

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ

Інститут (факультет) біотехнології та екологічного контролю

Кафедра біотехнології і мікробіології

«До захисту в ЕК»

«До захисту допущено»

Директор інституту (декан факультету)

Завідувач кафедри

_____ Грегірчак Н.М.
(підпис) (прізвище та ініціали)

_____ Пирог Т.П.
(підпис) (прізвище та ініціали)

«__» _____ 2020 р.

«__» _____ 2020 р.

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА
НА ЗДОБУТТЯ ОСВІТНЬОГО СТУПЕНЯ БАКАЛАВРА

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

освітньо-професійної програми «Біотехнологія»

на тему: Культивування *Leuconostoc mesenteroides* для одержання Реополіглюкіну

Виконав: здобувач IV курсу, групи _1_

Савченко Маргарита Юріївна
(прізвище та ініціали)

Керівник Карлаш Юрій Васильович
(прізвище та ініціали) _____
(підпис)

Консультанти Клименко О.М.
(прізвище та ініціали) _____
(підпис)

_____ (прізвище та ініціали) _____
(підпис)

Рецензент Стойко В.І.
(прізвище та ініціали) _____
(підпис)

Засвідчую, що в цьому дипломному
проекті 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»
(шифр і назва)
Освітньо-професійна програма «Біотехнологія»
(назва)

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри біотехнології і мікробіології

Пирог Т.П.

«17» березня 2020 року

З А В Д А Н Н Я

НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ ЗДОБУВАЧА

Савченко Маргарита Юріївна

(прізвище, ім'я, по батькові)

1. Тема роботи Культивування *Leuconostoc mesenteroides* для одержання Реополіглюкіну

керівник роботи Карлаш Юрій Васильович доцент, кандидат технічних наук

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

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

2. Строк подання здобувачем роботи 01 червня 2020 року

3. Вихідні дані до роботи *Leuconostoc mesenteroides* коефіцієнт заповнення 0,6 об'єм ферментера

2,5

мЗ

4. Зміст розрахунково-пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно розробити) РОЗДІЛ 1. Характеристика декстрану. РОЗДІЛ 2.

Характеристика *Leuconostoc mesenteroides*. РОЗДІЛ 3. Техніко-економічне обґрунтування.

РОЗДІЛ 4. Біосинтез декстрану. РОЗДІЛ 5. Обґрунтування вибору технологічної

схеми виробництва Реополіглюкіну. РОЗДІЛ 6. Матеріальний баланс і розрахунок

обладнання виробництва Реополіглюкіну. РОЗДІЛ 7. Специфікація обладнання.

РОЗДІЛ 8. Опис технологічної схеми виробництва Реополіглюкіну. РОЗДІЛ 9.

Контроль виробництва Реополіглюкіну. РОЗДІЛ 10. Автоматизація ділянки виробництва Реополіглюкіну.

5. Перелік графічного матеріалу
Технологічна схема виробництва Реополіглюкіну – 2 аркуші формату А1. Апаратурна
схема виробництва Реополіглюкіну – 2 аркуші формату А1. Схема автоматизації

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 дипломного проекту (роботи)	Строк виконання етапів проекту (роботи)	Примітка
1	Характеристика декстрану.	20.03.20-22.03.20	
2	Характеристика <i>Leuconostoc mesenteroides</i> .	10.03.20-20.03.20	
3	Техніко-економічне обґрунтування.	15.03.20-30.03.20	
4	Біосинтез декстрану.	20.03.20-30.03.20	
5	Обґрунтування вибору технологічної схеми виробництва Реополіглюкіну.	30.03.20-10.04.20	
6	Матеріальний баланс і розрахунок обладнання виробництва Реополіглюкіну.	30.03.20-10.04.20	
7	Специфікація обладнання.	08.04.20-15.04.20	
8	Опис технологічної схеми виробництва Реополіглюкіну.	10.04.20-20.04.20	
9	Контроль виробництва Реополіглюкіну.	20.04.20-10.05.20	
10	Автоматизація ділянки виробництва Реополіглюкіну.	20.04.20-10.05.20	
11	Оформлення пояснювальної записки.	15.05.20-25.05.20	
12	Виконання графічної частини проекту.	20.05.20-31.05.20	

Здобувач _____
(підпис)

Савченко М.Ю.
(прізвище та ініціали)

Керівник проекту (роботи) _____
(підпис)

Карлаш Ю.В.
(прізвище та ініціали)

ЗМІСТ

РЕФЕРАТ	4
ВСТУП	5
РОЗДІЛ 1. ХАРАКТЕРИСТИКА ДЕКСТРАНУ	7
РОЗДІЛ 2. ОБГРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТА ХАРАКТЕРИСТИКА БІОЛОГІЧНОГО АГЕНТА	11
2.1. Обґрунтування вибору біологічного агента та поживного середовища для його культивування	11
2.2. Морфолого-культуральні та фізіолого-біохімічні ознаки біологічного агента	14
РОЗДІЛ 3. ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБГРУНТУВАННЯ	16
3.1. Потреба в цільовому продукті	16
3.2. Розрахунок потужності виробництва	17
3.3. Розрахунок об'єму ферментера та кількості виробничих циклів	18
3.4. Розрахунок кількості стадій підготовки посівного матеріалу.....	19
РОЗДІЛ 4. БІОСИНТЕЗ ДЕКСТРАНУ	22
4.1. Шляхи катаболізму ростового субстрату у біологічного агента.....	22
4.2. Біотрансформація ростового субстрату у цільовий продукт.....	24
РОЗДІЛ 5. ОБГРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ	26
5.1. Обґрунтування доферментаційних процесів та виробничого біосинтезу	26
5.2. Обґрунтування стадій виділення і очищення цільового продукту	38
5.3. Обґрунтування допоміжних робіт для стадії виділення та очищення цільового продукту.....	43
РОЗДІЛ 6. МАТЕРІАЛЬНИЙ БАЛАНС І РОЗРАХУНОК ОБЛАДНАННЯ	52
6.1. Розрахунок партій продукту (виробничих циклів)	53

6.2. Приготування та стерилізація поживних середовищ для виробничого культивування та вирощування посівного матеріалу.....	53
6.3. Уточнюючий розрахунок ферментаційного обладнання.....	66
6.4. Розрахунок кількості реакторів-змішувачів для приготування та стерилізації поживного середовища.....	67
РОЗДІЛ 7. СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ.....	71
РОЗДІЛ 8. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ.....	80
РОЗДІЛ 9. КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА.....	105
9.1. Карта контрольних точок виробництва.....	105
9.2. Мікробіологічний контроль.....	111
9.3. Визначення концентрації джерела вуглецю.....	112
9.4 Визначення концентрації джерела азоту.....	113
9.5 Визначення концентрації цільового продукту.....	115
РОЗДІЛ 10. АВТОМАТИЗАЦІЯ ДІЛЯНКИ ВИРОБНИЦТВА.....	118
СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ.....	127
ГРАФІЧНА ЧАСТИНА	
ДОДАТКИ	

РЕФЕРАТ

Представлено проект виробництва одержання реополіглюкіну культивуванням *Leuconostoc mesenteroides*. Об'єктом розробки є технологія виробництва реополіглюкіну з штаму *Leuconostoc mesenteroides* PCSIR-4.

Технологія виробництва складається з допоміжних робіт (приготування мийних засобів, підготовка аераційного повітря, приготування та стерилізація поживного середовища, та ін.) та основних процесів (виращування інокуляту в колбах на качалці, інокуляторі та посівному апараті, виробничого біосинтезу, сепарування культуральної рідини, кислотного гідролізу, ультрафільтрації) що наведені в технологічній та апаратурній схемах. Дипломний проект викладений на 137 стор. друкованого тексту, містить 22 таблиці, 9 рисунків і складається з вступу, десяти розділів, списку використаної літератури (108 джерел) та графічної частини (4 креслення формату А1, 1 креслення формату А3).

Ключові слова: *Leuconostoc mesenteroides*, полісахарид, декстран, реополіглюкін, сахароза, біосинтез, виділення, біомаса, сепарування.

ВСТУП

Фармацевтична галузь відіграє важливу роль в економіці України, оскільки є важливим сегментом національного ринку, багато в чому визначає національну і оборонну безпеку країни, відрізняється великою наукоємною і розвиненою кооперацією. Українська фармацевтична промисловість виробляє близько 1400 із 3000 препаратів, що продаються в Україні. Фармацевтичні компанії України виробляють лікарські засоби майже в усіх формах (твердих, рідких, порошкоподібних тощо). Основними групами є серцево-судинні препарати, анальгетики, вітаміни, засоби для лікування респіраторної та ендокринної систем, шлунково-кишкового тракту і антибіотики [1].

Широке застосування мікробних полісахаридів у фармацевтичній, парфумерній, харчовій та інших галузях промисловості визначається їх властивостями: в'язкістю, реологічними характеристиками, здатністю до набухання, взаємодією з певними структурами.

В харчовій промисловості полісахариди використовують в якості гелеутворювачів, згущувачів, стабілізаторів водно-жирових емульсій.

Декстран являє собою бактеріальний полісахарид, який є комерційно доступним, і його використовують в якості лікарських засобів, особливо в якості розширювача обсягу плазми крові. Декстран знайшов промислового застосування в харчовій, фармацевтичній та хімічній промисловості як ад'ювант, емульгатор, носій і стабілізатор. У харчовій промисловості декстран в даний час використовується як загусник для варення і морозива. Він запобігає кристалізації цукру, покращує утримання вологи і підтримує аромат, і зовнішній вигляд різних продовольчих товарів [2].

Актуальність теми: В наш час кровозамінники використовують частіше, ніж кров донорів. Загроза зараження людей збудниками СНІДу, сифілісу, гепатитів та інших інфекцій, які передаються при переливанні цільної крові, посттрансфузійні ускладнення, потребують максимального зниження кількості гемотрансфузій. Крім того, економічне застосування

кровозамінних та плазмозамінних препаратів є вигіднішим, ніж застосування крові та її елементів. Також навіть сумісна кров викликає «стрес» імунної системи реципієнта. Приблизно одне із ста переливань супроводжується ознобом та лихоманкою. На кожні 6000 переливань еритроцитної маси виникає одна гемолітична реакція, яка може призвести до внутрішньосудинного згортання крові, до ниркової недостатності і навіть смерті.

Використання декстрану дасть змогу отримувати кровозамінники, які мають ряд переваг перед донорською кров'ю:

1. Штучна кров явно нічим не заражена;
2. Не потребує добору по антигенним групам;
3. Менш вразлива щодо умов зберігання;
4. І що особливо важливо, процес створення таких препаратів будь — якої миті можна збільшити [3].

Новизна проекту: Виробниче культивування *Leuconostoc mesenteroides* PCSIR-4 для одержання декстрану на сьогоднішній день є досить актуальним та перспективним у медичній галузі.

В представленому проекті, як продуцент використовується новий штам бактерій-продуцентів декстрану. Даний штам здатен синтезувати до 90,4 г/л декстрану, що у 5 разів вище ніж синтезує його прототип, штам *Leuconostoc mesenteroides* 05-19S, що використовується у існуючих технологіях виробництва [4].

РОЗДІЛ 1. ХАРАКТЕРИСТИКА ДЕКСТРАНУ

Активним фармацевтичним інгредієнтом препарату «Реополіглюкін» є декстран 40 та натрію хлорид [5].

Декстран 40 для ін'єкцій є сумішню полісахаридів, в основному типу α - 1,6-глюканів. Середня молекулярна маса субстанції становить близько 40 000 Да [6].

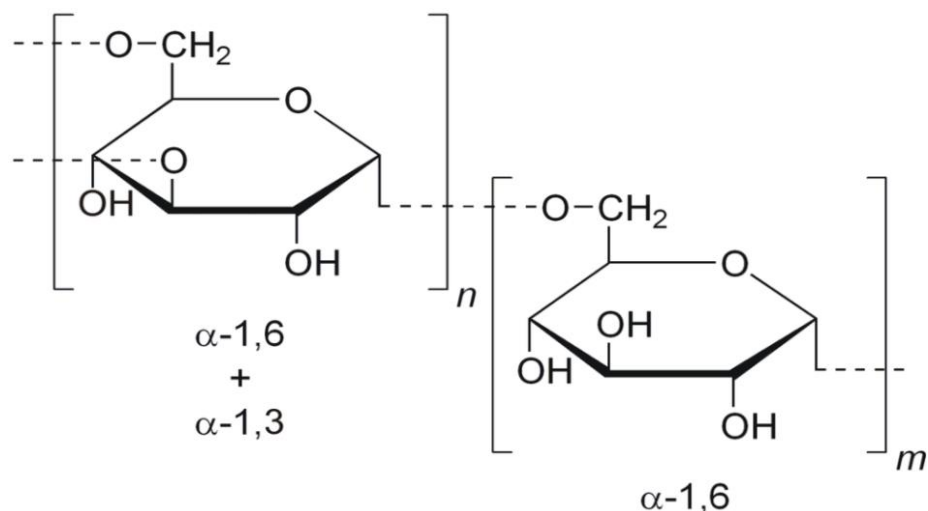


Рис. 1.1 Повторювана одиниця полісахариду декстрану [7]

Виробництво

Субстанцію виробляють шляхом гідролізу і фракціонування декстранів, одержаних ферментацією сахарози *Leuconostoc mesenteroides*. Субстанцію виробляють в умовах, що забезпечують мінімальне мікробіологічне забруднення.

Молекулярно-масовий розподіл

Середня молекулярна маса бути від 35 000 до 45 000 Да. Середня молекулярна маса 10% високомолекулярної фракції не має перевищувати 110 000. Середня молекулярна маса 10% низькомолекулярної фракції має бути не менше 7 000. Хімічна формула - $\text{H}(\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5)_x\text{OH}$.

					НУХТ БТЕК 04.01.26 КР ПЗ			
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Савченко М.Ю.			РОЗДІЛ 1. ХАРАКТЕРИСТИКА ДЕКСТРАНУ	Літ.	Арк.	Акрушіє
Перевір.		Карлаш Ю.В.					9	138
Реценз.						Кафедра БТМ 9		
Н. Контр.								
Затверд.		Пирог Т.П.						

Втрата в масі при висушуванні

Не більше 7.0 %. Визначення проводять із 0.200 г субстанції, висушеної при температурі (105 ± 2) °C протягом 5 год. [6].

Фізико-хімічні властивості

При кімнатній температурі декстран легко розчиняється у воді або гліцерині. Декстран утворює високов'язкі і слизові рідини [8].

Фармакотерапевтична група

Кровозамінники і перфузійні розчини .

Форма випуску

Розчин для інфузій по 400 мл у пляшках (рис.1.3).



Рис. 1.2 Форма випуску Реополіглюкіну [9]

Фармакодинаміка

Плазмозамінний колоїдний розчин декстрану (полімеру глюкози), фармакологічна дія якого виявляється у покращенні реологічних властивостей крові, зниженні її в'язкості, відновленні мікроциркуляторного кровотоку, запобіганні та усуненні агрегації формених елементів, нормалізації артеріального та венозного кровообігу. При швидкому введенні Реополіглюкіну об'єм плазми може збільшитися на величину, що майже у 2 рази перевищує об'єм введеного препарату, оскільки кожні 10 мл препарату сприяють перерозподілу 20-25 мл рідини з тканин у кров'яне русло.

Фармакокінетика

Період напіввиведення становить 6 годин. Виводиться в основному нирками: за перші 6 годин - близько 60 %, за 24 години - 70 %. Решта кількості надходить у ретикулоендотеліальну систему і печінку, де поступово розщеплюється альфа-глюкозидазою до глюкози, проте не є джерелом вуглеводного живлення.

Застосування

- при порушеннях капілярного кровотоку, для профілактики та лікування травматичного, операційного та опікового шоку;
- при порушеннях артеріального та венозного кровообігу;
- для лікування та профілактики тромбозів і тромбофлебітів, ендартеріїту;
- при операціях на серці з застосуванням апарату штучного кровообігу (для додавання до перфузійного розчину);
- у судинній і пластичній хірургії для поліпшення місцевої циркуляції;
- для дезінтоксикації при опіках, перитонітах, панкреатиті та ін.[9].

Характеристики якості

Опис

Прозора безбарвна або злегка жовтувата рідина.

Відносна в'язкість

Не більше 5,5 кг/м³ при температурі (25 ± 0,1)°С.

pH

Від 4,00 до 6,50.

Розчинність

Дуже легко розчинний у воді, не розчинний у метиловому, етиловому спирті та поліетиленгліколі.

Кількісне визначення

Декстран. Від 95,0 мг/мл до 105,0 мг/мл.

Натрію хлорид. Від 8,5 мг/мл до 9,5 мг/мл.

Осмолярність

Від 300 мОсм/л до 360 мОсм/л.

Механічні включення

Видимі. Прозорий розчин, що практично не містить включень.

Невидимі. Не більше $25/\text{мл} \geq 10 \text{ мкм}$

Антигенність

Не повинні з'являтися ознаки реакції анафілаксії

Аномальна токсичність

Повинен бути нетоксичним

Стерильність

Повинен витримувати випробування на стерильність

Бактеріальні ендотоксини

Не більше 0,5 МО/мл

Висновок: лікарський засіб Реополіглюкін відповідає вимогам НД до

РП

№ UA/8337/01/01 [10].

РОЗДІЛ 2. ОБГРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТА ХАРАКТЕРИСТИКА БІОЛОГІЧНОГО АГЕНТА

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

На даний час відомо декілька штамів виду бактерій, здатних синтезувати декстран: *Leuconostoc mesenteroides* 05–19S, *Leuconostoc mesenteroides* PCSIR-4, *Leuconostoc mesenteroides* CMG713. Представлені штами бактерій синтезують декстран на поживному середовищі з сахарозою, концентрація якої в кожному випадку різна та відповідно мають різний вихід продукту. Це є однією з головних відмінностей між мікроорганізмами. Умови культивування мікроорганізмів представлені в табл. (2.1.1) [11,12,13].

Табл. 2.1.1

Порівняльна характеристика пштамів-родуцентів декстрану

№	Біологічний агент	Склад поживного середовища	Конц. продукту, г/л	Тривалість культив-ня, год.	Відношення до рН	Літе- ратура
1	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> 05–19S	Сахароза — 100; дріждж.екстракт - 0,001 дм ³ ; MgSO ₄ — 0,10; KCl — 0,10; CaCl ₂ — 0,02; KH ₂ PO ₄ — 1; FeSO ₄ — 0,01; NH ₄ Cl — 0,50; Na ₂ HPO ₄ — 2,50; сіть Мора — 0,01; фолієва к-та — 0,05; сухий фермент-й пептон- 0,20; вода — до 1000мл	17	48	6,6	[11]

НУХТ БТЕК 04.01.26 КР ПЗ

Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Савченко М.Ю.			РОЗДІЛ 2. ОБГРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТА ХАРАКТЕРИСТИКА	Літ.	Арк.	Акрушіє
Перевір.		Карлаш Ю.В.					13	138
Реценз.						Кафедра БТМ ¹³		
Н. Контр.								
Затверд.		Пирог Т.П.						

2	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> PCSIR-4	Сахароза – 300; дріждж. екстракт – 5,0; пептон – 5,0; K ₂ HPO ₄ – 15; NaCl – 0,01; MgSO ₄ ×7H ₂ O – 0,01; MnCl ₂ ×H ₂ O – 0,01; CaCl ₂ – 0,05.	90,4	18	7	[12]
3	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> CMG713	Сахароза – 150,0 бакто-пептон-5,0 дріждж. екстракт – 5,0 K ₂ HPO ₄ – 15,0 MnCl ₂ ×H ₂ O – 0,01 NaCl – 0,01 CaCl ₂ – 0,05	56	24	6,5	[13]

Таблиця 2.1.2

Розрахунок вартості поживних середовищ

№	Біологічний агент	Склад ПС	Концентрація, г/л	Ціна, грн/кг	Вартість компонентів 1 л середовища	Література
1	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> 05-19S	Сахароза	100	8,9	0,89	[14]
		дріждж.екстракт	1	1440	1,44	[15]
		MgSO ₄	0,1	7,5	0,00075	[16]
		KCl	0,1	28	0,0028	[17]
		CaCl ₂	0,02	30	0,0006	[18]
		KH ₂ PO ₄	1	95	0,095	[19]
		FeSO ₄	0,01	20	0,0002	[20]
		NH ₄ Cl	0,5	60	0,03	[21]
		Na ₂ HPO ₄	2,5	45	0,1125	[22]
		сіль Мора	0,01	450	0,0045	[23]
		фолієва к-та	0,05	1480	0,074	[24]
		пептон	0,2	720	0,144	[25]
Вартість 1 л середовища, грн/л					2,79	
2	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> PCSIR-4	Сахароза	300	8,9	2,67	[14]
		дріждж. екстракт	5	1440	7,2	[15]
		пептон	5	720	3,6	[25]
		K ₂ HPO ₄	15	84	1,26	[26]
		NaCl	0,01	0,55	0,000005	[27]
		MgSO ₄ ×7H ₂ O	0,01	8,74	0,000087	[28]
		MnCl ₂ ×H ₂ O	0,01	118	0,00118	[29]
		CaCl ₂	0,05	11,9	0,00059	[18]
		Вартість 1 л середовища, грн/л				

Продовження таблиці 2.1.2

3	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> CMG713	Сахароза	150	8,9	1,335	[14]
		дріждж.екстракт	5,0	1440	7,2	[15]
		пептон	5,0	720	3,6	[25]
		K ₂ HPO ₄	15	84	1,26	[26]
		MnCl ₂ ×H ₂ O	0,01	0,55	0,000005	[27]
		NaCl	0,01	450	0,0045	[23]
		CaCl ₂	0,05	11,9	0,00059	[18]
		Вартість 1 л середовища, грн/л				13,40

Таблиця 2.1.3

Узагальнююча таблиця

№	Біологічний агент	Вартість 1л сер-ща,грн	Конц. продукту, г/л	Вартість цільового продукту, грн/г	Тривалість культ-ня, год	Конц. за год.	Літера-тура
1	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> 05–19S	2,79	17	0,1641	48	0,35	[11]
2	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> PCSIR-4	14,73	90,4	0,1629	18	5,02	[12]
3	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> CMG713	13,40	56	0,2392	24	2,33	[13]

Отже, з табл. (2.1) видно, що вартість цільового продукту найменша у штама *L. mesenteroides* PCSIR-4. Також він є найпродуктивнішим, синтезує 90,4 г/л декстрану за 18 год при внесенні в середовище 300 г/л сахарози [8].

З наведених у табл. (2.1) поживних середовищ було обрано поживне середовище № 2. Воно містить усі необхідні елементи, що входять до складу клітин і дає змогу накопичувати максимальну кількість декстрану.

- Сахароза є джерелом вуглецю;
- Пептон – азоту;
- K₂HPO₄ – джерело фосфору та кальцію;
- NaCl – джерело натрію та хлору;
- MgSO₄×7H₂O – джерело магнію, водню та сірки;

- $MnCl_2 \times H_2O$ – джерело марганцю та хлору;
- $FeSO_4 \times 7H_2O$ – джерело заліза та сірки;
- $CaCl_2$ – джерело кальцію та хлору.

Отже, як продуцент буде використаний штам бактерій *L. mesenteroides* PCSIR-4, зважаючи на високі показники синтезу декстрану та малу тривалість процесу культивування бактерій.

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

Здатність синтезувати слизову масу, що містить декстран, із сахарози була відкрита Луї Пастером в 1861 р. у бактерій, пізніше названих «*Leuconostoc mesenteroides*» [30].

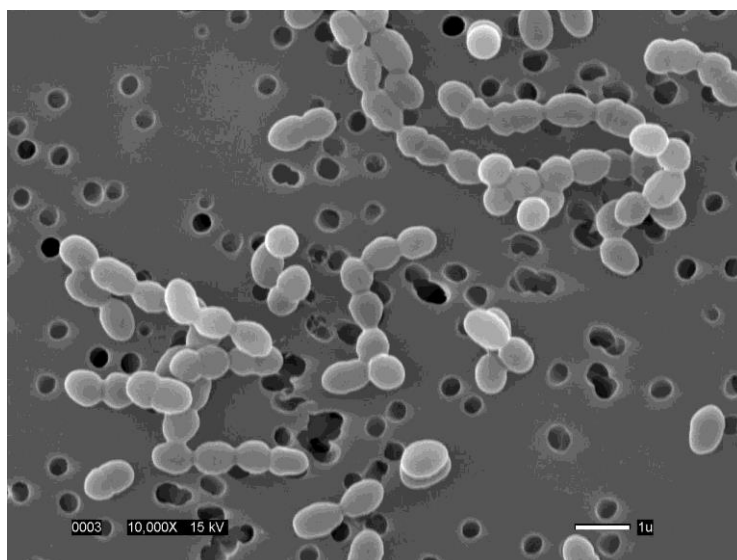


Рис. 2.2.1 Бактерії виду *L. mesenteroides* під електронним мікроскопом [31]

Морфолого-культуральні ознаки

Дрібні коки, розташовані як поодинокі і попарно (25%), так і у вигляді ланцюжків (75%) витягнутої форми довжиною $0,5 - 0,7 \times 0,7 - 1,2$ мкм. Іноді спостерігаються довгі ланцюжки із коротких паличок з заокругленими кінцями. Не утворюють спори та нерухливі. Ростуть досить повільно, утворюючи дрібні, іноді слизисті колонії на середовищах з сахарозою. При візуальному вивченні колоній, які вирости на поживному середовищі в термостаті при температурі $24^\circ C$ і при використанні біокулярної лупи при звичайному освітленні можна побачити колонії в S-формі не більше 2 мм в

діаметрі, матові, зернисті, з рівними краями. Декстран візуально не визначається. При вивченні колоній в косопрходячому штучному освітленні (кут нахилу світлового променя 45°) з використанням бінокулярної лупи можна побачити, що колонії володіють оранжево-зеленим і голубим світінням [7].

Фізіолого-біохімічні ознаки

При культивуванні штаму на середовищах, що містять глюкозу, декстран не утворюється. Синтез декстрану відбувається при вирощуванні продуцента на середовищах, що містять сахарозу, при цьому йде виділення ферменту декстран-сахарози, що каталізує відщеплення від сахарози молекул глюкози і подальший синтез декстрану з 1,6-глюкозидними зв'язками за одноланцюговим механізмом без утворення проміжних сполук.

За типом живлення — хемоорганотрофи з облігатною потребою в зброджувавальному вугледі, які потребують багатих поживних середовищ. Асимілює амонійний азот. Штам не потребує вітамінів. Оптимальна температура росту $24-25^\circ\text{C}$. Зростання можливе при рН від 6,2 до 7,2. Оптимум 7,0. Штам є факультативним анаеробом, оптимальною для зростання є концентрація розчиненого в середовищі кисню - 5% від повного насичення [11].

Характеристика метаболізму

Бактерії даного роду є гетероферментативними, оскільки у процесі збродження глюкози утворюється не тільки молочна кислота, а й етанол, оцтова кислота, CO_2 . Зброджувальні вуглеводи в основному моно- і дисахариди. Дані бактерії здатні тільки до бродіння. Особливістю цих бактерій є потреба в ростових факторах (фолієва кислота). Для даних бактерій є характерним гетероферментативне молочнокисле бродіння. У них відсутні такі ферменти гліколізу, як альдолаза та триозофосфатізомераза. Початкове розщеплення глюкози у них відбувається лише за пентозофосфатним шляхом. Далі проходить процес гетероферментативного бродіння [32,33].

РОЗДІЛ 3. ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБГРУНТУВАННЯ

3.1. Потреба у цільовому продукті

За класифікацією АТС Реополіглокін відноситься до групи кровозамінників та перфузійних розчинів (B05AA). Препарат можна віднести до життєво необхідних препаратів, адже цей кровозамінник використовується при таких захворюваннях як: тромбоз, тромбофлебіт, хвороба Рейно, ендартеріт, профілактика та лікування травматичного, операційного, опікового та токсичного шоків, під час судинних та пластичних операціях та операціях на серці. Якщо вчасно не застосувати розчин кровозамінника, половина хворих закінчують своє життя летально [5].

Станом на 1 липня 2019 року населення України складає 42 млн. людей.

За даними Державної служби статистики України загальна кількість українців, з хворобами системи кровообігу, складає 1 780 600 (4,2%) [34].

Реополіглокін займає приблизно 10 % усіх кровозамінників на ринку України. Тому кількість населення, яка потребує саме Реополіглокін така:

$$1\,780\,600 \times 0,1 = 178\,060 \text{ чол.}$$

Максимальна доза препарату для дорослої людини 15-20 мл/кг. При середній вазі – 80 кг, загальна кількість реополіглокіну на 1 дозу складе:

$$20 \times 80 = 1600 \text{ мл}$$

При концентрації – 10 г декстрану в 100 мл розчину, кількість декстрану на 1 дозу – 160 г [5].

Отже, розрахуємо необхідну кількість субстанції на рік:

$$178\,060 \times 160 = 28\,490 \text{ кг}$$

Отже, загальна потреба для населення в декстрані складає 28 490 кг.

					НУХТ БТЕК 04.01.26 КР ПЗ			
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Савченко М.Ю.			РОЗДІЛ 3. ТЕХНІКО- ЕКОНОМІЧНЕ ОБГРУНТУВАННЯ	Літ.	Арк.	Акрушів
Перевір.		Карлаш Ю.В.					18	138
Реценз.						Кафедра БТМ¹⁸		
Н. Контр.								
Затверд.		Пирог Т.П.						

3.2. Розрахунок потужності виробництва

В Україні зареєстровано 3 підприємства, які виготовляють даний лікарський засіб (див. табл. 3.2.1) [35].

Табл. 3.2.1

Фірми-виробники препарату «Реополіглюкін»

Торгівельна назва	Фірма виробник, країна	Реєстраційний номер	Дата реєстрації
Реополіглюкін	ЗАТ «Юрія-Фарм», м. Черкаси, Україна	UA/8337/01/01	27.07.2018
Реополіглюкін	ПрАТ "Інфузія", Україна	UA/1558/01/01	12.08.2019
Реополіглюкін	«Новофарм-біосинтез», м. Новоград-Волинський, Україна	UA/6264/01/01	17.01.2017

Представлені вище підприємства не мають власного виробництва субстанції (декстран) для виготовлення препарату «Реополіглюкін», вони купують її за кордоном, а саме в Словаччині та Данії [36].

Враховуючи інші підприємства, розрахуємо річну потужність виробництва:

$$G_{\text{нд}} = 28\,490 \times (1 - 0,75) = 7\,122,5 = 7\,125 \text{ кг/рік}$$

Продуцентом декстрану є штам бактерій *Leuconostoc mesenteroides* PCSIR-4, продуктивність яких складає 90,4 г/л, а час культивування – 18 год [12].

Знаючи синтезувальну здатність продуцента, можемо розрахувати кількість культуральної рідини, необхідної для забезпечення річної потреби в субстанції.

Кількість культуральної рідини, необхідної для отримання 7 125 кг декстрану становить:

$$90,4 \text{ г} - 1 \text{ л}$$

$$7122,5 \text{ кг} - X$$

$$X = (7\,125 \times 1) / 0,0904 = 78\,817 \text{ л}$$

Враховуючи 20% втрат, необхідно отримати таку кількість культуральної рідини:

$$V_{кр} = 78\,816,4 / (1-0,2) = 98\,520 = 98,52 \text{ м}^3$$

3.3 . Розрахунок об'єму ферментера та кількості виробничих циклів

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

Приймаємо кількість робочих трудоднів (Трд) 80, тоді кількість продукту на добу (V_d) становитиме

$$V_d = V_{гп} / \text{Трд} = 98\,520 / 80 = 1232 \text{ л}$$

Розглянемо наступні операції підготовки ферментера:

1. Миття та огляд апарату – 1,5 год.
2. Перевірка на герметичність – 1 год.
3. Підігрів апарату -0,5 год.
4. Стерилізація апарату – 1 год.
5. Охолодження апарату – 1 год.
6. Завантаження середовища – 2 год.
7. Засів – 0,5 год.
8. Вивантаження – 1 год.

Загальна тривалість підготовки – 8,5 год.

Кількість продукту за цикл:

$$V_{ц} = (K_1 \times V_d \times T_{цф}) / 24 = (1,1 \times 1231,5 \times 26,5) / 24 = 1495 \text{ л/цикл}$$

де, $T_{цф}$ – цикл роботи ферментера, який включає тривалість виробничого біосинтезу (18 год) та час підготовки ферментера до роботи (8,5 год).

K_1 – коефіцієнт запасу, що враховує можливість нестерильних операцій ($K_1=1,1 - 1,5$).

Кількість циклів становить:

$$N_{ц} = 98\,486,25 / 1495 = 66 \text{ циклів}$$

1495 л культуральної рідини можна отримати у ферментері, геометричний об'єм якого має становити:

$$V_{г} = V_{цк} / K_{зап} = 1495 / 0,6 = 2491,7 \text{ л}$$

де $K_{зап}$ — коефіцієнт заповнення ферментера.

У додатку 4 знаходимо найближчий за геометричним об'ємом ферментер $V_{\text{гф}} = 2,5 \text{ м}^3$.

3.4. Розрахунок кількості стадій підготовки посівного матеріалу

За виробничий цикл отримують $V_{\text{кр}} = 1495$ л культуральної рідини. При одержанні культуральної рідини потрібно врахувати її втрати в результаті краплевиносу через колектор відпрацьованого повітря, які становлять від 10 до 15%.

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

$$V_{\text{роб.1}} = V_{\text{кр}} / (1 - E_{\text{ф}}) = 1495 / (1 - 0,1) = 1661,1 \text{ л}$$

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

Виробничий біосинтез здійснюють у ферментері з робочим об'ємом $V_{\text{роб.1}} = 1661,1$ л.

Розраховуємо можливий геометричний об'єм ферментера ($V_{\text{ф}}$), що становить

$$V_{\text{ф1}} = V_{\text{роб.1}} / K_{\text{зап}} = 1661,1 / 0,6 = 2768,5 \text{ л.}$$

Приймаємо найближчий за об'ємом стандартний ферментер $V_{\text{сф}} = 3,2 \text{ м}^3$ (див. додаток 4), уточнюємо прийнятий раніше коефіцієнт заповнення

$$K_{\text{зап1}} = V_{\text{роб.1}} / V_{\text{сф}} = 1661,1 / 3200 = 0,5.$$

Отриманий коефіцієнт заповнення входить у задані межі 0,5 – 0,7.

Кількість посівного матеріалу (доза) для ферментера становить 10 % від об'єму поживного середовища. Тоді кількість поживного середовища в ферментері буде становити:

$$V_{\text{пс1}} = V_{\text{роб.1}} / (1 + X_{\text{ф}}) = 1661,1 / (1 + 0,1) = 1510,1 \text{ л}$$

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

Кількість посівного матеріалу становить

$$V_{\text{пм1}} = V_{\text{роб.1}} - V_{\text{пс1}} = 1661,1 - 1510,1 = 151 \text{ л.}$$

Для одержання 151 л інокуляту в посівному апараті враховуємо втрати в результаті краплевиносу через колектор відпрацьованого повітря, які становлять від 10 до 15%.

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

$$V_{роб.2} = V_{пм1}/(1-E_{па}) = 151 / (1-0,1) = 167,8 \text{ л.}$$

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

Тоді кількість поживного середовища в посівному апараті буде становити

$$V_{пс2} = V_{роб.2}/(1+X_{па}) = 167,8 / (1+0,1) = 152,6 \text{ л}$$

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

Кількість посівного матеріалу для посівного апарату становить

$$V_{пм2} = V_{роб.2} - V_{пс2} = 167,8 - 152,6 = 15,2 \text{ л.}$$

Кількість інокуляту $V_{роб.2} = 167,8 \text{ л}$ можна одержати під час культивування продуцента у посівному апараті об'ємом:

$$V_{па2} = V_{роб.2} / K_{зап} = 167,8 / 0,6 = 279,7 \text{ л.}$$

Приймаємо найближчий за об'ємом стандартний ферментер $V_{сф} = 0,25 \text{ м}^3$ (див. додаток 4), уточнюємо прийнятий раніше коефіцієнт заповнення

$$K_{з2} = V_{роб.2} / V_{сф} = 167,8 / 250 = 0,67.$$

Отриманий коефіцієнт заповнення входить у задані межі 0,5 – 0,7.

Для одержання 15,2 л посівного матеріалу в інокуляторі враховуємо втрати в результаті краплевиносу через колектор відпрацьованого повітря, які становлять від 10 до 15%.

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

$$V_{роб.3} = V_{пм2}/(1-E_{ін}) = 15,2 / (1-0,1) = 16,9 \text{ л.}$$

Кількість посівного матеріалу (доза) для інокулятора становить 10 % від об'єму поживного середовища в інокуляторі. Тоді кількість поживного середовища в інокуляторі буде становити:

$$V_{пс3} = V_{роб.3}/(1+X_{ін}) = 16,9 / (1+0,1) = 15,4 \text{ л}$$

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

Кількість посівного матеріалу становить:

$$V_{пм3} = V_{роб.3} - V_{пс3} = 16,9 - 15,4 = 1,5 \text{ л.}$$

Кількість інокуляту можна одержати під час культивування продуцента в інокуляторі геометричним об'ємом

$$V_{ін3} = V_{роб.3} / K_{зап} = 16,9 / 0,6 = 28,2 \text{ л.}$$

Приймаємо найближчий за об'ємом стандартний ферментер $V_{сф} = 30 \text{ л}$ (див. додаток 4), уточнюємо прийнятий раніше коефіцієнт заповнення

$$K_3 = V_{роб.3} / V_{сф} = 16,9 / 30 = 0,56.$$

Для одержання 1,5 л посівного матеріалу в колбах враховуємо втрати, які становлять 1 %.

$$V_{роб.5} = V_{пм4} / (1 - E_{кол}) = 1,5 / (1 - 0,01) = 1,52 \text{ л.}$$

Кількість посівного матеріалу (доза) для качалочних колб становить 10 % від об'єму поживного середовища. Тоді кількість поживного середовища для колб буде становити:

$$V_{пс5} = V_{роб.5} / (1 + X_{кол}) = 1,52 / (1 + 0,1) = 1,38 \text{ л}$$

, де $X_{кол} = 0,1$ – доза посівного матеріалу для колб.

Кількість посівного матеріалу становить:

$$V_{пм5} = V_{роб.5} - V_{пс5} = 1,52 - 1,38 = 0,14 \text{ л.}$$

Кількість посівного матеріалу $V_{роб.5} = 1,52 \text{ л}$ можна одержати під час культивування продуцента в качалочних колбах об'ємом $V_{колб} = 750 \text{ мл}$ та коефіцієнтом заповнення $K_{зк} = 0,2$.

Тоді кількість колб для отримання посівного матеріалу становитиме:

$$N_{колб} = V_{пм4} / (V_{колб} \times K_{зк}) = 1520 / (750 \times 0,2) = 10 .$$

Таким чином, для одержання посівного матеріалу необхідно 10 качалочних колб.

Отже, за результатами розрахунків для біосинтезу декстрану *Leuconostoc mesenteroides* PCSIR-4 приймаємо до встановлення один ферментер об'ємом 3,2 м³ (і один запасний), один посівний апарат об'ємом 0,25 м³ (і один запасний), один інокулятор об'ємом 30 л (і одний запасний) та 10 качалочних колб об'ємом 750 мл.

РОЗДІЛ 4. БІОСИНТЕЗ ДЕКСТРАНУ

4.1 Шляхи катаболізму ростового субстрату у біологічного агента

Джерелом вуглецю та енергії (ростовим субстратом) у поживному середовищі для біосинтезу декстрану є сахароза [12]. Згідно Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes [37] катаболізм сахарози у *L. mesenteroides* PCSIR-4 з сахарози утворюється сахароза-6-фосфат за допомогою ферменту сахарозофосфотрансфераза (КФ.2.7.1.211) [37].

Наступним є перетворення сахарозо-6-фосфату на D – фруктозу за допомогою ферменту β -фруктофуранозидаза (КФ.3.2.1.26). В свою чергу D-фруктоза розщеплюється за допомогою фруктокінази (КФ.2.7.1.1) до D-фруктозо-6-фосфату. Фермент глюкозо-6-фосфатізомераза (КФ.5.3.1.9.) каталізує взаємне перетворення α -D-глюкозо-6-фосфату, β -D-фруктозо-6-фосфату і β -D-глюкозо-6-фосфату. Потім 6-фосфотруктокіназа 1 (КФ.2.7.1.11) активує перетворення β -D-фруктозо-6-фосфату на β -D-фруктозо-1,6-дифосфат, частина якого за допомогою фруктозо-1,6-біфосфатази I (КФ.3.1.3.11) зворотно перетворюється на β -D-фруктозо-6-фосфат.

На наступному етапі, під дією ферменту фруктозобіфосфатальдолази, клас II (КФ.4.1.2.13) здійснюється перетворення β -D-фруктозо-1,6-дифосфату на дві сполуки: гліцеральдегід-3-фосфат та дигідроксиацетонфосфат.

Далі фермент гліцеральдегід-3-фосфатдегідрогеназа (КФ.1.2.1.12) залучається до перетворення гліцеральдегід-3-фосфату на 1,3-дифосфогліцерат, який під дією фосфогліцераткінази (КФ.2.7.2.3) перетворюється на 3-фосфогліцерат.

Фермент фосфогліцератмутаза (КФ.5.4.2.12) каталізує перетворення 3-фосфогліцерату до 2-фосфогліцерату, який за допомогою енолази (КФ.4.2.1.11) перетворюється на фосфоенолпіруват.

					НУХТ БТЕК 04.01.26 КР ПЗ			
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Савченко М.Ю.			РОЗДІЛ 4. БІОСИНТЕЗ ДЕКСТРАНУ	Літ.	Арк.	Акрушів
Перевір.		Карлаш Ю.В.					24	138
Реценз.						Кафедра БТМ²⁴		
Н. Контр.								
Затверд.		Пирог Т.П.						

Заключним етапом гліколізу є перетворення фосфоенолпірувату на піруват за допомогою піруваткінази (КФ.2.7.1.40). Далі піруват залучається до метаболізму за участю специфічної піруватдегідрогенази E1 (КФ.1.2.4.1) та піруватдегідрогенази E2 (КФ.2.3.1.12) [37].

Схему катаболізму сахарози наведено на рис. 4.1.1 [37].

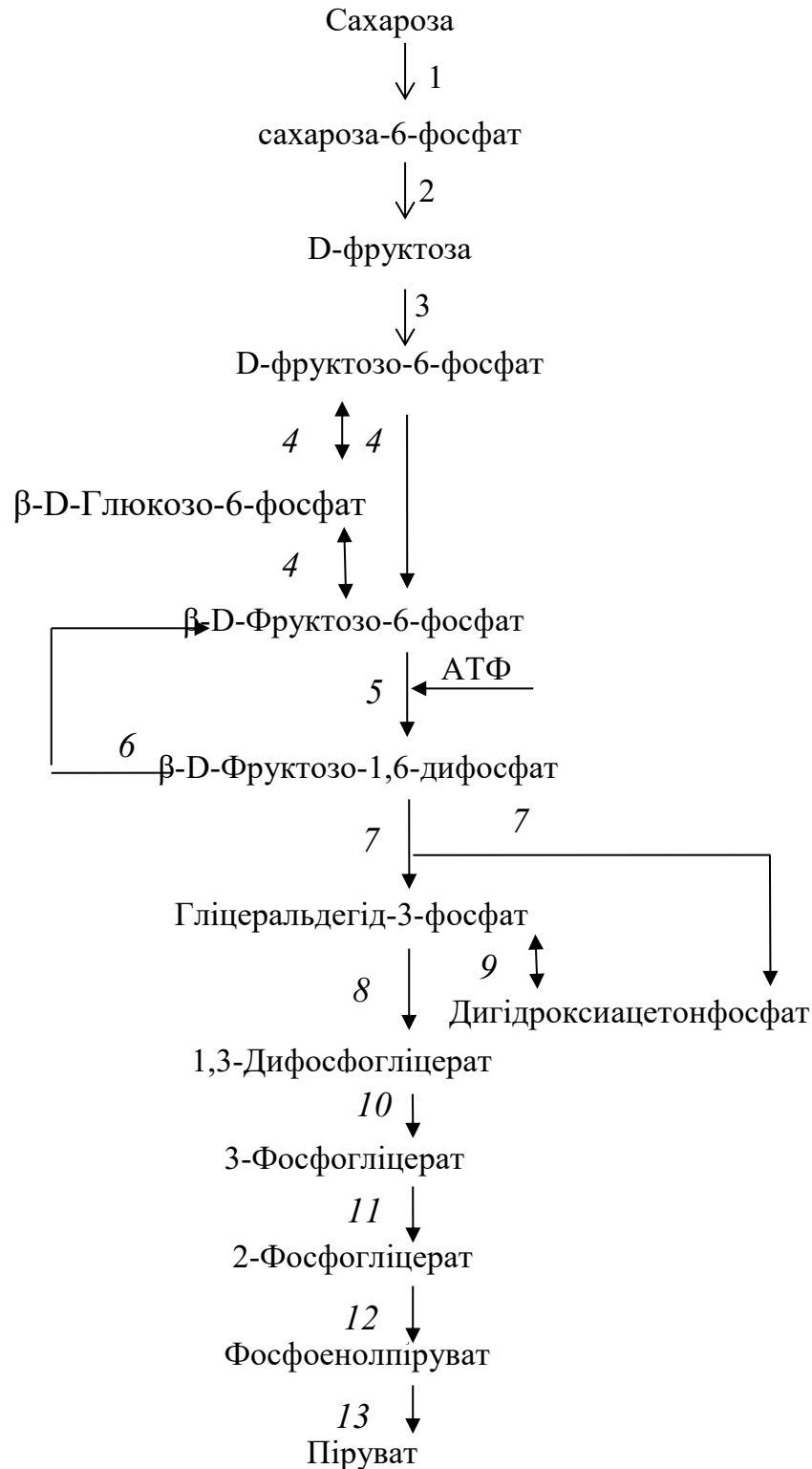


Рис. 4.1.1 Катаболізм сахарози у *Leuconostoc mesenteroides*

Ферменти: 1 – сахарозофосфотрансфераза (КФ.2.7.1.211), 2 – β -фруктофуранозидаза (КФ.3.2.1.26), 3– фруктокіназа (КФ.2.7.1.1), 4 – глюкозо-6-фосфатізомераза (КФ.5.3.1.9.); 5 – 6-фосфофруктокіназа 1 (КФ.2.7.1.11); 6 – фруктозо-1,6-біфосфатаза I (КФ.3.1.3.11); 7 – фруктозобі-фосфатальдолаза, клас II (КФ.4.1.2.13); 8 – гліцеральдегід-3-фосфатдегідрогеназа (КФ.1.2.1.12); 9 – триозофосфатізомераза (КФ.5.3.1.1); 10 – фосфогліцераткіназа (КФ.2.7.2.3); 11 – фосфогліцератмутаза (КФ.5.4.2.12); 12 – енолаза (КФ.4.2.1.11); 13 – піруваткіназа (КФ.2.7.1.40).

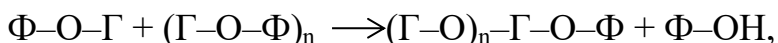
4.2 Біотрансформація ростового субстрату у цільовий продукт

Декстран $(C_6H_{10}O_5)_n$ – це високомолекулярний полімер з довгим розгалуженим ланцюгом, який складається з глюкози, з'єднаної α – 1,6 глікозидними зв'язками.

Синтез декстрану здійснюється ферментом *декстрансахаразою*. Вихідною сполукою для синтезу декстрану є сахароза. Фермент відщеплює від сахарози молекулу глюкози і передає її на акцепторну молекулу, без утворення будь-яких проміжних сполук, зокрема, фосфоровмісних. Найактивнішим акцептором є низькомолекулярні декстрини, які несуть на одному з кінців фруктофуранозний залишок [38].

Анаплеротичні реакції проходять в ЦТК.

Сумарна реакція має вигляд:



де: $\Phi-O-\Gamma$ - сахароза; Φ – фруктоза; Γ – глюкоза.

Біотрансформація декстрану *L. mesenteroides* PCSIR-4 з сахарози зображена на рис. 4.2.1.

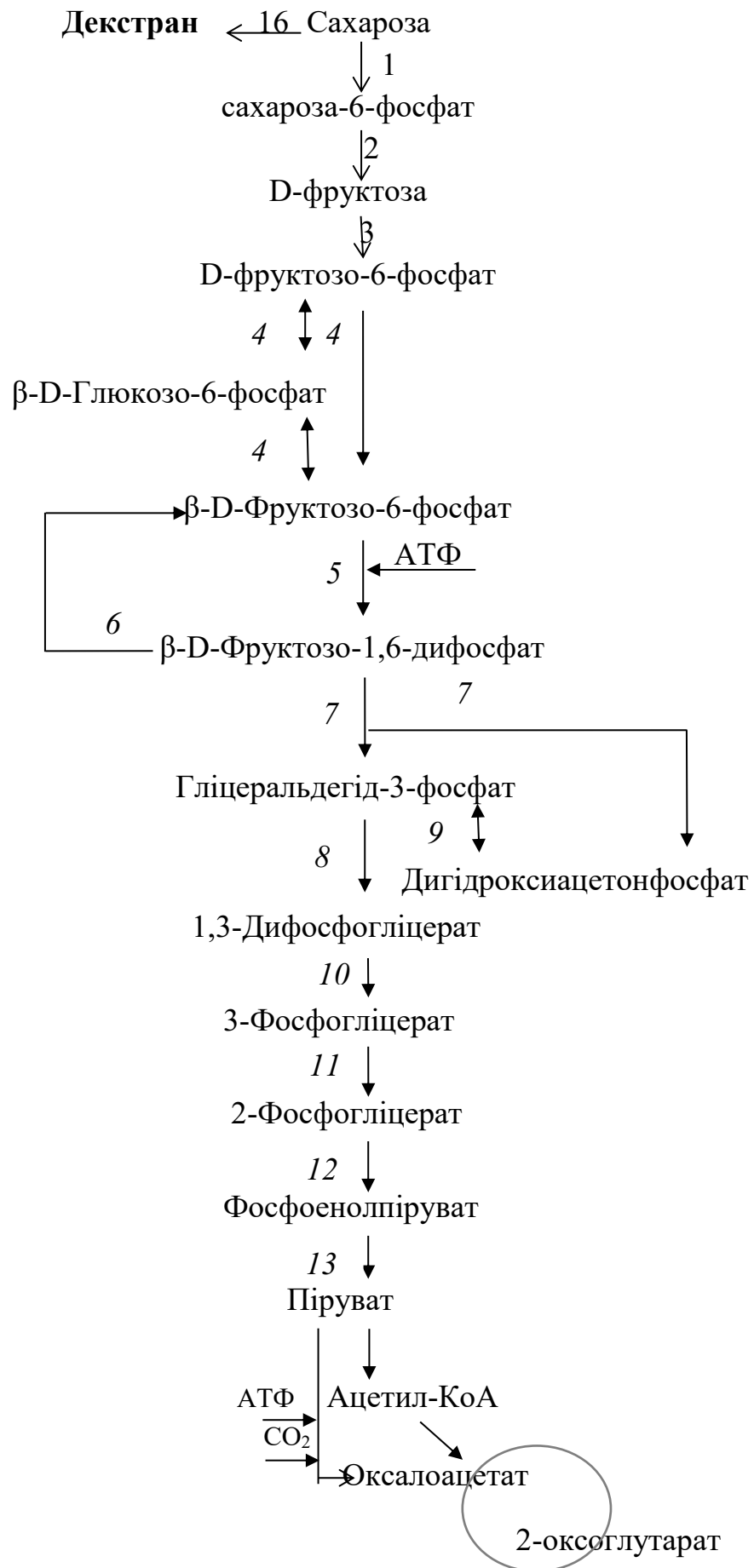


Рис. 4.2.1 Біотрансформація декстрану *L. mesenteroides* PCSIR-4 з сахарози

РОЗДІЛ 5. ОБГРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ

5.1. Обґрунтування доферментаційних процесів та виробничого біосинтезу

5.1.1 Обґрунтування способу культивування і типу ферментера

Спосіб проведення біосинтезу відіграє важливу роль в процесі росту мікроорганізмів. Існують різні способи культивування: глибинне, поверхнєве; періодичне, безперервне.

До промислових способів культивування мікроорганізмів належать періодичне, безперервне культивування та культивування іммобілізованих клітин.

Глибинне культивування мікроорганізмів значно переважає над поверхневим, оскільки дозволяє скоротити виробничі площі, виключити ручну працю, покращити гігієну праці, спростити механізацію та автоматизацію виробництва, робить можливим перехід на безперервний спосіб культивування. При глибинному способі культивування раціональніше використовувати поживні речовини середовищ, що дають можливість значно скоротити відходи виробництва у вигляді нерозчинних осадів твердого поживного середовища, отримувати препарати з меншим вмістом домішок і більшою питомою активністю. Глибинне культивування проводять у ферментері для глибинного культивування мікроорганізмів на рідких поживних середовищах в умовах стерильності, за інтенсивного перемішування, безперервного продування стерильним повітрям та стабільної температури [38, 39].

Отже, культивування *L. mesenteroides* PCSIR-4 проводимо глибинним, періодичним методом. Тому, що цей мікроорганізм росте на рідкому поживному середовищі, потребує постійної аерації та постійного технологічного контролю [12].

					НУХТ БТЕК 04.01.26 КР ПЗ			
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Савченко М.Ю.			РОЗДІЛ 5. ОБГРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ	Лім.	Арк.	Акрушіє
Перевір.		Карлаш Ю.В.					28	138
Реценз.						Кафедра БТМ²⁸		
Н. Контр.								
Затверд.		Пирог Т.П.						

За умовою об'єм ферментера – 10 м³, а коефіцієнт заповнення становить 0,6 = 60%. Обираємо ферментер-реактор фірми «Biotron» (Південна Корея), що випускає промислові ферментери серії «Bio P» об'ємом від 2 до 30 м³. Рамна конструкція з нержавіючої сталі забезпечує простоту в обслуговуванні. Контроль показників рН, DO, температури, швидкості обертання мішалки здійснює вбудований блок управління. Апарати споряджено автоматичною системою мийки і стерилізації CIP/SIP. Промислову систему можна створювати з урахуванням усіх побажань і вимог. Можливе проектування і створення повністю автоматизованої лінії зі включенням обладнання up- і down- stream (сепарування, центрифугування, концентрування, кристалізація) в єдину схему [40].

При періодичному культивуванні найефективнішим є ферментер з механічним перемішуванням барботажного типу (див. Рис. 5.1.1). Адже механічне перемішування забезпечує рівномірний розподіл мікроорганізмів та компонентів поживного середовища в об'ємі апарату, постачає клітини повітрям, що подається в апарат через барботер [39].

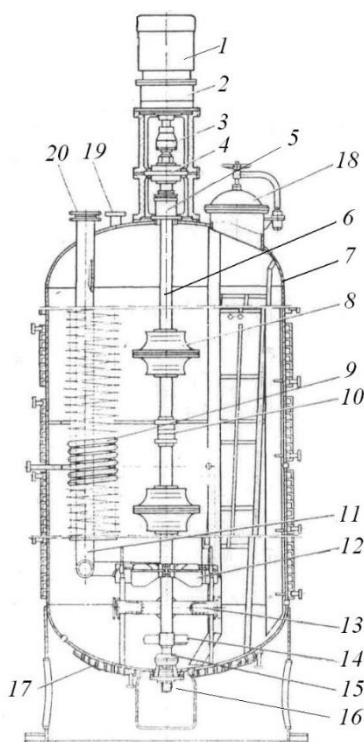


Рис. 5.1.1 Ферментер з механічним перемішуванням барботажного типу [41]

1 – електродвигун; 2 – редуктор; 3 – муфта; 4 – підшипник; 5 – сальник;
 6 – вал; 7 – корпус; 8 – турбінна мішалка; 9 – змійовиковий теплообмінник;
 10 – муфта; 11 – труба для підведення повітря; 12 – лопатева мішалка;
 13 – барботер; 14 – гвинтова мішалка; 15 – опірний підшипник; 16 – штуцер;
 17 – сорочка; 18 – лаз-люк; 19 – патрубок завантаження; 20 – вхід повітря

Для перемішування обираємо турбінну мішалку, оскільки турбінні мішалки забезпечують інтенсивне перемішування у всьому об'ємі апарата. Потужність, що споживається турбінними мішалками, які працюють в апаратах з відбивними перегородками, при турбулентному режимі перемішування практично не залежить від в'язкості середовища. Тому мішалки цього типу можуть застосовуватися для сумішей, в'язкість яких під час перемішування змінюється. Також в середині ферментера має бути встановлена труба з нержавіючої сталі для подачі в неї гострої пари, для стерилізації поживного середовища.

Проведення культивування *L. mesenteroides* передбачає забезпечення інтенсивного перемішування та аерації середовища. Застосування відкритої турбінної мішалки розташованої над барботером забезпечує високий рівень диспергування повітря. Запропонований апарат має високі масообмінні характеристики відносно кисню, в ньому легко можна варіювати режими перемішування та масообміну [39].

Отже, обраний ферментер-реактор фірми «Biotron» має необхідні характеристики для культивування *L. mesenteroides*. Також ця фірма є світовим лідером та виробляє якісне обладнання, що забезпечує високоефективне виробництво.

5.1.2 Вибір мийних та дезінфікуючих засобів

При виборі дезінфікуючого засобу необхідно враховувати не тільки його бактерицидні властивості та спектр дії, але і можливу токсичність для людини. Тривале використання дезінфікуючого засобу призводить до утворенню стійких штамів. Тому доцільно змінювати дезінфікуючий засіб через кожні 14 днів.

Сучасні вимоги до дезінфекційних засобів включають:

- широкий спектр антимікробної дії;
- бактерицидний ефект;
- розчинність у воді;
- відсутність пошкоджуючої оброблених поверхонь;

- низька токсичність та алергенність [42].

Щоб обрати мийний та дезінфікувальний засіб, необхідно врахувати вартість засобу та витрати на оброблювання площі виробничого приміщення. Приблизно на 1 м² витрачається 100 мл робочого розчину мийного чи дезінфікувального засобу [43].

«Хлорантоін» — хлорактивний, багатокomпонентний, поліфункціональний дезінфекційний засіб з миючим ефектом (ТУ У 22902465.004-95). Використовується для обробки поверхонь приміщень [44].

«Неохлор» — це концентрований хлорактивний засіб, багатокomпонентний препарат, для дезінфекції та санітарної обробки, що містить також миючий засіб, ароматизатор, інгібітор корозії і стабілізатор вмісту активного хлору [45].

«Біомой» — багатокomпонентний, поліфункціональний, біоактивний миючий засіб з дезінфікуючим ефектом (ТУ У 22902465.005-96). Використовується для обробки обладнання [43].

«Дезосепт» — комбінований препарат для дезінфекції різних видів технологічного обладнання [46].

Каустична сода — універсальний дезінфектант з потужним бактерицидним ефектом, що оснований на сильних лужних характеристиках. Застосовується для хімічної дезінфекції приміщень у вигляді 2-3 %-го гарячого (70 °С) розчину [47].

Хлорне ванно — застосовують для поточної дезінфекції поверхонь приміщення, прибирального матеріалу, санітарно-технічного устаткування та комунікацій [48].

Узагальнена характеристика витрат мийних та дезінфікувальних засобів для виробництва полісахариду декстрану

Назва	Об'єкт миття чи дезінфекції	Конц. Робочого розчину, %	Загальна площа (об'єм)миття та/або дезінфекції об'єкту за весь період виробництва, м ² (л)	К-сть робочого розчину за весь період виробництва, л	Вартість 1 л, чи кг засобу, грн	Загальна вартість миття за період виробництва протягом року, грн
Хлоратоїн	Стіни , підлога, вікна, двері, інвентар , тара	0,2	3000	300	240	204
Неохлор	Стіни , підлога, вікна, двері, інвентар	0,1	3000	300	60	180
Дезосепт	Обладнання, інвентар, комунікації, тара	0,1	13200	1320	225	220
Біомой	Обладнання, інвентар, комунікації, тара	0,3	13200	1320	119	271
Каустична сода	Обладнання комунікації, інвентар, тара	2,0	13200	6600	30	396
Хлорне вапно	Стіни, підлога, двері, вікна, комунікації	2,0	13200	6600	22	290

Вартість концентратів мийних та дезінфікувальних засобів та їх витрати при виробництві наведено в табл. 5.2.1

Проаналізувавши дані, наведені у табл. 5.2.1, можна зробити висновок, що для миття та дезінфекції приміщення (стін, підлоги, вікон та дверей) доцільно використовувати чотири дезінфекційні засоби – «Хлоратоїн», «Неохлор» та хлорне вапно, а для миття та дезінфекції обладнання, інвентарю, комунікацій, тари, доцільно використовувати «Дезасепт», «Біомой» та каустичну соду, оскільки, вони є мийно-дезінфікувальними

засобами, мають порівняно невисоку вартість, що дає змогу заощадити кошти.

Миття ферментера (2,5 м³), посівного інокулятора (0,25 м³) та інокулятору (30 л), збірників для приготування композицій для двох стадій культивування відбуватиметься циркуляційним способом. Об'єм мийного засобу складатиме приблизно половину кожного з відповідних об'ємів обладнання.

Підлогу необхідно мити та дезінфікувати кожного дня (80 разів), стіни, двері та вікна не рідше одного разу на місяць, тобто 3 рази. Для знезараження повітря виробничих приміщень від мікроорганізмів використовують різні бактерицидні лампи — джерела ультрафіолетового випромінювання. Кількість і потужність бактерицидних ламп необхідно підбирати з таким розрахунком, щоб при прямому опромінюванні на 1 м³ об'єму приміщення припадало не менше $2 \pm 0,5$ Вт потужності випромінювача, а для екранованих бактерицидних ламп — 1 Вт. Бактерицидні випромінювачі вмикають на 1-2 год до початку роботи, коли у приміщенні немає людей. Оскільки ультрафіолетові випромінювачі утворюють у повітрі токсичні продукти (озон, окиси азоту), під час їх роботи необхідно вмикати вентиляцію. Отже, обираємо періодичність включення стельових бактерицидних ламп — 1 год після кожного генерального прибирання [43].

5.1.3 Обґрунтування стадії підготовки обладнання і комунікацій

Виробниче обладнання має бути спроектоване таким чином, щоб його можна було легко і ретельно очищати. Очищення слід проводити відповідно до докладних письмових методик; обладнання слід зберігати тільки в чистому і сухому стані.

Обладнання має бути встановлене таким чином, щоб не допустити ризику контамінації та не має становити ніякої небезпеки для продукції. Не можна, щоб частини виробничого обладнання, що стикаються з продукцією, вступали з нею в реакцію, виділяли або абсорбували речовини в такій мірі, щоб це могло вплинути на якість продукції та створювати, таким чином,

будь-яку небезпеку. Матеріал, з якого виготовлене обладнання не повинно будь-яким чином контактувати з продуктами [49].

Санітарна обробка поверхонь устаткування, тари та інвентаря складається з послідовного проведення таких операцій:

- механічне очищення і миття теплою водопровідною водою з мийними засобами;
- промивання водопровідною водою з метою видалення залишків мийних засобів;
- дезінфекційна обробка робочим розчином ;
- промивання гарячою (60 ± 5 °C) водопровідною водою з метою видалення залишків дезінфекційних засобів.

Миття обладнання проводять наступним чином. Спочатку миють водою, протягом двох хвилин з передачею води у збірник нейтралізації, перед скидом рідини у систему каналізування рідких викидів. Миття продовжують розчином лугу 1%, протягом 10 хвилин при 40°C, з поверненням розчину в збірник нейтралізації. Проводиться ополіскування очищеною або пом'якшеною водою, з передачею води в збірник нейтралізації;

Для очищення обладнання пропоную обрати систему СІР-модулі. Це система безрозбірного миття обладнання, розроблена для стерильного виробництва і являє собою найсучаснішу технологію в цій області. СІР являє собою очищення виробничого устаткування за допомогою приєднаних чистячих форсунок або голівок, що дозволяє обходитися без трудомісткого процесу розбирання обладнання. Дана система для одноразового очищення.

Переваги одноразового чищення:

- Миючі розчини не обтяжені залишками частинок від попередніх процесів чищення і мають постійний очищуючий ефект.
- Кожен етап чищення може бути спеціально параметризованим для різних вимог до чищення (наприклад, концентрація, температура).

Недоліки одноразового чищення:

- Високий рівень споживання води миючих засобів, а також енерговитрат за одноразового використання розчинів/ промивної води.
- . Перевірка на герметичність ємнісного обладнання, з'єднань, та комунікацій проводиться за допомогою найбільш простого і доступного метода – омилування розчином господарського мила. По виділенню бульбашок виявляють нещільності [50].

Найефективнішим методом стерилізації обладнання та комунікацій є обробка насиченою водяною парою при $t = 125-145^{\circ}\text{C}$, за якої досягається необхідний рівень асептики.

Після закінчення кожного циклу біосинтезу в посівному та основному ферментерах і видаленню з них культуральної рідини, ферментери відкривають і миють гарячою водою, очищаючи від залишків біомаси. Барботер продувають повітрям. Після огляду, а при необхідності і ремонту, ферментер знову миють водою, закривають люк і разом з іншою апаратурою стерилізують гострою насиченою парою [49].

Перед стерилізацією апаратуру і комунікації промивають водою температурою 100°C з магістрального трубопроводу.

Стерилізаційну колонку УБС, витримувач УБС, холодильник, комунікації від холодильника до ферментера і лінію транспортування культуральної рідини, стерилізують при надлишковому тиску $0,15 - 0,18$ МПа протягом 2 год, пропускаючи пару до основного ферментера.

Стерилізація	ферментера	триває
--------------	------------	--------

2 – 3 години під надлишковим тиском $0,12 - 0,15$ МПа.

Одночасно стерилізують фільтри тонкого очищення повітря і повітряні комунікації. Їх стерилізують 1 годину під надлишковим тиском $0,12-0,15$ МПа. В кінці стерилізації пропарюють пробовідбірники, продуктивний штуцер для засіву, зливну лінію від ферментера до трапа протягом 30 хвилин. Пара для стерилізації має бути насиченою та сухою. У присутності повітря температура пари нижча за загальний тиск, тому повітря потрібно повністю видалити. Зазвичай це досягається витісненням парою, що має вищу

щільність, ніж повітря. Видалення повітряних пробок дозволяє прогріти всі деталі устаткування та усунути можливе джерело інфекції.

Слід приділяти більшу увагу важкодоступним частинам ферментеру та комунікацій – штуцерам, пробовідбірникам, датчикам; в трубопроводах – запорній арматурі, фланцям, фасонним деталям, і відкритим закінченням труб.

Для забезпечення і підтримки асептичних умов після закінчення стерилізації у ферментер через барботер подають стерильне повітря, підтримуючи надмірний тиск 0,02 – 0,03 МПа (щоб уникнути попадання сторонньої мікрофлори) [49].

5.1.4 Обґрунтування необхідності підготовки стерильного аераційного повітря

За типом дихання *Leuconostoc mesenteroides* є факультативним анаеробом. Він росте як за наявності кисню, так і за його відсутності [12].

Адже навіть незначний вміст сторонньої мікрофлори в повітрі може призвести до інфікування поживного середовища та як результат зменшення виходу продукту.

Підготовка аераційного повітря складається з таких стадій:

Забір атмосферного повітря. Забір повітря потрібно здійснювати ззовні приміщення, із затінених і найменш забруднених місць, на висоті не менше 4 м від поверхні землі. Слід враховувати, що чим нижча температура всмоктуваного повітря, тим менше в ньому міститься вологи і тим вища його щільність [51].

Очищення повітря від пилу на пласких тканинних фільтрах грубого очищення. Фільтри грубого очищення призначені для уловлювання основної маси забруднення, що потрапили в систему після проходження фільтрів попереднього очищення і компресора.

Обираємо фільтр касетного типу продуктивність його становить 550 м³/хв. [52]. В якості фільтруючого матеріалу можна використовувати такі матеріали: скловату, скловолокно, бавовна, нетканий волокнистий шар із

поліпропіленових або поліетиленових волокон тощо. Як фільтруючий матеріал обираємо скловату, а в верхніх шарах укладаємо чесану бавовну. Скловата служить попереднім фільтром і перешкоджає карамелізації бавовни при стерилізації. Такі фільтрувальні матеріали мають високу продуктивність і таким чином здійснюється двоступеневе очищення повітря в одному апараті. Фільтр грубої очистки стерилізуємо гострою парою протягом 2 годин при тиску 0,4 мПа. Після стерилізації проводиться просушування фільтра стерильним нагрітим повітрям [52].

Після проходження повітря через фільтри грубої очистки відбувається його стиснення. Стиснення повітря проходить в компресорі (при цьому повітря нагрівається до температури 120-200 °С) [51].

Після стиснення повітря відбувається його охолодження до температури 25-30 °С, за якої волога повітря конденсується. Для цього використовується водяний теплообмінник типу «труба в трубі». Далі відбувається видалення конденсованої вологи та парів, що потрапили з компресора в ресивер. Після видалення вологи відбувається нагрівання повітря [51].

Очищення повітря на фільтрах тонкого очищення. На підприємствах ферментної промисловості використовується фільтр типу ФТО, всередині якого викладається елемент із гофрованої тканини Петрянова. Така тканина характеризується термостійкістю та механічною міцністю. Ступінь очищення з використанням фільтрів ФТО становить 95 %. Обираємо фільтр ФТО-500, його продуктивність становить 500 м³/год, площа поверхні фільтрації 10 м² та витримує температуру 140 °С [52].

Очищення повітря на фільтрах індивідуального очищення. Для очищення повітря використовується індивідуальний мембранний фільтр Microfluor II. Фільтр виготовляються в вигляді фільтропатронів і капсул.

Фільтр встановлюють перед кожним інокулятором, посівним апаратом та виробничим ферментером і забезпечує очистку повітря від часток діаметром 0,2 мкм. Отримуємо стерильне аераційне повітря зі ступенем очищення – 99%.

Стерилізація фільтра проводиться гострою парою в технологічній обв'язці з ферментатором без вилучення фільтруючих елементів з корпусу фільтра [51].

5.1.5 Обґрунтування способу підготовки та стерилізації поживного середовища

Максимальний синтез декстрану (90,8 г/л за 18 год) досягається за умов росту штаму *Leuconostoc mesenteroides* PCSIR-4 на середовищі такого складу [12] :

Склад ПС	Конц., г/л
Сахароза	300
дріждж. екстракт	5
пептон	5
K ₂ HPO ₄	15
NaCl	0,01
MgSO ₄ ×7H ₂ O	0,01
MnCl ₂ ×H ₂ O	0,01
CaCl ₂	0,05

Склад ПС для виробничого біосинтезу:

сахароза – C₁ = 50; дріжджовий екстракт – C₂ = 5; пептон – C₃ = 5; K₂HPO₄ – C₄ = 15; NaCl – C₅ = 0,01; MgSO₄×7H₂O – C₆ = 0,01; MnCl₂×H₂O – C₇ = 0,01; CaCl₂ – C₈ = 0,05 та підживлюючий розчин сахарози – C₁ = 250 [12].

Згідно з розрахунками, які наведені у розділі 1, виробничий біосинтез декстрану здійснюється у ферментері об'ємом 2,5 м³, який містить 1,6 м³ середовища.

Одержання інокуляту відбувається у 3 етапи: у колбах на качалці, інокуляторі об'ємом 0,03 м³ та посівному апараті об'ємом 0,25 м³, та ферментері об'ємом 2,5 м³.

Середовище для вирощування посівного матеріалу у колбах

Насамперед для вирощування посівного матеріалу в колбах потрібно 1,5 л поживного середовища.

Враховуючи невеликий об'єм середовища потрібного для вирощування інокуляту в колбах, його стерилізація проводиться в автоклаві. Проаналізувавши склад поживного середовища для культивування *L. mesenteroides* PCSIR-4 можна поділити його на такі композиції (залежно від режиму стерилізації певних компонентів):

Таблиця 2.4.1

Композиції	Компоненти	Умови стерилізації
А	Сахароза пептон дріжджовий екстракт	$T = 112^{\circ}\text{C}$, $\tau = 30$ хв.
Б	K_2HPO_4 NaCl $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ $\text{MnCl}_2 \times \text{H}_2\text{O}$ CaCl_2	$T = 131^{\circ}\text{C}$, $\tau = 40$ хв.

Сахароза при високій температурі може карамелізуватися, оскільки це є термолабільний компонент.

Середовище для виробничого біосинтезу в ферментері.

Об'єм середовища, яке необхідно простерилізувати становить $1,6 \text{ м}^3$.

Для запобігання випадінню фосфорних солей в осад, в композицію Б потрібно додати соляну кислоту (С=10%) та після охолодження нейтралізувати гідроксидом натрію (С=10%).

Піногасник

До складу поживного середовища входить сахароза, яка при перемішуванні у ферментері та інокуляторах буде інтенсивно пінитись. Для зменшення рівня піни будемо використовувати піногасник *Пропінол Б-400*. Піногасник буде вноситися автоматично, (доза одного внесення – 0,04% від робочого об'єму ферментера або інокулятора) при спрацьовуванні датчика рівня піни. Стерилізацію проводять при температурі 131°C , тиску $0,15 \text{ МПа}$ протягом 40 хв. [53].

5.2. Обґрунтування стадій виділення і очищення цільового продукту

5.2.1. Обґрунтування вибору технології виділення і очищення декстрану

Після закінчення культивування (18 год) та накопичення цільового продукту необхідно провести такі технологічні процеси, як виділення та очищення ЕПС. Декстран являється позаклітинним продуктом бактерій штаму *Leuconostoc mesenteroides* PCSIR-4, тому немає необхідності проводити дезінтеграцію клітин [12].

Проаналізувавши особливості технологічного процесу, матимемо такі стадії:

1. Розбавлення водою культуральної рідини;
2. Сепарування;
3. Розбавлення водою;
4. Деструкція ЕПС;
5. Нейтралізація кислоти;
6. Ультрафільтрація розчину (до 10 000 Да) [30].

5.2.2. Обґрунтування необхідності попередньої обробки культуральної рідини

Культуральна рідина представляє собою високов'язку рідину.

Таблиця 5.2.2.1.

L. mesenteroides PCSIR-4		
Час культивування	Кількість декстрану, (г/л)	В'язкість, (сСт)
8	36,80	23,15
18	90,40	20,64
20	34,00	18,72
25	39,60	25,08

Таблиця 5.2.2.1 Залежність в'язкості продукту від часу та його виходу[8]

Максимальна кількість полісахариду накопичується після 18 годин культивування, далі кількість продукту поступово зменшується, а в'язкість збільшується, що свідчить про високу молекулярну масу речовини. В'язкість декстрану, яка утворюється за 18 годин є оптимальною для того, щоб його можна було виділити та очистити. [12].

Для подальшого процесу виділення ЕПС, культуральну рідину необхідно розбавляти водою, для зменшення в'язкості [30].

5.2.3. Обґрунтування вибору способу відділення біомаси

Першою стадією у процесі виділення декстрану є процес відділення біомаси (*L. mesenteroides PCSIR-4*) від культуральної рідини та отримання супернатанту, що містить готовий продукт ЕПС.

В літературних даних представлено декілька способів отримання супернатанту: фільтрування, сепарування, центрифугування. Але за представленими недоліками ми не можемо використовувати деякі способи відділення бактеріальних клітин [39].

Отже, ми маємо такі **недоліки** в процесах фільтрування та центрифугування:

1. Культуральна рідина є достатньо в'язкою, навіть при розбавленні водою, що ускладнює процес фільтрування.
2. Процес фільтрування не може забезпечити повне очищення культуральної рідини від бактеріальної мікрофлори.
3. Процес фільтрування є економічно затратним процесом за рахунок можливого забивання фільтрів .
4. Центрифугування має складність герметизації та асептики, що є важливим аспектом при виробництві парентеральних лікарських засобів.

Отже, найдоцільнішим способом відділення клітин продуценту та мікрочасточок у процесі виробництва декстрану є – **процес сепарування**.

Сепарування - це спосіб розділення систем на фракції, що мають різну густину. Застосування сепарування дозволяє розділяти суспензію, що погано фільтрується, інтенсифікувати виділення та концентрування мікроорганізмів та твердих частинок розміром більше 0,5 мкм [54].

5.2.4. Обґрунтування способу розділення декстрану на фракції

Наступною стадією є фракціонування декстрану, що включає такі етапи:

1. Розбавлення водою

2. Деструкція полісахариду.

3. Нейтралізація кислоти.

На виробництві плазмозамінників крові використовують низькомолекулярний декстран з молекулярною масою 30000-70000 Да. Для цього нативний декстран піддають деструкції. [30].

5.2.5. Розчинення полісахариду

Для подальшої обробки декстран необхідно розчинити. Для цього використовуюємо воду для ін'єкцій [30].

5.2.6. Обґрунтування деструкції полісахариду

Водні розчини нативного декстрану є високов'язкі рідини, значення в'язкості становить 5,5 кг/м³. Нативний декстран непридатний для використання в якості кровозамінника, тому що він створює недостатній осмотичний тиск, занадто в'язкий, володіє токсичністю та змінює імунореактивні властивості організму. Тому використання нативного декстрану без попередньої деструкції в фармакологічних препаратах, зокрема в плазмозамінниками крові, не представляється можливим.

Відомі такі способи деструкції ЕПС:

- Кислотний гідроліз;
- Лужний гідроліз з γ -опроміненням;
- Обробка електронами високих енергій;
- Термічна обробка.

Низькомолекулярний декстран, що використовується на виробництві плазмозамінників крові, повинен відповідати ряду вимог:

- молекулярна маса 30 000-70 000 Да;
- вузький молекулярно-масовий розподіл, щоб виключити вміст небажаних низькомолекулярних і високомолекулярних фракцій;
- в'язкість розчину не повинна перевищувати значення 5,5 кг/м³.

Недоліки лужного гідроліз з γ -опроміненням та обробки електронами високих енергій:

1. Нерівномірність процесу;

2. Низькомолекулярний декстран має дуже широкий молекулярно-масовий розподіл;
3. Полідисперсність перевищує 10;
4. При цьому втрачається 30-40 % продукту;
5. Відсутні відомості про модифікацію низькомолекулярного декстрану;
6. Продукт набуває інтенсивного жовто-коричневого забарвлення, яке знижують за допомогою додаткових процесів очищення [55].

Отже, найоптимальнішим рішенням буде використання соляної кислоти у якості деструктора (кислотний гідроліз).

Метод кислотного гідролізу має такі переваги:

- Полідисперсність складає 2,3, що є необхідною нормою;
- Втрати продукту складають менше 30 % [30].

5.2.7. Нейтралізація кислоти

Після деструкції ЕПС соляною кислотою, необхідно провести процес нейтралізації кислоти за допомогою гідроксиду натрію до отримання нейтрального значення рН (6,0-6,5), для того щоб не відбувалася подальша деструкція полісахариду[30].

5.2.8. Обґрунтування способу очищення полісахариду

Після отримання розчину з фракціями декстрану різної молекулярної маси, необхідно провести процес їх розділення. В літературних даних представлені такі методи розділення декстрану на фракції: ультрафільтрація, використання активованого вугілля або катіонообмінних та аніонообмінних смол, застосування колонки Сефадекс С-15 [30,55].

Використання активованого вугілля має ряд недоліків:

- втрати цільового продукту через незворотну сорбцію декстранів на вугіллі;
- не повне очищення від органічних домішок, що є причиною реактогенності кровозамінників;

- випадання пластівчастого осаду в процесі зберігання препаратів за наявності мікрочастинок вугілля в готових лікарських формах;
- багатостадійний процес та вимагає складного апаратурного оформлення [55];

Розділення за допомогою колонки Сефадекс С-15, а також колонок з катіонообмінними та аніонообмінними смолами також неможливе. Тому що, дані установки використовуються лише в лабораторних умовах.

Отже, в технологічному процесі виробництва декстрану доцільним буде використання методу ультрафільтрації.

Ультрафільтрація – це продавлювання рідини через напівпроникну мембрану — проникну для малих молекул і іонів, але непроникну для макромолекул і колоїдних часток. Промислове застосування технології ультрафільтрації - фракціонування макромолекул: великі молекули затримуються мембраною, в той час як невеликі молекули разом з молекулами розчинника вільно проходять через мембрану.

Перевагами даного методу є:

- Можливість проведення багатотоннажного процесу;
- Повна очистка і фракціонування готового продукту;
- Мінімальні фінансові затрати;
- Нескладне технологічне обладнання;
- Мінімальні затрати часу [30].

5.2.9. Обґрунтування стерилізаційної фільтрації

Розчин Реополіглюкіну стерильно фільтрують під тиском стиснутого повітря від 0,14 до 0,16 МПа на попередньо прострелізованій і перевіреній на герметичність установці «Millipore». Для стерильної фільтрації використовують мембранні фільтри з розміром пор 0,22 мкм [56].

Фільтри, упаковані відповідними фільтроелементами, стерилізують гострою парою при тиску від 0,11 до 0,12 МПа (від 1,1 до 1,2 кгс/см²) протягом 30 хв.

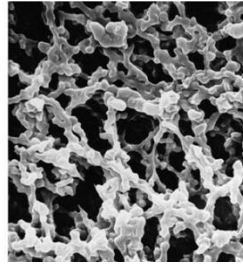


Рис. 5.2.9.1. Мембранний фільтр «Millipore»[56]

5.2.10. Обґрунтування розливу розчину Реополіглюкіну

Розчин Реополіглюкіну буде розливатись в установці MULTIFILL F97. Дана установка призначена для розливу та закупорювання інфузійних препаратів в асептичних умовах у флакони об'ємом 400 мл, для закупорювання гумовою пробкою та запаюванням алюмінієвим ковпачком.

5.2.11. Обґрунтування стерилізації препарату «Реополіглюкін»

Після розливу та закупорювання препарату буде проводитися його стерилізація в автоклаві протягом 30 хв при 120 °С.

5.3. Обґрунтування допоміжних робіт для стадії виділення та очищення цільового продукту

5.3.1. Приготування води для ін'єкцій

Згідно з нормативними вимогами ФС 42-2620—89 вода для ін'єкцій (Aqua pro injectionibus) повинна відповідати всім вимогам, що пред'являються до води очищеної, а також повинна бути стерильною і апірогенною. Вода для ін'єкцій повинна бути вільною від механічних видимих включень, які визначають у відповідність з РД 42У-001—93 [6].

Термін використання води для ін'єкцій регламентується 24 годинами з моменту отримання, за умови її зберігання в асептичних умовах.

У промислових виробництвах отримання води для ін'єкцій і води очищеної здійснюють методом дистиляції за допомогою високопродуктивних корпусних апаратів, термокомпресійних дистиляторів різних конструкцій або установок зворотнього осмосу.

Забір води здійснюється з міського трубопроводу. Спочатку проходить грубу фільтрацію, при якій з води видаляються частинки розміром більше

SO- 100 мкм. Як устаткування для грубої фільтрації використовуються фільтри з піщаним набиванням. Потім відбувається пом'якшення води, що дозволяє понизити жорсткість води за рахунок видалення іонів кальцію і магнію. Проходить через фільтр з активованим вугіллям.

Вода після попередньої очистки подається на колони зворотного осмосу, в яких відбувається очищення води від розчинених в ній солей із селективністю не менше ніж 99,00 %. Обладнання являє собою системи мембран . Мембрани мають розміри пор 0,0005–0,001 мкм.

Далі вода надходить на модуль електродеіонізації, який додатково видаляє розчинені солі. Устаткування для деіонізації являє собою колонки з іонообмінної смолою. Розрізняються деіонізатори роздільної дії (катионо-аніонообмінники) і змішаної дії.

Воду для ін'єкцій одержують з води очищеної шляхом чотирьохступеневої дистиляції на установці «Christ Water Technology Group» Kombitron [57].

5.3.2. Приготування розчину кислоти та лугу

Для проведення гідролізу необхідно підготувати розчин соляної кислоти концентрацією 35%. Даний реактив випускається потрібної концентрації, тому немає необхідності в попередній підготовці розчину. Розчин готуємо в розрахунку 30 мл розчину кислоти на 1 л розчину декстрану [62].

Розчин лугу для нейтралізації кислоти та доведення значення рН до 6,0 має бути концентрацією 10%.

5.3.3. Приготування розчину натрію хлориду

До складу препарату «Реополіглюкін» входить 0,9% натрію хлориду. Даний компонент являється розчинником лікарської речовини, а також натрію хлорид підтримує і регулює осмотичні процеси і вміст рідини в організмі.

Для його приготування використовуємо воду для ін'єкцій в розрахунку 9 г натрію хлориду на 1 л води.

5.3.4. Обґрунтування вибору форми та упаковки препарату «Реополіглюкін» та їх стерилізація

Препарат «Реополіглюкін» за фармакологічною групою є кровозамінником. Вводиться внутрішньовенно краплинно [9].

Отже, найдоцільнішою формою препарату буде розчин для інфузій.

Первинна упаковка

Для розливу будуть використовуватись флакони скляні для інфузійних препаратів з гладкою горловиною місткістю 400 мл. Флакони будуть закупорюватися пробкою зі спеціальних сортів гуми або еластомерів з герметизацією ковпачком з алюмінієвої фольги.

Закупорювання

Для закупорювання флаконів з ін'єкційними розчинами використовують пробки спеціальних сортів гуми: ІР-21 (силіконова), 25П (натуральний каучук), 52-369, 52-369/1, 52-369/ІТ (бутиловий каучук), ІР-119, ІР-119А (бутиловий каучук). У закордонній літературі є повідомлення про закупорювання ін'єкційних розчинів пробками з полівінілхлориду.

Підготовка пробок

Гумові пробки подаються в камеру миття, в якій використовується кальцинована сода як миючий засіб. Миття пробок ведеться при температурі очищеної води від 44 °С до 46 °С протягом 20 хв в автоматичному режимі. Потім пробки ополіскують очищеною водою.

Сушіння здійснюється в апараті стерилізації стерильним стиснутим повітрям і вакуумом. Після сушіння пробки та ковпачки вивантажують у ємкість для стерильних пробок.

Ємкості з партією стерильних пробок маркують етикетками встановленого зразка із значенням назви матеріалу, номеру партії, кількості, дати та часу стерилізації, прізвища і підпису відповідального.

Термін зберігання стерильних пробок – не більше 24 год в умовах, що виключають можливість порушення стерильності.

Підготовка алюмінієвих ковпачків

Миття і ополіскування ковпачків здійснюють на установці для миття алюмінієвих ковпачків, при використанні очищеної води та миючого розчину кальцинованої соди. Температура миття має бути від 35 до 60°C протягом 30 хв. Потім проходить ополіскування водою та злив води до каналізації. Ковпачки вивантажують у нержавсталеві деки шаром 30-40 мм, деки закривають кришками.

Стерилізація ковпачків проводяться в апараті для повітряної термообробки при температурі від 178 до 182°C протягом 60 хв. Термін зберігання стерильних алюмінієвих ковпачків – не більше 24 год.

Ємкості із стерильними алюмінієвими ковпачками маркують етикетками встановленого зразка із значенням назви матеріалу, номеру партії, кількості, дати та часу стерилізації, прізвища і підпису відповідального [54].

Підготовка скляних пляшок

Миття пляшок відбувається в автоматичній конвеєрній мийній установці фірми «ВИПС MED». Флакони миють очищеною водою за допомогою ультразвуку. Потім пляшки оброблюються ультразвуком та ополіскуються ін'єкційною водою. Наступний етап, це сушіння та стерилізація. У флакони подається стиснуте повітря, за допомогою якого видаляється залишкова волога і флакони переорієнтовуються «горлом вгору». Флакони з мийної машини надходять до тунельного стерилізатора фірми «ВИПС MED» [58,59].

Гумова пробка фіксується за допомогою алюмінієвих ковпачків.

Отже, як матеріал для пробок обираємо гуму 25П.

Маркування

Отримані пляшки з лікарським засобом для парентерального застосування маркують фарбою глибокого друку, тонкодисперсним струменем (каплеструйна технологія), наклеюванням самоклеючих етикеток, рельєфним тисненням на полімерні контейнери.

Вторинна упаковка стерильних ЛЗ.

Флакони ЛЗ для ін'єкцій з нанесеною маркуванням запаковують в картонні коробки, контурну тару або пачки з подальшою укладанням їх в транспортну тару відповідно до нормативних документів. Залежно від кількості і місткості споживчої тари коробки повинні мати перегородки, осередки або гнізда [59].

5.3.5. Обґрунтування вибору приміщення для проведення післяферментаційних робіт

Препарат «Реополіглюкін» для фармацевтичного застосування належить до класу стерильних лікарських препаратів.

Виробництво стерильних лікарських засобів здійснюється за методиками, чітко викладеними у технологічних регламентах і виробничих інструкціях, з урахуванням принципів і правил належної виробничої практики, як необхідна умова для отримання готової продукції потрібної якості відповідно до реєстраційної та ліцензійної документації.

Відповідно до вимог GMP, приготування розчинів, що під час технологічного процесу підлягають стерилізаційній фільтрації, проводять в навколишньому середовищі з класом чистоти С. У даному класі приміщення проводять контроль повітря залежно від стану приміщення:

- оснащений стан – контроль вмісту часток в 1 м³ повітря;
- функціонуючий стан – контроль кількості життєздатних мікроорганізмів у повітрі.

Готовий лікарський препарат піддається ретельному контролю – бактеріологічному, біологічному й фармакологічному.

Методи оцінки якості парентеральних лікарських засобів за перерахованими параметрами подані в Державній Фармакопеї України(ДФУ) [6, 60].

Підготовка вентиляційного повітря

Комфортна температура в чистих приміщеннях підтримується за рахунок кондиціонування повітря на рівні від 19 до 23 °С зимою та від 21 до 25 °С літом, відносна вологість повітря – від 30% до 60%.Забір атмосферного

повітря здійснюється на висоті 10 м.

Підготовка вентиляційного повітря для виробничих приміщень повинна проводитися у відповідності до РДИ 64-29-84.

Контроль мікробної обнасіненості повітря виробничих приміщень проводять за допомогою «Прибору для бактеріологічного аналізу повітря» системи Кротова не рідше 1 разу в тиждень.

Забір атмосферного повітря

При визначенні місця забору зовнішнього повітря необхідно враховувати існуючі та можливі джерела аерозольних і газоподібних забруднень (димарі, автотранспорт, газоподібні промислові викиди, квітучі рослини та ін). Забір повітря проводиться за допомогою повітрязабірника.

Грубе очищення повітря

На стадії попереднього очищення повітря видаляється основна маса великих частинок пилу діаметром понад 10 мкм. В якості фільтрів попереднього очищення використовують – фільтри грубої очистки G 3, злегка змащене пружне скловолокно спеціального плетіння. В середині фільтра розташовані дві решітки, між якими поміщають фільтруючий матеріал. Ступінь очищення становить $E = 80\%$.

Стабілізація термодинамічних показників

Повітря за допомогою вентилятора подається до кожухотрубного теплообмінника, охолоджується за допомогою хладоагенту фреону або підігрівається до 17–18 °С в залежності від пори року, коли проводиться забір повітря.

Попередня фільтрація на фільтрах тонкої очистки

Попередня фільтрація відбувається на фільтрі F 9, який призначений для попередньої очистки повітря від великодисперсних часток розміром більше 5 мкм (великий пил, продукти корозії), а також для захисту більш ефективного фільтру тонкої очистки. Ступінь очищення повітря 98%.

Зволоження повітря

Для підтримання параметрів вологості у виробничих приміщеннях у

випадках, коли спостерігається зниження вологості повітря додатково встановлено парозволожувач, який за рахунок інжекції пари в припливне повітря збільшує поточне значення вологості у виробничих приміщеннях.

Очищення повітря на фільтрах тонкої очистки

Очищення повітря від пилу та мікроорганізмів здійснюється на фільтрах тонкої очистки HEPA не нижче. Після нього повітря направляється до приміщень.

Повітря для С та D класу чистоти пропускають крізь фільтри H-12, ступінь його очищення становить 95%.

Таблиця 5.3.5.1

Класифікація чистих зон за максимально допустимим числом часточок в повітрі [56]

Классы чистоты	Максимально допустимое число частиц в 1 м ³ воздуха			
	Оснащенное состояние		Эксплуатируемое состояние	
	0,5 мкм	5,0 мкм	0,5 мкм	5,0 мкм
A	3520	20	3520	20
B	3520	29	352000	2 900
C	352 000	2900	3 520 000	29 000
D	3 520 000	29000	Не нормируется	

Санітарна підготовка

Санітарна підготовка приміщення

Для даних приміщень також важливу роль відіграє санітарна підготовка приміщення. Так, санітарну підготовку обладнання слід проводити за використання SIP-мийки. Для SIP-мийки передбачаємо використання 2% розчину каустичної соди. Для щоденного та генерального прибирання приміщення доцільно використовувати 0,2% Хлорантоін.

Таким чином, дотримання санітарних норм на виробництві дозволяє мінімізувати ризики контамінації продукту [60].

Підготовка одягу для працюючих у чистих приміщеннях

Комплектність технологічного одягу для персоналу, що працює у чистих приміщеннях наведена в табл. 1.

Таблиця 5.3.5.2.

Комплектність одягу для працюючих у чистих приміщеннях

Клас приміщення	Комплектність одягу	Періодичність заміни
С	Костюм (блузон або куртка, брюки) або халат, шапочка, шкарпетки, рукавички, капці, перехідний одяг, білизна (майка і шорти)	Через 2-3 дні
D	Костюм (блузон або куртка, брюки) або халат, шапочка, маска, шкарпетки, рукавички, капці, перехідний одяг	1 раз на 5 днів
Приміщення з ненормованим класом чистоти	Костюм (блузон або куртка, брюки) або халат, шапочка, шкарпетки, капці	1 раз на 5 днів
Перехідний одяг	Халат, шапочка, капці	1 раз на 5 днів

Контроль мікробної контамінації поверхонь одягу проводить мікробіолог цеху: для працюючих у приміщеннях класів чистоти В (з локальними зонами класу А) та С – вибірково два рази на тиждень під час виробничого процесу і один раз на два тижні безпосередньо після стерилізації; для одягу працюючих у приміщеннях класу чистоти D – один раз на тиждень під час виробничого процесу та один раз на місяць після стерилізації. Мікробіолог відділу контролю якості (ВКЯ) проводить вибірковий контроль. Результати аналізів фіксують в журналі (маршрутному листі).

Після стерилізації у змивах з поверхонь одягу не допускається наявність життєздатних мікроорганізмів.

У виробних приміщеннях класу чистоти В (з локальними зонами класу А) у процесі роботи в змивах одягу одного працюючого допускається наявність не більше двох колоній неспороутворюючих мікроорганізмів на двох паралельних чашках Петрі.

У виробних приміщеннях класу чистоти С у процесі роботи в змивах одягу одного працюючого допускається наявність не більше п'яти колоній

неспороутворюючих мікроорганізмів на двох паралельних чашках Петрі.

У виробних приміщеннях класу чистоти D у процесі роботи в змивах одягу одного працюючого допускається наявність не більше десяти колоній неспороутворюючих мікроорганізмів на двох паралельних чашках Петрі.

Санітарна підготовка персоналу

Контроль мікробної контамінації рук персоналу здійснює мікробіолог цеху за допомогою змивів тампонами і реєструє дані у робочому журналі.

Визначення мікробної контамінації рук персоналу проводиться: для персоналу, що працює у виробничих приміщеннях класу чистоти C – два рази на тиждень під час виробничого процесу і один раз на два тижні після обробки рук дезінфікуючим розчином вибірково у декількох співробітників; для персоналу, що працює у виробничих приміщеннях класу чистоти D – один раз на тиждень під час виробничого процесу та один раз на місяць після обробки дезінфікуючими засобами. Результати аналізів фіксують в журналі (маршрутному листі).

У виробних приміщеннях класу чистоти C після обробки дезрозчинами у змивах з рук (рукавичок) не допускається наявність мікроорганізмів. У процесі роботи у змивах з рук (рукавичок) одного працюючого допускається наявність не більше п'яти колоній неспороутворюючих мікроорганізмів на двох паралельних чашках Петрі.

У виробних приміщеннях класу чистоти D після обробки дезрозчинами у змивах з рук не допускається наявність мікроорганізмів. У процесі роботи у змивах з рук працюючого допускається наявність не більше десяти колоній неспороутворюючих мікроорганізмів на двох паралельних чашках Петрі [61].

РОЗДІЛ 6. МАТЕРІАЛЬНИЙ БАЛАНС І РОЗРАХУНОК ОБЛАДНАННЯ

Згідно з ТЕО потреба в декстрані складає $G_{нд} = 7\ 125$ кг/рік. За умовами замовника цю кількість потрібно виробити за $T_{рд} = 80$ днів. За даними максимальний синтез полісахариду (90,8 г/л за 18 год) досягається за умов росту штаму *L. mesenteroides* PCSIR-4 на середовищі такого складу (г/л): сахароза – $C_1 = 300$; дріжджовий екстракт – $C_2 = 5$; пептон – $C_3 = 5$; K_2HPO_4 – $C_4 = 15$; $NaCl$ – $C_5 = 0,01$; $MgSO_4 \times 7H_2O$ – $C_6 = 0,01$; $MnCl_2 \times H_2O$ – $C_7 = 0,01$; $CaCl_2$ – $C_8 = 0,05$. Всього – $C_{\Sigma\phi} = 325,08$ г/л. Склад поживного середовища для виробничого біосинтезу: сахароза – $C_1 = 50$; дріжджовий екстракт – $C_2 = 5$; пептон – $C_3 = 5$; K_2HPO_4 – $C_4 = 15$; $NaCl$ – $C_5 = 0,01$; $MgSO_4 \times 7H_2O$ – $C_6 = 0,01$; $MnCl_2 \times H_2O$ – $C_7 = 0,01$; $CaCl_2$ – $C_8 = 0,05$ та підживлюючий розчин сахарози – $C_1 = 250$.

Відповідно до нормативно-технічної документації вміст сухих речовин в готовому продукті $CP_{гп}$ має складати не менше 95%. Для подальших розрахунків приймаємо наступні початкові дані: час циклу роботи ферментера $T_{цф} = T_{\phi} + T_{по} = 18 + 9 = 27$ год, де T_{ϕ} – час культивування; $T_{по}$ – час підготовчих операцій; коефіцієнт запасу (втрати культуральної рідини або посівного матеріалу від нестерильних операцій 1,1-1,5) $K_1 = 1,1$; коефіцієнт заповнення ферментера, частка, (0,5-0,65); приймаємо $K_{\phi} = 0,6$; коефіцієнт заповнення посівного апарата, частка $K_{па} = 0,6$; коефіцієнт заповнення інокуляторів, частка $K_{ін} = 0,6$; коефіцієнт заповнення колб, частка $K_{кол} = 0,2$; коефіцієнт заповнення збірника, частка (0,7-0,8) $K_{зб} = 0,8$.

Сумарні втрати при виділенні готового продукту (сума всіх втрат на стадіях виділення готового продукту), частка $E_{св} = 0,20$; кількість посівного матеріалу для виробничих ферментерів, частка (0,05-0,1) $X_{\phi} = 0,1$; кількість посівного матеріалу для посівних апаратів, частка (0,02-0,1) $X_{па} = 0,1$;

НУХТ БТЕК 04.01.26 КР ПЗ				
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата
Розроб.		Савченко М.Ю.		
Перевір.		Карлаш Ю.В.		
Реценз.				
Н. Контр.				
Затверд.		Пирог Т.П.		
РОЗДІЛ 6. МАТЕРІАЛЬНИЙ БАЛАНС І РОЗРАХУНОК ОБЛАДНАННЯ				
		Літ.	Арк.	Акрушів
			54	138
Кафедра БТМ^{Б4}				

кількість посівного матеріалу для інокуляторів, частка (0,02-0,1) $X_{ін} = 0,1$; кількість посівного матеріалу для качалочних колб, частка (0,02-0,1) $X_{кол} = 0,1$; втрати культуральної рідини при біосинтезі, частка (0,1-0,2) $E_{ф} = 0,1$; втрати посівного матеріалу у процесі його культивування в посівних апаратах, частка (0,1-0,2) $E_{па} = 0,1$; втрати посівного матеріалу у процесі його культивування в інокуляторах, частка (0,05-0,1) $E_{ін} = 0,05$; втрати посівного матеріалу у процесі його культивування в колбах, частка (0,01-0,02) $E_{кол} = 0,01$.

6.1. Розрахунок партій продукту (виробничих циклів)

6.1.1. Кількість продукту на добу:

$$G_{нд} = G_{нд} / T_{рд} = 7\ 125 / 80 = 89 \text{ кг/добу.}$$

6.1.2. Кількість готового продукту за цикл:

$$G_{цк} = G_{нд} \cdot T_{цф} / 24 = 89 \cdot 27 / 24 = 100 \text{ кг/цикл.}$$

6.1.3. Об'єм КР, що зливається за одну ферментацію (цикл):

$$V_{кр} = K_1 \cdot G_{цк} \cdot CP_{гп} / P_k = 1,1 \cdot 100 \cdot 0,95 / 90,8 = 1,15 \text{ м}^3 \cdot (1 - E_{св}) = 1,15 \text{ м}^3 \cdot (1 - 0,2) = 1,44 \text{ м}^3$$

6.1.4. Кількість ферментацій (циклів) на рік:

$$N_{цк} = G_{нд} / G_{цк} = 7\ 125 / 100 = 71$$

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

6.2.1. Приготування та стерилізація поживного середовища для виробничого біосинтезу

Об'єм готового поживного середовища та посівного матеріалу у виробничому ферментері з врахуванням втрат при біосинтезі $E_{ф} = 0,1$ становить:

$$V_{ф} = V_{кр} / (1 - E_{ф}) = 1,44 / (1 - 0,1) = 1,6 \text{ м}^3.$$

Об'єм готового поживного середовища для виробничого ферментера:

$$V_{пс} = V_{ф} / (1 + X_{ф}) = 1,6 / (1 + 0,1) = 1,45 \text{ м}^3.$$

Витрати посівного матеріалу на засів виробничого ферментера:

$$V_{пмф} = V_{ф} - V_{псф} = 1,6 - 1,45 = 0,15 \text{ м}^3.$$

При вибраному коефіцієнті заповнення ферментера $K_{зф} = 0,6$ приблизний геометричний об'єм ферментера складе $V_{гф} = V_{ф}/K_{зф} = 1,6 / 0,6 = 2,7 \text{ м}^3$, обираємо найближчий за об'ємом стандартний ферментер $V_{сф} = 2,5 \text{ м}^3$ (див. додаток 4), уточнюємо прийнятий раніше коефіцієнт заповнення

$$K_3 = V_{роб.} / V_{сф} = 1600 / 2500 = 0,64.$$

Отриманий коефіцієнт заповнення входить у задані межі 0,5 – 0,7.

6.2.2. Визначення кількості стадій вирощування посівного матеріалу

Оскільки кількість ПМ становить $X_{ф} = X_1 = X_{колб} = 0,1\%$ від кількості ПС визначаємо кількість ПМ для інших стадій. Приблизна кількість ПМ для інших стадій становитиме:

ПМ для ферментера з посівного апарата:

$$V_{пмф} = 0,15 \text{ м}^3 = 150 \text{ л}$$

ПМ для посівного апарата з інокулятора:

$$V_{пма} = V_{пмф} \cdot X_{па} = 0,150 \cdot 0,1 = 15 \text{ л}$$

ПМ для малого інокулятора з качалочних колб:

$$V_{пмі2} = V_{пмі1} \cdot X_{ін2} = 15 \cdot 0,1 = 1,5 \text{ л}$$

Отже маємо 3 ступеневу стадію отримання ПМ.

6.2.3. Приготування та стерилізація поживного середовища для виробничого біосинтезу в ферментері

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

$$G_{заг} = V_{пс} \cdot C_{\Sigma} = 1,45 \cdot 325 = 471 \text{ кг, в тому числі покомпонентно, кг:}$$

$$\text{Сахароза} \quad G_1 = G_{заг} \cdot C_1 / C_{\Sigma} = 471 \cdot 50 / 325 = 72,5$$

$$\text{дріждж. екстракт} \quad G_2 = G_{заг} \cdot C_2 / C_{\Sigma} = 471 \cdot 5 / 325 = 7,2$$

$$\text{пептон} \quad G_3 = G_{заг} \cdot C_3 / C_{\Sigma} = 471 \cdot 5 / 325 = 7,2$$

$$\text{K}_2\text{HPO}_4 \quad G_4 = G_{заг} \cdot C_4 / C_{\Sigma} = 471 \cdot 15 / 325 = 21,7$$

$$\text{NaCl} \quad G_5 = G_{заг} \cdot C_5 / C_{\Sigma} = 471 \cdot 0,01 / 325 = 0,015$$

$$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} \quad G_6 = G_{заг} \cdot C_6 / C_{\Sigma} = 471 \cdot 0,01 / 325 = 0,015$$

$$\text{MnCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O} \quad G_7 = G_{заг} \cdot C_7 / C_{\Sigma} = 471 \cdot 0,01 / 325 = 0,015$$

$$\text{CaCl}_2 \quad G_8 = G_{\text{заг}} \cdot C_8/C_{\Sigma} = 471 \cdot 0,05/325 = 0,07$$

Підживлюючий р-н сахарози

$$G_{\text{підж.}} = G_{\text{заг}} \cdot C_1/C_{\Sigma} = 471 \cdot 250/325 = 362,3$$

Оскільки об'єм поживного середовища у ферментері складає $V_{\text{пс}} = 1,45$ м³, стерилізація компонентів в композиціях буде проводитись в окремих реакторах гострою парою, приймаємо $K_{\text{кон}} = 0,1$, тоді загальна кількість конденсату становитиме: $V_{\text{к}} = V_{\text{псі1}} \cdot K_{\text{кон}} = 1,45 \cdot 0,1 = 0,145$ м³ = 145 л

Загальна кількість води необхідної для розбавлення компонентів поживного середовища буде: $V_{\text{в}} = V_{\text{пс}} - V_{\text{к}} - G_{\text{заг}} = 1450 - 150 - 471 = 829$ л.

Для спрощення розрахунків прийемо, що густина компонентів приблизно дорівнює густині води, тобто 1л = 1 кг.

Розраховуємо кількість води для розчинення покомпонентно, л:

$$\text{Сахароза} \quad G_2 = V_{\text{в}} \cdot C_1/C_{\Sigma} = 829 \cdot 50/325 = 127,5$$

$$\text{дріждж. екстракт} \quad G_2 = V_{\text{в}} \cdot C_2/C_{\Sigma} = 829 \cdot 5/325 = 12,8$$

$$\text{пептон} \quad G_3 = V_{\text{в}} \cdot C_3/C_{\Sigma} = 829 \cdot 5/325 = 12,8$$

$$\text{K}_2\text{HPO}_4 \quad G_4 = V_{\text{в}} \cdot C_4/C_{\Sigma} = 829 \cdot 15/325 = 38,3$$

$$\text{NaCl} \quad G_5 = V_{\text{в}} \cdot C_5/C_{\Sigma} = 829 \cdot 0,01/325 = 0,03$$

$$\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O} \quad G_6 = V_{\text{в}} \cdot C_6/C_{\Sigma} = 829 \cdot 0,01/325 = 0,03$$

$$\text{MnCl}_2 \times \text{H}_2\text{O} \quad G_7 = V_{\text{в}} \cdot C_7/C_{\Sigma} = 829 \cdot 0,01/325 = 0,03$$

$$\text{CaCl}_2 \quad G_8 = V_{\text{в}} \cdot C_8/C_{\Sigma} = 829 \cdot 0,05/325 = 0,1$$

$$\text{Підживлюючий р-н сахарози} \quad G_{\text{підж.}} = V_{\text{в}} \cdot C_8/C_{\Sigma} = 829 \cdot 250/325 = 640$$

Формування композицій:

**Склад композицій для стерилізації поживного середовища
ферментера**

Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	Кількість для приготування 1,45 м ³ середовища, кг (л)	Композиція	Об'єм композиції, V, л
Сахароза	50	72,5	А	150
Дріждж. екстракт	5	7,2		
Пептон	5	7,2		
Вода		48,1		
Конденсат 10%		15		
КН ₂ РО ₄	15	21,7	Б	300
NaCl	0,01	0,015		
MgSO ₄ ×7H ₂ O	0,01	0,015		
MnCl ₂ ×H ₂ O	0,01	0,015		
CaCl ₂	0,05	0,07		
Вода		248,2		
Конденсат 10%		30		
Підживлюючий розчин сахарози				
Сахароза	250	362,3	-	1000
Вода		537,7		
Конденсат 10%		100		
Всього		1450		1450

6.2.4. *Приготування та стерилізація поживного середовища для вирощування посівного матеріалу в посівному апараті*

Кількість поживного середовища та посівного матеріалу в посівному апараті становить:

$$V_{\text{па}} = V_{\text{пмф}} / (1 - E_{\text{па}}) = 150 / (1 - 0,1) = 167 \text{ л.}$$

Кількість поживного середовища в посівному апараті становить:

$$V_{\text{псп}} = V_{\text{па}} / (1 + X_{\text{па}}) = 167 / (1 + 0,1) = 152 \text{ л}$$

Необхідна кількість посівного матеріалу для засівання посівного апарата:

$$V_{\text{пмп}} = V_{\text{па}} - V_{\text{псп}} = 167 - 152 = 15 \text{ л.}$$

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

$$G_{\text{заг2}} = V_{\text{пс}} \cdot C_{\Sigma} = 0,152 \cdot 325 = 50 \text{ кг, в тому числі покомпонентно, кг:}$$

$$\text{Сахароза} \quad G_1 = G_{\text{заг}} \cdot C_1/C_{\Sigma} = 50 \cdot 300/325 = 46$$

$$\text{дріждж. екстракт} \quad G_2 = G_{\text{заг}} \cdot C_2/C_{\Sigma} = 50 \cdot 5/325 = 0,8$$

$$\text{пептон} \quad G_3 = G_{\text{заг}} \cdot C_3/C_{\Sigma} = 50 \cdot 5/325 = 0,8$$

$$\text{K}_2\text{HPO}_4 \quad G_4 = G_{\text{заг}} \cdot C_4/C_{\Sigma} = 50 \cdot 15/325 = 2,3$$

$$\text{NaCl} \quad G_5 = G_{\text{заг}} \cdot C_5/C_{\Sigma} = 50 \cdot 0,01/325 = 0,002$$

$$\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O} \quad G_6 = G_{\text{заг}} \cdot C_6/C_{\Sigma} = 50 \cdot 0,01/325 = 0,002$$

$$\text{MnCl}_2 \times \text{H}_2\text{O} \quad G_7 = G_{\text{заг}} \cdot C_7/C_{\Sigma} = 50 \cdot 0,01/325 = 0,002$$

$$\text{CaCl}_2 \quad G_8 = G_{\text{заг}} \cdot C_8/C_{\Sigma} = 50 \cdot 0,05/325 = 0,008$$

Стерилізація компонентів в композиціях буде проводитись в окремих реакторах гострою парою, приймаємо $K_{\text{кон}} = 0,1$, тоді загальна кількість конденсату становитиме: $V_{\text{к}} = V_{\text{псп}} K_{\text{кон}} = 152 \cdot 0,1 = 15 \text{ л.}$

Загальна кількість води необхідної для розбавлення компонентів поживного середовища буде: $V_{\text{в2}} = V_{\text{пс}} - G_{\text{заг2}} = 152 - 50 = 102 \text{ л}$

Розраховуємо кількість води для розчинення покомпонентно, л:

$$\text{Сахароза} \quad G_1 = V_{\text{в}} \cdot C_1/C_{\Sigma} = 102 \cdot 300/325 = 94,2$$

$$\text{дріждж. екстракт} \quad G_2 = V_{\text{в}} \cdot C_2/C_{\Sigma} = 102 \cdot 5/325 = 1,6$$

$$\text{пептон} \quad G_3 = V_{\text{в}} \cdot C_3/C_{\Sigma} = 102 \cdot 5/325 = 1,6$$

$$\text{K}_2\text{HPO}_4 \quad G_4 = V_{\text{в}} \cdot C_4/C_{\Sigma} = 102 \cdot 15/325 = 4,7$$

$$\text{NaCl} \quad G_5 = V_{\text{в}} \cdot C_5/C_{\Sigma} = 102 \cdot 0,01/325 = 0,003$$

$$\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O} \quad G_6 = V_{\text{в}} \cdot C_6/C_{\Sigma} = 102 \cdot 0,01/325 = 0,003$$

$$\text{MnCl}_2 \times \text{H}_2\text{O} \quad G_7 = V_{\text{в}} \cdot C_7/C_{\Sigma} = 102 \cdot 0,01/325 = 0,003$$

$$\text{CaCl}_2 \quad G_8 = V_{\text{в}} \cdot C_8/C_{\Sigma} = 102 \cdot 0,05/325 = 0,02$$

**Склад композицій для стерилізації компонентів для вирощування
посівного матеріалу в посівному апараті**

Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	Кількість для приготування 152 л середовища, кг (л)	Композиція	Об'єм композиції, V, л
Сахароза	300	46	А	82
Дріждж. екстракт	5	0,8		
Пептон	5	0,8		
Вода		26		
Конденсат 10%		8,4		
КН ₂ РО ₄	15	2,2	Б	70
NaCl	0,01	0,001		
MgSO ₄ ×7H ₂ O	0,01	0,001		
MnCl ₂ ×H ₂ O	0,01	0,001		
CaCl ₂	0,05	0,007		
Вода		60,8		
Конденсат 10%		7		
Всього		152		152

6.2.5. Приготування та стерилізація поживного середовища для вирощування посівного матеріалу в інокуляторі.

Кількість поживного середовища та посівного матеріалу в інокуляторі становить:

$$V_{in1} = V_{пмп} / (1 - E_{in}) = 15,2 / (1 - 0,1) = 16,9 \text{ л.}$$

Кількість поживного середовища в інокуляторі становить:

$$V_{псі1} = V_{in1} / (1 + X_{in}) = 16,9 / (1 + 0,1) = 15,4 \text{ л.}$$

Необхідна кількість посівного матеріалу для засівання посівного апарата:

$$V_{пмі1} = V_{in1} - V_{псі1} = 16,9 - 15,4 = 1,5 \text{ л.}$$

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

$$G_{зар} = V_{псі1} \cdot C_{\Sigma} = 0,0154 \cdot 325 = 5 \text{ кг, в тому числі покомпонентно, г:}$$

$$\text{Сахароза} \quad G_1 = G_{зар} \cdot C_1 / C_{\Sigma} = 5 \cdot 300 / 325 = 4,6$$

дріждж. екстракт	$G_2 = G_{\text{заг}} \cdot C_2/C_{\Sigma} = 5 \cdot 5/325 = 0,08$
пептон	$G_3 = G_{\text{заг}} \cdot C_3/C_{\Sigma} = 5 \cdot 5/325 = 0,08$
K_2HPO_4	$G_4 = G_{\text{заг}} \cdot C_4/C_{\Sigma} = 5 \cdot 15/325 = 0,23$
NaCl	$G_5 = G_{\text{заг}} \cdot C_5/C_{\Sigma} = 5 \cdot 0,01/325 = 0,0002$
$MgSO_4 \times 7H_2O$	$G_6 = G_{\text{заг}} \cdot C_6/C_{\Sigma} = 5 \cdot 0,01/325 = 0,0002$
$MnCl_2 \times H_2O$	$G_7 = G_{\text{заг}} \cdot C_7/C_{\Sigma} = 5 \cdot 0,01/325 = 0,0002$
$CaCl_2$	$G_8 = G_{\text{заг}} \cdot C_8/C_{\Sigma} = 5 \cdot 0,05/325 = 0,0008$

Стерилізація компонентів в композиціях буде проводитись в окремих реакторах гострою парою, приймаємо $K_{\text{кон}} = 0,1$, тоді загальна кількість конденсату становитиме: $V_{\text{к}} = V_{\text{псіл}} \cdot K_{\text{кон}} = 14,7 \cdot 0,1 = 1,5$ л.

Загальна кількість води необхідної для розбавлення компонентів поживного середовища буде: $V_{\text{в}} = V_{\text{псіл}} - G_{\text{заг}} = 15 - 5 = 10$ л.

Розраховуємо кількість води для розчинення покомпонентно, л:

Сахароза	$G_1 = V_{\text{в}} \cdot C_1/C_{\Sigma} = 10 \cdot 300/325 = 9,2$
дріждж. екстракт	$G_2 = V_{\text{в}} \cdot C_2/C_{\Sigma} = 10 \cdot 5/325 = 0,2$
пептон	$G_3 = V_{\text{в}} \cdot C_3/C_{\Sigma} = 10 \cdot 5/325 = 0,2$
K_2HPO_4	$G_4 = V_{\text{в}} \cdot C_4/C_{\Sigma} = 10 \cdot 15/325 = 0,5$
NaCl	$G_5 = V_{\text{в}} \cdot C_5/C_{\Sigma} = 10 \cdot 0,01/325 = 0,0003$
$MgSO_4 \times 7H_2O$	$G_6 = V_{\text{в}} \cdot C_6/C_{\Sigma} = 10 \cdot 0,01/325 = 0,0003$
$MnCl_2 \times H_2O$	$G_7 = V_{\text{в}} \cdot C_7/C_{\Sigma} = 10 \cdot 0,01/325 = 0,0003$
$CaCl_2$	$G_8 = V_{\text{в}} \cdot C_8/C_{\Sigma} = 10 \cdot 0,05/325 = 0,002$

**Склад композицій для стерилізації компонентів для вирощування
посівного матеріалу в інокуляторі**

Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	Кількість для приготування 15,4 л середовища, кг (л)	Композиція	Об'єм композиції, V, л
Сахароза	300	4,6	А	7,4
Дріждж. екстракт	5	0,08		
Пептон	5	0,08		
Вода		2		
Конденсат 10%		0,7		
K_2HPO_4	15	0,16	Б	8
NaCl	0,01	0,0001		
$\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$	0,01	0,0001		
$\text{MnCl}_2 \times \text{H}_2\text{O}$	0,01	0,0001		
CaCl_2	0,05	0,0005		
Вода		7		
Конденсат 10%		0,8		
Всього		15,4		15,4

6.2.6. Приготування та стерилізація поживного середовища для вирощування в колбах на качалках

Формування композицій:

Таблиця 6.2.6.1.

**Склад композицій для стерилізації компонентів для вирощування
посівного матеріалу в колбах на качалках**

Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	Кількість для приготування 1,4 л середовища, мг (г)	Композиція	Об'єм композиції, V, л
Сахароза	300	420	А	700
Дріждж. екстракт	5	7		

Пептон	5	7		
Вода		266		
KH ₂ PO ₄	15	21		
NaCl	0,01	0,01		
MgSO ₄ ×7H ₂ O	0,01	0,01		
MnCl ₂ ×H ₂ O	0,01	0,01		
CaCl ₂	0,05	0,07		
Вода		678,9		
Всього		1,4	Б	700
				1,4

Кількість поживного середовища та посівного матеріалу в колбах становить:

$$V_{\text{псм}} = V_{\text{кол}} = 1,5 \text{ л}$$

Кількість поживного середовища в колбах становить:

$$V_{\text{пск}} = V_{\text{псм}} / (1 + X_{\text{кол}}) = 1,5 / (1 + 0,1) = 1,4 \text{ л.}$$

Необхідна кількість посівного матеріалу для засівання колб:

$$V_{\text{пмк}} = V_{\text{псм}} - V_{\text{пск}} = 1,5 - 1,4 = 0,1 \text{ л.}$$

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

$$G_{\text{заг}} = V_{\text{пс}} \cdot C_{\Sigma} = 1,4 \cdot 325 = 455 \text{ г, в тому числі покомпонентно, г:}$$

$$\text{Сахароза} \quad G_1 = G_{\text{заг}} \cdot C_1 / C_{\Sigma} = 455 \cdot 300 / 325 = 420$$

$$\text{дріждж. екстракт} \quad G_2 = G_{\text{заг}} \cdot C_2 / C_{\Sigma} = 455 \cdot 5 / 325 = 7$$

$$\text{пептон} \quad G_3 = G_{\text{заг}} \cdot C_3 / C_{\Sigma} = 455 \cdot 5 / 325 = 7$$

$$\text{K}_2\text{HPO}_4 \quad G_4 = G_{\text{заг}} \cdot C_4 / C_{\Sigma} = 455 \cdot 15 / 325 = 21$$

$$\text{NaCl} \quad G_5 = G_{\text{заг}} \cdot C_5 / C_{\Sigma} = 455 \cdot 0,01 / 325 = 0,01$$

$$\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O} \quad G_6 = G_{\text{заг}} \cdot C_6 / C_{\Sigma} = 455 \cdot 0,01 / 325 = 0,01$$

$$\text{MnCl}_2 \times \text{H}_2\text{O} \quad G_7 = G_{\text{заг}} \cdot C_7 / C_{\Sigma} = 455 \cdot 0,01 / 325 = 0,01$$

$$\text{CaCl}_2 \quad G_8 = G_{\text{заг}} \cdot C_8 / C_{\Sigma} = 455 \cdot 0,05 / 325 = 0,07$$

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

Загальна кількість води необхідної для розбавлення компонентів поживного середовища буде: $V_{\text{в}} = V_{\text{пск}} - G_{\text{заг}} = 1400 - 440 = 960 \text{ мл}$

Розрахуємо кількість води для розчинення покомпонентно, мл:

Сахароза	$G_1 = V_B \cdot C_1/C_\Sigma = 960 \cdot 300/325 = 886$
дріждж. екстракт	$G_2 = V_B \cdot C_2/C_\Sigma = 960 \cdot 5/325 = 14,8$
пептон	$G_3 = V_B \cdot C_3/C_\Sigma = 960 \cdot 5/325 = 14,8$
K_2HPO_4	$G_4 = V_B \cdot C_4/C_\Sigma = 960 \cdot 15/325 = 44,3$
NaCl	$G_5 = V_B \cdot C_5/C_\Sigma = 960 \cdot 0,01/325 = 0,03$
$MgSO_4 \times 7H_2O$	$G_6 = V_B \cdot C_6/C_\Sigma = 960 \cdot 0,01/325 = 0,03$
$MnCl_2 \times H_2O$	$G_7 = V_B \cdot C_7/C_\Sigma = 960 \cdot 0,01/325 = 0,03$
$CaCl_2$	$G_8 = V_B \cdot C_8/C_\Sigma = 960 \cdot 0,05/325 = 0,1$

МАТЕРІАЛЬНИЙ БАЛАНС НА ОДИН ЦИКЛ ВИРОБНИЧОГО БІОСИНТЕЗУ

Таблиця 6.2.6.2

№ з/п	Використано		Отримано	
	Назва сировини і напівпродукту	Кількість, кг, дм ³	Назва кінцевого продукту, відходів та втрат	Кількість, кг, дм ³
<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>
1.	ПРИГОТУВАННЯ ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА ДЛЯ ВИРОЩУВАННЯ ІНОКУЛЯТУ В КОЛБАХ НА КАЧАЛКАХ (мл,г)			
1.1.	Сахароза	420	Нестерильне ПС	1400
1.2.	Дріждж. екстракт	7		
1.3.	Пептон	7		
1.4.	KH ₂ PO ₄	21		
1.5.	NaCl	0,01		
1.6.	MgSO ₄ ×7H ₂ O	0,01		
1.7.	MnCl ₂ ×H ₂ O	0,01		
1.8.	CaCl ₂	0,07		
1.9.	Вода	944,9		
	Всього:	1400	Всього:	1400
2.	СТЕРИЛІЗАЦІЯ ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА В АВТОКЛАВІ (кг, дм ³)			
2.1.	Нестерильне ПС	1,4	Стерильне ПС	1,4
	Всього:	1,4	Всього:	1,4
3.	ОТРИМАННЯ ПОСІВНОГО МАТЕРІАЛУ ПІД ЧАС КУЛЬТИВУВАННЯ В КОЛБАХ НА КАЧАЛКАХ			
3.1.	Стерильне ПС	1,4	Посівний матеріал	1,5
3.2.	Посівний матеріал з колби	0,1		
	Всього:	1,5	Всього:	1,5
4.	ПРИГОТУВАННЯ ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА ДЛЯ ІНОКУЛЯТОРА			
4.1.	Сахароза	4,6	Нестерильне ПС	13,9
4.2.	Дріждж. екстракт	0,08		

4.3.	Пептон	0,08		
4.4.	KH_2PO_4	0,16		
4.5.	NaCl	0,0001		
4.6.	$\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$	0,0001		
4.7.	$\text{MnCl}_2 \times \text{H}_2\text{O}$	0,0001		
4.8.	CaCl_2	0,0005		
4.9.	Вода	9		
	Всього:	13,9	Всього:	13,9
5.	СТЕРИЛІЗАЦІЯ ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА ДЛЯ ІНОКУЛЯТОРА			
5.1.	Нестерильне ПС	13,9	Стерильне ПС	15,4
5.2.	Конденсат	1,5	(втрат немає)	0,0
	Всього:	15,4	Всього:	15,4
6.	ОТРИМАННЯ ПОСІВНОГО МАТЕРІАЛУ В ІНОКУЛЯТОРІ			
6.1.	Стерильне ПС	15,4	Посівний матеріал	15,2
6.2.	Посівний матеріал з колб на качалках	1,5		
6.3.	Втрати (частка)	0,1		1,7
	Всього:	16,9	Всього:	16,9
7.	ПРИГОТУВАННЯ ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА ДЛЯ ПОСІВНОГО АПАРАТУ			
7.1.	Сахароза	46	Нестерильне ПС	136,6
7.2.	Дріждж. екстракт	0,8		
7.3.	Пептон	0,8		
7.4.	KH_2PO_4	2,2		
7.5.	NaCl	0,001		
7.6.	$\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$	0,001		
7.7.	$\text{MnCl}_2 \times \text{H}_2\text{O}$	0,001		
7.8.	CaCl_2	0,007		
7.9.	Вода	86,8		

	Всього:	136,6	<i>Продовження таблиці 6.2.6.2</i>	
8.	СТЕРИЛІЗАЦІЯ ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА ДЛЯ ПОСІВНОГО АПАРАТУ			
8.1.	Нестерильне ПС	136,6	Стерильне ПС	152
8.2.	Конденсат	15,4	(втрат немає)	0,0
	Всього:	152	Всього:	152
9.	ОТРИМАННЯ ПОСІВНОГО МАТЕРІАЛУ В ПОСІВНОМУ АПАРАТІ			
9.1.	Стерильне ПС	152	Посівний матеріал	150
9.2.	Посівний матеріал з малого інокулятора	15,2		
9.3.	Втрати (частка)	0,1		17,2
	Всього:	167,2	Всього:	167,2
10.	ПРИГОТУВАННЯ ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА ДЛЯ ФЕРМЕНТЕРА			
10.1.	Сахароза	72,5	Нестерильне ПС	405
10.2.	Дріждж. екстракт	7,2		
10.3.	Пептон	7,2		
10.4.	KH_2PO_4	21,7		
10.5.	NaCl	0,015		
10.6.	$\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$	0,015		
10.7.	$\text{MnCl}_2 \times \text{H}_2\text{O}$	0,015		
10.8.	CaCl_2	0,07		
10.9.	Вода	296,3		
	Всього:	405	Всього:	405
11.	ПРИГОТУВАННЯ ПІДЖИВЛЮЮЧОГО РОЗЧИНУ САХАРОЗИ ДЛЯ ФЕРМЕНТЕРА			
11.1	Сахароза	362,3	Нестерильне ПС	900

11.2	Вода	537,7		
	Всього:	900	Всього:	900
12.	СТЕРИЛІЗАЦІЯ ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА ДЛЯ ФЕРМЕНТЕРА			
12.1.	Нестерильне ПС	405	Стерильне ПС	450
12.2.	Конденсат	45		
	Всього:	450	Всього:	450
12.	СТЕРИЛІЗАЦІЯ ПІДЖИВЛЮЮЧОГО РОЗЧИНУ САХАРОЗИ ДЛЯ ФЕРМЕНТЕРА			
12.1	Нестерильне ПС	900	Стерильне ПС	1000
12.2.	Конденсат	100		
	Всього:	1000	Всього:	1000
12.	ВИРОБНИЧИЙ БІОСИНТЕЗ			
15.1.	Стерильне ПС	450	Культуральна рідина на центрифугування	1440
15.2.	Стерильний підживлюючий розчин сахарози	1000		
15.3.	Посівний матеріал з посівного апарата	150		
15.4.	Втрати (частка)	0,1		160
	Всього:	1600	Всього:	1600

Оскільки, кількість культуральної рідини згідно матеріального балансу (1440 л) співпадає із кількістю культуральної рідини, визначеної відповідно у п. 3.1 розрахунку партій продукту (1440 л), вважаємо, що матеріальний баланс зроблено вірно.

6.3. Уточнюючий розрахунок ферментаційного обладнання

Уточнюючий розрахунок базується на основі продуктового розрахунку та матеріального балансу з метою уточнення коефіцієнтів заповнення обладнання.

6.3.1. Уточнюючий розрахунок кількості ферментерів

Приблизний загальний геометричний об'єм ферментерів при заданому

$$K_3 = 0,6:$$

$$V_{гф} = V_{ф}/K_3 = 1,6/0,6 = 2,7 \text{ м}^3$$

Вибираємо з таблиці найближчий за номінальним об'ємом ферментер:

$$V_{нф} = 2,5 \text{ м}^3.$$

Кількість виробничих ферментерів при заданому K_3 :

$$N_{фр} = V_{гф}/V_{нф} = 2,7/2,5 = 1,1 - \text{приймаємо } 1$$

Уточнюємо коефіцієнт заповнення вибраних з таблиці ферментерів:

$$K_{зф} = V_{ф}/(V_{нф} \cdot N_{фр}) = 1,6/(2,5 \cdot 1) = 0,64.$$

Оскільки уточнений коефіцієнт заповнення не перевищує заданих меж (0,5 – 0,7), то приймаємо до установки $N_{фр} = 1 (+ 1)$ запасний ферментери.

6.3.2. Уточнюючий розрахунок кількості посівних апаратів

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

$$V_{гпа} = V_{па}/K_3 = 167/0,6 = 278,3 \text{ л}$$

Вибираємо з таблиці найближчий за номінальним об'ємом посівний апарат:

$$V_{нна} = 0,25 \text{ м}^3$$

Кількість посівних апаратів при заданому K_3 :

$$N_{пар} = V_{гпа}/V_{нна} = 278,3/250 = 1,1 - \text{приймаємо}$$

Уточнюємо коефіцієнт заповнення вибраних з таблиці посівних апаратів:

$$K_{зпа} = V_{па}/(V_{нна} \cdot N_{пар}) = 167/(250 \cdot 1) = 0,67$$

Оскільки уточнений коефіцієнт заповнення не перевищує заданих меж (0,5 – 0,7), то приймаємо до установки $N_{фр} = 1 (+ 1)$ запасний ферментери.

6.3.3. Уточнюючий розрахунок кількості інокуляторів

Приблизний загальний геометричний об'єм інокулятора при заданому

$$K_3 = 0,6:$$

$$V_{гін1} = V_{ін1}/K_3 = 16,9/0,6 = 28,2 \text{ л}$$

Вибираємо з таблиці найближчий за номінальним об'ємом інокулятор:

$$V_{ін1} = 0,03 \text{ м}^3 = 30 \text{ л.}$$

Кількість інокуляторів при заданому K_3 :

$$N_{ін1р} = V_{гін1}/V_{ін1} = 28,2/30 = 0,94 - \text{приймаємо } 1$$

Уточнюємо коефіцієнт заповнення вибраних з таблиці інокуляторів:

$$K_{зін} = V_{ін1}/(V_{ін1} \cdot N_{ін1р}) = 16,9/(30 \cdot 1) = 0,56$$

Оскільки уточнений коефіцієнт заповнення не перевищує задані межі (0,5 – 0,7), то приймаємо до установки $N_{ін1р} = 1 (+1)$ запасний інокулятори.

6.3.4. Уточнюючий розрахунок кількості качалочних колб

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

$$V_{гкол} = V_{кол}/K_{кол} = 1,5/0,2 = 7,5 \text{ л.}$$

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

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

$$N_{кол} = V_{гкол}/V_{нкол} = 7,5/0,75 = 10 \text{ колб.}$$

6.4. Розрахунок кількості реакторів-змішувачів для приготування та стерилізації поживного середовища

Для вибору реакторів-змішувачів, збірників керуються таблицями композицій (див 3.2.) та таблицею Технічних характеристик ферментерів.

Розрахунок кількості реакторів-змішувачів для приготування середовища для вирощування посівного матеріалу в посівному апараті об'ємом 2,5 м³

а) Підбираємо геометричний об'єм реактора-змішувача для композиції А. Приблизний геометричний об'єм реактора-змішувача при заданому

$$K_{зб} = 0,8: V_{Аг} = V_{А}/K_{зб} = 150/0,8 = 187,5 \text{ л}$$

Вибираємо з *Додатку 4* найближчий за номінальним об'ємом реактор:

$$V_{нр} = 0,25 \text{ м}^3$$

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

$$N_p = V_{Ar}/V_{np} = 187,5 / 0,25 = 0,7 \text{ од. Приймаємо - 1 од.}$$

Уточнюємо коефіцієнт заповнення реактора: $K_{зр} = V_A/(V_{np}N_p) = 187,5 / (0,25 \cdot 1) = 0,75$.

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

б) Підбираємо геометричний об'єм реактора-змішувача для композиції Б.

Приблизний геометричний об'єм реактора-змішувача при заданому $K_{зб} = 0,8$: $V_{Br} = V_B/K_{зб} = 300/0,8 = 375 \text{ л}$

Вибираємо з *Додатку 4* найближчий за номінальним об'ємом реактор: $V_{np} = 0,40 \text{ м}^3$.

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

$$N_p = V_{Br}/V_{np} = 375/400 = 0,8. \text{ Приймаємо - 1 од.}$$

Уточнюємо коефіцієнт заповнення реактора: $K_{зр} = V_B/(V_{np}N_p) = 375/(400 \cdot 1) = 0,8$

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

в) Підбираємо геометричний об'єм реактора-змішувача для композиції підживлюючого розчину сахарози. Приблизний геометричний об'єм реактора-змішувача при заданому $K_{зб} = 0,8$: $V_{Br} = V_B/K_{зб} = 1000/0,8 = 1250 \text{ л}$

Вибираємо з *Додатку 4* найближчий за номінальним об'ємом реактор: $V_{np} = 1,60 \text{ м}^3$.

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

$$N_p = V_{Br}/V_{np} = 1250/1,60 = 0,85. \text{ Приймаємо - 1 од.}$$

Уточнюємо коефіцієнт заповнення реактора: $K_{зр} = V_B/(V_{np}N_p) = 1250/(1,60 \cdot 1) = 0,8$.

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

Розрахунок кількості реакторів-змішувачів для приготування середовища для вирощування посівного матеріалу в інокуляторі об'ємом 250 л

а) Підбираємо геометричний об'єм реактора-змішувача для композиції А. Приблизний геометричний об'єм реактора-змішувача при заданому $K_{зб} =$

$$0,8: V_{Аг} = V_A / K_{зб} = 82 / 0,8 = 102,5 \text{ л}$$

Вибираємо з *Додатку 4* найближчий за номінальним об'ємом реактор: $V_{нр} = 116 \text{ л}$

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

$$N_p = V_{Аг} / V_{нр} = 102,5 / 116 = 0,7. \text{ Приймаємо } -1 \text{ од.}$$

Уточнюємо коефіцієнт заповнення реактора: $K_{зр} = V_A / (V_{нр} N_p) = 102,5 / (116 \cdot 1) = 0,8$

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

б) Підбираємо геометричний об'єм реактора-змішувача для композиції Б. Приблизний геометричний об'єм реактора-змішувача при заданому $K_{зб} =$

$$0,8: V_{Бг} = V_B / K_{зб} = 70 / 0,8 = 87,5 \text{ л}$$

Вибираємо з *Додатку 4* найближчий за номінальним об'ємом реактор: $V_{нр} = 100 \text{ л}$. Кількість реакторів при заданому $K_{зб}$ становить: $N_p = V_{Бг} / V_{нр} = 87,5 / 100 = 0,8$. Приймаємо – 1 од.

Уточнюємо коефіцієнт заповнення реактора: $K_{зр} = V_B / (V_{нр} N_p) = 70 / (100 \cdot 1) = 0,7$.

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

Розрахунок кількості реакторів-змішувачів для приготування середовища для вирощування посівного матеріалу в малому інокуляторі об'ємом 30 л

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

$$V_{Аг} = V_A / K_{зб} = 7,4 / 0,8 = 9,25 \text{ л}$$

Вибираємо з *Додатку 4* найближчий за номінальним об'ємом реактор: $V_{нр} = 20$ л. Кількість реакторів при заданому $K_{зб}$ становить:

$$N_p = V_{Аг} / V_{нр} = 9,25 / 10 = 0,8. \text{ Приймаємо} - 1 \text{ од.}$$

Уточнюємо коефіцієнт заповнення реактора: $K_{зр} = V_A / (V_{нр} N_p) = 7,4 / (10 \cdot 1) = 0,75$.

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

б) Підбираємо геометричний об'єм реактора-змішувача для композиції Б. Приблизний геометричний об'єм реактора-змішувача при заданому $K_{зб} = 0,8$: $V_{Бг} = V_B / K_{зб} = 8 / 0,8 = 10$ л

Вибираємо з *Додатку 4* найближчий за номінальним об'ємом реактор: $V_{нр} = 10$ л. Кількість реакторів при заданому $K_{зб}$ становить:

$$N_p = V_{Бг} / V_{нр} = 10 / 10 = 1. \text{ Приймаємо} - 1 \text{ од.}$$

Уточнюємо коефіцієнт заповнення реактора: $K_{зр} = V_B / (V_{нр} N_p) = 8 / (10 \cdot 1) = 0,8$

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

РОЗДІЛ 7. СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ

Специфікація обладнання ділянки допоміжних робіт та виробничого біосинтезу декстрану

Таблиця 7.1

Позиція	Найменування	Кількість	Технічна характеристика (виробник)
1	2	3	4
СМ1	СП-мийка	1	СП-мийка УНІКА 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 Grundfos для СП мийки витримують температуру до 180 °С та виготовлені з нержавіючої сталі.[63]
ПЗ-2	Повітрозабірник	1	Обладнений металевою сіткою для видалення механічних забруднень. [64]
Ф-3	Фільтр грубої очистки	1	Фільтруючий матеріал – хімволокно ФВР, E=90%.[65]
К-4	Компресор	1	Безмасляний компресор LFXR 0.7-1.0 компанії "Атлас Копко": максимальний тиск 10 бар, продуктивність 3.67 - 4.97 м ³ /хв. [66]
Т-5	Теплообмінник охолоджувач	1	Теплообмінник охолоджувач серії АС-13,5 фірми «Уралкомпресормарш»(Росія) продуктивністю 13,5 м ³ /год. [67]
Р-6	Ресивер	1	Ресивер серії РВ 430/16 фірми «Уралкомпресормарш» (Росія), об'єм 430 л, робочий тиск 1,8 МПа. [68]

НУХТ БТЕК 04.01.26 КР ПЗ				
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата
Розроб.		Савченко М.Ю.		
Перевір.		Карлаш Ю.В.		
Реценз.				
Н. Контр.				
Затверд.		Пирог Т.П.		
РОЗДІЛ 7. СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ			Літ.	Арк.
				74
			Акрушіє 138	
			Кафедра БТМ ⁷⁴	

Продовження таблиці 7.1

T-7	Теплообмінник нагрівач	1	Корпус теплообмінника фірми VENTS (Україна) виготовлений із оцинкованої сталі, максимальний робочий тиск 1,6 МПа. [69]
Ф-8	Фільтр тонкої очистки	1	Модель фільтра FMW. Ступінь очищення повітря 99%. Продуктивність фільтра складає 3400 м ³ /год [70]
Д-13 Д-15 Д-17 Д-19 Д-21 Д-24 Д-27	Об'ємно- ваговий дозатор	12	Дозатор виробництва НВП "Техноаги" призначений для дозування сипких продуктів по вазі. Точність зважування становить 0,1%. [71]
P-14	Реактор змішувач для композиції А	1	Реактори об'ємом 0,25 м ³ з сорочкою, з перемішуючим пристроєм, швидкість перемішування 100 об/хв. [72]
P-16	Реактор змішувач для композиції А	1	Реактори об'ємом 116 л з сорочкою, з перемішуючим пристроєм, швидкість перемішування 100 об/хв. [72]
P-18	Реактор змішувач для композиції А	1	Реактори об'ємом 20 л з сорочкою, з перемішуючим пристроєм, швидкість перемішування 100 об/хв. [72]
P-20	Реактор змішувач для композиції Б	1	Реактори об'ємом 0,40 м ³ з сорочкою, з перемішуючим пристроєм, швидкість перемішування 100 об/хв [72]
P-22	Реактор змішувач для композиції Б	1	Реактори об'ємом 100 л з сорочкою, з перемішуючим пристроєм, швидкість перемішування 100 об/хв. [72]
P-25	Реактор змішувач для композиції Б	1	Реактори об'ємом 10 л з сорочкою, з перемішуючим пристроєм, швидкість перемішування 100 об/хв. [72]
P-28	Реактор змішувач для композиції В	1	Реактори об'ємом 1,60 м ³ з сорочкою, з перемішуючим пристроєм, швидкість перемішування 100 об/хв. [72]
ЗК-33	Засівна колба	1	Загальний об'єм до 10 л. Нержавіюча сталь
П- 31, П-36, П-41	Збірники для піногасника	3	Збірники об'ємом 10 л 20 л і 50 л виготовляються на замовлення. Матеріал нержавіюча сталь AISI 316. Бнз сорочки. Виробник: ТОВ «ENERGY SAVING SOLUTIONS» (Україна)б.

Ф-30 Ф-32 Ф-35 Ф-36 Ф-39 Ф-40	Індивідуальний фільтр	6	Фільтри марки VonocoActive carbon filter (Швецарія), Е=99. [73]
ІН-34	Інокулятор	1	Ферментер об'ємом 30 л, швидкість перемішування 180 об/хв. [74]
ІН-38	Інокулятор	1	Ферментер об'ємом 250 л, швидкість перемішування 180 об/хв. [74]
ФР-42	Ферментер	1	Ферментер барботажний об'ємом 2,5 м ³ , швидкість перемішування 180 об/хв. [74]
Н-23	Насос відцентровий	1	Насос відцентровий герметичний з нержавіючої сталі ЦГ Насос 25/50К-5,5-5. Продуктивність 50 л/год., Фірми «Grundfos». [75]
Н-26	Насос відцентровий	1	Насос відцентровий герметичний з нержавіючої сталі ЦГ Насос 25/50К-5,5-5. Продуктивність від 60 л/год., Фірми «Grundfos». [75]
Н-29	Насос відцентровий	1	Насос відцентровий герметичний з нержавіючої сталі ЦГ Насос 25/50К-5,5-5. Продуктивність від 100 л/год., Фірми «Grundfos». [75]
Н-43	Насос перистальтичний	1	Перистальтичні насоси високого тиску серії FPSH це промисловий насос, розрахований на цілодобову роботу. Продуктивність до 150 м ³ / год і тиском до 15 бар. Цей тип насоса може працювати в режимі «сухого ходу», не має ущільнень, є реверсивним, самовсмоктувальним і володіє високою всмоктуючою здатністю. Два ролика або два черевика поперемінно стискають трубку, доступну з дванадцяти різних еластичних матеріалів для максимально широкого спектра застосувань в найрізноманітніших галузях промисловості. [75]

Н-44	Насос відцентровий	1	Насос відцентровий CRN - 4 - 50. Виробник: фірма "Рокем", Германия. Входить в комплект установки для знесолення водопровідної води. Q=6 м ³ /год. Н=31,6 мм вод. ст., Температура 15-120°C [76]
Ф-45	Піщаний фільтр для очистки води, заповнений піском	1	Комплектуючі при поставці системи фільтрації на основі піщаних фільтрів: корпус фільтра, внутрішньокорпусні пристрої, пісок калібрований та відшліфований, система автоматики та аерації. Піщаний фільтр з рухомим шаром має невеликі розміри. Фільтр має такі характеристики площі фільтрації - 0,7; 1,5; 3; 5 м ² , висота фільтрувального шару в залежності від завдання варіюється від 1,0; 1,5; 2; 2,5; 4 м. Потужність фільтра змінюється від 10 до 75 м ³ /год. Конструкційним матеріалом корпуса фільтра може бути нержавіюча сталь або склопластик (GRP) [77].
З-46	Збірник води	1	Катес, Польща. Об'єм - 10 м ³ , шорховатість внутрішньої поверхні < 0,8 мкм, робоча температура max./min. - 95/5 °С, тиск - атмосферний, ізоляція - мінеральна вата [78]
Н-47	Насос відцентровий	1	Насос відцентровий CRN - 4 - 50. Виробник: фірма "Рокем", Германия. Входить в комплект установки для знесолення водопровідної води. Q=6 м ³ /год. Н=31,6 мм вод. ст., Температура 15-120°C [76].
Ф-48	Колона заповнена катіонітом	1	Колона заповнена катіонітовою смолою марки КУ-2-8. Робочий тиск 0,6 МПа та потужність 7-8 т води на годину [79].
Ф-49	Колона заповнена аніонітом	1	Колона заповнена аніонітовою смолою фірми Purolite А-845. Робочий тиск 0,6 МПа та потужність 7-8 т води/год. [80].
Н-50	Насос відцентровий	1	Насос відцентровий CRN - 4 - 50. Виробник: фірма "Рокем", Германия. Входить в комплект установки для знесолення водопровідної води. Q=6 м ³ /год. Н=31,6 мм вод. ст., Температура 15-120°C [76].

Продовження таблиці 7.1

Ф-51	Вугільний фільтр, що заповнений активованим вугіллям	1	Марка Ecowater. Модель 5302. Робочий водний потік, м ³ /год/ спад тиску, атм – 9,0/ до 1. Розміри фільтра, дюйми: 36x72. Кількість фільтруючого завантаження, л – 651.Гравій, кг/л: 136 кг на 85 л, активоване вугілля [81]
Н-52	Насос відцентровий	1	Насос відцентровий CRN - 4 - 50. Виробник: фірма "Рокем", Германия. Входить в комплект установки для знесолення водопровідної води. Q=6 м ³ /год. Н=31,6 мм вод. ст., Температура 15-120°С [76].
ГФ-53	Установка зворотноосмотична	1	«Wanson». Двоступенева. продуктивність – 2000 л/ч, робоча температура – 15 °С, температура води max./min. - 35/3 °С, отримання води 1-я ступінь - 75 %, отримання води 2-я ступінь - 90 %, отримання води на установці - 72 %, тиск. -20 кг/см ² (бар). Розміри: ширина – 2000 мм, висота – 1000 мм, глибина – 1500 мм. - 400 В, 50 Гц, 7 кВт [82].
Н-54	Насос відцентровий	1	Еуро Нугія. продуктивність - 2500 л/ч, тиск – 6 кг/см ² (бар), робоча температура max./min. - 10/95 °С, 15 кВт, шорховатість внутрішньої поверхні < 0,8 мкм [76].
ГФ-55	Блок одержання води для ін'єкцій	1	«Christ Water Technology Group» Kombitron Число колон - 4 шт., число підігрівників - 4 шт., продуктивність ВДІ при 90 - 95 °С й атмосферному тиску - 1200 л/годину, необхідний тиск технічної пари - 8 бар, шорсткість внутрішньої поверхні < 0,8 мкм. Використання середовищ: технічна пара 8 бар тільки ВДІ - 370 кг/ч; холодна вода при макс. твердість 1 °f і температурі 10-20 °С - 1200 л/ч; живильна вода - 1700 л/ч; електрична потужність - 4,4 квт. Комплект поставки: -колони дистиляції й підігрівники; - охолоджувач ВДІ / конденсатор; -насос підживлення Grundfos CRN;

Продовження таблиці 7.1

			<p>- гігієнічний клапан редукції тиску чистої пари;</p> <p>- мембранні клапани, шорсткість внутрішньої поверхні 0.8 мкм;</p> <p>- електромагнетические клапани;</p> <p>- труби, з'єднання [83].</p>
Н-56	Насос відцентровий	1	Еуро Нугія, продуктивність - 2500 л/ч, тиск – 6 кг/см ² (бар), робоча температура max./min. - 10/95 °С, 15 кВт, шороховатість внутрішньої поверхні < 0,8 мкм [76].
З-57	Збірник води для ін'єкцій	1	Катес, Польща. Об'єм – 5 м ³ , шороховатість внутрішньої поверхні < 0,8 мкм, робоча температура max./min. - 95/5 °С, тиск – атмосферний, ізоляція - мінеральна вата, матеріал [78].
Н-58	Насос циркуляційний	1	Еуро Нугія, продуктивність - 6000 л/ч, тиск – 6 кг/см ² (бар), робоча температура max./min. - 10/95 °С, 15 кВт, шороховатість внутрішньої поверхні < 0,8 мкм [76].
Р-59 Р-60	Реактори-збірники для гідроксиду натрію та соляної кислоти	2	Реактор емальований фірми ТОВ «АЗОВХІМСЕРВІС», обладнаний мішалкою якірного типу СЕРн з двигуном потужністю 12 кВт. Місткість 6 300 л [84].
Р-61	Реактор-збірник для приготування розчину NaCl	1	Вертикальний, циліндричний із сферичним днищем, кришкою, мірним склом. Мішалка рамна. Швидкість обертання, с-1: 0,9 (53 об/хв). Діаметр, мм: 700. Висота, мм: 1180. Місткість, мЗ: 0,25. Робочий тиск, МПа: 0,3. Ціна поділки мірного скла, л: 10. Наповнення і звільнення – стисненим повітрям. Виробник: завод “Красний Октябрь”, м. Фастов [84].
Р-62	Реактор-збірник культуральної рідини	1	Реактор емальований фірми ТОВ «АЗОВХІМСЕРВІС», обладнаний мішалкою якірного типу СЕРн з двигуном потужністю 12 кВт. Місткість 10 000 л [84].

Н-63 Н-66 Н-68 Н-70	Насоси відцентрові	3	Насос відцентровий герметичний з нержавіючої сталі ЦГ Насос 25/50К-5,5-5. Продуктивність 50 л/год., Фірми «Grundfos». [76].
С-64	Сепаратор	1	Просвітлюючий тарілчастий сепаратор періодичної дії типу АСЕ-Б, з відцентровим пульсуючим вивантаженням осаду фірми «МОТОР СИЧ». 5 000 об/хв [86].
Р-65	Реактор-збірник для гідролізу та нейтралізації	1	Реактор емальований фірми ТОВ «АЗОВХІМСЕРВІС», обладнаний мішалкою якірного типу СЕРн з двигуном потужністю 12 кВт. Місткість 8 000 л [84].
УФ-67	Ультрафільтраційна установка	1	Установка фірми «Амикон» (США). Мембрани вироблені з поліелектролітного комплексу, робочий тиск 0,38 МПа. [86].
Р-69	Реактор-збірник для приготування р-ну реополіглокіну	1	Реактори об'ємом 2 м ³ фірми ТОВ «АЗОВХІМСЕРВІС» [84].
ГФ-71	Установка миття, силіконування, стерилізації і сушіння гумових пробок	1	Установка складається зі станини, посудини, камери миття, насоса з приводом, трубопроводу передачі пробок, апарата стерилізації, пульта керування, ємностей для стерильних пробок. Продуктивність установки, пробок за цикл, 90 тисяч штук. Тривалість одного циклу роботи установки 180 хв. Завантаження пробок вручну, вивантаження – самопливом. Трубопроводи подачі пари й очищеної води оснащені фторопластовими фільтрами. Виробник: ВАТ «НИКТИ спецоборудование», м. Маріуполь [87].
Т-72	Теплообмінник	1	Модель GC 08P. Марка «РосВЕП». Температура до 180°C [88].
ГФ-73	Стіл для сортування ковпачків	1	Прямокутної форми, покритий зверху листом нержавіючої сталі 12Х18Н10Т. Обладнаний навісними лампами денного світла. З трьох сторін стіл обмежений бортиком висотою 150 мм. Виробник: Польща [87].

Ф-74	Фільтр для фільтрації очищеної води	1	Фільтротримач вертикальний, циліндричний. Матеріал для фільтрування – фторопласт, корпус – н/сталь Номінальна товщина фільтрації 5 мкм. Виробник: фірма «ЕкспресЭКО», м. Обмінськ, Росія [89].
ГФ-75	Установка для миття алюмінієвих ковпачків	1	Установка складається з рами, камери миття; трубопроводів для подачі повітря, пари, води очищеної; трубопроводу переливу, електродвигуна, електрошафи. Продуктивність 68–80 тисяч штук за цикл. Тривалість циклу не більше 120 хв. Об'єм камери 0,78 м ³ . Виробник: ВАТ «НИКТИ спецоборудование», м. Маріуполь [87].
СШ-76	Повітряний стерилізатор	3	Температурні режими, що задаються 85, 160, 180, 220 °С. Заданий час витримки 0–999 хв. Завантаження та розвантаження вручну. Процес стерилізації здійснюється автоматично [90].
ТР-77	Транспортер стрічковий	1	Довжина 15000 мм, ширина 500 мм. швидкість руху, 0,5 м/с. Виробник: Ржищевський завод обладнання [91].
ТР-78	Пристрій для перекладки флаконів	2	Пристрій для перекладки флаконів складається із столу-накопичувача, пристрою для перевертання флаконів. Продуктивність пристрою 10000 флаконів за годину [92].
ТР-79	Візок	3	Візок чотирьохколісний, довжина 1800 мм, ширина 1000 мм. Виробник: Київський завод торгівельного машинобудування [93]
ГФ-80	Автомат для миття флаконів АМФ-9-6	2	Автомат миття флаконів складається з столу-накопичувача, ланцюгового транспортеру, блоку вібраторів, ванни для води очищеної, вузла споліскування флаконів, електропульту управління. Продуктивність 5400 флаконів за годину. Мийна машина оснащена вузлом для продування флаконів за допомогою стисненого повітря. Виробник: ПАТ «Київмедпрепарат» [87]
Ф-81	Фільтр для стерилізуючої фільтрації повітря	1	Фільтротримач вертикальний, циліндричний. Матеріал для фільтрування – фторопласт, корпус –

			н/сталь Номінальна товщина фільтрації 0,2 мкм. Виробник: фірма «Pall», Німеччина [94]
Ф-82	Фільтр для фільтрації очищеної води	1	Фільтротримач вертикальний, циліндричний. Матеріал для фільтрування – фторопласт, корпус – н/сталь Номінальна товщина фільтрації 5 мкм. Виробник: фірма «ЕкспресЭКО», м. Обмінськ, Росія [89].
СШ-83	Стерилізатор тунельний	1	Тунельний стерилізатор «ВИПС MED» прохідний з рухомою нержавістальною стрічкою, корисна ширина сітки конвеєра 600 мм, оснащений теплоелектронагрівачем. Укомплектований фільтрами для очищення повітря. Виробник: фірма «Klenzaid», Індія [95].
ГФ-84	Фасувальний автомат	1	Апарат для розливу(фасування) марки AFG-320V-LE, RRD. авомата фасувально-закупорювального, обладнаного пристроєм з кондиціонером і ламінаром, авомата для обкатування флаконів алюмінієвими ковпачками, стрічкового конвеєра. Продуктивність 132 до 320 флаконів за хвилину. Виробник фірма «Bosch» [96]
АВ-85	Автоклав	1	Паровий автоклав горизонтальний а промисловий на 1-у корзину САГ-12 ТОВ РОЗФУД Україна [97].
ГФ-86	Машина для наклеювання	1	Призначений для наклеювання липких етикеток (етикеток-самоклейок) на флакони. Імп. н/сталь аналог вітчизняної 12Х18Н10Т Швидкість наклеювання, 6000 флаконів за годину. Виробник: ЕСJ LIMITED, США [98].
ГФ-87	Стіл для упаковки готової продукції	3	Прямокутний, покритий пластиком [99].

РОЗДІЛ 8. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ

Технологічна схема біосинтезу декстрану включає допоміжні роботи (санітарна підготовка виробництва, підготовка повітря, підготовка та стерилізація поживних середовищ) та технологічний процес (підготовка посівного матеріалу та біосинтез *Leuconostoc mesenteroides*).

ДР 1. Санітарна підготовка виробництва

Обов'язковою частиною підготовчих робіт на біотехнологічних підприємствах є проведення санітарно-гігієнічних робіт. Основним спрямуванням санітарної підготовки виробництва є забезпечення мінімальної кількості контамінантів у всіх учасників виробничого процесу: в поживному середовищі, 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 здоров'я працівників підприємства. Санітарна підготовка виробництва реалізується виконанням робіт по щоденному генеральному прибиранні виробничих приміщень та підготовкою обладнання [24].

ДР 1.1. Підготовка персоналу

Персонал повинен бути одягнений в технологічний одяг. Переміщення персоналу обмежене. У виробничих приміщеннях забороняється прийом їжі. Не рідше 1 разу на квартал персонал має проходити технологічний інструктаж за вимогами, які висуваються до нього при роботі на даному виробництві з відповідним записом у журналі.

В умивальній кімнаті миють руки під краном теплою водою протягом двох хвилин, використовуючи миючий та дезінфікуючий засіб. Після обробки рук персонал одягає технологічний одяг.

ДР 1.2. Приготування миючих та дезінфікуючих засобів

					НУХТ БТЕК 04.01.26 КР ПЗ			
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Савченко М.Ю.			РОЗДІЛ 8. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ	Літ.	Арк.	Акрушів
Перевір.		Карлаш Ю.В.					83	138
Реценз.						Кафедра БТМ⁸³		
Н. Контр.								
Затверд.		Пирог Т.П.						

Миючі та дезінфікуючі засоби що використовуються в процесі виробництва мають бути визнаними в біотехнологічній практиці: розчин каустичної соди, хлорантоїн 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 [24].

ДР 1.2.1. Приготування робочого розчину каустичної соди

Для миття обладнання та комунікацій необхідно 13,2 м³ мийного засобу (див. розд. 2). Робочий розчин каустичної соди (2 %) готують в установці СІР-мийка. Для цього зважують за допомогою об'ємно-вагового дозатора 260 кг каустичної соди та додають 12 940 л води.

ДР 1.2.2. Приготування розчину «Хлорантоїну»

Робочий розчин «Хлорантоїн» готують у окремому збірнику який виготовлений з нержавіючої сталі. Препарат у вигляді порошку вносять у збірник додають воду та розчиняють при перемішуванні протягом 1–2 хв .

Для приготування робочих розчинів засобу використовують воду питну або технічну . Допускається використовувати гарячу воду за температури (60±5) °С для приготування розчинів засобу з метою прискорення його розчинення у воді.

ДР 1.3. Підготовка приміщень.

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

Стіни, двері і інші поверхні протирають губкою, змоченою дезінфікуючим розчином (біомой, хлорантоїн) з розрахунку 100–150 мл/м поверхні, потім цим же розчином миють підлогу.

ДР 1.3.1. Щоденне прибирання приміщень

Щоденне прибирання приміщень проводять після кожної зміни вологим способом. Його проводять у виробничих, лабораторних, підсобних і

побутових приміщеннях. При проведенні вологого прибирання використовують 0,2 % робочий розчин Хлорантоїну (від ДР 1.2.2).

ДР 1.3.2. Генеральне прибирання

Генеральне прибирання приміщень проводять 1 раз на тиждень.

У виробничих приміщеннях підлогу миють 0,2% розчином миючого засобу із розрахунку 100 мл/м² поверхні підлоги.

ДР 1.4. Підготовка обладнання та комунікацій.

Підготовку обладнання та комунікацій необхідно проводити для досягнення необхідного рівня чистоти та асептики.

ДР 1.4.1. Миття, дезінфекція та ополіскування

Миття обладнання проводять водою, протягом 2-5 хв. Далі оброблюють розчином хлорантоїну 0,2%, протягом 20 хвилин при температурі 40-50°C, для видалення наявних білково-жирових відкладень та забруднень неорганічного походження. Ополіскування проводять питною або технічною водою за температури 20°C протягом 5 хв.

ДР 1.4.2. Технічний огляд

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

ДР 1.4.3. Перевірка на герметичність

Ємкісне обладнання та комунікації перевіряють на герметичність шляхом створювання надлишкового тиску 0,2 МПа. Якщо впродовж 1 години тиск не знижується (за манометром), обладнання вважають герметичним. Фланцеві з'єднання та зварні шви перевіряють на герметичність за допомогою мильної води при повітряному тиску при 0,5 МПа.

Після перевірки обладнання на герметичність, подають гостру пару температурою 125 – 130 °C протягом 1 години [50].

ДР 1.4.4. Стерилізація обладнання

Стерилізація проводиться гострою парою температурою 120-130°C та тиском 0,28 МПа протягом 1 години. По закінченні стерилізації зупиняють подачу гострої пари, ставлять всі вузли під парового захисту та знижують тиск. При зниженні тиску проводять охолодження до температури 90 °С.

ДР 2. Підготовка стерильного технологічного повітря

Атмосферне повітря забруднене твердими або рідкими частинками, а також містить різноманітні мікроорганізми. Основною вимогою аераційного повітря є стерильність. Тому після забору атмосферного повітря, його очищують багатоступеневою системою.

ДР 2.1. Забір атмосферного повітря

Забір атмосферного повітря здійснюють на висоті 2-3 м від найвищого приміщення за допомогою пристрою для забору повітря.

ДР 2.2. Попереднє грубе очищення

Повітря очищується від крупних частинок на фільтрі грубої очистки. Ступінь очищення – 80 %.

ДР 2.3. Компресування повітря

Повітря стискають у компресорі до 0,35 МПа, стиснення повітря в компресорі призводить до підвищення його температури до 120–250 °С та збільшенню вмісту вологи.

ДР 2.4. Охолодження повітря та видалення зайвої вологи

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

ДР 2.5. Нагрівання повітря

Охоложене повітря підігрівають до 35 °С для попередження утворення конденсації пари на волокнах головного та індивідуальних фільтрів. Нагрів здійснюють у теплообміннику.

ДР 2.6. Очищення на головному фільтрі

Попереднє очищення повітря від мікроорганізмів здійснюють в головному фільтрі. Ступінь очищення – 95 %. Заміна фільтрувального матеріалу проводять 2 рази на рік. У разі забруднення, інфікування чи зволоження фільтруючого матеріалу проводять його заміну.

ДР 2.7. Очищення повітря в індивідуальному фільтрі

Всі інокулятори і ферментер оснащують індивідуальним фільтром для остаточної очистки повітря. Ступінь очищення досягає 99,999 %.

ДР 3. Приготування та стерилізація піногасників Пропінол Б-400

ДР 3.1. Приготування та стерилізація піногасника для інокулятора об'ємом 30 л.

Так як робочий об'єм поживного середовища становить 15,4 л, то кількість піногасника, якого необхідно приготувати та простерилізувати потрібно 15,4 мл відповідно.

У мірному циліндрі відміряють необхідну кількість піногасника. Вміст мірного циліндра переносять у колбу об'ємом 25 мл. Колбу закривають ватно-марлевою пробкою та стерилізують у автоклаві.

Стерилізацію проводять при температурі 131 °С, тиску 0,15 МПа впродовж 40 хв.

ДР. 3.2. Приготування на стерилізація піногасника для інокулятора об'ємом 250 л.

Робочий об'єм середовища 252 л, для такої кількості середовища необхідно простерилізувати 252 мл піногасника. Мірним циліндром відміряють необхідну кількість піногасника. У колбу місткістю 500 мл переносять піногасник, колбу закривають ватно-марлевою пробкою та стерилізують в автоклаві.

Стерилізацію проводять при температурі 131 °С, тиску 0,15 МПа впродовж 40 хв.

ДР. 3.3. Приготування на стерилізація піногасника для ферментера об'ємом 2500 л.

Для виробничого культивування у ферментері робочий об'єм якого 1450

л, необхідно підготувати 1,5 л піногасника.

Стерилізація відбувається у збірнику, який обладнаний електричною системою підігріву при температурі 131 °С, тиску 0,15 МПа упродовж 40 хв.

ДР 4. Приготування та стерилізація допоміжних розчинів

ДР 4.1. Приготування та стерилізація розчину NaOH

Розчин NaOH готується для подальшої стабілізації рН середовища.

Так як робочий об'єм композиції Б поживного середовища становить 378 л, то кількість титранту, яких необхідно простерилізувати та внести - 2 мл на 1 л середовища, тобто 0,75 л. Стерилізацію проводять в мірнику при температурі 131 °С протягом 30 хвилин, 0,15 МПа.

ДР 4.2. Приготування та стерилізація розчину HCl

Розчин соляної кислоти використовують для запобігання випадання фосфорних солей в осад. Так як робочий об'єм композиції Б поживного середовища становить (8+70+300= 378 л), то кількість титранту, яких необхідно простерилізувати та внести - 2 мл на 1 л середовища, тобто 0,75 л. Розчин готується з соляної кислоти концентрацією 36%. Для того, щоб приготувати

0,75 л розчину концентрацією 10 %, потрібно зробити розведення. Розрахунок проводимо за такою формулою:

$$V_1 = \frac{750 \times 10}{36} = 210 \text{ мл.}$$

Отже беремо 210 мл розчину соляної кислоти 36% конц., додаємо 540 мл води, та отримуємо 750 мл 10%-го розчину соляної кислоти.

Стерилізація буде проходити разом з поживним середовищем.

ДР 5. Приготування та стерилізація розчину сахарози для підживлення

На ваговому дозаторі попередньо зважують 362,3 кг сахарози. Далі поміщають в реактор змішувач та додають 537,7 л холодної питної води. Стерилізація відбувається у збірнику, який обладнаний електричною системою підігріву при температурі 112 °С, тиску 0,15 МПа упродовж 30 хв.

ДР 6 Приготування та стерилізація поживних середовищ

ДР 6.1. Приготування і стерилізація поживних середовищ для колб на качалках

Розрахунок необхідних кількостей компонентів для приготування середовища для вирощування посівного матеріалу в колбах на качалках наведений у *табл. 6.1.*

Таблиця 6.1

Розрахунок вмісту компонентів для приготування 1,4 л поживного середовища

Компонент поживного середовища	Конц., г/л	Вміст компонента у 1,4 л середовища, г	Композиція	К-сть води, мл	Конденсат, мл	Об'єм композиції, мл
Сахароза	300	420	А	266	-	700
Дріжджовий екстракт	5	7				
Пептон	5	7				
КН ₂ РО ₄	15	21	Б	678,9	-	700
NaCl	0,01	0,01				
MgSO ₄ ×7H ₂ O	0,01	0,01				
MnCl ₂ ×H ₂ O	0,01	0,01				
CaCl ₂	0,05	0,07				

ДР 6.1.1. Приготування та стерилізація композиції А

На технічних вагах у попередньо відтарованому хімічному стаканчику зважують 420 г сахарози, 7 г дріжджового екстракту та 7 г пептону, наважки переносять в колбу об'ємом 2 л, 266 мл дистильованої води, перемішують. Закривають колбу ватно-марлевою пробкою і стерилізують в автоклаві за температури 112 °С на 30 хв.

ДР 6.1.2. Приготування композиції Б

На аналітичних вагах зважують: 21 г КН₂РО₄, 0,01 г NaCl, 0,01 г MgSO₄×7H₂O, 0,01 г MnCl₂×H₂O, 0,07 г CaCl₂. Наважку поміщають у колбу об'ємом 2000мл, додають 679 мл питної води, перемішують. Закривають

колбу ватно-марлевою пробкою і стерилізують в автоклаві при температурі 135 °С упродовж 40 хв, тиск – 0,05 МПа.

Для запобігання випадання фосфорних солей в осад, рН середовища доводиться до значення 4,0 за допомогою 10 % соляної кислоти (ДР 4.2.) . Після стерилізації розчин охолоджується подачею холодної води в трубу апарата і його рН доводиться до значення 5,5 – 5,6 за допомогою стерильного 10 % розчину гідроксиду натрію (ДР 4.3.).

ДР 6.2. Приготування та стерилізація поживних середовищ для 25 л інокулятора

Розрахунок необхідних кількостей компонентів для приготування середовища для інокулятора наведений у *табл.6.2*.

Таблиця 6.2

Розрахунок вмісту компонентів для приготування 15,4 л поживного середовища

Компонент поживного середовища	Конц., г/л	Вміст компонента у 15,4 л середовища, кг	Композиція	К-сть води, л	Конденсат, л	Об'єм композиції, л
Сахароза	300	4,6	А	2	0,7	7,4
Дріжджовий екстракт	5	0,08				
Пептон	5	0,08				
КН ₂ РО ₄	15	0,16	Б	7	0,8	8
NaCl	0,01	0,0001				
MgSO ₄ ×7H ₂ O	0,01	0,0001				
MnCl ₂ ×H ₂ O	0,01	0,0001				
CaCl ₂	0,05	0,0005				

ДР 6.2.1. Приготування та стерилізація композиції А

На технічних вагах зважують 4,6 кг сахарози, 80 г дріжджового екстракту та 80 г пептону. Далі поміщають в реактор змішувач та додають 2 л холодної питної води. Закривають кришку реактора і стерилізують при температурі 112 °С упродовж 30 хв.

ДР 6.2.2. Приготування композиції Б

На аналітичних вагах зважують: 160 г $\text{KН}_2\text{PО}_4$, 0,1 г NaCl , 0,1 г $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$, 0,1 г $\text{MnCl}_2 \times \text{H}_2\text{O}$, 0,5 г CaCl_2 , наважки переносять у реактор, додають 7 л питної води, перемішують. Закривають кришку реактора і стерилізують в автоклаві при температурі 131 °С, тиск – 0,05 МПа протягом 40 хв.

Для запобігання випадання фосфорних солей в осад, рН середовища доводиться до значення 4,0 за допомогою 10 % соляної кислоти (ДР 4.1.). Після стерилізації розчин охолоджується подачею холодної води в трубу апарата і його рН доводиться до значення 5,5 – 5,6 за допомогою стерильного 10 % розчину гідроксиду натрію (ДР 4.2.).

ДР 6.3 Приготування та стерилізація поживних середовищ для 250 л інокулятора

Розрахунок необхідних кількостей компонентів для приготування середовища для інокулятора наведений у табл. 6.3.

Таблиця 6.3

Розрахунок вмісту компонентів для приготування 152 л поживного середовища

Компонент поживного середовища	Конц., г/л	Вміст компонента у 152 л середовища, кг	Композиція	К-сть Води, л	Конденсат, л	Об'єм композиції, л
Сахароза	300	46	А	26	8,4	82
Дріжджовий екстракт	5	0,8				
Пептон	5	0,8				

KH ₂ PO ₄	15	2,2	Б	60,8	7	70
NaCl	0,01	0,001				
MgSO ₄ ×7H ₂ O	0,01	0,001				
MnCl ₂ ×H ₂ O	0,01	0,001				
CaCl ₂	0,05	0,007				

ДР 6.3.1. Приготування та стерилізація композиції А

На ваговому дозаторі попередньо зважують 46 кг сахарози, 800 г дріжджового екстракту та 800 г пептону.. Далі поміщають в реактор змішувач та додають 26 л холодної питної води. Стерилізують при температурі 112 °С (тиск – 0,05 МПа) протягом 30 хв.

ДР 6.3.2. Приготування композиції Б

На технічних вагах зважують: 2,2 кг KH₂PO₄, на аналітичних вагах зважують 1 г NaCl, 1 г MgSO₄×7H₂O, 1 г MnCl₂×H₂O, 5 г CaCl₂, наважки переносять у реактор, додають 60,8 л питної води, потім додають розчин HCl (з ДР 4.2.) перемішують. Закривають кришку реактора і стерилізують в автоклаві при температурі 131 °С ,тиск – 0,05 МПа протягом 40 хв.

Для запобігання випадання фосфорних солей в осад, рН середовища доводиться до значення 4,0 за допомогою 10 % соляної кислоти (ДР 4.2.) . Після стерилізації розчин охолоджується подачею холодної води в трубу апарата і його рН доводиться до значення 5,5 – 5,6 за допомогою стерильного 10 % розчину гідроксиду натрію (ДР 4.3.).

ДР 6.4 Приготування та стерилізація поживного середовища для виробничого ферментера об'ємом 2,5 м³.

Для культивування в ферментері об'ємом 2,5 м³ необхідно приготувати 1,45 м³ поживного середовища. Вміст компонентів наведено у табл. 6.4.

Таблиця 6.4.

Розрахунок вмісту компонентів для приготування 1,45 м³ середовища

Компонент поживного середовища	Конц., г/л	Вміст компонента у 1,4 л середовища, кг	Композиція	К-сть Води, л	Конден-сат, л	Об'єм композиції, л
Сахароза	50	72,5		48,1	15	150

Дріжджовий екстракт	5	7,2	А			
Пептон	5	7,2				
KH ₂ PO ₄	15	21,7	Б	248,2	30	300
NaCl	0,01	0,015				
MgSO ₄ ×7H ₂ O	0,01	0,015				
MnCl ₂ ×H ₂ O	0,01	0,015				
CaCl ₂	0,05	0,07				
Підживлюючий розчин сахарози						
Сахароза	250	362,3	-	537,7	100	1000

ДР. 6.4.1. Приготування і стерилізація композиції А

На технічних вагах зважуємо 72 кг сахарози , 7,2 кг дріжджового екстракту, 7,2 кг пептону. Наважку поміщають у реактор, додають 48,1 л питної води, перемішують. Закривають кришку реактора і стерилізують при температурі 112 °С упродовж 30 хв.

ДР. 6.4.2. Приготування і стерилізація композиції Б

На технічних вагах зважують: 21,7 кг KH₂PO₄, на аналітичних вагах зважують 15 г NaCl, 15 г MgSO₄×7H₂O, 15 г MnCl₂×H₂O, 70 г CaCl₂. Наважку поміщають у реактор, додають 248,2 л питної води, перемішують. Закривають кришку реактора і стерилізують в автоклаві при температурі 131 °С , тиск – 0,05 МПа протягом 40 хв.

Для запобігання випадання фосфорних солей в осад, рН середовища доводиться до значення 4,0 за допомогою 10 % соляної кислоти (ДР 4.1.) . Після стерилізації розчин охолоджується подачею холодної води в трубу апарата і його рН доводиться до значення 5,5 – 5,6 за допомогою стерильного 10 % розчину гідроксиду натрію (ДР 4.2.).

ДР 7. Підготовка води

ДР 7.1. Одержання очищеної води

Підготовка води для виробництва лікарських засобів повинна здійснюватися у відповідності до вимог ДФУ (доповнення 1) до води очищеної. Система водопідготовки призначена для отримання води очищеної з метою подальшого її використання в технологічному процесі.

ДР 7.1.1. Забір води

Забір води здійснюється з міського трубопроводу за допомогою забірників (Н-44).

ДР 7.1.2. Груба фільтрація

Груба фільтрація дозволяє видаляти з води частинки розміром більше 50- 100 мкм. Як устаткування для грубої фільтрації використовуються фільтри з піщаним набиванням (Ф-45). Вибір сорту піску залежить від результатів аналізу води з урахуванням сезонних змін. Фільтр періодично промивається. Справність фільтра контролюється різницею тиску води до і після фільтру.

ДР 7.1.3. Пом'якшення води

Пом'якшення дозволяє понизити жорсткість води за рахунок видалення іонів кальцію і магнію перед подачею води для очистки на мембранах зворотного осмосу. Як устаткування на цій стадії можуть служити автоматичні пом'якшувачі, що працюють за принципом заміни іонів кальцію і магнію іонами натрію. Пом'якшувачі періодично регенеруються розчином хлориду натрію. Справність роботи пом'якшувача можна контролювати періодичним виміром жорсткості води на вході і на виході.

ДР 7.1.4. Фільтрування через вугільний фільтр

Після пом'якшення воду відфільтровують на фільтрах з активованим вугіллям (Ф-51) від найбільш шкідливих домішок, таких як вільний хлор, для подальшого пропускання її через системи зворотного осмосу.

ДР 7.1.5. Одержання води очищеної на установці зворотного осмосу

Вода після попередньої очистки подається на колони зворотного осмосу (ГФ-53), в яких відбувається очищення води від розчинених в ній

солей із селективністю не менше ніж 99,00 %. Обладнання являє собою системи мембран. Мембрани мають розміри пор 0,0005–0,001 мкм.

Для перебігу процесу необхідно створити надлишковий тиск (тиск, вищий за осмотичний) для примусового фільтрування води крізь мембрану, що робиться за допомогою однопотокового насосу (Н-52). Величина осмотичного тиску прямо пропорційна до концентрації розчинених речовин та абсолютної температури (температури за шкалою Кельвіна). Для прісної води, що містить солей 0,5–1,0 г/л, осмотичний тиск дорівнює 0,2–0,3 мПа. Для збільшення ефективності процесу використовується тангенціальна подача води до поверхні мембрани при рециркуляції. Контроль систем зворотного осмосу здійснюється вимірюванням питомої електричної провідності води на виході з системи.

ДР 7.1.6. Електродеіонізація води

Далі вода надходить на модуль електродеіонізації, який додатково видаляє розчинені солі таким чином, щоб при виході із установки електропровідність води складала не менше 4,3 мСм/см, як того вимагає ДФУ.

Устаткування для деіонізації являє собою колонки з іонообмінної смолою. Розрізняються деіонізатори роздільної дії (катионо-аніонообмінники) і змішаної дії.

ДР 7.1.7. Зберігання води

Автоматична система моніторингу стану води очищеної в системі зберігання і розподілу води очищеної дозволяє в режимі реального часу контролювати поточні параметри води очищеної і керувати елементами системи водопідготовки (автоматичними вентилями, насосами циркуляції і т. п.).

ДР 7.2. Одержання води для ін'єкцій

Воду для ін'єкцій одержують з води очищеної шляхом чотирьохступеневої дистиляції на установці для одержання ін'єкційної води (ГФ-55).

ДР 8. Приготування та стерилізація допоміжних розчинів

ДР 8.1. Приготування та стерилізація розчину NaOH

Стерилізацію проводять в мірнику при температурі 131 °С протягом 30 хвилин, 0,15 МПа.

ДР 8.2. Приготування та стерилізація розчину HCl

Розчин соляної кислоти концентрацією 35% наливається в збірник (Р-60). Перед подачею на стадію гідролізу нагрівається до 85 °С.

ДР 8.3. Приготування та стерилізація розчину NaOH

До складу препарату «Реополіглюкін» входить 0,9% натрію хлориду. Для його приготування в збірник (З-61) додаємо воду для ін'єкцій в розрахунку 9 г натрію хлориду на 1 л води.

ДР 9. Підготовка флаконів

ДР 9.1. Миття флаконів

Флакони в трибортовій тарі, на візках (ТР-79) передають на миття, яке проводиться очищеною водою (від ДР 2.1.7) за допомогою ультразвуку на машині автоматичного миття флаконів типу АМФ-9-6.

Безпосередньо перед подачею на АМФ вода очищена проходить через фільтр (Ф-82) з номінальною тонкістю фільтрації 5,0 мкм.

Температура води очищеної від 40 до 50 °С. Контроль температури за допомогою приладів контуру розподілу води очищеної. Тиск очищеної води на лінії – від 0,20 до 0,24 МПа.

ДР 9.2. Ополіскування флаконів

Флакони вручну подаються на накопичувальний стіл АМФ-9-6, потім за допомогою шнека ланцюгового транспортеру занурюються у ванну з водою. Ванна обладнана ультразвуковими магнітострикційними випромінювачами, що впливають на процес миття ультразвуком. Після чого флакони надходять до вузла ополіскування внутрішньої і зовнішньої поверхонь ін'єкційною водою (від ДР 2.2) (температурою від 80 до 95 °С), що надходить через форсунки.

ДР 9.3. Сушіння та стерилізація флаконів

Після ополіскування у флакони подається стиснуте повітря, за допомогою якого з флаконів видаляється залишкова волога і флакони переорієнтовуються «горлом вгору». Стиснуте повітря попередньо проходить через фільтр (Ф-81) з номінальною тонкістю фільтрації 0,2 мкм.

Флакони, що надходять із мийної машини АМФ-9-6 подаються за допомогою шнека на конвеєрну стрічку тунельного стерилізатора «Pyroklenz-600» (СШ-76) спочатку в зону сушіння-стерилізації, потім у зону стабілізації-охолодження.

Зони тунельного стерилізатора знаходяться в зоні ламінарного потоку стерильного повітря. Повітря за допомогою вентилятора через попередній фільтр подається на фільтр стерилізації «HEPA» при температурі 330-350 °С, що підтримується за допомогою регулюючого приладу пульта управління. Час перебування флаконів у зоні сушіння-стерилізації – 9 хв, у зоні охолодження-стабілізації – 5-7 хв. У зоні охолодження-стабілізації флакони охолоджуються стерильним повітрям до температури 50-60 °С. Флакони, що виходять з тунельного стерилізатора (СШ-83), подаються на накопичувальний стіл фасувального автомата (ГФ-86) у стерильну зону. Накопичувальний стіл знаходиться у зоні ламінарного потоку технологічного повітря.

Контроль температури здійснюється по реєструючому приладу, розташованому на пульті управління.

У разі потреби стерильні флакони можуть зберігатися в закритих кришками деках не більше 24 год в умовах, що виключають можливість порушення стерильності флаконів. Деки з флаконами маркують етикетками встановленого зразка із значенням назви матеріалу, номеру партії, кількості, дати та часу стерилізації, прізвища і підпису відповідального.

Тривалість операції підготовки флаконів – від 8,0 до 10,0 год.

ДР 10. Підготовка пробок

При надходженні на підприємство гумові пробки проходять вхідний контроль у ВКЯ і зберігаються на складі сировини та матеріалів в умовах,

закладених у АНД.

Після розтарення проводять попередній перегляд і сортування гумових пробок, відбраковуючи гумові пробки з видимими дефектами: відхиленням та зовнішнім виглядом, відтінок кольору, геометричні розміри. Брак збирають у контейнери, маркують етикетками і відправляють на утилізацію.

Підготовку пробок проводять на установці для миття, стерилізація і сушіння.

Стиснуте повітря, що подається на установку, проходить очищення на фільтрі з номінальною тонкістю фільтрації 10,0 мкм.

Пара, що надходить у камеру стерилізації установки, проходить очищення на фільтрі з номінальною тонкістю фільтрації 10,0 мкм і на фільтрі з номінальною тонкістю фільтрації 0,2 мкм. Тиск пари на лінії від 0,15 до 0,20 МПа.

Очищена вода, яка подається в камеру миття, проходить очищення на фільтрі з номінальною тонкістю фільтрації 5,0 мкм. Тиск очищеної води на лінії від 0,20 до 0,25 МПа.

Процес підготовки пробок проходить у чотири етапи:

I етап – миття I;

II етап – ополіскування;

III етап – стерилізація і сушіння;

ДР 10.1. Миття пробок

У камеру миття вручну порціями завантажують гумові пробки і подають очищену воду (від ДР 2.1.7) до верхнього рівня.

Для миття використовують миючий засіб каустична сода 2 %.

Процес миття ділять на два етапи, де I миття пробок ведеться при температурі очищеної води від 44 °С до 46 °С протягом 16 хв в автоматичному режимі. Контроль температури – за допомогою реєструючого приладку. Відцентровий насос перекачує пробки з водою з ємкості миття в ту ж ємкість (для видалення гумового пилу та інших механічних домішок). По закінченні цього етапу автоматично відкривається клапан зливу води (вентиль подачі

перекривається), промивні води передають у збірник-нейтралізатор цеху ХО. При показнику рН у межах 6,5 – 9,0 і температурі не вище 40 °С промивні води направляють у каналізацію. Промивні води зливають протягом 10 хв.

II етап. Перед початком процесу апарат миття наповнюють холодною очищеною водою, яку підігрівають до температури від 44 °С до 46 °С з допомогою пари в автоматичному режимі. Контроль температури – за допомогою приладу реєструючого. При досягненні водою рівня пробок додають миючий засіб каустичної соди 2%.

Подача води в апарат не припиняється протягом всього етапу. Перемішування пробок механічною мішалкою і циркуляція за допомогою насоса припиняється за 2 хв до закінчення. Тривалість миття складає 24 хв, по закінченні якого автоматично відкривається клапан зливи води (вентиль подачі води перекривається) у збірник-нейтралізатор цеху ХО.

При рН у межах 6,5-9,0 і температурі не вище 40 °С промивні води направляють у каналізацію. Вода зливається 15 хв.

ДР 10.2. Ополіскування пробок

Ополіскування пробок очищеною водою (від ДР 2.1.7) ведуть протягом 32 хв з переливом через зливальний карман. Температура очищеної води від 44 °С до 46 °С, контроль температури – за допомогою приладу реєструючого. Доливання і переливання очищеної води не припиняється протягом всього етапу. Промивні води передають у збірник-нейтралізатор цеху ХО. Воду з рН 6,5-9,0 і температурою не вище 40 °С протягом 15 хв зливають в каналізацію.

ДР 10.3. Стерилізація і сушіння пробок

У посудину подають пару для нагрівання пробок до температури від 120 °С до 124 °С при тиску від 0,11 до 0,13 МПа. Контроль тиску – за допомогою мановакууметра. Тривалість процесу стерилізації складає 48 хв. Після стерилізації починається процес сушіння.

Сушіння здійснюється стерильним стиснутим повітрям і вакуумом. Стерильне стиснене повітря надходить в апарат стерилізації підігрітим за допомогою ТЕНів до 70 °С. Посудина періодично обертається на 180°, у

результаті чого стікає вода, що утримується в порожнинах пробок. Здійснюється контроль температури процесу сушіння та контроль тиску – за допомогою мановакууметра. Тривалість процесу сушіння складає 80 хв.

По закінченні сушіння подача повітря в апарат припиняється. Упевнившись у відсутності залишкового тиску в апараті стерилізації, відкривають люк вивантаження і перевантажують пробки в рухомі ємкості для стерильних пробок, що входять у комплект установки. Ємкості попередньо обробляють розчином перекису водню (3,0%) і розчином спирту етилового (76%).

Ємкості з партією стерильних пробок маркують етикетками встановленого зразка із значенням назви матеріалу, номеру партії, кількості, дати та часу стерилізації, прізвища і підпису відповідального.

Термін зберігання стерильних пробок – не більше 24 год в умовах, що виключають можливість порушення стерильності. Стерильні гумові пробки передаються на стадію укупорки і закатування флаконів (до ТП 18.2).

Тривалість операції підготовки пробок складає від 7,5 до 8,0 год.

ДР 11. Підготовка алюмінієвих ковпачків

При надходженні на підприємство гумові пробки проходять вхідний контроль і зберігаються на складі сировини та матеріалів в умовах, закладених у АНД.

Після розтарення проводять перегляд і сортування ковпачків, відбраковуючи ковпачки з порушеною формою, забруднені, темні чи в плямах, такі, що мають вм'ятини, зрізи та інші дефекти. Брак збирають в контейнери, маркують етикетками і відправляють на утилізацію.

ДР 11.1. Миття і ополіскування ковпачків

Здійснюють на установці для миття алюмінієвих ковпачків.

Очищена вода (від ДР 2.1.7) для миття ковпачків, нагріта в теплообміннику до 60 °С (Т-72). Далі очищена вода проходить крізь фільтр з номінальною тонкістю фільтрації 5,0 мкм. Тиск очищеної води на лінії від 0,20 до 0,25 МПа.

Після перегляду ковпачки завантажують у касети.. Касети вручну завантажують у барабан по дві в одну секцію. У камеру миття вручну заливають миючий засіб каустичної соди 2%.

Камера миття автоматично заповнюється водою до заданого рівня. температура миття від 35 до 60 °С. Контроль температури – за допомогою термометра. Миття продовжується 22 хв і задається програмою. Через 22 хв включається клапан доливання очищеної води. Злив води відбувається через зливальну трубу до датчика нижнього рівня в збірник-нейтралізатор цеху ХО.

Ополіскування проводять водою очищеною з температурою від 35 до 60 °С протягом 45 хв.

При митті та ополіскуванні ковпачків барабан обертається з реверсуванням через 1(4) хв. Тривалість процесів миття та ополіскування задається програмою.

Ковпачки вивантажують у нержавсталеві деки шаром 30-40 мм, деки закривають кришками.

ДР 11.2. Стерилізація ковпачків

Проводяться в апараті для повітряної термообробки (СШ-76) при температурі від 178 до 182 °С протягом 60 хв. Здійснюється контроль температури – за допомогою приладу реєструючого. Після стерилізації деки з ковпачками вивантажують у приміщення для охолодження класу чистоти В. Термін зберігання стерильних алюмінієвих ковпачків – не більше 24 год.

Ємкості із стерильними алюмінієвими ковпачками маркують етикетками встановленого зразка із значенням назви матеріалу, номеру партії, кількості, дати та часу стерилізації, прізвища і підпису відповідального.

Тривалість операції підготовки алюмінієвих ковпачків – від 7,5 до 8,0 год.

ТП 12. Підготовка посівного матеріалу

ТП.12.1. Підтримання колекційної культури

Колекційну культуру *Leuconostoc mesenteroides* PCSIR-4 зберігають у пробірках на агаризованому середовищі МПА в холодильнику при 2 – 4 °С

протягом 2 місяців. Всі роботи з колекційною культурою проводяться в асептичних умовах.

ТП 12.2. Одержання робочої культури з колекційної

Колекційну культуру, що зберігається в пробірках на середовищі МПА, розсівають петлею до ізольованих колоній на чашки Петрі і вирощують при температурі 24 °С упродовж 48 год.

ТП 12.3. Вирощування посівного матеріалу для засіву колб

Для засівання готують посівний матеріал глибинним способом. Культуру *L. mesenteroides* PCSIR-4 засівають на скошене агаризоване середовище (МПА) та вирощують протягом 18 годин при температурі 26°С та рН 7.

ТП 12.4. Підготовка поживного середовища та вирощування інокуляту в колбах на качалках

Для вирощування рідкого посівного матеріалу в колбу об'ємом 2 л в асептичних умовах вносимо 0,7 л розчину композиції А (від ДР 6.1.1) та 0,7 л розчину композиції Б (від ДР 6.1.2). Потім в кожному з 4 качалочних колб додають по 150мл поживного середовища.

В стерильних умовах в кожному качалочному колбу вносимо посівну культуру *L. mesenteroides* вирощену на скошеному агаризованому середовищі (ГКА) в пробірках. Колби ставимо на качалки з частотою обертання 250 об/хв.

ТП 12.5. Вирощування посівного матеріалу в інокуляторі об'ємом 25 л.

В інокулятор об'ємом 25 л в асептичних умовах зливаємо 7,4 л розчину композиції А (від ДР 6.2.1). 8 л розчину композиції Б (від ДР 6.2.2) Потім перекачуємо 1,5 л посівного матеріалу із засівної колби через патрубок відкривши вентиль (від ТП 12.4). Культивування проводиться протягом 18 годин при $T = 26 \pm 1$ °С при постійному перемішуванні (частота обертання 250 об/хв) і подачі очищеного повітря, рН = 7 на сталому рівні.

ТП 12.6. Вирощування посівного матеріалу в посівному апараті об'ємом 250 л.

У посівний апарат об'ємом 250 л вносимо 82 л розчину композиції А (від ДР 6.3.1) та 70 л розчину композиції Б (від ДР 6.3.2) та додаємо посівний матеріал (від ТП 12.5) по посівній лінії, що знаходиться під паровим захистом.

Культивування проводиться протягом 18 годин при $T = 26 \pm 1$ °С, рН = $7 \pm 0,1$ при постійному перемішуванні (частота обертання 250 об/хв) і подачі очищеного повітря.

В апараті створюється надлишковий тиск ($P = 0,02 - 0,05$) подачею стерильного стисненого повітря.

З дотриманням правил асептики з посівного апарату відбирають проби через кожні 8 годин, в якій аналізують: вміст вуглецю, азоту та мікробіологічну чистоту.

Процес закінчують по досягненні 24 годин культивування. Після закінчення культивування культуральну рідину перекачують в ферментер об'ємом 2,5м³ через трубу перетискання.

ТП 13. Біосинтез

Виробниче культивування здійснюють у ферментері з об'ємом 2,5 м³. У попередньо простерилізований ферментер в асептичних умовах за допомогою винтового насоса вносять стерильне поживне середовище (від ДР 6.5.1., ДР 6.5.2) Через вентель – посівний матеріал (від ТП 12.6) і вмикають перемішуючий пристрій. Перемішуючим пристроєм слугує турбінна мішалка закритого типу, якою обладнаний ферментер. Швидкість перемішування становить 900 об/хв. Ферментер обладнаний автоматичною системою піногасіння до якої подається піногасник (від ДР 3.4.). Також подається стерильне повітря (від ДР 2.7.). Тривалість виробничого культивування становить 72 годин при температурі 30-32 °С.

В апараті створюється надлишковий тиск ($P = 0,02 - 0,05$) подачею стерильного стисненого повітря.

З дотриманням правил асептики з посівного апарату відбирають проби через кожні 8 годин, в якій аналізують: вміст вуглецю, азоту, вміст декстрану

та мікробіологічну чистоту.

Кожні 5 годин відбирають проби для аналізу процесу ферментації (визначення концентрації біомаси, концентрації джерела вуглецю і азоту у культуральній рідині) . Процес ферментації орієнтовно проводять до 24 години, остаточну зупинку процесу здійснюють при досягненні максимальної концентрації біомаси становитиме : у сухому залишку 5 г/л.

ТП 14. Відділення біомаси від культуральної рідини

Перша стадія у процесі виділення декстрану це відділення біомаси від культуральної рідини та отримання супернатанту, що містить готовий продукт ЕПС.

ТП 14.1. Попередня обробка культуральної рідини

ТП 14.1.1 Розбавлення водою

У реактор (Р-62) ємкістю 8 000 літрів, оснащений мішалкою, перекачують культуральну рідину, отриману в процесі біосинтезу. До культуральної рідини додають 3 об'єми дистильованої води, тобто 4300 літрів, ретельно перемішують. Кількість обертів мішалки становить 180 об./хв..

ТП 14.2. Відділення декстрану

ТП 14.2.1. Сепарування культуральної рідини

Після зменшення в'язкості, культуральна рідина за допомогою насосу (Н-63) надходить до сепаратору (С-64), де відбувається процес осадження клітин-продуцента. Сепарування (С-64) відбувається за таких параметрів: частота обертання $W = 5\ 000$ об/хв., протягом 30 хвилин. Отриманий супернатант переходить на наступну стадію кислотного гідролізу до збірника (Р-65). Осад знешкоджують.

ТП 15. Деструкція полісахариду

ТП 15.1. Розчинення декстрану.

Осад, що утворився, надходить у реактор (Р-65) об'ємом 6 300 л. До нього додають ін'єкційну воду для розчинення полісахариду. рН суспензії, що

утворилася буде близькою до 6,0. Воду додають у кількості 1:1 (1 об'єм води та 1 суспензії).

ТП 15.2. Кислотний гідроліз

Після отримання водного розчину декстрану, необхідно провести його деструкцію за допомогою соляної кислоти. Процес проходить таким чином: за допомогою насосу подають 10 % розчин соляної кислоти (нагрітий до температури 85⁰ С) у реактор із водним розчином декстрану до отримання рН 1,0-1,5. Ретельно перемішують протягом декількох хвилин.

ТП 15.3 Нейтралізація кислоти

Процес проводять у тому ж реакторі (Р-65), де проводився процес деструкції. До отриманого розчину (вода для ін'єкцій, соляна кислота та декстран) додають 10 % розчин NaOH для нейтралізації соляної кислоти до рН 6,0-6,5. Маємо готовий розчин декстрану з фракціями різної молекулярної маси.

ТП. 16. Очищення полісахариду

ТП 16.1. Ультрафільтрація розчину

Розділення декстрану на фракції буде здійснюватися на ультрафільтраційній установці «Амикон» (США) (УФ-67). З реактору (Р-65) уже готові фракції декстрану різної молекулярної маси перекачують насосом (Н-68) до ультрафільтраційної установки. Мембрани виготовлені з поліелектролітного комплексу, робочий тиск 0,38 МПа. Процес проходить таким чином, що на мембрані затримується високомолекулярна фракція, а низькомолекулярна (35 000-45 000 Да) проходить через мембрану і надходить у реактор (Р-26).

ТП 17. Стерилізаційна фільтрація

Розчин зі збірника стерильно фільтрують під тиском стиснутого повітря від 0,14 до 0,16 МПа на попередньо прострелізованій і перевіреній на герметичність установці «Millipore». Для стерильної фільтрації використовують мембранні фільтри з розміром пор 0,22 мкм.

Стерильний розчин збирають в стерильний приймач – скляний балон, який має сорочку для подачі заохолодженої води. Процес фільтрування і розливу у флакони проводять одночасно. Тиск контролюють за допомогою манометра.

ПМВ 18. Пакування у первинну тару

ПМВ 18.1. Розлив у пляшки

Розлив стерильного розчину Реополіглюкіну у флакони об'ємами 400 мл проводять на автоматі фірми «Bosch» (ГФ-84). Допускається відхилення в дозуванні $\pm 5\%$.

ПМВ 18.2. Укупорка флаконів стерильними гумовими пробками і обжим стерильними алюмінієвими ковпачками

Флакони з розчином закупорюють гумовими пробками і обжимають стерильними алюмінієвими ковпачками на закупорювально-закаточному автоматі (ГФ-84).

Закатані флакони в касетах в супроводі операційного листа на кожну серію і аналітичного листа на Реополіглюкін. Флакони, які мають дефекти закатування передають на повторну закатку.

ТП 19. Стерилізації препарату «Реополіглюкін» в флаконах

Після розливу та закупорювання препарату, буде проводитися його стерилізація в автоклаві (АВ-85) протягом 30 хв при 120 °С.

ПМВ 20. Маркування флаконів Реополіглюкіну

Етикетки-самоклейки проходять вхідний контроль якості виготовлення на відповідність параметрам якості специфікації та у супроводженні аналітичного листа результатів вхідного контролю друкованої продукції, надходять в цех.

На етикетці флакону англійською, українською та російськими мовами вказують назву препарату, українською та російською мовами вказують виробника та його товарний знак, вміст декстрану у одному флаконі в грамах, «Стерильно», «Внутрішньовенно», умови зберігання, номер реєстраційного посвідчення, номер серії, термін придатності.

Маркування флаконів проводять на етикувальній машині, на якій проводиться нанесення етикетки-самоклеїки на флакони. На шрифтотримачі набирають номер серії і термін придатності, встановлюють на принтер, на який подають осушене стиснуте повітря під тиском від 0,4 до 0,6 МПа.

ПМВ 21. Упаковка флаконів в транспортну тару

Пачки, етикетки групової упаковки та інструкції для медичного застосування проходять вхідний контроль якості виготовлення на відповідність параметрам якості НД вхідного контролю та у супроводженні аналітичного листа надходять в цех.

ЗВ 22. Знешкодження відходів

Відпрацьовані робочі розчини мийних та мийно-дезінфікуючих засобів, воду та аераційне повітря знешкоджують.

ЗВ 22.1. Знешкодження газоподібних відходів

Відпрацьоване повітря, що надходить від *ТП 12.4, ТП 12.5 ТП 13.1*, відправляють у системи знешкодження повітряних відходів.

ЗВ 22.2. Знешкодження рідких відходів

Розчини миючих та дезінфікуючих засобів від *ДР 1.3.1, ДР 1.3.2., ДР 1.4.1*, знешкоджують в аеротенках очисних споруд.

РОЗДІЛ 9. КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА

9.1. Карта постадійного контролю

Таблиця 9.1

Номер контрольної точки та назва стадії	Об'єкт контролю і показник, що визначається	Методи контролю	Періодичність перевірки та порядок відбору проб	Нормативна характеристика показника, що визначається
1	2	3	4	5
К _x 1.2.1 Підготовка робочого розчину Каустичної соди	Концентрація розчину каустичної соди	Хімічний метод, термометр технічний	Після приготування розчинів	C = 2 %
К _x 1.2.2 Приготування робочого розчину Хлорантоїну	Концентрація розчину Хлорантоїну	Хімічний метод, термометр технічний	Після приготування розчинів	C = 0,2 %
К _т , К _м 1.3.1, 1.3.2 Підготовка виробничих приміщень	М/б чистота поверхонь виробничих приміщень (стіни, підлога, двері)	Змиви тампонами або метод відбитків	Після прибирання	В змивах з площею 10 x 10 см допускається ріст не більше 50 м/о (бактерій і грибів сумарно);
К _т 1.4.1 Технологічний контроль миття обладнань та комунікацій	Обладнання та комунікації, температура	Термометр технічний, годинник	Під час проведення миття	t = 40-50 °C, τ = 20 хв
К _т 1.4.2, 1.4.3 Технологічний контроль герметичності обладнання	Обладнання та комунікації, тиск	Датчик	Після миття та ополіскування обладнання	P = 0,02 МПа, τ = 1 год
К _т , К _м 1.4.4 Стерилізація обладнання	Обладнання, режим стерилізації вузлів, тиск, температура, мікробна контамінація.	Манометр, термометр м/б метод, висіви на чашки Петрі	Температура та тиск визначаються безперервно під час виробничого процесу.	p = 0,003, 0,005 Мпа, t = 125-130°C, τ = 1 год

НУХТ БТЕК 04.01.26 КР ПЗ

Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата
Розроб.		Савченко М.Ю.		
Перевір.		Карлаш Ю.В.		
Реценз.				
Н. Контр.				
Затверд.		Пирог Т.П.		

**РОЗДІЛ 9. КОНТРОЛЬ
ВИРОБНИЦТВА**

Лім.	Арк.	Акрушів
	108	138

Кафедра БТМ¹⁰⁸

К _Т 2.2 Попереднє очищення від пилу та механічних часточок	Повітря, ступінь чистоти	Часточки бруду; манометр	Безперервно при подачі повітря	Е = 80%
К _Т 2.3 Компресування повітря	Повітря, температура, тиск стиснення повітря	Термометр, манометр технічний	Після компресування повітря	p = 0,35 Мпа, t = 120-250 °С
К _Т 2.4 Охолодження повітря та видалення зайвої вологи	Повітря, температура, вологість повітря	Термометр технічний, психрометричний метод	Після охолодження повітря, видалення зайвої вологи	t = 25-40°С, W=60-70%
К _Т 2.5 Нагрівання повітря	Повітря, температура	Термометр технічний	Після нагрівання	t = 40-50°С
К _Т 2.6 Очищення на головному фільтрі	Повітря, вміст часток, перепад тисків	Манометр, перевірка ступеня очищення згідно паспорту	Після очищення повітря у головному фільтрі	Е = 95 %
К _Т 2.7 Очищення повітря в індивідуальному фільтрі	Повітря, ступінь чистоти	Часточки бруду; манометр	Безперервно при подачі повітря	Е = 99%
К _М К _Т 3.1 Приготування та стерилізація піногасника для інокулятора об'ємом 25л.	температура, час, стерильність	технічні ваги	мікробіологічний контроль після стерилізації	t = 131 °С, p = 0,15 МПа, τ = 40 хв, відсутність мікробіоти
К _М К _Т 3.2 Приготування та стерилізація піногасника для інокулятора об'ємом 250л.	температура, час, стерильність	технічні ваги	мікробіологічний контроль після стерилізації	t = 131 °С, p = 0,15 МПа, τ = 40 хв, відсутність мікробіоти
К _М К _Т 3.3 Приготування та стерилізація піногасника для ферментера об'ємом 2500л.	температура, час, стерильність	технічні ваги	мікробіологічний контроль після стерилізації	t = 131 °С, p = 0,15 МПа, τ = 40 хв, відсутність мікробіоти
К _М К _Т 4.2	концентрація	хімічний	Після	С = 10%

Приготування HCl з 36%			приготування розчинів	
К _М К _Т 4.1 Приготування та Стерилізація NaOH	температура, час, стерильність, концентрація	технічні ваги; хімічний	мікробіологічний контроль після стерилізації	t = 131 °C, τ = 30 хв, C = 10%, відсутність мікробіоти
К _М К _Т 5 Приготування та стерилізація сахарози для підживлення	температура, час, стерильність	технічні ваги	мікробіологічний контроль після стерилізації	t = 112 °C, τ = 30 хв, відсутність мікробіоти
К _М К _Т 6.1.2 Приготування та стерилізація поживного середовища	Композиція Б, температура, час, стерильність	технічні ваги	мікробіологічний контроль після стерилізації	V=750мл, t = 131 °C, τ = 40 хв, відсутність мікробіоти
К _М К _Т 6.2.1 Приготування та стерилізація композиції А	Композиція А, температура, час, стерильність	технічні ваги	мікробіологічний контроль після стерилізації	t = 112 °C, τ = 30 хв, відсутність мікробіоти
К _М К _Т 6.2.2 Приготування та стерилізація композиції Б	Композиція Б, температура, час, стерильність	технічні ваги	мікробіологічний контроль після стерилізації	t = 131 °C, τ = 40 хв, відсутність мікробіоти
К _Т , К _М 6.3.1 Приготування та стерилізація композиції А	Композиція А, температура, час, тиск, стерильність	Манометр технічний, годинник, м/б контроль об'ємний дозатор	Тиск визначається під час стерилізації, м/б контроль після стерилізації	t = 112 °C, τ = 30 хв, відсутність мікробіоти
К _Т , К _М 6.3.2 Приготування та стерилізація композиції Б	Композиція Б, температура, час, тиск, стерильність	Манометр технічний, годинник, м/б контроль об'ємний дозатор	Тиск визначається під час стерилізації, м/б контроль після стерилізації	t = 131 °C, τ = 40 хв, відсутність мікробіоти
К _Т , К _М 6.4.1 Приготування та стерилізація композиції А	Композиція А, температура, час, тиск, стерильність	Манометр технічний, годинник, м/б контроль об'ємний	Тиск визначається під час стерилізації, м/б контроль після	t = 112 °C, τ = 30 хв, відс. мікробіоти

		дозатор	стерилізації	
К _т , К _м 6.4.2 Приготування та стерилізація композиції Б	Композиція Б, температура, час, тиск, стерильність	Манометр технічний, м/б контроль об'ємний дозатор	Тиск визначається під час стерилізації, м/б контроль після стерилізації	t = 131 °С, τ = 40 хв, відс. мікробіоти
К _м К _т 6.5.1 Приготування та стерилізація композиції А	Композиція А, температура, час, тиск, стерильність	Манометр технічний, годинник, м/б контроль об'ємний дозатор	Тиск визначається під час стерилізації, м/б контроль після стерилізації	t = 112 °С, τ = 30 хв, відсутність мікробіоти
К _т , К _м 6.5.2 Приготування та стерилізація композиції Б	Композиція Б, температура, час, тиск, стерильність	Манометр технічний, м/б контроль об'ємний дозатор	Тиск визначається під час стерилізації, м/б контроль після стерилізації	t = 131 °С, τ = 40 хв, відс. мікробіоти
К _х , К _м 7.2. Одержання інекційної води	Мікробіологічний контроль, вміст іонів, механічних часток	Хімічний метод, візуальний огляд, мікробіологічний контроль	Після приготування розчину	Відсутність мікробіоти, та механічних часток
К _х , К _т , К _м 8.1. Приготування та стерилізація розчину гідроксиду натрію	Концентрація розчину гідроксиду натрію, стерилізація	Хімічний метод, технічний термометр, мікробіологічний контроль	Після приготування розчину	C=10 %
К _х 8.2. Приготування розчину соляної кислоти	Концентрація розчину соляної кислоти	Хімічний метод	Після приготування розчину	C=10%
К _т 9 Підготовка флаконів	Температура миття, тиск води на лінії	Термометр, манометр	Під час миття флаконів	t = 40-50°С, P 0,2-0,24 МПа
К _т 10 Підготовка гумових пробок	Температура та тривалість миття	Міст реєструючий, автоматичний режим	Під час миття пробок	t = 44-46 °С, τ = 16 хв
К _т 11 Підготовка алюмінієвих ковпачків	Температура, тривалість миття	Реєструючий прилад, автоматичний режим	Під час миття ковпачків	t = 35-60°С, τ = 22 хв

Продовження таблиці 9.1

Кт, Км 12.1. Підтримання колекційної культури	Температура, час, асептичність	Термометр технічний, мікробіоло гічний контроль	Температура , час та зовнішній вигляд визначається безперервно під час підтримання культури	$t = 3-4\text{ }^{\circ}\text{C}$, $\tau = 3-4$ місяці., відсутність сторонньої мікробіоти
Км, Кт 12.2. Одержання робочої культури на агаризованому середовищі	Температура, час, асептичність	Термометр технічний, годинник, мікробіоло гічний контроль	Температура , час і зовнішній вигляд визначається під час виробничого процесу. Мікробіоло гічний контроль по закінченню процесу	$t = 30\text{ }^{\circ}\text{C}$, $\tau = 48$ год, відсутність сторонньої мікробіоти
Кт, Км 12.3 Вирощування культури на агаризованих середовищах	Посівний матеріал, тривалість вирощування, температура, швидкість перемішування, мікробіологічна чистота культури	Термометр технічний, годинник, тахометр, мікробіоло гічний контроль	Після вирощуванн я культури в колбах на качалках	$t = 30\text{ }^{\circ}\text{C}$, $\tau = 48$ год, $w=240$ об/хв., відсутність сторонньої мікробіоти
Кт, Км 12.4 Вирощування посівного матеріалу в колбах на качалках	Посівний матеріал, тривалість вирощування, температура, швидкість перемішування, мікробіологічна чистота культури	Термометр технічний, годинник, манометр, тахометр, мікробіоло гічний контроль	Під час вирощуванн я культури в інокуляторі і в кінці процесу	$t = 30\text{ }^{\circ}\text{C}$, $\tau = 48$ год, $w=240$ об/хв. відсутність сторонньої мікробіоти
Кт, Км 12.5. Вирощування посівного матеріалу в інокуляторі 25 л.	Посівний матеріал, тривалість вирощування, температура, швидкість перемішування, мікробіологічна чистота культури	Термометр технічний, годинник, манометр, тахометр, мікробіоло гічний контроль	Під час вирощуванн я культури в інокуляторі і в кінці процесу	$t = 30-32\text{ }^{\circ}\text{C}$, $\tau = 72$ год, $w=900$ об/хв., відсутність сторонньої мікробіоти
Кт, Км 12.6. Вирощування посівного	Посівний матеріал, тривалість	Термометр технічний, годинник,	Під час вирощуванн я культури в	$t = 30-32\text{ }^{\circ}\text{C}$, $\tau = 72$ год, $w=900$ об/хв.,

Продовження таблиці 9.1

матеріалу в інокуляторі 250 л.	вирощування, температура, швидкість перемішування, мікробіологічна чистота культури	манометр, тахометр, мікробіологічний контроль	посівному апараті і в кінці процесу	відсутність сторонньої мікробіоти
Кт, Км, Кх 13 Біосинтез	Посівний матеріал, тривалість культивування швидкість перемішування, вміст декстрану рН, мікробіологічна чистота культури	Термометр технічний, годинник, тахометр, манометр, мікробіологічний контроль, рН метр, колориметричний метод	Під час вирощування культури у ферментері. Відбір проби культуральної рідини відбувається кожні 8 год	$t = 24\text{ }^{\circ}\text{C}$, $\tau = 18\text{ год}$, $w=900\text{ об/хв.}$, відсутність сторонньої мікробіоти, концентрація -90 г/л
Кт 14.1.1. Розбавлення водою	Об'єм, температура, швидкість перемішування	За датчиком рівня, технічний термометр, тахометр	Під час процесу	$1 V_{\text{к.р.}} = 1 V_{\text{води}}$ $T=80\text{ }^{\circ}\text{C}$ $W=180\text{ об/хв}$
Кт 14.2.1. Сепарування	Кількість обертів, час, швидкість подачі	Годинник, тахометр технічний витратомір	Під час процесу перед початком	$n=5\text{ }000\text{ об/хв.}$, $t = 15\text{ хв}$, $v = 10\text{ л/хв}$
Кт, Кх 15.1. Розчинення ЕПС	Об'єм, температура, рН, стерильність	За датчиком рівня об'єму, за датчиком рН, технічний термометр	Під час процесу	$1 V_{\text{сусп.}} = 1 V_{\text{води}}$, $\text{pH}=6$. $T=80\text{ }^{\circ}\text{C}$,
Кх 15.2. Кислотний гідроліз	Об'єм, концентрація кислоти, рН	За датчиком рівня, за датчиком рН.	Під час процесу	$\text{pH}=1,0-1,5$
Кх 15.3 Нейтралізація кислоти	Об'єм та концентрація гідроксиду натрію, рН	За датчиком рівня за датчиком рН.	Під час процесу	$\text{pH}=6,0-6,5$

Кт 16.1. Ультрафільтрація розчину	Тиск, стерильність	Манометр, мікробіологічний контроль	Під час процесу	P=0,38 МПа
Км 17 Стерилізаційна фільтрація	стерильність	Мікробіологічний контроль,	Після закінчення процесу	відсутність мікробіоти
Кт,Кх 18.1. Розлив у пляшки	Об'єм, в'язкість, рН, молекулярну масу, кількісне визначення декстрану, пірогени, токсичність, механічні домішки	віскозиметричний метод, хімічний метод	Після закінчення процесу	V=0,4 л, в'язкість 5,5 дл/г, рН=4,0-6,5; Мг(декс.)=35-45 кДа, m=40г
Кт,Км,Кх 19 Стерилізація в автоклаві	Стерильність, Температура, час	Мікробіологічний контроль, технічний термометр, годинник	Під час та після закінчення процесу	відсутність мікробіоти, 30 хв при 120 °С

9.2 Мікробіологічний контроль

Першим етапом мікробіологічного контролю є перевірка культуральної рідини на чистоту за допомогою прямого мікроскопіювання (у пробах повинні бути тільки колонії біологічного агента – *Leuconostoc mesenteroides* PCSIR-4).

Дрібні коки, розташовані як поодинокі і попарно (25%), так і у вигляді ланцюжків (75%) витягнутої форми довжиною 0,5 – 0,7 × 0,7 – 1,2 мкм. Іноді спостерігаються довгі ланцюжки із коротких паличок з заокругленими кінцями. Не утворюють спори та нерухливі. За типом дихання *Leuconostoc mesenteroides* є факультативним анаеробом. Ростуть досить повільно, утворюючи дрібні, іноді слизисті колонії на середовищах з сахарозою.

При візуальному вивченні колоній, які вирости на поживному середовищі в термостаті при температурі 24°C і при використанні

бінокулярної лупи при звичайному освітленні можна побачити колонії в S-формі не більше 2 мм в діаметрі, матові, зернисті, з рівними краями [12].

Але деякі мікроорганізми мають надзвичайно малі розміри, їх буде не видно у мікроскопі, тому необхідно зробити висів до ізольованих колоній на м'ясо-пептонний агар (МПА) (для бактерій) та глюкозо-картопляний агар (ГКА) (для грибів і дріжджів). Посіви на ГКА інкубують при 30 °С, результати посівів рахувати через 2 – 4 діб інкубування.

Після інкубації посівів на середовищах МПА не повинно бути виявлено ріст сторонньої мікрофлори, на середовищі ГКА – грибів і дріжджів. Мікробіологічний контроль здійснюють кожні 4 години [100].

9.3 Визначення концентрації джерела вуглецю

Кондуктометричний біосенсор на основі триферментної системи для визначення сахарози

Підготовка проби.

По закінченню ферментації відбирають пробу, далі розчин відфільтровують, для відділення біомаси. Отриманий фільтрат (супернатант) використовують у дослідженні.

Матеріали і методи.

У дослідженнях використовували препарати ліофілізованих ферментів: ГОД із *Penicillium vitale* (КФ 1.1.3.4.) з активністю 130 U/мг фірми «Діагностикум»; інвертазу (β фруктофуранозидазу, КФ 3.2.1.26) із пекарських дріжджів з активністю 355 U/мг фірми Sigma Aldrich Chemie (Німеччина); мутаротазу (КФ 5.1.3.3.) з активністю 100 U/мг фірми Biozyme Laboratories Ltd (Великобританія). Бичачий сироватковий альбумін (БСА, фракція V) та 50%_й водний розчин глютарового альдегіду (ГА) було отримано від фірми Sigma Aldrich Chemie (Німеччина). Як субстрат і речовину для аналізів використовували цукрозу. Робочим буфером був калій фосфатний розчин (KH_2PO_4) рН 7,2, фірми Merck (Німеччина). Інші неорганічні сполуки, що їх застосовували в роботі, були вітчизняного

виробництва зі ступенем чистоти «х.ч.» та «ч.д.а.». Використовували також вимірювальну установку та перетворювачі [101].

Виготовлення біоселективних мембран.

Для виготовлення робочої мембрани готували розчин зі вмістом ферментів: інвертаза —4%, мутаротаза — 3%, глюкозооксидаза — 3% (триферментний розчин) у 20 мМ фосфатному буфері, рН 7,2, з 10% гліцерол. Суміш для приготування референтної мембрани готували так само, але замість ферментів брали тільки БСА. Перед нанесенням на поверхню перетворювача розчини для референтної і робочої мембран змішували з 2% м водним розчином глутарового альдегіду у співвідношенні 1:1 і наносили суміші на робочі поверхні гребінчастих електродів. Обидві мембрани мали однаковий вміст білка. Потім сенсори висушували протягом 20 хв на повітрі при кімнатній температурі. Перед початком роботи для вимивання надлишку ГА сенсор занурювали у буферний розчин, в якому і проводили подальші досліді.

Вимірювання проводили у 5мМ фосфатному буфері та універсальному буфері з різним рН при кімнатній температурі у відкритій комірці за інтенсивного перемішування. Концентрацію субстратів у комірці задавали, додаючи до робочого буфера порціями стандартні концентровані вихідні розчини субстрату. Дослідження здійснювали щонайменше у трьох серіях. Неспецифічні зміни вихідного сигналу, пов'язані з коливанням температури, рН середовища, електричними наводками, пригнічували, застосовуючи диференційний режим вимірювань [101].

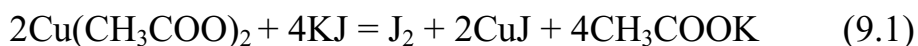
9.4 Визначення концентрації джерела азоту

Джерелом азоту в середовищі для культивування *L. mesenteroides* є пептон, до складу якого входить азот в амінній формі.

Концентрацію азоту визначають у супернатанті, який одержують центрифугуванням культуральної рідини *L. mesenteroides* PCSIR-4 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 [102].

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 $\text{Cu}(\text{RCHNH}_2\text{COO})_2$ [102].

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 [102].

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:

$$X = \frac{a \cdot 0,28 \cdot b \cdot 10 \cdot 100}{50} \quad (9.3)$$

де a – кількість розчину тіосульфату натрію концентрацією 0,01 моль/л, витраченого на титрування, л ; b – об'єм дослідної рідини, взятий на аналіз, л [102].

9.5 Визначення концентрації цільового продукту

Визначення в'язкості — в культуральній рідині накопичується декстран і його концентрація визначається за ступенем в'язкості. Зміну в'язкості визначаємо в присутності 0,1 М КСІ при рН 4–4,5 (за умови переведення ЕПС в H^+ — форму), в системі Cu^{2+} — гліцин.

Для вивчення поведінки розчинів декстрану в системі Cu^{2+} – гліцин до розчину ЕПС додавали 0,003 М $CuSO_4 \times 5H_2O$ та 0,015 М гліцину, розчин нагріваємо до 80°C і витримуємо при даній температурі 5 хв, після чого охолоджуємо. В'язкість розчинів декстрану вимірюємо на скляному капілярному віскозиметрі Енглера при 20°C [103].

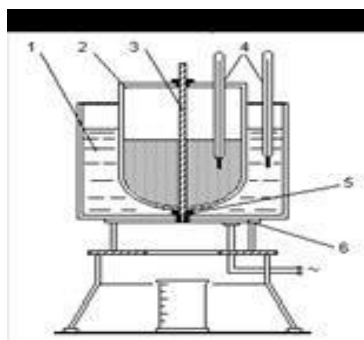


Рис. 9.5.1 Віскозиметр Енглера

Порядок виконання роботи

1. Закрити отвір платиного насадка 5 стержнем 3 і налити в посудину 2 досліджувану рідину в кількості 200 см³.

2. За допомогою електронагрівача 6 і водяної ванни 1 підтримувати в посудині 2 необхідну температуру, контрольовану термометрами 4.

3. При досягненні заданої температури відкрити отвір насадка і визначити час t витікання 200 см³ досліджуваної рідини.

4. Досліди провести при наступних п'яти значеннях температури: кімнатної; 30°C; 40°C; 50°C; і 60°C.

5. Після проведення останнього досліду рідину злити у відповідну посудину і протерти насухо віскозиметр. Час t в витікання 200 см³ дистильованої води при температурі 20°C прийняти рівним 54 с.[103].

РОЗДІЛ 10. Автоматизація ділянки виробництва.

Опис апаратурно-технологічної схеми виробничої дільниці

Процеси біосинтезу (ферментації) займають важливе місце в медичній, харчовій, мікробіологічній і інших галузях промисловості [104].

Не дивлячись на їх велику різноманітність, процесам періодичної ферментації належить провідна роль як найбільш вивченим і гнучким з погляду отримання проміжних і кінцевих продуктів необхідної якості. Значні капітальні і експлуатаційні вкладення, якими характеризуються системи ферментації, пов'язані з використанням дорогого устаткування і значними енергетичними витратами. Основне устаткування: біореактори (ферментери), ємкісні апарати, трубопроводи, запірно-регулююча арматура, - необхідно виготовляти з високоякісної нержавіючої сталі. Безперервне забезпечення культури у ферментері стерильним повітрям, підтримка стабільного теплового режиму, велика витрата пари під час стерилізації і т.д. вимагають забезпечення високого ступеня надійності устаткування, вузлів і механізмів, систем управління і точності їх технологічного проектування [105].

До цього часу виконана велика кількість робіт, присвячених моделюванню процесів ферментації і їх оптимізації. У той же час істотну частину часу ферментер працює в нестационарному режимі, який не є оптимальним (різні стадії підготовки, початку і завершення процесу ферментації). Однією з найважливіших операцій стадії підготовки є стерилізація устаткування і компонентів процесу - паром, яка необхідна для забезпечення стерильних умов проведення процесу ферментації [106].

На жаль, в АСУТП, як правило, відсутні функції управління підготовчими стадіями процесу ферментації, зокрема стадією стерилізації, того ж рівня автоматизації, що і для стаціонарних режимів. Тим часом проведення наднормативних стадій стерилізації (після зупинок виробництва

					НУХТ БТЕК 04.01.26 КР ПЗ			
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Савченко М.Ю.			РОЗДІЛ 10. Автоматизація ділянки виробництва. Опис апаратурно-технологічної схеми виробничої дільниці	Літ.	Арк.	Акрушів
Перевір.		Карлаш Ю.В.					120	138
Реценз.						Кафедра БТМ²⁰		
Н. Контр.								
Затверд.		Пирог Т.П.						

з аварійних, організаційних або кон'юнктурних причин і т.п.) пов'язане із значними витратами, а виробничі втрати цінної сировини і енергоресурсів від них можуть бути великі. Для великотоннажних виробництв ця обов'язкова підготовча операція робить помітний вплив на багато сторін функціонування системи ферментації [107].

Низький рівень автоматизації і неефективна робота автоматики в період проведення підготовчих операцій ведуть до невиправданого зносу технологічного устаткування і нераціонального витрачання всіх видів виробничих ресурсів. Надають негативну психофізіологічну дію на обслуговуючий персонал з огляду на те, що основне навантаження по ухваленню рішень про перемикання регулюючих органів, виконавчих механізмів, контролю за засобами КВПіА лягає на операторів, істотно перевищуючи звичайний рівень, що може привести до помилок операторів, втрати стерильності і виведенню устаткування з ладу. Разом з тим стадія стерилізації має вельми істотний резерв для підвищення ефективності ферментації за рахунок оптимізації управління цією стадією. Але щоб досягнути високої ефективності процесу стерилізації необхідно постійно мати велику кількість пари для його реалізації. Котельня заводу «Біоветфарм» призначена для вироблення пару, що використовується при стерилізації ферментера і для підтримки необхідної температури технологічного процесу виготовлення еритроміцину [108].

Регулювання живлення котельних агрегатів і регулювання тиску в барабані котла головним чином зводиться до підтримки матеріального балансу між відведенням пари і подачею води. Параметром, який характеризує цей баланс, є рівень води в барабані котла. Надійність роботи котельного агрегату багато в чому визначається якістю регулювання рівня. При підвищенні тиску, зниження рівня нижче за допустимі межі, може привести до порушення циркуляції в екранних трубах, внаслідок чого відбудеться підвищення температури стінок труб, що обігріваються, і їх перепад [107].

Підвищення рівня також веде до аварійних наслідків, оскільки можливий забір води в парову магістраль. У зв'язку з цим, до точності підтримки заданого рівня ставляться дуже високі вимоги. Якість регулювання живлення також визначається рівністю подачі живильної води. Необхідно забезпечити рівномірне живлення котла водою, оскільки часті і глибокі зміни витрати живильної води можуть викликати значні температурні напруги в металі економайзера [106].

Барабанам котла з природною циркуляцією властива значна акумулююча здатність, яка виявляється в перехідних режимах. Якщо в стаціонарному режимі положення рівня води в барабані котла визначається станом матеріального балансу, то в перехідних режимах на положення рівня впливає велика кількість збурень. Основними з них є зміна витрати живильної води, зміна пароз'єму котла при зміні навантаження споживача, зміна паропродуктивності при зміні навантаження топки, зміна температури живильної води [108].

Регулювання співвідношення «газ-повітря» необхідне, як чисто фізично, так і економічно. Відомо, що одним з найважливіших процесів, що відбуваються в котельній установці, є процес горіння палива. Хімічна сторона горіння палива є реакцією окислення горючих елементів молекулами кисню. Для горіння використовується кисень, що знаходиться в атмосфері. Повітря в топку подається в певному співвідношенні з газом за допомогою нагнітаючого вентилятора. Співвідношення «газ-повітря» приблизно складає 1:10. При нестачі повітря в топочній камері відбувається неповне згоряння палива. Не згорілий газ викидатиметься в атмосферу, що економічно і екологічно не допустимо. При надлишку повітря в пічковій камері відбуватиметься охолодження топки, хоча газ згоратиме повністю, але в цьому випадку залишки повітря утворюватимуть двоокис азоту, що екологічно неприпустимо, оскільки ця сполука шкідлива для людини і навколишнього середовища [107].

Система автоматичного регулювання розрідження в печі котла зроблена для підтримки печі під надумом, тобто щоб підтримувати постійність розрідження (приблизно 4 мм. вод. ст.). За відсутності розрідження полум'я факела притискатиметься, що приведе до обгорання пальників і нижньої частини топки. Димові гази при цьому підуть в приміщення цеху, що робить неможливою роботу обслуговуючого персоналу.

В живильній воді розчинені солі, допустима кількість яких визначається нормами. В процесі пароутворення ці солі залишаються в котельній воді і поступово нагромаджуються. Деякі солі утворюють шлам - тверда речовина, що кристалізується в котельній воді. Важча частина шламу накопичується в нижніх частинах барабана і колекторів.

Підвищення концентрації солей в котельній воді вище за допустимі величини може привести до віднесення їх в пароперегрівач. Тому солі, що нагромадились в котельній воді, піддаються безперервному продуванню, яке в даному випадку автоматично не регулюється. Розрахункове значення продування парогенераторів при сталому режимі визначається з рівнянь балансу домішок до води в парогенераторі. Таким чином, частина продування залежить від відношення концентрації домішок у воді, яка продувається і живильній. Чим краща якість живильної води і вище допустима концентрація домішок у воді, тим частка продування менша. А концентрація домішок у свою чергу залежить від кількості додаткової води, в яку входить, зокрема, частина продувальної води, що втрачається [108].

Сигналізація параметрів і захисту, які впливають на стан котла, фізично необхідна, оскільки оператор або машиніст котла не в силах прослідкувати за всіма параметрами функціонуючого котла. Внаслідок цього може виникнути аварійна ситуація. Наприклад при втрачанні води з барабана, рівень в ньому знижується, внаслідок цього може бути порушена циркуляція, що поведе за собою перепал труб донних екранів. Захист, що спрацює без запізнення, запобігає виходу з ладу парогенератора. При

зменшенні навантаження парогенератора, інтенсивність горіння в печі знижується. Горіння стає нестійким і може припинитися. У зв'язку з цим передбачається захист по погашенню факела.

Надійність захисту значною мірою визначається кількістю, схемою включення і надійністю приладів, що використовуються в ній. За принципом дії захисти розділяються на діючі і на станіві парогенератора; зниження навантаження парогенератора; виконуючі локальні операції.

Згідно вище перерахованого автоматизація роботи парового котла повинна здійснюватися за наступними параметрами:

- підтримка постійного тиску пари;
- підтримка постійного рівня води в котлі;
- підтримка співвідношення "газ - повітря";
- підтримка розрідження в пічовій камері.

Відзначимо, що оптимальне управління стерилізацією і підготовчими стадіями взагалі вимагає мінімальних капіталовкладень в матеріальне забезпечення, оскільки реалізується з використанням існуючої системи управління.

Таблиця 10. 1

ЗАВДАННЯ НА РОЗРОБКУ СИСТЕМИ АВТОМАТИЗАЦІЇ ДІЛЯНКИ ВИРОБНИЧОЇ ФЕРМЕНТАЦІЇ

№ з.п	Машина, агрегат, установка	Параметр, місце відбору сигналу	Припустиме значення параметра	Вид автоматизації	Характер контролю чи управління	Засоби управління та контролю, реалізації управляючої дії
ФР-1	Виробничий ферментер об'ємом 2,5м3	Рівень рідини:	1250 л	Контроль	Сигналізація	АРМ оператора
				Управління	Захист від переповнення	Вплив на подачу води
		рН: середовища	7	Контроль	Відображення Реєстрація	АРМ оператора
		Температура: Стерилізації Біосинтезу	131±0,1°C 37°C	Контроль	Відображення реєстрація	АРМ оператора
				Регулювання	Стабілізація	Вплив на витрату пари
		Тиск стерилізації	0,15 МПа	Контроль	Відображення реєстрація	АРМ оператора
		Інтенсивність перемішування	300 об/хв	Контроль	Відображення Реєстрація	АРМ оператора
				Регулювання	Стабілізація	Вплив на кількість обертів мішалки за хвилину і кнопка «Стоп» по місцю
Витрати повітря	1 м ³ /(м ³ ПС ×год)	Контроль	Відображення	АРМ оператора		
		Управління	Ручне/дистанційне управління	Пуск, зупинка з АРМа оператора і кнопка «Стоп» по місцю		
Н-2	Насос	Режим роботи насосу	Включено/виключено	Управління	Захист від переповнення збірника	Пуск, зупинка з АРМа оператора і кнопка «Стоп» по місцю

Опис функціональної схеми виробництва

У першому контурі відбувається управління подачі не стерильного середовища до ФР-4 регуляцією виконавчого органу (поз. 1б) за допомогою електропневмоперетворювача (поз. 1а).

У другому контурі для ферментера ФР-4 контролюють температуру датчиком температури (поз. 2а). Регулюють температуру в реакторі (подачею пари/води) виконавчими органами (поз. 2в, 2д) за допомогою електропневмоперетворювачів (поз. 2б, 2г).

В третьому контурі контролюють концентрацію іонів H^+ , що є показником кислотності або лужності середовища. Показники з первинного датчика (поз. 3а) поступають на перетворювач (поз. 3б) і на АРМ-оператора. Всі дані реєструються і зберігаються в архіві.

У четвертому контурі здійснюється контроль та регулювання тиску, який має регламентоване значення 0,15 МПа. за допомогою датчика (поз. 4а). Спостереження за зміною тиску передбачається на АРМі оператора-технолога зі збереженням (реєстрацією) цих змін у його архіві. Сигналізація про відхилення значення або досягнення заданого значення, пуск та зупинка мотора передбачається також на АРМі оператора-технолога.

У п'ятому контурі здійснюється контроль та регулювання перемішування компонентів за допомогою мішалки, яка приводиться в дію мотором (М). Частота обертів мотора мішалки регулюється виконавчим механізмом (поз. 5а). Спостереження за зміною частоти обертів здійснюється на АРМі оператора-технолога зі збереженням цих змін у архіві. Сигналізація про відхилення, пуск та зупинка мотора передбачається також на АРМі оператора-технолога. Є аварійна кнопка «Стоп» по місцю (SB3).

У шостому контурі контролюють рівень середовища у Фр-1. При досягненні верхнього або нижнього рівнів спрацьовують відповідні датчики (поз. 6а, 6б). Сигнал від датчика подається на сигналізатор рівня (поз. 6в). Сигналізація про досягнення верхнього та нижнього рівня передбачається на АРМі оператора-технолога.

У сьомому контурі контролюють подачу піногасника XIAMER коли рівень рідини доходить до датчика (поз. 7а) рівня верхньої межі за допомогою електропневмоперетворювача (поз. 7б).

У восьмому контурі контролюють показник розчиненого в середовищі кисню датчиком рO₂ (поз. 8а). Показники виводять на АРМ оператора-технолога з перетворювача (поз. 8б).

У дев'ятому контурі необхідно управляти роботою двигуна насоса подачі культуральної рідини з ферментера у збірник культуральної рідини. У контурі передбачається: управління з АРМа оператора включенням/відключенням насосу; аварійне відключення насосу кнопкою, розташованою «по місцю» біля насоса.

Подача напруги на двигун насоса здійснюється за допомогою магнітного пускача КМ1. Є аварійна кнопка «Стоп» по місцю (SB4).

Таблиця 10.2

Специфікація на прилади та засоби автоматизації

№	№ позиції	Найменування і технічна характеристика засобу	Тип, модель	Виробник
1	5а	Частотний перетворювач для двигунів середньої потужності. Потужність 0.75кВт 1-ф/220 В, номінальний струм 4,2 В	VFD007EL21A	Delta Electronics
2	4а	Диференційний перетворювач тиску, матеріал виготовлення – нержавіюча сталь, під'єднання – 1/2NPT, клас точності – 0,075, вихідний сигнал аналоговий	PAD	Kobold
3	2а, 7а	Датчик термоперетворювач опору ТСП, НСХ-Pt100, діапазон (0 – 150)°С, з уніф. вих. сигнал 4...20 мА	TSM-0193-01	ЧТПП “Теплоприбор” (Росія)
4	2б, 2г, 7б	Електро-пневмоперетворювач з сигнал 4-20 мА в сигнал 20-100 кПа	Dwer серія 2700	СВ Альтера (Україна)
5	2в, 2д	Електропневматичний перетворювач, вхідний сигнал 4...20мА, вихідний сигнал 20...100кПа	2713WP	Dwyer
6	6а, 6б	Поплавковий датчик рівня діапазон робочих температур -60...+125°С, густина робочого середовища $\geq 0,66$ г/см ³ , з уніф. вих. сигнал 4...20 мА, матеріал – нержавіюча сталь 12Х18Н10Т	ПДУ-И	ОВЕН (Україна)
7	1а	Регулюючий пневматичний клапан, управляючий сигнал 20-100 кПа	3244-1	Samson (Німеччина)

8	8a	Датчик розчиненого кисню в середовищі, діапазон вимірювань 0,05...20,0 мг/л, датчик аналоговий закритого типу, матеріал – POM	Охуmax COS41	Endress+Hauser (Росія)
9	8б	Перетворювач розчиненого кисню, підключення IP65, вхідний сигнал 1-канальний перетворювач, вихідний сигнал 0/4-20 мА	Liquisys COM223	Endress+Hauser (Росія)
10	3а	Датчик рН, діапазон вимірювання 0...14, матеріал – скло/кераміка, робоча температура 0...140 °С, робочий тиск – макс 7 бар	Memosens CPS171D	Endress+Hauser (Росія)
11	3б	1-/2-канальний перетворювач для рН-метра Memosens, матеріал – полікарбонат, робоча температура -20...60 °С, ступінь захисту IP67, вхідний сигнал – 2 входи 0/4...20 мА (опція) або 2 цифрових входи (опція), вихідний сигнал – 2...4 токових виходи 0/4...20 мА	Liquiline CM442	Endress+Hauser (Росія)
12	KM1	Магнітний пускач, робочий струм 7А, управляючий сигнал 220 В	3RT2015- 1AP01	SIEMENS
13	SB1 SB2 SB3 SB4	Двоклавішна кнопочка станція «Пуск»-«Стоп»	8LP2T B7113	Lovato

Список використаних літературних джерел

1. Гавриленко Н. І., Кулич Я. В. Тендеції та перспективи розвитку фармацевтичного ринку // Проблеми і перспективи економіки та управління. – 2015. – №1 (1). – С. 69-76
2. Милешко М.И. Кровозаменители: Учебно-методическое пособие – Г.: ГрГМУ, 2012. – 108с.
3. Технологія мікробного синтезу лікарських засобів : Метод.Рекомендації до викон. курс. роботи для студ. Напрямку 6.051401 «Біотехнологія» ден. форм. навч. / Уклад.: Т. П. Пирог, А. П. Софілканич, – К.: НУХТ, 2011. – ст 1-23.
4. QaderSAU, AmanA. Production of Dextran by Newly Isolated Strains of *Leuconostoc mesenteroides* PCSIR-4 and PCSIR-9 // Turk.J.Biochem. – 2006. – Vol. 31. – № 1. – P. 21-26.
5. Сервіс «Ліки Контроль». Інструкція для медичного застосування лікарського засобу «Реополіглюкін».
[Електронний ресурс] – Режим доступу:
[http://likicontrol.com.ua/інструкція/?\[21875\]](http://likicontrol.com.ua/інструкція/?[21875])
6. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. - Харків: РІРЕГ, 2001. – Доповнення 1. - 2004. - 520 с.
7. Кіотська енциклопедія генів і геномів.
[Електронний ресурс] – Режим доступу:
https://www.genome.jp/dbget-bin/www_bget?C00372
8. BeMiller J.N. Dextran // Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition (Second Edition), 2003
[Електронний ресурс] – Режим доступу:
<https://www.sciencedirect.com/topics/food-science/dextran>
9. Компанія «Юрія-Фарм». Інструкція для медичного застосування лікарського засобу «Реополіглюкін».
[Електронний ресурс] – Режим доступу:

<http://www.uf.ua//product/reopoliglyukin-r-n/>

10. Департамент контролю якості ТОВ «Юрія-Фарм». Сертифікат якості №850-1
11. Пат.: 2147316 (Росія) С12N1/20, А61К39/00, С12N1/20, С12R1:01. *Leuconostoc mesenteroides* - продуцент антигенного комплексу, що містить білок / Суханов Ю.С.; Баснак'ян І.А.; Алексахіна Н.Н.; Артем'єва Т.А. – Опуб.: 10.04.2000.
12. QaderSAU, AmanA. Production of Dextran by Newly Isolated Strains of *Leuconostoc mesenteroides* PCSIR-4 and PCSIR-9 // Turk.J.Biochem. – 2006. – Vol. 31. – № 1. – P. 21-26.
13. Production of dextran using *Leuconostoc mesenteroides* NCIM-2198 / Shivendu R. , Amod K., Nandita D., Sathiavelu A., Ramalingam C. – Journal of pure and applied microbiology. – 2014. – Vol. 8(3). – p. 2359-2367.
14. Сервіс оголошень «OLX».
[Електронний ресурс] – Режим доступу:
<https://www.olx.ua/uk/obyavlenie/sahar-opt-ot-10tonn-8-90grn-IDDHCbQ.html#d594a688dd>
15. Торгово-промислове підприємство «Партнер».
[Електронний ресурс] – Режим доступу:
<http://www.mspartner.com.ua/pitatelnye-sredy/drozhzhevoj-ekstrakt-detail>
16. Торгівельний майданчик «Prom.ua».
[Електронний ресурс] – Режим доступу:
<https://prom.ua/p662853117-sulfat-magniia.html>
17. Торгівельний майданчик «Prom.ua».
[Електронний ресурс] – Режим доступу:
<https://prom.ua/ua/p277945267-hlorid-kaliia-meshok.html>
18. Торгівельний майданчик «Prom.ua».
[Електронний ресурс] – Режим доступу:
<https://prom.ua/p266295676-hloristyj-kaltsij-meshok;wholesale.html>

19. Торгівельний майданчик «Prom.ua».
[Електронний ресурс] – Режим доступу:
<https://prom.ua/ua/p891989356-monofosfat-kaliya-adp.html>
20. Торгівельний майданчик «Prom.ua».
[Електронний ресурс] – Режим доступу:
<https://prom.ua/ua/p610003424-zhelezo-sernokisloe-zheleznyj.html>
21. Торгівельний майданчик «Prom.ua».
[Електронний ресурс] – Режим доступу:
<https://prom.ua/ua/p609981297-ammonij-hloristyj-hlorid.html>
22. Торгівельний майданчик «Prom.ua».
[Електронний ресурс] – Режим доступу:
<https://prom.ua/ua/p272055074-fosfornokislyj-natrij-dvuzameschyonnyj.html>
23. Торгівельний майданчик «Prom.ua».
[Електронний ресурс] – Режим доступу:
<https://prom.ua/ua/p907673566-sol-mora-fasovka.html>
24. Торгівельний майданчик «Prom.ua».
[Електронний ресурс] – Режим доступу:
<https://prom.ua/ua/p59417001-vitaminy-dlya-selskohozyajstvennyh;wholesale.html>
25. Приватне підприємство «Система Оптимум».
[Електронний ресурс] – Режим доступу:
<https://www.systopt.com.ua/pepton-fermentatyvnyj/>
26. Торгівельний майданчик «Prom.ua».
[Електронний ресурс] – Режим доступу:
<https://prom.ua/p223232622-kalij-fosfornokislyj-zameschennyj.html>
27. Торгівельний майданчик «Prom.ua».
[Електронний ресурс] – Режим доступу:
<https://prom.ua/p15131106-nacl.html>
28. Торгівельний майданчик «Prom.ua».
[Електронний ресурс] – Режим доступу:

<https://prom.ua/p728913747-sulfat-magniyu-alwernia;wholesale.html>

29. Торгівельний майданчик «Prom.ua».

[Електронний ресурс] – Режим доступу:

<https://prom.ua/p3625621-margantsa-hlorid.html>

30. *Медведев В. С.* Разработка технологии получения полиальдегиддекстранов окислением декстранов перманганатом калия: Дис. канд-та техн. наук, доцент. – Бийск, 2014. – 129 с.

[Електронний ресурс] – Режим доступу:

<http://www.bti.secna.ru/nauka/docs/dissertac-pred/medvedeva.pdf>

31. Кіотська енциклопедія генів і геномів.

[Електронний ресурс] – Режим доступу:

<https://genome.jgi.doe.gov/portal/leume/leume.home.html>

32. *Пирог Т. П.* Загальна мікробіологія: Підруч. – 2-е вид., доп. і перероб, - К.: НУХТ, 2010. – 632 с.

33. *Пирог Т.П., Ігнатова О.А.* Загальна біотехнологія: Підручник –К.: НУХТ, 2009. – 336с.

34. Державна служба статистики України

[Електронний ресурс] – Режим доступу:

<http://www.ukrstat.gov.ua>

35. Інформаційний фонд «Державний реєстр лікарських засобів України»

[Електронний ресурс] – Режим доступу:

<http://www.drlz.com.ua>

36. Журнал «Провізор», випуск №20. – 2002 р.

[Електронний ресурс] – Режим доступу:

http://www.provisor.com.ua/archive/2002/A20/a_1_b.php

37. KEGG: Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes. Pathway Database

www.genome.jp/kegg/

38. *Пирог Т.П.* Загальна мікробіологія: підручник, 2-е вид., доп. і перероб. / *Т.П. Пирог.* – К. :НУХТ, 2010. – 632 с.

39. *Пирог Т.П., Ігнатова О.А.* Загальна біотехнологія: Підручник –К.: НУХТ, 2009. – 336с.
40. Федеральний інформаційний фонд вітчизняних та іноземних каталогів на промислову продукцію – Росія, 2007
[Електронний ресурс] – Режим доступу:
<http://промкаталог.рф/PublicDocuments/0706204.pdf>
41. *Данилов І.П., Самійленко С.І.* Апарати мікробіологічної промисловості: навч. посібник. – Харків : НТУ «ХПІ», 2008. – 272 с.
42. Нормативне забезпечення: Метод. вказівки для студ. напряму 6.051401 «Біотехнологія» ден. форм. навч. / Уклад: С.В. Ігнатенко - К.: НУХТ, 2008.
43. Наказ «Про затвердження методичних рекомендацій щодо виконання санітарно-гігієнічних вимог та проведення мікробіологічного контролю у виробництві нестерильних лікарських засобів» МОЗ України від 14.12.2001 № 502
[Електронний ресурс]. – Режим доступу:
http://www.moz.gov.ua/ua/portal/dn_20011214_502.html.
44. Науково-виробниче товариство «Фармакос»
[Електронний ресурс] – Режим доступу:
<https://farmakos.ua/ua/hlor.html>
45. «Неохлор» лучшее средство дезинфекции, методические указания
[Електронний ресурс] – Режим доступу:
<http://soda.kiev.ua/a110676-neohlor-luchshee-sredstvo.html>
46. Дезосепт форте
[Електронний ресурс] – Режим доступу:
<http://www.datonal.org/?m0prm=3&m1prm=4&showItem=27>
47. Каустична сода
[Електронний ресурс]. – Режим доступу:
<https://www.systopt.com.ua/kaustychna-soda-dlya-dezinfektsiyi/>
48. Хлорне вапно

- [Електронний ресурс] – Режим доступу:
<https://prom.ua/p1068731955-hlorne-vapno.html>
49. Нормативне забезпечення: Метод. вказівки для студ. напряму 6.051401 «Біотехнологія» ден. форм. навч. / Уклад: С.В. Ігнатенко - К.: НУХТ, 2008.
50. *Ю.В. Карлаш, Є.О. Омельчук* Основи проектування біотехнологічних виробництв. [Електронний ресурс]: конспект лекцій для для здобувачів освітнього ступеня «бакалавр» спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія» освітньо-професійної програми «Біотехнологія» денної та заочної форм навчання / - К: НУХТ, 2019. – 252 с.
51. Блейхер И.Г. Компрессорные станции: учеб./ И.Г. Блейхер, В.П. Лисеев – М.: Машгиз, 1959. – 323 с.
52. Калунянц К.А. Микробные ферментные препараты: учеб./ К.А. Калунянц, Л.И. Голгер – М.: Пищевая промышленность, 1979. – 302 с.
53. Піногасник Пропінол Б-400
<https://ua.all.biz/penogasitel-g10389691>
54. *Чуешов В.И.* Технология лекарств промышленного производства: учебник для студ. высш. учеб. завед. / *Чуешов В. И., Гладух Е.В., Сайко И.В.* и др. – Винница: Нова книга, 2014. – 696 с.
55. Пат. RU2021284C1, МПК C08B37/02(2006.01), A61K31/715(2006.01), A61K 31/721(2006.01) Способ очистки клинических фракций декстрана / Донецкий И. А., Персанова Л. В., Хлябич Г.Н. –заявл. 30.05.1991;опубл. 15.10.1994.
[Електронний ресурс] – Режим доступу:
https://yandex.ru/patents/doc/RU2021284C1_19941015
56. Компанія "МИЛЛАБ"
[Електронний ресурс] – Режим доступу:
http://www.millab.ru/equipments/2196_mf-millipore/
57. Дистиляційна установка «Christ Water Technology Group» Kombitron
[Електронний ресурс] – Режим доступу:

<https://www.ovivowater.com/brand/christ-water-technology/>

58. Фірма «ВИПС MED». Автоматична конвеєрна мийна установка (з УЗ-ванною)

[Електронний ресурс] – Режим доступу:

<https://www.vipsmed.ru/sections/farmaczevticheskoe-oborudovanie/farmaczevticheskoe-oborudovanie-gmp-avtomaticheskoe/avtomaticheskaya-konvejernaya-mochnaya-ustanovka-s-uz-vannoj>

59. Фірма «ВИПС MED». Стерилізатор тунельного типу

[Електронний ресурс] – Режим доступу:

<https://www.vipsmed.ru/sections/farmaczevticheskoe-oborudovanie/farmaczevticheskoe-oborudovanie-gmp-avtomaticheskoe/mediczijskij-sterilizator-tunnelnogo-tipa>

60. Основы проектирования предприятий микробиологической промышленности / Кантере В.М., Мосичев М.С., Дорошенко М.И. и др. / М.: Агропромиздат, 1990 - 304с.

61. Лич І.В. Промислова технологія лікарських засобів. Конспект лекцій. – К.: НУХТ, 2010. – 148 с.

62. ГОСТ 3118-77 (СТ СЭВ 4276-83) Реактивы. Кислота соляная. Технические условия (с Изменением N 1)

[Електронний ресурс] – Режим доступу:

<http://docs.cntd.ru/document/1200017281>

63. СІР-мийка

<https://ua.grundfos.com/industries-solutions/applications/cip.html>

64. Повітрозабірник

<http://www.simas.ru/products/food/speceq/a/a/>

65. Фільтр грубої очистки

<https://air-filter.com.ua/filters/primary/pocket/tf25>

66. Компресор

<http://www.airpol.com.pl/kategoria/3-kw-22-kw-wykonanie-standardowe/91>

67. Теплообмінник охолоджувач серії АС-13,5 фірми «Уралкомпресормарш»(Росія)
https://www.agrcomp.ru/item/ohladitely_vozduha_friulair
68. Ресирвер серії РВ 430/16 фірми «Уралкомпресормарш» (Росія)
<https://prom.ua/ua/p523000363-vozduhosbornik-resiver-dlya;all.html>
69. Теплообмінник-нагрівач фірми VENTS (Україна)
<https://www.climatik.su/ventiljacija/teploobmenniki/teploobmennik-titan-whr-300x150-2-dlya-pryamougolnykh-kanalov-vodyanoi.html>
70. Фільтр тонкої очистки
<http://www.ventelectro.ru/ventilyaciya/fil-try/fil-try-tonkoj-ochistki/fil-tr-vozdushnyj-karmannyj-fvk-fyak-klass-f5-f9-material-iz-nan/>
71. Дозатор виробництва НВП «Техноваги»
<https://technowagy.com.ua/product/dozatory-mnogokomponentnye/>
72. Реактор змішувач
http://www.labequip.ru/fermentery_bioreaktory/fermentery/bioflo_pro/
73. Індивідуальний фільтр марки BonесоActive carbon filter (Швейцарія)
<https://www.mtkisorbent.ru/filtruyushchij-material-fpp-15-1-5-tkan-petryanova>
74. Ферментер
http://www.labequip.ru/fermentery_bioreaktory/fermentery/bioflo_310/
75. Насос відцентровий герметичний з нержавіючої сталі ЦГ
http://lutz.com.ua/catalog/cen_pump/TMB_pump/
76. Насос відцентровий фірма "Рокем", Німеччина
[Електронний ресурс] – Режим доступу:
<http://www.nasosecv.com.ua/ua/>
77. Піщаний фільтр
[Електронний ресурс] – Режим доступу:
<http://www.ecoflock.com.ua/peshaniy-filytr-ochistki.html>
78. Збірник «Катес», Польща
[Електронний ресурс] – Режим доступу:

- <http://reactor-lab.ru/equip/metallicheskie-reaktory-kates.php>
79. Колона заповнена катіонітовою смолою марки КУ-2-8
[Електронний ресурс] – Режим доступу:
<http://smoly.com.ua/kationityi-1>
80. Колона заповнена аніонітовою смолою марки Purolite A-845
[Електронний ресурс] – Режим доступу:
<http://activcarbon.com.ua/category/34.html>
81. Вугільний фільтр фірма «Ecowater»
[Електронний ресурс] – Режим доступу:
<https://ecowater-systems.com.ua/produkcija/filtr-s-kompleksnoi-filtruiushchei-zagruzkoi/>
82. Установка зворотноосмотична фірма «Wanson»
[Електронний ресурс] – Режим доступу:
<https://www.directindustry.com.ru/prod/babcock-wanson/product-30750-442317.html>
83. Дистиляційна установка «Christ Water Technology Group» Kombitron
[Електронний ресурс] – Режим доступу:
<https://www.ovivowater.com/brand/christ-water-technology/>
84. Реактор-збірник
[Електронний ресурс] – Режим доступу:
<https://dzerzhinskros.flagma.ru/reaktor-emalirovanny-stalnoy-6-3-1-o3564847.html>
85. Тарілчастий сепаратор фірми «МОТОР СИЧ»
[Електронний ресурс] – Режим доступу:
<http://www.motorsich.com/ukr/products/consumers/separators/>
86. Ультрафільтраційна установка компанія «ЛВ-Инжиниринг».
[Електронний ресурс] – Режим доступу:
<http://www.galvanicline.ru/show.php?page=399>
87. Установка миття, силіконування, стерилізації і сушіння гумових пробок. Виробник: ВАТ «НИКТИ спецоборудование»

- [Електронний ресурс] – Режим доступу:
<https://ap-proekt.ru/product/dlya-litya-v-silikon/>
88. Теплообмінник Марка «РосВЕП»
[Електронний ресурс] – Режим доступу:
<https://www.teploprofi.com/plastinchatie-teploobmenniki-swep/>
89. Фільтр для фільтрації очищеної води
[Електронний ресурс] – Режим доступу:
https://www.express-eco.ru/catalog/filtri/filtri_zhidkosti/ecoplast-f
90. Повітряний стерилізатор
[Електронний ресурс] – Режим доступу:
<https://universallab.com.ua/p445353646-sterilizator-povitryanij-gpd.html>
91. Транспортер стрічковий. Виробник: Ржищевський завод обладнання
[Електронний ресурс] – Режим доступу:
<http://kiev.zernograd.com.ua/town/kiev/rzhischev/>
92. Пристрій для перекладки флаконів
[Електронний ресурс] – Режим доступу:
<https://www.directindustry.com.ru/prod/bausch-stroebel-maschinenfabrik-ilshofen-gmbh-co-kg/product-63156-1971430.html>
93. Візок чотирьохколісний. Виробник: Київський завод торгівельного машинобудування
[Електронний ресурс] – Режим доступу:
<http://rada.com.ua/ukr/catalog/7785/>
94. Фільтр для стерилізуючої фільтрації повітря. Виробник: фірма «Pall», Німеччина
[Електронний ресурс] – Режим доступу:
<https://dmliefer.ru/katalog/filtrovalnoe-oborudovanie#raznovidnosti-vozdushnix-filtrov>
95. Фірма «ВИПС MED». Стерилізатор тунельного типу
[Електронний ресурс] – Режим доступу:
<https://www.vipsmed.ru/sections/farmaczevticheskoe->

oborudovanie/farmaczevticheskoe-oborudovanie-gmp-avtomaticheskoe/mediczijskij-sterilizator-tunnelnogo-tipa

96. Фасувальний апарат. Виробник фірма «Bosch»
[Електронний ресурс] – Режим доступу:
<https://intimac.it/poderzannye-masiny/06496c/-bosch-sfm-2007-c/>
97. Паровий автоклав. Україна
[Електронний ресурс] – Режим доступу:
https://rozfood.com.ua/index.php?route=product/product&path=24&product_id=414
98. Машина для наклеювання етикеток-самоклейок. Виробник: ESI LIMITED, США
[Електронний ресурс] – Режим доступу:
<https://stanco.com.ua/ua/labeling-equipment/>
99. Стіл для упаковки готової продукції
[Електронний ресурс] – Режим доступу:
<https://vksp.com.ua/p754380373-stol-nerzhaveyuschij-2500h1400.html>
100. *Пирог Т. П.* Загальна мікробіологія: Підруч. – 2-е вид., доп. і перероб, - К.: НУХТ, 2010. – 632 с.
101. *Солдакін О.О., Пешкова В.М.* Кондуктометричний біосенсор на основі триферментної системи для визначення сахарози // Ін-т мол. біології і генетики НАН України. – 2008. – Том 1. – №1. – 116-122 с.
102. ГОСТ 17444-76 Реактивы. Методы определения основного вещества азотсодержащих органических соединений и солей органических кислот. – Введ. 01.07.1977.
103. *Naussens .M, Cerdobble A.* Leuconostoc dextranucrose and dextran: production, properties and application // Journal of Chemical Technology and Biotechnology. – 2005. – Vol.4. - № 6. – P. 845-860.
104. *Проць Я.І., Савків В.Б., Шкодзінський О.К., Ляшук О.Л.* Автоматизація виробничих процесів. Навчальний посібник для

- технічних спеціальностей вищих навчальних закладів. – Тернопіль: ТНТУ ім. І.Пулюя, 2011. – 344с.
105. Значення автоматизації в організації виробничого процесу. [Електронний ресурс] – режим доступу:
https://allref.com.ua/uk/skachaty/Znachennya_avtomatizaciyi_v_organizaciyi_virobnichogo_procesu?page=1
106. М.М. Благовещенская, Н.О. Воронина, А.В. Казаков Автоматика и автоматизация пищевых производств. – М: Агропромиздат. – 1991. – 239 с.
107. Автоматизація. [Електронний ресурс] – режим доступу:
<http://elprivod.nmu.org.ua/ua/entrant/%D0%90%D0%B2%D1%82%D0%BE%D0%BC%D0%B0%D1%82%D0%B8%D0%B7%D0%B0%D1%86%D1%96%D1%8F%20ua.pdf>
108. Конспект лекцій з дисципліни «Контроль та керування біотехнологічними процесами » для здобувачів очної форми навчання та після дипломної освіти зі спеціальності: 162 Біотехнології та біоінженерія першого (бакалаврського) рівня /Укладач: Корнієнко І. М. – Кам’янське: ДДТУ, 2017. – 72 с.