і культуральних характеристик продуцента основна увага приділяється клітинним характеристикам [62].

За необхідності, перед мікроскопічним дослідженням звичайних препаратів готують препарати, забарвлені за Грамом. Для подальшого підтвердження чистоти культури готують мазки, які фіксують полум'ям пальника. На фіксований мазок кладуть шматочок фільтрувального паперу, просочений барвником генціановим фіолетовим, і додають дві-три краплі дистильованої води. Розчин Люголя наносять на мазок і фільтрують через 2 хвилини [62].

Знебарвлюють мазок 96% етиловим спиртом протягом 20-30 секунд. Мазок ретельно промивають водою. Наносять фуксин Пфайффера на 1-2 хвилини [62].

Мазок змивають, зразок висушують і досліджують під мікроскопом. Грампозитивні мікроорганізми забарвлюються у фіолетовий колір, а грамнегативні - у червоний [62].



Рис.7.1. Клітини *B. megaterium* під мікроскопом при збільшенні 90х пофарбовані за Грамом [63].

7.3. Показники росту та синтезу цільового продукту

7.3.1 Концентрація біомаси

Концентрацію біомаси в 1 мл культурального середовища визначають за допомогою фотоелектроколориметра (ФЕК), тобто за різницею оптичної густини D клітинної суспензії та еталонного зразка, а відповідні значення оптичної густини перераховують за допомогою калібрувального графіка [62].

Для цього в пробірку додають 9 мл дистильованої води та 1 мл живильного середовища. Суміш струшують і вимірюють оптичну густину за допомогою фотоелектроколориметра (довжина хвилі 540 нм): беруть 10 мл культурального середовища і переносять у центрифужну пробірку. Потім центрифугують при 15 000 об/хв протягом 20 хв. Надсадову рідину декантують і відокремлюють біомасу. Біомасу висушують до постійної ваги за допомогою приладу Чижової. Потім проводять контрольне зважування і переводять у г на літр (суха біомаса). Максимальна концентрація біомаси, яку можна розрахувати, становить 5 г/л [62].

7.3.2. Концентрація життєздатних клітин

Концентрацію життєздатних клітин визначають методом десятикратних розведень. Культуральну рідину розводять до ступені 10^{-9} та висівають на МПА. Витримують чашки в термостаті при 31 °C протягом 48 годин. Після цього підраховують кількість колоній з перерахунком на розведення. Концентрація життєздатних клітин має становити $1,8 \times 10^9$ КУО/мл [62].

7.3.3 Визначення концентрації азоту

Метод Несслера заснований на тому, що при взаємодії реактиву Несслера (K_2HgI_4) з аміаком в нейтральних або лужних розчинах утворюється забарвлена, нерозчинна сполука: $2HgI_4 + NH_3 + OH = NH_2Hg_2I_3 + 5I_2 + H_2O$. $2HgI_4 + NH_3 + OH = NH_2Hg_2I_3 + 5I_2 + H_2O$ Слід уникати надмірного споживання лугу, оскільки $NH_2Hg_2I_3$ може розкладатися з утворенням оксиду ртуті. Забарвлені сполуки $NH_2Hg_2I_3$ мають тенденцію до утворення негативно заряджених колоїдних частинок. Для отримання однорідної і стабільної суспензії до розчину слід додати захисні колоїди, такі як желатин або полівініловий спирт. При низьких концентраціях аміаку колір колоїдного розчину жовтий і стає коричневим зі збільшенням концентрації [62].

Присутність колоїдних розчинів, які можуть коагулювати під час аналізу, знижує відтворюваність результатів, отриманих методом Несслера. Для визначення аміаку до 1 мл культуральної рідини додають 1 мл реактиву Несслера. Коефіцієнт екстинкції вимірюють при довжині хвилі 400-425 нм. Концентрацію аміаку визначають за калібрувальним графіком [62].

Фотометричному визначенню азоту за методом Несслера заважають іони, які випадають в осад у лужному середовищі і утворюють нерозчинні сполуки з йодидами та іонами ртуті (іони магнію, марганцю, заліза, титану і сірки [62]).

7.2.4 Визначення концентрації глюкози

Основним джерелом вуглецю в середовищі є глюкоза, а не пептон. Концентрацію цього джерела вуглецю вимірюють модифікованим глюкозооксидазним методом за допомогою біосенсора, оснащеного іммобілізованою глюкозооксидазою та амперометричним датчиком [62].

50 мл культурального середовища відбирають з ферментера, переносять у центрифужну пробірку і центрифугують при 1500 об/хв протягом 15-20 хв, відцентрифуговану суспензію фільтрують через фільтрувальний папір, а фільтрат збирають в окрему ємність для аналізу [62].

Відбирають фіксований об'єм зразка і розбавляють у 250-1000 разів, потім відбирають 5-10 мл розведеного розчину і переносять до 20 мл 20 мМ системного буфера: $\text{KH}_2\text{PO}_4\text{-Na}_2\text{HPO}_4$, рН 7,2; полімер EDT (20 мМ фосфатний буфер, рН 6,2, 10-2М 3,4-етилендіокситіофен, 3М поліетиленгліколь, що містить 10-30 мг/мл розчину ГОД) іммобілізовану глюкозооксидазу додають до цієї системи у вигляді суспензії [62].

Концентрацію глюкози вимірюють за допомогою амперометричного перетворювача, що складається зі звичайної трьохелектродної системи з друкованими електродами SensLab (SensLab GmbH, Лейпциг, Німеччина), що поєднує всі три електроди: платиновий робочий електрод, електрод порівняння та електрод порівняння. Вимірювання проводять шляхом занурення сенсора амперометричного пристрою в систему розчину, що містить глюкозооксидазу та підготовлене живильне середовище [62].

Вимірюваною величиною є сила струму в одиницях нА [62].

Концентрацію глюкози визначають за калібрувальною кривою залежності концентрації глюкози (мМ) від сили струму (нА). Отримане значення концентрації спочатку множать на коефіцієнт розведення і переводять концентрацію з мМ в г або г/л в постійному об'ємі. Вміст вуглецю в глюкозі становить 40%, а 1 г глюкози відповідає 0,4 г вуглецю [62].

РОЗДІЛ 8 ОХОРОНА ДОВКІЛЛЯ

8.1. Аналіз технологічної схеми виробництва фосфорного біодобрива на місця емісії твердих, рідких та газоподібних відходів

Оскільки при виробництві бактеріального добрива як основа препарату використовується культуральна рідина, то передбачається знешкодження наступних відходів: миючі та дезінфікуючі засоби, залишки запасного розчину, відпрацьоване повітря.

Загальну характеристику представлено в таблиці 8.1.

Таблиця 8.1.

Оцінка відходів виробництва

Етап виробництва, який є місцем утворення відходів	Характеристика відходів	Складові відходів	Приблизні об'єми за виробничий цикл (26,5 год)	Клас небезпеки
Миття та ополіскування обладнання	УНІВЕРСАЛ	Неорганічні кислоти, неіоногенні ПАР, піногасник	1177 л	4 клас
Щоденне прибирання виробничих приміщень Генеральне прибирання виробничих приміщень	Лансепт Макс	Хлорид	100 л	4 клас
Підготовка інокуляту та виробничий біосинтез	Розчин мікроелементів	Сульфат марганцю та гептогідрат сульфату заліза	Залишки	4 клас
	Відпрацьоване повітря	CO ₂ , пил	-	4 клас

8.2. Перспективи впровадження системи екологізації виробництва

Знешкодження відходів – це руйнування небезпечних компонентів, що містяться у відходах, фізичними, хімічними, біологічними та іншими методами

<i>НУХТ БТЕК 05.01.05 КР ПЗ</i>				
<i>Змн.</i>	<i>Лист</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>
<i>Розроб.</i>	<i>Боярин Т.В.</i>			
<i>Перевір.</i>	<i>Стабніков В.П.</i>			
<i>Реценз.</i>				
<i>Н. Контр.</i>				
<i>Затверд.</i>	<i>Стабніков В.П.</i>			
РОЗДІЛ 8 ОХОРОНА ДОВКІЛЛЯ			<i>Лім.</i>	<i>Арк.</i>
				<i>Аркушів</i>
			67	74
<i>Кафедра БТМ</i>				

на спеціалізованих установах з метою запобігання шкідливого впливу відходів на здоров'я людини та навколишнє середовище [64].

Методи знешкодження відходів поділяють на дві групи [64]:

- 1) ліквідаційні (захоронення в ґрунт, спалювання без використання тепла);
- 2) утилізаційні (переробка, спалювання з використанням тепла, виділення вторинної сировини).

8.2.1. Система знешкодження та утилізації рідких відходів

В Україні досить поширена наступна схема знешкодження рідких відходів.

Зливання зібраних машинами рідких відходів відбувається на спеціальних зливних станціях, потім каналізаційними колекторами вони надходять на міські очисні споруди. На зливних станціях відходи розбавляють водою у співвідношенні 1:2– 1:3, очищують від механічних домішок і піску на спеціальних ґратках і пісколовці, а потім направляють у каналізацію. Розміри ділянки під зливну станцію визначають із розрахунку: 0,2 га на 1 000 тонн рідких відходів у рік. Санітарно-захисна зона – 300 м [64].

Зливні станції потрібно розміщувати на ізольованих ділянках каналізаційного колектора. Територію відгороджують і оточують зеленою смугою шириною не менше за 10 м. До станції організують гарні під'їзні дороги. Зливні станції обладнують необхідними пристроями для очищення каналізаційних стоків від усіляких механічних домішок і піску, водопроводом, пристосуваннями для дроблення великих часток, або ємностями для їхнього тимчасового зберігання, підсобними та побутовими приміщеннями, зливним коридором із визначеною кількістю приймальних місць [64].

В окремих випадках зливні станції застосовують разом з локальними очисними установками. Зливну станцію обладнують системою приточно-витяжної вентиляції. За відсутності систем каналізації використовують ґрунтові методи знешкодження рідких відходів, до яких належать поля асенізації та поля заорювання [64].

Розміри майданчика для полів асенізації приймають з розрахунку 2–4 га на 1 000 тонн відходів у рік. Санітарно-захисна зона – 1 000 м. Машини, виїжджаючи

на спеціальні містки, зливають нечистоти на відведений, обгороджений канавою, спеціальний майданчик із розрахунку 2 м³ на 10 м² ділянки, після чого нечистоти заорюють [64].

На полях асенізації організують сівозміну сільськогосподарських культур. Рекомендується така черговість: 1 рік – зливання й заорювання нечистот; 2 рік – висівання кормових трав, злаків; 3 рік – висівання кормового буряку; 4 рік – висаджування картоплі. Поля заорювання не використовують у сільськогосподарських цілях. У місцях зливу рідких відходів обладнують місця миття для асенізаційних машин [64].

Але є й інші методи очистки рідких відходів [65]:

- механічні (проціджування, подрібнення, відстоювання, фільтрування);
- хімічні (окислення, нейтралізація, відновлення, коагуляція, флокуляція);
- фізико-хімічні (флотація, сорбція, екстракція, евапорація, іонний обмін, електрохімічні методи (електрокоагуляція, електроосмос, електродіаліз));
- біологічні (біофільтри, біологічні ставки, аеротенки);
- комбіновані.

Одним з найбільш досконалих методів біологічної очистки рідинних відходів є мембранний біореактор (МБР). У мембранних біореакторах відбуваються ті ж біохімічні процеси, що і на звичайних очисних спорудах; відмінність МБР від традиційних методів полягає в тому, що сепаратор активного мулу у вторинному відстійнику замінюється на фільтрацію через полімерний мембранний елемент [65].

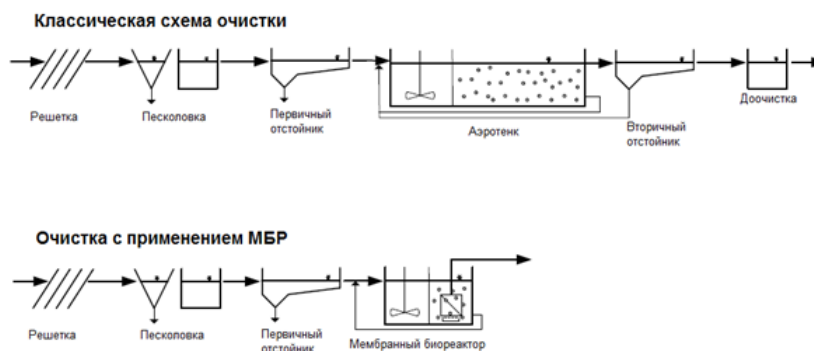


Рис.8.1. Порівняння схем очистки рідких відходів [65]

В Україні використання МБР для очищення стічних вод дозволяє підвищити концентрацію активного мулу в аеротенку до 8-14 г/л (для традиційних схем 2-4). При цьому вік активного мулу може досягати 45-60 діб, що призводить до прискореного розкладання складних органічних забруднень і значного зменшення кількості надлишкового мулу. Таким чином, за рахунок збільшення концентрації активного мулу, очисні споруди з використанням ММД вимагають в два-три рази менше місця, ніж звичайні [65].



Рис.8.2. Зображення установки МБР на реальному прикладі [65]

8.2.2. Система знешкодження газоповітряних викидів

Установки для очищення відпрацьованого повітря використовуються для видалення з повітряного потоку шкідливих речовин, таких як пил, гази, аерозолі та запахи. Вони можуть застосовуватися в різних галузях промисловості, сільського господарства, транспорту та інших сферах [66].

Основні типи установок для очищення відпрацьованого повітря [66]:

- Фільтрувальні установки видаляють з повітряного потоку тверді частинки за допомогою фільтрів. Фільтри можуть бути сухими або мокрими. Сухі фільтри, як правило, виготовляються з тканини, паперу або металу. Мокрі фільтри використовують рідину для затримки частинок.
- Циклонні установки видаляють з повітряного потоку тверді частинки за допомогою сил інерції. У циклонному пристрої повітряний потік закручується, і

частинки, що потрапили всередину, відхиляються від потоку і осідають на стінках пристрою.

- Електростатичні осаджувачі видаляють з повітряного потоку тверді частинки за допомогою електростатичного поля. У електростатичному осаджувачі повітряний потік проходить між електродами, що мають різний потенціал. Частинки, які мають негативний заряд, притягуються до позитивних електродів і осідають на них.

- Відмивні установки видаляють з повітряного потоку тверді частинки та гази за допомогою рідини. У відмивній установці повітряний потік пропускається через рідину. Частинки і гази, що розчиняються у рідині, видаляються з повітряного потоку.

- Адсорбери видаляють з повітряного потоку гази за допомогою твердої речовини або рідини. В адсорбері повітряний потік пропускається через шар твердої речовини або рідини, яка поглинає гази.

- Біоскрубери видаляють з повітряного потоку гази і запахи за допомогою біологічних процесів. У біоскрубері повітряний потік пропускається через шар біологічного матеріалу, в якому знаходяться мікроорганізми, які розщеплюють гази і запахи.

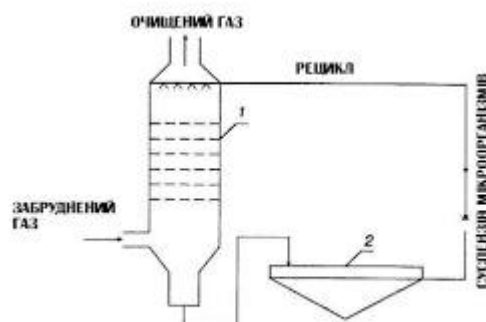


Рис.8.3. Схема біоскруберу [66]

Вибір установки для очищення відпрацьованого повітря залежить від виду і концентрації забруднюючих речовин у повітряному потоку, а також від продуктивності установки [66].

Біоскрubber - це установка для очищення повітря від газів і запахів за допомогою біологічних процесів. У біоскрubberі повітряний потік пропускається через шар біологічного матеріалу, в якому знаходяться мікроорганізми, які розщеплюють гази і запахи [66].

Біоскрubери використовуються для очищення повітря від різних газів і запахів, таких як оксиди азоту, оксиди сірки, амоніак, сірководень, формальдегід, органічні розчинники та інші [66].

Біоскрubери мають ряд переваг [66]:

- Вони ефективні для очищення повітря від різних газів і запахів.
- Вони мають високу продуктивність.
- Вони порівняно недорогі в експлуатації.

Біоскрubери мають і деякі недоліки [66]:

- Вони можуть вимагати значної площі для установки.
- Вони можуть бути чутливими до ряду факторів, таких як температура, вологість і кислотність повітря.

8.2.3. Заходи щодо зменшення об'ємів відходів

Зменшення використання миючих та дезінфікуючих розчинів. Це можна зробити за рахунок [67]:

- Використання більш ефективних миючих та дезінфікуючих засобів, які дозволяють досягти необхідного рівня чистоти за меншої кількості використовуваного розчину.
- Використання автоматизованих систем миття та дезінфекції, які дозволяють більш ефективно використовувати миючі та дезінфікуючі розчини.

Відновлення використаних миючих та дезінфікуючих розчинів. Це можна зробити за рахунок [67]:

- Фільтрації та очищення використаних розчинів від твердих частинок і інших домішок.
- Додавання спеціальних реагентів, які дозволяють відновити активність миючих та дезінфікуючих засобів.

Зменшення викидів у навколишнє середовище. Це можна зробити за рахунок [67]:

- Збору та утилізації використаних миючих та дезінфікуючих розчинів у спеціально відведених місцях.
- Використовування біологічних методів очищення використаних миючих та дезінфікуючих розчинів.

Зменшення викидів шкідливих речовин у відпрацьоване повітря. Це можна зробити за рахунок [67]:

- Використання більш ефективних технологій виробництва біодобрива, які дозволяють зменшити викиди шкідливих речовин.
- Встановлення систем очищення відпрацьованого повітря.

Використання відпрацьованого повітря для інших цілей. Це можна зробити за рахунок [67]:

- Використовування відпрацьованого повітря для опалення або охолодження приміщень.
- Використовування відпрацьованого повітря для вирощування рослин.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Українські добрива: основні гравці на ринку. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://kurkul.com/spetsproekty/571-ukrayinski-dobriva-osnovni-gravtsi-na-rinku>
2. Україна збільшила виробництво добрив цього року на 81%. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://latifundist.com/novosti/63364-ukrayina-zbilshila-virobnitstvo-dobriv-tsogorich-na-81>
3. Баталова, О. А., & Дружиніна, О. С. (2014). Місце України на світовому ринку мінеральних добрив. Ефективна економіка, (11).
4. Біологічні фосфатмобілізатори – ефективні добрива або рекламний хід. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://enzim-agro.com/agrodirectory/biologichni-fosfatmobilizatori-efektivni-dobriva-abo-reklamnij-hid/>
5. Патент RU(11) 2 327 737. Штамм бактерій *Bacillus megaterium*, мобілізуючий фосфор и кремний из объектов литосферы и устойчивый к полигексаметиленгуанидину / Вайшл О.Б., Ведерникова А.А. Бюл. №18. Опубл. 27.06.2006.
6. *Bacillus Megaterium* Або *B. Megaterium*. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <http://ua.fengchengroup.net/enzymes-and-bio-products/probiotics/bacillus-megaterium-or-b-megaterium.html>
7. Добриво Бактолайв Сид. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://ahc.in.ua/ua/p842304067-udobrenie-baktolajv-sid.html>
8. Бактеріальне біодобриво для обробки насіння Зернових при посіві. ПМК-У Природний універсальний комплекс. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://avsstandart.com/ua/p572947558-bakterialnoe-bioudobrenie-dlya.html>
9. Біотехнологія сільськогосподарських виробництв: лабораторний практикум [Електронний ресурс] : навчальний посібник для здобувачів ступеня бакалавра за освітньою програмою «Біотехнології» спеціальності 162 Біотехнології та біоінженерія / В. М. Ліновицька, В. Ю. Поліщук, Л. П. Дзигун, Л. О. Тітова, Т. С. Іванова ; КПІ ім. Ігоря Сікорського, 2022. – 51 с.

10. *B. Megaterium*. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://tgw1916.net/Bacillus/megaterium.html>
11. *Bacillus megaterium*. [Електронний ресурс]. Режим доступу: https://atlas.sund.ku.dk/microatlas/food/bacteria/Bacillus_megaterium/
12. DiCandia, M. A., Edwards, A. N., Jones, J. B., Swaim, G. L., Mills, B. D., & McBride, S. M. (2022). Identification of functional spo0A residues critical for sporulation in *Clostridioides difficile*. *Journal of molecular biology*, 434(13), 167641. <https://doi.org/10.1016%2Fj.jmb.2022.167641>
13. Біодобрива та стимулятори росту. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://agro.enzim.biz/biofertilizers.html>
14. Ринок фосфорних добрив: поточний аналіз і прогноз (2022-2028). [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://univdatos.com/uk/%D0%B4%D0%BE%D0%BF%D0%BE%D0%B2%D1%96%D0%B4%D1%8C/%D1%80%D0%B8%D0%BD%D0%BE%D0%BA-%D1%84%D0%BE%D1%81%D1%84%D0%BE%D1%80%D0%BD%D0%B8%D1%85-%D0%B4%D0%BE%D0%B1%D1%80%D0%B8%D0%B2/>
15. Фосфолайф. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://agroplant.com.ua/fosfolaiif>
16. Біодобриво ґрунту Граундфікс. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://td-everest.com.ua/ua/p771244714-biudobrenie-pochvy-graundfiks.html>
17. «Біо-Мінераліс» (інокулянт для сої + ME), ШК, Мікро-Мінераліс. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://prom-agro.com.ua/ua/p1797754891-bio-mineralis-inokulyant.html>
18. МІКОФРЕНД-с (MYCOFRIEND-с), біопрепарат, фасування 10г. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://zhvazemlia.com.ua/td0028875-m-kofrend-s-mycofriend-s-b-opreparat-fasuvannya-10g-ua>
19. Біопрепарат ФОСФОР Біонорма 1л-10л. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://sgrow.com.ua/ab/product/biopreparat-bionorma-fosfor-1l-10l/>
20. Біофосфорин. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://agro.pl.ua/product/biofosforin/>

21. Аграрії Київщини завершують збір урожаю: скільки намолотили збіжжя. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://suspilne.media/618025-agrarii-kiivsini-zaversuut-zbir-urozau-skilki-zibrali-zbizza/>
22. Glycolysis / Gluconeogenesis – *Bacillus megaterium* NBRC 15308 = ATCC 14581. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://www.kegg.jp/pathway/bmeg00010>
23. Апарати мікробіологічної промисловості [Текст] : навч. Посібник / І. П. Данилов, С. І Самійленко. – Харків : НТУ «ХПІ», 2008. – 272 с.
24. Биореактор 5000 л, одноразовые Биореакторы, клетки микробы, Мембранный Биореактор, презентация. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://russian.alibaba.com/product-detail/5000-L-Bioreactor-Disposable-Bioreactors-Cells-62355984412.html>
25. Остапчук М.В., Сердюк Л.В., Овсянникова Л.К. Система технологій. Підручник. – К.: Центр учбової літератури, 2007. – 368 с.
26. Миющий засіб знежирюющий esochem i.s.s.2008 [Електронний ресурс]. Режим доступу: https://egroup.com.ua/ua/p1390909795-moyuschee-sredstvo-obezhirivayuschee.html?source=merchant_center&gad_source=1&gclid=Cj0KCQiA2KitBhCIARIsAPPMehKQKsKot5sTTxbreiBLY6NQyRZk2j44cyiTH2i6obIbXg6kmwAvr1IaAmDZEALw_wcB
27. NVP PRO FORMULA EFIR LPR 2000. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://rozetka.com.ua/ua/401542071/p401542071/characteristics/>
28. OXIN L 101. [Електронний ресурс]. Режим доступу: https://prom.ua/ua/p1960978095-oxsin-101-ohin.html?utm_source=google_product&utm_medium=cpc&utm_content=pla&utm_campaign=KT_cpc_1&gad_source=4&gclid=Cj0KCQiA2KitBhCIARIsAPPMehIVGkW20l6oHoHEW6Maq4B2Qw-9THhr_Mn1EgsUT9P3AmnNK1wgdGUaAo8JEALw_wcB
29. У43 Бланідас. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://lysoform.shop/ru/product/blanidas-universalnyj-myyuchyj-zasib-dlya-vodostijkyh-poverhon-5l/>

30. Миючий засіб RM 806, 200 L. [Електронний ресурс]. Режим доступу: [https://ecowash.com.ua/ua/p1925461857-moyuschee-sredstvo-](https://ecowash.com.ua/ua/p1925461857-moyuschee-sredstvo-806.html?source=merchant_center&gclid=CjwKCAiA5L2tBhBTEiwAdSxJX_OuBtmeS7k0gtwRinzVYIwykGc5CzhpbnxOaSGI6CuB04Fo4BGCqhoC9BAQAvD_BwE)

[806.html?source=merchant_center&gclid=CjwKCAiA5L2tBhBTEiwAdSxJX_OuBtmeS7k0gtwRinzVYIwykGc5CzhpbnxOaSGI6CuB04Fo4BGCqhoC9BAQAvD_BwE](https://ecowash.com.ua/ua/p1925461857-moyuschee-sredstvo-806.html?source=merchant_center&gclid=CjwKCAiA5L2tBhBTEiwAdSxJX_OuBtmeS7k0gtwRinzVYIwykGc5CzhpbnxOaSGI6CuB04Fo4BGCqhoC9BAQAvD_BwE)

31. ПРОФІ 162 МИЙНИЙ ЗАСІБ ДЛЯ ВИДАЛЕННЯ МОЛОЧНОГО, ПИВНОГО, ВИННОГО КАМЕНЮ (КОНЦЕНТРАТ). [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://mebliranok.com.ua/product/profi-162-mijuchij-zasib-dlja-vidalennja-molochnogo-pivnogo-vinnogo-kamenju-koncentrat/>

32. Засіб для видалення вапна і післябудівних забруднень PULICOTO 10 л. [Електронний ресурс]. Режим доступу: [https://formula90.com.ua/ua/p1437435612-sredstvo-dlya-](https://formula90.com.ua/ua/p1437435612-sredstvo-dlya-udaleniya.html?source=merchant_center&utm_source=a5o5_adwords&utm_medium=pc&utm_campaign=cid_20938287512_search&utm_term=&gclid=CjwKCAiA5L2tBhBTEiwAdSxJX4ZcmoRCo2zp2gw7ELWg69M1ITSikYXCOTfbS4Z1Oiu58M3GmyFvIBoClkoQAvD_BwE)

[udaleniya.html?source=merchant_center&utm_source=a5o5_adwords&utm_medium=pc&utm_campaign=cid_20938287512_search&utm_term=&gclid=CjwKCAiA5L2tBhBTEiwAdSxJX4ZcmoRCo2zp2gw7ELWg69M1ITSikYXCOTfbS4Z1Oiu58M3GmyFvIBoClkoQAvD_BwE](https://formula90.com.ua/ua/p1437435612-sredstvo-dlya-udaleniya.html?source=merchant_center&utm_source=a5o5_adwords&utm_medium=pc&utm_campaign=cid_20938287512_search&utm_term=&gclid=CjwKCAiA5L2tBhBTEiwAdSxJX4ZcmoRCo2zp2gw7ELWg69M1ITSikYXCOTfbS4Z1Oiu58M3GmyFvIBoClkoQAvD_BwE)

33. Високолушний миючий засіб Водостек Універсал низькопінний 240 кг. [Електронний ресурс]. Режим доступу: [https://epicentrk.ua/ua/shop/mplc-visokoluzhnii-miyuchii-zasib-vodostek-universal-niz-kopinnii-240-kg-1ed03b5f-e864-6fe2-bf99-](https://epicentrk.ua/ua/shop/mplc-visokoluzhnii-miyuchii-zasib-vodostek-universal-niz-kopinnii-240-kg-1ed03b5f-e864-6fe2-bf99-f9745f9b8eab.html?gad_source=1&gclid=CjwKCAiA5L2tBhBTEiwAdSxJXw_WW4_KbQpcbUwGrlyHy0p_mjO1mHWMep_aZjm1Y2OxGpa-JoaFcBoC2e8QavD_BwE)

[f9745f9b8eab.html?gad_source=1&gclid=CjwKCAiA5L2tBhBTEiwAdSxJXw_WW4_KbQpcbUwGrlyHy0p_mjO1mHWMep_aZjm1Y2OxGpa-JoaFcBoC2e8QavD_BwE](https://epicentrk.ua/ua/shop/mplc-visokoluzhnii-miyuchii-zasib-vodostek-universal-niz-kopinnii-240-kg-1ed03b5f-e864-6fe2-bf99-f9745f9b8eab.html?gad_source=1&gclid=CjwKCAiA5L2tBhBTEiwAdSxJXw_WW4_KbQpcbUwGrlyHy0p_mjO1mHWMep_aZjm1Y2OxGpa-JoaFcBoC2e8QavD_BwE)

34. Средство для дезинфекции при производстве напитков Nerta. Chriox 5 (5л). [Електронний ресурс]. Режим доступу: [https://cordis.pp.ua/p1743368276-sredstvo-dlya-](https://cordis.pp.ua/p1743368276-sredstvo-dlya-dezinfektsii.html?source=merchant_center&gclid=CjwKCAiA5L2tBhBTEiwAdSxJX1Vw40BEDW-Bcgf6LekNDRtAsBbnlQjdX32JniZZnJKdwzR9s6KhLROcXJ4QavD_BwE)

[dezinfektsii.html?source=merchant_center&gclid=CjwKCAiA5L2tBhBTEiwAdSxJX1Vw40BEDW-](https://cordis.pp.ua/p1743368276-sredstvo-dlya-dezinfektsii.html?source=merchant_center&gclid=CjwKCAiA5L2tBhBTEiwAdSxJX1Vw40BEDW-Bcgf6LekNDRtAsBbnlQjdX32JniZZnJKdwzR9s6KhLROcXJ4QavD_BwE)

[Bcgf6LekNDRtAsBbnlQjdX32JniZZnJKdwzR9s6KhLROcXJ4QavD_BwE](https://cordis.pp.ua/p1743368276-sredstvo-dlya-dezinfektsii.html?source=merchant_center&gclid=CjwKCAiA5L2tBhBTEiwAdSxJX1Vw40BEDW-Bcgf6LekNDRtAsBbnlQjdX32JniZZnJKdwzR9s6KhLROcXJ4QavD_BwE)

35. ДЕЗИНФЕКЦІЯ. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://www.pharmencyclopedia.com.ua/article/9855/dezinfekciya>

36. Хлорантин Актив 1 кг, таблетки по 3.2 г. [Електронний ресурс]. Режим

доступу: <https://hlorka.in.ua/p1798536642-hlorantin-aktiv-tabletki.html>

37. Новохлор-Экстра. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://oazistd.com.ua/dezynfektsyia-poverkhnostei-y-ynstrumentov/novokhlor-ekstra-neokhlor/1806/>

38. ДЕЗхлор Экстра дезинфицирующее средство 1 кг (300 табл по 3,4 гр). [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://prom.ua/p1633607228-dezhlor-ekstra-dezinfitsiruyuschee.html>

39. Ласепт Макс. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://biosanimal.com.ua/uk/p/1459429630-lasept-maks-100-ml/>

40. ЭКОНОРМДЕЗ КЛАСИК. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://staleks.ua/product/universalnoe-sredstvo-dlya-dezinfektsii-ekonormdez-klassik-1000-ml.html>

41. Корзолекс экстра, 5л, (Korsolex extra,), 5л. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://newdental.com.ua/ua/p1006111471-korzoleks-ekstra-korsolex.html>

42. ДЕЗИНФЕКТАНТ БЛАНИДАС-А ОКСИ 35, 30Л. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://www.5sec-pro.com.ua/ru/blandas-a-oks-35-30l-35kg.html>

43. Охукварт – dezinfekčný prostriedok. [Электронный ресурс]. Режим доступа: https://eshop.banchem.sk/detailsklk.aspx?sklk_id=9A30000101

44. Serproxу. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://zetamed.com.ua/uk/home/47-serproxy-is-11.html>

45. Карманный фильтр для вентиляции (G4). [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://tehno-parts.com.ua/karmannyi-filtr-dlia-ventiliatsii-g4>

46. Компрессор Intertool PT-0003. [Электронный ресурс]. Режим доступа: https://rozetka.com.ua/ua/intertool_pt_0003/p267564/

47. Теплообменник WHE-2024-АС 220-130 л/мин. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://starsto.com.ua/ru/t3077-teploobmennik-whe-2024-ac-220-130-lmin>

48. Ресивер 500 л 10 бар для зберігання кисню з полімерним покриттям.

[Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://entech-ukraine.dp.ua/ua/p1536907959-resiver-500-bar.html>

49. Довговічні фільтри стисненого повітря AF. [Електронний ресурс]. Режим доступу: https://kms-market.com.ua/ua/p726193538-filtry-szhatogo-vozduha.html?source=merchant_center&utm_source=google&utm_medium=cpc&utm_term=&utm_content=g&google_ad=593783333947&utm_campaign=%D0%A2%D0%BE%D1%80%D0%B3%D0%BE%D0%B2%D0%B0%D1%8F%20%D0%9F%D0%BE%D0%B4%D0%B3%D0%BE%D1%82%D0%BE%D0%B2%D0%BA%D0%B0%20%D0%B2%D0%BE%D0%B7%D0%B4%D1%83%D1%85%D0%B0&gad_source=1&gclid=CjwKCAiA5L2tBhBTEiwAdSxJXyt8gpvVq1gttgyG3iBhJsE4m7DWr6CyKIbRI1fFOg4qTgGzfiIPjxoC1YQQAvD_BwE

50. Фільтр магістральний AF 0076 – OMEGA AIR. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://asfilter.com.ua/ua/catalog/filtry-szhatogo-vozdukh/filtr-magistralnyy-af-0076/>

51. 5 Liter Stainless Steel Bio Biological Reactor with Agitator. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://mosende.en.made-in-china.com/product/BwVfeTKrAicI/China-5-Liter-Stainless-Steel-Bio-Biological-Reactor-with-Agitator.html>

52. 50L Stainless Steel Bioreactor for Microbial Fermentation with 2 Gas Inlets BR500-M1. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://eshop.lab1st.com/products/50l-stainless-steel-bioreactor-for-microbial-fermentation-with-2-gas-inlets-br500-m1>

53. Дозатор ваговий напівавтоматичний «Норма-С». [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://simo.com.ua/ua/obladnannya/dozator-vesovoi-poluavtomaticheskii-norma-s>

54. 20L Stainless Steel Reactor Agitated Reactor Industrial Batch. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://linbel.en.made-in-china.com/product/jnqrEXRLIQct/China-20L-Stainless-Steel-Reactor-Agitated-Reactor-Industrial-Batch.html>

55. Дозатор води та рідин. [Електронний ресурс]. Режим доступу:

<https://prom.ua/ua/p370228267-dozator-vody-zhidkostej.html?srsId=AfmBOoqJ97V0YhjkXjFRfIycGAwDY2EvqtEqLZkz0DRSRo9scJ3ZDY2qjOQ>

56. Насос НД 100/100 дозування плунжерний. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://nasos-2005.com/ua/p592353271-nasos-100100-dozirovochnyj.html>

57. Линия по производству дрожжей, химическая инженерия, биореактор, ферментор из нержавеющей стали 500L. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://russian.alibaba.com/product-detail/Yeast-10000013805252.html>

58. 300L 500L Jacketed Sanitary Grade Stainless Steel Reactor. [Електронний ресурс]. Режим доступу: https://valuenlab.com/product/300l500ljacketed_stainless_steel_reactor

59. Мембранні насоси з моторним приводом серії «ST-D». [Електронний ресурс]. Режим доступу: https://www.etatron.com.ua/pumps/membrane_pumps/std/

60. Design Top Quality 316 Stainless Steel Stirred Bioreactor Fed Batch Bioreactor 2000L/5000L. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://shbxbio.en.made-in-china.com/product/iZdtqRjJwFcN/China-Design-Top-Quality-316-Stainless-Steel-Stirred-Bioreactor-Fed-Batch-Bioreactor-2000L-5000L.html>

61. Відцентровий насос з магнітною муфтою CM MAG-P6 PP 6,5 м³/год; напір 8,5 м, 0,25кВт. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://bts.net.ua/ua/pumping-equipment-distillery/chemical-pumps/v-dcentroviy-nasos-z-magn-tnoyu-muftoyu-cm-mag-p6-pp-6-5-m3-god-108-l-khv-nap-r-8-5-m/>

62. Методи контролю біотехнологічних, фармацевтичних і харчових виробництв [Електронний ресурс]: лаб. Практикум для студ. Напрямку підготовки 6.051401 «Біотехнологія» ден. Та заоч. Форм навч./уклад. О.С.Волошина – К.: НУХТ, 2014. – 89 с.

63. *B. megaterium* Bacteria Cultures. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://www.carolina.com/bacteria/bacillus-megaterium-living-tube/154900.pr>

64. Линник І. Е. Санітарна очистка міської забудови : конспект лекцій для

студентів усіх форм навчання галузі знань 19 – Архітектура та будівництво, спеціальності 192 – Будівництво та цивільна інженерія, освітньої програми «Міське будівництво та господарство» / І. Е. Линник ; Харків. Нац. Ун-т міськ. Госп-ва ім. О. М. Бекетова. – Харків : ХНУМГ ім. О. М. Бекетова, 2019. – 27 с.

65. Очищення стічних вод в Україні. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://utech418.com/ochistka-stochnyih-vod/>

66. Біотехнологічне очищення газових викидів. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://dspace.nuft.edu.ua/server/api/core/bitstreams/76e7067f-9ea5-4fc7-899c-4afd6572a1d3/content>

67. Управління та поводження з відходами. Частина 2. Тверді побутові відходи : навчальний посібник / Петрук В. Г., Васильківський І. В., Кватернюк С. М. та ін. – Вінниця : ВНТУ, 2015. – 100 с.

Додаток 1

Літературне джерело №5

Штамм *Bacillus megaterium* var. *phosphaticum* P1-04 ВКМ В-2357Д характеризується наступними культурально-морфологічними та фізіолого-біохімічними ознаками.

Культурально-морфологічні ознаки

Родословна штамма: група грампозитивних паличок і кокків, що утворюють ендоспори; Род *Bacillus*; вид *Bacillus megaterium*.

Клітки штамма - прямі палички з закругленими кінцями. Розполагаються самотньо або в парах, іноді утворюють ланцюжки. Розмер кліток: 0,5-1,5 мкм. При фарбуванні по Граму (кристалічним фіолетовим і наступною обробкою розчином Люголя, спиртом і фуксином) отримана позитивна реакція.

Спороутворення: утворюють сферичні ендоспори. Тип ділення: простий.

Подвижність: клітки подвижні. Пігментація колоній/ біомаси.

На м'ясопептонному агарі (МПА) клітки штамма утворюють колонії грязно-білого кольору. Не виділяють пігменти в поживне середовище.

М'ясопептонний агар (31°C, 48 год) утворює різко окантовані колонії грязно-білого кольору. Старі колонії жовтіють.

Фізіолого-біохімічні ознаки

Аероб.

Оптимальна температура росту +31°C

Оптимальне рН 7,0

Утворює кислоту з глюкози

Каталазопозитивний.

Мобілізує фосфор ортофосфатів кальцію зі швидкістю 5,1 мг/л.

Хорошо зберігається в скляних пробірках на скошеному агаризованому середовищі (на МПА з додаванням $MnSO_4$ - 10 мг/л) при температурі +4°C.

Питательна середовище для розведення та підрахунку бактерій мала наступний склад: NH_4Cl - 0,2 г; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ - 0,1 г; $NaCl$ - 0,2 г; $MnSO_4$ - сліди; $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ - сліди; глюкоза - 20 г; рН - 7,0; вода дистильована - 1000 мл.

Стерилізацію фосфоритної породи, подрібненої до розміру 0,2 мм, здійснювали в експериментальних колбах в жарочному шафу при температурі 130°C щодня по 20 хвилин протягом трьох днів. Решта необхідних матеріалів, а також поживні середовища стерилізували в автоклаві при температурі 120°C протягом 30 хвилин. Розчин глюкози стерилізували при 100°C по 10 хвилин щодня протягом трьох днів.

Підрахунок бактерій в експериментальних розчинах здійснювали в кінці кожного тимчасового відрізка методом 10-кратних розведень з наступним висівом на агаризовану середовище відповідного складу, але не містять фосфорних сполучень як в рідинній, так і в твердій формах [6].

Всі перевірені культури були чистими, колонії однорідні. Візуально виглядала як непрозора суспензія піщаного кольору. Бактерії *Bacillus megaterium* var. *phosphaticum* утворюють випуклі колонії: дрібні, з рівними краями, круглі, матові, гладкі, без слизи, непрозорі, жовтувато-білі. Загальний титр - $1,8 \times 10^9$ /мл. Результати по вивченню мобілізації фосфору та кремнію бактеріями *Bacillus megaterium* var. *phosphaticum*, штамм P1-04 представлені в таблиці 1. Вищелачивання (мобілізація) кремнію (SiO_2) та фосфору (PO_4)² з фосфоритної руди з участю бактерій

Додаток 2

Літературне джерело №22



Glycolysis / Gluconeogenesis - *Bacillus megaterium* NBRC 15308 = ATCC 14581

[Pathway menu | Organism menu | Pathway entry | Show description | Download | Help]

Change pathway type

