

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ

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

«До захисту в ЕК»
Директор інституту(декан факультету)
Наталія ГРЕГІРЧАК
(підпис) (ім'я та прізвище)

«До захисту допущено»
Завідувач кафедри
Віктор СТАБНІКОВ
(підпис) (ім'я та прізвище)

«__» _____ 20__ р.

«__» _____ 20__ 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 *Saccharomyces cerevisiae* з метою одержання ергостерину

Виконав: здобувач 5 курсу, групи 1

РОМАШКАН Тетяна Валеріївна
(прізвище, ім'я, по батькові повністю) (підпис)

Керівник РЕЗНІЧЕНКО Юрій Миколайович
(прізвище, ім'я та по батькові повністю) (підпис)

Консультанти _____
(ім'я та прізвище) (підпис)

(ім'я та прізвище) (підпис)

(ім'я та прізвище) (підпис)

Рецензент НИЧИК Оксана
(ім'я та прізвище) (підпис)

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 – 2025 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 СТАБНІКОВ
“ 01 ” листопада 2024 року

ЗАВДАННЯ

НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ ЗДОБУВАЧА

РОМАШКАН Тетяни Валеріївни

(прізвище, ім'я, по батькові)

1. Тема роботи Культивування *Saccharomyces cerevisiae* з метою одержання ергостерину

керівник роботи РЕЗНІЧЕНКО Юрій Миколайович, доц.

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

затверджені наказом закладу вищої освіти від 05 листопада 2024 року № 932-к

2. Строк подання здобувачем роботи 07.02.2025 р.

3. Вихідні дані до роботи біологічний агент: *Saccharomyces cerevisiae*, цільовий продукт: ергостерин, об'єм ферментера 1,0 м³, коефіцієнт заповнення 0,65

4. Зміст пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно розробити) Характеристика ергостерину. Обґрунтування вибору та характеристика біологічного агента. Техніко-економічне обґрунтування ергостерину. Обґрунтування вибору технологічної схеми виробництва ергостерину. Специфікація обладнання виробництва ергостерину. Опис технологічної схеми виробництва ергостерину. Контроль виробництва ергостерину. Охорона довкілля

5. Перелік графічного матеріалу

Технологічна схема виробництва ергостерину – 1 аркуш формату А1, 1 аркуш формату А2 та апаратурна схема виробництва ергостерину – 1 аркуш формату А1.

6. Консультанти розділів роботи

Розділ	Прізвище, ініціали та посада консультанта	Підпис, дата	
		завдання ви- дав	завдання прийняв

7. Дата видачі завдання 01 листопада 2024 року

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№	Назва етапів виконання кваліфікаційної роботи	Строк виконання етапів роботи	Примітка
1	Характеристика ергостерину	10.11.2024- 20.11.2024	
2	Обґрунтування вибору та характеристика біологічного агента	10.11.2024- 20.11.2024	
3	Техніко-економічне обґрунтування ергостерину	10.11.2024- 20.11.2024	
4	Обґрунтування вибору технологічної схеми виробництва ергостерину	20.11.2024- 30.11.2024	
5	Біосинтез цільового продукту	20.11.2024- 30.11.2024	
6	Специфікація обладнання виробництва ергостерину	30.11.2024- 10.12.2024	
7	Опис технологічної схеми біосинтезу ергостерину	11.12.2024- 20.12.2024	
8	Контроль виробництва ергостерину	21.12.2024- 05.01.2025	
9	Охорона довкілля	06.01.2025- 20.01.2025	
10	Оформлення пояснювальної записки	21.01.2025- 07.02.2025	
11	Виконання графічної частини проекту	21.01.2025- 07.02.2025	

Здобувач _____
(підпис)

Керівник роботи _____
(підпис)

Тетяна РОМАШКАН _____
(ім'я та прізвище)

Юрій РЕЗНІЧЕНКО _____
(ім'я та прізвище)

РЕФЕРАТ

Кваліфікаційна робота присвячена розробці технологічної та апаратурної схем біосинтезу ергостерину штамом *Saccharomyces cerevisiae* S1, який синтезує 2986,0 мг/л ергостерину. Ергостерин необхідний для виробництва ергокальциферолу з метою забезпечення ринку лікарським засобом для лікування і профілактики рахіту у дітей перших років народження.

Розрахована потужність біотехнологічного виробництва складає 11,85 кг ергокальциферолу на рік. Технологічний процес біосинтезу ергостеролу включає допоміжні роботи (підготовка стерильного аераційного повітря, підготовку титрувальних розчинів HCl та NaOH, приготування і стерилізація розчину підживлення глюкози, а також приготування та стерилізацію поживних середовищ), а також безпосередньо технологічний процес (три стадії вирощування посівного матеріалу (у колбах на качалках, в інокуляторах об'ємом 10 л і 100 л) та біосинтез у ферментері об'ємом 1,0 м³ із коефіцієнтом заповнення 0,65).

Кваліфікаційна робота складається зі вступу, дев'яти розділів, списку використаної літератури (58 найменувань), технологічної (формат A1) та апаратурної (формат A1) схем. Загальний обсяг роботи – 89 сторінок, 14 таблиць і 10 рисунків.

Ключові слова: ергостерин, вітамін D, ергокальциферол, лікарський засіб, *Saccharomyces cerevisiae*, рахіт, технологічна схема, апаратурна схема.

ABSTRACT

The qualification work is devoted to the development of technological scheme and manufacturing flow chart for the biosynthesis of ergosterol by the *Saccharomyces cerevisiae* S1 strain, which synthesizes 2986.0 mg/l of ergosterol. Ergosterol is necessary for the ergocalciferol production in order to provide the market with a drug for the treatment and preventing rickets in children of the first years of life.

The estimated capacity of biotechnological production is 11.85 kg of ergocalciferol per year. Ergosterol biosynthesis consists of preparation of sterile aeration air, preparation of HCl solution and sterile NaOH solution for pH control, preparation of sterile glucose solution, as well as preparation and sterilization of seed and fermentation media), and a technological process (three stages of growing seed material (for flask culture, 10 L and 100 L inoculators) and fermentation in a 1.0 m³ fermenter with a filling factor of 0.65.

The qualification work consists of an introduction, nine sections, references (58 items), technological scheme (A1 format) and manufacturing flow chart (A1 format). The total volume of the work is 89 pages, 14 tables and 10 figures.

Keywords: ergosterol, vitamin D, ergocalciferol, medicine, *Saccharomyces cerevisiae*, rickets, technological scheme, manufacturing flow chart.

ЗМІСТ

РЕФЕРАТ	4
ABSTRACT	5
ЗМІСТ	6
ВСТУП	8
РОЗДІЛ 1. ХАРАКТЕРИСТИКА ЕРГОСТЕИНУ	9
1.1 Хімічні властивості	9
1.2. Біосинтез жиророзчинного вітаміну	10
1.3. Медичне застосування вітаміну D.....	11
РОЗДІЛ 2. ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТА ХАРАКТЕРИСТИКА БІОЛОГІЧНОГО АГЕНТА.....	14
2.1. Обґрунтування вибору біологічного агента та поживного середовища для його культивування.....	14
2.2. Розрахунок складу поживного середовища	18
2.3. Морфолого-культуральні та фізіолого-біохімічні ознаки біологічного агента	20
2.4. Таксономічний статус біологічного агента	21
РОЗДІЛ 3. ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ.....	22
3.1. Потреба у цільовому продукті	22
1.2. Обрахунок загальної потужності виробництва ергостерину	24
1.3. Розрахунок загальної кількості циклів проєктованого виробництва ергостерину та об'єму виробничого ферментера	24
1.4. Розрахунок кількості необхідних етапів для підготовки посівного матеріалу	25
РОЗДІЛ 4. БІОСИНТЕЗ ЦІЛЬОВОГО ПРОДУКТУ	29
РОЗДІЛ 5. ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ	33
5.1. Обґрунтування способу культивування і типу ферментера.....	33
5.2. Обґрунтування вибору стадії підготовки аераційного повітря	34
5.3 Вибір мийних та дезінфікуючих засобів	35
5.4 Особливості підготовки та стерилізації поживного середовища.....	43
5.4.1. Підготовка і стерилізація поживного середовища для вирощування інокуляту в колбах на качалці.....	45

5.4.3. Особливості підготовки і стерилізації поживного середовища для виробничого біосинтезу.....	47
5.4.4 Обґрунтування вибору розчинів для регуляції рН	48
РОЗДІЛ 6. СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ	50
РОЗДІЛ 7. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ.	53
РОЗДІЛ 8. КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА	63
8.1. Мікробіологічний контроль	63
8.2. Показники росту і синтезу цільового продукту	65
8.2.1. Визначення концентрації біомаси дріжджів	65
8.2.2. Визначення ергостеролу	65
8.2.3. Визначення концентрації джерела вуглецю	66
(глюкози) у середовищі	66
8.2.4. Визначення концентрації джерела азоту (NH ₄) ₂ SO ₄) у поживному середовищі	66
РОЗДІЛ 9 ОХОРОНА ДОВКІЛЛЯ.....	73
9.1. Аналіз технологічної схеми виробництва ергостерину на місця емісії твердих, рідких та газоподібних відходів.....	73
9.2. Перспективи впровадження системи екологізації виробництва ергостерину	75
9.2.1. Система знешкодження та утилізації рідких відходів.	75
9.2.2. Система знешкодження та утилізації твердих відходів	77
9.2.3. Система знешкодження газоповітряних викидів.....	78
Перелік літератури:	81
ДОДАТКИ.....	87

ВСТУП

Ергостерин (синонім, ергостерол) – ненасичений циклічний одноатомний спирт, білий або безбарвний яскравий часточковий кристал у вигляді білого кристалічного порошку. У організмі людини є попередником синтезу вітаміну D [1-4].

Дефіцит вітаміну D у організмі людей є досить поширеним захворюванням у світі, що за статистикою спостерігається у близько 1 млрд. осіб. Вітамін D регулює концентрації кальцію та фосфору в крові, зміцнює здоров'я імунної та нервової систем та захищає кровоносні судини, а також допомагає у регуляції репродуктивних процесів. Згідно із рекомендаціями лікарів, дорослі мають щоденно отримувати близько 1500-2000 МО вітаміну D, а діти на 2-му – 6-му і 10-му місяці життя по 1400 МО протягом 30 днів, із підвищенням дози до 180000 МО /рік до досягнення трирічного віку. Такі високі дози вітаміну D для дітей обумовлені тим, що діти швидко ростуть і нестача необхідної кількості вітаміну D може призвести до виникнення рахіту. Це захворювання дуже поширене серед дітей перших років життя, коли процес формування кісткової тканини й зубів може відбуватися із порушеннями за рахунок нестачі мінералізації кісток [5, 6, 7].

Таким чином, є критична необхідність у забезпеченні населення доступним і дешевим ергостерином (отриманим біотехнологічним шляхом), щоб позбутися залежності від імпортової сировини, а також для виробництва лікарських засобів для лікування і профілактики дефіциту вітаміну D у дітей і дорослих з метою формування фізично і ментально здорової нації [5, 6].

Новизною кваліфікаційної роботи є використання вископродуктивного штаму *Saccharomyces cerevisiae* S1, що володіє здатністю синтезувати до 2986,0 мг/л ергостерину, за культивування на економічно вигідному простому поживному середовищі, що складається із глюкози та мінеральних солей [8]

					НУХТ БТЕК 05.01.17 КР ПЗ			
<i>Змн.</i>	<i>Лист</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>		<i>Лім.</i>	<i>Арк.</i>	<i>Акрушів</i>
<i>Розроб.</i>		<i>Ромашкан Т. В.</i>					8	88
<i>Консульт.</i>					ВСТУП	Кафедра БТМ		
<i>Керівник</i>		<i>Резніченко Ю.М.</i>						
<i>Н. Контр.</i>								
<i>Зав. каф.</i>		<i>Стабніков В.П.</i>						

РОЗДІЛ 1. ХАРАКТЕРИСТИКА ЕРГОСТЕИНУ

1.1 Хімічні властивості

Ергостерин (ергостерол) – ненасичений циклічний одноатомний спирт, що являє собою білий або безбарвний яскравий часточковий кристал або білий кристалічний порошок. Ця сполука містить три подвійні зв'язки та β -гідроксигрупи в положеннях 5, 7 і 22 з кільцевим ядром 1,2-циклопентанопергідрофенантрону (рис. 1.1), завдяки чому вона поводить себе як амфіпатичний ліпід. Ергостерин існує у вільній і етерифікованій формах. Під дією ультрафіолетового світла (280–320 нм) він піддається фотолізу. Під час фотолізу він перетворюється на превітамін D₂ (преергокальциферол) з подальшим термічним перетворенням на вітамін D₂ (ергокальциферол), який необхідний для харчування людини.

Розчинний в етанолі, ефірі, бензолі та хлороформі, нерозчинний у воді. Ергостерин розчиняють у таких розчинниках, як хлороформ, ефір або циклогексан. Структурна формула – C₂₈H₄₄O (рис. 1.2). Молярна маса – 396,65 г/моль. Температура плавлення 160 °С, а температура кипіння 250 °С. Добре поглинає УФ випромінювання в діапазоні 264 нм [2, 3]. Вперше був виділений у 1932 році Адольфом Віндаусом, який показав, що істинним вітаміном D є не ергостерин, а продукт його метаболізму, що утворюється під дією УФ-опромінення.



Рис. 1.1. Трансформація ергостерину у вітамін D₂

					НУХТ БТЕК 05.01.17 КР ПЗ			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Ромашкан Т. В.			РОЗДІЛ 1. ХАРАКТЕРИСТИКА ЕРГОСТЕИНУ	Літ.	Арк.	Акрушів
Консульт.							9	89
Керівник		Резніченко Ю.М.				Кафедра БТМ		
Н. Контр.								
Зав. каф.		Стабніков В.П.						

Ергостерин важливий фармацевтичний засіб, що є попередником для виробництва жиророзчинного вітаміну D₂ (рис. 1.1), використовується для виробництва стеринних препаратів (таких як кортизон, брасинолід і прогестерон) та кормових препаратів, збагачених вітаміном D₂. Останніми роками було виявлено потенційне застосування у розробці протипухлинних препаратів і препаратів проти ВІЛ [3, 4].

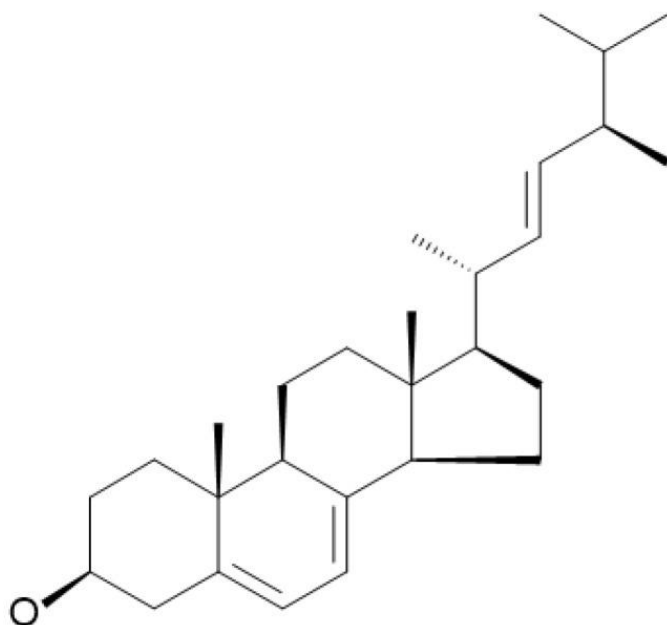


Рис. 1.2. Структурна формула ергостерину

1.2. Біосинтез жиророзчинного вітаміну

Через складну структуру ергостерину його хімічний синтез досить складний і енерговитратний. Тому, ергостерин в основному синтезується шляхом мікробної ферментації. У літературі описано біосинтез дріжджами роду *Candida* та *Saccharomyces*, грибами родів *Penicillium* [3-6].

Ергостерин є основним стеролом у клітинах грибів і близько пов'язані з властивостями мембрани, такими як цілісність, текучість, проникність і активність мембранозв'язаних білків. Ергостерол, як важливий компонент клітинної мембрани грибів, має стабільну структуру та сильну специфічність. Для визначення біомаси він є більш репрезентативним, ніж глюкозамін, тому біомасу грибів можна виміряти шляхом визначення вмісту ергостеролу [4].

Для отримання кристалічного ергостерину дріжджі чи грибний міцелій піддають кислотному гідролізу, після чого екстрагують спиртом, фільтрують, фільтрат випарюють і декілька разів промивають. Спиртовий екстракт згущують до 50%-ї концентрації сухих речовин. Кристали очищають перекристалізацією, сушать у ефірі. Кристалічний осад розчиняють у олії.

На сьогоднішній день, дріжджове бродіння стало найбільш привабливим способом виробництва ергостерину. *Saccharomyces cerevisiae* є перспективним продуцентом через його загальноновизнаний статус безпечного мікроорганізму (GRAS), промислової надійності та простоти генетичних маніпуляцій [4].

Шлях біосинтезу ергостеролу в *S. cerevisiae* досить складний із залученням майже 30 ферментів, і його можна розділити на два модулі: модуль біосинтезу сквалену (охоплює шлях MVA) і модуль біосинтезу після сквалену. Через цитотоксичність накопичення надмірної кількості ергостеролу, шлях біосинтезу ергостеролу і, відповідно, внутрішньоклітинний вміст ергостеролу суворо регулюється. Біосинтез ергостеролу в основному контролюється регуляцією зворотного зв'язку на транскрипційному, трансляційному та посттрансляційному рівнях [4, 5, 7].

На додаток до регуляції біосинтетичного шляху, етерифікація ергостеролу є ще одним регуляторним механізмом. Ергостерол і деякі з попередників стероїдів можуть зберігатися у вигляді стеринових ефірів (SE) у краплях ліпідів, які служать пулом стеролів для підтримки балансу внутрішньоклітинних стеролів [4, 5].

1.3. Медичне застосування вітаміну D

Промисловий випуск вітаміну D₂ реалізовано у вигляді орального олійного розчину, від світло-жовтого до темно-жовтого кольору, без прогірклого смаку. В організмі людини вітамін D₂ необхідний для профілактики і лікування гіповітамінозу D, рахіту, а також при захворюваннях кісток, зумовлених порушенням обміну кальцієм (різні форми остеопорозу, остеомалаяція), при порушеннях функцій паращитовидних залоз (тетанія), туберкульозу шкі-

ри та кісток, псоріазі, системному красному вовчаку (СКВ) шкіри і слизових оболонок [8].

Перорально прийнятий вітамін D₂ всмоктується в кров у тонкому кишечнику, особливо добре – у його проксимальному відділі. З кров'ю вітамін надходить до клітин печінки, де він з участю 25-гідроксилази гідроксильовується з утворенням його транспортної форми, яка доставляється кров'ю у мітохондрії нирок. У нирках проходить його подальше гідроксильовання за допомогою 1 α-гідроксилази, внаслідок чого утворюється гормональна форма вітаміну. Уже ця форма вітаміну D транспортується кров'ю у тканини-мішені, наприклад – у слизову оболонку кишечнику, де вона ініціює абсорбцію Ca²⁺. Дія вітаміну D₂ посилюється при одночасному надходженні сполук кальцію і фосфору [8].

Ергостерол також може полегшити діабетичну нефропатію шляхом пригнічення проліферації мезангіальних клітин і накопичення позаклітинного матриксу (ЕСМ). Нефропатія є найбільш частим і важким ускладненням цукрового діабету. Вона характеризується незворотним пошкодженням функції нирок внаслідок окислювального стресу, спричиненого гіперглікемією, що спричиняє інтерстиціальний фіброз нирок.

Проте, терапевтичне застосування ергостеролу може бути обмеженим через погану розчинність у воді та низьку біодоступність при пероральному прийомі. Дослідження [9] демонструє можливість підвищення рівня розчинності, а також збільшення біодоступності ергостеролу під час перорального введення за рахунок наноструктурних ліпідних носіїв.

Ергостерол демонструє антиоксидантні властивості, які сприяють стійкості дріжджів до вільних радикалів, спричинених трет-бутилгідропероксидом. Ергостерол реагує з перекисом водню (H₂O₂), тим самим пригнічуючи перекисне окислення ліпідів і знижуючи рівень внутрішньоклітинних активних форм кисню (АФК) [9]. Добре відомо, що дисбаланс між утворенням і видаленням вільних радикалів призводить до підвищення рівня АФК (супероксид (O²⁻), гідроксил (ОН)) і активних форм азоту (АФА:

оксид азоту (NO) і діоксид азоту (NO²⁻)), які відіграють вирішальну роль в окислювальному стресі, а отже, в процесі старіння [10].

Надмірний окислювальний стрес призводить до пошкодження макромолекул, включаючи ДНК, клітинні мембрани та білки, що призводить до розвитку різних захворювань, таких як рак, атеросклероз, захворювання нирок, діабет і нейродегенеративні захворювання [10]. Дослідження [11] демонструє, що екстракт гриба *Auricularia polytricha*, багатий ергостеролом, продемонстрував антиоксидантний захист від нейротоксичності, спричиненої окислювальним стресом, шляхом посилення експресії мРНК кількох антиоксидантних ферментів.

Збільшення кількості нових мікробних інфекцій та еволюція штамів, стійких до антибіотиків, примушують вчених розробити нові біоактивні сполуки з природних ресурсів як альтернативи для лікування інфекційних захворювань [12]. Ергостерол і пероксид ергостеролу виявляють широкий спектр антимікробної активності [13]. Наприклад, ріст *Helicobacter pylori* пригнічується ергостеролом; мінімальні інгібіторні концентрації становлять 10–20 мкг/мл [14], що свідчить про те, що ергостерол має потенціал для ефективного лікування гастриту. Ергостерол також виявляє протигрибкову активність проти *Aspergillus flavus*, *Penicillium digitatum* і *Fusarium verticilloides* [13].

Інфекція *Trypanosoma cruzi* є однією з причин високої захворюваності на хворобу Шагаса, яка є небезпечною для життя хворобою. Ергостерол викликає швидку пермеабілізацію плазматичної мембрани та мітохондріальної проникності внаслідок змін у складі мембрани, що призводить до руйнування та загибелі трипомастигот. Інші дослідження також показали, що антибактеріальна дія ергостеролу опосередковується порушенням ланцюга транспортування електронів і окисного фосфорилування через дезорганізацію текучості мембрани, що призводить до підвищення проникності мембрани [15].

Отже, як видно із зазначеної вище інформації, ергостерол є доволі перспективним цільовим продуктом, що знайшов і продовжує знаходити застосування для лікування та терапії різних типів захворювань.

РОЗДІЛ 2. ОБГРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТА ХАРАКТЕРИСТИКА БІОЛОГІЧНОГО АГЕНТА

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

Як свідчать літературні дані [4, 6, 17], найбільш відомими продуцентами ергостерину є гриби родів *Aspergillus* і *Penicillium*, а також дріжджі роду *Saccharomyces*. В останніх біосинтез регулюється комплексом з 30 ферментів, що умовно можна розділити на 2 модулі: біосинтез сквалену та біосинтез постсквалену. Ергостерол і деякі попередники стероїдів зберігаються у вигляді стеринових ефірів у краплях ліпідів, які служать пулом для підтримки балансу внутрішньоклітинних стеролів у продуцента. Таким чином, стратегія підвищення виходу цільового продукту полягає у отриманні модифікованих штамів, що дозволяють інтенсифікувати синтез сквалену шляхом надмірної експресії стерол-ацилтрансферази та / або посилення біосинтезу жирних кислот та триацилгліцерину, що в свою чергу збільшує ємність клітин для зберігання і накопичення стеролів.

Аналіз продуцентів ергостерину та умов культивування різних продуцентів приведено у табл. 2.1. Найбільшу кількість ергостерину 2986,0 мг/л синтезує *Saccharomyce cerevisiae* S1 протягом 72 год культивування [4]. 246,2 мг/л виробляє *S. cerevisiae* УЕН-59 за 30 год вирощування [5]. 1707,0 мг/л синтезує *S. cerevisiae* GE-2 за 45 год культивування [18].

Наступним етапом є співставлення розрахованої вартості поживних середовищ для культивування продуцентів (табл. 2.2).

Найбільш дешевим є середовище для культивування *S. cerevisiae* S1 – 7,27 грн. Ціна поживного середовища для культивування *S. cerevisiae* УЕН-59 склала 46,6 грн, а для *S. cerevisiae* GE-2– 41,42 грн.

					НУХТ БТЕК 05.01.17 КР ПЗ			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Ромашкан Т. В.			РОЗДІЛ 2. ОБГРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТА ХАРАКТЕРИСТИКА БІОЛОГІЧНОГО АГЕНТА	Літ.	Арк.	Акрушів
Консульт.							14	149
Керівник		Резніченко Ю.М.				Кафедра БТМ		
Н. Контр.								
Зав. каф.		Стабніков В.П.						

Таблиця 2.1

Особливості біосинтезу ергостерину різними продуцентами

Біологічний агент	Склад поживного середовища:		Тривалість культивування, год	Концентрація ергостерину, мг/л	Особливості біосинтезу	Література
	компонент	вміст, г/л				
1	2	3	4	5	6	7
<i>S. cerevisiae</i> S1	Глюкоза (NH ₄) ₂ SO ₄ KH ₂ PO ₄ MgSO ₄ ·7H ₂ O ZnSO ₄ ·7H ₂ O	101,00 10,00 8,00 3,00 0,72	72	2986,0	t°=30°C, n = 300-1000 об/хв, pH = 5.0	Sun Z.-J., Lian J.-Z., Zhu L., Jiang Y.-Q., Li G.-S., Xue H.-L., Wu M.-B., L Yang.-R., Lin J.-P. Combined Biosynthetic Pathway Engineering and Storage Pool Expansion for High-Level Production of Ergosterol in Industrial <i>Saccharomyces cerevisiae</i> . <i>Front Bioeng Biotechnol.</i> 2021, 9:681666. doi: 10.3389/fbioe.2021.681666.
<i>S. cerevisiae</i> GE-2	меяса ортофосфорна кислота сечовина	370,00 1,68 6,00	45	1707,0	t°=30°C, n = 4000 об/хв, pH = 5.4	He X., Guo X., Liu N., Zhang B. Ergosterol production from molasses by genetically modified <i>Saccharomyces cerevisiae</i> . <i>Appl Microbiol Biotechnol</i> , 2007, 75(1):55-60. doi: 10.1007/s00253-006-0807-6.

Продовження табл. 2.1

<p><i>S. cerevisiae</i> УЕН-59</p>	<p>Глюкоза Пептон Дріжд. екстракт</p>	<p>100,00 10,00 10,00</p>	<p>30</p>	<p>246,0</p>	<p>pH = 6,0, t° = 28° C, n = 200 об/хв</p>	<p>He X., Huai W., Tie C., Liu Y., Zhang B. Breeding of high ergosterol-producing yeast strains. <i>Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology</i>, 2000, 25(1):39–44, https://doi.org/10.1038/sj.jim.7000004</p>
--	---	-----------------------------------	-----------	--------------	--	--

**Вартість поживних середовищ для вирощування продуцентів
ергостерину**

Продуцент	Складова поживного середовища	Вміст у складі ПС, г/л	Ціна складової, грн/кг	Вартість складової (грн) на 1 л ПС	Джерело інформації (1, 2, 3)*
<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>	<i>6</i>
<i>S. cerevisiae</i> S1	Глюкоза	101,00	42,00	4,2	<u>1</u>
	(NH ₄) ₂ SO ₄	10,00	60,00	0,6	<u>1</u>
	KH ₂ PO ₄	8,00	180,00	1,44	<u>1</u>
	MgSO ₄ ·7H ₂ O	3,00	324,00	0,972	<u>2</u>
	ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0,72	80,00	0,0576	<u>1</u>
Вартість 1 л середовища – 7,27 грн					
<i>S. cerevisiae</i> GE-2	меляса	370,00	107,00	39,59	<u>1</u>
	ортофосфорна кислота	1,68	340,00	0,57	<u>1</u>
	сечовина	6,00	210,00	1,26	<u>1</u>
Вартість 1 л середовища – 41,42 грн					
<i>S. cerevisiae</i> YEH-59	Глюкоза	100,00	42,00	4,2	<u>1</u>
	Пептон	10,00	1600,00	16,20	<u>1</u>
	Дріждж. екстракт	10,00	2620,00	26,2	<u>3</u>
Вартість 1 л середовища – 46,6 грн					

Примітка. * – Ціни наведено станом на квітень 2024 р. 1 – <https://www.prom.ua/>, 2 – <https://fresh.co.ua/>, 3 – <https://agar.com.ua/index.php?route=common/home>

На заключному етапі вибору найефективнішого штаму-продуценту ергостерину є розрахунок умовної вартості 1 г одержаного продукту (див. табл. 2.3). Згідно отриманих даних, найменша умовна вартість ергостерину – 2,43 грн/г вийшла для *S. cerevisiae* S1, а найбільш висока – 189,43 грн/г – для *S. cerevisiae* YEH-59. Отже, підсумовуючи отриманні табличні дані, для біосинтезу ергостерину як біологічний агент обираємо *Saccharomyces cerevisiae* S1.

Умовна вартість 1 г ергостерину, синтезованого при рості на середовищах різного складу

Продуцент	Концентрація ергостерину, г/л	Тривалість культивування, год	Кількість одержаного ергостерину за годину, г/год	Вартість 1 л середовища, грн/л	Умовна вартість 1 г ергостерину, грн/г
<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>	<i>6</i>
<i>S. cerevisiae SI</i>	2,986	72	0,041	7,27	2,43
<i>S. cerevisiae GE-2</i>	1,707	45	0,038	41,42	24,26
<i>S. cerevisiae YEH-59</i>	0,246	30	0,008	46,6	189,43

2.2. Розрахунок складу поживного середовища

Тривалість культивування 72 год, концентрація ергостерину в культуральній рідині становить 2,9 г/л.

Розрахунок вмісту в середовищі джерела вуглецевого живлення

Потреби для синтезу ергостерину. Як джерело вуглецю для одержання ергостерину використовуються глюкоза. Розрахуємо, скільки вуглецю (за елементом С) міститься в 2,9 г ергостерину. Молекулярна маса ергостерину становить 396,66. Отже, у 396,66 г ергостерину (C₂₈H₄₄O) міститься 336 г Карбону, а в 2,9 г рибофлавіну (2,9 x 336,0) / 396,66 = 2,45 г Карбону.

Далі розрахуємо, у скількох грамах глюкози міститься 2,45 г Карбону. Молекулярна маса глюкози (C₆H₁₂O₆) – 180,15. У 180,15 г глюкози міститься 72 г Карбону, а 2,45 г Карбону міститься у (2,45 × 180,15) / 72 = 6,56 г глюкози. Враховуючи, що при вирощуванні мікроорганізмів на глюкозі близько 40% субстрату окислюється до CO₂ для одержання енергії, необхідної для конструктивного метаболізму, вміст глюкози у середовищі становитиме (6,56 × 0,4) + 6,56 = 9,18 г/л.

Потреби для синтезу біомаси.

Кількість глюкози необхідної для синтезу біомаси = $101,00 - 9,18 = 91,82$ г. Оскільки під час вирощування продуценту на глюкозі близько 40 % субстрату використовується на «холосте окиснення» для одержання енергії, тому щоб синтезувати необхідну кількість біомаси у середовище необхідно внести $x \cdot 0,4 + x = 91,82$; $x = 65,58$ г глюкози. У такій кількості глюкози міститься $65,58 \cdot 72 / 180,15 = 26,21$ г Карбону. У біомасі міститься 50 % Вуглецю, тому 26,21 г такого елемента міститься у $26,21 \cdot 2 = 52,42$ г біомаси.

Розрахунок вмісту в середовищі джерела азотного живлення

Потреби для синтезу біомаси. Припустимо, що у біомасі міститься 10 % Нітрогену. Таким чином, у 52,42 г біомаси вміст азоту (за елементом N) становить 5,24 г.

Продуцент ергостерину може асимілювати як джерело азотного живлення неорганічний Нітроген. Розрахуємо кількість даної сполуки, необхідну для одержання 5,24 г/л нітрогену. Молекулярна маса $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ становить 132,14. Отже, у 132,14 г сульфату амонію міститься 28 г Нітрогену (N), тоді 5,24 г Нітрогену буде міститись у $(132,14 \times 5,24) / 28 = 24,72$ г солі. Для одержання 52,42 г/л біомаси вміст $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ у середовищі культивування повинен становити 24,72 г/л.

Розрахунок вмісту Фосфору у середовищі

У біомасі міститься близько 3 % Фосфору (за елементом P). Отже, для синтезу 52,42 г/л біомаси вміст Фосфору у середовищі повинен становити $52,42 \times 0,03 = 1,57$ г/л. Джерелом Фосфору у промисловому виробництві ергостерину є K_2HPO_4 . Таким чином, концентрація цієї солі у середовищі має становити $(136 \times 1,57) / 31 = 6,89$ г/л.

Інші компоненти середовища

Джерелами таких необхідних для росту бактерій елементів, як Сульфур є сіль сульфату магнію ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) і сульфату цинку ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), які не можуть лімітувати ріст продуцента ергостерину (як і інших мікроорганізмів), оскільки зазвичай вносяться у середовище у надлишку.

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

Клітини *Saccharomyces cerevisiae* яйцеподібної форми (діаметр 2,5-10,0 мкм та довжина 4,0-21,0) (Рис. 2.1). *S. cerevisiae* змінюють розмір клітин залежно від умов культивування. Розмножуються брунькуванням і здатні утворювати прозорі спори овальної чи кулястої форми в умовах недостатці поживного середовища [4, 19].

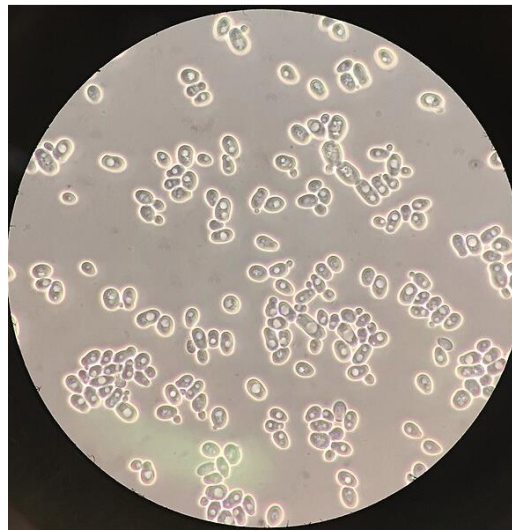


Рис. 2.1. Клітини *S. cerevisiae* під мікроскопом

Клітини *S. cerevisiae* утворюють випуклі колонії кремової консистенції, із рівними краями, але структура колоній може відрізнятися, залежачи від джерела С (рис 2.2 та 2.3).

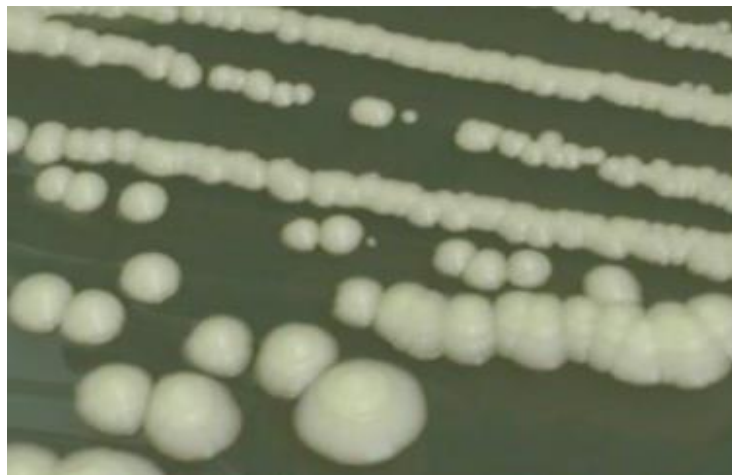


Рис. 2.2. Колонії *S. cerevisiae* при рості агаризованому середовищі

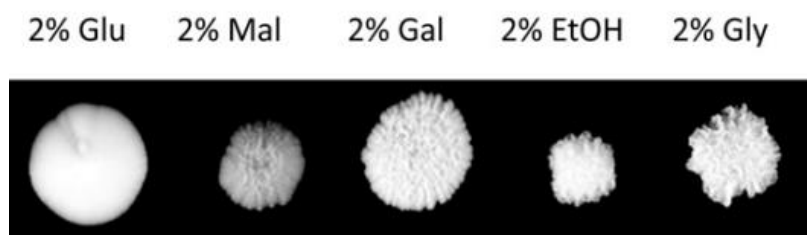


Рис. 2.3.Різноманіття форм колоній *S. cerevisiae* в залежності від типу джерела вуглецю

S. cerevisiae це факультативний анаероб, що може змінювати свій метаболізм в залежності від наявності чи відсутності кисню із дихання на спиртове бродіння. Оскільки клітини здатні використовувати органічні сполуки як єдине джерело енергії та вуглецю, то мікроорганізм є хемогетероорганотрофами. Клітини *S. cerevisiae* використовують для росту і біосинтезу цукровмісні джерела вуглецю (30%). Оптимальне значення рН 4 і температура 27 °С [4, 19].

2.4. Таксономічний статус біологічного агента

Філогенетична класифікація дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* наведена відповідно до [20]:

Царство: *Fungi*

Тип: *Ascomycota*

Клас: *Saccharomycetes*

Порядок: *Saccharomycetales*

Родина: *Saccharomycetaceae*

Рід: *Saccharomyces*

Вид: *cerevisiae*

Штам: S1

РОЗДІЛ 3. ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ

3.1. Потреба у цільовому продукті

Ергостерин (ергостерол) – циклічний одноатомний спирт, що представляє собою білий або безбарвний яскравий часточковий кристал або білий кристалічний порошок. Під час фотолізу він перетворюється на вітамін D₂ (ергокальциферол), який необхідний для людини для профілактики і лікування гіповітамінозу D, рахіту, а також при захворюваннях кісток, зумовлених порушенням обміну кальцію (різні форми остеопорозу, остеомаліяція), при порушеннях функцій паращитовидних залоз (тетанія), туберкульозу шкіри та кісток, псоріазі, системному красному вовчаку (СКВ) шкіри і слизових оболонок [1-4].

Глобальний ринок ергостерину переживає значне зростання, і його ринкова вартість, за оцінками, сягне приблизно 250 мільйонів доларів США до 2025 року. Це зростання зумовлено збільшенням застосування ергостеролу в фармацевтичних препаратах. Найбільш відомими виробниками ергостерону є Chengdu Yazhong Bio-pharmaceutical, ZELANG, Guangzhou Wuzhou Pharmaceutical, AURUM Pharmatech LLC, RGT, HSF, Wilmar, Rokey, VS, Sumitomo Chemical, Sichuan Neijiang Hui Xin Pharmaceutical.

Рахіт – це захворювання дітей грудного та раннього віку, під час якого порушується процес формування кісткової тканини й зубів, а також розвивається недостатність в мінералізації кісток. Ця хвороба характерна для організму, що росте та розвивається (дитячого), адже зміни відбуваються саме в зонах росту. Рахіт виникає через нестачу в організмі дитини вітаміну D₂. Причинами цього можуть бути: патологічні стани матері під час вагітності, неправильне харчування матері, дефіцит сонячних променів, недоношеність, велика маса тіла новонародженої дитини, багатоплідна вагітність, штучне

					НУХТ БТЕК 05.01.17 КР ПЗ			
<i>Змн.</i>	<i>Лист</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>				
<i>Розроб.</i>		<i>Ромашкан Т. В.</i>			РОЗДІЛ 3. ТЕХНІКО- ЕКОНОМІЧНЕ ОБҐРУН- ТУВАННЯ	<i>Лім.</i>	<i>Арк.</i>	<i>Акрушів</i>
<i>Консульт.</i>							22	289
<i>Керівник</i>		<i>Резніченко Ю.М.</i>				Кафедра БТМ		
<i>Н. Контр.</i>								
<i>Зав. каф.</i>		<i>Стабніков В.П.</i>						

вигодовування, пізніє чи неправильне введення прикорму, спадкова схильність до хвороби. Рахіт у дітей зазвичай проявляється у віці від 6 місяців до 2 років, коли кісткова система активно розвивається і потребує великої кількості вітаміну D, кальцію та фосфору. У цей період діти швидко ростуть, і нестача необхідних вітаміну D2 може призвести до виникнення симптомів рахіту [21].

Проблему дефіциту вітаміну D₂ в організмі і як наслідок провести профілактику виникнення рахіту можна вирішити, приймаючи ергокальциферол у якості добавки або лікарського засобу. Щоденно дитині призначати ергокальциферол по 1400 МО протягом 30 днів на 2-му – 6-му – 10-му місяці життя, у подальшому – до трирічного віку по 2 – 3 курси на рік з інтервалами між ними у 3 місяці (курсова доза на рік – 180000 МО) [22].

Згідно із даними Мінюсту та інституту молоді [23], станом на 2022 рік в Україні проживає 1566,8 тис. дітей віком від народження до 3 років. Оскільки не має статистичних даних кількості дітей до 3 років, для спрощення розрахунку будемо орієнтуватися на кількість у 1566,8 тис. Оскільки для профілактики розвитку рахіту ергокальциферол прописують приймати курсовим методом як описано вище, то кількість курсів приймемо у кількості 9 шт. Так як 1 мл ЛЗ містить ергокальциферолу 1,25 мг, що відповідає 50000 МО, то 1400 МО відповідає у $(1,25 \text{ мг} \times 1400 \text{ МО}) / 50\,000 \text{ МО} = 0,035 \text{ мг}$ ергокальциферолу.

Таблиця 3.1

Розрахунок об'єму ергокальциферолу на курс лікування

К-ть пацієнтів (діти до 3 років), тис. осіб	Доза вітаміну D₂, мг	Тривалість лікування, діб	К-ть курсів на протязі 3 років, шт	Кількість вітаміну D₂, мг
1566,8	0,035	30	9	14806260

3.2. Обрахунок загальної потужності виробництва ергостерину

В Україні промисловий випуск вітаміну D₂ реалізовано у вигляді орального олійного розчину, від світло-жовтого до темно-жовтого кольору, без прогірклого смаку у флаконах. Згідно із інформацією з державного реєстру лікарських засобів, вітамін D₂ на основі ергостерину виробляють 2 підприємства: АТ «Вітаміни» та ПрАТ «Технолог» [24]. Враховуючи цей факт, пропонуємо виробляти ергокальциферол для задоволення 80 % від загальної потреби, оскільки на ринку невисока конкуренція:

$$14806260 \text{ мг} \times 0,8 = 11\,845\,008 \text{ мг}$$

Знаючи цю інформацію, можна розрахувати необхідної кількості культуральної рідини, знаючи, що отримати під час культивування штаму *S. cerevisiae S1*, синтезується 2986,0 мг/л ергостерину протягом 72 год [4]:

$$\frac{11\,845\,008}{2986} = 3967,5 \text{ л}$$

Далі розраховуємо загальні втрати під час етапів виділення ергостерину із культуральної рідини які складають 30 %:

$$3967,5 \text{ л} / (1 - 0,3) = 5668 \text{ л}$$

де $T_{\text{цф}}$ – загальний цикл роботи ферментера

3.3. Розрахунок загальної кількості циклів проектованого виробництва ергостерину та об'єму виробничого ферментера

Далі розраховуємо, який об'єм культуральної рідини можна отримати за цикл біосинтезу. Згідно із цими даними розраховуємо кількість необхідних етапів підготовки посівного матеріалу. Прийmemo, що кількість робочих трудоднів ($T_{\text{рд}}$) = 50, тоді кількість культуральної рідини на добу ($V_{\text{д}}$) становитиме:

$$V_{\text{д}} = C / T_{\text{рд}} = 5668 / 50 = 113,36 \text{ л}$$

Об'єм культуральної рідини за цикл ($V_{\text{пц}}$) буде становити:

$$V_{\text{пц}} = \frac{K_1 * V_{\text{д}} * T_{\text{цф}}}{24} = \frac{1,5 * 113,36 * 80}{24} = 566,8 \text{ л/цикл}$$

, який включає тривалість виробничого біосинтезу (72 год) та час підготовки ферментера до роботи (8 год). K_1 – коефіцієнт запасу, що враховує можливість нестерильних операцій $K_1 = 1,1 - 1,5$.

Розрахований об'єм культуральної рідини (566,8 л) можна одержати у ферментері, геометричний об'єм якого складатиме:

$$V_{\Gamma} = \frac{V_{\text{пц}}}{K_{\text{зап}}} = \frac{566,8}{0,65} = 872,0 \text{ л}$$

Найближчим за об'ємом є стандартний ферментер на $1,0 \text{ м}^3$ (V_{ϕ}).

Уточнюємо коефіцієнт заповнення для обраного ферментера:

$K_{\text{зап}} = V_{\Gamma} / V_{\phi} = 566,8 / 1\ 000 = 0,566$. Розраховане число не перевищує заданого значення, а отже, об'єм ферментера підібраний правильно.

3.4. Розрахунок кількості необхідних етапів для підготовки посівного матеріалу

Отже, за виробничий цикл можна одержати $V_{\text{пц}} = 566,8$ л культуральної рідини. Також слід врахувати, що при одержанні культуральної рідини, можливими є її втрати у результаті краплевиносу через колектор відпрацьованого повітря (E_{ϕ}), які складають 10%.

Отже, розрахуємо кількість поживного середовища та посівного матеріалу перед процесом ферментації:

$$V_{\text{роб1}} = V_{\text{роб1}} / (1 - E_{\phi}) = 566,8 / (1 - 0,1) = 629,77 \text{ л}$$

Встановлена доза для посівного матеріалу складає від 5 до 10 % від об'єму поживного середовища. Приймаємо такий показник $X_{\text{пм1}} = 10\%$. Тому, із врахуванням дози посівного матеріалу $X_{\text{пм1}}$ робочий об'єм ферментера $V_{\text{роб1}}$ складе:

$$V_{\text{роб1}} = V_{\text{пс1}} + V_{\text{пс1}} \cdot X_{\text{пм1}}$$

Звідси, об'єм поживного середовища $V_{\text{пс1}}$ буде:

$$V_{\text{пс1}} = V_{\text{роб1}} / (1 + X_{\text{пм1}}) = 629,77 / (1 + 0,1) = 572,52 \text{ л}$$

тоді об'єм посівного матеріалу $V_{\text{пм1}}$ складе

$$V_{\text{пм1}} = V_{\text{роб1}} - V_{\text{пс1}} = 629,77 - 572,52 = 57,24 \text{ л}$$

Враховуючи втрати у результаті краплевиносу через колектор відпрацьованого повітря в розмірі 10 – 15%, об'єм посівного матеріалу та поживного середовища у посівному апараті буде таким:

$$V_{роб.2} = V_{пм1} / (1 - E_{па}) = 57,24 / (1 - 0,10) = 63,6 \text{ л.}$$

Оскільки попередньо було обрано дозу посівного матеріалу у розмірі 10%, то у посівному апараті об'єм поживного середовища становитиме:

$$V_{пс2} = V_{роб.2} / (1 + X_{па}) = 63,6 / (1 + 0,1) = 57,81 \text{ л,}$$

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

Далі слід розрахувати об'єм посівного матеріалу для посівного апарату, який становить $V_{пм2} = V_{роб.2} - V_{пс2} = 63,6 - 57,81 = 5,79 \text{ л.}$

Інокулят об'ємом $V_{роб.2} = 63,6 \text{ л}$ можна отримати протягом вирощування штаму у посівному апараті з геометричним об'ємом $V_{ін2} = V_{роб.2} / K_{зап} = 63,6 / 0,65 = 97,84 \text{ л.}$ Для цього обираємо найближчий за розміром стандартний посівний апарат $V_{спа} = 100 \text{ м}^3$. Перерахований коефіцієнт заповнення складатиме:

$K_{зап2} = V_{роб.2} / V_{сін} = 63,6 / 100 = 0,64$. Уточнений коефіцієнт заповнення перебуває у вибраних межах для аеробних процесів (0,55-0,65)

Посівний матеріал об'ємом 5,79 л можна отримати шляхом вирощування в інокуляторі із врахуванням подальших втрат у результаті краплевиносу через колектор відпрацьованого повітря (10 – 15%).

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

$$V_{роб.3} = V_{пм2} / (1 - E_{ін}) = 5,79 / (1 - 0,1) = 6,43 \text{ л.}$$

Додавання посівного матеріалу у кількості 10% від об'єму поживного середовища є стандартною практикою для забезпечення належного засіву. Тоді об'єм поживного середовища, для вирощування бактерій в інокуляторі буде складати:

$$V_{пс3} = V_{роб.3} / (1 + X_{ін}) = 6,43 / (1 + 0,1) = 5,84 \text{ л,}$$

де $X_{ін} = 0,1$ – встановлена доза інокуляту для посівного апарату.

Об'єм посівного матеріалу для інокулятора становить $V_{\text{пм3}} = V_{\text{роб.3}} - V_{\text{пс3}} = 6,43 - 5,84 = 0,59$ л.

Відповідну кількість посівного матеріалу $V_{\text{роб.3}} = 6,43$ л можна отримати під час культивування бактеріального штаму в інокуляторі з геометричним об'ємом $V_{\text{ін3}} = V_{\text{роб.3}} / K_{\text{зап}} = 6,43 / 0,65 = 9,89$ л. Приймаємо найближчий за об'ємом стандартний інокулятор $V_{\text{сін}} = 10$ л та уточнюємо попередньо встановлений коефіцієнт заповнення.

$K_{\text{зап3}} = V_{\text{роб.3}} / V_{\text{сін}} = 6,43 / 10 = 0,64$. Одержане значення перебуває у межах, прийнятих для ферментерів для аеробних процесів (0,55-0,65).

Посівний матеріал об'ємом $V_{\text{пм4}} = 0,59$ л можна одержати культивуванням штаму у колбах на качалці. Для цього застосовують качалочні колби об'ємом $V_{\text{колб}} = 750$ мл та коефіцієнтом заповнення $K_{\text{зк}} = 0,2$.

Тоді кількість колб для отримання посівного матеріалу становитиме:

$$N_{\text{колб}} = V_{\text{пм4}} / (V_{\text{колб}} \cdot K_{\text{зк}}) = 590 / (750 \cdot 0,2) = 3,93, \text{ отже, } 4 \text{ колби.}$$

Отже, для одержання посівного матеріалу необхідно 4 качалочних колби.

Можна зробити висновок, що процес одержання посівного матеріалу для проведення виробничого біосинтезу ергостерину у ферментері об'ємом $1,0 \text{ м}^3$ за коефіцієнту заповнення 0,65 буде проходити у 3 етапи. Узагальнена інформація стосовно кількості стадій виробництва ергостерину наведена у табл. 3.2.

Таким чином за результатами розрахунків, можна резюмувати, що для біосинтезу ергостерину потрібно встановити один ферментер об'ємом $1,0 \text{ м}^3$, один посівний апарат об'ємом 100 л та один інокулятор об'ємом 10 л.

**Кількість стадій та апаратів, необхідна підготовки посівного матеріалу
та виробничого біосинтезу ергостерину**

№ стадії	Геометричний об'єм обраного апарату, V_{Γ}, л	Коефіцієнт заповнення, $K_{\text{зап}}$, частка	Робочий об'єм апарата, $V_{\text{роб}}$, л	Об'єм поживного середовища, $V_{\text{пс}}$, л	Об'єм посівного матеріалу, $V_{\text{пм}}$, л
<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>	<i>6</i>
1	1000	0,65	629,77	572,52	57,24
2	100	0,64	63,6	57,81	5,79
3	10	0,64	6,43	5,84	0,59
4	0,75×4 колби	0,2	–	0,59	0,59

РОЗДІЛ 4. БІОСИНТЕЗ ЦІЛЬОВОГО ПРОДУКТУ

Saccharomyces cerevisiae синтезує ергостерол за умов росту на глюкозі. Метаболізм глюкози [25] згідно із Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) у *S. cerevisiae* відбувається під дією глюкочкінази (КФ 2.7.1.1), що перетворює глюкозу на D-глюкозо-6-фосфат. В подальшому за допомогою глюкозо-6-фосфат ізомерази (КФ 5.3.1.9) утворюється фруктоза-6 фосфат, яка під дією 6-фосфоруक्तокінази (КФ:2.7.1.11) перетворюється на фруктозу 1,6-дифосфат, який під дією фруктозо-біфосфат альдозали (КФ:4.1.2.13) перетворюється на діоксиацетонфосфат та гліцеральдегід-3-фосфат. В наслідок впливу гліцеральдегід-3-фосфат дегідрогенази (КФ:1.2.1.12) утворюється 1,3-дифосфогліцерат. 1,3-дифосфогліцерат перетворюється на 3-фосфогліцерат під дією фосфогліцераткінази (КФ:2.7.2.3), який під дією 2,3-дифосфогліцерат-залежної фосфогліцератмутази (КФ:5.4.2.11) трансформується у 2- фосфогліцерат. Енолаза 1/2/3 (КФ:4.2.1.11) перетворюється на фосфоенолпіруват під дією 2-фосфогліцерату, який в наслідок впливу піруват кінази (КФ:2.7.1.40) трансформується у піруват. Піруват під дією піруватдекарбоксілази (КФ:4.1.1.1) перетворюється на 2-гідроксиетилтіаміндифосфат, а той у свою чергу – в ацетальдегід, в наслідок дії піруватдекарбоксілази (КФ:4.1.1.1). Трансформація ацетальдегіду під дією альдегід дегідрогенази (НАД+) (КФ:1.2.1.3) призводить до утворення ацетату, а з нього утворюється ацетил-КоА під дією ацетил-КоА синтетази (КФ:6.2.1.1). Ацетил-КоА направляється до ТТК.

Далі згідно із Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) [26] Ацетил-КоА залучається до циклу біосинтезу терпеноїдів і під дією ацетил-СоА С-ацетилтрансферази (КФ:2.3.1.9) перетворюється на ацетоацетил-КоА, а потім під дією гідроксиметилглутарилКоАсинтази (КФ:2.3.3.10), утворює

					НУХТ БТЕК 05.01.17 КР ПЗ			
<i>Змн.</i>	<i>Лист</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>				
<i>Розроб.</i>		Ромашкан Т. В.			РОЗДІЛ 4. БІОСИНТЕЗ ЦІЛЬОВОГО ПРОДУКТУ	<i>Літ.</i>	<i>Арк.</i>	<i>Акрушів</i>
<i>Консульт.</i>							29	89
<i>Керівник</i>		Резніченко Ю.М.				Кафедра БТМ		
<i>Н. Контр.</i>								
<i>Зав. каф.</i>		Стабніков В.П.						

ється 3-гідрокси-3-метилглутарил-КоА, який перетворюється на мевалонат, внаслідок впливу гідроксиметилглутарил-СоА редуктази (NADPH) (КФ:[1.1.1.34](#)). Мевалонат метаболізується до 5-фосфомевалонату, під дією мевалонаткінази (КФ:[2.7.1.36](#)), який далі перетворюється на 5-дифосфомевалонат, внаслідок впливу фосфомевалонаткінази (КФ:[2.7.4.2](#)). 5-дифосфомевалонат трансформується в ізопентил дифосфат за рахунок дифосфомевалонатдекарбокцилази (КФ:[4.1.1.33](#)) і врешті у фарнесилдифосфат, під дією фарнесил дифосфатсинтази (КФ:[2.5.1.1](#) [2.5.1.10](#))

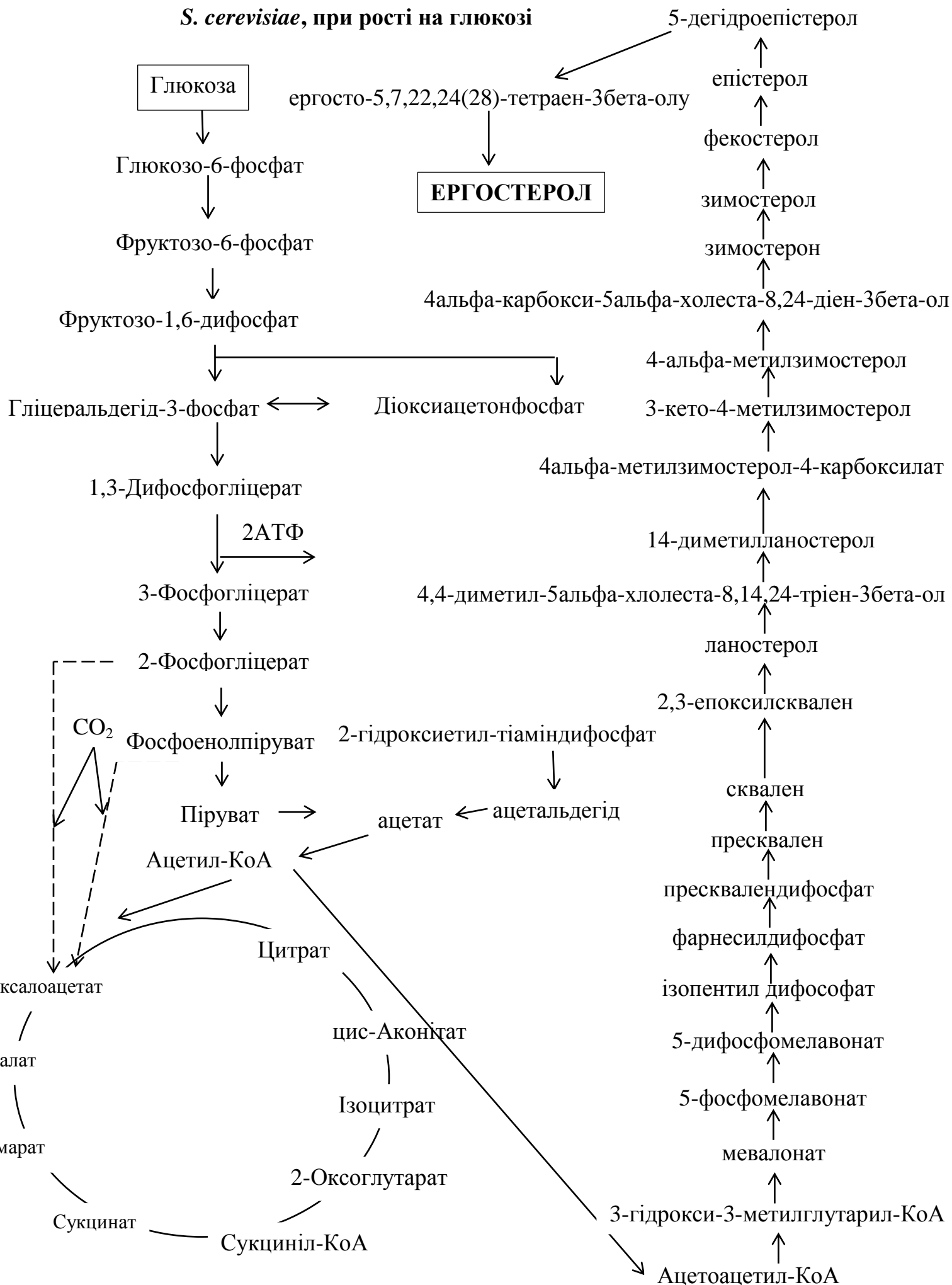
Фарнесилдифосфат залучається у біосинтез стероїдів [27], перетворюючись у пресквалендифосфат і пресквален, під дією фарнесил-дифосфат-фарнесилтрансферази (КФ:[2.5.1.21](#)). Пресквален трансформується у сквален під дією фарнесил-дифосфат-фарнесилтрансферази (КФ:[2.5.1.21](#)), який далі перетворюється у 2,3-епоксилсквален внаслідок впливу скваленмонооксигенази (КФ:[1.14.14.17](#)). Ланостерол, що утворився під дією ланостеролсинтази (КФ:[5.4.99.7](#)), метаболізується у 4,4-диметил-5альфа-хлOLEста-8,14,24-тріен-3бета-ол під дією стерол 14альфа-диметилази (КФ:[1.14.15.36](#)), а потім у 14-диметилланостерол, внаслідок впливу дельта14-стерол редуктази (КФ:[1.3.1.70](#)). Далі утворюється 4альфа-метилзимостерол-4-карбоксилат під впливом метилстерол монооксигенази (КФ:[1.14.18.9](#)). Метилзимостерол-4-карбоксилат катаболізується у 3-кето-4-метилзимостерол за рахунок стерол-4альфакарбоксилату-3-дегідрогенази (ЕС:[1.1.1.170](#)). Згодом, під дією 3-кето стероїд редуктази (КФ:[1.1.1.270](#)) утворюється 4-альфа-метилзимостерол, а згодом під дією метилстерол монооксигенази (КФ:[1.14.18.9](#)) отримаємо 4альфа-карбокси-5альфа-хлOLEста-8,24-діен-3бета-ол. 4альфа-карбокси-5альфа-хлOLEста-8,24-діен-3бета-ол метаболізується у зимостерон під дією стерол-4альфа-карбоксилат 3-дегідрогенази (КФ:[1.1.1.170](#)). Зимостерон трансформується у зимостерол (фермент 3-кето стероїдредуктаза (КФ:[1.1.1.270](#))), а потім у фекостерол, під дією стерол 24-С-метилтрансферази (КФ:[2.1.1.41](#)). Фекостерол перетворюється на епістерол під дією С-8 стерол ізомерази (КФ:[5.-.-.-](#)), а потім епістерол у

5-дегідроепістерол, в наслідок впливу дельта7-стерол-5-десатурази (КФ:1.14.19.20). Трансформація продовжується утворенням ергосто-5,7,22,24(28)-тетраен-3бета-олу, який під дією дельта24(24(1))-стеролредуктази (КФ:1.3.1.71) перетворюється на ергостерол.

Поповнення балансу оксалоацетату (інтермедіату ЦТК), при рості на глюкозі, відбувається за рахунок карбоксилювання фосфоенолпірувату (фермент – фосфоенолпіруваткарбоксилаза КФ 4.1.1.31) і карбоксилювання пірувату (фермент – піруваткарбоксилаза КФ 6.4.1. 1).

Рис. 3.3. Біосинтез ергостеролу

S. cerevisiae, при рості на глюкозі



РОЗДІЛ 5. ОБГРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ

5.1. Обґрунтування способу культивування і типу ферментера

Біосинтез ергостеролу модифікованими штамми дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* є аеробним процесом, тому важливим є подача попередньо підготованого стерильного повітря. Також необхідним є наявність барботеру та газоаналізатору, для контролю рівня виділеного CO₂. З метою підвищення розчинення кисню у середовищі культивування, має бути встановлена мішалка із частотою перемішування 300-1000 об/хв.

Температура критично впливає на ріст продуцента та тривалість культивування, тому інокулятори та реактори мають бути обладнані датчиками температури, для постійного контролю на рівні 30 °С. Наприклад, за температури 30,0 С, тривалість культивування *S. cerevisiae* становить приблизно 172 год, а вже за зниження температури на 5,0 С час вирощування зростає до 210 год [17].

Значення рН також суттєво впливає на синтез фінішного продукту. Так, за значень рН 7,0-8,0 ріст клітин *S. cerevisiae* сповільнюється, а за рН 9,0 зупиняється взагалі. Аналогічна ситуація спостерігається під час підкислення середовища культивування до рН 3,0 [17]. Тому інокулятори / реактори мають бути обов'язково обладнані датчиками контролю рН, щоб підтримувати постійне значення, на рівні 5.0 [18].

Обов'язковим є ведення процесу промислового біосинтезу в асептичних умовах, щоб виключити можливість мікробної контамінації.

Біосинтез ергостеролу можна вести як періодичним, так і безперервним способом. У літературі не має публікацій, щодо підтвердження практичної реалізації безперервного типу культивування дріжджів для синтезу ергостерину, тому обираємо періодичне культивування, але за умови підживлення, оскільки концентрація глюкози є значною (101 г/л). Враховуючи, що проду-

					НУХТ БТЕК 05.01.17 КР ПЗ			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата			33	
Розроб.		Ромашкан Т. В.			РОЗДІЛ 5. ОБГРУНТУ- ВАННЯ ВИБОРУ ТЕХ- НОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ	Літ.	Арк.	Акрушів
Консульт.							33	89
Керівник		Резніченко Ю.М.				Кафедра БТМ		
Н. Контр.								
Зав. каф.		Стабніков В.П.						

цент – це дріжджові клітини, то обираємо поверхневий спосіб культивування.

Таким чином, можна стверджувати, що ріст і біосинтез здійснюватиметься за таких умов:

- стерильність;
- кисневе культивування
- температурний режим: 30 °С;
- рН 5,0;
- періодичне вирощування продуценту із підживленням;
- поверхневий спосіб.

5.2. Обґрунтування вибору стадії підготовки аераційного повітря

Будь-яке біотехнологічне виробництво потребує подачі стерильного повітря, оскільки воно необхідне як для підтримання росту продуцента і біосинтезу у виробничому обладнанні, так і для підтримки належних класів чистоти у виробничих і лабораторних приміщеннях, а також створення комфортних для роботи персоналу умов мікроклімату. Так як атмосферне повітря наповнене мікроорганізмами і часточками пилу, перед подачею безпосередньо у чисті приміщення повітря необхідно попередньо підготувати і очистити. Для цього «сире» атмосферне повітря пропускають крізь різноманітні фільтри та систему кондиціонування, яка складається із таких основних етапів [28-30]:

- За допомогою турбокомпресора, через повітрозбірник здійснюється забір повітря на висоті 2-3 м від найвищої точки будівлі, по забірній шахті здійснюється забір порцій атмосферного повітря. Враховуючи висоту ферментера об'ємом 1,0 м³ – 3,1 м, а також висоту поверху – 8 м, косий дах будівлі ~1,5 м, забір повітря виконують на висоті ~ 13 м.

- Попередня очистка відібраних порцій повітря на фільтрах грубої очистки з метою зниження концентрації пилу і захисту від механічних пошкоджень більш тендітних фільтрів, вузлів / агрегатів.
- Стиснення повітря за допомогою турбокомпресору, до 0,35—0,5 МПа.
- Нагрівання стисненого повітря до 120–250°C за допомогою калориферу із наступним охолодженням і конденсацією вологи, яка видаляється за допомогою краплевловлювача.
- Подача підготованого повітря на фільтри з панелями із скловолокна або базальту з грубозернистими пористими перегородками, d пор 15-50 мкм., де проходить основна фільтрація до 98% мікроорганізмів;
- Подача очищеного повітря по трубопроводах через фільтри тонкої очистки (ефективність очищення 99,999 %) у виробничі зони та у виробниче обладнання і в лабораторні приміщення, де працюють із культурами мікроорганізмів [28-30].

5.3 Вибір мийних та дезінфікуючих засобів

Технологічний процес виробництва ергостерину *S. cerevisiae* займає 50 днів (див. розділ 3) і передбачає підготовку ферментеру об'ємом 1000 л, інокуляторів об'ємом 10 л і 100 л, реакторів-змішувачів для приготування і стерилізації поживного середовища, качалки, боксу та обладнання для виділення (центрифуга, збірник культуральної рідини).

Виробництво ергостерину складається із лабораторних і виробничих приміщень: мікробіологічної лабораторії (зберігання робочих культур, бокси для роботи із культурами мікроорганізмів, обладнання для контролю якості), приміщення із колбо-качалочною установкою, приміщення вирощування інокуляту і промислового біосинтезу та приміщення виділення ергостерину. Приймемо відстань у 1,5 м між обладнанням і таку ж відстань у 1,5 м від стін, щоб забезпечити вільний і зручний доступ персоналу до всіх об'єктів техно-

логічного процесу, з метою полегшення обслуговування / очистки / обробки.
Розміри обладнання наведено у *табл. 5.1*.

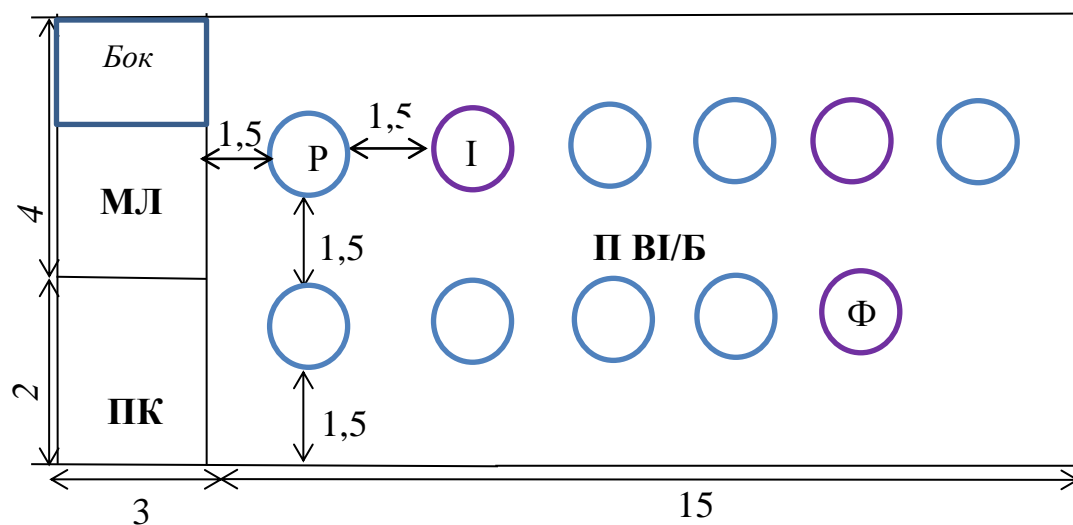
Таблиця 5.1

Розміри обладнання, що використовується під час виробництва

Обладнання	Геометричний об'єм, л	Діаметр, м	Висота, м
<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>
Інокулятор	10	1,5	2,1
Інокулятор	100	1,95	2,5
Ферментер	1000	1,65	3,1
Реактор змішувач	10	0,29	0,62
Реактор змішувач	10	0,29	0,62
Реактор змішувач	10	0,29	0,62
Реактор змішувач	100	0,69	2,3
Реактор змішувач	20	0,35	0,85
Реактор змішувач	1000	0,96	1,5
Реактор змішувач	200	0,5	2,3
Реактор змішувач	500	0,7	2,6
Всього	2960	-	-

Як видно із значень з *табл. 5.1* загальний об'єм виробничого обладнання складає 2460 л. Також для виділення ергостерину із культуральної рідини необхідно також врахувати об'єми збірника супернатанту культуральної рідини – 1000 л, центрифуга – 1000 л. Таким чином загальний об'єм обладнання для миття буде складати 4,96 м³.

Наступним етапом підрахуємо кількість мийних / дезінфікуючих засобів для обробки виробничих приміщень. План приміщення для отримання культуральної рідини *S. cerevisiae* наведено на *рис. 5.1*



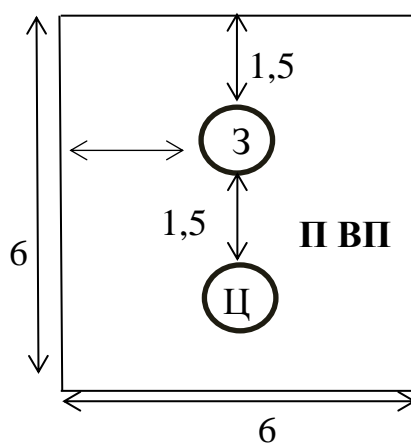


Рис. 5.1 Умовне зображення виробничого приміщення

П ВІ/Б – приміщення вирощування інокуляту і виробничого біосинтезу;

МЛ – мікробіологічна лабораторія;

ПК – приміщення з качалками.

П ВП – приміщення виділення продукту

І, Р, Ф, Ц, З – інокулятор, реактор-змішувач, ферментер, центрифуга, збірник

Для підтримання чистоти приміщень підлога миється щодня, що в загальному складе 50 разів. Генеральне прибирання (обробка стін, вікон і підлоги) здійснюється 2 рази на місяць – 4 рази. На наступному етапі розрахуємо кількості миючих засобів для обробки стін і підлоги. Згідно із *рис. 5.1*, враховуючи висоту приміщень 8 м, площа підлоги ділянки вирощування інокуляту і виробничого біосинтезу складає 120 м^2 ($15 \text{ м} \times 8 \text{ м}$), площа стін – $((15 \text{ м} \times 8 \text{ м}) \times 2 + (6 \text{ м} \times 8 \text{ м})) \times 2 = 336 \text{ м}^2$, загальна площа – $120 \text{ м}^2 + 336 \text{ м}^2 = 456 \text{ м}^2$. Для мікробіологічної лабораторії площа підлоги складає $3 \text{ м} \times 4 \text{ м} = 12 \text{ м}^2$, площа стін – $((3 \text{ м} \times 8 \text{ м}) \times 2 + (4 \text{ м} \times 8 \text{ м})) \times 2 = 112 \text{ м}^2$, загальна площа – 124 м^2 . Для приміщення з качалками площа підлоги складає $2 \text{ м} \times 3 \text{ м} = 6 \text{ м}^2$, площа стін – $((2 \text{ м} \times 8 \text{ м}) \times 2 + (3 \text{ м} \times 8 \text{ м})) \times 2 = 60 \text{ м}^2$, загальна площа – 66 м^2 .

Загальна площа поверхні обробки миючими засобами наведена в *табл. 5.2*.

Розрахунок загальної площі стін та підлоги виробничих приміщень

Приміщення	Площа підлоги, м ²	Площа стін, м ²	Загальна площа, м ²
Ділянка вирощування інокуляту і виробничого біосинтезу	120	336	456
Мікробіологічна лабораторія	12	112	124
Приміщення з качалками	6	60	66
Ділянка виділення продукту	36	144	180
Разом	174	652	714

Розрахунок сумарних площ миття /дезінфекції для виробництва описано у табл. 5.3. Оскільки загальний об'єм культуральної рідини становить 5668 л, а об'єм культуральної рідини за 1 цикл дорівнює 566,8 л/цикл, то кількість виробничих циклів (циклів миття) становить: 5668 л / 566,8 л/цикл = 10 циклів. Також врахуємо додаткове миття після останнього циклу і разом кількість становить 11. Тоді загальний об'єм миття:

Розрахунок площ миття / дезінфекції під час виробничого процесу

Об'єкт	Площа / об'єм об'єкту, м ² / м ³	Періодичність миття / дезінфекції під час виробничого процесу	Загальна площа / об'єм, м ² / м ³
Обладнання	4,96 м ³	11	54,56
Підлога	174 м ²	50	8700 м ²
Стіни, двері, вікна	652 м ²	4	2608 м ²

Опис вибору і вартості мийних / дезінфікуючих засобів для промислового виробництва ергостерину *S. cerevisiae*

Для правильного вибору мийних і дезінфікуючих засобів необхідно оцінити вартість і витрату засобу на 1 м² / м³, що оброблюється. Згідно із інструкціями по використанню мийних і дезінфікуючих засобів, витрата робочого розчину становить в середньому 100 мл на площу в 1 м². Загальний об'єм виробничого обладнання складає 54,56 м³ (див. табл 5.3). Миття реакторів та інокуляторів буде здійснюватися в автоматичному режимі за допо-

могою подачі миючих засобів через СІР-мийки, які дають змогу ефективно очищувати забруднення з мінімальними витратами води і мийного засобу (економія до 50 % робочого розчину миючого засобу від об'єму апарату). Таким чином, для одного циклу миття знадобиться $4960 \text{ л} \times 0,5 = 2460 \text{ л}$ робочого розчину миючого засобу, а на весь період виробничого процесу – $2460 \text{ л} \times 11 = 27060 \text{ л}$. Виходячи із даних *табл. 5.3* загальна площа всіх поверхонь складає $8700 \text{ м}^2 + 2608 \text{ м}^2 = 11\,308 \text{ м}^2$. Тоді кількість миючого / дезінфікуючого розчину складає: $11\,308 \text{ м}^2 \times 100 \text{ мл} = 113,08 \text{ л}$.

Вибір мийного / дезінфікуючого засобу

Одним із основних критичних місць будь-якого технологічного процесу є рутинне виконання етапів стадії очистки / дезінфекції обладнання/ приміщення, що забезпечує встановлений рівень чистоти і гарантує відсутність контамінації фінішного продукту. Підтримання встановленого рівня чистоти забезпечується правильно підібраними мийними/дезінфікуючими засобами, а також суворим дотриманням протоколів очистки. До мийних / дезінфікуючих засобів висуваються наступні вимоги:

- зручність у використанні;
- легкість розчинення у воді;
- не агресивність до оброблюваних поверхонь;
- відсутність впливу на фізико-хімічні властивості фінішного продукту;
- ефективність проти широкого спектру мікроорганізмів;
- безпека для навколишнього середовища і персоналу виробництва.

Мийні / дезінфікуючі засоби, які можна використати під час виробництва ергостерину, їх ціна та витрати, наведено у *табл. 5.4*.

Мийні / дезінфікуючі засоби, що пропонується використати під час виробництва ергостерину

Назва	Концентрація робочого розчину, %	Об'єкт миття / дезінфекції	Площа /об'єм миття / дезінфекції об'єкту, м ² /л	Кількість робочого розчину за весь період виробництва, л	Вартість 1 л/кг мийного/ дезінфікуючого засобу, грн	Вартість 1 л робочого розчину, грн	Сумарна вартість миття /дезінфекції під час виробництва, грн
SUPRA ¹	2,0 %	Обладнання	54,56	27060	133,33	2,66	71979,6
LIV 331 ²	6,5 %	Обладнання	54,56	27060	57,1	3,71	100392,6
Фамідез® Санокварт ³	3,0 %	Стіни/підлога/ вікна	11 308	113,08	245,0	7,35	831,2
Бланідас Актив ензим ⁴	1,5 %	Стіни/підлога/ вікна	11 308	113,08	354,0	5,31	600,45

Примітка. Вартість засобів наведено станом на січень 2025 р.: 1. <https://prom.ua/ua/p1999522489-schelochnoe-pennoe-moyuschee.html>, 2 - <https://prof-pack.prom.ua/ua/p1329299867-sredstvo-moyuschee-kislotnoe.html>, 3 - <https://innodent.prom.ua/ua/p1842765388-famidez-sanokvart-famidez.html>, 4 - <https://hlorka.in.ua/ua/p276086009-blanidas-aktiv-enzim.html?srltid=AfmBOorHp5GB69IFVwES4zlnw3-JDspWfDxTfsg3ESzWb-trTSYilFv>

* **розрахунок вартості 1 л робочого розчину описано для мийного засобу SUPRA»:** Ціна 1 л становить 133,3 грн, концентрація його робочого розчину – 2,0 %, тому в 1000 мл робочого розчину міститься 20 мл (0,02 л) концентрату. Таким чином вартість 2 % розчину становить: 133,33 грн × 0,02 л = 2,66 грн/л.

Миючі засоби

Миючий засіб SUPRA – дозволяє ефективно очищувати виробниче обладнання, ємності, трубопроводи, накопичувачі, пастеризатори від білкових і жирових забруднень. Склад: гідроксид натрію, вода, гідроксид калію, аніонні ПАР від 5 до 15%, неіоногенні ПАР від 5 до 15%, амфотерні ПАР від 5 до 15%, хлорид натрію, метасилікат натрію, інгібітор корозії KI-1M. Робоча концентрація – 2%. Час експозиції становить 60 хв [31].

Миючий засіб LIV 331 – кислотний засіб з вираженим піноутворенням з антибактеріальним ефектом, для всіх галузей харчової промисловості. Представляє собою однорідну однофазну безбарвну або слабо-жовту рідину без сторонніх домішок. Допускається наявність осаду. Призначене для професійного застосування на підприємствах харчової та переробної промисловості, видалення органічних і неорганічних комбінованих забруднень, так само ефективно видаляє іржу, кальцієвий камінь, осади інших неорганічних солей. Перелік інгредієнтів: вода деіонізована, кислота ортофосфорна; 1...10 %: неіоногенні ПАР, кислота молочна, комплексоутворювач; 0,1...1 %: антикорозійний агент. Робоча концентрація – 5-8%. Зберігати в оригінальній тарі в герметично закритому вигляді в сухих добре вентильованих складських приміщеннях при температурі від 0 до +30 °С та відносній вологості не більше 80%. Слід запобігати тривалій дії прямих сонячних променів. Строк придатності – 24 місяця з дати виготовлення [32].

Розглянувши характеристики і вартість наведених вище миючих засобів, для очистки варто обрати миючий засіб **SUPRA**, оскільки він є дешевшим, ніж **LIV 331**.

Дезінфікуючі засоби

Дезінфікуючі засоби дають змогу знизити кількість мікроорганізмів на робочих поверхнях, за рахунок руйнування клітини і / або порушення метаболізму, до прийнятної в кожній конкретній ситуації рівня. Під час вироб-

ництва ергостерину пропонується розглянути можливість використовувати 2 дезинфікуючі засоби:

Дезинфікуючий засіб Фамідез® Санокварт – прозора безбарвна (або голубого чи жовтого кольору) рідина з характерним специфічним запахом поверхнево-активних речовин. Добре розчиняється у воді. Робочі розчини (0,25-7,5 %) прозорі, безбарвні, мають слабкий специфічний запах поверхнево-активних речовин. Призначений для дезінфекції поверхонь усіх типів (підлога, стіни, двері тощо), твердих меблів, приладів, апаратури, устаткування з лакофарбовим, полімерним і гальванічним покриттям, санітарно-технічного обладнання, прибирального інвентарю. Для 3 % робочого розчину час експозиції складає 5 хв. Склад: алклдіметилбензиламонію хлорид - 6,66; дидецілдиметиламонію хлорид - 3,33; (діючі речовини), (сумарний вміст четвертинних солей амонію – 9,99); спирт ізопропіловий <1,0, вода – до 100,0.

Засіб ефективний проти кишкових та крапельних інфекцій бактеріальної (крім туберкульозу), вірусної (включаючи парентеральні вірусні гепатити В і С, ВІЛ-інфекцію, поліовірус, вірус грипу, кору, епідемічного паротиту, ротавірусні гастроентерити, віруси ЕСНО, Коксакі та інш.) та грибової (включаючи кандидози) [33].

Дезинфікуючий засіб Бланідас Актив ензим – призначений для проведення поточної, заключної, профілактичної дезінфекції та генеральних прибирань. Являє собою однорідну прозору концентровану рідину зі слабким характерним запахом, яка добре розчиняється у воді. Водні розчини засобу прозорі, майже без кольору та без запаху. Склад: 12-алкілдиметилбензиламонію хлорид, 8-дидецілдиметиламонію хлорид, 2- полігексаметиленгуанідин гідрохлорид (ПГМГ), ферменти (ліпаза, амілаза, протеаза), ізопропіловий спирт, функціональні компоненти та інгібітори корозії.

Засіб дезинфікуючий «Бланідас Актив (Blanidas®Active)» має активність по відношенню до збудників внутрішньолікарняних інфекцій, інфекцій бактеріальної етіології (включаючи туберкульоз, небезпечні та особливо небез-

печні інфекції: чума, туляремія, черевний тиф, холера, клостридії, легіонельоз; *Listeria monocytogenes*, *P.aeruginosa* (Antibiotic resistant), *E.hirae*, *S.aureus* та *S.aureus Methicillin Resistant*, мультирезистентний стафілокок (MRSA), ентерогеморагічна кишкова паличка (*Escherichia coli*), сальмонели, *Helicobacter pylori*), інфекцій вірусної етіології (включаючи гепатит А, парентеральні вірусні гепатити (В, С), Вірус СНІД (ВІЛ), герпес, грип, парагрип, вірус «пташиного грипу» А(Н5N1), Вірус «свинячого грипу» А(Н1N1), рОТа-, поліо-(поліомієліт), корона-, папова-, ентеровіруси, хантавіруси, вакциніявірус, аденовірус, вірус *Avian influenza*, Вірус Ебола), інфекцій грибкової етіології (кандидози, дерматомікози, плісняві грибки), має спороцидні властивості (*B.subtilis*, *B.anthracooides*, сибірка) [34].

Проаналізувавши дезінфікуючі засоби **Фамідез® Санокварт і Бланідас Актив ензим**, для обробки приміщення варто обрати Бланідас Актив ензим, оскільки за майже однакової ефективності вартість л робочого розчину є меншою, ніж у Фамідез® Санокварт. Як наслідок, він є більш економічно вигідним для обробки сумарної площі приміщень.

5.4 Особливості підготовки та стерилізації поживного середовища

Виробничий біосинтез здійснюється у ферментері об'ємом 1,0 м³ з коефіцієнтом заповнення 0,65. Підготовка посівного матеріалу відбувається у три стадії (в колбах на качалці, у посівних апаратах об'ємом 10 і 100 л).

Згідно із інформацією із статті [4], склад поживного середовища для вирощування інокуляту має такий вигляд (г/л):

- Глюкоза – 10,00;
- (NH₄)₂SO₄ – 10,0;
- KH₂PO₄– 8,00;
- MgSO₄·7H₂O – 3,00;
- ZnSO₄·7H₂O – 0,72;
- рН середовища – 5,0.
 - CaCl₂ - 0,00339 г

- H_3BO_3 – 0,001 г
- CuSO_4 – 0,00019 г
- CoCl_2 – 0,00016 мг
- $\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ – 0,003 г
- MnCl_2 – 0,00064 г
- Na_2MoO_4 – 0,00034 г

Склад поживного середовища для біосинтезу має такий вигляд (г/л):

- Глюкоза – 101,00;
- Етанол – 372,0;
- $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ – 10,0;
- KH_2PO_4 – 8,00;
- $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 3,00;
- $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,72;
- вітамінний розчин – 1,2 мл/л (пантотенат кальцію 1,0 мг/л)
- розчин мікроелементів – 10,0 мл/л (склад мікроелементів, мг/л):
- рН середовища – 5,0.

Таблиця 5.5

Розрахунок вмісту мікроелементів у різних об'ємах поживного середовища

Об'єм середовища, л	Вміст мікроелементів, мг						
	CaCl_2	H_3BO_3	CuSO_4	CoCl_2	$\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	MnCl_2	Na_2MoO_4
0,59	2	0,59	0,11	0,094	1,77	0,37	0,2
5,84	19,79	5,84	1,11	0,93	17,52	3,73	1,98
57,83	196,04	57,83	10,98	9,25	173,49	37,01	19,66
572,52	1940,84	572,52	108,77	91,60	1717,56	366,41	194,65

Щоб процес біосинтезу був максимально ефективним необхідно дотримуватись умови стерильності поживного середовища, яке використовується для культивування *Saccharomyces cerevisiae*. Отже необхідно провести розподіл компонентів поживного середовища на відповідні композиції, щоб правильно обрати режими стерилізації.

Для вирощування посівного матеріалу у колбах на качалках потрібен невеликий об'єм поживного середовища, який будемо стерилізувати в авток-

лаві. Наступні стадії одержання інокуляту та виробничого біосинтезу, підготовку компонентів середовища будемо здійснювати в окремих реакторах-змішувачах або безпосередньо у ферментаційному обладнанні. Глюкоза стерилізуватиметься окремо через її термолабільність.

5.4.1. Підготовка і стерилізація поживного середовища для вирощування інокуляту в колбах на качалці

На цьому етапі, щоб отримати необхідний об'єм інокуляту, потрібно приготувати 590 мл стерильного поживного середовища. Підготовлене середовище розливаємо у 4 стерильних качалочні колби об'ємом по 750 мл. Стерилізацію компонентів середовища в автоклаві проводимо таким чином:

Композиція А: Глюкоза (режим стерилізації: 112 °С, тиск 0,05 МПа, час 20 – 30 хв).

Композиція Б: $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (режим стерилізації: 131°С, 40 хв, тиск 0,15 МПа).

Композиція В: KH_2PO_4 (режим стерилізації: 131°С, 40 хв, тиск 0,15 МПа).

Таблиця 5.6

Композиції стерилізації компонентів для вирощування посівного матеріалу в колбах на качалці

Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	Кількість для приготування 590 мл середовища, г	Композиції	Об'єм композиції V, л
Глюкоза	10,0	5,9	А	0,2
Вода		0,20 л		
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	10,0	5,9	Б	0,20
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	3,00	1,77		
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,72	0,43		
Вода		0,20 л		
KH_2PO_4	8,00	4,72	В	0,17
Вода		0,17 л		
Усього			0,59	

5.4.2. Особливості підготовки і стерилізації поживного середовища для вирощування інокуляту в посівних апаратах

Підготовка посівного матеріалу передбачає приготування 6,43 і 63,6 л стерильного поживного середовища

Вирощування інокуляту в посівному апараті об'ємом 10 л

Для цієї стадії необхідно 6,43 л поживного середовища, склад композиції та умови їх стерилізації аналогічні пункту 5.4.1. Композиція А стерилізується у автоклаві, а композиція Б стерилізується у реакторі об'ємом 10 л.

Окремо готують запасний розчин мікроелементів об'ємом 1000 мл (з розрахунку на використання для біосинтезу), який стерилізують в автоклаві при 131°C упродовж 40 хв. Для приготування розчину зважують CaCl₂ - 3,39 г, H₃BO₃ – 1 г, CuSO₄ – 0,19 г, CoCl₂ – 0,16 г, FeSO₄•7 H₂O – 3 г, MnCl₂ – 0,64 г, Na₂MoO₄ – 0,34 г і розчиняють в 1000 мл води.

Той самий принцип для розчину вітаміна, стерилізацію не проводимо, використовуємо холодну фільтрацію.

Композиція А: Глюкоза (режим стерилізації: 112 °С, тиск 0,05 МПа, час 20 – 30 хв).

Композиція Б: (NH₄)₂SO₄, MgSO₄•7H₂O, ZnSO₄•7H₂O, KH₂PO₄ (режим стерилізації: 131°C, 40 хв).

Таблиця 5.7

Композиції стерилізації компонентів для вирощування посівного матеріалу в інокуляторі об'ємом 10 л (Кз = 0,65)

Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	Кількість для приготування 5,84 л середовища, г	Композиції	Об'єм композиції V, л
Глюкоза	10	64,3	А	1,0
Вода		1,0		
(NH ₄) ₂ SO ₄	10,0	64,3	Б	5,43
KH ₂ PO ₄	8,0	51,44		
MgSO ₄ •7H ₂ O	3,00	19,29		
ZnSO ₄ •7H ₂ O	0,72	4,62		
Вода		4,89 л		
Конденсат				0,48
Усього			6,43 л	

Вирощування інокуляту в посівному апараті об'ємом 100 л

Для цієї стадії необхідно 63,6 л поживного середовища, склад композицій та умови їх стерилізації аналогічні пункту 5.4.1. Композиції стерилізуються у реакторах об'ємом 10 л і 100 л.

Таблиця 5.8

Композиції стерилізації компонентів для вирощування посівного матеріалу в інокуляторі об'ємом 100 л ($K_3 = 0,65$)

Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	Кількість для приготування 57,83 л середовища, г	Композиції	Об'єм композиції V, л
Глюкоза	10,0	636,0	А	5,0 л
Вода	4,5 л			
Конденсат			0,5 л	
(NH ₄) ₂ SO ₄	10,0	636,0	Б	58,6
KH ₂ PO ₄	8,0	508,8		
MgSO ₄ ·7H ₂ O	3,00	190,8		
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0,72	45,79		
Вода	52,0			
Конденсат			5,2 л	
Усього	63,6 л			

5.4.3. Особливості підготовки і стерилізації поживного середовища для виробничого біосинтезу

Для цієї стадії необхідно 629,77 л поживного середовища, тому потреби у використанні установки безперервної стерилізації немає. Склад композицій та умови їх стерилізації:

Композиція А: Глюкоза (режим стерилізації: 112 °С, тиск 0,05 МПа, час 20 – 30 хв).

Композиція Б: (NH₄)₂SO₄, MgSO₄·7H₂O, ZnSO₄·7H₂O, KH₂PO₄, CaCl₂, H₃BO₃, CuSO₄, CoCl₂, FeSO₄·7 H₂O, MnCl₂, Na₂MoO₄ (режим стерилізації: 131°С, 40 хв).

Солі композиції Б, попередньо приготовані у реакторі об'ємом 1 м³, будемо стерилізувати за стандартної для цих компонентів температури безпосередньо у ферментері. Аби не утворювались осадки фосфатних солей, пе-

ред стерилізацією будемо підкислювати середовище 6%-им розчином соляної кислоти до рН 4,0-4,5. Глюкоза стерилізуватиметься окремо через її термолабільність у спеціальному реакторі на 20 л.

40 % розчин глюкози для підживлення готується і стерилізується у окремому реакторі на 1000 л. Для приготування 143 л такого 40%-го розчину необхідно зважити 57,2 кг глюкози і додати 85,8 л питної води.

Розчин етанолу для підживлення під час біосинтезу, необхідний разом із глюкозою для створення надлишку джерела С, готується в окремому реакторі на 500 л. Для цього відміряють 269,58 л спирту етилового. Більш детально процес приготування описаний у розділі 7.

Таблиця 5.9

Композиції стерилізації компонентів для виробничого біосинтезу у ферментері об'ємом 1,0 м³

Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	Кількість для приготування 572,52 л середовища, г	Композиції	Об'єм композиції V, л
Глюкоза (решта у р-ні підживлення)	10,0	6,29 кг	А	10,0
Вода	9,0 л			
Конденсат			1,0	
(NH ₄) ₂ SO ₄	10,0	6,29 кг	Б	150
KH ₂ PO ₄	8,0	5,03 кг		
MgSO ₄ ·7H ₂ O	3,00	1,88 кг		
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0,72	453,4		
CaCl ₂	0,00339	2,1		
H ₃ BO ₃	0,001	0,63		
CuSO ₄	0,00019	0,12		
CoCl ₂	0,00016	0,1		
FeSO ₄ ·7 H ₂ O	0,003	1,88		
MnCl ₂	0,00064	0,4		
Na ₂ MoO ₄	0,00034	0,21		
Вода	135 л			
Конденсат			15 л	
Усього	629,77 л			

5.4.4 Обґрунтування вибору розчинів для регуляції рН

Щоб не утворювались осадки фосфатних солей, перед стерилізацією будемо підкислювати середовище 6%-им розчином соляної кислоти до рН 4,0-

4,5. Оскільки культивування продуценту і біосинтез ергостерину *S. cerevisiae* передбачає підтримку рН на рівні 6,0, то необхідна попередня підготовка титрувального агенту, 6%-вий розчину натрію гідроксиду. Розраховані дані щодо необхідних об'ємів розчинів NaOH та HCl наведено у табл. 5.10.

Таблиця 5.10

Розраховані об'єми та особливості приготування 6 % р-нів NaOH та HCl

Об'єм середовища, л	6% NaOH		6 % HCl	
	Об'єм, мл	Особливості приготування	Об'єм, мл	Особливості приготування
5,84	11,68	У колбі на 20 мл	11,68	У колбі на 2 л
57,81	115,62	У колбі на 200 мл	115,62	
572,52	1145,04	У колбі на 2 л	1145,04	

Отже, технологічна схема, окрім стадій підготовки поживного середовища, включає додаткову стадію з приготування та стерилізації 6% розчинів NaOH і HCl.

Крім того, необхідно передбачити реактори для приготування та стерилізації композицій, об'ємами: 2x10 л, 20 л, 100 л і 2x1000 л. Також необхідно передбачити реактори для приготування етанолу та стерилізації вітамінного розчину і розчину підживлення мікроелементів, об'ємами: 500 л, 2x10 л

РОЗДІЛ 6. СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ

Узагальнений перелік обладнання, використовуваного для біосинтезу ергостерину наведено у табл. 6.1. Відповідне обладнання представлено у графічній частині (апаратурна схема).

Таблиця 6.1

Специфікація обладнання. Виробництво ергостерину

Позиція	Найменування позиції	Кількість	Характеристика обладнання
1	2	3	4
ПЗ-1	Повітрозабірник	1	Повітрозабірник ПОВІТРОЗАБІРНИК КРУГЛИЙ ZL-100 ZS. діаметр - 100 мм, Матеріал: Оцинкована сталь ZS [35].
Ф-2	Фільтр грубого очищення	1	ФІЛЬТР БОКС ВІД ПИЛУ ВЕНТС ФБ 500Х250. Максимальний тиск: до 15 бар. Розмір патрубків: 500х250 мм [36].
К-3	Компресор стиснення	1	Компресор Вауер I 100-3-MV Продуктивність компресора: 85 – 610 л/хв. Тиск компресора: 90 – 420 бар [37].
Т-4	Теплообмінник-охолоджувач	1	Фреоновий охолоджувач SDC 60-30. Виробник: Україна. Холодоагент: вода промислового водопостачання [38].
Р-5	Ресивер	1	РЕСИВЕР ПОВІТРЯНИЙ ВЕРТИКАЛЬНИЙ 1150 Л РВ 1150.900 РЕСИВЕР П. Виробник: Україна. Матеріал: нержавіюча сталь. Робочий об'єм: 1150 л. Робоча температура: -20 – +100 °С [39].
Т-6	Теплообмінник-нагрівач	1	Теплообмінник кожухотрубний Thermokey TLE 585/3. Виробник: Thermokey. Теплова потужність: 585 кВт. Витрата води 100,41 м ³ /год [40].
Ф-7	Фільтр головного очищення	1	Alter Air (F4-F9). Матеріал: 100% поліестер. Розміри: 592х592х292 мм. [41].

					НУХТ БТЕК 05.01.17 КР ПЗ		
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата			
Розроб.	Ромашкан Т. В.				Літ.	Арк.	Акресив
Консульт.						50	89
Керівник	Резніченко Ю.М.				Кафедра БТМ		
Н. Контр.							
Зав. каф.	Стабніков В.П.						
					РОЗДІЛ 6. СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ		

Продовження табл. 6.1

ІФ-8, ІФ-9, ІФ-10	Індивідуальний фільтр	3	Фільтруючий елемент Alup AFC 30. Виробник: Omega Air. Робочий тиск: 0-16 бар [42].
Д-11, Д-12, Д-13	Ваговий дозатор для компонентів середовища	3	Hualian ДВС-301-50-1. Межі дозування: 5 - 50 кг. Матеріал: нержавіюча сталь. Продуктивність: до 20 доз/хв. [43]
РЗ-14	Реактор-змішувач для підготовки композиції Б	1	Реактор-змішувач РТ-10EDSS Об'єм: 10 л. Виробник: Тайвань. Ма-теріал: 316 нержавіюча сталь. Максимально допустимий тиск: 4.1bar Розміри: 290 × 310 × 620 мм [44]
ВН-15	Насос для перекачування	1	Насос LEO 3.0. Потужність: 550 Вт. Торгова марка Leo. Продуктивність: 20 л/хв. Матеріал валу: AISI 304 нержавіюча сталь. Розміри: 476x190x212 [45]
І-16	Інокулятор	1	Інокулятор Biostat D-DCU. Об'єм: 10 л. Виробник: Sartorius. Матеріал: 316 L нержавіюча сталь. Комплектація: сорочка, пропелерна мішалка, датчики температури, кисню і рН. Розміри: 1.48 x 2.1 x 1.1 м. [46]
РЗ-17	Реактор-змішувач для підготовки композиції А	1	Реактор-змішувач РТ-10EDSS Об'єм: 10 л. Виробник: Тайвань. Ма-теріал: 316 нержавіюча сталь. Максимально допустимий тиск: 4.1bar Розміри: 290 × 310 × 620 мм [44]
РЗ-18	Реактор-змішувач для підготовки композиції Б	1	Реактор-змішувач BSF-100L. Об'єм: 100 л. Виробник: Nanbei. Матеріал: SUS316L/SUS304 нержавіюча сталь. Максимально допустимий тиск: 4.1 бар. Розміри: 690x690x2350 мм [47]
Н-19	Насос для перекачування	1	Насос LEO 3.0. Потужність: 550 Вт. Торгова марка Leo. Продуктивність: 20 л/хв. Матеріал валу: AISI 304 нержавіюча сталь. Розміри: 476x190x212 [45]
Н-20	Насос для перекачування	1	Насос LEO 3.0. Потужність: 550 Вт. Торгова марка Leo. Продуктивність: 20 л/хв. Матеріал валу: AISI 304 нержавіюча сталь. Розміри: 476x190x212 [45]
І-21	Інокулятор	1	Інокулятор Biostat D-DCU. Об'єм: 100 л. Виробник: Sartorius. Матеріал: 316 L нержавіюча сталь. Комплектація: сорочка, пропелерна мішалка, датчики температури, кисню і рН. Розміри: 1.95 x 2.56 x 1.57 м [46]

Продовження табл. 6.1

P3-22	Реактор-змішувач для підготовки композиції А	1	Реактор-змішувач РТ-20EDSS. Об'єм: 20 л. Виробник: Тайвань. Матеріал: 316 нержавіюча сталь. Максимально допустимий тиск: 4.1 бар Розміри: 350 × 405 × 852 мм [48]
P3-23	Реактор-змішувач для підготовки композиції Б	1	Реактор-змішувач. Об'єм: 1000 л. Матеріал: SUS316L/SUS304 нержавіюча сталь. Максимально допустимий тиск: 4.1 бар. Розміри: 960 x 1530 mm [49]
P3-24	Реактор-змішувач для приготування розчину підживлення глюкози	1	Реактор-змішувач. Об'єм: 200 л. Виробник: Influidtec. Матеріал: SUS316L/SUS304 нержавіюча сталь. Максимально допустимий тиск: 4.1 бар. Розміри: 500 x 2300 mm [50]
H-25	Насос для перекачування	1	Насос LEO 3.0. Потужність: 550 Вт. Торгова марка Leo. Продуктивність: 20 л/хв. Матеріал валу: AISI 304 нержавіюча сталь. Розміри: 476x190x212 [45]
H-26	Насос для перекачування	1	Насос LEO 3.0. Потужність: 550 Вт. Торгова марка Leo. Продуктивність: 20 л/хв. Матеріал валу: AISI 304 нержавіюча сталь. Розміри: 476x190x212 [45]
H-27	Насос для перекачування	1	Насос LEO 3.0. Потужність: 550 Вт. Торгова марка Leo. Продуктивність: 20 л/хв. Матеріал валу: AISI 304 нержавіюча сталь. Розміри: 476x190x212 [45]
P3-28	Реактор-змішувач для етанолу	1	Реактор-змішувач ФР-500. Виробник: ПРОМВИТ, Україна. Матеріал: нержавіюча сталь AISI 316L. Розміри: 1300 × 700 × 1600 мм [51]
H-29	Насос для перекачування	1	Насос LEO 3.0. Потужність: 550 Вт. Торгова марка Leo. Продуктивність: 20 л/хв. Матеріал валу: AISI 304 нержавіюча сталь. Розміри: 476x190x212 [45]
Ф-30	Ферментер	1	Інокулятор Mobius®. Об'єм: 1000 л. Виробник: Merch. Матеріал: 316 L нержавіюча сталь. Комплектація: сорочка, пропелерна мішалка, датчики температури, кисню і рН. Н: 3.10 m, W: 1.95 m, D: 1.65 m. Вага: 1220 кг [52]
BH-31	Відцентровий насос для перекачування	1	Насос LEO 3.0. Потужність: 550 Вт. Торгова марка Leo. Продуктивність: 20 л/хв. Матеріал валу: AISI 304 нержавіюча сталь. Розміри: 476x190x212 [45]

РОЗДІЛ 7. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ.

Загальна технологічна схема виробництва ергостеролу *Saccharomyces cerevisiae* містить допоміжні (ДР) та основні роботи (ТП). Стадії допоміжних робіт включають в себе: підготовку стерильного аераційного повітря, титрувальних розчинів HCl та NaOH, а також приготування та стерилізацію розчину підживлення глюкози і поживних середовищ. Підготовка посівного матеріалу і виробничий біосинтез належать до стадій технологічного процесу.

ДР 1. Підготовка аераційного повітря

ДР 1.1. Забір атмосферного повітря

Атмосферне повітря відбирають за допомогою повітрязабірника (ПЗ-1) у найвищій точці – на висоті 13 м (висота поверху – 6 м, кількість поверхів – 1, косий дах будівлі (~1,5 м), + 2-3 метри), де розміщують обладнання для стиснення та очищення повітря.

ДР 1.2. Очищення повітря від грубих часток

Попереднє очищення повітря проводять у фільтрі (Ф-2), що забезпечує ступінь очищення до 90%, затримуючи при цьому частинки діаметром 50 мкм.

ДР 1.3. Стиснення повітря

Стискання повітря здійснюють у компресорі (К-3), щоб забезпечити аерацію та подолати гідравлічний тиск стовпа рідини у ферментері. Умови процесу: тиск – 0,35 МПа, температура – до 250°C.

ДР 1.4. Охолодження повітря і видалення зайвої вологи

Стиснене повітря, утворене при компресуванні, (від ДР 1.3) надходить до теплообмінника-охолоджувача (Т-4), де охолоджується до температури 25-30°C. Згодом зайву вологу видаляють за допомогою ресивера (Р-5), де проходить усунення пульсації руху повітря. На даному етапі показник вологості зменшується до 60%.

					НУХТ БТЕК 05.01.17 КР ПЗ			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Ромашкан Т. В.			РОЗДІЛ 7. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ	Літ.	Арк.	Акрушів
Консульт.							53	539
Керівник		Резніченко Ю.М.				Кафедра БТМ		
Н. Контр.								
Зав. каф.		Стабніков В.П.						

ДР 1.5. Нагрівання повітря

Охолоджене повітря (від ДР 1.4) надходить до теплообмінника-нагрівача (Т-6), де нагрівається до температури 45-50°C. На даному етапі показник вологості зменшується до 50%.

ДР 1.6. Очищення повітря у головному фільтрі

Нагріте повітря (від ДР 1.5) надходить до головного фільтра очистки (Ф-7), який ставлять біля ферментаційних відділень. На даному етапі ступінь очищення складає 95%.

ДР 1.7. Очищення повітря в індивідуальному фільтрі

Повітря (від ДР 1.6) через трубопроводи подається безпосередньо в індивідуальні фільтри кожного з інокуляторів до ТП 5.5, ТП 5.6, ТП 5.7, ТП 6.1. Ступінь кінцевої очистки повітря складає 99,999% та КУО – 0.

ДР 2. Підготовка титрувальних агентів

ДР 2.1. Підготовка 6%-го розчину HCl

ДР 2.1.1. Приготування 6%-го розчину HCl для підкислення середовища в інокуляторах об'ємом 10, 100, 1000 л

Для того, аби приготувати 1272,34 мл 6%-го розчину HCl потрібно у колбу об'ємом 2 л додати 1066,01 мл води дистильованої через лічильник додати за допомогою мірного циліндра на 250 мл при постійному перемішуванні 206,32 мл 37%-го розчину соляної кислоти (Кх).

ДР 2.2. Приготування і стерилізація 6%-го розчину NaOH

ДР 2.2.1. Приготування і стерилізація 6%-го розчину NaOH для підлужнення поживного середовища у посівному апараті об'ємом 10,0 л.

Для приготування 10,4 мл 6%-го розчину NaOH на технічних вагах зважують 0,62 г кристалічного їдкого натру. Наважку поміщають у колбу на 25 мл і за допомогою мірного циліндра на 15 мл додають 10,4 мл питної води, перемішують до повного розчинення, закривають ватно-марлевою пробкою. Стерилізують в автоклаві (0,15 МПа) протягом 40 хв.

ДР 2.2.2. Приготування і стерилізація 6%-го розчину NaOH для підлужнення поживного середовища у посівному апараті об'ємом 10,0 л.

Для приготування 11,86 мл 6%-го розчину NaOH на технічних вагах зважують 0,71 г кристалічного їдкого натру. Наважку поміщають у колбу на 10 мл і за допомогою мірного циліндра на 20 мл додають 11,86 мл питної води, перемішують до повного розчинення, закривають ватно-марлевою пробкою. Стерилізують в автоклаві (0,15 МПа) протягом 40 хв.

ДР 2.2.3. Приготування і стерилізація 6%-го розчину NaOH для підлужнення поживного середовища у посівному апараті об'ємом 100 л.

Для приготування 115,62 мл 6%-го розчину NaOH на технічних вагах зважують 6,93 г кристалічного їдкого натру. Наважку поміщають у колбу об'ємом 200 мл і за допомогою мірного циліндру додають 115,62 мл питної води, перемішують до повного розчинення. Стерилізують в автоклаві (0,15 МПа) протягом 40 хв.

ДР 2.2.4. Приготування і стерилізація 6%-го розчину NaOH для підлужнення поживного середовища у посівному апараті об'ємом 1000,0 л.

Для приготування 1145,04 мл 6%-го розчину NaOH на технічних вагах зважують 68,70 г кристалічного їдкого натру. Наважку поміщають у колбу об'ємом 2 л і за допомогою лічильника додають 1145,04 мл питної води, перемішують до повного розчинення. Стерилізують при 131 °С (0,15 МПа) протягом 40 хв.

ДР 3. Приготування і стерилізація розчину підживлення

ДР 3.1 Приготування і стерилізація 40 % розчину глюкози

Через ваговий дозатор у реактор-змішувач (РЗ-24) на 1 м³ вносять 57,2 кг попередньо зваженої глюкози, додають через лічильник 85,8 води питної, вмикають перемішуючий пристрій. Для кращого розчинення компонентів у сорочку реактора подають пару, щоб досягти температури у збірнику на рівні 40 С. Стерилізують при 112 °С (0,05 МПа) протягом 40 хв.

ДР 4. Підготовка етанолу для підживлення

ДР 4.1 Приготування етанолу для підживлення

Через лічильник у реактор-змішувач (РЗ-28) на 500 л подають 269,58 л спирту етилового (із розрахунку згідно [4], що під час біосинтезу використо-

вується 372 г етанолу на л поживного середовища або (372 г /079 г/см³) 470,88 см³/мл етанолу на л поживного середовища). Розчин використовують для підживлення на етапі виробничого біосинтезу.

ДР 5. Підготовка вітамінного розчину підживлення для вирощування інокуляту

ДР 5.1 Приготування і стерилізація вітамінного розчину підживлення

Приготувати необхідно 763 мл розчину підживлення (із розрахунку 1,2 мл розчину на 636,17 л поживного середовища). Для приготування розчину на вагах зважують 0,76 мг пантотенату кальцію і переносять у колбу на 1 л, через лічильник подають 763 мл води дистильованої, перемішують і закривають ватно-марлевою пробкою. Стерилізують холодним фільтруванням, фільтруючи через мембрану 0,22 мкм.

ДР 6. Підготовка і стерилізація розчину мікроелементів

ДР 6.1 Приготування і стерилізація розчину підживлення мікроелементів

Для приготування 1000 мл розчину зважують CaCl₂ - 3,39 г, H₃BO₃ – 1 г, CuSO₄ – 0,19 г, CoCl₂ – 0,16 г, FeSO₄•7 H₂O – 3 г, MnCl₂ – 0,64 г, Na₂MoO₄ – 0,34 г, переносять у колбу на 2 л, доливають за допомогою мірного циліндра на 1 л 1000 мл води дистильованої і закривають ватно-марлевою пробкою. Стерилізують в автоклаві при 0,15 МПа протягом 40 хв.

ДР 7. Приготування і стерилізація поживних середовищ

ДР 7.1. Приготування і стерилізація поживного середовища для вирощування інокуляту у колбах на качалках

ДР 7.1.1. Приготування і стерилізація композиції А

На технічних вагах зважують 5,9 г глюкози і переносять у колбу об'ємом 500 мл, додають за використання мірного циліндра на 200 мл дистильовану воду об'ємом 200 мл, перемішують, закривають ватно-марлевою пробкою та стерилізують в автоклаві (0,05 МПа) протягом 30 хв (Кт, Км).

ДР 7.1.2. Приготування і стерилізація композиції Б

На технічних вагах зважують 5,9 г $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 1,77 г $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ та 0,43 г $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$. Отримані наважки переносять у колбу об'ємом 500 мл, додають за використання мірного циліндра на 250 мл дистильовану воду об'ємом 200 мл, перемішують, закривають ватно-марлевою пробкою та стерилізують в автоклаві (0,15 МПа) протягом 40 хв (Кт, Км).

ДР 7.1.3. Приготування і стерилізація композиції В

На технічних вагах зважують 4,72 г K_2HPO_4 . Отриману наважку переносять у колбу об'ємом 500 мл, додають за використання мірного циліндра на 200 мл дистильовану воду об'ємом 177 мл, перемішують, закривають ватно-марлевою пробкою та стерилізують в автоклаві (0,15 МПа) протягом 40 хв (Кт, Км).

ДР 7.1.4. Змішування композицій А, Б, В

У колбу об'ємом 1000 мл в асептичних умовах зливають простерилізовані композиції А (від ДР 7.1.1), Б (від ДР 7.1.2) і В (від ДР 7.1.3). Після завершення процесу здійснюють мікробіологічний контроль.

ДР 7.2. Приготування і стерилізація поживного середовища для інокулятора об'ємом 10 л

Приготувати треба 6,43 л ПС.

ДР 7.2.1. Приготування і стерилізація композиції А

На технічних терезах зважують 64,3 г глюкози. Наважку поміщають у колбу об'ємом 2 л додають за допомогою мірного циліндра 1000 мл питної води, перемішують, закривають ватно-марлевым корком і стерилізують в автоклаві (0,05 МПа) протягом 40 хв.

ДР 7.2.2. Приготування і стерилізація композиції Б

На технічних терезах зважують 64,3 г KH_2PO_4 , 51,44 г $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 19,29 г $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ та 4,62 г $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ і переносять у попередньо підготовлений реактор-змішувач (РЗ-14) об'ємом 10 л, додають через лічильник 4,8 л води питної та вмикають мішалку. Для кращого розчинення компонентів у сорочку реактора подають пару, щоб досягти температури у реакторі на рівні 40 °С. Отриманий розчин перекачують відцентровим насосом до інокулятора

(I-16) на 10 л, подають 6 %-ий розчин HCl (від ДР 1.1) до досягнення рН 4,0-4,5 і вмикають перемішуючий пристрій і стерилізують в інокуляторі при 131 °С (0,15 МПа) протягом 40 хв.

ДР 7.3. Приготування і стерилізація поживного середовища для інокулятора об'ємом 100 л

Приготувати треба 63,6 л ПС.

ДР 7.3.1. Приготування і стерилізація композиції А

На технічних терезах зважують 636,0 г глюкози і переносять у реактор-змішувач (РЗ-17) об'ємом 10 л. Для кращого розчинення компонентів у сорочку реактора подають пару, щоб досягти температури у збірнику на рівні 40 °С. Додають через лічильник 4,5 л води питної, вмикають перемішуючий пристрій і стерилізують при 112 °С (0,05 МПа) протягом 20-30 хв.

ДР 7.3.2. Приготування і стерилізація композиції Б

На технічних терезах зважують 636,0 г KH_2PO_4 , 508,8 г $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 190,8 г $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ та 45,79 г $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ і переносять у реактор-змішувач (РЗ-18) об'ємом 100 л, додають через лічильник 52,0 л води питної та вмикають мішалку. Для кращого розчинення компонентів у сорочку реактора подають пару, щоб досягти температури у реакторі на рівні 40 °С. Отриману суміш переносять в інокулятор (I-21), подають 6 %-ий розчин HCl (від ДР 1.1) до досягнення рН 4,0-4,5 і стерилізують при 131 °С (0,15 МПа) протягом 40 хв.

ДР 7.4. Приготування і стерилізація поживного середовища для виробничого біосинтезу у ферментері об'ємом 1000 л

Приготувати треба 629,77 л ПС.

ДР 7.4.1. Приготування і стерилізація композиції А

Через об'ємно-ваговий дозатор у реактор-змішувач (РЗ-22) об'ємом 20 л подають 6,29 кг глюкози додають через лічильник 9,0 л води питної, вмикають перемішуючий пристрій. Для кращого розчинення компонентів у сорочку реактора подають пару, щоб досягти температури у збірнику на рівні 40 °С. Стерилізують при 112 °С (0,05 МПа) протягом 20-30 хв.

ДР 7.4.2. Приготування і стерилізація композиції Б

Через об'ємно-ваговий дозатор у реактор-змішувач (РЗ-23) об'ємом 1000 л подають 5,03 кг KH_2PO_4 , 6,29 кг $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, та зважені на технічних вагах 453,4 г $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 1,88 кг $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 2 г CaCl_2 , 0,63 г H_3BO_3 , 0,12 г CuSO_4 , 0,1 г CoCl_2 , 1,88 г $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,4 г MnCl_2 , 0,21 г Na_2MoO_4 і додають через лічильник 150,0 л води питної та вмикають мішалку. Для кращого розчинення компонентів у сорочку реактора подають пару, щоб досягти температури у реакторі на рівні 40 °С. Отриману суміш перекачують у ферментер (Ф-30), подають 6 %-ий розчин HCl (від ДР 1.1) до досягнення рН 4,0-4,5 і стерилізують при 131 °С (0,15 МПа) протягом 40 хв.

ТП 8. Підготовка посівного матеріалу

ТП 8.1. Підтримання колекційної культури

Зберігання колекційної культури *Saccharomyces cerevisiae* S1 здійснюють у пробірці на YPD агарі [3]. Щомісяця або 2 рази на місяць проводять пересіви на свіжоприготоване середовище. Під час робіт із такою колекційною культурою дотримуються правил асептики (Кт, Км).

ТП 8.2. Одержання робочої культури

Розсів колекційної культури *S. cerevisiae* S1 від ТП 4.1 здійснюють на чашки Петрі із YPD агарі з метою отримання ізольованих колоній. Робочу культуру вирощують у термостаті за температури 30 °С (24 год) (Кт, Км).

ТП 8.3. Вирощування інокуляту у пробірках на агаризованих середовищах

Із чашок Петрі одержані ізольовані колонії бактеріального продуцента від ТП 8.2 здійснюють пересів за допомогою петлі у пробірки зі скошеним YPD агаром (для засіву 1 пробірки використовують 1 ізольовану колонію). Час вирощування інокуляту складає 36 годин, а температура – 30 °С. Для здійснення мікробіологічного контролю проводять відбір проби із пробірок кожні 4 год (Кт, Км 4.3).

ТП 8.4. Вирощування інокуляту в колбах на качалках

В асептичних умовах у колбу об'ємом 1 л із стерильною композицією А, Б і В (від ДР 7.1.4), перемішують і розливають по 145 мл у 4 стерильних качалочні колби об'ємом 750 мл.

У пробірку з робочою культурою *S. cerevisiae* (від ТП 8.3) вносять 5 мл фізіологічного розчину, суспендують клітини, стерильною піпеткою відбирають отриману суспензію бактерій і вносять у качалочні колби із поживним середовищем. Для засіву 1 колби використовують бактеріальну суспензію, одержану з 1 пробірки.

Культивують на качалках (500 об/хв) при температурі 30 °С упродовж 36 год і здійснюють мікробіологічний контроль. Після проведення мікробіологічного контролю культуральну рідину зливають у засівну колбу об'ємом 1 л.

ТП 8.5. Вирощування в інокуляторі об'ємом 10 л

В інокулятор (І-16) подають композицію Б (від ДР 7.2.2), додають композицію А (від ДР 7.2.1), вмикають перемішуючий пристрій і доводять 6%-им розчином NaOH (від ДР 2.2.1) рН середовища за показником датчика рН до 5,0. Через засівну колбу вносять посівний матеріал (від ТП 8.4). Культивують при температурі 30 °С і концентрації розчиненого кисню 1-3 л/хв упродовж 36 год. Для інтенсифікації розчинення кисню у культуральній рідині, кількість обертів мішалки встановлюють на максимальне допустиме для інокулятора значення. З метою попередження утворення воронки в культуральній рідині, рекомендується передбачити встановлення відбійних лопасти на стінках ємності.

Кожні 4 год з інокулятора відбирають проби культуральної рідини для проведення мікробіологічного контролю.

ТП 8.6. Вирощування в інокуляторі об'ємом 100 л

В інокулятор (І-21) із композицією Б (від ДР 7.3.2) додають композицію А (від ДР 7.3.1), вмикають перемішуючий пристрій і доводять 6%-им розчином NaOH (від ДР 2.2.2) рН середовища за показником датчика рН до 5,0. Через засівну колбу вносять посівний матеріал (від ТП 8.5). Культивують при

температурі 30 °С і концентрації розчиненого кисню 1-3 л/хв упродовж 36 год. Для інтенсифікації розчинення кисню у культуральній рідині, кількість обертів мішалки встановлюють на максимальне допустиме для інокулятора значення. З метою попередження утворення воронки в культуральній рідині, рекомендується передбачити встановлення відбійних лопастей на стінках ємності.

Кожні 4 год з інокулятора відбирають проби культуральної рідини для проведення мікробіологічного контролю.

ТП 9. Виробничий біосинтез

ТП 9.1. Виробничий біосинтез у ферментері об'ємом 1,0 м³

У ферментер (Ф-30) об'ємом 1,0 м³ із простерилізованою композицією Б (від ДР 7.4.2), подають стерильну композицію А (від ДР 7.4.1), вмикають перемішувальний пристрій і доводять 6%-им розчином NaOH (від ДР 2.2.3) за показником датчика рН 5,0. 143 л розчину глюкози для підживлення (від ДР 3.1) насосом вносять порційно (5 разів), кожні 14 год по 28,6 л (на 14, 28, 32, 46 і 60 год культивування). Також подають 269,58 л етанолу для підживлення (від ДР 4.1), порційно (6 разів), починаючи із 24 год, кожні 6 год по 44,93 л (на 24, 30, 36, 42, 48, 54 год культивування). Подають розчин мікроелементів (від ДР 5.1) і вітамінний розчин (від ДР 6.1).

Через трубу перетискування подають із попередньої стадії інокулят (від ТП 8.6). Вирощують за температури 30 °С і концентрації розчиненого кисню 1-3 л/хв упродовж 72 год.

Для інтенсифікації розчинення кисню у культуральній рідині, кількість обертів мішалки встановлюють на максимальне допустиме для інокулятора значення. З метою попередження утворення воронки в культуральній рідині, рекомендується передбачити встановлення відбійних лопастей на стінках ємності.

Кожні 4 год та по завершенню біосинтезу із ферментера відбирають проби культуральної рідини для проведення мікробіологічного контролю та

зупиняють процес біосинтезу за досягнення концентрації ергостерину 2986,0 мг/л (Кт, Км)

РОЗДІЛ 8. КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА

Періодично(кожні 8 год), на протязі всього процесу культивування відбирають проби поживних середовищ, посівного матеріалу, культуральної рідини для мікробіологічного контролю, а також для контролю показників росту і біосинтезу: концентрації ергостерону та біомаси дріжджів, контролю рівня джерела вуглецю (глюкози) та нітрогену ((NH₄)₂SO₄) у середовищі.

8.1. Мікробіологічний контроль

Стерильність контролюється на протязі всіх стадій культивування *Saccharomyces cerevisiae* за рахунок проведення мікробіологічного контролю з метою своєчасного виявлення випадку потрапляння сторонньої мікрофлори.

Контролюють проби простерилізованого поживного середовища, яке висівають на чашки Петрі із глюкозо-картопляним агаром (ГКА) /суло-агаром (СА) для виявлення грибів і дріжджів та на м'ясо-пептонний агар (МПА) – для визначення бактерій.

Підготовка чашок Петрі. У стерильні чашки Петрі заливають розплавлений рідкий агар (20 – 30 мл) і полишають на 2 – 3 доби при температурі 30 °С для рівномірного застигання поживного середовища, попередньо перевернувши кришками донизу.

Коли агар застигне, на поверхню обраного виду агару здійснюють посів стерильною піпеткою, відбираючи 0,1 мл від об'єму проби і наносять суспензію. Суспензію розподіляють на поверхні середовища стерильною бактеріологічною петлею або стерильним шпателем Дригальського. Чашки ставлять у термостат (28 – 30 °С на 1 – 2 доби (МПА) і 24 – 26 °С на 3 – 5 діб (СА або ГКА)) [53].

Після закінчення періоду експозиції чашки досліджують на наявність

					НУХТ БТЕК 05.01.17 КР ПЗ			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Ромашкан Т. В.			РОЗДІЛ 8. КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА	Літ.	Арк.	Акрушів
Консульт.							63	68
Керівник		Резніченко Ю.М.				Кафедра БТМ		
Н. Контр.								
Зав. каф.		Стабніков В.П.						

чужорідної мікрофлори. На чашках із висівами інокуляту культуральної рідини мають бути ідентифіковані виключно колонії *S. cerevisiae* (рис. 8.1).



Рис. 8.1. Колонії *S. cerevisiae* при рості агаризованому середовищах

Мікроскопіюють клітини *S. cerevisiae* у світловому мікроскопі. На предметне скло за допомогою стерильної петлі наносять 10 мкл культуральної рідини. Краплю із суспендією клітин бактеріальною петлею розмазують по склу (мазком приблизно 1 см). Мазок сушать за кімнатної температури до повного висихання. У зразку мікроскопіюють клітини *S. cerevisiae* (рис 8.2). Клітини *S. cerevisiae* яйцеподібної форми (діаметр 2,5-10,0 мкм та довжина 4,0-21,0).

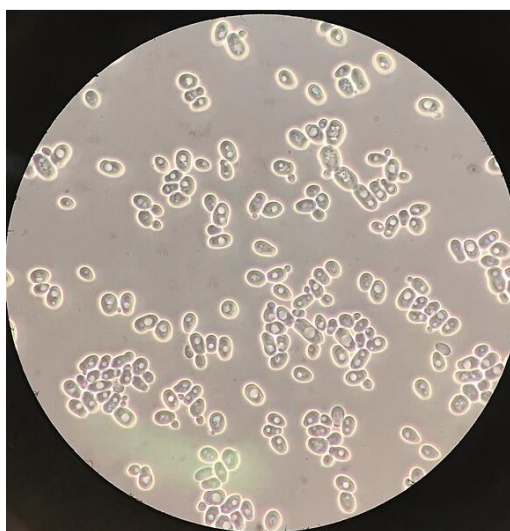


Рис. 8.2. Клітини *S. cerevisiae* під мікроскопом

8.2. Показники росту і синтезу цільового продукту

8.2.1. Визначення концентрації біомаси дріжджів

Концентрацію біомаси контролюють шляхом вимірювання оптичної густини зразка культуральної рідини при 600 нм (OD600) за допомогою спектрофотометра видимого діапазону (721G, INESA, Шанхай, Китай), а результати виражалися в г/л [4].

8.2.2. Визначення ергостеролу

Визначення проводять методом ВЕРХ. Суть методу полягає у розділенні компонентів, що відбувається внаслідок відмінності коефіцієнтів розподілення між двома рідкими фазами – рухомою і нерухомою. Розділення компонентів з використанням ВЕРХ засноване на таких принципах: адсорбція, розподілення, іонний обмін, ексклюзія. Колонки в ВЕРХ заповнюють твердими пористими частинками розміром 5 – 10 мкм (силікагель, алюмогель, полімерні сорбенти і ін.), поверхня яких вкрита тонкою плівкою рідкої речовини (нерухома фаза) під великим тиском. Малі розміри часток сорбенту і заповнення ними колонки під тиском робить простір між ними дуже малим. Це підвищує взаємодію речовин, які рухаються через сорбент.

500 мкл дріжджової культуральної рідини двічі промивали стерильною дистильованою водою, 500 мкл спиртового розчину КОН [25% (мас./об.) у 50% EtOH] додавали до дріжджових гранул і перемішують на вортексі протягом 1 хв. Потім зразок культуральної рідини кип'ятили протягом 1 год. Після охолодження на льоду, ергостерин екстрагували 1 мл петролейним ефіром з подальшим інтенсивним перемішуванням протягом 3 хв. 400 мкл шару петролейного ефіру (верхній) збирали та сушили за допомогою вакуумної сушарки. Висушені зразки розчиняли в 500 мкл етанолу та аналізували за допомогою ВЕРХ з використанням колонки C18 (Hypersil BDS 5 мкм, 4,6 мм × 250 мм) з УФ-детектором при 280 нм. Метанол/ацетонітрил (80:20, об./об.) використовували як рухома фаза зі швидкістю елюювання 1 мл/хв [4].

8.2.3. Визначення концентрації джерела вуглецю (глюкози) у середовищі

Відбирають пробу культуральної рідини, центрифугують при 13000 об/хв, 5 хв і фільтрацією через фільтри 0,22 мкм. Концентрації глюкози визначали за допомогою ВЕРХ Prominence LC20A (Shimadzu, Японія.). Використовують колонку НРХ-87Н (Bio-Rad, Hercules, CA, США), детектор RID-10A (Shimadzu, Японія), при 45°C, рухома фаза 5 М р-ну H₂SO₄ при швидкості потоку 0,6 мл/хв [56].

8.2.4. Визначення концентрації джерела азоту (NH₄)₂SO₄) у поживному середовищі

Принцип методу заснований на здатності реактиву Несслера давати кольорову реакцію з іонами амонію, що отримані після мінералізації азотовмісних органічних речовин.

Реактиви: к H₂SO₄, пергідроль (29–35%), реактив Несслера (розчиняють 100 г HgI і 70 г KI в невеликій кількості бідистиляту і змішують із розчином їдкого натру, приготовленим розчиненням 160 г NaOH в 500 мл дистильованої води. Суміш доводять 48 бідистилятом до 1 л. Застосовують прозорий розчин після відстоювання протягом 4 год), розчин амонію сірчаноокислого, що містить 0,05 мг/мл азоту.

На піщаній бані мінералізують 1 мл культуральної рідини (2 паралельні проби) з 0,1 мл концентрованої сірчаної кислоти в пробірках. Паралельно мінералізують контрольну пробу, яка містить 0,1 мл концентрованої сірчаної кислоти. Для прискорення мінералізації в охолоджені випробовуванні і контрольні проби періодично додають по 1–2 краплі пергідролі. Спалювання продовжують до знебарвлення вмісту пробірок.

До отриманих мінералізаторів додають по 8,9 мл дистильованої води, попередньо обмивши ковпачок. На колориметрування відбирають по 1 мл розчину мінералізатору, додають 8,5 мл дистильованої води, перемішують, а потім – по 0,5 мл реактиву Несслера. Проби перемішують і колориметрують

на фотоелектроколориметр з синім світлофільтром (з довжиною хвилі 400 нм) в кюветах, з товщиною шару 10 мм.

Розчином порівняння служить розчин, приготований аналогічно зразку. Вміст загального азоту в препараті у відсотках (X) обчислюють за формулою:

$$X = (B \times 10 \times 100 \times 100) / 1,0 \times 1,0 \times 1000000 = B/10, (6.5)$$

де B – кількість азоту, мкг, знайдена за калібрувальним графіком; 10 – розведення мінералізату; 100 – ступінь розведення рідкого гідролізату; 100 – коефіцієнт перерахунку, %; 1,0 – кількість препарату, мл, взятого для колориметрування; 1,0 – кількість досліджуваного зразка, мл, взятого для мінералізації; 1000000 – коефіцієнт перерахунку, г [54-55].

Дані щодо проведення поетапного контролю виробництва ергостерину *Saccharomyces cerevisiae* наведено у
табл. 8.1.

Таблиця 8.1

Карта поетапного контролю виробництва ергостерину

Номер позиції (контроль-ної точки) та її назва	Об'єкт, обраний для контролю та показник	Засоби та методи контролю	Періодичність здійснення контролю та відбору аналізованих проб	Нормоване значення показника контролюваного об'єкту
1	2	3	4	5
Кт 1.1 <i>Забір атмосферного повітря</i>	Повітрозабірник Висота забору повітря	-	Під час купівлі та при встановленні	H = 12 м
Кт 1.2 <i>Очистка від грубих домішок</i>	Очищене повітря Ступінь очистки, перепад тисків	Манометр, перевірка ступеня очищення згідно з паспортом фільтра	Після проходження через фільтр грубої очистки	E = 90%
Кт 1.3 <i>Стиснення повітря</i>	Стиснене повітря Тиск, температура	Манометр, термометр	Після компресування	P = 0,35-0,5 МПа, t = 120-250°C
Кт 1.4 <i>Охолодження і видалення зайвої вологи</i>	Охоложене повітря Температура, вологовміст	Термометр, психрометр	Після охолодження і видалення вологи	t = 25-35°C, W = 60%
Кт 1.5 <i>Нагрівання повітря</i>	Нагріте повітря Температура, вологовміст	Термометр, психрометр	Після нагрівання	t = 40-50°C, W = 50%
Кт 1.6 <i>Очищення у головному фільтрі</i>	Очищене повітря Ступінь очистки, перепад тисків	Манометр, перевірка ступеня очищення згідно з паспортом фільтра	Після проходження через головний фільтр	E = 95%

Кт, Км 1.7 <i>Очищення в індивідуальному фільтрі</i>	Очищене повітря Ступінь очищення, мікробіологічна чистота	Перевірка ступеня очищення згідно з паспортом фільтра, мікробіологічний контроль	Після проходження через індивідуальний фільтр	E = 99,999%, КУО - 0
Кх, Км 2.1.1 <i>Приготування 6%-го розчину HCl для підкислення середовища в інокуляторах об'ємом 10, 100, 1,0 м³</i>	Розчин соляної кислоти	фізико-хімічний метод	визначення концентрації після приготування розчину	C = 6%
Кт, Кх, Км 2.2.1, 2.2.2, 2.2.3, <i>Приготування і стерилізація 6%-го розчину натрію гідроксиду для підлужнення середовища в інокуляторі об'ємом 10, 100 л</i>	Розчин натрію гідроксиду Тиск, час, концентрація, асептичність	Манометр, годинник, фізико-хімічний метод, мікробіологічний контроль	Тривалість і тиск визначають безперервно, а визначення концентрації та здійснення мікробіологічного контролю після завершення стерилізації	P = 0,15 МПа, τ = 40 хв, C = 6%, відсутність мікробіоти
Кт, Кх, Км 2.2.4 <i>Приготування і стерилізація 6%-го розчину натрію гідроксиду для підлужнення середовища в інокуляторі об'ємом 1,0 м³</i>	Розчин натрію гідроксиду Тиск, час, концентрація, асептичність	Манометр, годинник, фізико-хімічний метод, мікробіологічний контроль	Тривалість і тиск визначають безперервно, а визначення концентрації та здійснення мікробіологічного контролю після завершення стерилізації	P = 0,15 МПа, t = 131 °C τ = 40 хв, C = 6%, відсутність мікробіоти
Кт, Кх, Км 3.1 <i>Приготування і стерилізація розчину підживлення глюкози</i>	Розчин глюкози Тиск, температура, час, стерильність	Манометр, датчик температури, годинник, фізико-хімічний метод, мікробіологічний контроль	Тривалість, температура і тиск визначають безперервно, а здійснення мікробіологічного контролю після завершення стерилізації	t = 112 °C P = 0,05 МПа, τ = 20-30 хв, відсутність мікробіоти

Кт, Кх, Км 4.1 <i>Підготовка етанолу для підживлення</i>	Розчин етанолу	Манометр, датчик температури, годинник, фізико-хімічний метод, мікробіологічний контроль	Тривалість, температура і тиск визначають безперервно, а здійснення мікробіологічного контролю після завершення стерилізації	-
Кт, Кх, Км 5.1 <i>Приготування і стерилізація вітамінного розчину підживлення</i>	Розчин вітаміну	Манометр, датчик температури, годинник, фізико-хімічний метод, мікробіологічний контроль	Тривалість, температура і тиск визначають безперервно, а здійснення мікробіологічного контролю після завершення стерилізації	t = 112 °C P = 0,05 МПа, τ = 20-30 хв, відсутність мікробіоти
Кт, Кх, Км 6.1 <i>Приготування і стерилізація розчину підживлення мікроелементів</i>	Розчин мікроелементів	Манометр, датчик температури, годинник, фізико-хімічний метод, мікробіологічний контроль	Тривалість, температура і тиск визначають безперервно, а здійснення мікробіологічного контролю після завершення стерилізації	t = 131 °C P = 0,15 МПа, τ = 40 хв, відсутність мікробіоти
Кт, Км 7.1.1 <i>Приготування і стерилізація поживного середовища для вирощування інокуляту у колбах на качалках (композиції А)</i>	Композиція А Тиск, час, стерильність	Манометр, годинник, фізико-хімічний метод, мікробіологічний контроль	Тривалість і тиск визначають безперервно, а визначення концентрації та здійснення мікробіологічного контролю після завершення стерилізації	P = 0,05 МПа, τ = 20-30 хв, відсутність мікробіоти
Кт, Км 7.1.2 і 7.1.3 <i>Приготування і стерилізація поживного середовища для вирощування інокуляту у колбах на качалках (композиції Б і В)</i>	Композиція Б і В Тиск, час, стерильність	Манометр, годинник, фізико-хімічний метод, мікробіологічний контроль	Тривалість і тиск визначають безперервно, а визначення концентрації та здійснення мікробіологічного контролю після завершення стерилізації	P = 0,15 МПа, τ = 40 хв, відсутність мікробіоти

Кт, Км 7.2.1, 7.3.1, 7.4.1, 7.5.1 <i>Приготування і стерилізація поживних середовищ для інокулятора об'ємом 10 л, 100 л, 1,0 м³ (композиція А)</i>	Композиція А Тиск, температура, час, стерильність	Манометр, датчик температури, годинник, фізико-хімічний метод, мікробіологічний контроль	Тривалість, температура і тиск визначають безперервно, а визначення концентрації та здійснення мікробіологічного контролю після завершення стерилізації	P = 0,05 МПа, t = 112 °С τ = 20-30 хв, відсутність мікробіоти
Кт, Км 7.2.2, 7.3.2, 7.4.2, 7.5.2 <i>Приготування і стерилізація поживних середовищ для інокулятора об'ємом 10 л, 100 л, 1,0 м³ (композиція Б)</i>	Композиція Б Тиск, температура, час, стерильність	Манометр, датчик температури, годинник, фізико-хімічний метод, мікробіологічний контроль	Тривалість, температура і тиск визначають безперервно, а визначення концентрації та здійснення мікробіологічного контролю після завершення стерилізації	P = 0,15 МПа, t = 131 °С τ = 40 хв, відсутність мікробіоти
Кт, Км 8.1 <i>Підтримання колекційної культури</i>	Колекційна культура <i>Saccharomyces cerevisiae</i> S1 температура, час, мікробіологічна чистота	Холодильник, мікробіологічний контроль	Температура – безперервно при зберіганні, мікробіологічний контроль – кожні 3-4 місяці	t = 2 – 4 °С, τ = 3 – 4 місяці, відсутність сторонньої мікробіоти
Кт, Км 8.2 <i>Одержання робочої культури</i>	Робоча культура <i>Saccharomyces cerevisiae</i> S1 на чашках Петрі температура, час, мікробіологічна чистота	Термостат, мікробіологічний контроль	Температура контролюється під час вирощування безперервно, а після вирощування – мікробіологічний контроль	t = 30 °С, τ = 24 год, відсутність сторонньої мікробіоти
Кт, Км 8.3 <i>Вирощування інокуляту у пробірках на агаризованих середовищах</i>	Робоча культура <i>Saccharomyces cerevisiae</i> S1 на чашках Петрі температура, час, мікробіологічна чистота	Термостат, мікробіологічний контроль	Температура контролюється під час вирощування безперервно, а після вирощування – мікробіологічний контроль	t = 30 °С, τ = 36 год, відсутність сторонньої мікробіоти

<p>Кт, Км 8.4 <i>Вирощування інокуляту у колбах на качалках</i></p>	<p>Посівний матеріал температура, час, частота обертів мішалки, концентрація біомаси, мікробіологічна чистота</p>	<p>Термометр, годинник, тахометр, спектрофотометр, мікробіологічний контроль</p>	<p>Температура і частота обертів контролюється під час вирощування безперервно, а після вирощування – мікробіологічний контроль та визначення концентрації біомаси</p>	<p>t = 30 °C, τ = 36 год, відсутність сторонньої мікробіоти</p>
<p>Кт, Км 8.5, 8.6, 8.7 <i>Вирощування інокуляту у посівних апаратах об'ємом 10 і 100 л</i></p>	<p>Посівний матеріал температура, час, рН, частота обертів мішалки, частота розчиненого кисню, концентрація біомаси, мікробіологічна чистота</p>	<p>Датчик температури, рО₂ і рН, годинник, тахометр, ротаметр, спектрофотометр, мікробіологічний контроль</p>	<p>Температура, рН, концентрація кисню і частота обертів мішалки контролюється під час вирощування продуцента безперервно, а після вирощування – мікробіологічний контроль (також кожні 4 год) та визначення концентрації біомаси</p>	<p>t = 30 °C, τ = 36 год, рН = 5,0, відсутність сторонньої мікробіоти</p>
<p>Кт, Км 9.1 <i>Виробничий біосинтез у ферментері об'ємом 1,0 м³</i></p>	<p>Культуральна рідина температура, час, рН, частота обертів мішалки, частота розчиненого кисню, концентрація біомаси і ергостерину, мікробіологічна чистота</p>	<p>Датчик температури, рО₂ і рН, годинник, тахометр, ротаметр, центрифуга, спектрофотометр, мікробіологічний контроль</p>	<p>Температура, рН, концентрація кисню і частота обертів мішалки контролюється під час вирощування продуцента безперервно, а після вирощування і кожні 4 год – мікробіологічний контроль та визначення концентрації біомаси та рибофлавіну</p>	<p>t = 30 °C, τ = 72 год рН = 5,0 Кер = 2986 Мг/л, відсутність сторонньої мікробіоти</p>

РОЗДІЛ 9 ОХОРОНА ДОВКІЛЛЯ

9.1. Аналіз технологічної схеми виробництва ергостерину на місця емісії твердих, рідких та газоподібних відходів

Промислове виробництво ергостерину штамом *Saccharomyces cerevisiae* SI складається із допоміжних стадій (1) приготування миючих і дезинфікуючих розчинів; 2) приготування та стерилізація розчинів титрувальних агентів; 3) приготування та стерилізація розчину підживлення глюкози; 4) приготування розчину підживлення етанолу; 5) приготування розчину мікроелементів; 6) приготування вітамінного розчину; 7) приготування і стерилізація композицій поживних середовищ для вирощування інокуляту та виробничого біосинтезу; і виробничих стадій (1) підготовка посівного матеріалу; 2) біосинтез ергостерину).

Узагальнені дані стосовно утворення різних типів відходів під час виконання

У табл. 9.1 узагальнено інформацію по утворенню різних видів відходів під час промислового виробництва ергостерину.

					НУХТ БТЕК 05.01.17 КР ПЗ					
							73			
<i>Змн.</i>	<i>Лист</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>		<i>Літ.</i>	<i>Арк.</i>	<i>Аркушів</i>		
<i>Розроб.</i>		<i>Ромашкан Т. В.</i>								
<i>Консульт.</i>							73	89		
<i>Керівник</i>		<i>Резніченко Ю.М.</i>			РОЗДІЛ 9. ОХОРОНА ДОВКІЛЛЯ			Кафедра БТМ		
<i>Н. Контр.</i>										
<i>Зав. каф.</i>		<i>Стабніков В.П.</i>								

Етапи утворення відходів під час виробництва ергостерину

Етап утворення відходів		Тип і опис відходів
Допоміжні стадії	Приготування робочих розчинів миючих та дезінфікуючих засобів	Для прибирань і миття обладнання використовуються мийний засіб SUPRA і дезінфікуючий засіб Бланідас Актив ензим , які після очистки у вигляді розчину, зливаються у каналізацію. Пластикові ємності, що залишилися, поступають на сортування і переробку пластику.
	Приготування і стерилізація розчинів титрувальних агентів	Рідкі відходи не утворюються, титрувальні розчини використовуються у якості регуляторів рН під час виробничого процесу. Рідкі відходи можуть утворитися тільки у випадку порушення режиму стерилізації розчину натрію гідроксиду. Пластикові ємності поступають на сортування і переробку пластику.
	Приготування розчину підживлення етанолу	Рідкі відходи утворюються у випадку порушення режиму стерилізації у зв'язку із контамінацією чи утворенням осаду. Тверді відходи утворюються у випадку невідповідності сировини вимогам вхідного контролю відділу якості. Використані пластика/ картонна тара сортується і відправляється на переробку.
	Приготування розчину мікроелементів	
	Приготування вітамінного розчину	
	Приготування і стерилізація розчину підживлення глюкози	
Приготування і стерилізація композицій поживних середовищ для вирощування інокуляту та виробничого біосинтезу		
Виробничі стадії	Підготовка посівного матеріалу	Газоподібні відходи. Оскільки під час росту інокуляту і біосинтезу клітини продуцента здійснюється подача кисню, то на виході із виробничого обладнання утворюються відпрацьоване повітря, яке варто повторно використати за рахунок модулю рекуперації повітря, що дозволить знизити викиди і ресурси на підготовку нових порцій очищеного повітря. Рідкі відходи посівного матеріалу та культуральної рідини не утворюються, оскільки поступають на наступну стадію вирощування інокуляту або після біосинтезу у збірник.
	Біосинтез ергостерину	

9.2. Перспективи впровадження системи екологізації виробництва ергостерину

9.2.1. Система знешкодження та утилізації рідких відходів.

Виробництво ергостерину триває протягом 50 днів. Для підтримки чистоти приміщень, підлога миється щодня, що в загальному складе 50 разів. Також, 2 рази на місяць здійснюється генеральне прибирання (оброблюються стіни, підлога, вікна). Обладнання обробляють 2 % робочим розчином SUPRA, у кількості за весь період 27060 л кожен. Для обробки стін, підлоги, вікон та дверей використовують 1,5 % робочий розчин Бланідас Актив ензим, в кількості 113,08 л.

Таблиця 9.2

Характеристика рідких відходів виробництва ергостерину

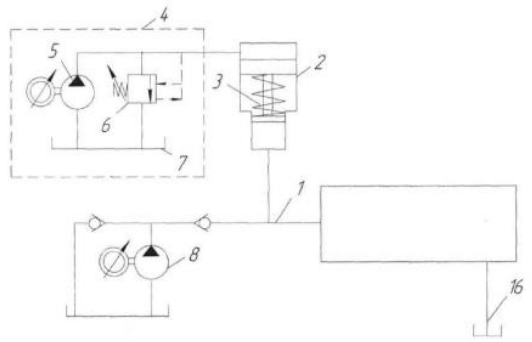
Назва рідких відходів	Склад відходів	Об'єм відходів на 1 цикл виробництва, л	Клас небезпеки
2 % SUPRA	гідроксид натрію і калію, аніонні, амфотерні, неіоногенні ПАР, хлорид натрію, метасилікат натрію	27060	III
1,5 % Бланідас Актив ензим	кислота ортофосфорна, неіоногенні ПАР, кислота молочна, комплексоутворювач	113,08	III
	Усього:	27173,08	

Щоб підвищити ефективність очищення і зменшити ручні операції до мінімуму, в обладнання варто встановлювати систему СІР-мийки, які дають змогу знизити витрату миючих засобів і води.

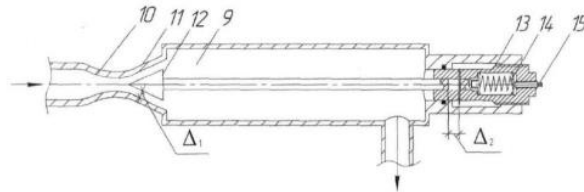
Для очищення отриманого об'єму стічних вод пропонується встановити установку для очищення води, яка складається із трубопроводів подачі та відведення води, циліндричного проточного корпусу, трубовід подачі води має конфузорну та дифузорну частини, із зазором відносно поверхні ди-

фузорної частини розташований підпружинений конусоподібний робочий орган, який виконаний із можливістю встановлення цього зазору між його кінчною поверхнею та поверхнею дифузорної частини кавітатора за допомогою рухомого шпинделя, зусилля пружини регулюється гвинтом, окрім того до трубопроводу подачі води додатково під'єднаний мультиплікатор з пружиною повернення, встановлений з можливістю роботи від гідроімпульсного приводу, що складається з насоса, гідравлічно з'єднаного з клапаном-пульсатором і баком. На *рис. 9.1* зображено фіг. 1 - принципова схема установки для очищення води; фіг. 2 - конструктивне виконання камери кавітаційної обробки.

Працює установка для очищення води так. Вода насосом 8 по трубопроводу подачі води 1 подається у циліндричний проточний корпус 9 через конфузорну 10 та дифузорну 11 частини. Потік води проходить через зазор $\Delta 1$ між поверхнею дифузорної частини 11 та поверхнею конусоподібного робочого органу 12, регулювання якого здійснюється рухомим шпинделем 13. Розмір зазору підібраний таким чином, щоб забезпечити створення необхідного режиму кавітації у циліндричному проточному корпусі 9. Окрім того, мультиплікатор 2 за рахунок гідроімпульсного приводу 4 здійснює короткоходові рухи і створює у воді хвилі напружень та періодичне збільшення тиску. Підпружинення конусоподібного робочого органу 12 пружиною 14, зусилля якої регулюється гвинтом 15, додатково забезпечує створення вібраційного поля на потік рідини, яке сприяє інтенсифікації та якості очищення та знезараження води. Далі доочищена вода відводиться з циліндричного проточного корпусу 9 трубопроводом відведення води 17 до накопичувального резервуара [57].



Фиг.1.



Фиг.2.

Рис. 9.1 Установка очищения стічних вод

1 – трубопровод подачі води, 2 – мультиплікатор, 3 – пружина повернення, 4 – гідроімпульсний привод, що складається з 5 – насоса, гідравлічно з'єднаного з 6 – клапаном-пульсатором і 7 – баком, 8 – насоса, 9 – циліндричного проточного корпусу, 10 – конфузорної та 11 – дифузорної частини, 12 – конусоподібного робочого органу, 13 – рухомого шпинделя для регулювання зазору Δ_1 між конічною поверхнею 12 – конусоподібного робочого органу та поверхнею – дифузорної частини, 14 – пружини, зусилля якої регулюється 15 – гвинтом та 16 – трубопроводу відведення води [57].

9.2.2. Система знешкодження та утилізації твердих відходів

Тверді відходи у вигляді пластикової тари і упаковки залишаються після використання мийних / дезінфікуючих засобів, а також складових поживного середовища.

Характеристика твердих відходів виробництва ергостерину

Назва відходів	Тип пластику	Приблизний об'єм відходів на 1 цикл виробництва, кг	Клас небезпеки
Пластикова тара для мийних та дезінфікуючих засобів	поліпропілен	1,1	IV
Упаковка для компонентів поживного середовища	полівінілхлорид, поліетилен, поліпропілен	0,4	IV
	Усього:	1,5	

Пластикову тару і упаковку відправляють у пункти прийому для сортування, звідки відсортовані за типом пластику відходи надходять до пунктів переробки вторинної сировини.

9.2.3. Система знешкодження газоповітряних викидів

Під час вирощування інокуляту і виробничого біосинтезу ергостерину, біомаса виділяє вуглекислий газ, а також виділяються аерозольні часточки.

Тривалість вирощування інокуляту в виробничому обладнанні складає 2х36 годин (2х2160 хв), а час виробничого біосинтезу – 72 год (4320 хв). Швидкість подачі стерильного повітря для підтримання аеробних умов культивування складає 2 л/л КР·хв. Для 2 інокуляторів на 10 л, 100 л і ферментеру об'ємом 1 м³, приблизний об'єм відпрацьованого повітря складає: $10 \cdot 2160 + 100 \cdot 2160 + 1000 \cdot 4320 = 21600 + 216000 + 4320000 = 4\,557\,600 \text{ л} \cdot 2 = 9\,115\,200 \text{ (} 9115,2 \text{ м}^3\text{)}$.

Для очищення отриманого об'єму відпрацьованого повітря пропонується встановити установку, яка виконана у вигляді зрізаного конуса, що діє наступним чином. Забруднене повітря надходить до корпусу 1 за допомогою тангенціально підведеного патрубка 2. Завдяки тангенціальному під'єднанню патрубка 2 повітря в корпусі 1 набуває обертового руху з утворенням відцентрових сил і доцентрового прискорення, вектор якого спрямований донизу.

Під дією відцентрових сил тверді частинки витискуються з потоку повітря до стінок корпусу 1, коагулюють і ущільнюються, а потім потрапляють в нижню частину і вивантажуються шнеком 6. Очищене в корпусі 1 від твердих частинок повітря надходить в центральну трубу 10, всередині якої розташовані абсорбційні решітки 4 (носії адсорбуючої речовини), при цьому абсорбційна речовина наноситься на поверхню решіток попередньо. На поверхні решіток відбувається адсорбція шкідливих газів з повітря, що надходить центральною трубою 10. Після очищення в центральній трубі 10 від шкідливих газів повітря спрямовується в теплообмінник 9, який має радіаторні елементи, що розташовані в камері кондиціонування 5. За допомогою теплообмінника 9 відбувається зниження температури повітря в камері 5 до необхідної величини при високій температурі оточуючого середовища або забезпечується підвищення його температури до необхідної величини при низькій температурі оточуючого повітря. Кондиціонування повітря відбувається за допомогою теплообмінника 9 з рідким реагентом, який має нижчу або вищу температуру відносно температури оточуючого середовища, при цьому змінення реагенту здійснюється за допомогою електричних кранів патрубків 7 і 8. Після кондиціонування повітря з скрубера за допомогою відвідного патрубка 3 подається споживачу. Перевагою такої установки є те, що вона дозволяє здійснювати комплексно очищення і кондиціонування повітря, причому всі процеси відбуваються в автоматичному режимі без зайвих енергетичних витрат [58].

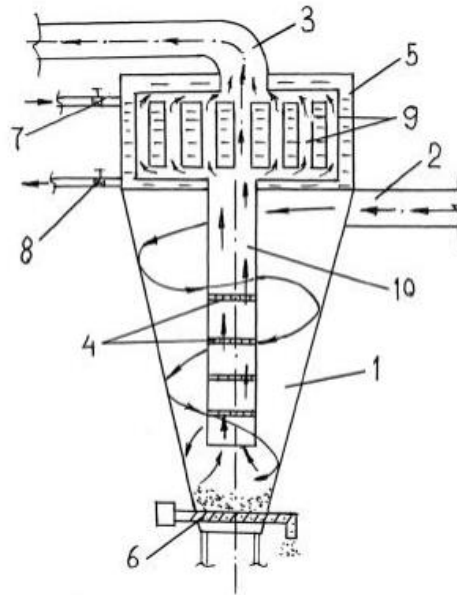


Рис. 9.2 Установа очищення відпрацьованого повітря

1 – корпус скрубера, 2 – підвідний патрубок, 3 – відвідний патрубок, 4 – абсорбційні решітки, 5 – камера кондиціонування, 6 – шнек для вивантаження вловлених пилових часток, 7 – патрубок для вводу рідкого компонента, 8 – патрубок для відведення рідкого компонента, радіаторні елементи: 9 – теплообмінник, 10 – центральна труба для виходу повітря з корпусу 1 [58].

Перелік літератури:

1. Vitamin D Deficiency and Dependency. [Електронний ресурс] – режим доступу: <https://www.msdmanuals.com/professional/nutritional-disorders/vitamin-deficiency,-dependency,-and-toxicity/vitamin-d-deficiency-and-dependency>.
2. Кучменко О.Б. Біохімія вітамінів. – К.: Університет "Україна", 2012. – 527 с.
3. Rangsinth P. , Sharika R. , Pattarachotanant N. , Duangjan C. , Wongwan C. , Sillapachaiyaporn C. , Nilkhet S., Wongsirojkul N. , Prasansuklab A. , Tencomnao T. , Leung G. P.-H. , Chuchawankul S. Potential Beneficial Effects and Pharmacological Properties of Ergosterol, a Common Bioactive Compound in Edible Mushrooms. *Foods*, 2023, 12(13): 25-29. doi: 10.3390/foods12132529.
4. Sun Z.-J. , Lian J.-Z. , Zhu L. , Jiang Y.-Q. , Li G.-S. , Xue H.-L. , Wu M.-B. , Yang L.-R. , Lin J.-P. Combined Biosynthetic Pathway Engineering and Storage Pool Expansion for High-Level Production of Ergosterol in Industrial *Saccharomyces cerevisiae*. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. 2021, 29(9): 666-681. doi: 10.3389/fbioe.2021.681666.
5. He X., Huai W., Tie C., Liu Y., Zhang B. Breeding of high ergosterol-producing yeast strains. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 2000, 25(1):39–44, <https://doi.org/10.1038/sj.jim.7000004>
6. Zhang K., Tong M., Gao K., Di Y., Wang P., Zhang C., Wu X., Zheng D. Genomic reconstruction to improve bioethanol and ergosterol production of industrial yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *J Ind Microbiol Biotechnol*. 2015, 42:207-218. DOI 10.1007/s10295-014-1556-7.
7. Vali N., Fatemi S.-S.-A., Alinaghi M. Optimization of ultrasound-assisted production of ergosterol from *Penicillium brevicompactum* by Taguchi statistical method. *Biotechnol Letters*. 2022 44(10):1217-1230. doi: 10.1007/s10529-022-03297-0.
8. Liu J.-F., Xia J.-J., Nie K.L., Wang F., Deng L. Outline of the biosynthesis and regulation of ergosterol in yeast. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2019, 35:98-106. DOI: 10.1007/s11274-019-2673-2.

9. Ергокальциферол (вітамін D2). [Електронний ресурс] – режим доступу: <https://compendium.com.ua/dec/271290>.
10. Dong Z., Iqbal S., Zhao Z.. Preparation of Ergosterol-Loaded Nanostructured Lipid Carriers for Enhancing Oral Bioavailability and Antidiabetic Nephropathy Effects. *AAPS PharmSciTech*, 2020, 21(2):64. doi: 10.1208/s12249-019-1597-3.
11. Yongxia Z., Jian X., Suyuan H., Aixin N., Lihong Z. Isolation and characterization of ergosterol from *Monascus anka* for anti-lipid peroxidation properties. *J. Mycol. Médicale*. 2020, 30:101038. doi: 10.1016/j.mycmed.2020.101038.
12. Pizzino G., Irrera N., Cucinotta M., Pallio G., Mannino F., Arcoraci V., Squadrito F., Altavilla D., Bitto A. Oxidative Stress: Harms and Benefits for Human Health. *Oxid. Med. Cell Longev*. 2017:8416763. doi: 10.1155/2017/8416763.
13. Sillapachaiyaporn C., Rangsinth P., Nilkhet S., Ung A.T., Chuchawankul S., Tencomnao T. Neuroprotective Effects against Glutamate-Induced HT-22 Hippocampal Cell Damage and *Caenorhabditis elegans* Lifespan/Healthspan Enhancing Activity of *Auricularia polytricha* Mushroom Extracts. *Pharmaceuticals*. 2021, 14:1001. doi: 10.3390/ph14101001.
14. Khameneh B., Iranshahy M., Soheili V., Fazly Bazzaz B.S. Review on plant antimicrobials: A mechanistic viewpoint. *Antimicrob. Resist. Infect. Control*. 2019, 8:118. doi: 10.1186/s13756-019-0559-6.
15. Mbambo B., Odhav B., Mohanlall V.J.J.M.P.R. Antifungal activity of stigmasterol, sitosterol and ergosterol from *Bulbine natalensis* Baker (*Asphodelaceae*) *J. Med. Plants Res*. 2012, 6:5135–5141.
16. Li Y., Song Y.C., Liu J.Y., Ma Y.M., Tan R.X. Anti-*Helicobacter pylori* substances from endophytic fungal cultures. *World J. Microbiol. Biotechnol*. 2005, 21:553–558. doi: 10.1007/s11274-004-3273-2
17. Alexandre T.R., Lima M.L., Galuppo M.K., Mesquita J.T., do Nascimento M.A., dos Santos A.L., Sartorelli P., Pimenta D.C., Tempone A.G. Ergosterol isolated from the basidiomycete *Pleurotus salmoneostramineus* affects

Trypanosoma cruzi plasma membrane and mitochondria. *J. Venom. Anim. Toxins Incl. Trop. Dis.* 2017, 23:30. doi: 10.1186/s40409-017-0120-0.

18. He X., Guo X., Liu N., Zhang B. Ergosterol production from molasses by genetically modified *Saccharomyces cerevisiae*. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2007, 75(1):55-60. doi: 10.1007/s00253-006-0807-6.

19. Voordeckers K., De Maeyer D., van der Zande E., Vences M. D, Meert W., Cloots L., Ryan O., K Marchal., Verstrepen K. J. Identification of a complex genetic network underlying *Saccharomyces cerevisiae* colony morphology. *Mol Microbiol.* 2012, 86(1):225-39. doi: 10.1111/j.1365-2958.2012.08192.x.

20. *Saccharomyces cerevisiae*. [Електронний ресурс] – режим доступу: https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=194157#null

21. Рахіт: діагностика, лікування та профілактика/ дитячий лікар 5 (12)' 2011. <https://d-l.com.ua/ua/archive/2011/5%2812%29/pages-33-38/rahit-diagnostika-likuvannya-ta-profilaktika>

22. Інструкція. Ергокальциферол розчин олій. Оп. 1.25 мг/мл по 10 мл у флак. <https://tabletki.ua/uk/%D0%AD%D1%80%D0%B3%D0%BE%D0%BA%D0%B0%D0%BB%D1%8C%D1%86%D0%B8%D1%84%D0%B5%D1%80%D0%BE%D0%BB/14573/>

23. Чисельність дітей та молоді в Україні <https://inmol.org/chyselnist-ditej-ta-molodi-v-ukraini>

24. Державний реєстр лікарських засобів України ЕРГОКАЛЬЦИФЕРОЛ. <http://www.drlz.com.ua/ibp/ddsite.nsf/all/shlist?opendocument&query=%C5%F0%E3%EE%EA%E0%EB%FC%F6%E8%F4%E5%F0%EE%EB>

25. GLYCOLYSIS. [Електронний ресурс] – режим доступу: <https://www.genome.jp/pathway/sce00010>.

26. TERPENOID BACKBONE BIOSYNTHESIS [Електронний ресурс] – режим доступу: <https://www.kegg.jp/pathway/sce00900>.

27. STEROID BIOSYNTHESIS. [Електронний ресурс] – режим доступу: <https://www.kegg.jp/pathway/sce00100>.

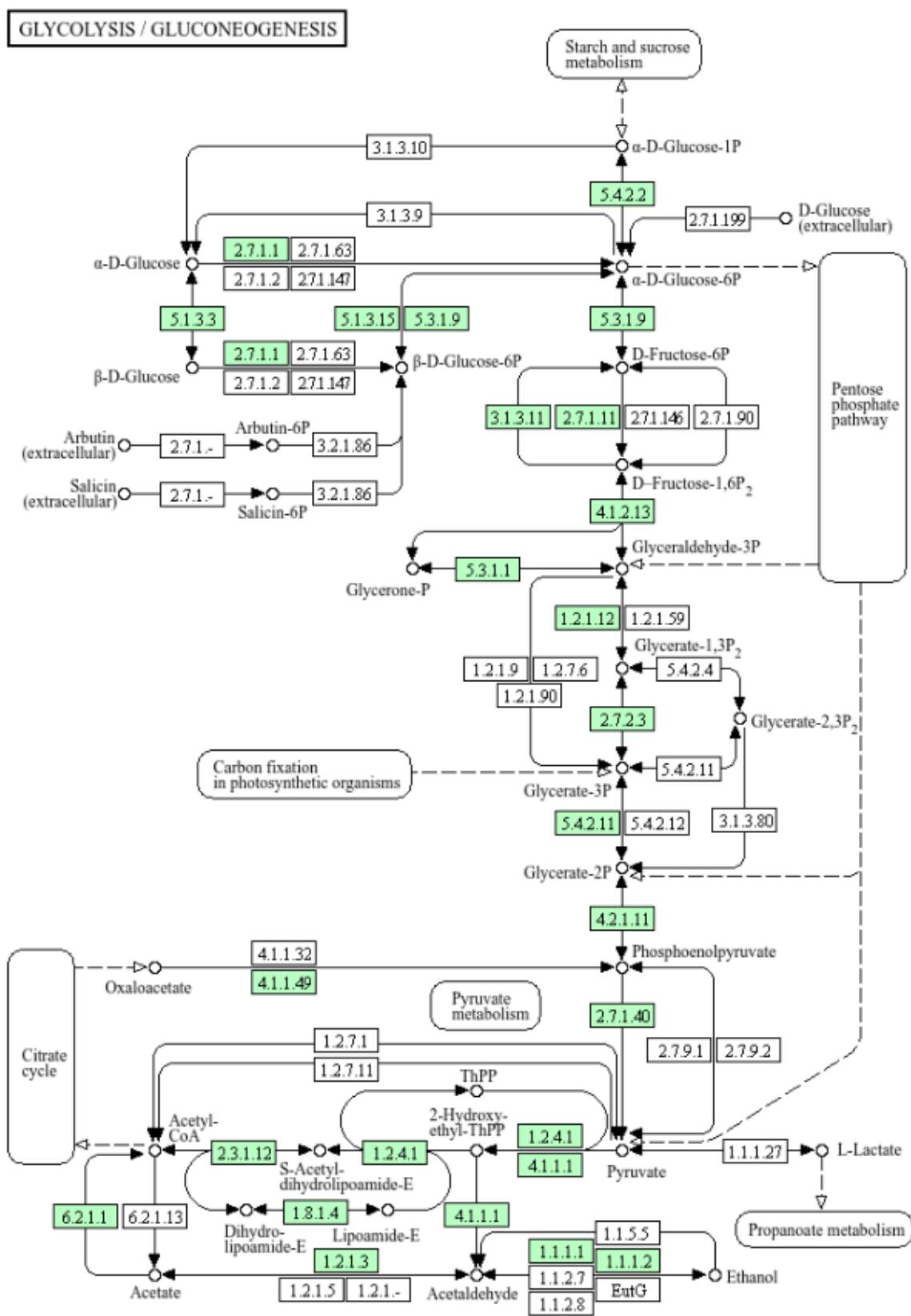
28. Лекція 3. Основи біотехнологічних виробництв (доповнено). [Електронний ресурс] – режим доступу: https://elib.lntu.edu.ua/sites/default/files/elib_upload/%D0%90%D0%B2%D0%B3%D1%83%D1%81%D1%82%D0%B8%D0%BD%D0%BE%D0%B2%D0%B8%D1%87/page5.html.
29. Карлаш Ю.В., Красінько В.О. Основи проектування біотехнологічних виробництв [Електронний ресурс]: Навч. посібник. –К.:НУХТ, 2022. –373 с.
30. Пирог Т.П., Ігнатова О. А. Загальна біотехнологія: підручник / К. :НУХТ, 2009. – 336 с.
31. Миючий засіб SUPRA. Інструкція з експлуатації [Електронний ресурс] – режим доступу: <https://primaterra.ua/ua/p222467489-sredstvo-dlya-mojki.html>
32. Миючий засіб LIV 331. Інструкція з експлуатації [Електронний ресурс] – <https://omega-b.com.ua/product/liv-aktyv-331-zasib-myjnyj-kyslotnyj-pinnyj-z-antybakterialnym-efektom/>
33. Дезінфікуючий засіб Фамідез® Санокварт. Інструкція з експлуатації [Електронний ресурс] – режим доступу: <https://famidez.ua/doc/2020%20MI%20Famidez%20Sanokvart.pdf>
34. Дезінфікуючий засіб Бланідас Актив ензим. Інструкція з експлуатації [Електронний ресурс] – режим доступу: <https://dezmed.com.ua/instruktsiia/item/blanidas-aktiv-metodicheskie-ukazaniya-instruktsii-po-primeneniyu-sredstva>
35. Повітрязабірник ПОВІТРОЗАБІРНИК КРУГЛИЙ ZL-100 ZS [Електронний ресурс] – режим доступу: <https://ccktm.prom.ua/ua/p550082654-kryshnyj-vozduhozabornik-kruglyj.html>
36. ФІЛЬТР БОКС ВІД ПИЛУ ВЕНТС ФБ 500X250 [Електронний ресурс] – режим доступу: <https://allvent.in.ua/ua/vents-fb-500h250/>
37. Компресори Bauer. [Електронний ресурс] – режим доступу: <https://dalgakiran.ua/uk/products/kompresory-bauer-seriyi-i-tyskom-90-500-bar-dlya-stysnennya-povitrya-i-azotu/>

38. ФРЕОНОВИЙ ОХОЛОДЖУВАЧ SDC 60-30. [Електронний ресурс] – режим доступу: <https://teko-ua.com/ua/freonoviyj-oxladitel-sdc-60-30.html>
39. Ресивер повітряний вертикальний 1150 л РВ 1150.900 [Електронний ресурс] – режим доступу: <https://kongyr.com.ua/ua/products/resiver-vozdushniy-vertikalniy-1150-l-rv-1150.900.html>
40. Теплообмінник Thermokey TLE 585/3. [Електронний ресурс] – режим доступу: <https://intercool.com.ua/teploobmenniki/teploobmenniki-zhidkost/teploobmennik-kozhuhotrubnyj-thermokey-tle-585-3.html>
41. Повітряний компактний фільтр тонкого очищення F5-F9 Alter Air. [Електронний ресурс] – режим доступу: <https://shop.alterair.ua/product/kompaktnyy-filtr-tonkoj-ochistki-f5-f9-eu5-eu9/>
42. Фільтруючий елемент Alup AFC 30. [Електронний ресурс] – режим доступу: <https://tehno-parts.com.ua/ua/oalu-30-afc-a-filtruiushchii-element-filtrazhatogo-vozduha-alup-afc-30>
43. Дозатор ДВС-301-50-1. [Електронний ресурс] – режим доступу: <https://sweda.com.ua/produksiya/dozator-v-meshki-otkrytogo-tipa/>
44. Реактор-змішувач PT-10EDSS. [Електронний ресурс] – режим доступу: <https://www.prowin-tools.com/product/pressure-tank/pt-10edss-stainless-steel-pressure-tank/>
45. Інокулятор Biostat D-DCU [Електронний ресурс] – режим доступу: http://www.sartorius-sd.com.ua/files/Bioreactors/Broch_Biostat_D-DCU.pdf
46. Реактор-змішувач BSF-100L [Електронний ресурс] – режим доступу: <https://www.nanbeinstrument.com/glass-reactor/stainless-steel-reactor/100l-double-layer-stainless-steel-reactor.html>
47. Реактор-змішувач PT-20EDSS [Електронний ресурс] – режим доступу: <https://www.prowin-tools.com/product/pressure-tank/pt-20edss-stainless-steel-pressure-tank/>
48. Реактор-змішувач 1000 л. [Електронний ресурс] – режим доступу: <https://comquima.com/en/equipo-industrial/reactors/used-1000-litres-stainless-steel-316-reactor>

49. Реактор-змішувач 200 л. [Електронний ресурс] – режим доступу: <https://www.ifluidtec.com/product/bio-fermentation-tank/>
50. Інокулятор Mobius® 1000 L. [Електронний ресурс] – режим доступу: <https://www.merckmillipore.com/INTL/en/Mobius-Single-Use-Manufacturing/Mobius-Single-Use-Bioreactors/N76b.qB.fW0AAAFZmkxiYtcY.nav>
51. Насос відцентровий LEO 3.0 [Електронний ресурс] – режим доступу: <https://sigma.ua/buy/nasos-ts-bezhnyy-0-55kvt-hsmax-30m-hmax-37m-qmax-20l-min-leo-3-0-775334/>
52. Реактор-змішувач ФР-500 [Електронний ресурс] – режим доступу: <https://promvit.com.ua/reaktor-dlya-proizvodstva-sredstv-zashhity-rastenij-500-l/>
53. Красінько В.О. Методи контролю біотехнологічних, фармацевтичних і харчових виробництв [Електронний ресурс]: конспект лекцій для здобув. освіт. ступ. «бакалавр» спец. 162 «Біотехнології та біоінженерія» освіт.-проф. програми «Біотехнологія» ден. і заоч. форм навч. / В.О. Красінько. – К.: НУХТ, 2019. – 252 с.
54. Танащук Л.І. Основи загальної екології. Лаборатор. практикум: Навч. посіб. – К.: НУХТ, 2005. – 161 с.
55. Визначення концентрації органічного азоту методом Несслера [Електронний ресурс] – режим доступу: <https://studfile.net/preview/12538458/page:5/>
56. He Y., Li H., Chen L., Zheng L., Ye Ch., Hou J., Bao X., Liu W., Shen Y. Production of xylitol by *Saccharomyces cerevisiae* using waste xylose mother liquor and corncob residues. *Microb Biotechnol.* 2021, 14(5): 2059-2071. doi: 10.1111/1751-7915.13881.
57. Патент України на корисну модель № 122400. УСТАНОВКА ДЛЯ ОЧИЩЕННЯ ВОДИ / Коц І. В., Бауман К. В. Опубл. 10.01.2018, бюл. № 1/2018.
58. Патент України на корисну модель № 153571. СКРУБЕР ДЛЯ ОЧИЩЕННЯ І КОНДИЦІОНУВАННЯ ПОВІТРЯ / Лапшин О.Є., Лапшин О.О. Опубл. 19.07.2023, бюл. № 29/2023

ДОДАТКИ

Додаток 1



TERPENOID BACKBONE BIOSYNTHESIS

