

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ**  
**НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ**

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

**«До захисту в ЕК»**

Директор інституту (декан факультету)

Грегірчак Н.М.  
(прізвище та ініціали)

«  » \_\_\_\_\_ 2020 р.

**«До захисту допущено»**

Завідувач кафедри

Пирог Т.П.  
(прізвище та ініціали)

«  » \_\_\_\_\_ 2020 р.

**КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА**  
**НА ЗДОБУТТЯ ОСВІТНЬОГО СТУПЕНЯ БАКАЛАВРА**

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

освітньо-професійної програми «Біотехнологія»

на тему: Культивування *Aspergillus fumigatus* для одержання Фумагіліну

Виконав: здобувач IV курсу, групи 2

Ширай Вікторія Олександрівна

(прізвище, ім'я, по батькові повністю)

(підпис)

Керівник Стабніков Віктор Петрович

(прізвище, ім'я та по батькові повністю)

(підпис)

Консультанти Клименко О.М.

(прізвище та ініціали)

(підпис)

(прізвище та ініціали)

(підпис)

Рецензент

(прізвище та ініціали)

(підпис)

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

Здобувач \_\_\_\_\_  
(підпис)

Київ – 2020 р.

# НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ

Інститут (факультет) біотехнології та екологічного контролю  
Кафедра біотехнології і мікробіології  
Освітній ступінь бакалавр

Спеціальність 162 «Біотехнології та біоінженерія»  
Освітньо-професійна програма «Біотехнологія»  
(назва)

**ЗАТВЕРДЖУЮ**  
Завідувач кафедри біотехнології і  
мікробіології

\_\_\_\_\_ Пирог Т.П.  
«17» березня 2020 року

## ЗАВДАННЯ

### НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ ЗДОБУВАЧА

\_\_\_\_\_ Ширай Вікторії Олександрівни

(прізвище, ім'я, по батькові)

1. Тема роботи Культивування *Aspergillus fumigatus* для одержання Фумагіліну  
керівник роботи \_\_\_\_\_ Стабніков В.П. проф., д.т.н.

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

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

2. Строк подання здобувачем роботи 01 червня 2020 року

3. Вихідні дані до роботи Об'єм ферментера – 1 м<sup>3</sup>, коефіцієнт заповнення  
0,6;

4. Зміст розрахунково-пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно розробити) Характеристика цільового продукту, обґрунтування вибору та характеристика біологічного агента, техніко-економічне обґрунтування, біосинтез цільового продукту, обґрунтування вибору технологічної схеми, матеріальний баланс і розрахунок обладнання, специфікація обладнання, опис технологічної схеми, контроль виробництва, автоматизація ділянки виробництва.

5. Перелік графічного матеріалу (з точним зазначенням обов'язкових креслень) Апаратурна та технологічна схема «Культивування *Aspergillus fumigatus* для одержання Фумагіліну», схема автоматизованої ділянки виробництва.

6. Консультанти розділів роботи

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

7. Дата видачі завдання «17» березня 2020 року

### КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№ з/п	Назва етапів кваліфікаційної роботи	Строк виконання етапів Роботи	Примітка
<b>1</b>	РОЗДІЛ 1. Характеристика цільового продукту	20.03.2020- 25.03.2020	
<b>2</b>	РОЗДІЛ 2. Обґрунтування вибору та характеристика біологічного агента	25.03.2020- 01.04.2020	
<b>3</b>	РОЗДІЛ 3. Техніко-економічне обґрунтування,	01.04.2020- 10.04.2020	
<b>4</b>	РОЗДІЛ 4. Біосинтез цільового продукту,	10.04.2020- 20.04.2020	
<b>5</b>	РОЗДІЛ 5. Обґрунтування вибору технологічної схеми	20.04.2020- 01.05.2020	
<b>6</b>	РОЗДІЛ 6. Матеріальний баланс і розрахунок обладнання	01.05.2020- 05.05.2020	
<b>7</b>	РОЗДІЛ 7. Специфікація обладнання	05.05.2020- 10.05.2020	
<b>8</b>	РОЗДІЛ 8. Опис технологічної схеми,	10.05.2020- 15.05.2020	
<b>9</b>	РОЗДІЛ 9. Контроль виробництва	15.05.2020- 23.05.2020	
<b>10</b>	РОЗДІЛ 10. Автоматизація ділянки виробництва.	23.05.2020- 31.05.2020	

Здобувач \_\_\_\_\_  
( підпис )

**Ширай В.О.**  
( прізвище та ініціали )

Керівник роботи \_\_\_\_\_  
( підпис )

**Стабніков В.П.**  
( прізвище та ініціали )

## РЕФЕРАТ

Представлено кваліфікаційну роботу виробництва Фумагіліну у вигляді порошкоподібного препарату культивуванням штаму *Aspergillus fumigatus* Fresenius 4238. Продуктивність штаму продуцента становить 1,25/л. Річна потреба - 33 кг/рік.

Технологічна схема біосинтезу та очищення включає допоміжні роботи (підготовка приміщення і персоналу, а також підготовка та стерилізація поживного середовища для вирощування інокуляту, виробничого біосинтезу) та власне технологічний процес (відділення біомаси, очищення супернатанту, екстракції, випарювання, кристалізації, фільтрації та сушіння), стадії фасування, маркування, що наведені на технологічній та апаратурній схемах.

Дипломний проект складається зі вступу, десяти розділів, графічної частини, в якій представлено технологічна схема апаратурна схема, схема автоматизації, списку використаної літератури, додатків. Загальний обсяг роботи — 114 сторінок, 19 таблиць та 27 рисунків.

**Ключові слова:** *Aspergillus fumigatus* Fresenius 4238, антибіотик, гриб, виробниче культивування, виділення, фільтрування, кристалізація, сушильна шафа.

## ЗМІСТ

РЕФЕРАТ.....	4
ВСТУП.....	6
РОЗДІЛ 1. ХАРАКТЕРИСТИКА ЦІЛЬОВОГО ПРОДУКТУ.....	9
РОЗДІЛ 2. ОБГРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТА ХАРАКТЕРИСТИКА БІОЛОГІЧНОГО АГЕНТА.....	12
2.1. Обґрунтування вибору біологічного агента та поживного середовища для його культивування.....	12
2.2. Морфолого-культуральні та фізіолого-біохімічні ознаки біологічного агента.....	16
2.3. Таксономічний статус біологічного агента.....	18
РОЗДІЛ 3. ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБГРУНТУВАННЯ.....	19
3.1. Потреба у цільовому продукті.....	19
3.2. Розрахунок потужності виробництва.....	21
3.3. Розрахунок об'єму ферментера та кількості виробничих циклів.....	23
3.4. Розрахунок кількості стадій підготовки посівного матеріалу.....	24
РОЗДІЛ 4. БІОСИНТЕЗ ЦІЛЬОВОГО ПРОДУКТУ.....	27
4.1. Шляхи катаболізму ростового субстрату біологічного агента.....	27
4.2. Біотрансформація ростового субстрату у цільовий продукт.....	29
РОЗДІЛ 5. ОБГРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ.....	33
5.1. Обґрунтування доферментаційних процесів та виробничого біосинтезу.....	33
5.1.1. Обґрунтування способу культивування і типу ферментера.....	34
5.1.2. Обґрунтування вибору стадії підготовки повітря.....	36
5.1.3. Вибір мийних та дезінфікуючих засобів.....	37
5.1.4. Особливості підготовки та стерилізації поживного середовища.....	46
5.2. Обґрунтування стадій виділення і очищення цільового продукту.....	47
РОЗДІЛ 6. МАТЕРІАЛЬНИЙ БАЛАНС І РОЗРАХУНОК ОБЛАДНАННЯ.....	60
РОЗДІЛ 7. СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ.....	75
РОЗДІЛ 8. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ.....	78

РОЗДІЛ 9. КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА.....	92
9.1. Мікробіологічний контроль. ....	92
9.2. Визначення концентрації антибіотика.....	93
9.3. Визначення концентрації джерела вуглецю.....	93
9.4. Визначення концентрації амінного азоту .....	93
9.5. Визначення концентрації нітратного азоту.....	95
9.6. Карта контролю .....	95
РОЗДІЛ 10. АВТОМАТИЗАЦІЯ ДІЛЯНКИ ВИРОБНИЦТВА.....	100
ЛІТЕРАТУРА	
ДОДАТКИ	

## ВСТУП

Біотехнологія у фармацевтичній промисловості охоплює сукупність технологічних методів й біологічних процесів, які використовують живі організми для виробництва лікарських субстанцій. Методи біотехнології створюють нові можливості у виробництві антибіотиків з високою вибірковою активністю стосовно певних груп мікроорганізмів. Однак антибіотики мають ряд недоліків (токсичність, алергенність, стійкість патогенних мікроорганізмів), які можна істотно зменшити методами хімічної модифікації (пеніциліни), мутасинтезу, генної інженерії. Перспективним підходом є інкапсуляція антибіотиків, зокрема, включення їх у ліпосоми, що дозволяє прицільно транспортувати лікарську речовину тільки до певних органів і тканин, а також підвищувати їхню ефективність і знижувати побічну дію. Використання біотехнології у виробництві антибіотиків дозволяє значно скоротити виробничі площі, збільшити обсяг продукції, здійснювати технологічний процес без застосування кислот, лугів і високих температур, скоротити відходи виробництва, зробити його екологічно чистим, поліпшити умови праці персоналу [1].

Необхідність пошуків нових антибіотиків зумовлена багатьма причинами. Постійно ведуться пошуки ефективних антибіотиків для боротьби з тими захворюваннями, на збудники яких не діють існуючі препарати. Потреба в антибіотиках обумовлена також тим, що при їх використанні в лікувальних цілях відбувається накопичення резистентних до цих сполук форм організмів. Тривале і не завжди виправдане застосування антибіотиків призводить найчастіше до прискорення еволюції патогенних організмів в сторону закріплення їх стійкості до цих препаратів. Тому необхідно постійно замінювати одні види антибіотиків на інші.

					<b>НУХТ БТЕК 04.02.15 КР ПЗ</b>			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Ширай В.О.			ВСТУП	Літ.	Арк.	Акрушів
Керівник		Стабніков В.П.					6	2
Консультант						Кафедра БТМ		
Н. Контр.						о		
Затверд.		Пирог Т.П.						

Для цього потрібно знаходити найбільш активні мікроорганізми - продуценти антибіотиків.

Основними продуцентами антибіотиків є актиноміцети, цвілеві гриби, бактерії. Головним місцем їх проживання є ґрунт. Для виділення мікроорганізмів, що утворюють антибіотиків беруть проби ґрунту, висушують її до повітряно-сухого стану і роблять висіву на спеціальні живильні середовища[1].

**Актуальністю теми** являється те, що фумагілін є препаратом, який лікує бджіл від такого захворювання як нозематоз. Ця проблема ніколи не зникне і потреба у використанні антибіотику завжди матиме попит на ринку.

**Новизна:** відповідно до статистичних даних в Україні налічують до 400 тис. бджолярів, на які припадає близько 4 млн вуликів, тому не дивно, що Україна займає перше місце у Європі і п'яте місце у світі за обсягами виробництва меду. Ефективним у боротьбі з цим захворюванням виявився антибіотик фумагілін, оскільки спричиняв зниження захворюваності серед бджіл на 95,3%, що є надзвичайно високим показником.

## РОЗДІЛ 1. ХАРАКТЕРИТИКА ЦІЛЬОВОГО ПРОДУКТУ

Фумагілін - це антибіотик, що проявляє амебоцидні властивості, виділений з особливого штаму *Аспергіл*.

Це слабка одноосновна кислота з сумарною формулою  $C_{26}H_{34}O_7$ .

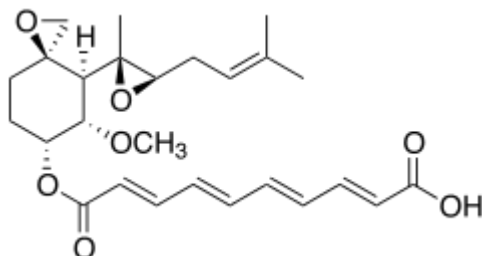


Рис.1.1 Структурна формула фумагіліну [2].

Очищений фумагілін утворює безбарвні кристали, оптично активні, практично нерозчинні в воді, розчинні в хлороформі і оцтовій кислоті. Малостійкий, швидко руйнується під дією сонячних променів при температурі вище  $40\text{ }^{\circ}\text{C}$  і в лужних розчинах; стабільний при зберіганні в темряві при температурі від  $+2$  до  $+5\text{ }^{\circ}$  без доступу повітря.

Фумагілін діє амебоцидно *in vitro* в концентраціях 1: 10 000 000 - 1: 15 000 000. При введенні *per os* хворим в дозах 5 - 50 мг щодня протягом 5-7 днів в більшості випадків спостерігається звільнення кишечника від паразитів. Володіє дуже слабкими антибактеріальними властивостями і не впливає на нормальну флору кишечника. Протиамебні властивості фумагіліну залежать від безпосередньої дії на організм найпростіших. Токсичність препарату дуже незначна. При застосуванні великих добових доз (50 мг), які дають хороший терапевтичний ефект, іноді спостерігаються запаморочення і втрата апетиту (без нудоти і блювоти). При призначенні менших доз (10 мг) через деякий час після закінчення лікування можуть спостерігатися рецидиви амебіази. Застосовується для лікування хворих амебною дизентерією в дозі 10 мг два рази на добу протягом 10-15 днів. Іноді потрібне проведення повторних курсів.

					<b>НУХТ БТЕК 04.02.15 КР ПЗ</b>			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата	<b>РОЗДІЛ 1.Характеристика цільового продукту</b>	Літ.	Арк.	Акрушів
Розроб.		Ширай В.О.					8	3
Керівник		Стабніков В.П.				<b>Кафедра БТМ</b>		
Консультант								
Н. Контр.								
Затверд.		Пирог Т.П.						

Фумагілін може також давати ефект при лікуванні хворих іншими паразитарними захворюваннями кишечника, викликаними різними найпростішими (лямблії, трихомонади та ін.). Але він не впливає на паразитів, які перебувають у внутрішніх органах (амебні абсцеси в печінці), так як при застосуванні per os практично не всмоктується з кишечника [2].

Фумагілін є препаратом, який направлений на боротьбу з нозематозом, тобто з хворобою дорослих особин бджолої родини, яка супроводжується проносом. Визначити недугу бджолої сім'ї слід якомога раніше. Якщо не лікувати захворювання, все закінчується загибеллю комах.

Безперечно значна роль у боротьбі з цією хворобою доведена проведеними дослідженнями на пасіках «Майкопское». У досліджах брали участь 3 найвідоміших препарати: фумагілін-Б, ноземацід і фумагол. Дослідження показали, що всі дієві препарати у боротьбі з нозематозом.

Однак перемога виявилася однозначною саме для фумагіліну - Б, який **за всіма показниками** випередив своїх конкурентів. Препарат випускається у формі сипкої речовини, має приємний кремовий колір. Використовуються баночки з пластику з кришками, різної фасовки – починаючи від 24-грамової, закінчуючи 400-грамової. Основний механізм його дії спрямований на блокування синтезу ДНК, придушення ліпідного обміну [3].

Ефективність Фумагіліну - Б підтверджена дослідженнями вчених і спостереженнями бджолярів Канади, США, Росії.[4].



Рис. 1 Товарна форма препарату Фумагілін-Б [4].

**Форма випуску:** сипучий порошок кремового кольору.

**Фармакологічна дія:** фумагілін-Б відноситься до антипротозойних лікарських препаратів групи дикарбонових кислот. Що входить до складу препарат фумагілін біциклогексаламін активний відносно *Nosema apis* і *Nosema ceranae*.

**Дози і способи застосування:** з лікувальною метою препарат згодують бджолам з цукровим сиропом (1: 1) в дозі 1 г / л, з розрахунку 150-200 мл на 1 рамку бджіл (250г), 3-5 разів через 3 дня в залежності від ступеня захворювання.

З профілактичною метою препарат згодують з цукровим сиропом (1: 1) в дозі 1,5 г / л одноразово, з розрахунку 150-200 мл на 1 рамку бджіл (250г)

Для досягнення максимального ефекту одночасно з лікуванням бджіл проводять дезінфекцію вуликів, стільників і робочого інвентарю згідно з інструкцією з дезінфекції пасіки.

**Упаковка:** полімерні банки-24 г, 96 г, 454 г.

**Умови зберігання:** в закритій упаковці, в сухому, захищеному від прямих сонячних променів місці, окремо від продуктів харчування і кормів, при температурі від 0 до 25 ° С.

**Термін придатності:** 2 роки з дня виготовлення.

**Виробник:** «Medivet Pharmaceuticals Ltd.», Канада[4].

## РОЗДІЛ 2. ОБГРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТА ХАРАКТЕРИСТИКА БІОЛОГІЧНОГО АГЕНТА

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

Фумагілін є єдиним антибіотиком, схваленим для боротьби з хворобою ноземи в медоносних бджіл, і він більш, ніж 50 років широко використовується в бджільництві США для боротьби з *Nosema apis*. Він токсичний для ссавців і повинен застосовуватися сезонно і з обережністю, щоб уникнути залишків у меді.

Фумагілін деградує або розводиться у вуликах протягом періоду нагулу, піддаючи бджолам і мікроспоридіям зниження концентрації препарату. Було показано, що вироблення спор *Nosema ceranae*, збільшилося у відповідь на зниження концентрації фумагіліну до 100% вище, ніж у інфікованих бджіл, які не піддавалися фумагіліну.

Фумагілін пригнічує фермент метіонін амінопептидазу<sup>2</sup> (MetAP2) в еукаріотичних клітинах і перешкоджає модифікації білка, необхідної для нормальної функції клітин. Також було досліджено ген MetAP2 для видів *Apid Nosema* і визначено, що хоча сприйнятливість до фумагіліну відрізняється у різних видів, але немає явних відмінностей у місцях його зв'язування. Білкові аналізи неінфікованих бджіл показали, що фумагілін змінює структурні та метаболічні білки в тканинах середньої кишки бджіл при концентраціях, які не пригнічують розмноження мікроспоридій. Мікроспоридії, особливо *N. ceranae*, очевидно, звільняються від супресивного впливу фумагіліну при концентраціях, які продовжують впливати на фізіологію бджіл. Поточний протокол застосування фумагіліну може загострити інфекцію *N. ceranae*, а не придушити її [5].

На першому етапі вибору різні штами продуцентів порівнюються за показниками часу культивування та концентрацією цільового продукту. Узагальнюючу характеристику наведено у *табл.2.1*.

					НУХТ БТЕК 04.02.15 КР ПЗ			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Ширай В.О.			РОЗДІЛ 2. Обґрунтування вибору та характеристика біологічного агента	Літ.	Арк.	Акрушів
Керівник		Стабніков В.П.					11	7
Консультант						Кафедра БТМ		
Н. Контр.								
Затверд.		Пирог Т.П.						

## Порівняльна характеристика продуцентів фумагіліну

Біологічний агент	Склад поживного середовища, г	Концентрація цільового продукту, мкг/мл	Тривалість культивування, год	Особливості процесу	Використана література
<i>Aspergillus fumigatus</i> 6	Глюкоза -14,0; CaCO <sub>3</sub> – 0,7; KNO <sub>3</sub> – 0,7; MgSO <sub>4</sub> – 0,35; NaCl- 0,35; K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> – 0,35.	850	288	pH = 7,2 t=37 °C;	Патент [5]
<i>Aspergillus fumigatus</i> Fresenius 4238	Меляса – 40; Соєве борошно – 20; Кукурудзяний екстракт – 5; NaNO <sub>3</sub> – 5.	1250	120	pH= 6,2-6,4 t=27°C	Патент [6]
<i>Aspergillus fumigatus</i> NRRL 2436	Ксілан – 30 Маноза – 50; L- глутамінова кислота – 9; MgSO <sub>4</sub> * 7H <sub>2</sub> O – 0,5 K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> – 1,0 KCl – 0,5 FeSO <sub>4</sub> * 7H <sub>2</sub> O – 0,01	1000	114	pH= 6 t=30°C	Стаття [7]

Штам *Aspergillus fumigatus* 6 має найвищу тривалість культивування, але найнижчий вихід цільового продукту.

*Aspergillus fumigatus* NRRL 2436 містить дуже багато компонентів поживного середовища, які є значно дорогими.

*Aspergillus fumigatus* Fresenius 4238 має найвищий вихід цільового продукту, порівняно з іншими штамми. Також даний штам має поживне середовище невизначеного складу, але відзначається простотою приготування та дешевизною, порівнянно з *Aspergillus fumigatus* б та *Aspergillus fumigatus* NRRL 2436, що є головним для біотехнолога.

Така порівняльна характеристика технологічного процесу є недостатньою для вибору біологічного агента. Тому на другому етапі порівнювали вартість поживних середовищ, на яких ростуть продуценти (табл. 2.2).

Таблиця 2.2

**Вартість компонентів поживного середовища для культивування продуцентів фумагіліну**

Продуцент	Компонент поживного середовища, г/л	Ціна компонента, грн/кг	Вартість компонента (грн) на 1 л	Джерело інформації
<i>Aspergillus fumigatus</i> б	Глюкоза – 14,0	53	0,742	3
	CaCO <sub>3</sub> – 0,7	33,66	0,023	2
	KNO <sub>3</sub> – 0,7	43	0,030	1
	MgSO <sub>4</sub> – 0,35	10	0,003	1
	NaCl – 0,35	5,20	0,001	1
	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> – 0,35	187	0,065	2
Вартість 1л середовища – 0,864				
<i>Aspergillus fumigatus</i> Fresenius 4238	Меляса – 40	19	0,06	3
	Соеве борошно – 20	61	1,22	3
	Кукурудзяний екстракт – 5	55	0,275	1
	NaNO <sub>3</sub> – 5	26,90	0,134	2
Вартість 1 л середовища – 1,68				
<i>Aspergillus fumigatus</i> NRRL 2436	Ксілан – 30;	288	8,64	3
	Маноза – 50;	1100	55	2
	L- глутамінова кислота – 9;	145	1,305	3
	MgSO <sub>4</sub> * 7H <sub>2</sub> O – 0,5	39,50	0,0197	1

	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> – 1,0	187	0,187	2
	KCl – 0,5	14,65	0,0073	1
	FeSO <sub>4</sub> * 7H <sub>2</sub> O – 0,01	5,04	0,00005	1
Вартість 1 л середовища – 65,1				

1. <https://prom.ua> 2. <https://flagma.ua> 3. <https://agronet.ua>

**\*Примітка 1** Ціни на компоненти поживних середовищ взяті з українських промислових інтернет магазинів, станом на 2019 рік.

У табл. 2.2 наведено вартість компонентів поживних середовищ на 1 л середовища. Для *Aspergillus fumigatus* Fresenius 4238 ціна за 1 літр становить – 1,68 грн, воно містить не дороговартісні компоненти. Середовище, для *Aspergillus fumigatus* 6 – має вартість – 0,8914 грн, це найдешевша ціна.

А середовище для *Aspergillus fumigatus* NRRL 2436 має вартість – 65, 1 грн, це доволі таки висока ціна, тому що в середовищі містяться дуже дорогі компоненти.

Таблиця 2.3

**Умовна вартість 1 л цільового продукту при культивування  
*Aspergillus fumigatus* 6, *Aspergillus fumigatus* Fresenius 4238, *Aspergillus  
fumigatus* NRRL 2436**

Біологічний агент	Вартість 1л середовища грн	Максимальна концентрація цільового продукту, мкг/мл	Умовна вартість по цільовому продукту мкг/грн на 1 л	Тривалість культивування, год	Концентрація цільового продукту синтезованого за год
<i>Aspergillus fumigatus</i> 6	0,864	850	0,0010	288	0,0000034
<i>Aspergillus fumigatus</i> Fresenius 4238	1,68	1250	0,0021	120	0,0000175

<i>Aspergillus fumigatus</i> NRRL 2436	65,1	1000	0,0651	114	0, 0005710
--	------	------	--------	-----	------------

Штам *Aspergillus fumigatus* Fresenius 4238 має не дуже високу ціну по цільовому продукту в 1 мкг/л, порівняно зі штамми *Aspergillus fumigatus* 6, *Aspergillus fumigatus* NRRL 2436

На підставі вище зазначеного можемо зробити висновок, що штам *Aspergillus fumigatus* Fresenius 4238 має ряд переваг: невисоку ціну поживного середовища за 1 л, значно менший час культивування та менш вибагливий склад поживного середовища.

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

### ***Морфолого-культуральні ознаки гриба *Aspergillus fumigatus*.***

Вегетативне тіло представлене у вигляді гіллястого багатоклітинного (септованого) міцелію, що пронизує субстрат. На агарі колонії, як правило, синьо-чорного кольору з замшеподібною поверхнею, що складається з щільного відтінку конідіофар Конідієносці, що складаються з однієї клітини, рідше з перегородками, відходять від опорних клітин грибниці. Конідіальні голівці, як правило, мають стовпчину (до 400 x 50 мкм, але частіше набагато коротші і менші) і однорядні. Стези конідіофора короткі, гладкі і мають конічну форму кінцевих пухирців, які підтримують один рядок фіалідів у верхній частині пухирця. Конідії виготовляються в сусіди базіеталу, утворюючи довгі і кульові ланцюги (діаметром 2,5-3,0 мкм), шорсткі. Уся голівка конідієносця нагадує дозрілу кульбабу. Самі ж конідії (нерухомі спори нестатевого розмноження) - чорні круглої форми. Пліснявий наліт має таке ж забарвлення, як скупчення зрілих конідій на міцелії [8].

Гриби аспергіли — це представники класу сумчастих грибів. Природне середовище їх проживання — земля, частіше в місцевостях з теплим кліматом.

Аспергіли є аеробами, вони відмінно ростуть на різноманітних субстратах. Часто їх можна побачити на продуктах рослинного походження у вигляді сплющеного пухнастого пофарбованого цвілевого нальоту переважно темно-синього або чорного кольору. Колонії аспергілів помітні на хлібі при недотриманні правил зберігання, на варені, шпалерах в приміщенні з підвищеною вологістю, тощо. На стінах темних сирих кімнат іноді з'являється «чорна цвіль» за рахунок розвитку видів *Aspergillus* в стадії плодоношення. Таким чином, в більшості аспергіли є сапрофітами, але серед них є види грибів-паразитів для людей і тварин. Вони викликають такі захворювання, як аспергільоз. Аспергільоз розвивається в більшості випадків у людей, що страждають на імунодефіцит. Шлях проникнення грибка через верхні дихальні шляхи [8].

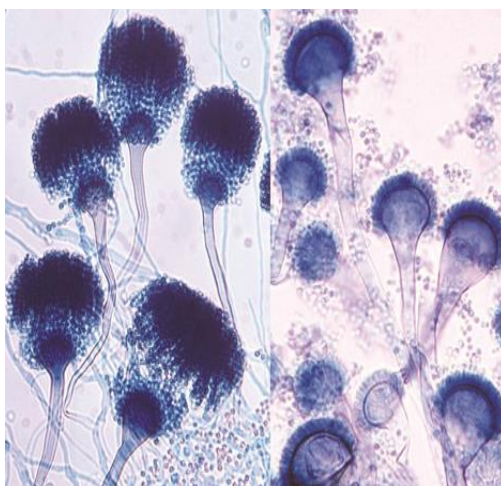


Рис.2.1 Спори *Aspergillus fumigatus* під мікроскопом [8].

### **Фізіолого-біохімічні ознаки біологічного агента.**

Цей вид є термотолерантним з максимальною температурою зростання 55 ° С. Аероби, що поширені на різноманітних субстратах. Розмножується вид грибів *Aspergillus fumigatus* безстатевим шляхом, а саме спеціальними клітинами - конідіями або мітоспорами. Головним чином від звичайних спор конідії відрізняються тим, що утворюються не усередині спорангію, а зовні - на поверхні міцелію, на спеціальних виростах ( конідієносіях). Друга назва конідій, мітоспори, вказує на те, що ці клітини утворилися у процесі мітозу, у той час як звичайні спори утворюються у наслідок мейозу. Конідії, як й інші спори, при потраплянні на поживне

середовище за сприятливої температури та кислотності проростають, поступово утворюючи новий міцелій.

Після дозрівання конідії відламуються від грибниці, переносяться на інше місце і при сприятливих умовах проростають, даючи початок новому організму гриба [8].

### 2.3. Таксономічний статус біологічного агента

Положення біологічного агента згідно систематики 70-80-х рр. [9]:

- Царство: *Fungi*
- Відділ: *Ascomycota*
- Порядок: *Eurotiomycetidae*
- Родина: *Eurotiales*
- Рід: *Aspergillaceae*
- Вид: *Aspergillus*

Положення біологічного агента згідно Mucodank [10]:

- Царство: *Fungi*
- Підцарство: *Dikarya*
- Відділ: *Ascomycota*
- Підвідділ: *Pezizomycotina*
- Клас: *Eurotiomycetes*
- Порядок: *Eurotiomycetidae*
- Родина: *Eurotiales*
- Рід: *Aspergillaceae*
- Вид: *Aspergillus*

## РОЗДІЛ 3. ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБГРУНТУВАННЯ

### 3.1. Потреба у цільовому продукті

У даному курсовому проекті пропонується використання антибіотику фумагіліну, синтезованого штамом *Aspergillus fumigatus* Fresenius 4238 для боротьби з нематозом – хворобою медових бджіл [11].

Відповідно до статистичних даних в Україні налічують до 400 тис. бджолярів, на які припадає близько 4 млн вуликів, тому не дивно, що Україна займає перше місце у Європі і п'яте місце у світі за обсягами виробництва меду [12].

Основними виробниками меду є такі сім областей: Вінницька, Дніпропетровська, Запорізька, Житомирська, Миколаївська, Полтавська і Кіровоградська [12]. Саме ці регіони забезпечують близько 70% всього виробництва українського меду.

Нині найпоширенішим захворюванням бджоли медоносної є нозематоз – хвороба, за якої бджоли вражаються такими облігатними внутрішньоклітинними паразитами як *Nozeta apis* та *Nozeta ceranae*. Мікроспоридію *N. ceranae* виявили у європейській медоносною бджолою на всіх континентах [13], і в ряді країн вона була єдиним збудником нозематозу, або переважала по поширеності мікроспоридію *N. apis*. Так, *N. ceranae* переважає на пасіках в більшості штатів США [14] в Південній Америці [15], в країнах Балканського півострова [16], в Японії [17], Канаді [18]. Поширення мікроспоридії *N. ceranae* на пасіках досліджено в більшості країн Євросоюзу [13] (рис.1).

Варто зазначити, що в 2014 р. в Україні збудник нозематозу був виявлений в трьох областях (Київській, Полтавській і Запорізькій) [19], то в 2018 *N. ceranae* виявили в одинадцяти областях [20].

НУХТ БТЕК 04.02.15 КР ПЗ

Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Ширай В.О.			РОЗДІЛ 3. Техніко-економічне обґрунтування	Літ.	Арк.	Акрушів
Керівник		Стабніков В.П.					18	8
Консультант						Кафедра БТМ		
Н. Контр.								
Затверд.		Пирог Т.П.						



Рис.3. 1. Карта поширення мікроспоридій *N. apis* і *N. ceranae* у Європі

Ефективним у боротьбі з цим захворюванням виявився антибіотик фумагілін [21], оскільки спричиняв зниження захворюваності серед бджіл на 95,3%, що є надзвичайно високим показником. В табл. 3.1 наведено список препаратів проти нематозу, які поширенні ринку України.

Таблиця 3.1

**Препарати для боротьби з захворюванням, спричиненим *N. Ceranae***

Назва препарат у	Діюча речовина	Форма випуску	Фасування, г (мл)	К-ть доз/упаковки	Країна-виробник	Джерело
Фумагілін-Б	Фумагілін	Порошок	24 г	24	Канада	1
Ноземат	Метронідазо, окситетрациклін	Порошок	2,5 г	10	Росія	2
Здорова бджілка	Біоорганічна речовина (невизначений склад)	Рідина	10 мл	10	Україна	2
Нозетом	Морська сіль, екстракт часнику	Порошок	20 г	10	Україна	3

Примітка. 1 – <https://www.apiworld.ru/1353568187.html> ; 2 – <https://medoprom.net/p671376861-nozemat-poroshok-25g.html> ; 3 – <https://www.uley.in/ua/shop/nozetom-20gr-kompleks-solej-i-mikroelementov-kopirovat/>

Як бачимо з *табл. 3.1* фумагілін входить до складу канадського препарату, що свідчить про відсутність його виробництва в Україні. Даний антибіотик отримують хімічним синтезом, проте біотехнологічний спосіб отримання фумагіліну є, безперечно, найбільш вигідним. Продуцентом фумагіліну є *A. fumigatus* Fresenius 4238 [11].

### **3.2. Розрахунок потужності виробництва фумагіліну *A. fumigatus* Fresenius 4238**

Лідером серед областей України по виробництву меду є Запорізька область, у 2018 р. Лише тільки в цій області офіційно виготовили 4000 тон меду [22], які можна отримати з 50000 вуликів, з розрахунку, що 1 вулик за рік дає 80 кг меду.

З статистичних даних, наведених у роботі [20], приблизно у 10% всіх вуликів зустрічаються ознаки захворювання на нозематоз. Тоді кількість вуликів, уражених цим захворюванням, становить:

$$50000 \times 10\% = 5000 \text{ вуликів}$$

Прийmemo, що приблизно 60% від уражених вуликів будуть оброблюватися фумагіліном, що становитиме:

$$5000 \times 60\% = 3000 \text{ вуликів}$$

#### **3.2.1. Методика обробки вуликів фумагіліном**

Препарати фумагіліну використовують не тільки безпосередньо для боротьби з хворобою, але також і для профілактики нозематозу.

З лікувальною метою препарат пригодовують комахам 3 р через кожні три дні з цукровим сиропом в кількості 1 г фумагіліну на 1 л розчину.

Для досягнення максимального ефекту, одночасно з лікуванням бджіл проводять і дезінфекцію вуликів, сотів і робочого інвентарю відповідно до інструкції роботи на пасіці [21].

Для профілактики антибіотик додають до цукрового сиропу (1:1) в кількості 1,5 г на 1 л робочого розчину сиропу [21].

#### **3.2.2. Розрахунок необхідного об'єму культуральної рідини *A. fumigatus***

##### **Fresenius 4238 для лікування бджіл від нозематозу**

Для лікування препарат згодують бджолам з цукровим сиропом в дозі 1 г/л. З розрахунку, що використовують 200 мл розчину на одну рамку бджіл, тоді на один вулик, який містить 10 рам, потрібно 2 л робочого розчину, що становить 2 г антибіотика.

Оскільки обробку вуликів з лікувальною метою проводять тричі через кожні три дні, то маса фумагіліну для вилікування однієї бджолиної родини становить 6 г.

Для лікування 3000 уражених вуликів потрібно фумагіліну:

$$3000 \times 6 = 18000 \text{ г}$$

Штам *A. fumigatus* Fresenius 4238 синтезує 1,25 г/л фумагіліну, тоді необхідний об'єм культуральної рідини на рік для обробки 3000 вуликів становить:

$$V_{кр1} = 18000 \div 1,25 = 14400 \text{ л}$$

### **3.2.3. Розрахунок необхідного об'єму культуральної рідини *A. fumigatus* Fresenius 4238 для профілактики нозематозу**

Для профілактики нозематозу фумагілін згодують бджолам з цукровим сиропом в дозі 1,5 г/л. З розрахунку, що використовують 200 мл розчину на одну рамку бджіл, тоді на один вулик, який містить 10 рам, потрібно 2 л робочого розчину, що становить 3 г антибіотика.

Оскільки обробку вуликів з профілактичною метою проводять одноразово, то маса фумагіліну для вилікування однієї бджолиної родини складатиме 3 г.

Для профілактики 5000 вуликів (10% від кількості вуликів в Запорізькій області) потрібно фумагіліну:

$$5000 \times 3 = 15000 \text{ г}$$

Штам *A. fumigatus* Fresenius 4238 синтезує 1,25 г/л фумагіліну, тоді необхідний об'єм культуральної рідини на рік для профілактичної обробки 5000 вуликів становить:

$$V_{кр2} = 15000 \div 1,25 = 12000 \text{ л}$$

Тоді загальний об'єм культуральної рідини  $V_{кр}$  буде:

$$V_{кр} = V_{кр1} + V_{кр2} = 14400 + 12000 = 26400 \text{ л}$$

Враховуючи сумарні втрати цільового продукту при виробництві (10 %), то необхідна кількість культуральної рідини складає:

$$V_{кр} = 26400 / (1 - 0,1) = 29334 \text{ л}$$

### 3.3. Розрахунок потужності виробництва антибіотику фумагіліну штаму *A. fumigatus* Fresenius 4238

З даних, наведених у підрозділі 3.2 потреба у фумагіліні на рік становить:

$$18000 + 15000 = 33000 \text{ г або } 33 \text{ кг}$$

Оскільки обробку вуликів проводять як з лікувальною, так і профілактичною метою, то прийmemo, що для отримання необхідного об'єму культуральної рідини, кількість робочих днів ( $T_{рд}$ ) 310, а кількість продукту на добу ( $V_d$ ):

$$V_d = \frac{V_{кр}}{T_{рд}} = \frac{29334}{310} = 95 \text{ л}$$

Тоді, розрахуємо кількість культуральної рідини за один цикл, ( $V_{крц}$ ):

$$V_{крц} = \frac{K1 \times V_d \times T_{цф}}{24} = \frac{1,1 \times 95 \times 126}{24} = 550 \text{ л або } 0,55 \text{ м}^3,$$

де  $T_{цф}$  – цикл роботи ферментера (мийка та огляд – 1,5 год, перевірка на герметичність – 0,5 год, підігрів та стерилізація апарату – 1,5 год, охолодження ферментера – 0,5 год, завантаження поживного середовища – 1,5 год, засів культурою – 0,5 год та тривалість процесу – 120 год),  $K1$  – коефіцієнт запасу, що враховує можливість нестерильних операцій.

Геометичний об'єм ферментера, для отримання необхідного об'єму культуральної рідини, з коефіцієнтом заповнення  $K_{зап}$  0,6-0,7, прийmemo 0,6, має становити:

$$V_{г} = \frac{V_{крц}}{K_{зап}} = \frac{0,6}{0,6} = 0,92 \approx 1 \text{ м}^3$$

### 3.4. Розрахунок кількості стадій підготовки посівного матеріалу для біосинтезу фумагіліну

За виробничий цикл отримують  $V_{крц} = 0,55 \text{ м}^3$  культуральної рідини.

При отриманні культуральної рідини варто врахувати її втрати у вигляді краплинності через колектор відпрацьованого повітря, що становить приблизно 10%.

Отже, з урахуванням втрат, кількість культуральної рідини становитиме:

$$V_{\text{роб1}} = \frac{V_{\text{крц}}}{1 - E_{\text{ф}}} = \frac{0,55}{1 - 0,1} = 0,61 \text{ м}^3$$

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

Виробничий біосинтез здійснюється у ферментері з робочим об'ємом  $V_{\text{роб1}} = 0,61 \text{ м}^3$ .

Можливий геометричний об'єм, при вибраному коефіцієнті заповнення  $K_{\text{зап}} = 0,6$ , буде  $V_{\text{ф1}} = 0,61/0,6 = 1,01 \text{ м}^3$ . Приймаємо найближчий за об'ємом стандартний ферментер  $V_{\text{сф}} = 1 \text{ м}^3$ . Уточнюємо, прийнятий раніше, коефіцієнт заповнення:

$$K_{\text{зап1}} = \frac{V_{\text{роб1}}}{V_{\text{сф}}} = \frac{0,61}{1} = 0,61$$

Уточнений коефіцієнт заповнення перебуває в обраних раніше межах.

Кількість посівного матеріалу для ферментера становить 10% від об'єму поживного середовища. Тоді кількість поживного середовища у ферментері становитиме:

$$V_{\text{пс1}} = \frac{V_{\text{роб1}}}{1 + X_{\text{ф}}} = \frac{0,61}{1 + 0,1} \approx 0,55 \text{ м}^3,$$

де  $X_{\text{ф}}$  – доза посівного матеріалу для ферментера;

Кількість посівного матеріалу для ферментера становить:

$$V_{\text{пм1}} = V_{\text{роб1}} - V_{\text{пс1}} = 0,61 - 0,55 = 0,06 \text{ м}^3 \text{ або } 60 \text{ л}$$

### **3.4.1. Розрахунок кількості посівного матеріалу для вирощування в інокуляторі об'ємом 100 л**

Враховуючи втрати при краплинності, то кількість культуральної рідини становитиме:

$$V_{\text{роб2}} = \frac{V_{\text{пм1}}}{1 - E_{\text{ф}}} = \frac{0,06}{1 - 0,1} \approx 0,067 \text{ л},$$

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

Можливий геометричний об'єм  $V_{ін1} = 67/0,6 = 112$  л. Приймаємо найближчий за об'ємом стандартний інокулятор  $V_{сін1} = 100$  л. Уточнюємо, прийнятий раніше, коефіцієнт заповнення:

$$K_{зап2} = \frac{V_{роб2}}{V_{ін1}} = \frac{67}{100} = 0,67$$

Уточнений коефіцієнт заповнення перебуває у раніше обраних межах.

Кількість поживного середовища в інокуляторі становитиме:

$$V_{пс2} = \frac{V_{роб2}}{1 + X_{ін1}} = \frac{67}{1 + 0,1} = 61 \text{ л,}$$

Тоді кількість посівного матеріалу, для інокулятора геометричним об'ємом 100 л, становитиме:

$$V_{пм2} = V_{роб2} - V_{пс2} = 67 - 61 = 6 \text{ л}$$

### **3.4.2. Розрахунок кількості посівного матеріалу для вирощування культури в інокуляторі об'ємом 10 л**

З врахуванням втрат, кількість культуральної рідини становитиме:

$$V_{роб3} = \frac{V_{пм2}}{1 - E_{\phi}} = \frac{6}{1 - 0,1} \approx 6,6 \text{ л,}$$

де  $E_{\phi}$  – втрати культуральної рідини під час біосинтезу;

Можливий геометричний об'єм  $V_{ін2} = 6/0,6 = 10$  л. Уточнюємо, прийнятий раніше, коефіцієнт заповнення:

$$K_{зап3} = \frac{V_{роб3}}{V_{ін2}} = \frac{6,6}{10} = 0,66$$

Коефіцієнт заповнення перебуває у обраних межах.

Кількість поживного середовища в інокуляторі становитиме:

$$V_{пс3} = \frac{V_{роб3}}{1 + X_{ін2}} = \frac{6,6}{1 + 0,1} = 6 \text{ л,}$$

Тоді кількість посівного середовища, для інокулятора геометричним об'ємом 10 л, становитиме:

$$V_{\text{пмз}} = V_{\text{робз}} - V_{\text{псз}} = 6,6 - 6 = 0,6 \text{ л}$$

### **3.4.3. Розрахунок кількості посівного матеріалу для вирощування культури в колбах на качалці**

Для одержання 0,6 л посівного матеріалу використовують качалочні колби об'ємом 750 мл і коефіцієнтом заповнення  $K_{\text{зк}} = 0,2$ . Тоді кількість колб становитиме:

$$N_{\text{колб}} = \frac{V_{\text{пмз}}}{V_{\text{колб}} \times K_{\text{зк}}} = \frac{600}{750 \times 0,2} = 4 \text{ шт.}$$

Отже, для отримання 600 мл посівного матеріалу потрібно 4 качалочні колби.

Отже, процес одержання посівного матеріалу для забезпечення виробничого біосинтезу комплексного мікробного препарату у ферментері об'ємом 1 м<sup>3</sup> буде проходити у три етапи.

## РОЗДІЛ 4. Біосинтез цільового продукту.

### 4.1 Шляхи катаболізму субстрату у *Aspergillus fumigatus*

Для промислового одержання фумагіліну у *Aspergillus fumigatus* використовується середовище наступного складу( г/л):

Меляса.....	40
Соеве борошно.....	20
Кукурудзяний екстракт.....	5
NaNO <sub>3</sub> .....	5

Джерелом вуглецю і енергії (ростовим субстратом) у поживному середовищі виступає меляса, даний продукт на 50% складається з сахарози, яка і виступає субстратом у поживному середовищі

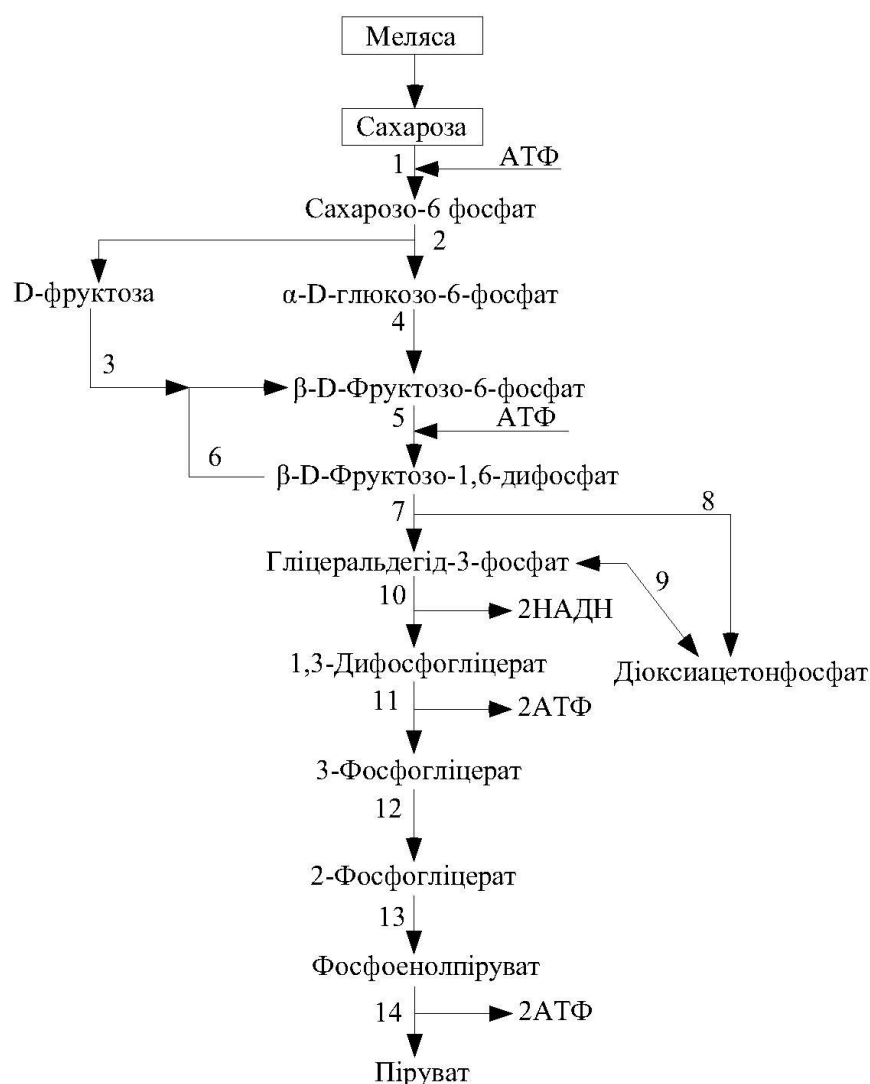
Згідно з Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes катаболізм сахарози у *Aspergillus fumigatus* проходить за шляхом Ембдена-Мейєрґрофа-Парнаса (звичайний гліколіз) з додатковою стадією розщеплення сахарози на модифіковану глюкозу та фруктозу, які включаються у гліколіз. Гліколіз підтверджується завдяки наявності у процесі катаболізму двох ключових ферментів, а саме фосфоглюкокінази (КФ 2.7.1.1), та глюкозофосфат ізомерази(КФ 2.3.1.11). Глюкоза під дією ферменту глюкозофосфотрансферази (КФ 2.7.1.199) перетворюється на глюкозо  $\alpha$ -D-глюкозо-1-фосфат, а далі на  $\beta$ -D-фруктозо-6-фосфат за допомогою глюкозо-6-фосфатізомерази(КФ.5.4.2.2). Фосфоглюкокіназа 1 (КФ.2.7.1.11) каталізує перетворення  $\beta$ -D-фруктозо-6-фосфата на  $\beta$ -D-фруктозо-1,6-фосфат( зворотне перетворення каталізуєфруктозо-1,6-біфосфатаза 2 (КФ .3.1.3.11)),а у подальшому фруктозо-біфосфатальдолаза клас 2 (КФ 4.1.2.13) перетворює його на гліцеральдегід-3-фосфат та діоксиацетонфосфат, а останній перетворюється на гліцеральдегід-3-фосфат за участі триозофосфатізомерази (КФ.5.3.1.1) ) [13,14].

					<b>НУХТ БТЕК 04.02.15 КР ПЗ</b>			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Ширай В.О..			<b>РОЗДІЛ 4. Біосинтез цільового продукту</b>	Літ.	Арк.	Акрюшів
Керівник		Стабніков В.П..					26	7
Консультант						<b>Кафедра БТМ</b>		
Н. Контр.								
Затверд.		Пирог Т.П.						

Гліцеральдегід-3-фосфат через ряд послідовних реакцій за участі гліцеральдегід-3-фосфатдегідрогенази(КФ 1.2.1.12), фосфогліцераткінази (КФ 2.7.2.3) перетворюється на 3-фосфогліцерат, а далі на 2-фосфогліцерат за участі 2,3-біфосфатзалежної фосфогліцератмутази (КФ 5.4.2.11), фосфогліцератмутази (КФ 5.4.2.12) на 2-фосфогліцерат, він через енолазу (КФ4.2.1.11) перетворюється на фосфоенолпіруват і в кінці на піруват за допомогою піруваткінази (КФ2.7.1.40).

Заключною стадією гліколізу є утворення пірувату, що через ацетил-КоА до циклу трикарбонових кислот і так далі[13,14].

Схема катаболізму сахарози через гліколіз наведено на *рис.4.1.1*.



*Рис. 4.1. Катаболізм глюкози у Aspergillus fumigatus*

Ферменти: 1- сахарозофосфатаза(КФ 2.7.1.211); 2- бета-фруктофуранозидаза (КФ 3.2.1.26),3- гексокіназа ( КФ 2.7.1.1); 4 - глюкозо-6-фосфатізомераза (КФ 5.3.1.9); 5- фосфотриозокіназа 1 (КФ 2.7.1.11); 6 - фруктозо-1,6-біфосфатаза клас 1 ( КФ 3.1.3.11);6-фруктозо-1,6-біфосфатаза II (КФ3.1.3.11); 7,8 - фруктозобіфосфатальдолаза, клас II (КФ 4.1.2.13); 9 - триозофосфатізомераза (КФ 5.3.1.1); 10 - гліцеральдегід-3-фосфатдегідрогеназа (КФ 1.2.1.12); 11 - фосфогліцераткіназа (КФ 2.7.2.3); 12 - 2,3-біфосфатзалежна фосфогліцератмутаза (КФ 5.4.2.11), фосфогліцератмутаза (КФ 5.4.2.12); 13 - енолаза (КФ 4.2.1.11); 14 – піруваткіназа( КФ 2.7.1.40 ) [13,14].

#### 4.2 Біотрансформація субстрату у цільовий продукт

Під час росту *Aspergillus fumigatus* на середовищі з мелясою, сахароза, що міститься у мелясі перетворюється на глюкозу та фруктозу, а глюкоза та фруктоза в свою чергу перетворюється на піруват у гліколізі [14]. Далі піруват під дією дигідроксиліпоаміддегідрогенази (КФ1.8.1.4) перетворюється на ацетил-КоА. Ацетил КоА в свою чергу залучається до мевалонового шляху синтезу терпеноїдів в якому синтезуються основні структурні ланки фумагіліну.

Антибіотик фумагілін складається з 2 субодиниць:

- перша субодиниця синтезується у мевалоновому шляху синтезу терпеноїдів, а саме з Ацетил КоА поступовим набором одиниць Ацетил-КоА з утворенням Малонілу-КоА. Який в свою чергу перетворюється на мевалонат-пірофосфат . Мевалонат-пірофосфат модифікується за допомогою дифосфомевалонат трансферази ( КФ 4.1.1.33) до ізопентинілу-пірофосфату, який переходить у фарнезил-пірофосфат. Фарнезил –пірофосфат під дією фарнезилмевалонаттрансферази ( КФ) перетворюється у неролідилпірофосфат, який шляхом окисних та модифікаторних реакцій перетворюється у модфікований неролідлдіпірофосфат( перша ланка фумагіліну). Даний процес модифікації вченими повністю не досліджений і не визначені ні ферменти, що беруть участь у його модифікації, ні назви інтермедіатів [15].

- друга субодиниця антибіотику синтезується паралельно першій у мевалоновому шляху. Називається вона декатетраноат. Даний інтермедіат синтезується з ацетил-КоА поступовим набором ланок. Спочатку Ацетил КоА

з'єднується з ацето-ацетилом-КоА з утворенням малолілу КоА і поступовим набором суодиниць утворюється С-10 сполука схожа на похідне ізопрену. Вона називається декатетраноат[16].

Після синтезу 1 та 2 субодиниць антибіотика вони з'єднуються у сполуку-попередник фумагіліну, яка піддається процесам гідратації та окиснення і вкінці реакцій утворюється повна молекула фумагіліну. Процес остаточної модифікації сполуки-попередника до фумагіліну докінця не вивчений, не встановлено назв сполук-інтермедіатів та ферментів, що беруть участь у процесі[4]

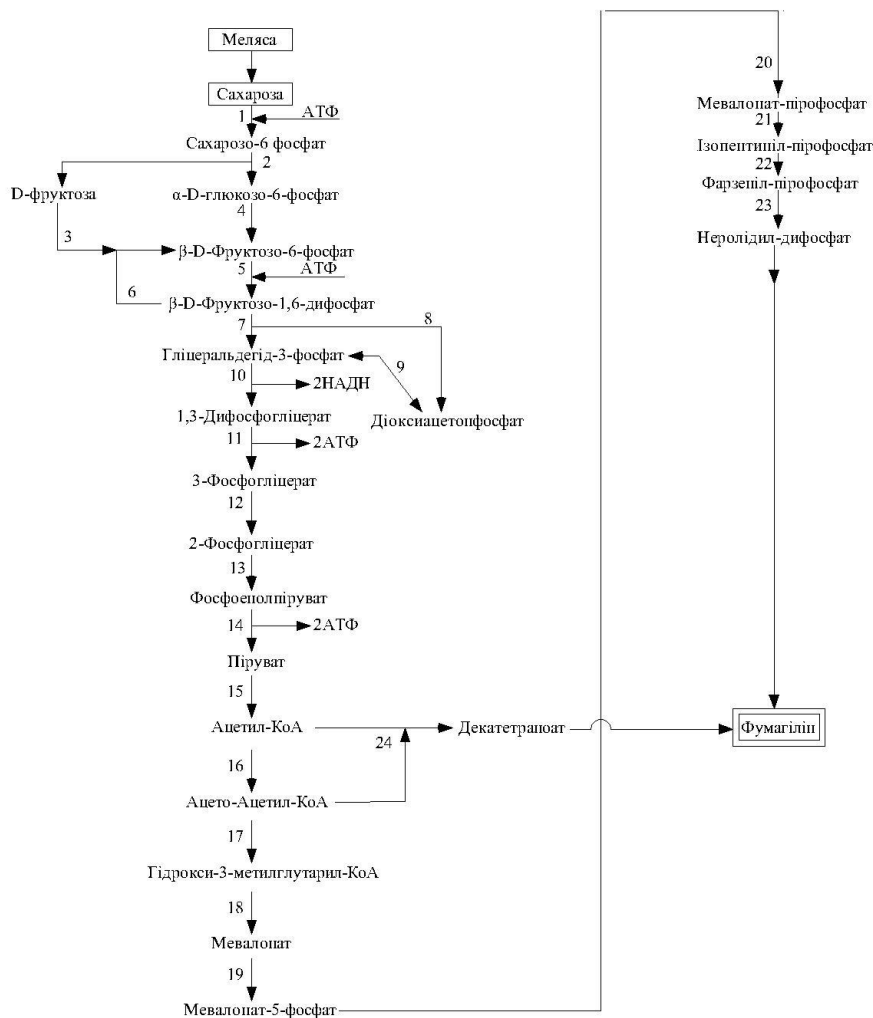


Рис. 4.2. Біосинтез фумагіліну у *Aspergillus fumigatus*

**Умовні позначення:** Суцільна лінія- основний шлях метаболізму, штрихова- анаплеротичні реакції.

Ферменти: 1- сахарозофосфатаза(КФ 2.7.1.211); 2- бета-фруктофуранозидаза (КФ 3.2.1.26),3- гексокіназа ( КФ 2.7.1.1);4 - глюкозо-6-фосфатізомераза (КФ 5.3.1.9); 5- фосфофруктокіназа 1 (КФ 2.7.1.11); 6 - фруктозо-1,6-біфосфатаза клас 1 (КФ 3.1.3.11); 6-фруктозо-1,6-біфосфатаза II (КФ3.1.3.11) 7, 8 - фруктозобіфосфатальдолаза, клас II (КФ 4.1.2.13); 9 - триозофосфатізомераза (КФ 5.3.1.1); 10 - гліцеральдегід-3-фосфатдегідрогеназа (КФ 1.2.1.12); 11 - фосфогліцераткіназа (КФ 2.7.2.3); 12 - 2,3-біфосфатзалежна фософгліцератмутаза (КФ 5.4.2.11), фософгліцератмутаза (КФ 5.4.2.12); 13 - енолаза (КФ 4.2.1.11); 14 – піруваткіназа ( КФ 2.7.1.40 ); 15 – піруватдегідрогеназа субодиниця альфа ( КФ 1.2.4.1), піруватдекарбоксилаза ( КФ 4.1.1.1 ), дигідрополіамідацетилтрансфераза ( КФ 2.3.1.12); 16- Ацетил-КоА-ацетотрансфераза(КФ 2.3.1.9); 17 – гідрксиметилглутарил-КоА синтеза( КФ 2.3.3.10), 18- гідрксиметилглутарил-КоА редуктаза ( КФ 1.1.1.34), 19- Мевалонаткіназа ( КФ 2.7.1.36); 20 – фосфомевалонаткіназа (КФ 2.7.4.2); 21- дифосфомевалонаткарбоксилаза(КФ 4.1.1.33) 22- геранілдифосфатсинтаза( КФ 2.5.1.1); 23- фарнезилтрансфераза (КФ 2.5.1.58);

## РОЗДІЛ 5. ОБГРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ

### 5.1. Обґрунтування доферментаційних процесів та виробничого біосинтезу

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

Спосіб культивування *Aspergillus fumigatus* Fresenius 4238 обираємо на основі фізіолого-біохімічних ознак продуцента. Тому важливим є визначення таких умов:

1. Для культивування *Aspergillus fumigatus* Fresenius 4238 необхідно створити аеробні умови, так як продуцент є аеробом.

2. В мікробіологічній промисловості використовують два способи промислового культивування мікроорганізмів - поверхневий і глибинний. Перший спосіб використовують для культивування переважно цвільових грибів, які утворюють міцелій на поверхні твердого або рідкого субстрату. Щоб збільшити поверхню для росту грибів, у культуральну рідину додають пшеничні висівки (або відходи перероблення іншого зерна), зволожені й стерилізовані.

Дріжджі та бактерії не потребують наявності поверхні поділу фаз, тому їх вирощують в усьому об'ємі поживного середовища, тобто глибинним способом. Щоб забезпечити культивування лише потрібних мікроорганізмів, слід реально дотримуватися стерильних умов[27].

Обираємо глибинний спосіб культивування, так як цей спосіб має ряд очевидних переваг, дозволяє значно скоротити виробничі площі; виключити тяжку ручну роботу; поліпшити гігієну праці; спростити механізацію та автоматизацію виробництва; робить можливість переходу на безперервний спосіб культивування.

Не обираємо поверхневий спосіб культивування так як він має ряд недоліків: недосконалість конструкції застосовуваного обладнання, мала механізація технологічних процесів, проведення процесу в нестерильних умовах [28].

### НУХТ БТЕК 04.02.15 КР ПЗ

Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Ширай В.О.			РОЗДІЛ 5. Обґрунтування вибору технологічної схеми	Літ.	Арк.	Акрушів
Керівник		Стабніков В.П.					31	27
Консультант						Кафедра БТМ		
Н. Контр.								
Затверд.		Пирог Т.П.						

3. Режим культивування – періодичний, оскільки він легше реалізується відносно безперервного, не потребує складних розрахунків та точного відбору і подачі культуральної рідини, і до того ж максимальну концентрацію біомаси можна набрати лише культивувавши до кінця експоненційної фази росту, а режим безперервного культивування можна підтримувати лише у нестаріючій культурі в середині експоненційної фази[28].

### **Обґрунтування вибору ферментатора**

Основним апаратним елементом біотехнологічного процесу є біореактор – ферментер. Біореактори призначені для культивування мікроорганізмів, накопичення біомаси, синтезу цільового продукту. Основні вимоги до ферментера – можливість проведення процесу культивування продуцента в стерильних умовах при інтенсивній аерації поживного середовища. У біореакторах повинні бути забезпечені оптимальні гідродинамічні і масообмінні умови [30].

По відношенню до кисню *Aspergillus fumigatus* Fresenius 4238 – аероб, тому важливу роль при культивуванні відіграє аерація та режим перемішування. Для культивування штаму-продуцента потрібно обрати ферментер з перемішуванням барботажного типу, який забезпечить найбільш інтенсивний масообмін, і відповідними датчиками контролю.

Біореактори з механічним перемішуванням використовують найчастіше, оскільки вони дають змогу легко змінювати технологічні умови й ефективно постачати клітинам повітря, що визначає характер розвитку мікроорганізмів та їх біосинтетичну здатність [29].

Механічне перемішування сумішей здійснюється різними видами мішалок: лопатевою, турбінною, турбінною закритого типу, аерліфтною, гвинтовою.

Турбінні мішалки застосовують для інтенсивного перемішування і змішування рідин з в'язкістю до 10 Па\*с для мішалок відкритого типу і до 50 Па\*с для мішалок закритого типу, для тонкого диспергування, швидкого розчинення або виділення опадів у великих обсягах (5 - 6 і більше). Мішалка складається з одного або декількох відцентрових коліс (турбінок), укріплених на вертикальному валу.

Турбінні мішалки можуть бути двох типів: відкритого та закритого типів. Закриті мішалки встановлюють усередині направляючого апарату, що представляє собою нерухоме кільце з лопатками, останні зігнуті під кутом, що змінюються від  $45^\circ$  до  $90^\circ$ . При частоті обертання 100 - 350 об/хв турбінні мішалки забезпечують інтенсивне перемішування рідини. Недоліки мішалок цього типу: відносна складність конструкції і висока вартість виготовлення[31].

Гвинтові мішалка з крилоподібним профілем лопаті являє собою конструкцію, що складається з циліндричної втулки. Мішалка має змінний по радіусу крок, однак цей крок на зовнішньому її діаметрі дорівнює одиниці[32].

Мішалки лопатевого типу активно застосовуються у промисловій сфері. Ротор під них найчастіше підбирається двофазного типу. По потужності пристрої сильно відрізняються. При виборі модифікації важливо звертати увагу на потужність, а також частотність мішалки. У багатьох моделях підкладки використовуються невеликої товщини. Рівень вібрації у таких модифікацій вкрай низький[33].

Аерліфтне перемішування застосовують для рідин з невеликим коефіцієнтом динамічної в'язкості (до  $0,2 \text{ Па}\cdot\text{с}$ ), а також для замочування зерна у воді (у виробництві солоду). Іноді для перемішування застосовують не повітря (газ), а водяну пару, тоді рідина одночасно нагрівається і розбавляється конденсатом. При перемішуванні сипких тіл (зерна) газорідинним потоком використовують принцип дії газострумного насоса – ерліфта. Повітря подають компресором у центральну трубу апарата. При цьому в трубі утворюється суміш газу, рідини і зерна, густина якої менша від густини суміші, що міститься навколо труби. Внаслідок різниці між густинами виникає циркуляційний рух усієї маси[27].

Основний недолік цієї мішалки в тому, що через подачу циркуляційного повітря виникає набагато більше піни ніж з турбінної мішалки закритого типу, що потребуватиме збільшенню кількості піногасника, тому встановлення аерліфтною мішалки буде більш затратнішим в порівнянні з турбіною мішалкою закритого типу.

В процесі біосинтезу виділяється велика кількість тепла за рахунок життєдіяльності мікроорганізмів і в результаті роботи мішалки. Тепло, яке виділяється в період росту мікроорганізмів, регулюється теплообмінними пристроями різної конструкції. Використання зовнішньої рубашки технологічно найбільш вигідно, так як введення в середину ферментера додаткових конструкцій типу зміювика ускладнює мийку і стерилізацію ферментера. Тому для забезпечення сталої температури культивування ферментер оснащується сорочкою і датчиком для контролю температури [30].

Для контролю рівня рН культуральної рідини ферментер оснащується датчиком контролю рН.

Отже культивування *Aspergillus fumigatus* Fresenius 4238 ми будемо здійснювати глибинним способом в ферментері. *Aspergillus fumigatus* Fresenius 4238 є міцелярним грибом і для запобігання пошкодження міцелію найбільш підходить аерліфтний спосіб перемішування .

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

*Aspergillus fumigatus* Fresenius 4238 є аеробом, тому для розвитку і синтезу цільового продукту необхідною умовою є подача до ферментеру стерильного аераційного повітря. Оскільки втрати аераційного повітря будуть порівняно великі, доцільно стадії його підготовки слід здійснювати в окремих будівлях – компресорних відділеннях.

Підготовка аераційного повітря складається з таких стадій:

- забір атмосферного повітря здійснюють за допомогою вертикальної труби з повітря забірником у найвищій точці  $H \sim 10$  м (висота потолків будівлі = 4 м, висота поверху  $\sim 5$  м, разом з косим дахом будівлі  $\sim 7$  м, відбір повітря повинен відбуватися на 2-3 м вище найвищої точки) будівлі, де розміщене обладнання для стиснення та очищення повітря;
- очищення повітря від пилу ( $\delta > 50$  мкм) на плоских тканинних фільтрах грубого очищення;
- стиснення повітря в компресорах або турбоповітродувках (при цьому повітря нагрівається до температури 120 – 200<sup>0</sup>С);

- охолодження стисненого повітря до температури «точки роси», за якої волога повітря конденсується (використовують водяні теплообмінники різного типу: кожухотрунні, «труба в трубі»);
- видалення конденсованої вологи та парів мастила, що потрапили з компресора, у ресивері (ємність великого об'єму);
- крім того ресивер зменшує пульсації руху повітря, що можуть негативно впливати на роботу подальших фільтрів очищення повітря;
- стабілізація показників (тиск, температура) підігріванням до температури 45 – 50<sup>0</sup>С паром у відповідних теплообмінниках;
- очищення у головних ємнісних набивних фільтрах до ступеня очищення  $E = 95\%$ . Головні фільтри, зазвичай, встановлюють поблизу ферментаційних відділень;
- очищення в індивідуальних фільтрах. Повітря від головних фільтрів через трубопроводи (колектори) подається безпосередньо до індивідуальних фільтрів, встановлених на ферментері. При цьому повітря очищають до ступеня очищення  $E = 99,99\%$ .

### **5.1.3. Вибір мийних та дезінфікуючих засобів**

Прибирання приміщень проводять вологим способом з подальшою обробкою дезінфекційними розчинами. Для санітарної обробки необхідно застосовувати мийні, дезінфекційні та мийно-дезінфекційні розчини, зареєстровані в Україні та дозволені до застосування. Мийні, дезінфекційні та мийно-дезінфекційні розчини повинні забезпечувати знешкодження об'єктів від патогенних і сапрофітних мікроорганізмів, що можуть бути збудниками захворювань і спричинювати псування сировини, напівпродуктів та готової продукції. Санітарна обробка поверхонь устаткування, комунікацій, внутрішньоцехової тари та інвентаря складається з послідовного проведення таких операцій:

- механічне очищення і миття теплою ( $30 \pm 5$  °С) водопровідною водою з мийними засобами. При цьому видаляють з робочих поверхонь залишки сировини, напівпродуктів і готової продукції;
- промивання водопровідною водою з метою видалення з робочих поверхонь залишків мийних засобів;

- дезінфекційну обробку робочим розчином з метою знезараження від патогенних і сапрофітних мікроорганізмів;
- промивання гарячою ( $60 \pm 5^\circ\text{C}$ ) водопровідною водою з метою видалення з робочих поверхонь залишків дезінфекційних засобів. За необхідності проводять наступне промивання водою очищеною. У разі використання для дезінфекційної обробки етанолом 76% промивання водою не проводять;
- при застосуванні мийно-дезінфекційних засобів об'єднують стадії миття і дезінфекції об'єктів водну операцію;
- розчини мийних, дезінфекційних і мийно-дезінфекційних засобів для санітарної обробки використовують одноразово. Дезінфекційній антисептичній засоби необхідно чергувати кожні 1-3 міс. з метою недопущення формування і поширення стійких форм мікроорганізмів. Відпрацьовані розчини після санітарної обробки зливають у каналізацію, враховуючи ГДК-компоненти мийних, дезінфекційних і мийно-дезінфекційних засобів у воді водних об'єктів господарсько-питного і культурно-побутового водокористування[34].

Виробництво антибіотика фумагіліну здійснюється упродовж 310 днів (див. *Розділ 3*).

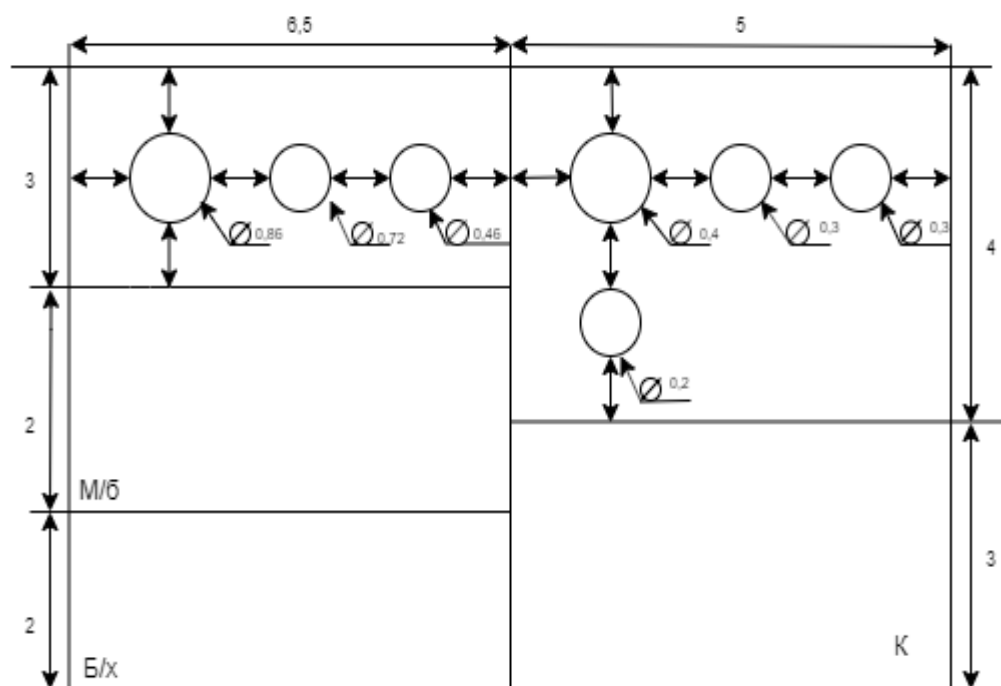
Генеральне прибирання проводять 1 раз на місяць, а щоденне перед кожною робочою зміною (1-3 рази на добу). Беручи до уваги кількість трудоднів – 310 разів.

Відстань між стінами та апаратами становить 1,5 метра. Ширина проходів між ємнісними апаратами складає 1,5 метра. Також при розраховуванні площі виробничого приміщення слід врахувати внутрішній діаметр обладнання та розмір рубашки.

Виробництво фумагіліну здійснюється упродовж 310 днів, що передбачає підготовку такого обладнання: ферментер  $1 \text{ м}^3$ , інокулятори, реактори-змішувачі для підготовки та стерилізації компонентів поживного середовища, качалки, а також бокс та лабораторне устаткування.

Виробництво включатиме наступні цехи: цех виробничого біосинтезу та цех вирощування інокуляту, качалочна кімната, мікробіологічна лабораторія, де знаходяться холодильники, термостати, бокс, автоклав, сухі жарові шафи та

біохімічна лабораторія, оснащена апаратурою для проведення різних видів контролю (рН-метр, хроматограф, ФЕК) та ваги для приготування поживних середовищ. Відстань між стінами та апаратами становить 1,0-1,5 метра. Ширина проходів між ємнісними апаратами складає 1 метр. На *рис. 1* наведено приблизний план приміщення.



*Рис.5.1. План виробничого приміщення для виробництва фумагіліну  
Aspergillus fumigatus Fresenius 4238*

**А** – цех виробничого біосинтезу та нарощення інокуляту

**М/б** – мікробіологічна лабораторія

**Б/х** – біохімічна лабораторія

**К** – приміщення з качалками

*Таблиця 5.1*

**Габаритні розміри основного обладнання для виробництва  
фумагіліну**

*Aspergillus fumigatus Fresenius 4238*

Обладнання	Геометричний об'єм, л	Діаметр, м	Висота, м
Ферментер	1000	0,86	1,7
Реактор-змішувач для приготування середовища для виробничого біосинтезу композиції А	630	0,72	1,4
Реактор-змішувач для приготування середовища для виробничого біосинтезу композиції Б	160	0,46	0,9
Інокулятор	100	0,4	0,7
Реактор-змішувач для приготування середовища для культивування в інокуляторі композиції А	50	0,3	0,6
Реактор-змішувач для приготування середовища для виробничого біосинтезу композиції Б	50	0,3	0,6
Інокулятор	10	0,2	0,3
<b>Всього</b>	<b>2000</b>	<b>3,24</b>	<b>6,2</b>

За даними *табл. 5.1.*, загальний об'єм реакторів-змішувачів та апаратів для вирощування посівного матеріалу і виробничого біосинтезу становить 2 м<sup>3</sup>.

Для підтримання чистоти в виробничих приміщеннях підлогу необхідно мити кожного дня, тобто 310 разів. Обробка стін, вікон та підлоги, тобто генеральне прибирання здійснюється щомісячно, відповідно 10 разів. Необхідно розрахувати кількість миючих засобів. Для цього розраховуємо приблизну площу оброблення мийними та дезінфікуючими засобами, враховуючи площу підлоги виробничого приміщення та площу стін на висоту 5 м.

Оптимальна площа підлоги цеху виробничого біосинтезу становить (враховуючи місце на майданчику обслуговування для вивантаження кришки ферментера та збірника)  $19,5 \text{ м}^2$  ( $6,5 \times 3 \text{ м}$ ), площа стін –  $((6,5 \times 5) + (3 \times 5)) \times 2 = 95 \text{ м}^2$ , загальна площа –  $19,5 + 95 = 114,5 \text{ м}^2$ .

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

*Таблиця 5.2*

**Розрахунок загальної площі стін та підлоги виробничих приміщень**

<b>Приміщення</b>	<b>Площа підлоги, м<sup>2</sup></b>	<b>Площа стін, м<sup>2</sup></b>	<b>Загальна площа, м<sup>2</sup></b>
Цех виробничого біосинтезу	19,5	95	114,4
Цех вирощування інокуляту	20	90	110
Мікробіологічна лабораторія	13	85	98
Біохімічна лабораторія	13	85	98
Приміщення з качалками	15	80	95
<b>Всього</b>	<b>80,5</b>	<b>435</b>	<b>515,4</b>

Кількість виробничих циклів для синтезу фумагіліну становить 62. Оскільки миття обладнання відбувається перед кожним циклом, кількість процесів миття за весь період виробництва складає 63 (додаткове миття після останнього циклу). Тоді загальний об'єм миття становитиме:

$$2 \times 63 = 126 \text{ м}^3$$

Узагальнені дані щодо розрахунку площі миття та/або дезінфекції за весь період виробництва наведено в *табл.5 .3*

*Таблиця 5.3*

**Розрахунок загальної площі миття та/або дезінфекції оброблюваного  
об'єкту за весь період виробництва фумагіліну *Aspergillus fumigatus*  
Fresenius 4238**

<b>Об'єкт миття та/або дезінфекції</b>	<b>Площа (об'єм) оброблюваного об'єкту, м<sup>2</sup> (м<sup>3</sup>)</b>	<b>Кількість процесів миття та/або дезінфекції за весь період виробництва</b>	<b>Загальна площа (об'єм) миття та/або дезінфекції об'єкту за весь період виробництва, м<sup>2</sup> (м<sup>3</sup>)</b>
Обладнання	2	63	<b>126</b>
Підлога	80,5	310	<b>24955</b>
Стіни, двері, вікна	435	10	<b>4350</b>

**5.1.1. Обґрунтування вибору мийних та дезінфікувальних засобів для культивування *Aspergillus fumigatus* Fresenius 4238**

Щоб обрати мийний та дезінфікувальний засіб, необхідно врахувати його вартість та витримати на оброблювання потрібної площі виробничого приміщення. Приблизно на 1 м<sup>2</sup> витрачається 100 мл робочого розчину мийних чи дезінфікувального засобу (згідно з методичними рекомендаціями щодо підготовки виробничих приміщень, наказ МОЗ України від 14.12.2001 №502).

Ємнісне обладнання мийють автоматичною мийкою СИП, при цьому витрати мийного засобу складають 20% від загального об'єму обладнання. Враховуючи це, для миття обладнання необхідно:

$$2 \times 0,2 = \mathbf{0,4} \text{ м}^3 \text{ мийного засобу на рік.}$$

Серед всіх миючих засобів було обрано найбільш кращі засоби, які задовольняють вище перелічені умови та з розрахунку було обрано 1 миючий засіб для генерального прибирання (1 засіб на один місяць. Нижче наведено коротку характеристику кожного вибраного миючого засобу. Вартість концентратів мийних та дезінфікувальних засобів та їх витрати при виробництві наведено в *табл. 5.4.*

**Каустична сода** - відмінний універсальний дезінфектант з потужним бактерицидним ефектом, що засноване на сильних лужних характеристиках. Застосовується для хімічної дезінфекції приміщень, обладнання та інвентарю. У вигляді 2-3% -го гарячого (70°C) розчину справляється з великою кількістю інфекцій, спровокованих бактеріями і вірусами. Даним миючим засобом можна обробляти обладнання, інвентар, комунікації[36].

**Вімол** - засіб мийний технічний застосовується для механізованого способу мийки шляхом рециркуляції його розчинів, а також вручну шляхом занурення деталей обладнання, інвентарю та тари в робочі розчини препарату на підприємствах АПК. Він може використовуватися як активна миюча добавка до розчинів каустичної соди для підвищення миючої дії. Вімол може бути застосовано для мийки обладнання, виготовленого з алюмінію, нержавіючої сталі, а також обладнання, покритого емаллю[37].

**Супераль** - рідкий миючий засіб, з антибактеріальною дією, сильно лужний, пінний, для миття обладнання, і видалення жирових і білкових забруднень з водостійких поверхонь на підприємствах харчової промисловості, громадського харчування, торгівлі, комунального господарства та у дитячих закладах. Для миття використовувати робочий розчин концентрацією 5 - 10% (500 - 1000 мл на 10 л води). Для видалення стійких забруднень рекомендовано збільшити концентрацію робочого розчину до 30% і час експозиції до 60 хв. Температура розчину повинна складати 50 - 60°C[35].

**Гембар** – економічний препарат для дезінфекції поверхонь, інвентарю і посуду. Не містить лугу, альдегиду, фенолу, окислювальних і хлорпохідних сполук. Гуанідинова полімерна сполука, яка є синтетичним аналогом природних гуанідинових сполук. Розчин (25% концентрат). Препарат має пролонговану бактерицидну, фунгіцидну, віруліцидну дію. Інактивує мікроби, в тому числі туберкульозу, грибки, віруси, у тому числі повно-, адено-, гепатиту Б, герпесу, енцефалітний, грипу, ВІЛ та інше[38].

**Дезактін** – дезінфекційний засіб з мийним ефектом виробництва ТОВ “ДЕЛАНА”. Не кородують об'єкти, котрі виготовлені із металу, скла, гуми,

полімерних матеріалів, деревини, кахлю, порцеляни, фаянсу, а також поверхні технологічного обладнання та устаткування з лакофарбовим, полімерним та гальванічним покриттям, не фіксують білкові та жирові забруднення на оброблених поверхнях, виявляють змочувальні та мийні властивості, добре змиваються. Дезактін виявляє бактерицидні, туберкулоцидні та фунгіцидні властивості. Рекомендується використовувати: 0,2 % розчини дезактину для поточної дезінфекції поверхонь приміщення (стіни, підлога, вікна, двері), прибирального інвентарю, технологічного та санітарно-технічного обладнання, комунікацій, інвентарю та внутрішньоцехової тари[39].

**Хлорантоїн** - сипучий порошок від білого до жовтуватого кольору з помірним запахом хлору. Допускається наявність грудочок, які подрібнюються при натисканні. Масова частка води становить не більше ніж 0,3%. Водні розчини Хлорантоїн прозорі, безбарвні, мають помірний запах хлору, не ушкоджують об'єкти, виготовлені з металу (нержавіюча сталь, хром-нікелева сталь, алюміній іт), скла, гуми, полімерних і комбінованих матеріалів, дерева, кахлю, порцеляни, фаянсу, поверхні медичних приладів та устаткування з лакофарбовим, гальванічним і полімерним покриттям, не фіксують білкові та жирові забруднення на поверхні виробів медичного призначення, добре змиваються, не залишають нальоту. Засіб не сумісно з катіонними поверхнево-активними речовинами, одно- і багатоатомними спиртами. Сумісний з милом, аніонними поверхнево-активними речовинами. Засіб не горить, вибухобезпечний[40].

Назва мийного/деинфікувального засобу	Об'єкт миття та/або Дезинфекції	Концентрація робочого розчину, %	Загальна площа(об'єм)миття та/або дезинфекції об'єкту за весь період виробництва, м <sup>2</sup> (л)	Кількість робочого розчину за весь період виробництва, л	Вартість 1 л/кг мийного або дезинфікувального засобу, грн	Вартість 1 л робочого розчину	Загальна вартість миття та/або дезинфекції за весь період виробництва, грн
Каустична сода	Обладнання	2	126	25200	18,75	0,375	9450
Вімол	Обладнання	0,5	126	25200	23	0,11	2772
Супераль	Обладнання	5	126	25200	38	1,9	4788
Дезактін	Стіни, підлога, вікна,двері	0,2	29305	2930	300	212	621160
Гембар	Стіни, підлога, вікна,двері	25	29305	2930	432	108	316440
Хлорантоїн	Стіни, підлога, вікна,двері	0,25	29305	2930	208,75	0,63	1846

#### 5.1.4. Особливості підготовки та стерилізації поживного середовища

Для виробничого біосинтезу фумагіліну *Aspergillus fumigatus* Fresenius 4238 використовується середовище наступного складу (г/л):

Меляса – 40;

Кукурудзяний екстракт – 20;

Соеве борошно – 5;

NaNO<sub>3</sub> – 5.

Для вирощування інокуляту використовується середовище наступного складу (г/л):

Крохмаль – 20

Кукурудзяний екстракт - 20

##### 5.1.4.1. Вирощування інокуляту в колбах на качалках

Проаналізувавши склад поживного середовища для *Aspergillus fumigatus* Fresenius 4238, умовно ділимо його на такі композиції (залежно від режиму стерилізації компонентів):

**Композиція А:** крохмаль (режим стерилізації: гостра пара 112оС, 30 хв, 0,5 МПа).

**Композиція Б:** кукурудзяний екстракт (режим стерилізації: 131оС, 40 хв, 0,15 МПа).

##### 5.1.4.2. Вирощування інокуляту в посівному апараті об'ємом 10 л

Оскільки об'єми поживних середовищ не є великими то ми можемо стерелізувати в автоклаві.

**Композиція А:** крохмаль (режим стерилізації: гостра пара 112оС, 30 хв, 0,5 МПа).

**Композиція Б:** кукурудзяний екстракт (режим стерилізації: 131оС, 40 хв, 0,15 МПа).

##### 5.1.4.3. Вирощування інокуляту в посівному апараті об'ємом 100 л

**Композиція А:** крохмаль (режим стерилізації: гостра пара 112оС, 30 хв, 0,5 МПа).

**Композиція Б:** кукурудзяний екстракт (режим стерилізації: 131°C, 40 хв, 0,15 МПа).

#### ***5.1.4.4. Виробниче культивування в ферментері на 1000 л***

**Композиція А:** Меляса, кукурудзяний екстракт, соєве борошно (режим стерилізації: гостра пара 112°C, 30 хв, 0,05 МПа).

**Композиція Б:** NaNO<sub>3</sub> (режим стерилізації: 131°C, 60 хв, 0,15 МПа).

Мелясу розчиняють в окремій колбі, окремо від меляси заварюють соєве борошно та розчиняють кукурудзяний екстракт та з'єднують мелясу з попередньо завареними соєвим борошном та розчиненим кукурудзяним екстрактом і перемішують та стерилізують при 112°C, 30 хв, 0,05 МПа. Сіль розчиняють, поміщають у колби, закривають ватно-марлевою пробкою і поміщають в автоклав.

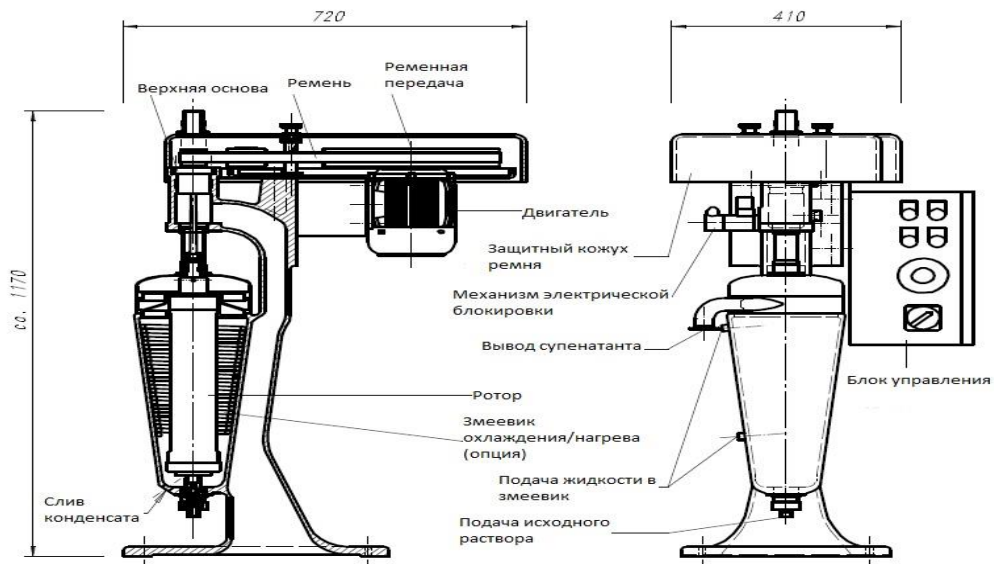
## **5.2. Обгрунтування стадій виділення і очищення цільового продукту**

### **5.2.1 Відділення культуральної рідини.**

Для відділення супернатанту від біомаси, в якому локалізований антибіотик існує багато способів: центрифугування, фільтрація, сепарування, осадження. Розглянемо детально стадії та апарати для їх реалізації.

*Центрифугування.* Даний спосіб дуже ефективний для відділення біомаси клітин грибів, оскільки для реалізації цього способу суспензійна культура піддається великому навантаженню відцентрової сили, при якому відділяються тверді часточки від рідини[41]. Центрифугування проводять за допомогою наступних типів центрифуг:

1. Фільтрувальна центрифуга представлена барабаном усередині корпусу та трубок для відведення фугату та твердої фази.



*Рис. 5.2* Центрифуга фільтрувальна[42].

Така центрифуга має один з найбільших факторів розділення з інших центрифуг та найвищу продуктивність. Однак при розділенні суспензій з великими розмірами частинок( клітин) а також, якщо частинки нитчасті , наприклад як міцелій гриба центрифуга може швидко вийти з ладу через постійне забивання каналів. тож дана центрифуга не підходить[42].

2. Саморозвантажувальна осаджувальна центрифуга періодичної дії являє собою барабан закріплений на ротор, що обертається при швидкостях до 7000 об/хв , фактор розділення у даної центрифуги низький, оскільки через великі габарити досить низька швидкість обертів і низький фактор розділення.

Однак центрифуга майже не потребує очищення оскільки не забивається через відсутність системи трубок[43].

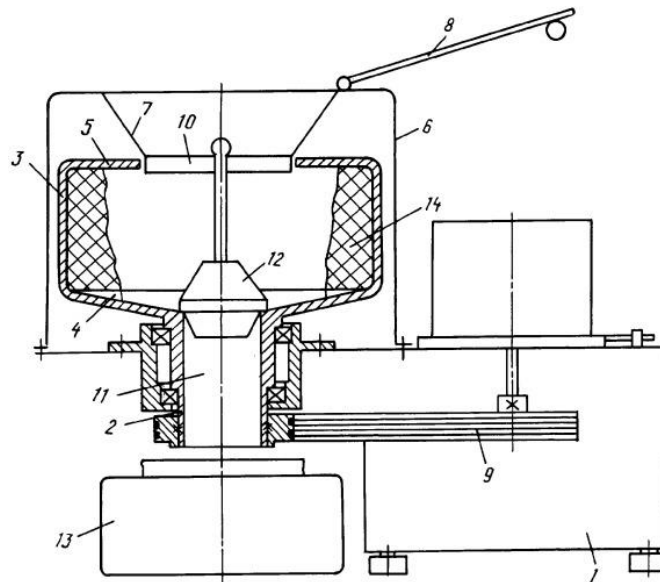


Рис.5.3 Центрифуга осаджувальна[43].

3. Третій тип центрифуги для розділення суспензій- це шнекові або декантантні центрифуги, що мають робочу частину у вигляді шнеку, який і є основним розділювальним елементом, він обертається усередині корпусу, що допомагає розподіляти фугат та тверду фазу , а також наявність специфічних перегородок. За фактором розділення центрифуга така ж як і осаджувальна. Та має приблизно такі ж діапазони робочих швидкостей до 700-800 обертів на хвилину. Така центрифуга погано розділяє клітини бактерій, однак підходить для розділення дріжджових клітин та клітин( міцелію) мікроміцетів, які мають великий розмір[44].

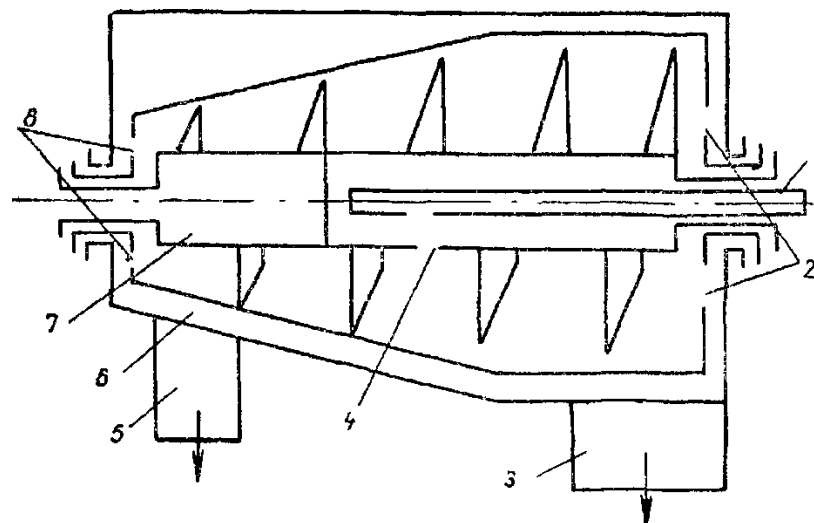


Рис.5.4 Центрифуга шнекова [44].

1 — труба для подачі осаду; 2 — отвір для вивантаження фугату; 3 — бункер для вивантаження фугата; 4—отвір для поступання осаду у ротор; 5 — бункер для вивантаження твердої фази ; 6—ротор, 7—повний шнек; 8 — отвір для вивантаження осаду

*Фільтрація.* Такий спосіб затрачає менше енергії ніж центрифугування і ефективний для відділення міцеліальних форм від культуральної рідини. Оскільки для фільтрації важлива перш за усе різниця тисків по обидві сторони фільтр-перегородки для інтенсифікації процесу додатково застосовують фільтрацію під тиском або під вакуумом. Окрім цього використовують ультрафільтрацію, однак для великих розмірів клітин вона буде досить дорогою через часте забивання картриджів та їх високу вартість. Однак є один фактор, який перекидає всі переваги даного способу на відміну від центрифугування. Це постійне забивання пор фільтра через специфічну структуру грибних клітин- міцеліальну( нитчасту форму), що буде ускладнювати за збільшувати затрати на процес через постійну необхідність заміни фільтрувальних елементів [41].

*Сепарування.* Процес схожий з центрифугуванням, однак більш продуктивний та сепаратори володіють досить високий фактором розділення, що дозволяє розділяти як рідини так і суспензії з часточками до 1-2мкм найбільш ефективно. Однак для відділення міцеліальних форм від культуральної рідини не підходить, оскільки сепаратори мають систему трубок та пакету специфічних тарілок- специфічних елементів конструкції, тож періодично сепаратор буде забиватися міцелієм та буде погіршуватися ефективність розділення[48].

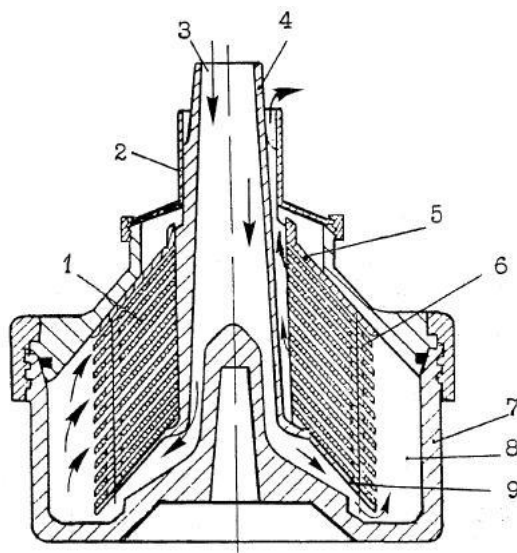


Рис. 5.5 Робоча частина сепаратора[48].

*Осадження.* Осадження досить повільний процес, який проводиться у відстоювальних ємностях протягом деяких десятків годин, а оскільки міцеліальні форми грибів досить погано відділяються від культуральної рідини при глибинному культивуванні оскільки знаходяться у подібі зваженого стану, тож процес буде не ефективний тому не підходить для відділення культуральної рідини від міцелію продуцента[41].

Обираємо для відділення біомаси гриба від супернатанту центрифугування за допомогою шнекової центрифуги. Оскільки даний тип центрифуги найбільше підходить для відділення міцелію через відсутність елементів трубок та вузьких місць, допустимого для розділення грибних клітин критерія Фруда та високої продуктивності процесу розділення, завдяки конструктивним особливостями[41,44].

### 5.2.2. Попередня обробка супернатанту.

Після фільтрування супернатант містить велику кількість пігментуючих та інших домішок, серед яких низькомолекулярні білки, пігменти, олігосахариди конгломерати та інші. Для позбавлення супернатанту такого роду домішок найбільш простим способом для великих кількостей культуральної рідини є сорбція на активованому вугіллі або на силікагелі. Обираємо сорбцію на активованому вугіллі, оскільки вугілля має більшу

ефективну площу сорбції ніж силікагель, і відповідно буде ефективніше затримувати низькомолекулярні домішки [49].

### **5.2.3. Екстракція.**

Екзометаболіт, яким являється антибіотик фумагілін міститься у культуральній рідині, легко екстрагується полярними розчинниками, наприклад такими: метанол, етанол, ізопропанол, також розчиняється у ацетоні, бутанолі. Технологія екстракції антибіотику з рідкої фази передбачає необхідність підбору розчинників, які не змішують ся з водою тож представники: етанол, метанол,ізопропанол, не підходять для даного процесу. Обирати будемо між ацетоном та бутанолом. За ціновим діапазоном бутанол у середньому на 30% нижчий за вартістю ніж ацетон, тому обираємо його, як основний екстрагент для екстракції фумагіліну з культуральної рідини позбавленої біомаси[50,51,52].

Обираємо бутанол у якості розчинника для екстракції фумагіліну, оскільки з представлених вище розчинників: метанол, етанол, ізопропанол бутанол не змішується з водою і у порівнянні з ацетоном є менш вартісним, що важливо при великих кількостях використання розчиннику.

### **5.2.4. Концентрування та видалення розчиннику.**

Для подальшої стадії кристалізації антибіотику( переведення у тверду форму) необхідно сконцентрувати екстракт. Для концентрування зазвичай використовують упарювання чи діаліз. Діаліз досить дорогий процес, оскільки потребує багато часу для витримки розчину чи екстракту та специфічних мембран-роздільників для реалізації. До того ж при великих кількостях розчину чи екстракту для концентрування та потребі у невисокому ступеню очистки застосування діалізу не є вигідним.[53]

На відміну від діалізу концентрування випарюванням процес більше адаптований до промислових умов завдяки своїй простоті. Випарювання існує двох типів: вакуум-упарювання та упарювання під атмосферним тиском.

Упарювання під атмосферним тиском говорить саме за себе, це нагрівання з поступовим видаленням розчинника та концентруванням розчиненої речовини. Єдиний мінус такого способу упарювання це висока температура упарювання, що може пошкодити цільовий продукт та великі затрати енергії на нагрівання до високих температур. Прикладом випарного апарата під атмосферним тиском є апарат з підвісною нагрівальною камерою[41] .

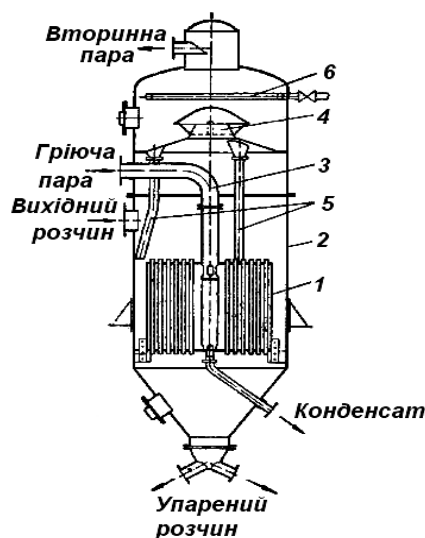


Рис. 5.6 Випарник з підвісною нагрівальною камерою[54].

1 – нагрівальна камера; 2 – корпус; 3 – парова труба; 4 – бризковловлювач; 5 – зливні труби; 6 – перфорована труба для промивання

Процес випарювання під вакуумом затрачає менше енергії на нагрівання і проводиться при відносно невисоких температурах та не призводить до розкладання термолабільних речовин. При однакових енергетичних затратах вакуумні випарники більш ефективні за випарники під атмосферним тиском тому обираємо для концентрування фумагілінового екстракту вакуум-випарювання у вакуумному випарному апараті. Вакуумні випарні апарати( ВВА) зазвичай представлені двома типами: роторні та трубчаті. Роторні апарати зазвичай використовуються в лабораторних умовах через малу продуктивність, натомість у виробництві застосовуються трубчаті з різними модифікаціями. Наприклад ВВА з винесеною поверхнею нагрівання[41].

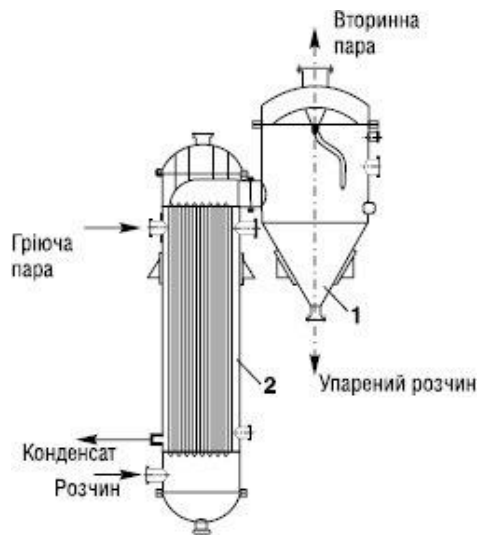


Рис. 5.7 Вакуум-випарний апарат з винесеною поверхнею нагріву[55].

### 5.2.5. Кристалізація.

Стадія направлена на виділення продукту з рідкої фази розчинника з подальшим його очищенням. Тип кристалізації залежить від апаратів-кристалізаторів, які використовуються. Як основний апарат для кристалізації буде використовуватися реактор-кристалізатор з заповненням до 50 % та центрами кристалізації[41].

Зазвичай кристалізатори представлені ємностями без кришки з підводом холодоагента або реакційними ємностями з мішалкою для перемішування концентрату та сорочкою для підведення холодоагенту. В якості холодоагенту можна використовувати фреон, органічні спиртові розчинники чи концентрований розсол. Фреон та спирти досить дорогі у великих кількостях, тому їх застосовують рідко, а розсол застосовують найчастіше, оскільки він дешевий і готується з технічної або питної води. Обираємо як холодоагент розсол[41,56].

### 5.2.6. Відділення кристалів.

Кристали зазвичай простіше відділити за допомогою фільтрування на фільтрі. Пропонується 2 типи фільтрів для відділення кристалів.

Розглянемо основні типи фільтрів для відділення біомаси:

1. НУТЧ-фільтр. НУТЧ-фільтри призначені для фільтрації невибухонебезпечних рідин та суспензій без підігріву. Відкритого типу (в збірнику фільтрату створюється вакуум) та з емальованою решіткою. Це спеціальне обладнання, призначене для фільтрації різних розчинів в закритих сосудах в умовах зниженого тиску. Стінки фільтрів виготовляються з особливого металу, а фільтруюча поверхня з емальованої решітки, внаслідок чого застосування таких виробів дозволяє легко проводити процедуру фільтрації навіть досить агресивних умовах[41,45].

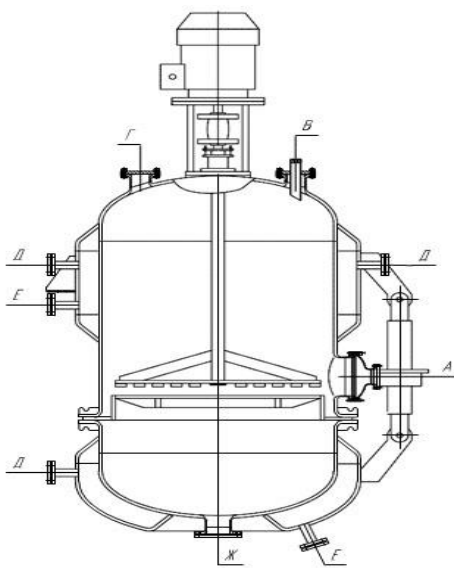


Рис.5.8 НУТЧ-фільтр [46].

2. ДРУК-фільтр. Дані апарати представляють собою вертикальні посудини (зазвичай з сорочкою) з еліптичним днищем, верх, простір над яким служить для прийому суспензії, нижнє - для фільтрату. На неправдивому днищі і нижній частині корпусу кріпиться фільтрувальна перегородка. При фільтруванні в заповнений суспензією корпус подають стислий газ. Отриманий осад промивають, просушують і вивантажують за допомогою мішалки через люк у бічній поверхні або в центрі неправдивого днища. У ряді конструкцій осідань видаляють після опускання неправдивого днища переміщенням стрічки фільтрувальної тканини, яка після закінчення вивантаження осаду проходить через камеру регенерації[47].

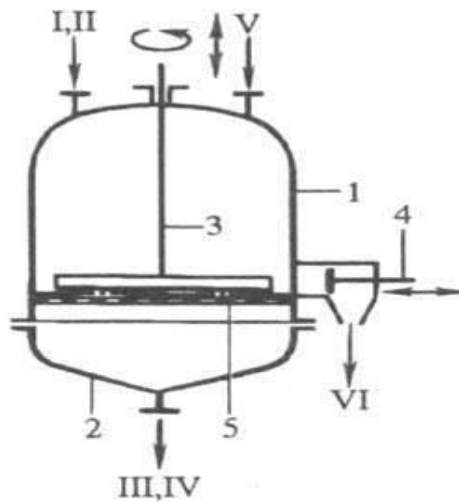


Рис.5.9 ДРУК-фільтр[47].

Обираємо відділення кристалів за допомогою фільтрування на НУТЧ-фільтрі, оскільки такий тип апаратів ефективніше фільтрує суспензії та при такому фільтруванні менше шансів прорвати фільтрувальну перегородку під час процесу

### 5.2.7. Висушування.

Зазвичай використовують основні 2 типи сушіння: під атмосферним тиском та під вакуумом. Серед найбільш розповсюджених типів висушування зустрічається сушіння під атмосферним тиском, воно не потребує спеціальних вакуумних насосів до того ж температура сушіння продуктів у вигляді твердих кристалів чи волого порошку рідко перевищують 40...50 °С тож немає сенсу використовувати вакуумну сушарку[41].

За конструктивними особливостями сушарок велика кількість. Наведемо декілька типів сушильних установок:

#### *Розпилювальна*

Розпилювальна сушарка звичайно має циліндричний або циліндро-конічний теплоізолюваний корпус, у якому за допомогою механічних форсунок або розпилюючих високооберткових дисків диспергується на дрібні краплі продукт, що висушується. Об'ємна напруга за вологою в таких сушарках становить 5 - 10 кг/(м<sup>3</sup> год). Краплі осаджуються в потоці гарячого

теплоносія, при цьому відбувається видалення вологи із них, а висушений продукт виводиться із сушильної камери знизу у вигляді мілкодисперсного порошку, розмір часток готового продукту становить 10 - 500 мкм. Даний тип сушарок високопродуктивний, однак залишається велика кількість вологи після сушіння також можуть пошкоджуватися кристали під час сушіння і основним мінусом такої сушарки є необхідність розведення продукту до стану розчину чи суспензії[57].

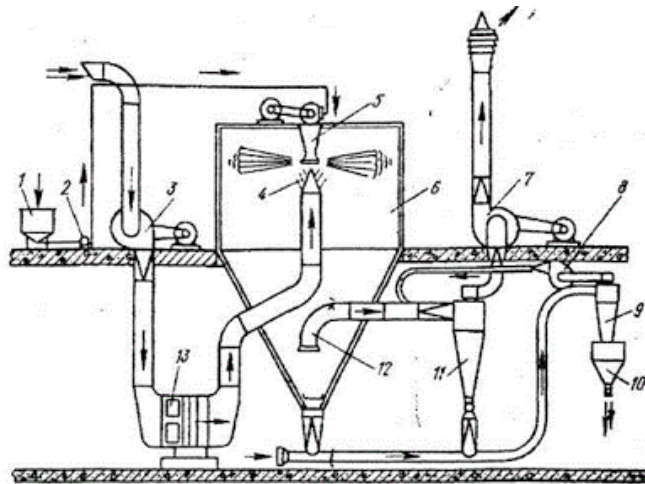


Рис. 5.10 Розпилювальна сушарка[57].

#### *Барабанна сушарка*

Сушарка являє собою циліндричний барабан діаметром від 0,4 до 3,8 м і довжиною від 3 до 27 м, з відношенням  $L:D = 4 - 8$ . На барабан надіті бандажі й зубчаста вінцева шестірня, бандажі опираються на циліндричні ролики опорної й упорно-опорної станцій. За допомогою зубчастої вінцевої шестірні здійснюється обертання барабана від електродвигуна через редуктор, частота обертання барабана становить 0,5 - 5 об/хв. Барабан установлений на опорні ролики з нахилом до горизонту під кутом  $1,5 - 3^\circ$  у бік розвантаження висушеного матеріалу. Даний тип сушарки менш продуктивний ніж розпилювальна, однак сушіння у ній більш м'яке та поступове, що дозволяє видалити більшу частину вологи та добре просушити продукт. Однак через постійне крутіння барабану під час сушки можуть пошкоджуватися кристали антибіотику. Тому даний тип сушарки не підходить[57].

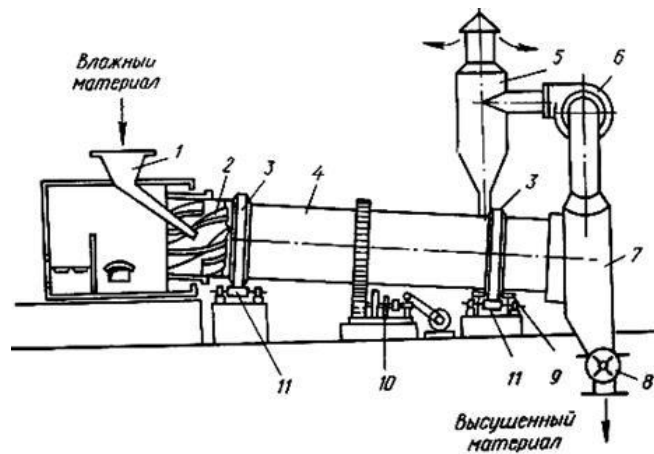


Рис. 5.11 Барабанна сушарка[57].

### Стрічкові сушарки.

Для сушіння волокнистих і пастоподібних матеріалів застосовують стрічкові сушарки (рис. 11), в яких у корпусі сушарки матеріал рівномірним шаром товщиною до 50 мм розміщений на стрічковому транспортері, повільно переміщуваному від завантажувального пристрою до розвантажувального бункера. Такі сушарки схожі на барабанні за технологією висушування, однак замість барабану вони мають рухому частину у вигляді конвеєра на який розсипаються продукт та висушується по мірі проходження. [57].

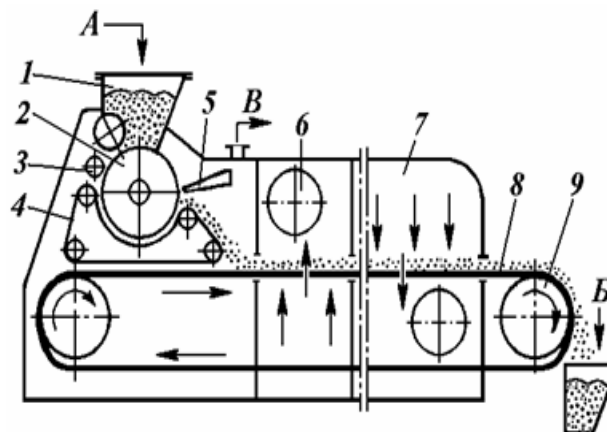


Рис. 5.12 Стрічкова сушарка[57].

*Камерна вакуумна сушарка* . Дана сушарка є сушильною камерою з встановленими всередині камерними полицями певного розміру, які заповнюються рідким продуктом, який потім висушується. Вологий матеріал

розміщують на полицях, що встановлені у вагонетку. Вагонетки вкочують у сушильну камеру, а зати́м сушарку герметизують. Потім включають вентилятор, підігрівають у калорифері повітря й подають його в секції сушильної камери. Після проведення сушіння в першій секції повітря підігрівається в додатковому підігрівнику, після чого повітря надходить у другу секцію й процес повторюється. Процес проходить під вакуумом від 0,01 до 0.0001 МПа. На виході із сушарки частина відпрацьованого повітря повертається на рециркуляцію. Таким чином, у даній сушарці реалізований процес із частковою рециркуляцією відпрацьованого повітря й дворазовим його підігріванням, що забезпечує м'які умови сушіння.

Недоліками такої сушарки є трудомісткість операцій завантаження й вивантаження матеріалу й низька інтенсивність сушіння.

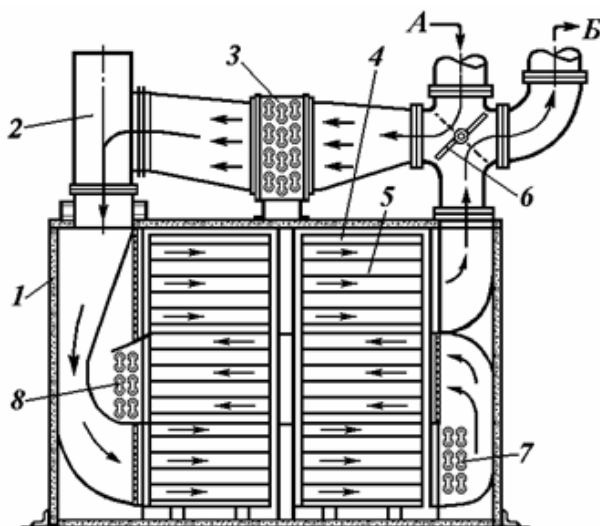


Рис. 5.13 Камерна вакуумна сушарка [55].

На основі аналізу характеристик представлених типів сушарок обираємо для сушіння камерну вакуумну сушарку, оскільки вона забезпечує найбільш м'які умови сушіння, що важливо для збереження активності антибіотику, невисока продуктивність, що підходить для малих промислових кількостей виділеного продукту, а також простотою роботи.

## РОЗДІЛ 6. МАТЕРІАЛЬНИЙ БАЛАНС І РОЗРАХУНОК ОБЛАДНАННЯ

Згідно з ТЕО потреба в фумагіліні складає  $G_{нд} = 33$  кг/рік. За умовами замовника цю кількість потрібно виробити за  $T_{рд} = 310$  днів. За даними мксимальний синтез антибіотика досягається за умов росту штаму *Aspergillus fumigatus Fresenius* 4238 на середовищі такого складу (г/л):

М'яса –  $C_1 = 40$ ;

Соєве борошно –  $C_2 = 20$ ;

Кукурудзяний екстракт –  $C_3 = 5$ ;

$NaNO_3$  –  $C_4 = 5$ .

Всього –  $C_{еф} = 70$  г/л.

Для вирощування посівного матеріалу використовують середовище:

- Крохмаль –  $C_1=20$

- Кукурудзяний екстракт -  $C_2 = 20$

Для подальших розрахунків приймаємо наступні показники:

- час роботи ферментера  $T_{цф} = 120$  год

-  $K_1=1,1$  – коефіцієнт запасу часу, що враховує можливість нестерильних операцій;

- Сумарні втрати продукту при виробництві  $E_{св} = 0,1$ ;

- Коефіцієнт заповнення ферментера  $K_{ф}=0,6$ ;

- Коефіцієнт заповнення посівного апарата  $K_{пп} = 0,6$ ;

- Коефіцієнт заповнення колб  $K_{кол} = 0,2$ ;

- Коефіцієнт заповнення збірника  $K_{зб} = 0,8$ ;

- Відсоток посівного матеріалу – 10%

- Втрати при культивування – 10 %

					<b>НУХТ БТЕК 04.02.15 КР ПЗ</b>			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
		Ширай В.О..			<b>РОЗДІЛ 6. Матеріальний баланс і розрахунок обладнання</b>	Літ.	Арк.	Акрушів
		Стабніков В.П..					58	16
						<b>Кафедра БТМ</b>		
		Пирог Т.П.						

## 6.1. Розрахунок кількості виробничих циклів.

Річна потреба(  $A_E$ ) 33 кг/рік. Продуктивність штаму продуцента становить 1,25/л. Розраховуємо яку кількість продукту яку можна отримати за добу, враховуючи кількість трудоднів ( $V_{\text{тдн}} = 310$ ).

Кількість продукту за добу

$$G = (33 \cdot 1000) / 310 = 106,5 \text{ г/добу}$$

Кількість продукту за цикл буде становити:

$$A_{\text{цикл}} = (A_d \times T_{\text{цф}}) / (24 \times V_{\text{тдн}}) = (106,5 \times 120) / (24) = 532 \text{ г /цикл}$$

Об'єм культуральної рідини, у якій можна отримати дану кількість антибіотика за цикл з урахуванням втрат ( $E_{\text{св}} = 10\%$ ) буде становити:

$$V_{\text{кр}} = (K_1 \times A_{\text{цикл}}) / (1 - E_{\text{св}}) \times A_{\text{кр}} = (1.1 \times 532 \times 0,9) / (1 - 0.1) \times 1,25 \\ = 468 \text{ л}$$

Кількість циклів ферментації буде становити:

$$N_{\text{цикл}} = A_E / A_{\text{цикл}} = 33 / 0,532 = 62 \text{ цикли}$$

Вихід препарату на 1 л культуральної рідини:

$$532 / 47 = 11,31 \text{ г}$$

культуральної рідини можна отримати у реакторі геометричний об'єм якого має становити (приймаємо коефіцієнт заповнення 0.6):

$$V_p = V_{\text{кр}} / K_{\text{зап}} = 468 / 0,6 = 780 \text{ л}$$

Обираємо об'єм ферментера = 1000 л ( найближча місткість біореактора ).

Уточнюємо коефіцієнт заповнення

$$K_z = V_{\text{кр}} / V_p = 468 / 1000 = 0,47$$

## 6.2. Приготування та стерилізація поживних середовищ для виробничого біосинтезу та вирощування посівного матеріалу.

### 6.2.1. Приготування та стерилізація поживного середовища для виробничого біосинтезу.

Об'єм готового поживного середовища (ПС) та посівного матеріалу (ПМ) у виробничому ферментері з врахуванням втрат при біосинтезі ( $E_{\text{ф}} = 0,1$ ), складе :

$$V_{\text{ф}} = V_{\text{кр}} / (1 - E_{\text{ф}}) = 468 / (1 - 0,1) = 520 \text{ л.}$$

Об'єм готового поживного середовища для виробничого ферментера :

$$V_{\text{псф}} = V_{\text{ф}} / (1 + X_{\text{ф}}) = 520 / (1 + 0,1) = 472,7 \text{ л.}$$

Кількість посівного матеріалу на засів виробничого ферментера:

$$V_{\text{пмф}} = V_{\text{ф}} - V_{\text{псф}} = 520 - 472,7 = 47,3 \text{ л.}$$

При вибраному коефіцієнт заповнення ферментера  $K_{\text{зф}}=0,6$  його приблизний геометричний об'єм складе :

$$V_{\text{гф}} = V_{\text{ф}} / K_{\text{зф}} = 47,3 / 0,6 = 78,8.$$

Приймаємо найближчий за об'ємом ферментера  $V_{\text{гф}} = 100 \text{ л}$

Уточнюємо коефіцієнт заповнення:

$$47,3 / 100 = 0,47$$

### 6.2.2. Кількість стадій вирощування посівного матеріалу.

Для одержання  $47,3 \text{ м}^3$  культуральної рідини в посівному апараті враховуємо втрати у результаті краплиносу через колектор відпрацьованого повітря. Приймаємо це за 10%

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

$$V_{\text{роб2}} = V_{\text{пм1}} / (1 - E_{\text{па}}) = 47,3 / (1 - 0,1) = 52,55 \text{ л}$$

Кількість поживного середовища в ферментері з поправкою на інокулят у 10% ( $X_{\text{ф}}$ ) буде становити:

$$V_{\text{пс2}} = V_{\text{роб2}} / (1 + X_{\text{ПА}}) = 52,55 / (1 + 0,1) = 47,77 \text{ л}$$

Звідси кількість посівного матеріалу становить:

$$V_{\text{пм2}} = V_{\text{роб2}} - V_{\text{пс2}} = 52,55 - 47,77 = 4,78 \text{ л}$$

Таку кількість культуральної можна одержати у інокуляторі з  $K_{\text{зф}}=0,6$  його приблизний геометричний об'єм складе :

$$V_{\text{гф}} = V_{\text{ф}} / K_{\text{зф}} = 4,78 / 0,6 = 7,96 \text{ л.}$$

Приймаємо найближчий за об'ємом ферментера посівного  $V_{\text{гф}} = 10 \text{ л.}$

Уточнюємо коефіцієнт заповнення:

$$4,78 / 10 = 0,48$$

Для одержання 4,78 л культуральної рідини в посівному апараті вираховуємо втрати у результаті краплевиносу через колектор відпрацьованого повітря. Приймаємо це за 10%

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

$$V_{роб2} = V_{пм1} / (1 - E_{па}) = 4,78 / (1 - 0,1) = 5,31 \text{ л}$$

Кількість поживного середовища в ферментері з поправкою на інокулят у 10% ( $X_{\phi}$ ) буде становити:

$$V_{пс2} = V_{роб2} / (1 + X_{ПА}) = 5,31 / (1 + 0,1) = 4,82 \text{ л}$$

Звідси кількість посівного матеріалу становить:

$$V_{пм2} = V_{роб2} - V_{пс2} = 5,31 - 4,82 = 0,490 \text{ л}$$

Таку кількість посівного матеріалу можна отримати у колбах на качалках об'ємом 750 мл з коефіцієнтом заповнення 0.2

Тоді кількість колб для отримання посівного матеріалу буде становити:

$$N = V_{пм2} / (V_{колб} * K_{зк}) = 490 / (750 * 0,2) = 3,26 \text{ штук, приймаємо } 4$$

Отже процес одержання фузагіліну у *Aspergillus fumigatus* буде складатися з 4 стадій: перша - у колбах на качалках, друга у інокуляторі на 10 л з  $K_3 = 0,47$ , третя у посівному апараті на 100 л з  $K_3 = 0,47$ , четверта у виробничому апараті на 1000 л з  $K_3 = 0,47$ ,

### **6.2.3. Розрахунок кількості компонентів поживного середовища для виробничого ферментера**

Відповідно з прийнятим складом поживного середовища для виробничого біосинтезу, загальні витрати компонентів на визначений об'єм поживного середовища ( $V_{псф}$ ) складуть:

$$G_{\phi} = V_{псф} * C_{\Sigma\phi} = 0,4727 * 70 = 33 \text{ кг, в тому числі:}$$

$$\text{Меляса} - G_1 = G_{\phi} * C_1 / C_{\Sigma\phi} = 33 * 40 / 70 = 18,85;$$

$$\text{Соеве борошно} - G_2 = G_{\phi} * C_2 / C_{\Sigma\phi} = 33 * 20 / 70 = 9,42$$

$$\text{Кукурудзяний екстракт} - G_1 = G_{\phi} * C_1 / C_{\Sigma\phi} = 33 * 5 / 70 = 2,35;$$

$$\text{NaNO}_3 - G_2 = G_{\phi} * C_2 / C_{\Sigma\phi} = 33 * 5 / 70 = 2,35;$$

#### 6.2.4. Розрахунок кількості води для приготування поживного середовища для виробничого ферментера

Оскільки об'єм поживного середовища у ферментері складає  $V_{\text{псф}} = 472,7$  л, кількість конденсату становитиме  $V_{\text{фк}} = 472,7 \times 0,1 = 47,27$  л.

Кількість води необхідної для розбавлення компонентів поживного середовища буде :

$$V_{\text{вф}} = V_{\text{псф}} - G_{\text{ф}} - V_{\text{фк}} = 472,7 - 47,27 - 33 = 392,43 \text{ л}$$

Формуємо композиції:

Таблиця 6.1.

#### Склад композицій для стерилізації поживного середовища для виробничої ферментації

Об'єм середовища, який необхідно приготувати	Концентрація, г/л	Вміст компонента в 472,7 середовища, л	Композиція	Об'єм композиції, л
1	2	3	4	5
М'яса	40	18,85	А	366,76
Соєве борошно	20	9,42		
Кукурудзяний екстракт	5	2,35		
Вода		300		
Конденсат 10%		36,14	Б	105,94
NaNO <sub>3</sub>	5	2,35		
Вода		92,45		
Конденсат 10%		11,13		
Разом	70	472,7		472,7

Кількість поживного середовища до стерилізації 425,43 л, а після 472,7 л

#### 6.2.5 Приготування та стерилізація поживного середовища для вирощування посівного матеріалу в апараті місткістю 100 л .

З розрахунку вище стадії підготовки ПМ необхідна кількість посівного матеріалу яку отримують з інокулятора – 47,3 , звідси кількість поживного середовища та посівного матеріалу в посівному апараті становить :

$$V_i = \frac{V_i}{1 - E_{\text{па}}} = \frac{47,3}{1 - 0,1} = 52,55 \text{ л.}$$

Кількість поживного середовища у посівному апараті становитиме:

$$V_{\text{псі}} = \frac{V_i}{1 + X_{\text{па}}} = \frac{52.55}{1 + 0.1} = 47.77 \text{ л}$$

Необхідна кількість посівного матеріалу для засіву:

$$V_{\text{пмі}} = V_i - V_{\text{псі}} = 52.55 - 47.77 = 4.78 \text{ л}$$

Згідно зі прийнятим складом поживного середовища для вирощування інокуляту загальні втрати компонентів на визначений об'єм поживного середовища  $V_{\text{псі}}$  складають :

$$G_{\text{ф}} = V_{\text{псф}} \times C_{\Sigma\text{ф}} = 0.04777 \times 40 = 1.91 \text{ кг , в тому числі :}$$

$$\text{Крохмаль} - G_1 = G_{\text{ф}} \times C_1 / C_{\Sigma\text{ф}} = 1.91 \times 20 / 40 = 0.955 ;$$

$$\text{Кукурудзяний екстракт} - G_2 = G_{\text{ф}} \times C_2 / C_{\Sigma\text{ф}} = 1.91 \times 20 / 40 = 0.955 ;$$

#### **6.2.6. Розрахунок кількості води для приготування поживного середовища для інокулятора.**

Оскільки об'єм поживного середовища у посівному апараті складає  $V_{\text{псі}} = 47.77$  л кількість конденсату буде дорівнювати.

$$V_{\text{фк}} = 47.77 \times 0.1 = 4.777 \text{ л}$$

Кількість води необхідної для розбавлення компонентів поживного середовища буде :

$$V_{\text{ві}} = V_{\text{псі}} - G_1 - V_{\text{ік}} = 47.77 - 4.777 - 1.91 = 41.1 \text{ л}$$

Формуємо композиції:

**Склад композицій для стерилізації поживного середовища  
в посівному апараті на 100 л**

Об'єм середовища, який необхідно приготувати	Концентрація, г/ л	Вміст компонента в 47,77л середовища	Композиція	Об'єм композиції, л
1	2	3	4	5
Крохмаль	20	0,955	А	47,77
Кукурудзяний екстракт	20	0,955		
Вода		41,1		
Конденсат 10%		4,77		
Разом	40	47,77		47,77

Кількість поживного середовища до стерилізації 425,43 л, а після 472,7 л

**3.2.7 Приготування та стерилізація поживного середовища для вирощування посівного матеріалу в апараті місткістю 10 л .**

З розрахунку вище стадії підготовки ПМ необхідна кількість посівного матеріалу яку отримують з посівного апарата наступна – 4.78 л, звідси кількість поживного середовища та посівного матеріалу в посівному апараті становить :

$$V_i = \frac{V_i}{1 - E_{па}} = \frac{4.78}{1 - 0,1} = 5.31 \text{ л}$$

Кількість поживного середовища у посівному апараті становитиме:

$$V_{псі} = \frac{V_i}{1 + X_{па}} = \frac{5.31}{1 + 0,1} = 4,82 \text{ л}$$

Необхідна кількість посівного матеріалу для засіву:

$$V_{пмі} = V_i - V_{псі} = 5,31 - 4,82 = 0,49 \text{ л .}$$

Згідно зі прийнятим складом поживного середовища для вирощування інокуляту загальні втрати компонентів на визначений об'єм поживного середовища  $V_{псі}$  складають :

$$G_{\phi} = V_{псі\phi} \times C_{\Sigma\phi} = 4,82 \times 40 = 192,8 \text{ г , в тому числі :}$$

$$\text{Крохмаль} - G_1 = G_{\phi} \times C_1 / C_{\Sigma\phi} = 192,8 \times 20 / 40 = 96,4 ;$$

Кукурудзяний екстракт –  $G_2 = G_{\phi} \times C_2 / C_{\Sigma\phi} = 192,8 \times 20/40 = 96,4$  ;

### 6.2.8. Розрахунок кількості води для приготування поживного середовища для інокулятора.

Оскільки об'єм поживного середовища у посівному апараті складає  $V_{\text{псі}} = 4,82$  л кількість конденсату буде дорівнювати нулю оскільки компоненти стерилізуються в автоклаві.

Кількість води необхідної для розбавлення компонентів поживного середовища буде :

$$V_{\text{ві}} = V_{\text{псі}} - G_1 - V_{\text{ік}} = 4,82 - 0,1928 = 4,627 \text{ л (4627 мл)}$$

Формуємо композиції

Таблиця 6.3.

### Склад композицій для стерилізації поживного середовища в посівному апараті на 10 л

Об'єм середовища, яке необхідно приготувати	Концентрація, г/ л	Вміст компонента в 4,82(4820 мл) середовища, ,л	Композиція	Об'єм композиції , мл
1	2	3	4	5
Крохмаль	20	96,4	А	
Кукурудзяний екстракт	20	96,4		
Вода		4627		
Конденсат 10%		-		
Сума $\Sigma$	40	4820		4820

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

Кількість поживного середовища та посівного матеріалу в колбах = 490 мл, тоді кількість посівного матеріалу буде становити 49 мл, натомість кількість поживного середовища:  $490 - 49 = 441$  мл. Кількість колб в якій можна одержати дану кількість ПМ – 4 штуки.

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

$$G_{\phi} = V_{\text{псф}} \times C_{\Sigma\phi} = 0,441 \times 40 = 17,62 \text{ г, в тому числі :}$$

$$\text{Крохмаль - } G_1 = G_{\phi} \times C_1 / C_{\Sigma\phi} = 17,62 \times 20 / 40 = 8,81;$$

$$\text{Кукурудзяний екстракт - } G_2 = G_{\phi} \times C_2 / C_{\Sigma\phi} = 17,62 \times 20 / 40 = 8,81 ;$$

### **6.2.10. Розрахунок кількості води для приготування поживного середовища для інокулятору.**

Кількість води необхідної для розбавлення компонентів поживного середовища буде:

$$V_{\text{вi}} = V_{\text{псi}} - G_1 - V_{\text{iк}} = 441 - 17,62 = 423,38 \text{ мл}$$

Формуємо композиції:

*Таблиця 6.4.*

#### **Склад композицій для стерилізації поживного середовища в колбах на качалці**

Об'єм середовища, яке необхідно приготувати	Концентрація, г/л	Вміст компонента в 441 мл( г, мл) середовища, ,	Композиція	Об'єм композиції, мл
1	2	3	4	5
Крохмаль	20	8.81	А	441
Кукурудзяний екстракт	20	8,81		
Вода		423,38		
Конденсат 10%		-		
Сума $\Sigma$	40	441		441

Усі композиції готуються у колбах та стерилізуються у окремих колбах в автоклаві.

### 6.3 Матеріальний баланс на один цикл виробництва( партію).

Таблиця 6.5

№ з/п	Використано		Отримано	
	Назва сировини і напівпродукту	Кількість, кг, л	Назва кінцевого продукту, відходів та втрат	Кількість, кг, дм <sup>3</sup>
1	2	3	4	5
1.	ПРИГОТУВАННЯ ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА ДЛЯ ВИРОЩУВАННЯ ІНОКУЛЯТУ В КОЛБАХ НА КАЧАЛКАХ (мл, г)			
1.1.	Крохмаль	8,82 г	Нестерильне ПС	441
1.2.	Кукурудзяний екстракт	8,82 г		
1.3.	Вода	423.28		
	Всього:	<b>441</b>	Всього:	<b>441</b>
2.	СТЕРИЛІЗАЦІЯ ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА В АВТОКЛАВІ (мл)			
2.1.	Нестерильне ПС	441	Стерильне ПС	441
	Всього:	<b>441</b>	Всього:	<b>441</b>
3.	ОТРИМАННЯ ПОСІВНОГО МАТЕРІАЛУ ПІД ЧАС КУЛЬТИВУВАННЯ В КОЛБАХ НА КАЧАЛКАХ (мл)			
3.1.	Стерильне ПС	441	Посівний матеріал	490( 0,49 л)
3.2.	Посівний матеріал	49		
	Всього:	<b>490</b>	Всього:	<b>490</b>
4.	ПРИГОТУВАННЯ ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА ДЛЯ ІНОКУЛЯТОРА НА 10 л (г, мл)			
4.1.	Крохмаль	96,4	Нестерильне ПС	4,82
4.2.	Кукурудзяний екстракт	96.4		
4.7.	Вода	4,627		
	Всього:	4.82	Всього:	4.82

5.	СТЕРИЛІЗАЦІЯ ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА ДЛЯ ІНОКУЛЯТОРА (л)			
5.1.	Нестерильне ПС	4.82	Стерильне ПС	4.82
5.2.	Конденсат	0	(втрат немає)	0
	Всього:	<b>4.82</b>	Всього:	<b>4,82</b>
6.	ОТРИМАННЯ ПОСІВНОГО МАТЕРІАЛУ В ІНОКУЛЯТОРІ на 20 л (л)			
6.1.	Стерильне ПС	4,82	Посівний матеріал	4,78
6.3.	Посівний матеріал з колб на качалках	0,49		
6.4.	Втрати (частка)	0,1	Втрати (кількість)	0,53
	Всього:	<b>5,31</b>	Всього:	<b>5,31</b>
7	ПРИГОТУВАННЯ ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА ДЛЯ ІНОКУЛЯТОРА НА 100 л (кг, л)			
7.1	Крохмаль	0.955	Нестерильне ПС	43,01
7.2	Кукурудзяний екстракт	0,955		
7.3	Вода	41,1		
7.4	Всього:	<b>43,01</b>	Всього:	<b>43,01</b>
8	СТЕРИЛІЗАЦІЯ ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА ДЛЯ ІНОКУЛЯТОРА (л)			
8.1	Нестерильне ПС	43,01	Стерильне ПС	47,77
8.2	Конденсат	4,777	(втрат немає)	0
	Всього:	<b>47.77</b>	Всього:	<b>47,77</b>
9	ОТРИМАННЯ ПОСІВНОГО МАТЕРІАЛУ В ІНОКУЛЯТОРІ на 100 л (л)			
9.1	Стерильне ПС	47,77	Посівний матеріал	47,3
9.2	Посівний матеріал з інокулятора на 10 л	4,78		
9.3	Втрати (частка)	0,1	Втрати (кількість)	5,25
	Всього:	<b>52,55</b>	Всього:	<b>52.55</b>

10. ПРИГОТУВАННЯ ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА ДЛЯ Виробничого біосинтезу (кг, л)				
10.1	Меляса	18,85	Нестерильне ПС	425,43
10.2	Соєве борошно	9,42		
10.3	Кукурудзяний екстракт	2,35		
10.4	NaNO <sub>3</sub>	2,35		
10.3	Вода	392,45		
	<b>Всього:</b>	<b>425,43</b>	<b>Всього:</b>	<b>425,43</b>
11 СТЕРИЛІЗАЦІЯ ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА ДЛЯ ВИРОБНИЧОГО БІОСИНТЕЗУ				
11.1	Нестерильне ПС	425,43	Стерильне ПС	472,7
11.2	Конденсат	47,27	(втрат немає)	0
	<b>Всього:</b>	<b>472,7</b>	<b>Всього:</b>	<b>472,7</b>
12 ВИРОБНИЧИЙ БІОСИНТЕЗ				
12.1	Стерильне ПС	472,7	Культуральна рідина	468
12.3	Посівний матеріал з інокулятора на 100 л	47,3		
12.3	Втрати (частка)	0,1	Втрати (кількість)	52
	<b>Всього</b>	<b>520</b>	<b>Всього</b>	<b>520</b>

#### 6.4. Розрахунок технологічного обладнання.

##### 6.4.1. Уточнючий розрахунок ферментаційного обладнання.

Уточнюючий розрахунок кількості ферментерів.

Приблизний загальний геометричний об'єм ферментерів при заданому

$K_3=0,61$ :

$$V_{гф} = V_{ф}/K_3 = 520/0,6 = 866 \text{ л}$$

Обираємо ферментер на 1000 л

Кількість виробничих ферментерів при заданому  $K_3$ :

$$N_{\text{фр}} = V_{\text{гф}} / V_{\text{нф}} = 866 / 1000 = 1 \text{ – приймаємо } 1.$$

Уточнюємо коефіцієнт заповнення вибраних з таблиці ферментерів:

$$K_{3\text{ф}} = V_{\text{ф}} / (V_{\text{нф}} \times N_{\text{фр}}) = 520 / (1000 \times 1) = 0,52$$

#### **6.4.2 Уточнюючий розрахунок кількості інокуляторів**

##### **6.4.2.1 Посівний апарат для одержання 47,3 л ПМ**

Приблизний загальний геометричний об'єм посівного апарата при заданому  $K_3=0,61$ :

$$V_{\text{гін}} = V_{\text{ін}} / K_3 = 52,55 / 0,6 = 87,58$$

Як посівний апарат обираємо ферментер на 100 л  
Кількість інокуляторів при заданому  $K_{3\text{ін}}$ :

$$N_{\text{інр}} = V_{\text{гін}} / V_{\text{нін}} = 87,58 / 100 = 0,875 \text{ – приймаємо } 1$$

Уточнюємо коефіцієнт заповнення вибраних з таблиці ферментерів:

$$K_{3\text{ф}} = V_{\text{ф}} / (V_{\text{нф}} \times N_{\text{фр}}) = 52,55 / (100 \times 1) = 0,52$$

Оскільки уточнений коефіцієнт заповнення не перевищує задані межі приймаємо до установки посівних апаратів  $N_{\text{інр}} + 1$  запасний.

##### **6.4.2.2 Посівний апарат для одержання 4,78 л ПМ.**

Приблизний загальний геометричний об'єм посівного апарата при заданому

$$K_3=0,6:$$

$$V_{\text{гін}} = V_{\text{ін}} / K_3 = 5,31 / 0,6 = 8,85 \text{ л .}$$

Як посівний апарат обираємо ферментер на 10 л

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

$$N_{\text{інр}} = V_{\text{гін}} / V_{\text{нін}} = 8,85 / 10 = 0,885 \text{ – приймаємо } 1$$

Поправляємо коефіцієнт заповнення:

$$K_3 = 5,31 / 10 = 0,53$$

Оскільки уточнений коефіцієнт заповнення не перевищує задані межі приймаємо до установки посівних апаратів  $N_{\text{інр}} + 1$  запасний.

### 6.4.2.3 Уточнюючий розрахунок кількості качалочних колб

Приблизний загальний необхідний об'єм качалочних колб при заданому

$$K_{\text{колб}}=0,2:$$

$$V_{\text{Гколб}} = V_{\text{колб}}/K_{\text{колб}}=490/0,2=2450 \text{ мл}$$

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

Кількість качалочних колб при заданому  $K_{\text{колб}} = 0,2$ :

$$N_{\text{колб}} = V_{\text{Гколб}}/V_{\text{нколб}}=2450/750=4 \text{ колби}$$

Приймаємо 4 штуки.

### 6.4.3 Уточнюючий розрахунок кількості реакторів-змішувачів для приготування

#### середовища для виробничого біосинтезу в ферментері та підготовки посівного матеріалу

*Уточнюючий розрахунок реактора для приготування композиції А при виробничому ферментері.*

Підбираємо геометричний об'єм реактора-змішувача для приготування та стерилізації композиції А. Приблизний геометричний об'єм реактора-змішувача при заданому  $K_{зб} = 0,8$ :

$$V_{\text{Апа}} = V_{\text{А}}/K_{зб} = 366,7/0,8 = 458,4$$

Обираємо змішувач типу об'ємом 630 л. Кількість реакторів при заданому  $K_{зб}$  становить :

$$N_{\text{р}} = V_{\text{Апа}}/V_{\text{рст}} = 458/630 = 0,8 - \text{приймаємо } 1.$$

Уточнюємо коефіцієнт заповнення реактора :

$$K_{зр} = V_{\text{Апа}}/(V_{\text{рст}} \times N_{\text{р}}) = 366,7/630 = 0,58$$

Приймаємо до установки кількість реакторів для приготування композиції А – 1 + 1 запасний (2 шт.).

*Уточнюючий розрахунок реактора для приготування композиції Б при виробничому ферментері.*

Підбираємо геометричний об'єм реактора-змішувача для приготування та стерилізації композиції А. Приблизний геометричний об'єм реактора-змішувача при заданому  $K_{зб} = 0,8$

$$V_{\text{Апа}} = V_{\text{А}}/K_{\text{зб}} = 105,94/0,8 = 132,4 \text{ л.}$$

Обираємо змішувач об'ємом 160 л . Кількість реакторів при заданому  $K_{\text{зб}}$  становить :

$$N_{\text{р}} = V_{\text{Апа}}/V_{\text{рст}} = 132,4/160 = 0,82 - \text{приймаємо } 1 . \text{ Уточнюємо}$$

коефіцієнт заповнення реактора :

$$K_{\text{зр}} = V_{\text{Апа}}/(V_{\text{рст}} \times N_{\text{р}}) = 105,94/160 = 0,66$$

Приймаємо до установки кількість реакторів для приготування композиції А  
*Уточнюючий розрахунок реактора для приготування композиції А при посівному ферментері на 100 л .*

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

$$V_{\text{Апа}} = V_{\text{А}}/K_{\text{зб}} = 23,27/0,8 = 29 \text{ л}$$

Обираємо реактор- змішувач 50 л . Кількість реакторів при заданому  $K_{\text{зб}}$  становить :

$$N_{\text{р}} = V_{\text{Апа}}/V_{\text{рст}} = 29/50 = 0,58 - \text{приймаємо } 1 .$$

Уточнюємо коефіцієнт заповнення реактора :

$$K_{\text{зр}} = V_{\text{Апа}}/(V_{\text{рст}} \times N_{\text{р}}) = 23,27/50 = 0,46$$

Приймаємо до установки кількість реакторів для приготування композиції А – 1 + 1 запасний (2 шт.).

*Уточнюючий розрахунок реактора для приготування композиції Б при посівному ферментері на 100л .*

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

$$V_{\text{Апа}} = V_{\text{А}}/K_{\text{зб}} = 24,5/0,8 = 30,6 \text{ л.}$$

Обираємо реактор- змішувач 50л. Кількість реакторів при заданому  $K_{\text{зб}}$  становить :

$$N_{\text{р}} = V_{\text{Апа}}/V_{\text{рст}} = 30,6/50 = 0,612 - \text{приймаємо } 1 .$$

Уточнюємо коефіцієнт заповнення реактора :

$$K_{зр} = V_{Апа} / (V_{рст} \times N_p) = 24,5 / 50 = 0,49$$

Приймаємо до установки кількість реакторів для приготування композиції А – 1 + 1 запасний (2 шт.).

## РОЗДІЛ 7. СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ

Специфікація обладнання зображеного на апаратурній схемі, наведена в

*табл. 7.1*

Позиція	Найменування	Кількість	Технічна характеристика (виробник)
1	2	3	4
Д-9	Об'ємно- ваговий дозатор	1	Дозатор комбінований, виробництва НВП "Техноаги" призначений для дозування сипких та рідких продуктів по вазі. Точність зважування становить 0,1%[59].
Н-23	Перистальтичний насос	1	Перестальтичний насос фірми РСМ серії Delasco (Франція), продуктивністю до 18 л/хв для об'єму 520 л, високоякісна нержавіюча сталь[27]
СМ-1	СП-мийка	1	СП-мийка ПРОМВИТ обладнана: реактор-змішувач для миючого розчину , ємність для відпрацьованого мийного розчину (з корозійностійкої нержавіючої сталі, яке виконує завдання підготовки, нагріву і циркуляції миючих розчинів всередині технологічного обладнання і трубопроводів, без необхідності їх розбору, з метою автоматизованого видалення забруднень), дозатор та двома насосами Grund fos для СП мийки витримують температуру до 180 °С та виготовлені з нержавіючої сталі, що дає можливість витримати агресивні миючі засоби, що зустрічаються в процесах очищення[58]

<b>НУХТ БТЕК 04.02.15 КР ПЗ</b>				
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата
Розроб.		Ширай В.О..		
Керівник		Стабніков В.П..		
Консультант				
Н. Контр.				
Затверд.		Пирог Т.П.		
<b>РОЗДІЛ 7.Специфікація обладнання</b>				
		Літ.	Арк.	Акрушів
			74	3
<b>Кафедра БТМ</b>				

ПЗ-2	Повітрязабірник	1	Обладнений металевною сіткою для видалення механічних забруднень[60].
Ф-3	Фільтр грубої очистки	1	Фільтруючий матеріал – хімволокно ФВР, E=90%.
К-4	Компресор	1	Компресор GX7 фірми AtlasCorco (Швеція), потужність 14 л/с[61].
Т-5	Теплообмінник охолоджувач	1	Теплообмінник охолоджувач серії АС-13,5 фірми «Уралкомпресормарш»(Росія) продуктивністю 13,5 нм <sup>3</sup> /год[63].
Р-6	Ресивер	1	Ресивер серії РВ 430/16 фірми «Уралкомпресормарш» (Росія), об'єм 430 л, робочий тиск 1,8 МПа[64].
Т-7	Теплообмінник нагрівач	1	Корпус теплообмінника фірми VENTS (Україна) виготовлений із оцинкованої сталі, максимальний робочий тиск 1,6 МПа[63].
Ф-8	Фільтр головний	1	Фільтруючий матеріал –волокнистий, швидкість фільтрування 0,1 м/с, E=96%[65].
Р-11	Реактор змішувач для композиції А	1	Реактори об'ємом 160 л, з сорочкою, перемішуючим пристроєм, швидкість перемішування 100 об/хв[62]
Р-12	Реактор змішувач для композиції А	1	Реактори об'ємом 630 л, з сорочкою, перемішуючим пристроєм, швидкість перемішування 100 об/хв[62].
Ф-10 Ф-12 Ф-14 Ф-15 Ф-16 Ф-17 Ф-18 Ф-19	Індивідуальний фільтр	8	Фільтри марки BonescoActive carbon filter (Швеція), E=99[66].
ІН-20	Інокулятор	1	Ферментер об'ємом 10 л, швидкість перемішування 180 об/хв.
ІН-21	Інокулятор	1	Ферментер об'ємом 100 л, швидкість перемішування 180 об/хв[67].
ФР-22	Ферментер	1	Ферментер барботажний об'ємом 1 м <sup>3</sup> , швидкість перемішування 180 об/хв[67].
З-1	Збірник культуральної рідини	1	Збірник емальований хімічний на 1000 л. [68].

P-4,P-6	Реактори	2	Реактори емальовані фірми ТОВ «АЗОВХІМСЕРВІС», обладнаний мішалкою якорного типу СЕРн з двигуном потужності 9 кВт. Місткість 1600 л[69].
BBA-8	Вакуум-випарний апарат	1	Вакуум-випарний однокорпусний апарат МЗС-320 з максимальною робочою місткістю у 1000. Робочий тиск 0.01- 0,0085 МПа [70].
PK-10	Реактор-кристалізатор	1	Реактор фармацевтичний на 250 л виробництва компанії «Промвіт» сталь н/ж 316L AISI з робочим тиском 0,1-3 бар[71].
КС-13	Камерна сушарка	1	Вакуумна камерна сушарка VD 65 місткістю до 50 л з н/ж сталі з робочим тиском -0,6.... -0,8 бар[72].
АМП-14	Автомат пакувальний для пакування у мішки	1	Автомат пакувальний для пакування у ПЕТ-пакети та коробки моделі FYL – 100, місткість 40 кг точність до 1%, продуктивність 30 шт/хв, мінімальне дозування = 100 г, тип дозування-поршневий, потужність 900 кВт[73].
АГП-15	Пакувальний стіл	1	Пакувальний стіл Treston розмірами 0.9 1,8 м[74].
Н-2,Н-5,Н-7,Н-11	Насоси відцентрові	4	Насос відцентровий фірми «ООО Ватерпас» JCP 60 потужністю до 100 м <sup>3</sup> /год, [75].

## РОЗДІЛ 8. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ

### *ДР 1. Санітарна підготовка виробництва*

Обов'язковою частиною підготовчих робіт на біотехнологічних підприємствах є проведення робіт санітарно-гігієнічного спрямування. Основним спрямуванням санітарної підготовки виробництва є забезпечення мінімальної кількості контамінантів у всіх учасників виробничого процесу: в поживному середовищі, технологічному аераційному повітрі на поверхнях обладнання, яке контактує з культуральною рідиною, забезпечення чистоти на виробничих ділянках де чистота та асептика впливають на якісні показники продукції. Роботи санітарно-гігієнічного призначення суттєво впливають на створення безпечних умов праці і охороні здоров'я працівників підприємства. Санітарна підготовка виробництва реалізується виконанням робіт по щоденному позмінному та генеральному прибиранні виробничих приміщень та централізованою підготовкою обладнання [77].

### *ДР 1.1 Приготування миючих та дезинфікуючих засобів*

Миючі та дезинфікуючі засоби що використовуються в процесі виробництва мають бути визнаними в біотехнологічній практиці: розчин хлораміну, розчин їдкого натру – каустична сода та інші дезінфектанти. На сьогоднішній день загальновизнаним способом стерилізації апаратури та комунікацій є термічна стерилізація насиченою водяною парою. Для миття внутрішніх частин обладнання, які забруднені органічними речовинами передбачене використання розчину кальцинованої або каустичної соди .

					<b>НУХТ БТЕК 04.02.15 КР ПЗ</b>			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата	<b>РОЗДІЛ 8. Опис технологічної схеми</b>	Літ.	Арк.	Акрушів
Розроб.		Ширай В.О..					77	14
Керівник		Стабніков В.П..						
Консультант								
Н. Контр.								
Затверд.		Пирог Т.П.						Кафедра БТМ

### *ДР 1.1.1 Приготування розчину каустичної соди*

Робочі розчини каустичної соди готують у окремому збірнику СІР-мийки (СМ-1) який виготовлений з нержавіючої сталі. Препарат у вигляді порошку вносять у збірник СІР-мийки (СМ-1) додають воду та розчиняють при перемішуванні протягом 1–5 хв [78].

Для приготування робочих розчинів засобу використовують воду питну згідно. Допускається використовувати теплу воду за температури  $(5\pm 5)$  °С для приготування розчинів засобу з метою прискорення його розчинення у воді.

Робочий розчин каустичної соди (2 %) готують в установці СІР-мийка (СМ-1). На 1 цикл виробничого біосинтезу потрібно 37,2 л 2% розчину каустичної соди. Для цього зважують за допомогою об'ємно-вагового дозатора 759 г каустичної соди та додають 36,4 л води та отримуємо 37,2 л робочого розчину з концентрацією 2% [76].

### *ДР 1.1.2 Приготування розчину «Хлорантоїн»*

Зі складу надходить хлорантоїн, який розводять водою до потрібної концентрації (0,25 %). Готують у збірнику об'ємом 800 л. Щоб отримати 560 л (0,25 %) розчину хлорантоїну, наливають 24 л 25% хлорантоїну та 536 л водопровідної води і включають перемішуючий пристрій

### ***ДР 1.2 Підготовка приміщень***

Прибирання проводять у спец-взутті, гумових рукавичках і фартуху. Інструмент, призначений для миття (відра, губки, швабри) маркують і знезаражують на протязі 2 – 3 годин.

Стіни, двері і інші поверхні протирають поролоновою губкою, яка змочена дезінфікуючим розчином 100 мл/м<sup>2</sup> поверхні, потім цим же розчином миють підлогу.

### *ДР 1.2.1 Щоденне прибирання*

Щоденне прибирання приміщень проводять після кожної зміни вологим способом. У виробничих приміщеннях підлогу миють 2% розчином миючого засобу із розрахунку 100 мл/м<sup>2</sup> поверхні підлоги.

### *ДР 1.2.2 Генеральне прибирання*

Генеральне прибирання приміщень проводять 1 раз в 30 днів. У виробничих приміщеннях підлогу миють 2% розчином миючого засобу із розрахунку 100 мл/м<sup>2</sup> поверхні підлоги. Після закінчення зрошення приміщення закривають на 30-40 хвилин, після цього вилучають надлишок розчину за допомогою губки. Особливо забруднені місця додатково миють цим же розчином.

## ***ДР 1.3 Підготовка обладнання та комунікацій***

Підготовку обладнання необхідно проводити для досягнення необхідного рівня чистоти та асептичності.

### *ДР 1.3.1 Миття обладнання*

Для миття ємнісного обладнання використовують станцію СІР – мийки (СМ-1), питну воду і 2 %-й робочий розчин каустичної соди (від ДР1.1.1 ) протягом 10 хвилин при 70-80°С, для видалення наявних білково-жирових відкладень та забруднень неорганічного походження. Миття обладнання здійснюють за допомогою миючої установки СІР – мийки (СМ-1).

### *ДР 1.3.2 Ополіскування обладнання*

Ополіскування здійснюють водою, протягом 30 хвилин.

### *ДР 1.3.3. Технічний огляд*

Перед процесом стерилізації проводять технологічний огляд обладнання на наявність пошкоджень, вм'ятин, в яких можуть залишатись залишки можливого забруднення, що може призвести до перехресної контамінації. Всі знайдені несправності усувають.

### *ДР 1.3.4 Перевірка на герметичність.*

Ємнісне обладнання та комунікації перевіряють на герметичність шляхом створювання надлишкового тиску 0,1 – 0,2 МПа. Потім перекривають вентиль подачі повітря і фіксують показання манометра на кришці апарату та час витримки (30-60 хв) в операційному журналі. Після закінчення часу витримки звіряють покази манометра, якщо різниця менше 0,01 МПа, то апарат вважають герметичним. Фланцеві з'єднання та зварні шви перевіряють на герметичність за допомогою галоген вмісної речовини при повітряному тиску від 0,1 до 0,2 МПа. Після перевірки обладнання на герметичність, подають гостру пару  $t = 125 - 130$  °С протягом 45 хв.

#### *ДР 1.3.5 Стерилізація обладнання*

Для проведення стерилізації в сорочку апарата подають глуху пару і нагрівають його до 80–90 °С. Відкривають усю запірну арматуру на відкритих трубних закінченнях та підведених до апарата комунікаціях і подають гостру пару безпосередньо в апарат через нижній спуск, при цьому обов'язково відкривають вентиль виходу відпрацьованого повітря для видалення повітря з апарату. При досягненні температури стерилізації (130 – 135 °С) всю запірну арматуру, крім парової, закривають і витримують протягом 1 години. Після завершення витримки парову арматуру закривають, подають в апарат стерильне повітря, а в сорочку холодну воду. Процес охолодження здійснюють до досягнення температури 30–40°С .

#### *ДР 2 Підготовка стерильного технологічного повітря*

Атмосферне повітря забруднене твердими або рідкими частинки які містять на собі різноманітні мікроорганізми, а основною вимогою аераційного повітря є його стерильність, тому проводять очищення повітря.

##### *ДР 2.1 Забір атмосферного повітря*

Забір атмосферного повітря здійснюють на висоті 2-3 м від найвищого приміщення за допомогою пристрою для забору повітря – повітрязабірника (ПЗ-2).

##### *ДР 2.2 Очистка від грубих домішок*

Попередню очистку повітря здійснюють у фільтрі грубої очистки (Ф-3). При проходженні повітря через фільтр грубого очищення (Ф-3) затримується пила та механічні частки, а очищене повітря надходить у компресор (К-4). Ступінь очищення  $E = 90 \%$ .

#### *ДР 2.3 Компресування повітря*

Для забезпечення умов нормальної аерації культури продуцента та подолання гідравлічного тиску стовпа рідини в ферментері, інших опорів, а також для інших потреб виробництва, повітря необхідно стиснути.

При стисканні повітря у компресорі (К-4) його температура підвищується з 15-25 °С на вході в компресор (К-4) до 120-150°С на виході з неї і збільшується вмісту вологи повітря.

Після компресора (К-4) повітря має наступні характеристики:  $P = 0,35$  МПа,  $t = 120-150^{\circ}\text{C}$ ,  $W = 70 \%$ .

#### *ДР 2.4 Охолодження повітря та видалення зайвої вологи*

Стиснене повітря «переохолоджують» в охолоджувачі повітря (Т-5) до температури 25-30 °С для відведення надлишкової вологи. Повітря подають на ресивер (Р-6) для згладжування пульсацій і відділення зайвої вологи  $W = 60-70 \%$ .

#### *ДР 2.5 Нагрівання повітря*

Нагрівання повітря відбувається у теплообміннику-нагрівачі (Т-7) до 50 °С та вмісту вологи  $W=50\%$ .

#### *ДР 2.6 Очищення повітря на головному фільтрі*

Попереднє очищення повітря від мікроорганізмів здійснюють в головному фільтрі (Ф-10). Ступінь очищення головного фільтра (Ф-10) становить  $E = 95 \%$ .

Заміну фільтрувального матеріалу проводять 2 рази на рік. У разі забруднення, зволоження, інфікування фільтруючого матеріалу проводять позачергову його заміну.

#### *ДР 2.7 Очищення повітря в індивідуальному фільтрі*

Ступінь очищення становить  $E = 99,9999\%$  Остаточна стадія очищення повітря від контамінантів здійснюється в індивідуальному фільтрі (Ф-10, Ф-14, Ф-15, Ф-17, Ф-18, Ф-19).

### ***ДР 3 Приготування та стерилізація допоміжних розчинів***

#### ***ДР 3.1 Приготування та стерилізація розчину 6% NaOH***

На технічних вагах відтаровують ємності зважують 0,29 г їдкого натру, засипають у колби об'ємом 2 л та додають 1, 11 л питної води та отримуємо 1,2 л 6% їдкого натру. Перемішують та стерилізують пропусканням гострої пари при температурі 131° С протягом 30 хв. Стерильний розчин 6% їдкого натру подають через збірник об'ємом 2 л до *ТП.6.1* для підтримання рН у ферментері.

### ***ДР 4 Приготування та стерилізація поживних середовищ***

***ДР 4.1 Приготування та стерилізація поживного середовища для вирощування інокуляту в колбах на качалці***

#### ***ДР 4.1.1 Заварювання композиції А***

На технічних вагах у відтарованій ємності зважують 8,81 г крохмалю та 8,81 кг кукурудзяного екстракту. Наважку крохмалю поміщають у колбу об'ємом 2 л, добавляють 423,38 мл теплої питної води, суспендують і за постійного перемішування нагрівають на водяній бані при температурі 80 °С протягом 15 хв (до гомогенізації). До завареного крохмалю додають наважку кукурудзяного екстракту та перемішують.

*Таблиця 8.1*

Об'єм середовища, яке необхідно приготувати	Концентрація, г/л	Вміст компонента в 441 мл Середовища	Композиція	Об'єм композиції, мл
1	2	3	4	5
Крохмаль	20	8.81	А	441
Кукурудзяний екстракт	20	8,81		
Вода		423,38		
Конденсат 10%		-		
Разом	40	441		441

#### *ДР 4.1.2. Стерилізація композиції А*

Попередньо заварені крохмаль та кукурудзяний екстракт, що містяться в колбі об'ємом 2 л, закривають ватно-марлевою пробкою і стерилізують в автоклаві при температурі 112 °С (тиск – 0,05 МПа) протягом 30 хв.

***ДР 4.2 Приготування та стерилізація поживного середовища для вирощування посівного матеріалу в інокуляторі об'ємом 10 л.***

*Таблиця 8.2*

Об'єм середовища, який необхідно приготувати	Концентрація, г/л	Вміст компонента в 4,82(4820 мл) середовища, г	Композиція	Об'єм композиції, мл
1	2	3	4	5
Крохмаль	20	96,4	А	4820
Кукурудзяний екстракт	20	96,4		
Вода		4627		
Конденсат 10%		-		
Разом	40	4820		4820

#### *ДР 4.2.1. Заварювання композиції А.*

На технічних вагах у відтарованій ємності зважують 96,4 г крохмалю та 96,4 кукурудзяного екстракту. Наважку розділять порівно та поміщають у колбу об'ємом по 3 л, додаємо по 2313,5 мл теплої питної води в кожен з колб, суспендують і за постійного перемішування нагрівають на водяній бані при температурі 80 °С протягом 15 хв (до гомогенізації). Додають до завареного крохмалю наважку кукурудзяного екстракту та перемішують.

#### *ДР 4.2.2. Стерилізація композиції А.*

В аспетичних умовах розділену композицію А по колбах зливають у засівний балон об'ємом 10 л та переносять композицію А під тиском в інокулятор об'ємом 10 л.

Стерилізацію здійснюють гострою парою. Подачу пари здійснюють через нижній спуск інокулятора. Температура стерилізації – 112 °С (тиск – 0,05 МПа), тривалість – 30 хв з моменту досягнення температури стерилізації.

***ДР 4.3 Приготування та стерилізація поживного середовища для інокулятора 100 л.***

*Таблиця 8.3*

Об'єм середовища, яке необхідно приготувати	Концентрація, г/ л	Вміст компонента в 47,77 середовища, ,л	Композиція	Об'єм композиції , л
1	2	3	4	5
Крохмаль	20	0,955	А	47,77
Кукурудзяний екстракт	20	0,955		
Вода		41,1		
Конденсат 10%		4,77		
Разом	40	47,77		47,77

***ДР 4.3.1. Заварювання композиції А***

На технічних вагах у відтарованій ємності зважують 0,955 кг крохмалю та 0,955 кг кукурудзяного екстракту. Відважений крохмаль поміщають у попередньо простерилізований реактор-змішувач об'ємом 50 л, додають 41,1 л теплої питної води, суспендують і за постійного перемішування нагрівають глухою парою, яку подають у сорочку збірника. Перемішування відбувається за допомогою мішалки, якою обладнаний збірник. Процес відбувається за температури 80 °С протягом 15 хв (до гомогенізації). Додають до завареного крохмалю відважений кукурудзяний екстракт та перемішують.

***ДР 4.3.2. Стерилізація композиції А***

Заварену композицію А перекачують самоплином в інокулятор об'ємом 100 л. Стерилізацію здійснюють гострою парою. Подачу пари здійснюють через нижній спуск інокулятора. Температура стерилізації – 112 °С (тиск – 0,05 МПа), тривалість – 30 хв з моменту досягнення температури стерилізації.

#### **4.4 Приготування та стерилізація поживного середовища для виробничого біосинтезу в ферментері об'ємом 1 м<sup>3</sup>**

*Таблиця 8.4*

Об'єм середовища, яке необхідно приготувати	Концентрація, г/ л	Вміст компонента в 472,7л середовища, ,л	Композиція	Об'єм композиції , л
1	2	3	4	5
Меляса	40	18,85	А	366,76
Соеве борошно	20	9,42		
Кукурудзяний екстракт	5	2,35		
Вода		300		
Конденсат 10%		36,14		
NaNO <sub>3</sub>	5	2,35	Б	105,94
Вода		92,45		
Конденсат 10%		11,13		
Разом	70	472,7		472,7

##### *Д.Р.4.4.1 Заварювання композиції А*

На технічних вагах зважують 9,42 кг соєвого борошна та 2,35 кг кукурудзяного екстракту. Соеве борошно поміщають у збірник на 500 л, розчиняють у 300 л води, суспендують і за постійного перемішування нагрівають глухою парою, яку подають у сорочку збірника. Потім додають наважку кукурудзяного екстракту і перемішують за допомогою мішалки, якою обладнаний збірник. Процес відбувається за температури 80°C протягом 15 хв (до гомогенізації).

На технічних вагах у відтарованій ємності зважують 18,85 кг меляси у збірник на 100 л, додають холодну питну воду 92,45 л та перемішують

##### *Д.Р.4.4.3 Стерилізація композиції А*

Попередньо заварене соєве борошно та розчинені кукурудзяний екстракт і мелясу поміщають у ферментер на 1 м<sup>3</sup>. Стерилізацію здійснюють гострою парою. Подачу пари здійснюють через нижній спуск апарату. Стерилізацію здійснюють гострою парою. Подачу пари здійснюють через нижній спуск апарату. Температура стерилізації - 112°C (тиск – 0,05 МПа), тривалість -30 хв з моменту досягнення температури стерилізації

#### *Д.Р.4.4.4 Стерилізація композиції Б*

На технічних вагах у відтарованій ємності зважують 2,35 кг NaNO<sub>3</sub>. Розчиняють у 100 л питної води, переносять у попередньо простерилізований збірник об'ємом 200 л. Об'єм композиції перекачують в ферментер 1 м<sup>3</sup> самоплинно. Стерилізацію здійснюють гострою парою, яка подається через нижній спуск ферментара. Процес відбувається при температурі 131°C (тиск – 0,15 МПа) протягом 40 хв.

### ***ТП 5. Підготовка посівного матеріалу***

#### *ТП.5.1 Підтримання колекційної культури*

Колекційну культуру *Aspergillus fumigatus* Fresenius 4238 зберігають у пробірках зі скошеним агаром Чапека. Пересіви здійснюють кожні 3 місяці. Всі роботи з колекційною культурою проходять в строго стерильних умовах.

#### *ТП 5.2 Одержання робочої культури з колекційної*

Колекційну культуру, що зберігається в пробірках за скошеним агаром Чапека, розсівають петлею до ізольованих колоній на чашки Петрі при температурі 30°C упродовж 48 годин.

#### *ТП.5.3 Вирощування культури на агаризованих середовищах*

Отримані з ізольованих колоній (від ТП 5.2) пересівають петлею в пробірки зі скошеним агаром Чапека (одна ізольована колонія використовується для засіву однієї пробірки). В пробірки пересівають ізольовані колонії, що знаходяться на відстані не менше 1 см. Тривалість вирощування – 48 годин.

#### *Т П.5.4 Вирощування культури в колбах на качалках*

Для вирощування рідкого посівного матеріалу в асептичних умовах 441 мл розчину композиції А(від ДР.4.1.1) розливають по 100 мл в 4 стерильних колби об'ємом 750 мл.

У пробірку з робочою культурою *Aspergillus fumigatus* Fresenius 4238 вирощеною на агарі Чапека, вносять 10 мл стерильної води, за допомогою петлі суспендують клітини і піпеткою в асептичних умовах відбирають

одержану суспензію та вносять у колби з розлитим поживним середовищем. Для засіву однієї колби використовують біомасу, одержану з однієї пробірки. Після вирощування у колбах на качалці 220-240 об/хв впродовж 60 годин при температурі 26-28°C, культуральну рідину в асептичних з колб переносять в засівну колбу об'ємом 6 л та подають в інокулятор об'ємом 10 л.

#### *ТП 5.5 Вирощування посівного матеріалу в інокуляторі об'ємом 10л.*

За допомогою засівного балона в інокулятор об'ємом 10 л вносять 4820 мл попередньо простерилізованої композиції А (від ДР 4.2.1) і вмикають перемішувач. У ферментер подається стерильне стиснуте повітря, а виводиться відпрацьоване. У кожух ферментера подається гаряча та холодна вода, а також виводиться оборотна вода.

Температура вирощування посівного матеріалу в інокуляторі – 26-28°C, тривалість – 60 годин. Швидкість перемішування становить – 220-240 об/хв. Після закінчення культивування культуральну рідину перекачують за допомогою труби перетискання в інокулятор об'ємом 100 л.

#### *ТП 5.6 Вирощування посівного матеріалу в інокуляторі об'ємом 100 л.*

В інокулятор об'ємом 100 л з 10 л попередньо простерилізованою гострою парою в асептичних умовах вносять 47,7 л стерильного розчину композиції А (від ДР 4.3.1). та перекачують посівний матеріал за допомогою труби перетискування з інокулятора об'ємом 10 л (від ТП.5.5) і вмикають перемішувач. У ферментер подається стерильне стиснуте повітря, а виводиться відпрацьоване. У кожух ферментера подається гаряча та холодна вода, а також виводиться оборотна вода.

Температура вирощування посівного матеріалу в інокуляторі – 26-28°C, тривалість – 60 годин. Швидкість перемішування становить – 220-240 об/хв. Після закінчення культивування культуральну рідину перекачують за допомогою труби перетискання в інокулятор об'ємом 1000 л.

### **ТП 6. Виробничий біосинтез**

#### *ТП 6.1 Виробниче культивування у ферментері об'ємом 1000 л*

У попередньо простерилізований ферментер об'ємом 1 м<sup>3</sup> в асептичних умовах самоплином перекачують 105,94 л попередньо простерилізованою гострою парою композицію Б (від ДР 4.4.4) та в асептичних умовах самоплинно перекачують 366,76 л розчину композиції А (від ДР 4.4.1). За допомогою труби перетискування перекачують посівний матеріал (від ТП 5.6). Перемішувачем слугує аерліфтна мішалка, якою обладнаний ферментер. Швидкість перемішування становить 240 об/хв. Тривалість виробничого культивування становить 120 годин при температурі 26-28 °С, рН – 6,2-6,4, та при необхідності під час падіння рН додаємо титрувальний розчин стерильного NaOH(від ДР.3.1) та контролюємо рН в межах 6,2-6,4 у процесі всього біосинтезу. У ферментер подається стерильне стиснуте повітря, а виводиться відпрацьоване. У кожух ферментера подається холодна вода, а також виводиться оборотна вода.

### ***ТП 7. Відділення біомаси***

Зі збірника ЗК-1 місткістю 1500 л подають культуральну рідину на центрифугу шнекову ЦД-3, швидкість обертів центрифуги підтримують 2500-300 об/хв, супернатант, який відділяється від міцелію зливають до реактора на 1500 л Р – 4.

### ***ТП 8. Очищення супернатанту вугіллям.***

#### ***ТП 8.1 Обробка вугіллям***

До реактора Р-4 завантажують 400-500 кг активованого вугілля, вмикають мішалку та перемішують протягом 1 години при кімнатній температурі за значенням обертів 120-130 об/хв .

### ***ТП 9. Екстракція бутанолом***

З реактора Р-4 за допомогою пропускання через місцевий фільтр насосом Н-5 супернатант перекачують до реактора Р-6. Додають до цього ж реактора 500 л н-бутанолу. Вмикають перемішувач на потужність 200 об/хв, подають пару у рубашку реактора та нагрівають до температури 45 °С. Встановлений режим підтримують упродовж 2,5 -3 годин для повної екстракції продукту.

## ***ТП 10. Випарювання***

### ***ТП 10.1 Концентрування та видалення розчинника.***

З реактора Р-6 насосом Н-7 суміш подають до випарного апарата ВВА-8, встановлюють вакуум та подають теплоагент до калорифера та встановлюють температуру упарювання 60 °С. Упарюють до об'єму у 100 л.

### ***ТП 11. Кристалізація фумагіліну***

Після випарювання концентрат подають насосом Н-9 до кристалізатора РК-10. Подають холодну воду та встановлюють температуру кристалізації 8-9 °С. Вмикають мішалку на 80 об/хв. Підтримують процес упродовж 30-40 хв або до завершення випадіння кристалів. За потреби процес повторюють 2 рази.

### ***ТП 12. Фільтрація***

Суспензію з кристалами від кристалізатора РК-10 насосом Н-11 подають до НУТЧ-фільтру Ф-12, закривають запірну арматуру та фільтрують при подачі вакууму. Фільтрат зливають у каналізацію, а кристали вручну переносять на стадію сушіння.

### ***ТП 13. Сушіння***

Кристали зі стадії фільтрації переносять до камерної сушарки КС-13. Кристали розміщують у камерних піддонах для сушіння. Подають вакуум та сушать за температури 60 °С до вологості 8-10 %.

### ***ПМВ 14. Пакування, маркування, відвантаження***

#### ***ПМВ 14.1 Пакування висушеного препарату***

Висушені кристали завантажують у бункер пакувальної машини АМП-14 та починають пакування. Запускаємо пакувальну машину за допомогою пульта управління, об'ємно ваговий дозатор автоматично відважує по 400 г продукту та відбувається розсипання у пластикову банку.

Готові розфасовані пластикові банки маркують із зазначення наступної інформації: назва препарату, виробник, дата виробництва, термін зберігання, умови зберігання препарату, інструкція щодо використання.

#### ***ПМВ 14.2. Пакування у коробки***

Пакування пластикових банок із порошком фумагіліну(*від ПМВ 9.1*) у картонні коробки здійснюється вручну. Коробки відвантажуються на склад.

### ***ЗВ 15. Знешкодження відходів виробництва***

Після всіх етапів виробництва, відходи, які утворюються ідуть на утилізацію.

## РОЗДІЛ 9. КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА

**Мікробіологічний контроль** передбачає забезпечення і підтримання умов, необхідних для нормальної життєдіяльності мікроорганізмів-продуцентів, контроль виробничого процесу та готової продукції, своєчасне виявлення контамінації та встановлення джерела її появи

Упродовж культивування кожні 8 годин відбирають проби культуральної рідини для мікробіологічного контролю, визначення концентрації цільового продукту, а також вмісту джерела вуглецю (м'яса, соєве борошно) і азоту ( $\text{NaNO}_3$ , кукурудзяний екстракт, соєве борошно)

**9.1 Мікробіологічний контроль здійснюється** розсівом на чашки Петрі з агаризованим середовищем і подальшим мікроскопіюванням. Культуральну рідину розсівають петлю до ізольованих колоній на чашки Петрі на агар Чапека.

Опис колонії має наступний вигляд: колонія гриба шерстисто-кличковата, в центрі зеленувата від спороутворення, оточена облямівкою білого міцелію.

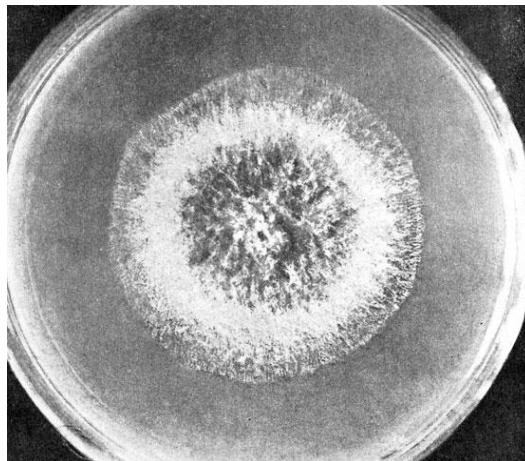


Рис.9.1 Триденна культура *Aspergillus fumigatus* на чашці Петрі на агарі Чапека

					<b>НУХТ БТЕК 04.02.15 КР ПЗ</b>			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Ширай В.О..				Літ.	Арк.	Акрушів
Керівник		Стабніков В.П..					90	94 15
Консультант					<b>РОЗДІЛ 9. Контроль виробництва</b>			<b>Кафедра БТМ</b>
Н. Контр.								
Затверд.		Пирог Т.П.						

## **9.2 Визначення концентрації антибіотика фумагіліну ваговим методом**

У колбу об'ємом 500 мл з коричневим склом суспендують 65,0 мг зразка в 5 мл води, забезпечуючи його повне змочування, і розчиняють у 5 мл 2 N розчину гідроксиду натрію. Як тільки розчинення закінчиться, додають 100 мл води і 2,5 мл льодовикової оцтової кислоти і розводять водою до 500,0 мл. Поміщають 20,0 мл цього розчину в 200-мл мірну колбу з коричневим склом, додають 3,5 мл 1,4% розчину ацетату натрію і розводять до 200,0 мл водою. Вимірюють поглинання (А) на максимумі, 444 нм[79].

## **9.3 Визначення концентрації сахарози у мелясі**

Вміст сахарози визначають по методу прямої і інверсійної поляризації. Для освітлення розчину застосовують реактив Герлеса I, Герлеса II. Перший являє собою розчин нітрату свинцю, другий – розчин гідроксиду натрію.

Реактиви:

- Реактив Герлеса I – 340 г нітрату свинцю переносять в мірну колбу на 1л, розчиняють у дистильованій воді, доводять до мітки водою і перемішують.
- Реактив Герлеса II – 32 г гідроксиду натрію переносять в мірну колбу на 1 л, розчиняють у дистильованій воді, доводять до мітки і перемішують.

Хід роботи

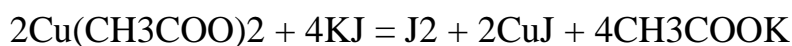
Нормальну наважку меляси (26,0 г) за допомогою теплої води переносять у мірну колбу на 100 мл і охолоджують до 20°C, додають для освітлення 15 мл кожного з розчинів Герлеса, додають в 4-5 прийомів. Суміш перемішують протягом 1,5-2 хв, додають освітлювач. Вміст колби доводять до мітки дистильованою водою, збовтують і після 2-5 хв фільтрують і поляризують у трубці 200 мл. Покази сахариметра дають процентний склад сахарози, яку визначають в мелясі[80]

## **9.4. Визначення концентрації амінного азоту.**

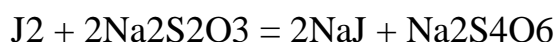
Концентрацію азоту визначають у супернатанті, який одержують центрифугуванням культуральної рідини *Aspergillus fumigatus* при 3000 об/хв протягом 20 хв, для видалення біомаси, мідним методом.

В основі методу лежить здатність амінокислот утворювати розчинні з'єднання з міддю, кількість якої визначають йодометричним титруванням. Суть методу полягає в тому, що до слабо лужного розчину амінокислот додають надлишок суспензії ортофосфату міді  $\text{Cu}_3(\text{PO}_4)_2$  у боратному буферному розчині. При цьому утворюються розчинні мідні з'єднання. Для їхнього відділення від нерозчинного ортофосфату міді суміш фільтрують. Потім до фільтрату прибавляють оцтову кислоту, яка відщеплює мідь від комплексного з'єднання і перетворюється в ацетат міді.

Для визначення кількості міді, яка брала участь в реакції, до розчину добавляють йодид калію:



В результаті реакції виділяється йод в кількості, еквівалентній кількості міді, а відповідно, і азоту амінокислот, який відтитровують розчином тіосульфату натрію:



1 мл 0,01 н розчину тіосульфату натрію відповідає 0,28 мг амінного азоту, оскільки один атом міді реагує з двома молекулами амінокислот, утворюючи з'єднання типу  $\text{Cu}(\text{RCHNH}_2\text{COO})_2$ .

Техніка визначення. В мірну колбу місткістю 50 мл піпеткою вносять 5 мл дослідного розчину, додають 3-4 краплини індикатору тимолфталейну і по краплям розчин гідроксиду натрію концентрацією 0,1 моль/л до появи блідно-блакитного забарвлення. До слабо лужного розчину із циліндра при перемішуванні порціями обережно приливають 30 мл суспензії ортофосфату міді, вміст колби доводять дистильованою водою до мітки, перемішують і фільтрують через паперовий фільтр. Фільтрат повинен бути прозорим.

10 мл абсолютно прозорого фільтрату піпеткою переносять в фарфорову чашку або конічну колбу, добавляють 0,5 мл 80 %-ї оцтової кислоти (підкислюють) і 10 мл розчину йодату калію. Після перемішування йод, що виділився, титрують із мікробюретки розчином тіосульфату натрію концентрацією 0,01 моль/л. В кінці титрування до розчину додають 1-2

краплини розчину крохмалю. Кінець титрування визначають по зникненню синього забарвлення від однієї краплі тіосульфату натрію .

При прийнятому розбавленні кількість амінного азоту в 10 мл фільтрату отримують множенням маси тіосульфату натрію, витраченого на титрування, на 0,28. З урахуванням розчинення це відповідає 1 мл культуральної рідини. Вміст амінного азоту  $X$  розраховують за рівнянням:

$$X = a \cdot 0,28 \cdot b \cdot 10 \cdot 10050$$

де  $a$  – кількість розчину тіосульфату натрію концентрацією 0,01 моль/л, витраченого на титрування, л ;

$b$  – об'єм дослідної рідини, взятий на аналіз, л[81].

### 9.5 Визначення концентрації нітратного азоту

Метод В. А. Алікаєва визначення азоту нітратів .У 10 мл 95°-го спирту з однією краплею гліцерину розчинити 0.1 г бруцину цим розчином змочити фільтрувальний папір, після чого його висушити нарізати на великі квадратики (1,5 x 1,5 см) такий квадратик фільтрувального паперу покласти на дно фарфорової чашки, змочити його 0,5 мл досліджуваної води і додати 1 мл концентрованої сірчаної кислоти.

При наявності у воді солей азотної кислоти з'являється рожеве забарвлення, яке переходить в оранжеве, потім лимонне і нарешті зеленувато-жовте. У лабораторних умовах вміст нітратів у воді визначають за допомогою фотоелектрокалориметра[81] .

## 9.6 Карта контролю

Таблиця 9.1

### Карта контрольних точок виробництва антибіотика фумагіліну

Номер контрольної точки та назва стадії	Об'єкт контролю та показник, що визначається	Засоби та методи контролю	Періодичність перевірки та відбору проб	Нормативні значення показника
Кх Кт 1.1.1 <i>Приготування розчину каустичної соди</i>	<b>Розчин каустичної соди</b> Концентрація розчину	Хімічний метод	Після приготування розчинів	C = 2% t = ± 5°C
Кх 1.1.2 <i>Приготування робочого розчину хлорантоїну</i>	<b>Хлорантоїн</b> Концентрація розчину	Хімічний метод	Після приготування розчинів	C = 0,25%
Км Кх 1.2.1 <i>Щоденне прибирання</i>	<b>Підлога, стіни</b> Мікробіологічний контроль	Мікробіологічний контроль згідно пункту 1.1 цього розділу	Після прибирання	КУО < 300/см <sup>2</sup> C = 2%
Км Кх 1.2.2 <i>Генеральне прибирання</i>	<b>Підлога, стіни</b> Мікробіологічний контроль	Мікробіологічний контроль згідно пункту 1.1 цього розділу	Після прибирання	КУО < 800/см <sup>2</sup> C = 2%
Кт 1.3.1 <i>Миття обладнання</i>	<b>Обладнання та комунікації</b> Температура мийного розчину	Термометр	Під час миття	t = 70-80°C
Кт 1.3.2 <i>Ополіскування обладнання</i>	<b>Обладнання та комунікації</b> Час ополіскування	Годинник	Після миття	T = 30 хв
Кт 1.3.4 <i>Перевірка на герметичність</i>	<b>Обладнання та комунікації</b> Тиск, час перевірки, герметичність обладнання	Годинник, манометр	Тиск визначається безперервно під час перевірки на герметичність	P = 0,2 МПа, t = 60 хв
Кт Км 1.3.5 <i>Стерилізація обладнання</i>	<b>Обладнання та комунікації</b> Температура та час стерилізації, мікробіологічний контроль	Термометр, годинник, мікробіологічний контроль згідно пункту 1.1 цього розділу	Температура визначається безперервно під час стерилізації	t = 130-135°C, T = 60 хв відсутність мікробіоти
Кт 2.2 <i>Очистка від грубих домішок</i>	<b>Повітря на виході з фільтра грубого очищення</b> Ступінь очищення	Перевірка ступеня очищення згідно паспорту фільтра	Після проходження через фільтр	E = 80%
Кт 2.3 <i>Компресування повітря</i>	<b>Стиснене повітря</b> Температура, тиск	Термометр, манометр	Вимірюється після стиснення	t = 125-130°C, P = 0,35 МПа

Кт 2.4 <i>Охолодження повітря та видалення вологи</i>	<b>Охоложене повітря</b> Температура повітря, частка вологи	Термометр, психрометричний метод	Після охолодження та видалення зайвої вологи	t = 25-30°C, w = 60-70%
Кт 2.5 <i>Нагрівання повітря</i>	<b>Нагріте повітря</b> Температура повітря, частка вологи	Термометр, психрометричний метод	Після нагрівання	t = 50°C, w = 50%
Кт 2.6 <i>Очищення повітря на головному фільтрі</i>	<b>Очищене повітря</b> Ступінь очищення	Перевірка ступеня очищення згідно паспорту фільтра	Після проходження через фільтр	E = 95%
Кт, Км 2.7 <i>Очищення повітря в індивідуальному фільтрі</i>	<b>Очищене повітря</b> Ступінь очищення, мікробіологічна чистота	Перевірка ступеня очищення згідно паспорту фільтра, мікробіологічний контроль згідно пункту 6.3 цього розділу	Після проходження через фільтр	E = 99,99%, відсутність мікробіоти
Кт, Км, Кх 3.1 <i>Приготування розчину 6 % їдкою натру</i>	<b>Розчин 6 % їдкою натру</b> Температура, час, концентрація, відсутність сторонньої мікробіоти	Термометр, годинник, мікробіологічний контроль	Температура визначається безперервно під час стерилізації, мікробіологічний контроль після стерилізації, Перевірка концентрації	t= 131 °C, τ= 30 хв, C=6 %, P=0,15 МПа, відсутність мікробіоти
Кт 4.1.1, 4.2.1, 4.3.1 <i>Заварювання композиції А</i>	<b>Композиція А</b> Температура, час	Термометр, годинник	Температура визначається безперервно під час заварювання	t= 80 °C, τ= 15 хв
Кт, Км 4.1.2, 4.2.2, 4.3.2 <i>Стерилізація композиції А</i>	<b>Композиція А</b> Тиск, температура, час, стерильність	Манометр, годинник, мікробіологічний контроль	Температура визначається безперервно під час стерилізації, мікробіологічний контроль після стерилізації	t= 112 °C, τ= 30 хв, P=0,05 МПа, відсутність мікробіоти
Кт, Км 4.4.1 <i>Заварювання композиції А</i>	<b>Композиція А</b> Тиск, температура, час, стерильність	Термометр, годинник	Температура визначається безперервно під час заварювання	t= 80 °C, τ= 15 хв
Кт, Км, Кх 4.4.2 <i>Стерилізація композиції А</i>	<b>Композиція А</b> Тиск, температура, час, стерильність	Манометр, термометр, годинник, мікробіологічний контроль	Температура визначається безперервно під час стерилізації, мікробіологічний контроль після стерилізації	t= 112 °C, τ= 30 хв, P=0,05 МПа, відсутність мікробіоти

Кт, Км 4.4.3 <i>Приготування і стерилізація композиції Б</i>	<b>Композиція Б</b> Тиск, температура, час, стерильність	Манометр, термометр, годинник, мікробіологічний контроль	Температура визначається безперервно під час стерилізації, мікробіологічний контроль після стерилізації	t= 131 °С, τ= 40 хв, P=0,15 МПа, відсутність мікробіоти
Кт, Км 5.1 <i>Підтримання колекційної культури</i>	<b>Колекційна Asperfillus fumigatus Fresenius 4238</b> Морфологічна однорідність, відсутність сторонньої мікробіоти, відсутність неконтрольованих мутацій, температура, час	Мікробіологічний контроль, термометр	Температура контролюється під час зберігання в холодильнику, мікробіологічний контроль та пересіви проводять кожні 3 місяці	Відсутність сторонньої мікробіоти, підтримання температури t = 4°С, τ= 3 місяці
Кт, Км 5.2 <i>Одержання робочої культури на агаризованому середовищі</i>	<b>Колекційна культура Asperfillus fumigatus Fresenius u4238</b> Морфологічна однорідність, відсутність сторонньої мікробіоти, відсутність неконтрольованих мутацій, температура, час	Мікробіологічний контроль, термометр, годинник	Мікробіологічний контроль проводять кожні 8 годин	Відсутність сторонньої мікробіоти, t = 30°С, τ= 24 год
Кт, Км 5.3 <i>Вирощування культури на агаризованих середовищах</i>	<b>Ізольовані колонії Asperfillus fumigatus Fresenius 4238</b> Морфологічна однорідність, відсутність сторонньої мікробіоти, час	Мікробіологічний контроль, годинник	Мікробіологічний контроль проводять кожні 8 годин	Відсутність сторонньої мікробіоти, τ= 24 год
Кт, Км 5.4 <i>Вирощування культури в колбах на качалках</i>	<b>Посівний матеріал,</b> тривалість вирощування, температура, частота обертів качалки,	Годинник, термометр технічний, технічний тахометр, мікробіологічний контроль	Температура і швидкість обертання контролюються і підтримуються автоматично весь час вирощування,	t= 28±2 °С, τ= 24 год, ω = 240-250 об/хв, відсутність сторонньої мікробіоти

	мікробіологічна чистота культури		мікроскопіювання – кожні 8 годин	
Кт, Км, Кх 5.5 <i>Вирощування культури в інокуляторі об'ємом 10 л</i>	<b>Посівний матеріал</b> Тривалість вирощування, температура, частота обертів мішалки, мікробіологічна чистота культури, морфологічна відповідність організмів	Годинник, термометр технічний, тахометр, мікроскоп, мікробіологічний контроль	Температура і швидкість обертання контролюються і підтримуються автоматично весь час вирощування, мікроскопіювання – кожні 8 годин;	$t = 28 \pm 2 \text{ } ^\circ\text{C}$ , $\tau = 24 \text{ год}$ , $\omega = 240\text{-}250 \text{ об/хв}$ , відсутність сторонньої мікробіоти
Кт, Км, Кх 6.1 <i>Виробниче культивування у ферментері об'ємом 1000 л</i>	<b>Культуральна рідина</b> , тривалість культивування, температура, частота обертів мішалки, надлишковий тиск, мікробіологічна чистота культури	Годинник, термометр технічний тахометр, мікроскоп, мікробіологічний контроль рН датчик	Температура і швидкість обертання контролюються і підтримуються автоматично весь час вирощування; мікроскопіювання – кожні 8 годин; рН доводять після додання всіх композицій	$t = 28 \pm 2 \text{ } ^\circ\text{C}$ , $\tau = 120 \text{ год}$ , $\omega = 240\text{-}250 \text{ об/хв}$ , $\text{pH} = 6,2\text{-}6,4$ відсутність сторонньої мікробіоти
Кт 7 <i>Відділення біомаси</i>	<b>Культуральна рідина</b> Частота обертів центрифуги	Датчик обертів	Під час даного процесу	$n = 250\text{-}300 \text{ об/хв}$
Кт 8.1 <i>Обробка вугіллям</i>	<b>Активоване вугілля</b> Частота обертів мішалки, час	Таймер, технічні ваги	Під час процесу обробки	$\tau = 1 \text{ год}$ $n = 120\text{-}130 \text{ об/хв}$ $m = 400\text{-}500 \text{ кг}$
Кт 9 <i>Екстракція бутанолом</i>	<b>Супернатант</b> Температура, час	Датчик температури, таймер	Під час процесу екстракції	$t = 45^\circ\text{C}$ $n = 200 \text{ об/хв}$ . $\tau = 2,5 - 3 \text{ год}$
Кт 10.1 <i>Концентрування та видалення розчинника</i>	<b>Концентруюча суміш</b> Температура	Датчик температури	Під час даного процесу	$t = 60^\circ\text{C}$
Кт 11 <i>Кристалізація фумагіліну</i>	<b>Концентрат</b> Частота обертів мішалки, час, температура	Датчик температур таймер	Під час даного процесу	$t = 8\text{-}9^\circ\text{C}$ $\tau = 30\text{-}40 \text{ хв}$ $n = 80 \text{ об/хв}$
Кт 12 <i>Фільтрація</i>	<b>Культуральна рідина</b>		Під час процесу фільтрації	
Кт, Кх 13 <i>Сушіння</i>	<b>Концентрат фумагіліну</b> Температура, час	Датчик вологості, датчик температури	Під час процесу сушіння	$W = 8\text{-}10\%$ $t = 60^\circ\text{C}$

<p>Кт 14.1, 14.2</p> <p><i>Пакування висушеного препарату</i></p>	<p><b>Висушений порошоків препарат</b></p> <p>Маса для пакування, цілісність упаковки</p>	<p>Об'ємно-ваговий дозатор</p>	<p>Маса встановлюється перед пакуванням</p>	<p>m = 400 г</p>
---	---	--------------------------------	---	------------------

## РОЗДІЛ 10. АВТОМАТИЗАЦІЯ ДІЛЯНКИ ВИРОБНИЦТВА

Біотехнологічне виробництво є важливою умовою існування будь-якої держави. Якісне, високоефективне, екологічне та високорозвинене промислове виробництво держави створює умови для комфортного та забезпеченого життя громадян нашої держави.

В продовж декількох десятиліть і на даний момент автоматизація виробництва є необхідною умовою для створення підприємств будь-якої галузі виробництва. Автоматизація будь-якого процесу забезпечує контроль, керування та захист всіх необхідних технологічних параметрів виробництва без участі людини.

Автоматизовані системи управління - це комплекс засобів, систем, приладів та програмного забезпечення коректне поєднання яких дозволяє безпечно, надійно та економічно управляти будь-яким технологічним процесом.

Зазвичай автоматизовані системи складаються з:

- вимірювальних датчиків;
- виконавчих механізмів;
- керуючої системи (регулятора, контролера);
- ліній зв'язку між керуючою системою та вимірювальних датчиків і механізмів.

Поєднання вимірювальних датчиків з лініями зв'язку утворюють зворотній зв'язок. Без зворотнього зв'язку не можливе якісне автоматичне регулювання будь-якого процесу.

Технічний прогрес не зупиняється, тому і системи автоматизації постійно вдосконалюються і розвиваються. Науковці всього світу постійно розробляють та впроваджують нові засоби для автоматизації, тому і спеціалісти з автоматизації повинні постійно вчитися та

					НУХТ БТЕК 04.02.15 КР ПЗ		
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата			
Розроб.		Щирай В.О.			Літ.	Арк.	Акрушів
Керівник		Стабніков В.П.				99	8
Консультант					103		
Н. Контр.					Кафедра БТМ		
Затверд.		Пирог Т.П.					

застосовувати необхідні новинки в своїх проектах.

## **10.1. Аналіз технологічного процесу виробничої ділянки з формуванням завдання на розробку системи автоматизації**

### **10.1.1. Характер технологічного процесу.**

Процес сушки – це дуже важлива складова в процесі виробництва та обробки.

Процес сушки повинен відповідати наступним вимогам:

- висока продуктивність;
- економічність;
- екологічність;
- безпечність.

Для додаткової економії теплової енергії використовується рекуперація потоку теплового повітря. Процес рекуперації – це повторне використання частини теплого повітря після процесу сушки[82].

### **10.1.2. Обладнання, яке використовується в системі автоматизації наступне:**

1) Сушарка заводського виготовлення, в комплекті з необхідним обладнанням;



*Рис. 10.1.* Зовнішній вигляд сушарки

2) Клапан регулювальний прохідний для пари;



*Рис. 10.2.* Клапан регулювальний прохідний

3) Електропривід для регулювального клапану, напругою живлення 220В.



*Рис.10. 3.* Електропривід для регулювального клапану.

4) Датчик тиску пари;



*Рис.10. 4. Датчик тиску пари.*

5) Датчик температури;



*Рис.10. 5. Датчик температури.*

6) Датчик вологості;



*Рис. 10.6. Датчик вологості.*

7) Промисловий логічний контролер (ПЛК)[83].



Рис. 10.7. Промисловий логічний контролер (ПЛК).

### 10.1.3 Основні параметри, які необхідно контролювати та регулювати.

В якості джерела енергії для процесу сушки прийнята водяна пара, яка надходить по трубопроводу в сушарку, ця водяна пара нагріває теплообмінник. Вентилятор, який встановлений в сушарці забезпечує проходження вуличного повітря через теплообмінник. Нагріте повітря після теплообмінника подається в камери де і відбувається сушка.

В процесі сушки необхідно контролювати наступні параметри:

- тиск водяної пари, яка подається в сушарку;
- температура теплого повітря, яке подається в сушильні камери;
- вологість повітря в сушильних камерах.

Для здійснення коректної системи автоматизації процесу сушки необхідно регулювати величину подачі водяної пари в сушарку.

В якості виконавчого механізму використано регулювальний клапан з електроприводом, які показані на рис.2,3. Управління клапаном та вентилятором відбувається в автоматичному режимі за допомогою контролера фірми Раут-автоматик[84].

Таблиця 10.1

#### Завдання на розробку системи автоматизації

.п	Машина, агрегат, установка	Параметр, місце відбору сигналу	Припустиме значення параметра	Вид автоматизації	Характер контролю чи управління	Засоби управління та контролю, реалізації управляючої дії
	Регулювальний клапан, трубопровід водяної пари	Витрата пари в сушарку, трубопровід подачі водяної пари в сушарку	80°C ± 2°C	Контроль	Індикація,	АРМ оператора
Регулювання				Стабілізація	Вплив на витрату пари	

	Трубопро-від водяної пари	Тиск водяної пари, трубопровід подачі водяної пари в сушарку	2 бар ± 10%	Контроль	Індикація, реєстрація, сигналізація	АРМ оператора
				Регулювання	Стабілізація	Вплив на витрату пари
	Сушарка	Температура, сушарка	80°C ± 2°C	Контроль	Індикація, реєстрація, сигналізація	АРМ оператора
				Регулювання	Стабілізація	Вплив на витрату пари
		Вологість, сушарка	15% ± 3%	Контроль	Індикація, реєстрація, сигналізація	АРМ оператора
		Стан вентилятору подачі повітря, сушарка	Увімкнено/ Вимкнено	Управління	Ручне, дистанційне	Пуск, зупинка з АРМа оператора і кнопка «Стоп» по місцю

## 10.2. Опис схеми автоматизації зі специфікацією засобів автоматизації

Схема автоматизації камерної сушки побудована за допомогою стандартних виробів та засобів, які промислово серійно випускаються.

Відповідно до *табл. 1* та схеми автоматизації на кресленні розглянемо марки та типи обладнання автоматизації.

У-Регулювальний клапан подачі водяної пари, номінальний тиск 25 бар, номінальна температура 200 °С, пропускна спроможність від 0,4-145м.куб/год, марка – VFS. З електроприводом. Напруга управління електропривода 220В, ступінь захисту корпусу- IP-54, марка AMV25. Виробник Danfoss.

BP1-датчик тиску, діапазон вимірювання 0-16 бар, температура середовища, яке вимірюється від – 40 до 200 °С. Вихідний сигнал 4-20мА, ступінь захисту оболонки – IP-65. Марка S-20, виробник Wika.

BK1-датчик температури повітря погружний, діапазон вимірювання 0-140 °С. Тип вимірювального елементу – платиновий термометр опору

Pt1000 (1000 Ом при 0 °С). Ступінь захисту корпусу IP-54. Марка – ESMU.  
Виробник Danfoss.

ВК2-датчик вологості повітря накладний. Діапазон вимірювання 0-45%. Температурний діапазон до +130 °С. Вихідний сигнал 4-20мА, ступінь захисту оболонки – IP-65. Марка – GS1 типу TRIME GW.

М-мотор вентилятора сушарки. Марка, потужність двигуна визначається окремими розрахунками.

Контролер – промисловий контролер, який вільно програмується, тип Махусон Flexy-S2. Параметри: - 14 універсальних входів (аналогові або дискретні, Pt1000), 6 аналогових виходів, 10 дискретних виходів. Передбачений вихід на комп'ютер. Виробник – Раут-Автоматик, м. Київ[85].

### 10.3. Опис елементів головної мнемосхеми АРМа оператора-технолога



*Рис. 10.8.* Схема диспетчеризації на базі контролеру Махусон Flexy-S2.

Оператор-технолог за допомогою звичайного комп'ютера на своєму робочому місці може контролювати та керувати процесом сушки.

З'єднання контролера з персональним комп'ютером відбувається за допомогою інтерфейсу RS-485[86].

## СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Стан біотехнологічної галузі в Україні та світі. [Електронний ресурс] – Режим доступу: <http://base.dnsgb.com.ua>
2. Фумагиллин. [Електронний ресурс] - Режим доступу: <http://www.medical-enc.ru/m/20/fumagillin.shtml>
3. Канадский препарат Фумагиллин-Б – эффективный контроль ноземы. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://www.apiworld.ru/1337848091.html>
4. Фумагиллин-Б. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://prom.ua/p3153742-fumagilin-24gr-270grn.html>
5. Пат. RU (11)2203940 (13)С1. Штамм *Aspergillus fumigatus* №6, используемый для получения антигена / Агольцов В.А. // Опубл. 10.05.2003
6. Пат. С12R1/68. Штамм *aspergillus fumigatus* Fresenius 4238 – продуцент фумагиллина / Горин С.Е., Скворцова М.М., Головина Н.С., Кругляк Е.Б., Макарова М.А. // Опубл. 21.03.2013
7. Wen Yang,\* Wan-Seop Kim,\*\* Aiqi Fang, Arnold L. Demain\*\*\*. Carbon and Nitrogen Source Nutrition of Fumagillin Biosynthesis by *Aspergillus fumigatus* // Current Microbiology. – 2003. - Vol. 46. – С. 275-279.
8. *Aspergillus fumigatus*. [Електронний ресурс]- Режим доступу: <https://mycology.adelaide.edu.au>
9. *Белай В.И.* Основы общей микологии: Учеб.пособие для вузов.-Киев: Вища школа – 1999 г. - 360 с.
10. *Aspergillus fumigatus*. Электронный ресурс: - [Режим доступу]: <http://www.mycobank.org>
11. Пат. С12R1/68. Штамм *aspergillus fumigatus* Fresenius 4238 – продуцент фумагиллина / Горин С.Е., Скворцова М.М., Головина Н.С., Кругляк Е.Б., Макарова М.А. // Опубл. 21.03.2013
12. Пчеловодство Украины в 2018 году. Предварительная оценка [Електронний ресурс] // Режим доступу: <https://www.apiworld.ru/1549029399.html>

13. Klee J., Besana A., Genersch E., Gisder S., Nanetti A., Tam D., Chinh T., Puerta F., Ruz J., Kryger P., Message D., Hatjina F., Korpela S., Fries I., Paxton R. Widespread dispersal of the microsporidian *Nosema ceranae*, an emergent pathogen of the western honey bee, *Apis mellifera* / J. Invertebr. Pathol. – №96. – P.1-10.
14. Chen Y., Evans J., Zhou L., Boncristiani H., Kimura K., Xiao T., Litkowski A., Pettis J. Asymmetrical coexistence of *Nosema ceranae* and *Nosema apis* in honey bees // J. Invertebr. Pathol. – 2007. – V. 101, №3. – P. 204-209.
15. Mendoza Y., Diaz-Cetti S., Ramallo G., Santos E., Porrini M., Invernizzi C. *Nosema ceranae* Winter Control: Study of the Effectiveness of Different Fumagillin Treatments and Consequences on the Strength of Honey Bee (*Hymenoptera: Apidae*) Colonies // J. Econ. Entomol. – 2016. – P. 1-228.
16. Stevanovic J., Stanimirovic Z., Genersch E., Kovacevic S., Ljubenkovic J., Radakovic M., Aleksic N. Dominance of *Nosema ceranae* in honey bees in the Balkan countries in the absence of symptoms of colony collapse disorder // Apidologie. – 2010. – №42. – P. 49-58.
17. Yoshiyama M., Kimura K. Distribution of *Nosema ceranae* in the European honeybee, *Apis mellifera* in Japan // J. Invertebr Pathol. – 2011. – V. 106, №2. – P. 263-267.
18. Williams G., Shafer A., Rogers R., Shutler D., Stewart D. First detection of *Nosema ceranae*, a microsporidian parasite of European honey bees (*Apis mellifera*), in Canada and central USA // J. Invertebr. Pathol. – 2008. – V. 97, №2. – P. 189–192.
19. Yefimenko T., Odnosum H., Tokarev Y., Ignatieva A. *Nosema ceranae* Fries et al., 1996 (Microspora, Nosematidae) – a honey bee parasite in Ukraine / Ukr. Entomol. – 2013. – V. 2, N 9. – P. 71-76.
20. Єфіменко Т.М., Односум Г.В., Токарев Ю.С. "Азіатський" нозематоз в Україні // Пасіка. – 2014. – №3. – С. 14-16.
21. Нозематоз и применение препарата Фумагилин-Б [Електронний ресурс] // Режим доступу: <https://www.apeworld.ru/1353568187.html>

22. Медові історії Запоріжжя [Електронний ресурс] - Режим доступу:  
<https://zp.depo.ua/ukr/zp/medoviy-spas-2018-vse-pro-solodkiy-nektar-u-zaporizhzhzhi-20180814821412>

23. Шлях трансформації. [Електронний ресурс]. Режим доступу :  
[https://www.genome.jp/keggbin/show\\_pathway?org\\_name=afm&mapno=00500&scale=&orgs=&auto\\_image=&nocolor=&show\\_description=hide](https://www.genome.jp/keggbin/show_pathway?org_name=afm&mapno=00500&scale=&orgs=&auto_image=&nocolor=&show_description=hide)

24. Схема. [Електронний ресурс]. Режим доступу :  
[https://www.genome.jp/kegg-bin/show\\_pathway?org\\_name=afm&mapno=00010&scale=&orgs=&auto\\_image=&nocolor=&show\\_description=show](https://www.genome.jp/kegg-bin/show_pathway?org_name=afm&mapno=00010&scale=&orgs=&auto_image=&nocolor=&show_description=show)

25. Схема біосинтезу. [Електронний ресурс]. Режим доступу :  
[https://www.genome.jp/keggbin/show\\_pathway?org\\_name=afm&mapno=00900&scale=&orgs=&auto\\_image=&nocolor=&show\\_description=hide](https://www.genome.jp/keggbin/show_pathway?org_name=afm&mapno=00900&scale=&orgs=&auto_image=&nocolor=&show_description=hide)

26. Hsiao-Ching Lin,<sup>†</sup> Yit-Heng Chooi,<sup>†</sup> Sourabh Dhingra,<sup>‡</sup> Wei Xu,<sup>†</sup> Ana M. Calvo,<sup>‡</sup> and Yi Tang. The Fumagillin Biosynthetic Gene Cluster in *Aspergillus fumigatus* Encodes a Cryptic Terpene Cyclase Involved in the Formation of  $\beta$ trans-Bergamotene // *Journal of the American Chemical Society*. – 2012. - Vol. 135(12). – P. 4616-4619.

27. Марценюк О.С., Мельник Л.М., Процеси і апарати харчових виробництв.: Київ НУХТ 2011. – 172-385 с

28. Синицын А.П. Биоконверсия лигноцеллюлозных материалов / А.П.Синицын, А.В. Гусаков, В.М. Черноглазов – М.:Изд-во МГУ, 1995. – 224с

29. Пирог Т.П. Загальна біотехнологія: підручник / Т.П. Пирог, О.А.Ігнатова.- К.:НУХТ.2009.-336с

30. Грачева И.М. Технология ферментных препаратов: учеб./И.М. Грачева – М.: Пищевая промышленность. 1975. – 392 с

31. Перемішування. Види і конструкції мішалок. [Електронний ресурс]. Режим доступу:<https://ukrbukva.net/page,6,117379-Peremeshivanie-Vidy-i-konstrukcii-meshalok.html>

32. Винтовая мешалка. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://www.ngpedia.ru/id155664p1.html>
33. Лопатева мішалка: опис, принцип роботи, застосування в побуті і промисловості. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <http://xn--80aimveh.pp.ua/dim/5059-lopateva-mshalka-opis-princip-roboti-zastosuvannya-v-pobut-promislovost.html>
34. «Органик Машрумс» і «Эко-Машрумс» [Електронний ресурс] – Режим доступу: <http://agroportal.ua>
35. Грибна ферма «Гелика-М» [Електронний ресурс] – Режим доступу: <http://www.geleka-m.com.ua>
36. Миючий та дезенфікувальний засіб «Каустична сода» [Електронний ресурс] – Режим доступу: <http://www.plasma.com.ua>
37. Вимол-техническое моющее средство [Електронний ресурс]- Режим доступу: <https://farmakos.ua/vimol.html>
38. Миючий та дезенфікувальний засіб «Гембар» [Електронний ресурс] – Режим доступу: <https://biocide.com.ua>
39. Дезактин [Електронний ресурс] – Режим доступу: <https://dezmed.com.ua/ru/instrukcii/759-dezaktin-metodicheskie-rekomendacii-instrukciya-po-primeneniyu>
40. Хлорантоїн. Дизінфекційний засіб [Електронний ресурс] – Режим доступу: <https://farmakos.ua/ua/hlor.html>
41. *Сидоров Ю.І, Чуєшов В.І, Новіков В.П.* Процеси і апарати хіміко-фармацевтичної промисловості. – К.: НУХТ, 2019. – 70-79 С .
42. Центрифуга фільтрувальна [Електронний ресурс] - Режим доступу: [https://bio-rus.ru/oborudovanie/protochnyie-czentrifugi/czentrifugi-protochnyie-\(-germaniya,-sera\)/pilotnaya-protochnaya-czentrifuga-сера-z-41.html](https://bio-rus.ru/oborudovanie/protochnyie-czentrifugi/czentrifugi-protochnyie-(-germaniya,-sera)/pilotnaya-protochnaya-czentrifuga-сера-z-41.html)
43. Центрифуга осаджувальна. [Електронний ресурс] - Режим доступу : <https://findpatent.ru/patent/231/2317860.html>

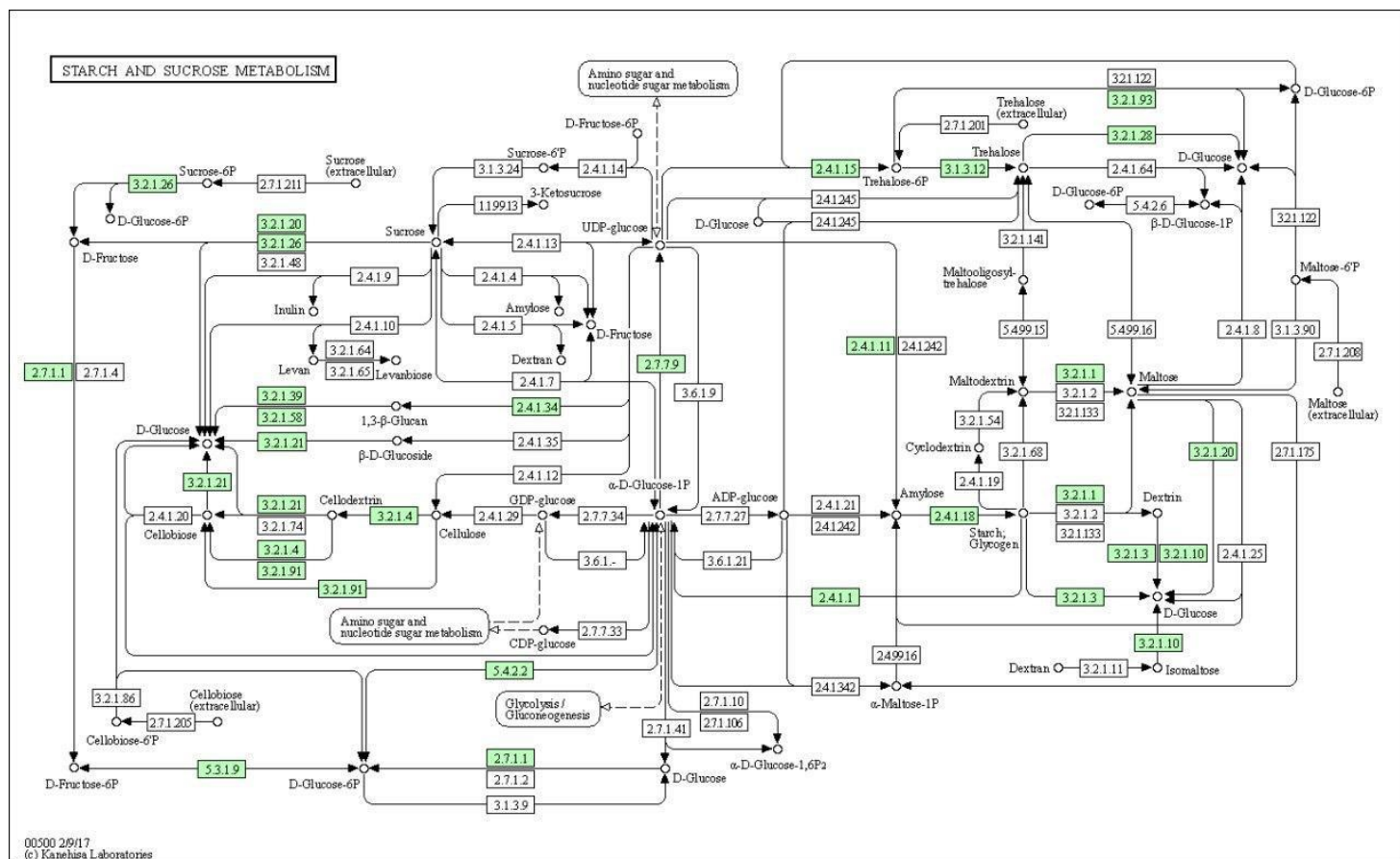
44. Центрифуга шнекова . [Електронний ресурс] - Режим доступу:  
<http://www.clickpilot.ru/canaliz.php?wr=277>
45. НУТЧ-фільтр. [Електронний ресурс] - Режим доступу:  
[http://euromash.kiev.ua/ua/nutch\\_filtr\\_ua.php](http://euromash.kiev.ua/ua/nutch_filtr_ua.php)
46. Фільтри. [Електронний ресурс] - Режим доступу:  
[http://euromash.kiev.ua/ru/filtr\\_meshalkoy\\_ru.php](http://euromash.kiev.ua/ru/filtr_meshalkoy_ru.php)
47. ДРУК-фільтр [Електронний ресурс] – Режим доступу  
:[http://euromash.kiev.ua/ru/filtr\\_meshalkoy\\_ru.pht](http://euromash.kiev.ua/ru/filtr_meshalkoy_ru.pht)
48. Сепаратор [Електронний ресурс] - Режим доступу  
<http://morez.ru/kinematicheskaya-sxema-toplivnogo-separatora-prichiny-vibracii-i-povyshennogo-shuma-pri-rabote-separatora/>
49. Технологія мікробного синтезу лікарських засобів: Метод. Рекомендації до викон. курс. роботи для студ. Напряму 6.051401 «Біотехнологія» ден. форм. навч. / Уклад.: *Т. П. Пирог, Ю.М Пенчук.* – К.: НУХТ, 2011. – ст 17-19.
50. Характеристика фугіліну . [Електронний ресурс] - Режим доступу <https://www.drugbank.ca/drugs/DB02640>
51. Ацетон.[Електронний ресурс]- Режим доступу  
<https://prom.ua/p257852954-atseton-chda-999.html>
52. Бутанол.[Електронний ресурс] - Режим доступу  
<https://prom.ua/p672224680-butanol.html>
53. Діаліз.[Електронний ресурс] - Режим доступу  
<https://uk.wikipedia.org/wiki/Діаліз>
54. Випарний апарат. [Електронний ресурс] - Режим доступу  
<https://studfile.net/preview/5465346/page:14/>
55. ВВА.[Електронний ресурс] - Режим доступу  
<https://www.pharmencyclopedia.com.ua/article/1656/vakuum-viparnij-aparat>
56. Холодоагент фреон. [Електронний ресурс] - Режим доступу  
<https://uk.wikipedia.org/wiki/Фреони>

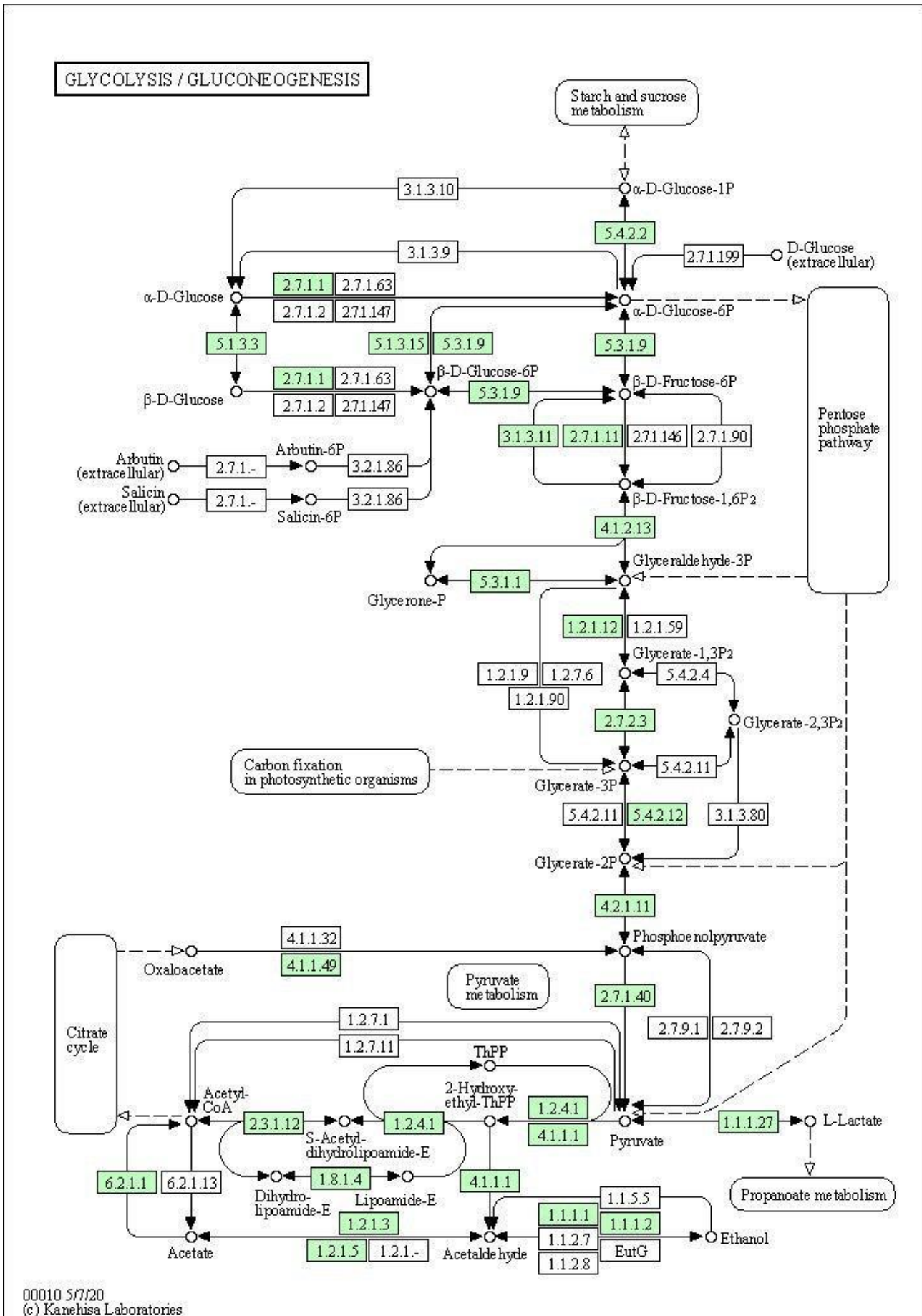
57. Типи сушарок. [Електронний ресурс] - Режим доступу <https://dl.sumdu.edu.ua/textbooks/22852/266179/index.html>
58. Мобильная установка СІР для очистки [Електронний ресурс] – Режим доступу: <http://sartorius.com.ua>
59. Дозаторы [Електронний ресурс]- Режим доступу: <https://flexmash.com/dozatory/>
60. Фильтр карманный грубой очистки воздуха Фільтр ФПО FA-3. [Електронний ресурс] – Режим доступу: <http://air-klimat.prom.ua>
61. Компрессор винтовой Atlas Copco GX 7 10P / 400В 3ф 50Гц без N / CE [Електронний ресурс] – Режим доступу: <http://www.companyaair.ru>
62. Реактор с мешалкой и нагревом NLF Bioengineering AG [Електронний ресурс] – Режим доступу: <https://tehnolog.com.ua>
63. Теплообмінник HF75 «Pahlen» [Електронний ресурс] – Режим доступу: <http://www.airone.ru>
64. Ресивер вертикальний РВ 110/10 «АСО» [Електронний ресурс] – Режим доступу: <https://tehnofilter.ub.ua/ua/>
65. Фільтр ФПО FA-3 «Уралкомпрессормаш» [Електронний ресурс] – Режим доступу: <http://air-klimat.prom.ua>
66. Фільтри НЕРА Н14 СКБ Технофільтр [Електронний ресурс] – Режим доступу: <http://www.airpol.com.ua>
67. Ферментер Sartorius на 1000 л [Електронний ресурс] – Режим доступу: <https://tehnofilter.ub.ua/ua/>

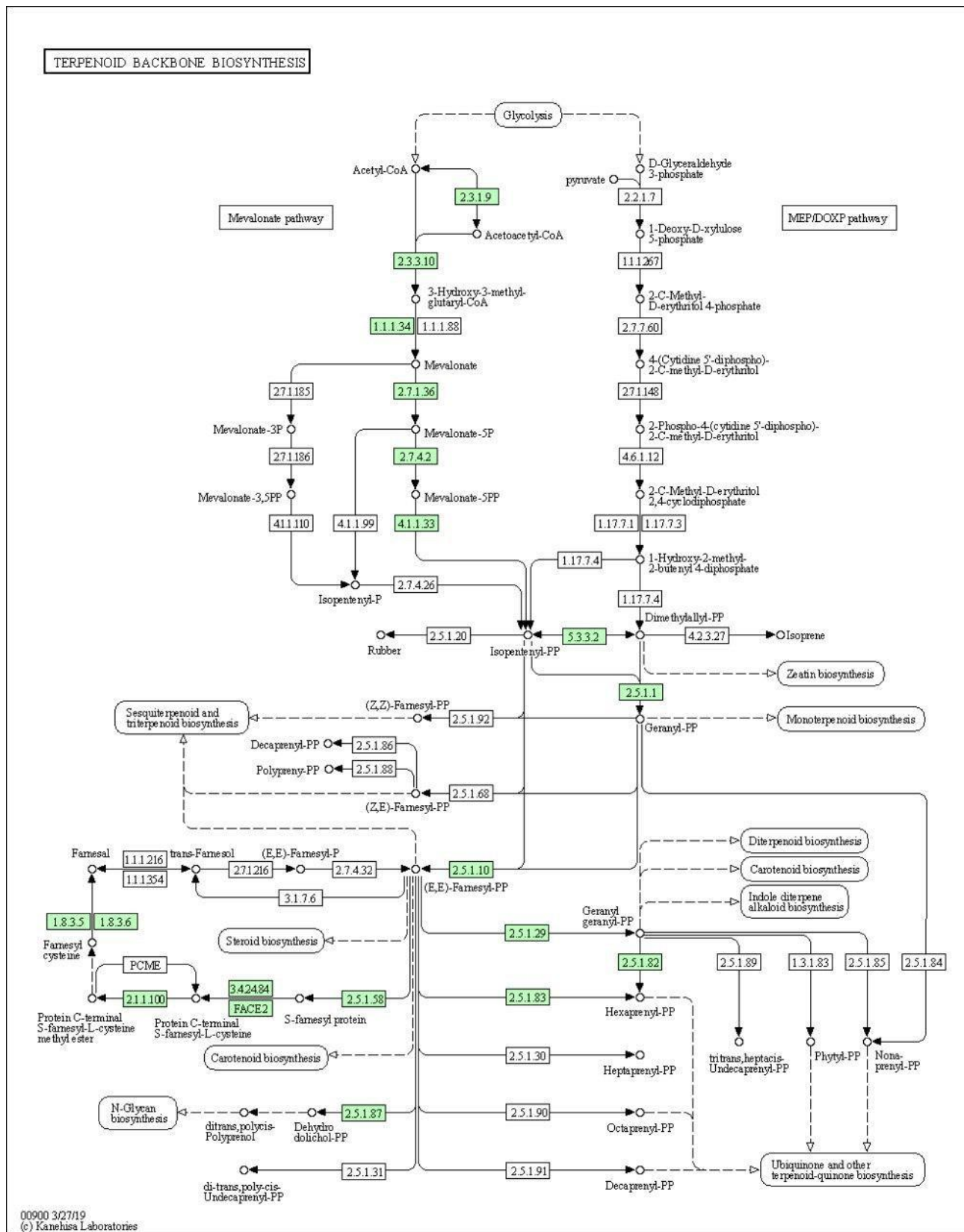
68. Місткість на 1 м<sup>3</sup> . [Електронний ресурс] - Режим доступу <https://dionis.prom.ua/p12788182-emalirovannyj-reaktor-kupit.html>
69. Реактор на 1600 л . [Електронний ресурс] - Режим доступу <https://prom.ua/p6491093-emalirovannyj-reaktor-11m3.html?primelead=MS4yMg%3D%3D>
70. Вакуум-випарний апарат МЗС-320 . [Електронний ресурс] - Режим доступу: <https://midas-a.ub.ua/goods/view/679976/all/vakuum-viparniy-aparat-mzs-320/>
71. Реактор для кристалізації 250 л . [Електронний ресурс] - Режим доступу: <https://promvit.com.ua/reaktor-obemom-250-l-v-ispolnenii-ex-dlya-prigotovleniya-inekcionnyx-rastvorov>
72. Сушарка камерна вакуумна : [Електронний ресурс] - Режим доступу <https://www.prosushka.ru/2039-vakuumnaya-sushilka-dlya-meda.html>
73. Пакувальний автомат . [Електронний ресурс] - Режим доступу <https://prom.ua/p1024854834-pakuvalnij-avtomat-hualian.html>
74. Пакувальний стіл . [Електронний ресурс] - Режим доступу <https://www.protehnology.ru/upakovochnyy-stol-treston-pph-918>
75. Насоси відцентрові. [Електронний ресурс] - Режим доступу [https://vaterpass.com.ua/catalog/centrobezhnie-nasosi/gigienicheskie\\_nasosyi](https://vaterpass.com.ua/catalog/centrobezhnie-nasosi/gigienicheskie_nasosyi)
76. *Пирог Т. П., Карлаш Ю. В., Красінько В. О.* Основи проектування біотехнологічних виробництв // методичні рекомендації до викон. курс. проекту для студ. напряму підготовки 6.051401 «Біотехнологія» денної форми навчання. – К.: НУХТ, 2015. – 92 с.
77. Наказ від 14.12.2001 № 502 Про затвердження методичних рекомендацій щодо виконання санітарно-гігієнічних вимог та проведення мікробіологічного контролю у виробництві нестерильних лікарських засобів [Електронний ресурс]. – Режим доступу: [http://www.moz.gov.ua/ua/portal/dn\\_20011214\\_502.html](http://www.moz.gov.ua/ua/portal/dn_20011214_502.html).
78. Каустична сода, виробництво та застосування [Електронний ресурс] – Режим доступу: <https://dobriva.dp.ua>

79. Спектрометрія. [Електронний ресурс] – Режим доступу:  
<http://intranet.tdmu.edu.ua>
80. Пенчук Ю.М., Омельчук Є.О. Загальна біотехнологія: метод. рек. до практ. занять для студ. напр. підготов. 6.051401 "Біотехнологія" ден. форми навч. — К. : НУХТ, 2013. — 16 с.
81. Товажнянський В.Л., Новиков В.Г., Бухкало С.И. Расчеты по технологии органических веществ. – Харьков: НТУ «ХПИ», 2006. – 84 с.
82. ДСТУ Б А.2.2-3-95. Правила виконання робочої документації автоматизації технологічних процесів.
83. Ельперін І.В. Автоматизація виробничих процесів: підручник / І.В.Ельперін, О.М.Пупена, В.М.Сідлецький, С.М.Швед. – Вид. 2-ге виправлене – К.: Вид. Ліра-К, 2015. – 378 с.
84. Ладанюк, А.П. Автоматизація технологічних процесів і виробництв харчової промисловості / А.П. Ладанюк, В.Г. Трегуб, І.В. Ельперін, В.Д. Цюцюра. – К.: Аграрна освіта, 2001. – 221 с.
85. Трегуб, В.Г. Проектування систем автоматизації: Навч. посібник. – К.: Видавництво Ліра-К, 2014. – 344 с.
86. ГОСТ 21.710-81. Позначення буквено-цифрові в електричних схемах. 1981


# Додаток 1







## Додаток 4

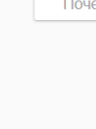


**Штамм бактерий *Mycobacterium species* иж 4, используемый для очистки воды и почвы от нефти и нефтепродуктов // 2077578**

← Реклама от Google

Не показывать это объявление

Почему это объявление? ⓘ



**Штамм бактерии *delcya magina* - продуцент щелочной фосфатазы и способ получения щелочной фосфатазы // 2077577**



**Питательная среда для выделения и**

фумагиллина 6,5 7,0.

Оптимальная температура биосинтеза 27<sup>±</sup>1°C.

Для роста требует кислород воздуха.

Продуцирует фумагиллин. Хиноны не продуцирует. Глитоксин не образует.

Маркерная характеристика.

При тонкослойной хроматографии спиртового экстракта культуральной жидкости штамма в системе толуол, бутилацетат, этиловый спирт (1:1:0,1) после проявления хроматограммы парами иода хиноны не обнаруживаются.

Биотехнологическая характеристика.

В качестве целевого продукта штамм продуцирует фумагиллин. При культивировании на питательной среде состава (%): крахмал 2,0; кукурузный экстракт 2,0; кальций углекислый 0,2, в условиях непрерывного перемешивания и аэрации, соответствующей сульфитному показателю 0,7 0,8 ммоль O<sub>2</sub>/л.мин, накопление фумагиллина через 120 часов ферментации составляет 780 мкг/мл. При культивировании на питательной среде состава (%): меласса 4,0; соевая мука 2,0; кукурузный экстракт 0,5; натрий азотнокислый 0,5, в условиях непрерывного перемешивания и аэрации, соответствующей сульфитному показателю 0,8 ммоль O<sub>2</sub>/л.мин, накопление фумагиллина через 120 часов ферментации составляет 1250 мкг/мл.

При более длительном культивировании, сопровождающемся повышением pH до 8,5 9,9, наблюдается снижение содержания фумагиллина в среде.

Хранение штамма.

Хранить штамм рекомендуется в виде лиофильно высушенной культуры в стеклянных запаянных ампулах или в пробирках на скошенном агаре Чапека с периодическими пересевами.

Промышленная применимость штамма *Aspergillus fumigatus* Fres 4238 при биосинтезе антибиотика фумагиллина иллюстрируется следующими примерами.

Пример 1. Культуру штамма 4238 хранят в лиофилизированном состоянии в запаянных ампулах при температуре 2 4°C. Защитной средой для лиофилизации служит сыворотка бычьей крови. С целью оживления культуры в ампулу заливают 1 мл стерильной воды, производят посев полученной суспензии на скошенный в пробирках агар Чапека и термостатируют их в течение 7 -10 суток при температуре 25<sup>±</sup>1°C.

Для приготовления посевного материала культуру, выращенную на агаре Чапека, переносят в колбы с посевной средой следующего состава (%): крахмал - 2,0; кукурузный экстракт 2,0; вода водопроводная остальное; pH 6,3 6,4. Колбы со стерильной посевной средой засевают суспензией конидий штамма 4238, смывых с агара Чапека стерильной водопроводной водой, и выращивают на качалке с 220 240 об/мин при температуре (27<sup>±</sup>1)°C в течение 48 часов.

Полученный посевной материал в количестве 4,0% используют для засева ферментационной среды следующего состава (%): крахмал 2,0; кукурузный экстракт 2,0; кальций углекислый 0,2; вода водопроводная остальное; pH 6,2 6,4. Культивирование