

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ**  
**НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ**  
**Інститут (факультет) Біотехнології та екологічного контролю**  
**Кафедра біотехнології і мікробіології**

**“До захисту в ЕК”**

Директор інституту (декан факультету)

\_\_\_\_\_  
(підпис) Грегірчак Н.М.  
(прізвище та ініціали)

“\_\_” \_\_ червень 2021 р.

**“До захисту допущено”**

Завідувач кафедри

\_\_\_\_\_  
(підпис) Пирог Т.П.  
(прізвище та ініціали)

“\_\_” \_\_ червень 2021 р.

**КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА**  
**НА ЗДОБУТТЯ ОСВІТНЬОГО СТУПЕНЯ БАКАЛАВРА**  
зі спеціальності 162 “Біотехнології та біоінженерія”  
(код та назва спеціальності)  
освітньо-професійної програми ”Біотехнологія”  
на тему: Біосинтез цефалоспорину *Acremonium chrysogenum*

Виконав: здобувач 4 курсу, групи 2

\_\_\_\_\_  
Цветков Костянтин Олексійович  
(прізвище, ім'я, по батькові повністю) (підпис)

Керівник Скроцька Оксана Ігорівна  
(прізвище, ім'я, по батькові повністю) (підпис)

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

\_\_\_\_\_  
(прізвище та ініціали) (підпис)

\_\_\_\_\_  
(прізвище та ініціали) (підпис)

Рецензент Харченко Є.В.  
(прізвище та ініціали) (підпис)

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

Здобувач \_\_\_\_\_  
(підпис)

Київ – 2021 р.

# НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ

Інститут (факультет) Біотехнології та екологічного контролю

Кафедра біотехнології і мікробіології

Освітньо-кваліфікаційний рівень бакалавр

Спеціальність 162 “Біотехнології та біоінженерія”

(код і назва)

Освітньо-професійна програма ”Біотехнологія”

(назва)

**ЗАТВЕРДЖУЮ**

Завідувач кафедри біотехнології і  
мікробіології

Пирог Т.П.

“01” квітня 2021 року

## З А В Д А Н Н Я

### НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ ЗДОБУВАЧА

Цветкова Костянтина Олексійовича

(прізвище, ім'я, по батькові)

1. Тема роботи Біосинтез цефалоспорину *Acremonium chrysogenum*

керівник роботи Скροцька Оксана Ігорівна, к.б.н., доцент,  
(прізвище, ім'я, по батькові, науковий ступінь, вчене звання)

затвердженні наказом закладу вищої освіти від 30 березня 2021 року №228-кв

2. Строк подання здобувачем роботи \_\_\_\_\_

3. Вихідні дані до роботи біологічний агент: *Acremonium chrysogenum*,  
цільовий продукт: цефалоспорин

4. Зміст пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно розробити): РОЗДІЛ 1.Характеристика цільового продукту. РОЗДІЛ 2.Обґрунтування вибору та характеристика біологічного агента. РОЗДІЛ 3.Техніко-економічне обґрунтування. РОЗДІЛ 4.Біосинтез цефалоспорину С. РОЗДІЛ 5.Обґрунтування вибору технологічної схеми. РОЗДІЛ 6.Специфікація обладнання. РОЗДІЛ 7.Опис технологічної схеми. РОЗДІЛ 8.Контроль виробництва. РОЗДІЛ 9. Автоматизація ділянки виробництва цефалоспорину С. РОЗДІЛ 10. Охорона довкілля

5. Перелік графічного матеріалу:

Технологічна схема виробництва цефалоспорину – 3 аркуші формату А3.  
Апаратурна схема виробництва цефалоспорину – 3 аркуші формату А1.  
Схема автоматизації ділянки концентрування – 1 аркуш формату А3

### 6.Консультанти розділів проекту (роботи)

Розділ	Прізвище, ініціали та посада консультанта	Підпис, дата	
		Завдання видав	Завдання прийняв
РОЗДІЛ 9. Автоматизація ділянки виробництва цефалоспориноу С	Клименко О.М., доцент, к.т.н., кафедра автоматизації та комп'ютерних технологій систем управління		

7. Дата видачі завдання \_\_\_\_\_ 01 квітня 2021 року \_\_\_\_\_

### КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№ з/п	Назва етапів дипломного проекту (роботи)	Строк виконання етапів проекту (роботи)	Примітка
1.	<i>Характеристика цільового продукту.</i>	01.04.21-04.04.21	
2.	<i>Обґрунтування вибору та характеристика біологічного агента.</i>	05.04.21-10.04.21	
3.	<i>Техніко-економічне обґрунтування.</i>	10.04.21-15.04.21	
4.	<i>Біосинтез цефалоспориноу С.</i>	15.04.21-20.04.21	
5.	<i>Обґрунтування вибору технологічної схеми.</i>	20.04.21-25.04.21	
6.	<i>Специфікація обладнання.</i>	25.04.21-30.04.21	
7.	<i>Опис технологічної схеми.</i>	01.05.21-05.05.21	
8.	<i>Контроль виробництва.</i>	05.05.21-10.05.21	
9.	<i>Автоматизація ділянки виробництва.</i>	10.05.21-15.05.21	
10.	<i>Охорона довкілля.</i>	15.05.21-20.05.21	
11.	<i>Оформлення пояснювальної записки</i>	20.05.21-25.05.21	
12.	<i>Виконання графічної частини проекту</i>	25.05.21-28.05.21	

**Здобувач** \_\_\_\_\_  
(підпис)

**Цветков К.О.** \_\_\_\_\_  
(прізвище та ініціали)

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

**Скроцька О.І.** \_\_\_\_\_  
(прізвище та ініціали)

## ЗМІСТ

РЕФЕРАТ

ВСТУП

РОЗДІЛ 1. Характеристика цільового продукту	10
РОЗДІЛ 2. Обґрунтування вибору та характеристика біологічного агента	17
2.1. Обґрунтування вибору біологічного агента та поживного середовища для його культивування	17
2.2. Морфолого-культуральні та фізіолого-біохімічні ознаки <i>A. chrysogenum</i> M35	24
2.3. Таксономічний статус <i>A. chrysogenum</i> M35	25
РОЗДІЛ 3. Техніко-економічне обґрунтування	26
3.1. Потреба у цільовому продукті	26
3.2. Розрахунок потужності виробництва	30
3.3. Розрахунок кількості виробничих циклів та геометричного об'єму ферментера	31
3.4. Розрахунок кількості стадій підготовки посівного матеріалу	32
РОЗДІЛ 4. Біосинтез цефалоспорину С	36
4.1. Шляхи катаболізму ростового субстрату у <i>A. chrysogenum</i> M35	36
4.2. Біотрансформація ростового субстрату у цефалоспорин С	38
РОЗДІЛ 5. Обґрунтування вибору технологічної схеми	40
5.1. Обґрунтування доферментаційних процесів та виробничого біосинтезу	40
5.1.1. Обґрунтування способу культивування і типу ферментера	40
5.1.2. Обґрунтування вибору стадії підготовки повітря	41
5.1.3. Вибір мийних та дезінфікуючих засобів	43
5.1.4. Особливості підготовки та стерилізації поживного середовища	48
5.1.5. Обґрунтування вибору розчинів для регуляції рН та піногасника	51
5.1.6. Обґрунтування вибору обладнання для виробничого процесу	53
5.2. Обґрунтування стадій виділення і очищення цефалоспорину С	55
5.2.1. Вибір способу відокремлення біомаси <i>A. chrysogenum</i> M35 та відповідного обладнання	58
5.2.2. Вибір способу виділення цефалоспорину С з фільтрату	62
5.2.3. Обґрунтування вибору методу концентрування цефалоспорину С	67
5.2.4. Осадження цефалоспорину С у вигляді калієвої солі	70
5.2.5. Обґрунтування методів відокремлення солі цефалоспорину С від водно-спиртової суміші	72

5.2.6. Обґрунтування методу сушіння цефалоспорину С у вигляді калієвої солі	74
5.2.7. Обґрунтування вибору упаковки для зберігання сухого цефалоспорину С у вигляді калієвої солі	76
5.3. Обґрунтування стадії допоміжних робіт для післяферментаційних процесів	78
5.4. Підбір технологічного обладнання для післяферментаційних стадій з урахуванням матеріальних потоків по стадіях	80
РОЗДІЛ 6. Специфікація обладнання	84
РОЗДІЛ 7. Опис технологічної схеми	90
РОЗДІЛ 8. Контроль виробництва	108
8.1. Мікробіологічний контроль	108
8.2. Показники росту і синтезу цефалоспорину С	108
8.2.1. Визначення концентрації біомаси	108
8.2.2. Визначення кількості синтезованого цефалоспорину С	108
8.2.3. Визначення концентрації джерел вуглецю (гліцерину, глюкози і галактози) та азоту (амонійного азоту)	109
8.3. Показники якості готового продукту	110
8.4. Карта постадійного контролю доферментаційних процесів	113
РОЗДІЛ 9. Автоматизація ділянки виробництва цефалоспорину С	119
РОЗДІЛ 10. Охорона довкілля	124
10.1. Аналіз технологічної схеми виробництва цефалоспорину С та місця емісії твердих, рідких та газоподібних відходів	124
10.2. Перспективи впровадження системи екологізації виробництва	128
10.2.1. Система знешкодження ти утилізації газоподібних викидів	128
10.2.2. Система знешкодження ти утилізації твердих відходів	128
10.2.3. Система знешкодження ти утилізації рідких відходів	129
10.2.4. Заходи щодо зменшення об'ємів відходів	129
Список використаних джерел	131
Додатки	147

## РЕФЕРАТ

Представлено проект виробництва цефалоспорину С у вигляді калієвої солі, при культивуванні штаму *Acremonium chrysogenum* M35, який синтезує 6,7 г/л цефалоспорину С при вирощуванні на середовищі з гідролізатом водоростей. Цефалоспорин С – це попередник для хімічного синтезу усіх антибіотиків цефалоспоринового ряду, одним з найдієвіших є цефтобіпрол. Даний антибіотик використовується для лікування синдрому діабетичної стопи. Розрахована потужність виробництва цефалоспорину С становить 226,37 м<sup>3</sup> культуральної рідини за 105 виробничих днів. При культивуванні даного продуцента необхідна постійна аерація, бо *A. chrysogenum* – це облигатний аероб. Для подачі кисню використовується аерліфтно-барботажна система, щоб уникнути пошкодження міцелію під час ферментації, температура культивування становить 27°C і рН = 7. Умови культивування штаму M35 сприятливі для росту і розвитку мезофільних і нейтрофільних мікроорганізмів, тому ферментацію проводили в асептичних умовах. Накопичення посівного матеріалу *A. chrysogenum* M35 включає чотири стадії, а саме вирощування в колбах на качалках і в інокуляторах об'ємом 0,03, 0,25 і 2,5 м<sup>3</sup>. Виробничий біосинтез відбувається в ферментері об'ємом 25 м<sup>3</sup>.

Технологія виробництва цефалоспорину С у вигляді калієвої солі включає ряд допоміжних робіт, що включають в себе санітарну підготовку виробництва, підготовку аераційного повітря, підготовку титрувальних агентів, приготування та стерилізацію розчину мікроелементів, стерилізацію піногасника, підготовку води знесоленої, десорбентів, 92 %-го розчину ізопропілового спирту (етап осадження цефалоспорину С) і приготування та стерилізацію поживних середовищ.

Основні стадії технологічного процесу включають в себе: підготовку посівного матеріалу, виробничий біосинтез у 25 м<sup>3</sup> ферментері, зберігання культуральної рідини протягом 2 годин, відокремлення біомаси *A. chrysogenum* M35 від культуральної рідини за допомогою башенного фільтр-пресу типу КМП (площа фільтрування – 12,5 м<sup>2</sup>), сорбцію фільтрату цефалоспорину С у сорбційних колонках (сорбенти – Amberlite XAD-4 і Amberlite IRA-67) з

подальшою десорбцією (десорбенти – 20 %-ий розчин ацетону і 0,2 н розчин ацетату калію), концентрування цефалоспорину С за допомогою установки ультрафільтрації продуктивністю 800 л/год, осадження цефалоспорину С 92 %-им ізопропіловим спиртом у співвідношенні 1:10, фільтрування водно-спиртової суміші з осадом цефалоспорину С за допомогою нутч-фільтру продуктивністю 6,5 м<sup>3</sup>/год, висушування цефалоспорину С за допомогою вакуумної сушильної шафи і фасування сухого цефалоспорину С по 2 кг у поліетиленові пакети.

Дипломний проект складається з титульного аркушу, завдання, вступу, змісту, десяти розділів, списку використаних джерел з 165 найменувань, додатків та графічної частини ( 3 аркуши формату А1 і 4 аркуши А3). Загальний обсяг роботи – 146 сторінок, 19 рисунків, 27 таблиць.

**Ключові слова:** цефтобіпрол, зефтера, *A. chrysogenum* M35, гідролізат, культивування, обладнання, цефалоспорин С, сорбція, фільтрування, концентрування, осадження, сушка, упаковка, автоматизація, доквілля.

## ВСТУП

Антибіотики цефалоспоринового ряду використовуються у медицині як препарати широкого спектру дії. В своїй структурі вони містять два вільних радикала, що дозволяє створювати новіші антибіотики з більш складною структурою і вдосконаленими властивостями. Усі представники цефалоспоринових антибіотиків створюються хімічним шляхом, але в них усіх один попередник – цефалоспорин С. Одним з новітніх антибіотиків цефалоспоринового ряду є цефтобіпрол, який належить до 5 покоління, що має великий спектр антимікробної дії. Його синтез з цефалоспорину С відбувається за допомогою 7-аміно-дезацетилоксидефалоспоринової кислоти, яку відщеплюють від 7-аміноцефалоспоринової кислоти шляхом додавання естерази [1]. Цефтобіпрол використовується для лікування різних бактеріальних хвороб, однією з найвідоміших яких є синдром діабетичної стопи. Дана хвороба розвивається у чверті усіх хворих на цукровий діабет, більшість з них мають діабет другого типу [2-5]. Лікарський препарат для лікування синдрому діабетичної стопи, в склад якого входить цефтобіпрол в якості активної діючої речовини, випускається під назвою “Зефтера” [2].

Цефалоспорин С можуть синтезувати різні штами *Trigonopsis variabilis* [6], генно-модифіковані штами *Escherichia coli*, з включеною у генетичний матеріал плазмідною з геном pET28a-CCA-GFP [7], і штами *A. chrysogenum* [8-10]. До порівняння взяті представники міцеліальних грибів *A. chrysogenum*, а саме штами М35, НС-3 і RNCM F-4081D. По результатам порівняння найкращим продуцентом являється штам М35, який виробляє цефалоспорин С у розмірі 6,7 г/л, вартість його поживного середовища і ціна одного граму цефалоспорину С на 23% менша за вартість 1 г цефалоспорину С при використанні штаму RNCM F-4081D, а також на 35% нижча ніж при використанні штаму НС-3. Вирощування міцеліального гриба *A. chrysogenum* М35 відбувається у 25 м<sup>3</sup> ферментері. Для накопичення посівного матеріалу для даного ферментера, виробництво забезпечене рядом інокуляторів об’ємом 2,5 м<sup>3</sup>, 0,25 м<sup>3</sup> і 30 л [9]. Після ферментації даного штаму, культуральну рідину піддають етапам виділення і очищення цефалоспорину С у

вигляді калієвої солі, а саме фільтрування культуральної рідини за допомогою фільтр-пресу типу КМП, двостадійною сорбцією з використанням двох сорбентів (Amberlite XAD-4 і Amberlite IRA-67) і десорбентів (20 %-го розчину ацетону і 0,2 н розчину ацетату калію), концентруванням отриманого елюату за допомогою ультрафільтрації з ступенем концентрування, що дорівнює 3, осадженням цефалоспорину С калієвої солі шляхом обробки концентрату 92 %-им розчином ізопропілового спирту, фільтруванням отриманої водно-спиртової суміші з метою отримати вологий осад цефалоспорину С у вигляді калієвої солі з вологістю ~ 50 % за допомогою нутч-фільтру, сушінням отриманого осаду за допомогою вакуумної сушильної шафи до вмісту води в ньому ~ 10 % і його упаковкою у поліетиленові пакети з подальшою запайкою індукційним пристроєм [11]. Дана методика виділення і очищення цефалоспорину С калієвої солі дозволяє отримати чисту субстанцію, яка має тривалий термін зберігання і легко піддається транспортуванню.

**Метою** даної роботи є проектування ділянки виробництва цефалоспорину С у вигляді калієвої солі при культивуванні штаму *A. chrysogenum* M35, для подальшої його упаковки в поліетиленові пакети і транспортування до фармацевтичного заводу, де відбуватиметься хімічний синтез цефтобіпролу.

**Актуальність теми:** цефтобіпрол, через свої антибактеріальні властивості, становить інтерес для вирішення проблеми лікування синдрому діабетичної стопи у людей, що хворіють на цукровий діабет, так як дана хвороба набуває все ширшого загалу по усій планеті, у тому числі й в Україні [2-5].

**Новизна:** біологічний агент *A. chrysogenum* M35 є продуктивним продуцентом цефалоспорину С – концентрація цільового продукту становить 6,7 г/л. Як ростовий субстрат використовується гідролізат водоростей і технічний гліцерин, що є побічним продуктом виробництва біодизелю. Метод виділення цефалоспорину С дозволяє отримати цільовий продукт з мінімальним вмістом домішок, що гарантує високу якість поставленої сировини з даного виробництва.

## РОЗДІЛ 1 ХАРАКТЕРИСТИКА ЦІЛЬОВОГО ПРОДУКТУ

Цефтобіпрол належить до антибіотиків цефалоспоринового ряду, а саме до п'ятого покоління, що характеризується протибактеріальною активністю, яка спрямована на представників ентеробактерій, стафілококів, стрептококів і псевдомонад. Продуцентом антибіотиків цефалоспоринового ряду є *A. chysogenum*, що синтезує попередник усіх можливих цефалоспоринів – цефалоспорин С (Рис.1.1).

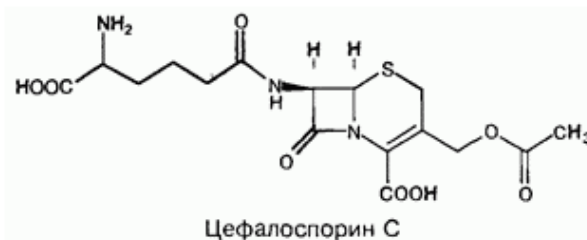


Рис.1.1. Структурна формула цефалоспорину С

Цефалоспорини – це група протибактеріальних антибіотиків, в основі структури яких лежить 7-аміноцефалоспоринова кислота, що має два бічних радикали. За своєю структурою і функцією вони схожі на пеніциліни, але їх ядро (6-амінопеніцилінова кислота) має лише один бічний радикал, що робить їх менш варіативними, але вони проявляють більшу фармакологічну активність ніж цефалоспорини [1, 12].

Цефтобіпрол (Рис.1.2), на даний час, є найефективнішим антибіотиком цефалоспоринового ряду. Синтез цефтобіпролу з цефалоспорину С відбувається хімічною модифікацією останнього, шляхом зміни бічних радикалів, таким же чином синтезується і всі інші антибіотики цефалоспоринового ряду.

					<b>НУХТ БТЕК 04.02.09 КР ПЗ</b>		
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата			
Розроб.		Цветков К.О.			Літ.	Арк.	Аркушів
Перевір.		Скороцька О.І.				10	146
Реценз.					<b>Кафедра БТМ</b>		
Н. Контр.							
Затверд.		Пирог Т.П.					
<b>РОЗДІЛ 1.</b> <b>Характеристика</b> <b>цільового продукту</b>							

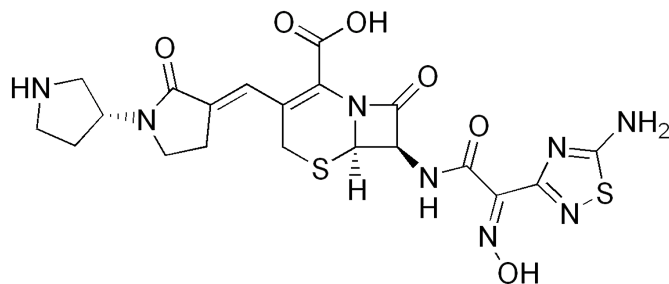


Рис.1.2. Структурна формула цефтобіпролу [13]

Брутто-формула цефтобіпролу має такий вигляд –  $C_{20}H_{22}N_8O_6S_2$ , випуск препарату, згідно з наказом МОЗ України від 15.02.2010 року №107, ведеться під назвою “ЗЕФТЕРА”, виробником якого є Patheon UK Limited (Великобританія) [14].

### Склад і форма випуску “Зефтери” (Табл.1.1):

Таблиця 1.1

#### Склад лікарського препарату на основі цефтобіпролу

№	Компоненти для приготування “Зефтери”	Маса речовини в одному флаконі, мг
1	Цефтобіпрола медокаріла натрія (відповідає 500 мг цефтобіпролу)	666,6
2	Допоміжні речовини: натрій гідроксид, азот, моногідрат лимонної кислоти.	–

“–” не вказано даних.

Флакон з прозорого скла, місткістю 20 мл, закритий сірою пробкою з бромбутилкаучуку із фторованим полімерним покриттям типу тефлон, під алюмінієвою обкаткою, із пластиковою кришечкою. Один флакон у картонній пачці.

**Лікарська форма** – компактна, подрібнена або порошкоподібна маса (ліофілізат) білого або від жовтуватого до злегка коричневого кольору.

**Фармакологічна дія** – бактерицидне, антибактеріальне широкого спектру.

#### Фармакодинаміка

Цефтобіпролу медокаріл є водорозчинними проліками цефтобіпролу, цефалоспорину з бактерицидною активністю широкого спектра

грампозитивних бактерій. Цефтобіпрол є також активним щодо багатьох грамнегативних бактерій, включаючи штами *Enterobacteriaceae* та *Pseudomonas aeruginosa*.

**Механізм дії** – Зефтера міцно зв'язується з великою кількістю важливих пеніцилінзв'язуючих білків (РВР) як грампозитивних, так і грамнегативних бактерій. Зефтера має антибактеріальну активність відносно стафілококів, резистентних до метициліну, головним чином, завдяки міцному зв'язуванню з РВР 2а стафілококів, що відповідає за стійкість до β-лактамових антибіотиків.

**Фармакодинамічні ефекти** – подібно до інших β-лактамових антимікробних препаратів, час, коли концентрація Зефтери в плазмі перевищує МІК ( $C > \text{МІК}$ ) для мікроорганізму, що спричинив інфекцію, краще інших параметрів корелював з ефективністю у доклінічних дослідженнях фармакокінетики та фармакодинаміки.

**Механізм стійкості** – цефтобіпрол стійкий до гідролізу пеніцилінази *S. aureus*, а також до гідролізу багатьох β-лактамаз класу С та класу А, що продукуються грамнегативними бактеріями. Як і більшість цефалоспоринів, Зефтера гідролізується β-лактамазами розширеного спектра (ESBL), серинкарбапенемазами і метало-бета-лактамазами.

**Перехресна резистентність** – резистентність до Зефтери, спричинена спонтанною мутацією *in vitro*, спостерігається рідко. Описана перехресна резистентність між цефтобіпролом та деякими іншими цефалоспоринами останніх поколінь, однак деякі мікроорганізми резистентні до інших цефалоспоринів, можуть бути чутливими до цефтобіпролу.

### **Фармакокінетика**

**Концентрації в плазмі** – середні фармакокінетичні параметри Зефтери у дорослих після введення однієї дози 500 мг у вигляді 60-хвилинної інфузії та багаторазових доз, що вводилися кожні 8 годин у вигляді 120-хвилинних інфузій, наведені у таблиці 1.2. Фармакокінетичні характеристики виявились схожими після введення однієї дози і після введення багаторазових доз.

**Середні (стандартне відхилення) фармакокінетичні параметри  
цефтобіпролу у дорослих**

Параметри	Одна доза 500 мг у вигляді 60-хвилинної інфузії	Багаторазові дози у вигляді 120-хвилинної інфузії кожні 8 годин
$C_{max}$ (мкг/мл)	34,2 (6,05)	33,0 (4,83)
AUC (мкг/год/мл)	116(20,2)	102 (11,9)
$t_{1/2}$ (год)	2,85 (0,55)	3,3 (0,3)
CL (мл/13в.)	4,46 (0,84)	4,98 (0,58)

$C_{max}$  (максимальна концентрація) і AUC (площа під кривою «концентрація-час») цефтобіпролу збільшуються пропорційно дозі в діапазоні доз 125 мг – 1 г. Рівноважні концентрації досягаються в перший день лікування; у людей з нормальною функцією нирок введення цефтобіпролу кожні 8 і 12 год не підвищує фармакологічні ефекти.

**Розподіл** – цефтобіпрол на 16% зв'язується з білками плазми і ця ступінь зв'язування не залежить від його концентрації. Стаціонарний обсяг розподілу (18 л) цефтобіпролу наближається до обсягу позаклітинної рідини у людини.

**Метаболізм** – біоперетворення з цефтобіпролу медокаріла в активну форму – цефтобіпрол відбувається швидко і каталізується естеразами плазми. Концентрації пролікарської форми мізерно малі, і його вдається виявити в плазмі і сечі тільки під час інфузії. Цефтобіпрол піддається мінімальному метаболізму до нециклічного метаболіту, який мікробіологічно неактивний. Концентрація цього метаболіту нижче концентрації самого цефтобіпролу і становить близько 4% від останнього.

**Виведення** – цефтобіпрол виводиться переважно в незміненому вигляді шляхом ниркової екскреції, і  $T_{1/2}$  становить близько 3 годин. Після введення 1 дози приблизно 89% її виявляється в сечі у вигляді активного цефтобіпролу (83%), метаболіту з відкритим кільцем (5%) і цефтобіпролу медокаріла (<1%).

**Показання**

Лікування ускладнених інфекцій шкіри, включаючи інфіковану діабетичну стопу без супутнього остеомієліту.

## **Протипоказання**

Гіперчутливість до цефтобіпролу, будь-якої допоміжної речовини, що входить до складу препарату та інших цефалоспоринів; пацієнти, у яких в анамнезі спостерігалися алергічні реакції на  $\beta$ -лактамні антибіотики; дитячий вік до 18 років; ниркова недостатність; епілепсія; судомні напади (в анамнезі); псевдомембранозний коліт (в анамнезі).

## **Вагітність і лактація**

Цефтобіпрол не спричиняє ніяких відхилень у розвитку плода під час прийому антибіотика і не несе ускладнень вагітності. Невідомо, чи здатний цефтобіпрол проникати в грудне молоко жінок, що годують. Дослідження на тваринах показали, що препарат проникає в молоко. З огляду на це, жінки, які отримують препарат, повинні утримуватися від грудного вигодовування.

## **Побічна дія**

Небажаними ефектами, котрі зумовили скасування цефтобіпролу, були: висипання на шкірі (0,6%), нудота (0,5%), блювота (0,4%), реакції гіперчутливості (0,3%) і гіпонатріємія (0,3%). У більшості випадків нудота була легкою, проходила сама по собі і не вимагала скасування цефтобіпролу. Нудота рідше спостерігалася у пацієнтів, які отримували 120-хвилинні інфузії (10%), ніж у тих, хто отримував 60-хвилинні інфузії (14%). Частота виникнення судомних нападів, анафілаксії і псевдомембранозного коліту, викликаного *Clostridium difficile*, склала менше 1%.

## **Взаємодія з іншими лікарськими препаратами**

Препарат “Зефтера” володіє мінімальною здатністю до взаємодії з іншими ЛЗ.

## **Спосіб введення і дози**

**Внутрішньовенно (в/в)** – при інфекціях, які викликані грамнегативними або грампозитивними, а також при інфікованій діабетичній стопи без супутнього остеомієліту: рекомендована доза становить 500 мг кожні 8 год у вигляді 120-хвилинної в/в інфузії. При інфекціях, які доведено або імовірно спричинені грампозитивними бактеріями: 500 мг – кожні 12 год у вигляді 60-хвилинних в/в інфузій. Тривалість терапії становить 7–14 днів.

**Дози у літніх пацієнтів** – немає необхідності в корекції дози.

**Дози у пацієнтів з нирковою недостатністю** – у пацієнтів з незначним порушенням функції нирок дозу змінювати не потрібно. У пацієнтів з порушенням функції нирок середньої тяжкості доза повинна становити 500 мг кожні 12 год у вигляді 120-хвилинних в/в інфузій. У пацієнтів з тяжкими порушеннями функції нирок доза повинна становити 250 мг кожні 12 год у вигляді 120-хвилинних в/в інфузій.

**Дози у пацієнтів, які перебувають на діалізі** – не рекомендується призначати даний препарат, через його виведення під час гемодіалізу.

**Дози у пацієнтів з печінковою недостатністю** – в даний час немає досвіду застосування цефтобіпролу у пацієнтів з печінковою недостатністю. Однак з огляду на той факт, що цефтобіпрол піддається мінімальному метаболізму в печінці і виводиться переважно нирками, можна вважати, що у пацієнтів з печінковою недостатністю дозу препарату знижувати не слід.

**Приготування розчину** – ліофілізований порошок необхідно розчинити в 10 мл води для ін'єкцій або 5% розчину глюкози для ін'єкцій. Вміст флакона слід енергійно струсити. Повне розчинення порошку займає до 10 хв. Перед розведенням в інфузійному розчині необхідно дати осісти утвореній піні.

**Розведення** – слід витягнути 10 мл готового розчину з флакона і ввести у відповідну посудину, що містить 250 мл 0,9% розчину хлориду натрію, 5% розчину глюкози або розчину лактату Рінгера для інфузій. Інфузійний розчин обережно перевертають догори-вниз 5–10 разів для отримання однорідного розчину цефтобіпролу. Для пацієнтів з тяжкою нирковою недостатністю 5 мл готового розчину цефтобіпролу розводять в 125 мл 0,9% розчину хлориду натрію, 5% розчину глюкози або розчину лактату Рінгера для інфузій.

**Інфузія** – інфузійний розчин перед введенням візуально перевіряють на відсутність механічних включень і при виявленні останніх відбраковують.

### **Особливі вказівки**

Зберігання приготовленого інфузійного розчину – приготовлений розчин може зберігатися протягом 1 год. При температурі 25°C і 24 години при температурі 2–8°C. Приготовлений інфузійний розчин не можна заморожувати

до мінусових температур і виставляти на відкриті сонячні промені. Після вилучення з холодильника інфузійного розчину потрібно дати йому нагрітися до кімнатної температури і тільки після цього робити інфузію. В процесі застосування інфузійного розчину захист від світла не потрібний [2, 15].

## РОЗДІЛ 2 ОБГРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТА ХАРАКТЕРИСТИКА БІОЛОГІЧНОГО АГЕНТА

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

Для хімічної модифікації усіх цефалоспоринів необхідно синтезувати мікробіологічним шляхом їх попередник – цефалоспорин С. Дану сполуку можуть синтезувати різні штами *T. variabilis* [6], генно-модифіковані штами *E. coli* [7] і штами *A. chrysogenum*, які синтезують найбільшу кількість цефалоспорину С серед усіх продуцентів. Для порівняння здатності штамів *A. chrysogenum* синтезувати цефалоспорин С і вибору найкращого з них продуцента, було обрано таких представників – *A. chrysogenum* RNCM F-4081D, *A. chrysogenum* M35 і *A. chrysogenum* HC-3 [8-10]. Штам *A. chrysogenum* RNCM F-4081D отримують шляхом 11-ти циклічного мутагенезу дикого штаму ATCC 11550 з використанням диметилсульфату, етиленіміну, N-нітрозо-N-метилсечовини та N-нітрозо-N-метилбіурета, послідовно. Концентрація цефалоспорину С, при такій модифікації, збільшується у 100 разів, порівняно з диким штамом [8]. Штам *A. chrysogenum* M35 отримують шляхом обробки УФ-опромінення дикого штаму ATCC20339, в результаті концентрація цефалоспорину С збільшується у кілька разів [9]. Штам *A. chrysogenum* HC-3 був наданий компанією CSPC Hebei Zhongrun Pharmaceutical Co Ltd, який зберігався при -20°C в суспензії з 20%-им гліцерином [10].

Серед особливостей культивування даних штамів слід виділити деякі нюанси підготовки компонентів поживного середовища, а саме приготування гідролізату сухих водоростей і гліцерину при культивуванні штаму M35. Для приготування гідролізату необхідно попередньо висушити 100 г/л водоростей і додати 37%-ої соляної кислоти до загального об'єму 100 мл.

					<b>НУХТ БТЕК 04.02.09 КР ПЗ</b>		
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата			
Розроб.		Цветков К.О.			Літ.	Арк.	Аркушів
Перевір.		Скороцька О.І.				17	146
Реценз.					<i>Кафедра БТМ</i>		
Н. Контр.							
Затверд.		Пирог Т.П.					
<i>РОЗДІЛ 2. Обґрунтування вибору та характеристика біологічного агента</i>							

Даний гідролізат складається з 9,94% вуглеводів (55% глюкози і 45% галактози), 56,61% протеїнів, 0,64% клітковини, 4,55% ліпідів та 7,86% золи, він також є джерелом вуглецю і азоту [2]. Для приготування гліцерину спочатку треба визначитись який саме гліцерин треба використовувати – технічний або очищений. При використанні очищеного гліцерину концентрація цефалоспорину С становитиме 7,1 г/л, але вартість цього компонента буде вища, ніж вартість технічного гліцерину, який можна отримати як відходи виробництва біодизелю, що економічніше [16]. При використанні технічного гліцерину концентрація цефалоспорину С становить 6,7 г/л, що на 0,4 г/л нижче ніж при використанні очищеного гліцерину. Дана різниця не є суттєвою, тому при культивуванні *A. chrysogenum* М35 використовуватиметься технічний гліцерин [9]. Особливістю введення компонентів поживного середовища у ферментаційний простір, при культивуванні штаму НС-3, є їх дробне внесення, дозування яких наведено нижче [10].

Дані про склад поживного середовища, умови культивування, вихід цільового продукту і особливості біосинтезу наведено в таблиці 2.1.

Особливості біосинтезу цефалоспорину С при культивуванні *Acremonium chrysogenum*

Біологічний агент	Склад поживного середовища, г/л	Тривалість культивування, год	Концентрація цефалоспорину С, г/л	Особливості процесу біосинтезу	Використана література
<i>A. chrysogenum</i> RNCM F-4081D	Кукурудзяний екстракт – 100 Декстрин – 60 Кукурудзяний крохмаль – 25 Соєва олія – 20 Крейда – 10 Глюкоза – 5 (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> – 14 KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> – 5 MgSO <sub>4</sub> × 7H <sub>2</sub> O – 3,5 Розчин мікроелементів: CuSO <sub>4</sub> × 5H <sub>2</sub> O – 0,018 ZnSO <sub>4</sub> × 7H <sub>2</sub> O – 0,15 MnSO <sub>4</sub> × 7H <sub>2</sub> O – 0,03 FeSO <sub>4</sub> × 7H <sub>2</sub> O – 0,07	120	9,1	Параметри культивування: t = 28°C, pH = 6.2–6.4	Dumina M., Zhgun A., Novak M., Domratcheva A., Petukhov D., Dzhavakhiya V., Eldarov M., Bartoshevitch E. Comparative gene expression profiling reveals key changes in expression levels of cephalosporin C biosynthesis and transport genes between low and high-producing strains of <i>Acremonium chrysogenum</i> . <i>World J. Microbiol. Biotechnol.</i> 2014; 30:2933–2941. Doi: 10.1007/s11274-014-1721-1 [8]
<i>A. chrysogenum</i> M35	Гідролізат сухих водоростей – 100 мл Технічний гліцерин – 48 мл* Кукурудзяний екстракт – 2,3 мл DL-метіонін – 2 K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> – 0,25 KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> – 0,15 CaCO <sub>3</sub> – 0,05	96	6,7	Параметри культивування: t = 27°C; pH = 7, з наступною його зміною на 24 годину культивування до 6.3, на 48 годину – 5.9, на 72 годину – 5.8 і на 96 годину – 5.7	Ja Hyun L., Nah Young Y., Xiaoguang Y., Dong Sup K., Ju Hun L., Soo Kweon L., Sung Ok H., Seung Wook K. Utilization of Algar Sugars and Glycerol for Enhanced Cephalosporin C Production by <i>Acremonium chrysogenum</i> M35. <i>Lett. Appl. Microbiol.</i> 2017;64(1):66-72. Doi: 10.1111/lam.12684 [9]
<i>A. chrysogenum</i> НС-3	Соєва олія – 210,9 Глюкоза – 142,5	190	37	Параметри культивування: t – 28°C з наступною її зміною до 25°C через 50 годин; pH	Hongzhen L., Jingshu Z., Guoqiang Y., Yanli Z., Han L., Zhenni H., Zhongping S. Performance improvement of cephalosporin C

## Закінчення таблиці 2.1

				= 5.6; Дробне внесення – кожні 24 години вносити 26,64 г/л соєвої олії і 18 г/л глюкози упродовж усього часу культивування	fermentation by <i>Acremonium chrysogenum</i> with DO-Stat based strategy of co-feeding soybean oil and glucose. <i>J. Proc. Biochem.</i> 2013; 48(12): 1822-1830 doi: org/10.1016/j.procbio.2013.09.021 [10]
--	--	--	--	--	---

Примітка: \* – об'єм гліцерину при густині 1260 кг/м<sup>3</sup> і масі 60 г/л.

Проаналізувавши таблицю 2.1 можна дійти висновку, що штам *A. chrysogenum* HC-3 є найкращим продуцентом цефалоспорину С, бо продукує в 4,5 рази більше цефалоспорину С ніж інші продуценти, але час його культивування складає 190 годин, що більше ніж у двох інших штамів, а також необхідне дробне внесення субстрату: кожні 24 години необхідно вносити 26,64 г/л соєвої олії і 18 г/л глюкози. Штам *A. chrysogenum* M35 має час культивування у розмірі 96 годин, *A. chrysogenum* RNCM F-4081D – 120 годин, а концентрація цільового продукту при використанні штаму M35 на 25% нижча за концентрацію цефалоспорину С при використанні штаму RNCM F-4081D. Для більш детального дослідження даних штамів і вибору найпродуктивнішого, в економічному плані, слід порівняти ціну компонентів поживних середовищ усіх трьох продуцентів. Дані про вартість кожного компоненту поживного середовища представлених продуцентів наведено в таблиці 2.2.

Таблиця 2.2

**Вартість компонентів поживного середовища для культивування  
продуцентів цефалоспорину С**

Продуцент	Компоненти поживного середовища, г/л	Ціна компонента, грн/кг	Вартість компонента (грн) на 1 л середовища	Джерело інформації***	
<i>A. chrysogenum</i> RNCM F-4081D	Кукурудзяний екстракт – 100;	25	2,5	1	
	Декстрин – 60;	25	1,5	2	
	Кукурудзяний крохмаль – 25;	15	0,375	3	
	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> – 5;	18	0,09	4	
	Глюкоза – 5;	18	0,09	5	
	MgSO <sub>4</sub> × 7H <sub>2</sub> O – 3,5;	11,8	0,0413	6	
	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> – 14;	20	0,28	7	
	Крейда – 10;	6,9	0,069	8	
	Соєва олія – 20;	210	4,2	9	
	Розчин мікроелементів:				
	CuSO <sub>4</sub> × 5H <sub>2</sub> O – 0,018;	64	0,001152	10	
ZnSO <sub>4</sub> × 7H <sub>2</sub> O – 0,15;	80	0,012	11		
MnSO <sub>4</sub> × 7H <sub>2</sub> O – 0,03;	19,9	0,000597	12		
FeSO <sub>4</sub> × 7H <sub>2</sub> O – 0,07.	75	0,00525	13		

Вартість 1 л середовища – 9,16 грн				
<i>A. chrysogenum</i> M35	Гідролізат сухих водоростей* – 100 мл;	50	5	14
	Технічний гліцерин – 48 мл;	5**	0.24	15
	Кукурудзяний екстракт – 2,3 мл;	25	0,0575	1
	DL-метіонін – 2;	97	0,194	16
	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> – 0,25;	26,99	0,0067	17
	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> – 0,15;	18	0,0027	4
	CaCO <sub>3</sub> – 0,05;	6,9	0,000345	8
Вартість 1 л середовища – 5,5 грн				
<i>A. chrysogenum</i> НС-3	Соева олія – 210,9;	210	44,1	9
	Глюкоза – 142,5;	18	2,565	5
	Вартість 1 л середовища - 46,67 грн			

Примітка: \* – ціна водоростей, з яких готується гідролізат; \*\* – вартість технічного гліцерину за літр; \*\*\* – ціни наведено станом на лютий 2020 року: 1 - <https://kiev.flagma.ua/uk/kukurudzyniy-ekstrakt-o5052730.html>, 2 - <https://prom.ua/ua/p58892822-dekstrin-kukuruznyj-klej.html?primelead=MC41MQ%3D%3D>, 3 - <https://prom.ua/ua/p13573985-krahmal-kukuruznyj.html?primelead=MQ%3D%3D>, 4 - <https://prom.ua/ua/p4549379-monofosfat-kaliya.html>, 5 - <https://prom.ua/ua/p220671705-glyukoza-pishevaya.html>, 6 - <https://tonnaplus.com.ua/p5309401822-sulfat-magniya-kristallicheskiy.html>, 7 - <https://prom.ua/ua/p740939380-sulfat-ammoniya-ammoniumsulfate.html>, 8 - <https://obuhov.flagma.ua/uk/vapnyak-kreyda-kalcij-kormoviy-o3847236.html>, 9 - <https://prom.ua/ua/p41754915-rastitelnoe-maslo-soevoe.html>, 10 - <https://prom.ua/ua/p21851444-midnij-kuporos-sulfat.html>, 11 - <https://prom.ua/ua/p715596375-tsink-sernokisljy-teh.html>, 12 - <https://prom.ua/ua/p47505427-sulfat-margantsa-mnso4.html>, 13 - <https://kiev.flagma.ua/uk/zhelezny-kuporos-o3393897.html>, 14 - <https://kiev.flagma.ua/uk/universalnoe-organicheskoe-udobrenie-o62229999.html>, 15 - <https://pelleta.com.ua/glicerin-texnicheskij-o31649.html>, 16 - <https://zakupka.com/p/698314326-dl-metionin-kormovoy-evonik/>, 17 - <https://novohim.com.ua/ua/catalog/promislova-ximiya-j-sirovina/kalij-fosfornokislj-2-zamishhenij/>

Порівнюючи ціни компонентів поживного середовища, можна дійти висновку, що економічно вигідним є використання штаму *A. chrysogenum* M35 для синтезу цефалоспорину С, компоненти поживного середовища якого майже в 2 рази дешевші за компоненти поживного середовища *A. chrysogenum* RNCM F-4081D і майже у 9 разів дешевші за компоненти поживного середовища *A. chrysogenum* НС-3. Але дані показники не є вирішальними у виборі біологічного агента для синтезу цефалоспорину С, бо, попри явну економічність використання штаму *A. chrysogenum* M35, ще треба порівняти ціну одного граму цефалоспорину С у представлених продуцентів, при заданій вище вартості компонентів поживного середовища і часу культивування.

В узагальненій таблицю 2.3 наведено умовну вартість 1 г цефалоспорину С при використанні вище наведених штамів.

Таблиця 2.3

**Умовна вартість 1 г цефалоспорину С, який синтезується на різних ростових субстратах**

Біологічний агент	Концентрація цефалоспорин у С, г/л	Тривалість культивування, год	Кількість утвореного цефалоспорину С за годину, г/год	Вартість 1 л середовища, грн/л	Умовна вартість 1 г цільового продукту, грн/г
1	2	3	4	5	6
<i>A. chrysogenum</i> RNCM F-4081D	9,1	120	0,075	9,16	1,07
<i>A. chrysogenum</i> M35	6,7	96	0,069	5,5	0,82
<i>A. chrysogenum</i> HC-3	37	190	0,19	46,67	1,27

Проаналізувавши дані наведені в таблиці 2.3, можна остаточно вибрати *A. chrysogenum* M35 як найпродуктивніший штам, що синтезує цефалоспорин С. Хоча концентрація виробленого цефалоспорину С у нього найнижча серед представлених штамів, але вартість 1 г цефалоспорину С на 23% менша за вартість 1 г цефалоспорину С при використанні штаму *A. chrysogenum* RNCM F-4081D, а також на 35% нижча ніж при використанні штаму *A. chrysogenum* HC-3. Також час культивування *A. chrysogenum* M35 на 94 годин нижчий за час культивування штаму *A. chrysogenum* HC-3, і на 24 години менший за час культивування *A. chrysogenum* RNCM F-4081D.

Отже, враховуючи вище сказане, у даній кваліфікаційній роботі пропонується використовувати *A. chrysogenum* M35, як продуцент цефалоспорину С.

## 2.2. Морфолого-культуральні та фізіолого-біохімічні ознаки

### *A. chrysogenum* M35

*A. chrysogenum* M35 являє собою повільно рослий гриб, міцелій септований, клітини круглі, яйцевидні чи витягнуті, нерухливий. При вирощуванні на твердих поживних середовищах утворює щільні, пухкі, конусоподібні колонії. Молоді колонії утворюють слабо виражений повітряний міцелій, пігмент в середовище не виділяють, мають білий чи слабо-рожевий колір. Добре росте при наявності у середовищі неорганічних солей натрію, кальцію, магнію або калію, може рости і розвиватися у диких умовах, а саме у ставках і озерах, де наявні водорості. Розмноження відбувається нестатевим шляхом, за допомогою конідій, які мають еліпсоподібну або яйцеподібну форми розмірами 3-4 мкм, прямі, іноді зігнуті, зібрані у головки до 16 мкм у діаметрі (рис. 2.1).

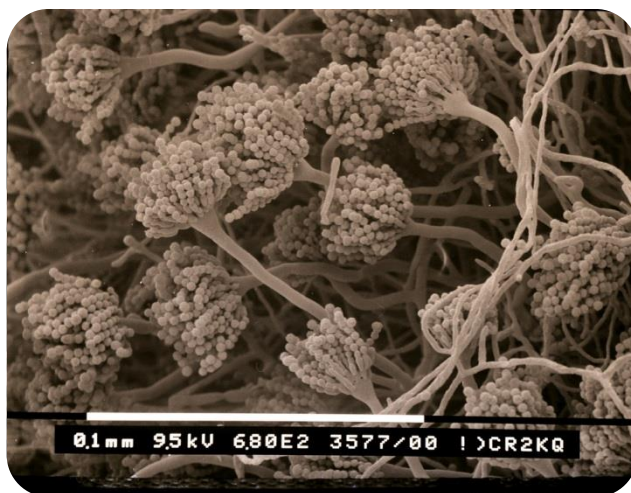


Рис. 2.1. *A. chrysogenum* M35 – вигляд під мікроскопом

Розмір конідій залежить від середовища, на якому культивується *A. chrysogenum* M35, а саме: при вирощуванні на картопляно-глюкозному агарі розмір конідій становив  $8,4 \times 2,8$ – $14,0 \times 2,8$  мкм; при вирощуванні на сусло-агарі –  $5,6 \times 3,1$ – $11,2 \times 2,8$  мкм; при вирощуванні на синтетичному середовищі Чапека з сахарозою та азотнокислим натрієм –  $4,2 \times 4,2$ – $8,4 \times 4,2$  мкм [17].

Штам *A. chrysogenum* M35 належить до строгих аеробів, оптимальна для росту температура –  $27^{\circ}\text{C}$ , діапазон температур, у яких спостерігається ріст і розвиток даного продуцента, становить  $20$ – $35^{\circ}\text{C}$ , оптимальне значення рН = 7, але може рости і при значенні рН = 5–8,5. Тип живлення –

хемоорганогетеротроф, сапрофіт, розкладає бітумні та полімерні матеріали, росте на глюкозі, галактозі, суміші цукрів, а також на поверхні водоростей. Не потребує факторів росту, але при їх наявності росте і розвивається інтенсивніше [9, 17].

### **2.3. Таксономічний статус *A. chrysogenum* M35**

Домен – *Eukaryota*;

Царство – *Fungi*;

Підцарство – *Dikarya*;

Відділ – *Ascomycota*;

Підвідділ – *Pezizomycotina*;

Клас – *Sordariomycetes*;

Підклас – *Hypocreomycetidae*;

Порядок – *Hypocreales*;

Рід – *Acremonium*;

Вид – *Chrysogenum*;

Штам – M35 [18].

## РОЗДІЛ 3 ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБГРУНТУВАННЯ

### 3.1. Потреба у цільовому продукті

Цефтобіпрол використовується у медичній галузі як антибіотик для лікування різних інфекційних захворювань, збудниками яких можуть бути *Enterococcus faecalis*; представники роду *Staphylococcus* – *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*; представники роду *Streptococcus* – *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus haemolyticus*, *Streptococcus hominis*, *Streptococcus lugdunensis*, *Streptococcus saprophyticus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus viridans*; представники роду *Enterobacter* – *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter aerogenes*; *Escherichia coli*, представники роду *Klebsiella* – *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*; *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*; представники роду *Citrobacter*; *Moraxella catarrhalis*, *Morganella morganii*, представники роду *Neisseria*, представники роду *Providencia*, *Serratia marcescens*. Одним з методів використання цефтобіпролу є лікування синдрому діабетичної стопи, захворювання, що виникає у хворих на цукровий діабет [2]. Станом на 2019 рік, кількість хворих людей на цукровий діабет в Україні дорівнює 1 млн 300 тисяч осіб і щорічно реєструється понад 100 тисяч нових випадків [3].

При ускладненнях цукрового діабету може розвиватися синдром діабетичної стопи, який виникає у 25 % всіх хворих на діабет людей [4], з яких 90 % - це люди з цукровим діабетом другого типу [5]. Симптомами цієї патології є: інфекція, виразка, деструкція глибоких тканин стопи, розвиток неврологічних порушень, захворювання периферичних судин у нижніх кінцівках різного ступеня тяжкості. При прогресуванні даної хвороби виникає потреба у ампутації постраждалої кінцівки [19].

					<b>НУХТ БТЕК 04.02.09 КР ПЗ</b>		
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата			
Розроб.		Цвєтков К.О.			Літ.	Арк.	Аркушів
Перевір.		Скροцька О.І.				26	146
Реценз.					<b>Кафедра БТМ</b>		
Н. Контр.							
Затверд.		Пирог Т.П.					
<b>РОЗДІЛ 3. Техніко-економічне обґрунтування</b>							

Для лікування даної інфекційної хвороби можна використовувати антибіотик цефалоспоринового ряду – цефтобіпрол, який випускається у світі під назвою “Зефтера”. Даний антибіотик належить до п’ятого покоління цефалоспоринів, яке на даний час є найновішим класом препаратів цієї родини, тому бактерії ще не мають виробленої резистентності, або вона незначна. Цефтобіпрол – це бактерицидний засіб широкого спектру дії, що робить даний препарат незамінним при лікуванні різних інфекційних захворювань [9].

Перелік деяких інфекційних захворювань, при яких можна застосовувати препарат “Зефтера”, наведено в таблиці 3.1.

*Таблиця 3.1*

<b>Використання цефтобіпролу при інфекційних захворювань</b>		
<b>Хвороба</b>	<b>Наслідки захворювання</b>	<b>Летальність, %</b>
Синдром діабетичної стопи	Деструкція глибоких тканин стопи, розвиток неврологічних порушень, захворювання периферичних судин у нижніх кінцівках [19]	51,9 [20]
Гострі кишкові інфекції (ГКІ)	Діарея, підвищена температура, гастрит, ентерит, коліт, гастроентерит, ентероколіт та гастроентероколіт [21]	20–30 [21]
Правець	Закупорка головної або однієї з дрібних гілок легеневої артерії, пневмонія, легенева інфекція [22]	10–70* [22]

\* - залежить від лікування, віку постраждалого та загального стану здоров'я.

Отже, інфекційні хвороби є досить небезпечними для людини, так як можуть викликати різні патології в організмі. Серед представлених хвороб (табл. 3.1) найбільшу загрозу несе правець, бо летальність при зараженні може досягати 70 %, але дане захворювання виявляється на ранніх етапах і смертність напряму залежить від лікування і стадії хвороби, не кажучи вже про малу кількість постраждалих від цієї хвороби (5 випадків з яких 1 летальний) станом на 2019 рік [22]. Якщо ж розглянути порушення, які виникають під час перебігу синдрому діабетичної стопи, а також на летальність даної хвороби, що гарантує смертність кожного другого хворого, то розгляд даної хвороби і методи її лікування є виправданими.

Для лікування синдрому діабетичної стопи можна використовувати такі препарати (табл. 3.2):

Таблиця 3.2

**Препарати для лікування синдрому діабетичної стопи**

Назва препарату	Діюча речовина	Лікарська форма	Тривалість прийому, днів	Кількість препарату на курс	Ціна за упаковку, грн	Ціна препарату за курс, грн
Зефтера [2]	Цефтобіпрол [2]	Ліофілізат для приготування розчину для в/в інфузії [2]	14 [2]	28	24000 [23]	72000
Кларитроміцин-Дарниця [24]	Кларитроміцин [24, 25]	Таблетки для перорального введення [24]	7 [25]	14	157,5 [26]	157,5
Дохусуcline [27]	Доксициклін [25, 27]	Капсули для перорального введення [27]	8 [25]	9	11,70 [28]	11,70
Флукацид [29]	Флуклоксацилін [25, 29]	Таблетки для перорального введення [29]	7 [25]	14	1269 [29]	2538
Erythromycin [30]	Еритроміцин [25, 30]	Таблетки для перорального введення [30]	7 [25]	140	21 [31]	147
Метронідазол-здоров'я [32]	Метронідазол [25, 32]	Таблетки для перорального введення [32]	7 [25]	42	39 [33]	117

Кількість хворих на синдром діабетичної стопи в Україні складає 325000 людей [3, 4]. Для лікування даного захворювання можна використовувати антибіотики різної природи, складу і дії, а саме:

1). при легкій формі хвороби – кларитроміцин, доксициклін, флуклоксацилін і еритроміцин. Дані антибіотики використовуються на початковій стадії захворювання, їх дія представлена порушенням синтезу білку в середині бактеріальної клітини в результаті зв'язування з 30S і 50S субодинамиціями рибосом. Прийом даних ліків представлений пероральним введенням таблеток і капсул, що має свої недоліки, а саме проходження даної лікарської форми шлункового і печінкового бар'єру, в результаті чого відбувається біотрансформація діючої речовини, що призводить до часткової або повної втрати терапевтичного ефекту представлених антибіотиків. Другим недоліком є те, що дія антибіотиків буде проявлятися протягом тривалого часу, через

проходження ШКТ і печінки, тому їх використання у критичних ситуаціях неможливе [24, 25, 27, 29, 30];

2). При помірному та високому ступеню інфікування використовується цефтобіпрол і метронідазол. Механізм дії метронідазолу полягає в біохімічному відновленні його 5-нітрогрупи внутрішньоклітинними транспортними протеїнами анаеробних мікроорганізмів і найпростіших. Відновлена 5-нітрогрупа метронідазолу взаємодіє з ДНК мікроорганізмів, пригнічуючи її синтез, що призводить до загибелі клітини.

Але при використанні даного антибіотику можуть виникати неврологічні розлади, які призводять до психозів і загострення інших хвороб ЦНС. Також є ризик виникнення анафілактичного шоку, анорексії, порушень зору та хвороб крові і лімфатичної системи. Одним з головних недоліків метронідазолу є те, що мікроорганізми вже мають захисні системи, щоб боротись з бактерицидною дією цього препарату, тому межі його використання незначні і направлені більше на лікування хвороб, що викликають найпростіші [32]. Цефтобіпрол – це бактерицидний антибіотик широкого спектру дії, що зв'язується з багатьма важливими пеніцилінзв'язуючими білками як грампозитивних, так і грамнегативних бактерій. Мікроорганізми ще не мають виробленої резистентності до даного препарату, тому його часто використовують у випадках, коли необхідно замінити недієвий засіб. Проходячи курс лікування з використанням цефтобіпролу, частота виникнення побічної дії складає  $\geq 1\%$  і вона представлена незначними розладами шлунку, висипанням і слабким головним болем. Даний препарат вводять у вигляді в/в інфузії, що дозволяє отримати максимально швидкий ефект [2].

Отже, цефтобіпрол є найефективнішим засобом для лікування синдрому діабетичної стопи серед представлених, але з огляду на те, що лише невелика кількість хворих має тяжку форму цієї хвороби, то доцільним буде забезпечити 20 % хворих людей даним препаратом, тобто:

$$325000 - 100\%$$

$$X - 20\%$$

$$X = 65000 \text{ людей}$$

### 3.2. Розрахунок потужності виробництва

Виробництво “Зефтери” відбувається за кордоном компанією Patheon UK Limited (Великобританія), а випускний контроль компанією Janssen Pharmaceutica N.V. (Бельгія). Один флакон містить 500 мг цефтобіпролу [2], для забезпечення усіх хворих на синдром діабетичної стопи необхідно:

$$Y = 28 * 65000 = 1820000 \text{ флаконів}$$

де 28 – це необхідна кількість флаконів за курс лікування на одну людину, шт.

Кількість діючої речовини в 1820000 флаконах визначається за такою формулою:

$$A = 500 * 1820000 = 910000000 \text{ мг} = 910000 \text{ г цефтобіпролу}$$

Для синтезу цефтобіпролу необхідно синтезувати аналогічну кількість його попередника – цефалоспорин С. Дану сполуку можна отримати при культивуванні штаму міцеліальних грибів *A. chrysogenum* M35, який продукує 6,7 г/л цієї речовини за 96 годин [9]. Тому для отримання 910000 г цефалоспорину С необхідно така кількість культуральної рідини:

$$B = \frac{910000}{6,7} = 135820,9 \text{ л}$$

Враховуючи сумарні втрати цільового продукту при виділенні (40 %), необхідно отримати таку кількість культуральної рідини:

$$B = \frac{135820,9}{1 - (0,3 + 0,1)} = 226368,15 \text{ л або } 226,37 \text{ м}^3$$

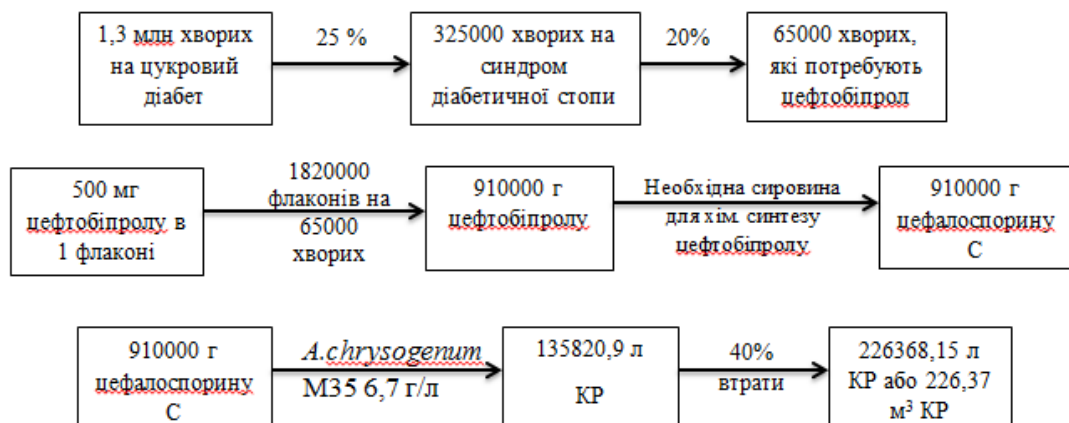


Рис. 3.1. Узагальнена схема розрахунку культуральної рідини для біосинтезу цефалоспорину С *A. chrysogenum* M35

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

Розраховуємо скільки культуральної рідини потрібно отримати за цикл ферментації, аби розрахувати кількість стадії приготування посівного матеріалу. Приймаємо кількість робочих трудоднів ( $T_{рд}$ ) = 105 (інші 260 днів, на даному ферментаційному обладнанні, продовжується культивування штаму *A. chrysogenum* M35 для отримання цефалоспорину С в якості попередника, з якого, за допомогою хімічної модифікації, отримують інші антибіотики цефалоспоринового ряду – цефклідин, цефозопран, цефотаксим і інші [1]), тоді кількість продукту на добу ( $V_d$ ) становитиме:

$$V_d = \frac{B}{T_{рд}} = \frac{226,37}{105} = 2,15 \text{ м}^3$$

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

$$V_{щ} = \frac{K_1 * V_d * T_{цф}}{24} = \frac{1,2 * 2,15 * 102,5}{24} = 11,05 \text{ м}^3/\text{цикл}$$

де  $T_{цф}$  – цикл роботи ферментера, який включає тривалість виробничого біосинтезу (96 год) та час підготовки ферментера до роботи (6,5 год).  $K_1$  – коефіцієнт запасу, що враховує можливість нестерильних операцій  $K_1 = 1,2$ . Підготовка ферментера включає: миття та огляд (1,5 год), перевірка на герметичність (0,5 год), підігрів апарату (0,5 год), стерилізація (1 год), охолодження (0,5 год), завантаження середовища (1,5 год), засів (0,5 год), вивантаження культуральної рідини (0,5 год).

11,05 м<sup>3</sup> культуральної рідини ( $V_{щ}$ ) можна отримати у ферментері, геометричний об'єм якого має становити:

$$V_r = \frac{V_{щ}}{K_{зап}} = \frac{11,05}{0,5} = 22,1 \text{ м}^3$$

де  $K_{зап} = 0,5$  – коефіцієнт заповнення ферментера. Найближчий за геометричним об'ємом ферментер  $V_r = 25 \text{ м}^3$ .

Уточнюємо коефіцієнт заповнення  $K_{зап} = \frac{V_{щ}}{V_r} = \frac{11,05}{25} = 0,442$ , що не перевищує заданого значення.

### 3.4. Розрахунок кількості стадій підготовки посівного матеріалу

За виробничий цикл отримуємо  $V_{\text{пц}} = 11,05 \text{ м}^3$  культуральної рідини. При одержанні культуральної рідини потрібно врахувати її втрати в результаті краплинності через колектор відпрацьованого повітря ( $E_{\phi}$ ), які становлять 10 %.

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

$$V_{\text{роб.1}} = \frac{V_{\text{пц}}}{1 - E_{\phi}} = \frac{11,05}{1 - 0,1} = 12,28 \text{ м}^3$$

При вибраному коефіцієнті заповнення  $K_{\text{зап}} = 0,5$  розраховуємо можливий геометричний об'єм ферментера ( $V_{\phi}$ ), що становить:

$$V_{\phi} = \frac{V_{\text{роб.1}}}{K_{\text{зап}}} = \frac{12,28}{0,5} = 24,56 \text{ м}^3$$

Приймаємо найближчий за об'ємом стандартний ферментер  $V_{\phi} = 25 \text{ м}^3$ , та уточнюємо прийнятий раніше коефіцієнт заповнення:

$$K_{\text{зап}} = \frac{V_{\text{роб.1}}}{V_{\phi}} = \frac{12,28}{25} = 0,49$$

Кількість посівного матеріалу для ферментера ( $E_{\phi 1}$ ) становить 10 % від об'єму поживного середовища. Тоді кількість поживного середовища у ферментері буде становити:

$$V_{\text{пс1}} = \frac{V_{\text{роб.1}}}{1 + E_{\phi 1}} = \frac{12,28}{1 + 0,1} = 11,16 \text{ м}^3$$

Кількість посівного матеріалу становить:

$$V_{\text{пм1}} = V_{\text{роб.1}} - V_{\text{пс1}} = 12,28 - 11,16 = 1,12 \text{ м}^3$$

Для одержання  $1,12 \text{ м}^3$  інокуляту у посівному апараті враховуємо втрати в результаті краплинності через колектор відпрацьованого повітря ( $E_{\phi 2}$ ), які становлять від 10 %. Кількість поживного середовища та посівного матеріалу у посівному апараті становитиме:

$$V_{\text{роб.2}} = \frac{V_{\text{пм1}}}{1 - E_{\phi 2}} = \frac{1,12}{1 - 0,1} = 1,24 \text{ м}^3$$

При вибраному коефіцієнті заповнення  $K_{\text{зап}} = 0,5$  розраховуємо можливий геометричний об'єм інокулятора ( $V_{\phi 1}$ ), що становить:

$$V_{\phi 1} = \frac{V_{\text{роб.2}}}{K_{\text{зап}}} = \frac{1,24}{0,5} = 2,48 \text{ м}^3$$

Приймаємо найближчий за об'ємом стандартний інокулятор  $V_{\phi 1} = 2,5 \text{ м}^3$ , та уточнюємо прийнятий раніше коефіцієнт заповнення:

$$K_{\text{зап}} = \frac{V_{\text{роб.2}}}{V_{\phi 1}} = \frac{1,24}{2,5} = 0,49$$

Кількість посівного матеріалу для інокулятора ( $E_{\phi 3}$ ) становить 10 % від об'єму поживного середовища. Тоді кількість поживного середовища у інокуляторі буде становити:

$$V_{\text{пс2}} = \frac{V_{\text{роб.2}}}{1 + E_{\phi 3}} = \frac{1,24}{1 + 0,1} = 1,12 \text{ м}^3$$

Кількість посівного матеріалу становить:

$$V_{\text{пм2}} = V_{\text{роб.2}} - V_{\text{пс2}} = 1,24 - 1,12 = 0,12 \text{ м}^3$$

Для одержання  $0,12 \text{ м}^3$  інокуляту у посівному апараті враховуємо втрати в результаті краплиносу через колектор відпрацьованого повітря ( $E_{\phi 4}$ ), які становлять від 10 %. Кількість поживного середовища та посівного матеріалу у посівному апараті становитиме:

$$V_{\text{роб.3}} = \frac{V_{\text{пм2}}}{1 - E_{\phi 4}} = \frac{0,12}{1 - 0,1} = 0,13 \text{ м}^3 \text{ або } 130 \text{ л}$$

При вибраному коефіцієнті заповнення  $K_{\text{зап}} = 0,5$  розраховуємо можливий геометричний об'єм інокулятора ( $V_{\phi 2}$ ), що становить:

$$V_{\phi 2} = \frac{V_{\text{роб.3}}}{K_{\text{зап}}} = \frac{130}{0,5} = 260 \text{ л}$$

Приймаємо найближчий за об'ємом стандартний інокулятора  $V_{\phi 2} = 250 \text{ л}$ , та уточнюємо прийнятий раніше коефіцієнт заповнення:

$$K_{\text{зап}} = \frac{V_{\text{роб.3}}}{V_{\phi 2}} = \frac{130}{250} = 0,52$$

Кількість посівного матеріалу для інокулятора ( $E_{\phi 5}$ ) становить 10 % від об'єму поживного середовища. Тоді кількість поживного середовища у інокуляторі буде становити:

$$V_{\text{пс3}} = \frac{V_{\text{роб.3}}}{1 + E_{\phi 5}} = \frac{130}{1 + 0,1} = 118,18 \text{ л}$$

Кількість посівного матеріалу становить:

$$V_{\text{пм3}} = V_{\text{роб.3}} - V_{\text{пс3}} = 130 - 118,18 = 11,82 \text{ л}$$

Для одержання 11,82 л інокуляту у посівному апараті враховуємо втрати в результаті краплевиносу через колектор відпрацьованого повітря ( $E_{\text{ф6}}$ ), які становлять від 10 %. Кількість поживного середовища та посівного матеріалу у посівному апараті становитиме:

$$V_{\text{роб.4}} = \frac{V_{\text{пм3}}}{1 - E_{\text{ф6}}} = \frac{11,82}{1 - 0,1} = 13,13 \text{ л}$$

При вибраному коефіцієнті заповнення  $K_{\text{зап}} = 0,5$  розраховуємо можливий геометричний об'єм інокулятора ( $V_{\text{ф3}}$ ), що становить:

$$V_{\text{ф3}} = \frac{V_{\text{роб.4}}}{K_{\text{зап}}} = \frac{13,13}{0,5} = 26,26 \text{ л}$$

Приймаємо найближчий за об'ємом стандартний інокулятор  $V_{\text{ф3}} = 30 \text{ л}$ , та уточнюємо прийнятий раніше коефіцієнт заповнення:

$$K_{\text{зап}} = \frac{V_{\text{роб.4}}}{V_{\text{ф3}}} = \frac{13,13}{30} = 0,43$$

Кількість посівного матеріалу для інокулятора ( $E_{\text{ф7}}$ ) становить 10 % від об'єму поживного середовища. Тоді кількість поживного середовища у інокуляторі буде становити:

$$V_{\text{пс4}} = \frac{V_{\text{роб.4}}}{1 + E_{\text{ф7}}} = \frac{13,13}{1 + 0,1} = 11,93 \text{ л}$$

Кількість посівного матеріалу становить:

$$V_{\text{пм4}} = V_{\text{роб.4}} - V_{\text{пс4}} = 13,13 - 11,93 = 1,2 \text{ л}$$

Кількість інокуляту для засіву малого інокулятора  $V_{\text{пм4}} = 1,2 \text{ л}$  можна одержати культивуванням штаму грибів *A. chrysogenum* M35 у колбах на качалці. Для цього використовуємо качалочні колби об'ємом  $V_{\text{колб}} = 750 \text{ мл}$  та коефіцієнтом заповнення  $K_{\text{зк}} = 0,2$ .

Тоді кількість колб для отримання посівного матеріалу становить:

$$N = \frac{V_{\text{пм4}}}{V_{\text{колб}} * K_{\text{зк}}} = \frac{1200}{750 * 0,2} = 8 \text{ штук}$$

Отже, процес одержання посівного матеріалу для забезпечення виробничого біосинтезу цефалоспорину С у ферментері об'ємом  $25 \text{ м}^3$  з коефіцієнтом заповнення 0,5 буде проходити у чотири етапи (рис. 3.2):

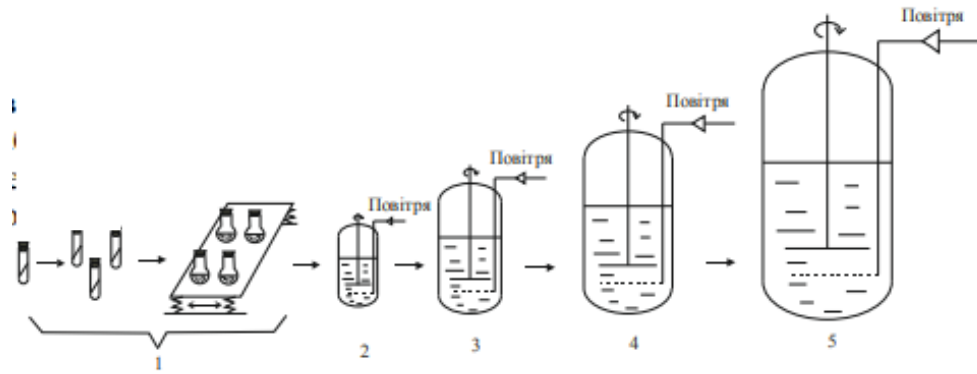


Рис.3.2. Схема приготування посівного матеріалу *A. chrysogenum* M35:

1 – вирощування в лабораторії (на скошеному агаризованому середовищі в пробірках і на рідкому поживному середовищі в колбах на качалці); 2–4 – вирощування в інокуляторах об'ємом (м<sup>3</sup>): 2 – 0,03; 3 – 0,25; 4 – 2,5; 5 – виробничий біосинтез 25 м<sup>3</sup>.

## РОЗДІЛ 4 БІОСИНТЕЗ ЦЕФАЛОСПОРИНУ С

### 4.1. Шляхи катаболізму ростового субстрату у *A. chrysogenum* M35

*A. chrysogenum* M35 як джерело вуглецю і енергії може використовувати глюкозу, суміш глюкози, галактози та інших цукрів з водоростей, а також різні напівсинтетичні субстрати. До складу поживного середовища, що використовується для вирощування *A. chrysogenum* M35, входить гідролізат водоростей, в складі якого наявна суміш цукрів (переважно, глюкози і галактози). Згідно Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG), катаболізм глюкози буде відбуватися за шляхом гліколізу [34, 35].

Взаємоперетворення галактози в глюкозу відбувається наступним чином: галактоза, під дією альдозо-1-епімерази (КФ.5.1.3.3), перетворюється до  $\alpha$ -галактози, яка за допомогою галактокінази (КФ.2.7.1.6) метаболізується у  $\alpha$ -галактозо-1-фосфат. Після даного перетворення,  $\alpha$ -галактозо-1-фосфат перетворюється в УДФ-галактозу, за допомогою УДФ-пірофосфорилази (КФ.2.7.7.64), після чого метаболізується у УДФ-глюкозу під дією УДФ-глюкогексозо-1-фосфат уридилтрансферази (КФ.2.7.7.12). УДФ-глюкоза перетворюється у глюкозо-1-фосфат за допомогою УДФ-глюкозо-1-фосфат уридилтрансферази (КФ.2.7.7.9), що метаболізується у глюкозо-6-фосфат під дією фосфоглюкомутази (КФ.5.4.2.2). Далі глюкозо-6-фосфат перетворюється у піруват за шляхом гліколізу [36].

Схему метаболізму галактози у глюкозу у *A. chrysogenum* M35 наведено на рис. 4.1.

					<b>НУХТ БТЕК 04.02.09 КР ПЗ</b>		
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата			
Розроб.		Цветков К.О.			Літ.	Арк.	Аркушів
Перевір.		Скροцька О.І.				36	146
Реценз.					<i>Кафедра БТМ</i>		
Н. Контр.							
Затверд.		Пирог Т.П.					
<i>РОЗДІЛ 4. Біосинтез цефалоспориноу С</i>							

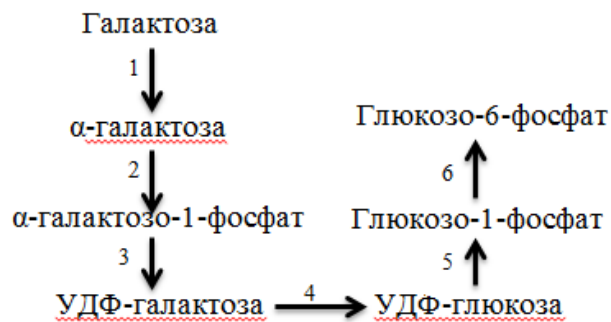


Рис.4.1.Взаємоперетворення галактози в глюкозу у *A. chrysogenum* M35

Ферменти: 1 – альдозо-1-епімераза (КФ.5.1.3.3); 2 – галактокіназа (КФ.2.7.1.6); 3 – УДФ-пірофосфорилаза (КФ.2.7.7.64); 4 – УДФ-глюкогексозо-1-фосфат уридилтрансфераза (КФ.2.7.7.12); 5 – УДФ-глюкозо-1-фосфат уридилтрансфераза (КФ.2.7.7.9); 6 – фосфоглюкомутаза (КФ.5.4.2.2).

Перетворення глюкози до глюкозо-6-фосфату здійснюється за допомогою глюконокінази (КФ.2.7.1.2), після чого глюкозо-6-фосфат перетворюється на фруктозо-6-фосфат під дією глюкозо-6-фосфатізомерази (КФ.5.3.1.9), далі фруктозо-6-фосфат перетворюється на фруктозо-1,6-дифосфат за допомогою фосфоглюкокінази (КФ.2.7.1.11) і однієї молекули АТФ. Після чого фруктозо-6-фосфат, під дією фруктозодифосфатальдолази (КФ.4.1.2.13), розпадається до гліцеральдегід-3-фосфату і дигідроксиацетонфосфату, який перетворюється до гліцеральдегід-3-фосфату за допомогою триозофосфатізомерази (КФ.5.3.1.1). Далі дана сполука, під дією гліцеральдегідфосфатдегідрогенази (КФ.1.2.1.12), перетворюється до 1,3-дифосфогліцерату, а також виділяється 2 молекули НАДН. Після чого 1,3-дифосфогліцерат метаболізується в 3-фосфогліцерат за допомогою фосфогліцераткінази (КФ.2.7.2.3), також йде виділення 2 молекул АТФ. Отримана сполука перетворюється до 2-фосфогліцерату під дією фосфогліцератфосфомутази (КФ.5.4.2.12). 2-фосфогліцерат, за допомогою енолази (КФ.4.2.1.11), перетворюється до фосфоенолпірувату, який під дією піруваткінази (КФ.2.7.1.40) метаболізується у піруват, що далі використовується у циклі трикарбонових кислот.

Схему метаболізму глюкози у *A. chrysogenum* M35 наведено на рис. 4.2.

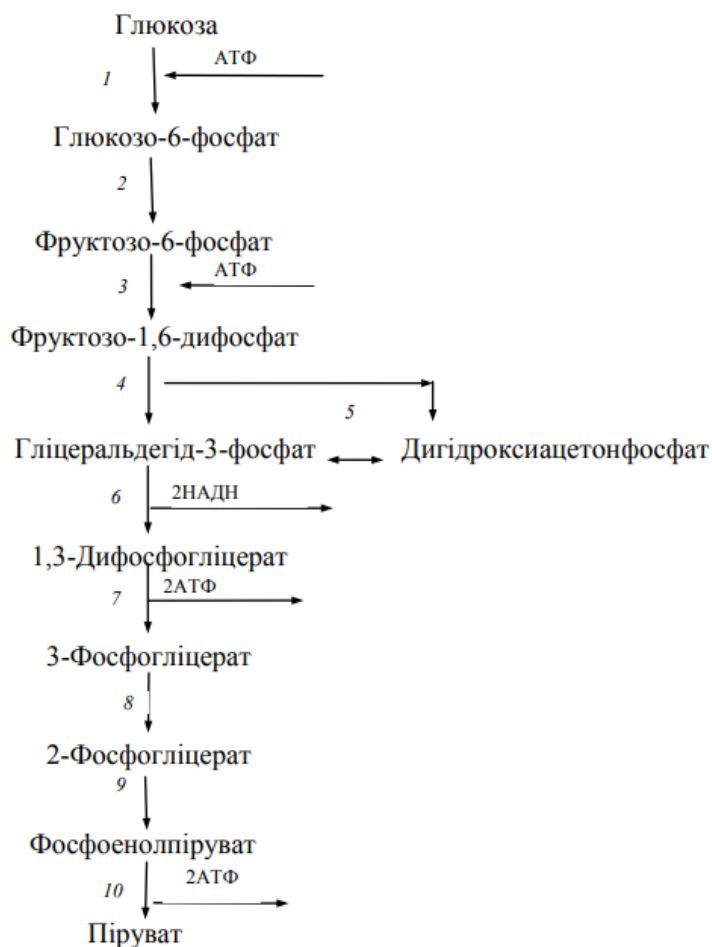


Рис. 4.2. Шлях катаболізму глюкози у *A. chrysoenum* M35

Ферменти: 1 – глюконокіназа (КФ.2.7.1.2); 2 – глюкозо-6-фосфатізомераза (КФ.5.3.1.9); 3 – фосфотруктокіназа (КФ.2.7.1.11); 4 – фруктозодифосфатальдоза (КФ.4.1.2.13); 5 – триозофосфатізомераза (КФ.5.3.1.1); 6 – гліцеральдегідфосфатдегідрогеназа (КФ.1.2.1.12); 7 – фосфогліцераткіназа (КФ.2.7.2.3); 8 – фосфогліцератфосфомутаза (КФ.5.4.2.12); 9 – енолаза (КФ.4.2.1.11); 10 – піруваткіназа (КФ.2.7.1.40).

#### 4.2. Біотрансформація ростового субстрату у цефалоспорин С

При рості штаму *A. chrysoenum* M35 на гідролізаті водоростей, куди входить суміш глюкози і галактози, утворюється піруват, що метаболізується у циклі трикарбонних кислот. В даному циклі синтезуються метаболіти, що використовуються при синтезі цистеїну, валіну і лізину, які використовуються для синтезу цефалоспорину С.

Біосинтез цефалоспорину С починається з перетворення лізину у сахаропін за допомогою сахаропіндегідрогенази (КФ.1.5.1.7), після чого дана сполука метаболізується у 2-амінодіапат-6-семальдегід під дією

альфааміноадипінової семальдегідсинтази (КФ.1.5.1.9). 2-амінодіапат-6-семальдегід перетворюється у L-2-аміноадипінову кислоту за допомогою альдегіддегідрогенази (КФ.1.2.1.31), що при додаванні цистеїну і валіну, а також N-(5-аміно-5-карбоксіпентаноїл)-L-цистеїніл-D-валін-синтази (КФ.6.3.2.26) перетворюється у  $\delta$ -(L-2-аміноадипіл)-L-цистеїніл-D-валін. Дана сполука далі метаболізується у ізопеніцилін N за допомогою ізопеніцилін-N-синтетази (КФ.1.21.3.1), що далі перетворюється у пеніцилін N під дією ізопеніцилін-N-епімерази (КФ.5.1.1.17). Пеніцилін N, за допомогою дезацетоксицефалоспорин-С-синтази (КФ 1.14.20.1), перетворюється у дезацетоксицефалоспорин С, що далі метаболізується у дезацетилцефалоспорин С, під дією дезацетоксицефалоспорин-С-гідроксилаза (КФ 1.14.11.26). Дезацетилцефалоспорин С перетворюється у цефалоспорин С за допомогою дезацетилцефалоспорин-С-ацетилтрансфераза (КФ 2.3.1.175) [10, 37].

Схему синтезу цефалоспорину С у *A. chrysogenum* M35 наведено на рис. 4.3.

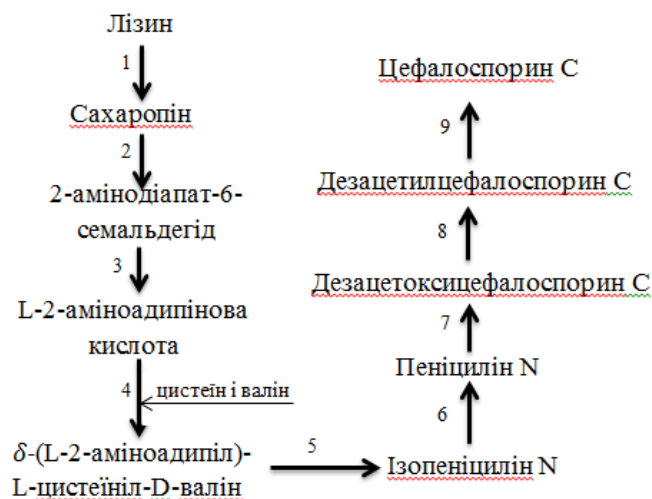


Рис. 4.3. Шлях біосинтезу цефалоспорину С у *A. chrysogenum* M35

Ферменти: 1 – сахаропіндегідрогеназа (КФ 1.5.1.7); 2 – альфааміноадипінова семальдегідсинтаза (КФ 1.5.1.9); 3 – альдегіддегідрогеназа (КФ 1.2.1.31); 4 – N-(5-аміно-5-карбоксіпентаноїл)-L-цистеїніл-D-валін-синтаза (КФ 6.3.2.26); 5 – ізопеніцилін-N-синтетаза (КФ 1.21.3.1); 6 – ізопеніцилін-N-епімераза (КФ 5.1.1.17); 7 – дезацетоксицефалоспорин-С-синтаза (КФ 1.14.20.1); 8 – дезацетоксицефалоспорин-С-гідроксилаза (КФ 1.14.11.26); 9 – дезацетилцефалоспорин-С-ацетилтрансфераза (КФ 2.3.1.175).

## РОЗДІЛ 5 ОБГРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ

### 5.1. Обґрунтування доферментаційних процесів та виробничого біосинтезу

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

При культивуванні *A. chrysogenum* M35 оптимальною температурою є 27°C, а рН – 7, через це слід дотримуватись асептичних умов при культивуванні даного штаму гриба (стерилізація ферментера, збірників, комунікацій і поживного середовища), щоб запобігти контамінації мезофільними та нейтрофільними мікроорганізмами, що розвиваються за даних параметрах. Також даний мікроорганізм належить до облігатних аеробів, тому слід забезпечити постійний доступ стерильного повітря у ферментер. Для інтенсифікації поглинання кисню даним продуцентом необхідно здійснювати перемішування. Процес перемішування повинен задовольняти вимогам культивування штаму грибів *A. chrysogenum* M35, який здатен утворювати міцелій, бо під час інтенсивного перемішування міцелій може зруйнуватися, тому доцільним буде використовувати барботажно-аерліфтні ферментери [38].

Культивування даного мікроорганізма проводиться глибинним способом з використанням рідкого поживного середовища періодичним методом. Це зумовлено тим, що цефалоспорин С – це вторинний метаболіт, який синтезується тільки на стаціонарній фазі росту, для досягнення якої підходить тільки періодичний спосіб культивування, бо при безперервному культивуванні досягти стаціонарної фази неможливо, через штучну зупинку на експоненційній фазі. Також, використання рідкого поживного середовища зумовлене тим, що цефалоспорин С виділяється з клітини в навколишнє середовище, а не залишається всередині, а при рості на щільному поживному середовищі виділення цефалоспорину С не відбудеться або відбудеться в дуже незначних кількостях.

					<b>НУХТ БТЕК 04.02.09 КР ПЗ</b>		
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата			
Розроб.		Цвєтков К.О.			Літ.	Арк.	Аркушів
Перевір.		Скροцька О.І.				40	146
Реценз.					<b>Кафедра БТМ</b>		
Н. Контр.							
Затверд.		Пирог Т.П.					
<b>РОЗДІЛ 5.</b> <i>Обґрунтування вибору технологічної схеми</i>							

Склад поживного середовища для культивування *A. chrysogenum* M35 (г/л): гідролізат сухих водоростей – 100 мл; технічний гліцерин – 48 мл; кукурудзяний екстракт – 2,3 мл; DL-метіонін – 2;  $K_2HPO_4$  – 0,25;  $KH_2PO_4$  – 0,15;  $CaCO_3$  – 0,05. При даних концентраціях компонентів поживного середовища немає необхідності їх дробного внесення і весь субстрат можна вводити на початку культивування [9].

Визначившись з особливостями проведення культивування міцеліального гриба *A. chrysogenum* M35 можна обрати підходящий ферментер, який буде повністю відповідати поставленим вимогам:

1). Через наявність у *A. chrysogenum* M35 добре розвинених гіфів, слід проводити подачу і перемішування кисню за допомогою барботажно-аерліфтною системи, щоб запобігти руйнації клітин гриба, яку можуть спричинити інші перемішувальні пристрої;

2). Для забезпечення сталої температури культивування ферментер повинен бути оснащений сорочкою і датчиком температури;

3). Також слід слідкувати за рівнем рН у ферментері, який повинен бути близьким до нейтрального, кислотність вимірюється датчиком рН, що обов'язково повинен бути встановлений у ферментері.

Ферментер об'ємом 25 м<sup>3</sup> з даними технічними характеристиками, а також коефіцієнтом заповнення 0,5, виготовляється на замовлення. З замовленням щодо виробництва такого ферментера можна звернутися до фірми “ BIORUS” (Росія). Дана фірма виготовляє ферментери різних об'ємів і конструкцій, що підходять для біотехнологічних виробництв різного напрямлення. У ферментерах даної фірми встановлена система стерилізації, можливість внесення посівного матеріалу у стерильних умовах, присутні порти для відбору проб, встановлені датчики рН, температури, оптичної густини, присутні різноманітні перемішувальні пристрої [39].

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

Штам міцеліального гриба *A. chrysogenum* M35 належить до строгих аеробів, тому в процесі його культивування необхідний постійний доступ кисню у ферментаційний простір. Повітря повинно бути стерильним і

подаватися за допомогою барботажно-аерліфтної системи, щоб унеможливити руйнування міцелію в процесі культивування, але через те, що даний гриб росте при  $t=27^{\circ}\text{C}$  і  $\text{pH}=7$  можуть розвиватися нейтрофільні і мезофільні мікроорганізми, які є контамінуючим фактором в процесі культивування, тому обов'язковим етапом підготовки повітря є його знезараження [9].

На стадії вирощування культури в колбах на качалках, при внесенні посівного матеріалу з пробірки у самі колби необхідного додатково простерилізувати повітря в боксі, де і відбувається сам процес засіяння. Для даної операції використовується УФ-лампи, які вмикають на 1...2 години перед самим внесенням посівного матеріалу. Довжина УФ-хвилі повинна складати 250–270 нм, що є найефективнішим діапазон для знезараження повітря [40].

Повітря, для вирощування посівного матеріалу в інокуляторах і для виробничого біосинтезу у ферментері, стерилізується рядом фільтруючих систем різного ступеня очистки. Стадії підготовки стерильного повітря для вирощування *A. chrysogenum* M35 такі:

1). Забір атмосферного повітря здійснюється за допомогою вертикальної труби з повітрязабірником у найвищій точці будівлі, де розміщене обладнання для стиснення та очищення повітря. Повітрязабірник має ширину 2,5 м, а довжину – 0,5 м, що дозволяє постійно отримувати приток свіжого атмосферного повітря для подальшого його очищення [41]. Будівля має висоту приблизно 12 м (трьохповерховий будинок), так як ферментація відбувається у вертикальному  $25 \text{ м}^3$  ферментері з висотою 8,52 м і шириною 3 м [42].

2). Очищення повітря від пилових включень за допомогою фільтра грубого очищення ФВК-36-600-3-G4, який має продуктивність  $1700 \text{ м}^3/\text{год}$  повітря. Ступінь очищення – 90 % [43];

3). Стиснення повітря в компресорі VEGA 200 під тиском 0,35 МПа, в результаті чого збільшується температура до  $120\text{--}200^{\circ}\text{C}$ , продуктивність компресора становить  $1730 \text{ м}^3/\text{год}$  повітря [44];

4). Охолодження стисненого повітря у теплообміннику AFR 315 до  $25\text{...}30^{\circ}\text{C}$ , продуктивність теплообмінника становить  $1890 \text{ м}^3/\text{год}$  повітря, вологовміст зменшується до 60 % [45];

5). Видалення сконденсованої вологи і парів мастила, що потрапили з компресора, у ресивері РВ 500.11.00, об'єм якого складає 500 л [46].

6). Нагрівання повітря у теплообміннику AFR 315 до 50°C, продуктивність теплообмінника становить 1890 м<sup>3</sup>/год повітря, вологовміст зменшується до 50 % [45];

7). Очищення повітря у головному фільтрі ФВК-36-300-4-F8, який розташовують поблизу ферментаційних відділень, до ступеня очистки E=95%, продуктивність фільтру – 1700 м<sup>3</sup>/год [47];

8). Очищення повітря в індивідуальних фільтрах до ступеня очистки E=99,995%, дані фільтри підбираються окремо для кожного інокулятора і ферментера:

- для ферментера об'ємом 25 м<sup>3</sup> використовується фільтр HEPA H14 з продуктивністю 2000 м<sup>3</sup>/год;
- для інокулятора об'ємом 2,5 м<sup>3</sup> – фільтр HEPA H14 продуктивністю 1200 м<sup>3</sup>/год;
- для інокулятора об'ємом 0,25 м<sup>3</sup> – фільтр HEPA H14 продуктивністю 670 м<sup>3</sup>/год;
- для інокулятора об'ємом 0,03 м<sup>3</sup> – фільтр HEPA H14 продуктивністю 270 м<sup>3</sup>/год [48].

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

Метою обробки миючими та дезінфікуючими засобами усіх стін, підлоги, обладнання і комунікацій є звільнення даних поверхонь від патогенних мікроорганізмів, які можуть нашкодити персоналу і бути джерелом контамінації при виробничому біосинтезі. Обробку даних поверхонь проводимо миючими та дезінфікуючими засобами, які повинні мати пролонговану дію, тобто антимікробна дія активної речовини таких засобів, після їх використання, буде зберігатися протягом певного періоду часу.

В якості методу дезінфекції усіх поверхонь виробничого приміщення пропонується використовувати хімічні дезінфекційні засоби, що забезпечать більш сильну знезаражуючу дію ніж інші методи дезінфекції. Способом же дезінфекції є протирання хімічними деззасобами усіх поверхонь

кваліфікованим персоналом, який має обов'язково бути захищеним від шкідливої дії самих засобів (носити рукавички, маски і халати) [49].

Для обробки відповідних поверхонь пропонується використовувати дезінфекційні засоби “Organic expert” і “Алосепт Рідина”. Всі засоби входять в “Державний реєстр дезінфекційних засобів України за 2020 рік” [50].

Засіб дезінфекційний “Organic expert” має такі діючі речовини – ізопропіловий спирт 75 %, ЧАС (алкілдиметилбензиламоній хлорид + дидецилдиметиламоній хлорид) не менше 0,1 %, N,N-біс(3-амінопропіл)додециламін не менше 0,1 % і полігексаметиленгуанідін гідрохлорид не менше 0,05 %. Так як ізопропіловий спирт має найбільшу частку в даному деззасобі, він і буде викликати бактерицидну/фунгіцидну дію при обробці різних поверхонь при заданій концентрації (яка і буде концентрацією розчину). Даний засіб можна застосовувати: для гігієнічної обробки з метою запобігання передачі патогенних мікроорганізмів, а також для дотримання елементарних правил гігієни рук та шкіри; для дезінфекції і санітарної обробки поверхонь, приміщень, обладнання, інструментів і лабораторного посуду; для обробки транспорту. Для обробки виробничих приміщень використовується 10 %-ий розчин даного дезінфекційного засобу. Витрати робочого розчину на 1 м<sup>2</sup> оброблюваної поверхні становить 30 мл [50, 51].

Засіб дезінфекційний “Алосепт Рідина” має одну діючу речовину – етиловий спирт 70%, а також допоміжні речовини: перекис водню 4,0%±0,05%, екстракт алоє вера натуральний 2,5%±0,05%, гліцерин 1,5%±0,025%. Сфера застосування даного засобу відповідає сфері застосування засобу дезінфекційного “Organic expert”. При заданій концентрації (яка є концентрацією самого розчину) етилового спирту головна бактерицидна/фунгіцидна дія буде забезпечуватися саме цією діючою речовиною [50]. Засіб “Алосепт рідина” використовується для знезараження рук в усіх галузях медицини, гігієнічної дезінфекції рук персоналу об'єктів, діяльність яких вимагає дотримання гігієнічних норм та правил, у домашніх умовах, для антисептичної обробки шкіри хворих та пацієнтів, для

зnezараження рук у вогнищах інфекційних захворювань та в зонах надзвичайних ситуацій; зnezараження шкірних покривів перед інвазивними лікувальними і діагностичними процедурами і маніпуляціями; дезінфекції невеликих поверхонь і виробів медичного призначення, медичних рукавичок, одягнених на руки персоналу і т.д. Для обробки виробничих приміщень використовується 10 %-ий розчин даного дезінфекційного засобу. Витрати робочого розчину на 1 м<sup>2</sup> оброблюваної поверхні становить 30 мл [52].

Дані засоби викликають пролонговану дію, тому використовувати їх для дезінфекції обладнання не можна, сфера їх застосування обмежується обробкою поверхонь, підлоги і стелі [53]. Для обробки апаратів використовуємо засіб дезінфекційний “Аніосепт актив” (діючі речовини: перкарбонат натрію 42,3...51,7 %; тетраацетилетилендіамін 22,5...27,5 %; четвертинні амонієві сполуки (ЧАС) 2,1...2,6 %). Даний деззасіб використовується в закладах охорони здоров'я, спортивнооздоровчих комплексах, соціального захисту населення; в підприємствах фармацевтичної, мікробіологічної, біотехнологічної, хімічної, парфумерно-косметичної, харчової промисловості, ресторанного господарства і торгівлі. Для обробки виробничих приміщень використовується 0,5 %-ий розчин даного дезінфекційного засобу. Витрати робочого розчину на 1 м<sup>2</sup> оброблюваної поверхні становить 20 мл [50, 54].

Виробництво цефалоспорину С здійснюється упродовж 105 днів. Оптимальна площа виробничого приміщення, в якому встановлено ферментер об'ємом 25 м<sup>3</sup> і інокулятори об'ємом 2.5, 0.25 і 0.03 м<sup>3</sup>, збірники, реактори-змішувачі, УБС і інше обладнання становить приблизно 15\*10 = 150 м<sup>2</sup>. Висота стін – 8 м (дана розмірність береться без урахування даху будівлі). Загальна площа стін становить ((15\*8)+(10\*8))\*2 = 400 м<sup>2</sup>. Площа підлоги – 150 м<sup>2</sup>. При генеральному прибиранні оброблюється як і стіни так і підлога, тому сумарна площа складає 400+150=550 м<sup>2</sup> (генеральне прибирання проводиться на початку кожного виробничого циклу, для 105 днів кількість циклів становить 21). Кожні 5 днів слід проводити генеральне прибирання, тобто 105/21 = 5, складає 30/5 = 6 прибирань за один місяць виробництва цефалоспорину С.

Кількість генеральних прибирань за весь виробничий процес буде становити:  
 $105/30 = 3,5$  місяці;  $3,5 * 6 = 21$  прибирання.

Поточне прибирання проводиться два рази на день (на початку і в кінці робочого дня) і воно включає обробку підлоги, стін і робочих поверхонь. Площа обладнання і комунікації для оброблення під час генерального прибирання складає приблизно половину сумарної площі, тобто  $550/2 = 275 \text{ м}^2$ .

## Узагальнена характеристика витрат мийних та дезінфекційних засобів

Назва засобу	Об'єкт миття та/або дезінфекції	Концентрація робочого розчину, %	Загальна площа (об'єм) обробки об'єкту за весь період виробництва, м <sup>2</sup> (м <sup>3</sup> )	Кількість робочого розчину за весь період виробництва, л	Вартість 1 л/кг мийного або дезінфекційного засобу, грн	Вартість 1 л робочого розчину засобу, грн	Загальна вартість миття та/або дезінфекції за весь період виробництва, грн
“Organic expert”	Стіни, підлога, стеля, вікна, двері	10	550	2775	196	19,6	54390
“Алосепт Рідина”	Стіни, підлога, стеля, вікна, двері	10	550	2775	300	30	83250
“Аніосепт актив”	Обладнання і комунікації	0,5	275	120	500	2,5	300

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

Для вирощування посівного матеріалу в колбах на качалках і інокуляторах використовуємо поживне середовище такого складу (г/л): кукурудзяний екстракт – 50 мл; DL-метіонін – 5;  $K_2HPO_4$  – 5;  $KH_2PO_4$  – 3;  $CaCO_3$  – 5; розчин мікроелементів –  $CuSO_4 \times 5H_2O$  – 0,02;  $ZnSO_4 \times 7H_2O$  – 0,15;  $MnSO_4 \times 7H_2O$  – 0,03;  $FeSO_4 \times 7H_2O$  – 0,07. Кількість компонентів розчину мікроелементів зазначена для 100 мл запасного розчину, що використовується при вирощуванні посівного матеріалу в колбах на качалках і інокуляторах об'ємом 30, 250 і 2500 л, він вноситься в розрахунку 1 мл на 1 л середовища, даний розчин стерилізується при 131°C упродовж 40 хв в автоклаві. Склад поживного середовища для виробничого біосинтезу (г/л): гідролізат сухих водоростей – 100 мл; технічний гліцерин – 48 мл; кукурудзяний екстракт – 50 мл; DL-метіонін – 5;  $K_2HPO_4$  – 5;  $KH_2PO_4$  – 3;  $CaCO_3$  – 5. При зазначеному складі поживного середовища концентрація цефалоспорину С в культуральній рідині складає 6,7 г/л, час культивування – 96 годин, рН=7, t=27°C, подача кисню здійснюється через барботажно-аерліфтну систему [9].

Ферментація буде проходити у ферментері об'ємом 25 м<sup>3</sup> з коефіцієнтом заповнення 0,5, об'єм поживного середовища складає 11,16 м<sup>3</sup>, а об'єм посівного матеріалу – 1,12 м<sup>3</sup>. Одержання інокуляту відбувається у чотири етапи (в колбах на качалках і посівних апаратах об'ємом 0,03; 0,25 і 2,5 м<sup>3</sup>). Для стерилізації компонентів поживного середовища обираємо автоклав з вертикальним завантаженням 5050ELVC об'ємом 110 л [55].

#### **Особливості підготовки і стерилізації поживного середовища для вирощування інокуляту в колбах на качалках**

Об'єм поживного середовища складає 1,2 л, кількість компонентів складає (г/1,2 л): кукурудзяний екстракт – 60 мл; DL-метіонін – 6;  $K_2HPO_4$  – 6;  $KH_2PO_4$  – 3,6;  $CaCO_3$  – 6. Розчин  $CaCO_3$  готується суспендуванням наважки, даний компонент завжди стерилізується окремо.

Всі компоненти поживного середовища розподіляються і стерилізуються в складі композицій, а саме:

*Композиція А* – кукурудзяний екстракт і DL-метіонін (об'єм композиції становить 700 мл, готуємо у колбі об'ємом 2 л, стерилізуємо упродовж 20 хв при 112°C в автоклаві);

*Композиція Б* –  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  і  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (об'єм композиції становить 400 мл, готуємо у колбі об'ємом 1 л, стерилізуємо упродовж 40 хв при 131°C в автоклаві);

*Композиція В* –  $\text{CaCO}_3$  (об'єм композиції становить 100 мл, готуємо у колбі об'ємом 250 мл, стерилізуємо упродовж 50 хв при 131°C в автоклаві).

Після стерилізації усіх композицій, колби з композиціями Б і В зливаються у колбу з композицією А. Також додається 1,2 мл простерилізованого розчину мікроелементів і перемішуються коловими обертами руки.

### **Особливості підготовки і стерилізації поживного середовища для вирощування інокуляту в посівних апаратах**

Об'єм поживного середовища для інокулятора об'ємом 0,03 м<sup>3</sup> складає 11,93 л, кількість компонентів складає (г/11,93 л): кукурудзяний екстракт – 596,5 мл; DL-метіонін – 59,65;  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  – 59,65;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  – 35,79;  $\text{CaCO}_3$  – 59,65. Розчин  $\text{CaCO}_3$  готується суспендуванням наважки, даний компонент завжди стерилізується окремо.

Всі компоненти поживного середовища розподіляються і стерилізуються в складі композицій, а саме:

*Композиція А* – кукурудзяний екстракт і DL-метіонін (об'єм композиції становить 4 л, готуємо і стерилізуємо у реакторі-змішувачі об'ємом 6 л упродовж 20 хв при 112°C);

*Композиція Б* –  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  і  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (об'єм композиції становить 7 л, готуємо у реакторі-змішувачі об'ємом 10 л, а стерилізуємо у інокуляторі упродовж 40 хв при 131°C);

*Композиція В* –  $\text{CaCO}_3$  (об'єм композиції становить 0,93 л, готуємо у колбі на 3 л, а стерилізуємо у автоклаві упродовж 50 хв при 131°C).

Композиції А і Б подаються у інокулятор самопливом, тому вони розміщуються вище самого посівного апарата, а композиція В вноситься у

інокулятор через засівний патрубок. Після додавання усіх композицій в інокулятор, вноситься 11,93 мл простерилізованого розчину мікроелементів.

Об'єм поживного середовища для інокулятора об'ємом 0,25 м<sup>3</sup> складає 118,18 л, кількість компонентів складає (г/118,18 л): кукурудзяний екстракт – 5,909 л; DL-метіонін – 590,9; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> – 590,9; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> – 354,54; CaCO<sub>3</sub> – 590,9. Розчин CaCO<sub>3</sub> готується суспендуванням наважки, даний компонент завжди стерилізується окремо.

Всі компоненти поживного середовища розподіляються і стерилізуються в складі композицій, а саме:

*Композиція А* – кукурудзяний екстракт і DL-метіонін (об'єм композиції становить 40 л, готуємо і стерилізуємо у реакторі-змішувачі об'ємом 60 л упродовж 20 хв при 112°C);

*Композиція Б* – KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> і K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (об'єм композиції становить 70 л, готуємо у реакторі-змішувачі об'ємом 100 л, а стерилізуємо у інокуляторі упродовж 40 хв при 131°C);

*Композиція В* – CaCO<sub>3</sub> (об'єм композиції становить 8,18 л, готуємо і стерилізуємо у реакторі-змішувачі об'ємом 10 л упродовж 50 хв при 131°C).

Композиції А і Б подаються у інокулятор за допомогою перистальтичних насосів відповідної продуктивності, а композиція В – самопливом. Після додавання усіх композицій в інокулятор, вноситься 118,18 мл простерилізованого розчину мікроелементів.

Об'єм поживного середовища для інокулятора об'ємом 2,5 м<sup>3</sup> складає 1,12 м<sup>3</sup>, кількість компонентів складає (кг/1,12 м<sup>3</sup>): кукурудзяний екстракт – 56 л; DL-метіонін – 5,6; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> – 5,6; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> – 3,36; CaCO<sub>3</sub> – 5,6. Розчин CaCO<sub>3</sub> готується суспендуванням наважки, даний компонент завжди стерилізується окремо.

Всі компоненти поживного середовища розподіляються і стерилізуються в складі композицій, а саме:

*Композиція А* – кукурудзяний екстракт і DL-метіонін (об'єм композиції становить 400 л, готуємо і стерилізуємо у реакторі-змішувачі об'ємом 630 л упродовж 20 хв при 112°C);

*Композиція Б* –  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  і  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  (об'єм композиції становить 700 л, готуємо у реакторі-змішувачі об'ємом 1 м<sup>3</sup>, а стерилізуємо у інокуляторі упродовж 40 хв при 131°C);

*Композиція В* –  $\text{CaCO}_3$  (об'єм композиції становить 100 л, готуємо і стерилізуємо у реакторі-змішувачі об'ємом 160 л упродовж 50 хв при 131°C).

Композиції А і Б подаються у інокулятор за допомогою перистальтичних насосів відповідної продуктивності, а композиція В – самопливом. Після додавання усіх композицій в інокулятор, вноситься 1120 мл простерилізованого розчину мікроелементів.

### **Особливості підготовки і стерилізації поживного середовища для виробничого біосинтезу**

Об'єм поживного середовища для 25 м<sup>3</sup> ферментера складає 11,16 м<sup>3</sup>, кількість компонентів складає (кг/11,16 м<sup>3</sup>): гідролізат сухих водоростей – 1116 л; технічний гліцерин – 535,1 л; кукурудзяний екстракт – 558 л; DL-метіонін – 55,8;  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  – 55,8;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  – 33,5;  $\text{CaCO}_3$  – 55,8. Для даного об'єму поживного середовища доцільним буде використовувати УБС-15 з потужністю 15 м<sup>3</sup>/год. Загальний час стерилізації поживного середовища становить  $11,16/15 = 0,744$  години або 45 хв. Гідролізат сухих водоростей готується так: зважуємо на об'ємно-ваговому дозаторі 1116 кг водоростей у 2 м<sup>3</sup> реактор-змішувач, додаємо розчин 37%-ої соляної кислоти до загального об'єму 1116 л і перемішуємо, стерилізуємо упродовж 15 хв при  $t = 121^\circ\text{C}$ ,  $P = 0,075$  МПа в самому реакторі. Збірник для розчину кислоти розташований вище самого реактора-змішувача і подається самопливом. Далі гідролізат перекачується відцентровим насосом у УБС-15, де змішується з іншими компонентами поживного середовища. Стерилізація в УБС-15 проходить при  $t = 130^\circ\text{C}$ ,  $P = 0,15$  МПа. Крейда готується в окремому реакторі-змішувачі і після стерилізації подається самопливом у ферментер.

#### **5.1.5. Обґрунтування вибору розчинів для регуляції рН та піногасника**

Розчини для регуляції рН використовуються при приготуванні гідролізату сухих водоростей, а саме 37%-ий розчин НСІ. При реакції гідролізу на 100 г/л водоростей необхідно додати 37%-го розчину НСІ до загального об'єму 100 мл,

$pH_{\text{Гідролізату}} = 3$ . Для стабілізації рН, після стерилізації композиції у інокуляторах і додавання усіх інших компонентів поживного середовища, використовуємо 6 %-ий розчин NaOH і 6 %-ий розчин HCl. В складі поживного середовища міститься кукурудзяний екстракт, який при високих концентраціях і постійній аерації, через аерліфтно-барботажную систему, може бути джерелом піноутворення, тому в якості піногасника, на стадіях накопичення посівного матеріалу в інокуляторах об'ємом 30, 250 і 2500 л, пропонується використовувати водорозчинний піногасник UCON™ LB-625 [56]. При виробничому біосинтезі наявність піногасника недоцільна, так як в складі поживного середовища є гліцерин, який має у своєму складі олієвмістні компоненти (жирні кислоти, тригліцериди), які здатні пригнічувати піноутворення. Розрахунок необхідної кількості розчинів титрувальних агентів і піногасника наведено в таблиці 5.2.

Таблиця 5.2

**Розрахунок вмісту допоміжних речовин**

Назва речовини	Об'єм ферментера, м <sup>3</sup>	Об'єм розчину, л	Особливості приготування
37%-ий розчин HCl	25	1116	У збірнику об'ємом 1,5 м <sup>3</sup>
6 %-ий розчин HCl	0,03	10	У збірнику об'ємом 15 л
	0,25	50	У збірнику об'ємом 60 л
	2,5	250	У збірнику об'ємом 300 л
	25	5000	У збірнику об'ємом 6 м <sup>3</sup>
6 %-ий розчин NaOH	0,03	10	У збірнику об'ємом 15 л
	0,25	50	У збірнику об'ємом 60 л
	2,5	250	У збірнику об'ємом 300 л
	25	5000	У збірнику об'ємом 6 м <sup>3</sup>
Піногасник UCON™ LB-625	0,03	10	У збірнику об'ємом 15 л
	0,25	50	У збірнику об'ємом 60 л
	2,5	250	У збірнику об'ємом 300 л

### 5.1.6. Обґрунтування вибору обладнання для виробничого процесу

*Обґрунтування вибору ферментаційного обладнання, а саме інокуляторів і ферментера:*

Інокулятор об'ємом 30 л виготовлений з нержавіючої сталі марки 316L компанією BIORUS<sup>®</sup> за таких параметрів: ширина – 670 мм, висота – 1900 мм, товщина ковдри – 3 мм, товщина ізоляційного матеріалу – 40 мм, тиск, за якого даний інокулятор може виконувати свою функцію, дорівнює 0,3 МПа [57-60].

Інокулятор об'ємом 250 л виготовлений зі сталі марки SS316L компанією Insitu за таких параметрів: ширина – 1,19 м, висота – 2,175 м, товщина ковдри – 3 мм, товщина ізоляційного матеріалу – 50 мм, тиск, за якого даний інокулятор може виконувати свою функцію, дорівнює 0,39 МПа [60, 61].

Інокулятор об'ємом 2,5 м<sup>3</sup> виготовлений з нержавіючої сталі марки AISI 316L компанією Biotehniskais centrs за таких параметрів: ширина – 1,6 м, висота – 3,5 м, товщина ковдри – 3 мм, товщина ізоляційного матеріалу – 50 мм, тиск, за якого даний інокулятор може виконувати свою функцію, дорівнює 0,3 МПа [42, 62].

Ферментер об'ємом 25 м<sup>3</sup> виготовлений з нержавіючої сталі марки AISI 316L компанією BIORUS<sup>®</sup> за таких параметрів: ширина – 3 м, висота – 8,52 м, товщина ковдри – 3 мм, товщина ізоляційного матеріалу – 50 мм, тиск, за якого даний інокулятор може виконувати свою функцію, дорівнює 0,3 МПа [42, 59].

Перемішування у всіх інокуляторів і ферментері відбувається за допомогою аерліфтно-барботажною системи, також дані апарати обладнанні необхідними системами для контролю температури, рН, кисню, рівня піни, тиску, аерації і спеціальним пробовідбірним клапаном, що дозволяє взяти зразок культуральної рідини без ризику занести в середину апарата чужорідні мікроорганізми [42, 57-62].

*Обґрунтування вибору обладнання для зберігання кислоти і луку:*

Збірник для зберігання 37 %-го розчину HCl виготовлений з поліетилену, що витримує навантаження, яке спричиняє розчин кислоти відповідної концентрації [63, 64]. Збірники для зберігання 6 %-их розчинів HCl і NaOH

виготовлені з нержавіючої сталі, яка витримує дані агресивні середовища [65-70].

*Обґрунтування вибору реакторів-змішувачів для приготування композицій поживного середовища:*

Всі реактори-змішувачі, які використовуються для приготування і стерилізації компонентів поживного середовища виготовляються з нержавіючої сталі, для забезпечення нормального проходження стерилізації. Для більш швидкого розчинення компонентів поживного середовища доцільним буде використовувати перемішуючі пристрої, а саме магнітні муфти для невеликих об'ємів, лопатевих або якірних мішалок для реакторів-змішувачів більшого об'єму, швидкість перемішування для різних реакторів підбирається згідно об'єму самого реактору. Також дані апарати обладнанні ізоляційним матеріалом різної товщини, залежно від об'єму реакторів, і ковдрою, товщина якої 1,5...3 мм, для забезпечення самого процесу стерилізації.

*Обґрунтування вибору насосів і об'ємно-вагових дозаторів різної продуктивності:*

Для перекачування композицій А і Б, об'ємом 40 і 70 л відповідно, застосовуємо перистальтичні насоси продуктивністю 3,8 л/хв., при цьому час роботи насоса буде дорівнювати 10,5 хв для композиції А і 18,4 хв для композиції Б. Для перекачування 400 л композицій А і 700 л композиції Б, застосовуємо перистальтичні насоси продуктивністю 35 л/хв., при цьому час роботи насоса буде дорівнювати 11,4 хв для композиції А і 20 хв для композиції Б. Для подачі гідролізату водоростей об'ємом 1116 л використовується відцентровий насос продуктивністю 100 л/хв., час роботи насоса складає 11,16 хв. Після виробничого біосинтезу, культуральну рідину об'ємом 11,05 м<sup>3</sup> перекачуємо, на стадії виділення і очищення цефалоспорину С, відцентровим насосом продуктивністю 1000 л/хв., час роботи насоса становить 11,05 хв. 6 %-ві розчини HCl і NaOH подаються у інокулятори і ферментер самопливом, тому потреби в насосах для їх подачі немає. 37 %-ий розчин HCl подається самопливом і тому розміщуються вище реактора-змішувача об'ємом 2 м<sup>3</sup>.

Для зважування компонентів поживного середовища при культивуванні в колбах на качалках і інокуляторах об'ємом 0,03 і 0,25 м<sup>3</sup> використовуються технічні ваги.

Вибір дозаторів при культивуванні в інокуляторі об'ємом 2,5 м<sup>3</sup>:

- кукурудзяний екстракт (56 л) – об'ємно-ваговий дозатор з діапазоном дозування 10...100 кг (л).

DL-метіонін (5,6 кг), K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (5,6 кг), KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (3,36 кг), CaCO<sub>3</sub> (5,6 кг) зважуються на технічних вагах і потім переносяться у відповідні реактори-змішувачі.

Вибір дозаторів при виробничому біосинтезі:

- Водорості для приготування гідролізату (1116 кг), кукурудзяний екстракт (558 л) і технічний гліцерин (535,1 л) – об'ємно-вагові дозатори з діапазоном дозування 500...2000 кг (л), кількість дозаторів – 3;
- K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (55,8 кг) і KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (33,5 кг), CaCO<sub>3</sub> (55,8 кг) і DL-метіонін (55,8 кг) – об'ємно-вагові дозатори з діапазоном дозування 10...100 кг (л), кількість дозаторів – 4.

## 5.2. Обґрунтування стадій виділення і очищення цефалоспоринової С

Цефалоспорин С використовується, в якості субстанції, для отримання антибіотиків цефалоспоринового ряду шляхом хімічної модифікації двох вільних радикалів даної сполуки. Дана речовина синтезується різними штамми міцеліальних грибів *A. chrysogenum* у стаціонарній фазі росту. Готові антибіотики цефалоспоринового ряду застосовується для лікування різноманітних бактеріальних захворювань людей, тому субстанція, на основі якої і створені дані препарати, повинна мати високий ступінь очищення, щоб унеможливити потрапляння сторонніх об'єктів в кров пацієнта, що може викликати різні патологічні стани хворого, або навіть смерть, так як готовий препарат, найчастіше, вводиться внутрішньовенно [1].

Фізико-хімічні властивості цефалоспоринової С:

- Молекулярна маса – 387,4 г/моль;
- Топологічна площа полярної поверхні – 205 Å<sup>2</sup>;
- Кількість донорів водневих зв'язків – 5;

- Кількість приймачів водневих зв'язків – 10;
- Добре розчинний у воді;
- Моноізотропна маса – 415,1 Да;
- Майже нерозчинний у хлороформі і ефірі;
- Кислотні властивості за рахунок карбоксильної групи;
- За рахунок дигідротіазинового фрагмента проявляє відновні властивості;
- При окисно-відновних реакціях утворюються забарвлені речовини, що дає змогу ідентифікувати цефалоспорини [71, 72].

Після завершення процесу ферментації, цефалоспорин С представлений у розчиненому вигляді, що, після етапів виділення і очищення, ускладнює зберігання і транспортування даної речовини до місця, де проходить її хімічна модифікація, так як рідка форма має менший термін придатності і більш жорсткіші умови зберігання, а саме нижчу температуру складського приміщення. З огляду на вищезазначені дані, доцільним буде використовувати методи виділення і очищення цефалоспорину С, наприкінці яких, дана субстанція буде представлена у твердій формі, в результаті чого збільшиться термін придатності даної сполуки, а також полегшиться її зберігання і транспортування.

Виділення і очищення цефалоспорину С можна проводити за допомогою різних методик, які включають обробку культуральної рідини різноманітними фізичними та хімічними методами:

1). *Виділення і очистка цефалоспорину С у вигляді цинкової солі:* в дану технологію входить адсорбція цефалоспорину С з культуральної рідини за допомогою активованого вугілля, подальша адсорбція даної сполуки за допомогою неіоногенної полімерної смоли Amberlite XAD2 або Diaion HP20 з наступною десорбцією 20 %-им розчином ацетону, наступною стадією є трьохстадійна іонообмінна адсорбція з використанням катіонообмінної смоли IRC84, аніонообмінних смол IRA94 і IRA68 з подальшою десорбцією розчином ацетату цинку, далі елюат піддається екстракції з використанням етилацетату при низьких значеннях рН (приблизно 3-5), осадження цефалоспорину С за допомогою органічних розчинників (наприклад, етанолу або бутанолу),

фільтрування отриманого цефалоспорину С у вигляді цинкової солі з його подальшим висушуванням.

Недоліками даної методики виділення і очищення цефалоспорину С є відсутність попередньої обробки культуральної рідини за допомогою фільтруючої установки, велика вартість проведення процесів екстракції (вартість обладнання і екстрагентів), а також велика кількість процесів сорбції, що зменшує вихід цефалоспорину С через високі втрати даної сполуки під час десорбції. З огляду на вище зазначенні недоліки, використання даної методики є економічно не доцільним [73];

2). *Виділення і очистка цефалоспорину С за допомогою високоефективної хроматографії (ВЕРХ)*: до даної технології входить попередня обробка культуральної рідини за допомогою центрифугування, отриманий супернатант переноситься до колонки ВЕРХ, в якій відділяється від усіх баластних речовин. Недоліками даної методики є великі втрати цефалоспорину С на етапі проведення хроматографії у розмірі 50 %, висока вартість обладнання і проведення процесу, а також те, що дана технологія, переважно, застосовується в лабораторних умовах чи в малотоннажних виробництвах [9];

3). *Виділення і очищення цефалоспорину С у вигляді калієвої солі*: дана технологія включає відокремлення біомаси *A. chrysogenum* М35 від культуральної рідини за допомогою башенного фільтр-пресу, сорбцію фільтрату цефалоспорину С у сорбційних колонках з використанням неіоногенного сорбенту Amberlite XAD-4 і низькоосновного сорбенту Amberlite IRA-67 в ацетатній формі з подальшою десорбцією 20 %-им розчином ацетону і 0,2 н розчином ацетату калію, концентрування цефалоспорину С за допомогою установки ультрафільтрації, осадження цефалоспорину С 92 %-им ізопропіловим спиртом у співвідношенні 1:10, фільтрування водно-спиртової суміші цефалоспорину С за допомогою нутч-фільтру, висушування цефалоспорину С у вакуумній сушильній шафі, фасування сухого цефалоспорину С по 2 кг у поліетиленові пакети [11].

Перевагами даної технології над іншими є відносно невеликі втрати цефалоспорину С у розмірі 40 %, що менше на 10 % ніж при використанні

методик виділення і очищення цефалоспориноу С у вигляді цинкової солі і при застосуванні ВЕРХ, менша кількість стадій сорбції і використовуваних сорбентів ніж при застосуванні технології виділення і очищення цефалоспориноу С у вигляді цинкової солі, а також відсутність екстракції, що здешевлює виробництво цефалоспориноу С.

Схема отримання сухого цефалоспориноу С у вигляді калієвої солі наведено на рис. 5.1 [11].

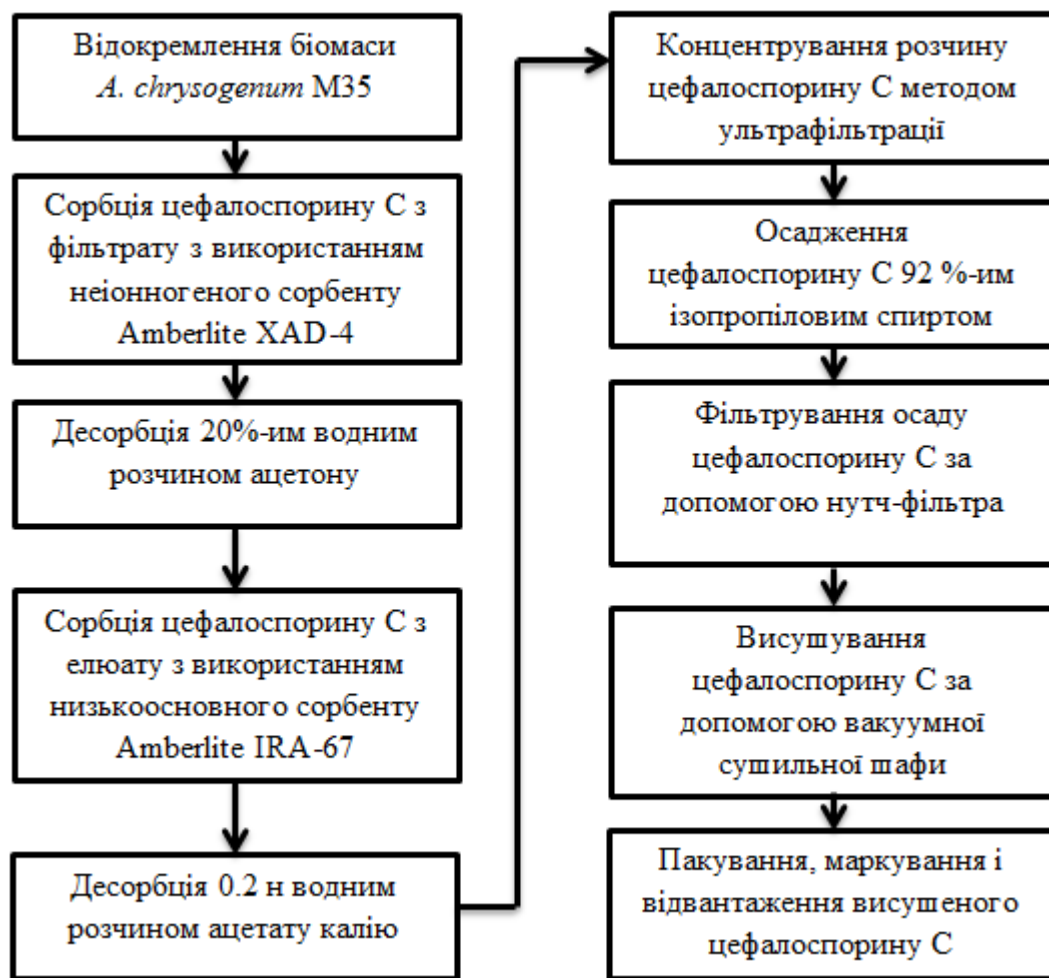


Рис.5.1. Схема виділення і очищення цефалоспориноу С у вигляді калієвої солі

### 5.2.1. Вибір способу відокремлення біомаси *A. chrysogenum* M35 та відповідного обладнання

Для отримання цефалоспориноу С використовується штам *A. chrysogenum* M35. По завершенню етапу виробничого культивування концентрація цефалоспориноу С у культуральній рідині складає 6,7 г/л, а концентрація біомаси – 12,58 г/л [9].

Оскільки цефалоспорин С є екзогенним вторинним метаболітом наступним етапом є вибір методів відділення біомаси від супернатанту. При виборі методу відділення біомаси *A. chrysogenum* M35, необхідно врахувати, що нам необхідно відділити клітини міцеліальних грибів, а також необхідно врахувати, що об'єм культуральної рідини складає – 11,05 м<sup>3</sup>.

Можливі методи відокремлення біомаси від рідкої фази наведено в таблиці 5.3.

Таблиця 5.3

**Порівняльна характеристика методів відокремлення біомаси від рідини**

Метод	Переваги	Недоліки
Відстоювання	Простота і доступність проведення процесу, малі витрати електроенергії	Велика тривалість процесу і необхідність в подальшій доочищі
Флотація	Простота і низька вартість обладнання	Відокремлення тільки великих фракцій
Центрифугування	Висока інтенсивність розділення, герметичність	Висока вартість обладнання і великі енергетичні витрати
Фільтрування	Простота і швидкість процесу, низька вартість обладнання	Необхідність в заміні фільтруючого матеріалу

Метод відстоювання культуральної рідини, у складі якої наявна біомаса *A. chrysogenum* M35, базується на розділенні неоднорідних сумішей під силою земного тяжіння у спеціалізованому обладнанні – відстійниках. Даний метод використовується для розділення речовин, що мають велику різницю густин, тому повністю відділити біомасу *A. chrysogenum* M35 від рідини буде неможливо, через наявність у культуральній рідині завислих часточок, що мають невелику різницю густин з водним середовищем, які, на етапі сорбції, можуть затриматися на сорбентах, що збільшить загальний вміст домішок. Основною перевагою даного способу розділення рідкої і твердої фаз є простота і доступність проведення процесу. До недоліків даного методу належить великий час роботи відстійника і необхідність в подальшій обробці отриманої рідкої фази для вилучення малих часточок, густина яких близька до густини рідини [74].

Метод флотації застосовується переважно для відокремлення дріжджових клітин від рідкої фракції і включає в себе вспінання культуральної рідини, в результаті чого клітини дріжджів концентруються в пінній фракції, яку потім

відбирають в окрему ємність. При флотації культуральної рідини, у складі якої наявна біомаса *A. chrysogenum* M35, в пінній фракції буде знаходитися тільки важкі фрагменти міцелію, а більш дрібні часточки будуть залишатися у розчині, тому застосовувати даний метод є не доцільним, через необхідність додаткової обробки для відокремлення дрібних завислих часточок [75].

Процес центрифугування здійснюється в центрифугах і включає в себе дію центробіжної сили на клітини за рахунок різниці густин наявних часточок в розчині, в результаті чого останні осаджуються на дні апарату, а рідка фаза збирається у верхній частині центрифуги. Процес центрифугування культуральної рідини міцеліального гриба *A. chrysogenum* M35 відбувається аналогічно процесу фільтрування, але через високу вартість обладнання і його складність, великі енерговитрати, а також можливість проведення даного процесу тільки у зоні фільтруючої перегородки, що не дозволяє застосовувати повну поверхню центрифуги, застосовувати даний метод відокремлення біомаси від рідкої фази є не доцільним, так як процес фільтрування є більш економічно-вигідним [76].

Фільтрування – це процес розділення суспензії за допомогою пористої перегородки, що має різний діаметр пор. Використання фільтруючих установок для відокремлення біомаси *A. chrysogenum* M35 має ряд істотних переваг, а саме простота і швидкість проведення процесу, а також відсутність впливу фільтруючого матеріалу на якість цільового продукту [77].

З огляду на вищезазначені особливості механічних методів відокремлення біомаси від рідини, доцільним буде використовувати метод фільтрування, так як даний спосіб обробки культуральної рідини, у складі якої наявна біомаса *A. chrysogenum* M35, гарантує повне відокремлення усіх твердих часточок з суспензії без негативного впливу на молекули цефалоспорину С, а також простоту і швидкість проведення процесу.

Особливості фільтраційного обладнання для відокремлення біомаси *A. chrysogenum* M35 від рідкої фази наведено в таблиці 5.4.

## Порівняльна характеристика фільтруючого обладнання

Обладнання	Переваги	Недоліки	Примітка
Друк-фільтр	Простота проведення процесу, низька вартість обладнання	Громіздкість обладнання, ручна вигризка осаду, обмеженні розміри фільтруючої поверхні	[78]
Стрічковий фільтр	Простота обладнання, можливість отримати тонкий шар осаду	Мала поверхня фільтрування, неможливість повного використання фільтруючої тканини	[79]
Фільтр-прес типу КМП	Простота проведення процесу, мінімальна енергоємність, механічне видалення осаду, велика продуктивність	Громіздкість обладнання	[80]

Для відокремлення біомаси від рідкої фази застосовується автоматичний фільтр-прес моделі КМП башенного типу, так як даний тип фільтруючого обладнання має найбільшу продуктивність серед представлених установок (див. таблицю 5.4), має низькі енергетичні витрати, а також наявна можливість автоматизації процесу, що дозволяє використовувати дане обладнання безперервно. Фільтр-прес моделі КМП використовується для розділення середньо- і важкофільтруючих суспензій, що містять від 10 до 500 кг/м<sup>3</sup> зважених часточок [80, 81].

Культуральна рідина, об'єм якої становить 11,05 м<sup>3</sup>, подається за допомогою відцентрового насоса продуктивністю 80 л/хв до башенного фільтр-преса моделі КМП12,5-1К-11 з площею фільтрування 12,5 м<sup>2</sup> для відокремлення біомаси культури *A. chrysogenum* M35 від рідини, фільтруючий матеріал даної установки представлений поліефірними мононітями, а час роботи установки складає 150 хв (2,5 години). Біомаса, вагою 139 кг, після фільтрації утилізується. Отриманий фільтрат об'ємом 10,9 м<sup>3</sup> перекачується за допомогою відцентрового насоса продуктивністю 80 л/хв до збірника об'ємом 15 м<sup>3</sup>, після чого використовується на подальших стадіях виділення і очищення цефалоспорину С.

Конструкція башенного фільтр-пресу моделі КМП12,5-1К-11 складається з плит і рам, між якими розташовується листи фільтруючого матеріалу. Рама і прилеглі до неї з різних сторін плити утворюють окрему осередок фільтрування. Плити мають на своїй поверхні паралельні борозни, по яких фільтрат стікає вниз і потім виводиться з фільтра. Рами порожні всередині і утворюють обсяг, в якому відбувається накопичення осаду. Отвори по краях цих елементів конструкції при їх суміщенні утворюють наскрізні канали, по одним з яких подається і розподіляється між осередками суспензія, а інші збирають потоки фільтрату і виводять їх з фільтра. Рами і плити закріплюються на підтримуючих стрижнях, а їх щільне прилягання забезпечує спеціальна притискна плита (рис. 5.2) [82].

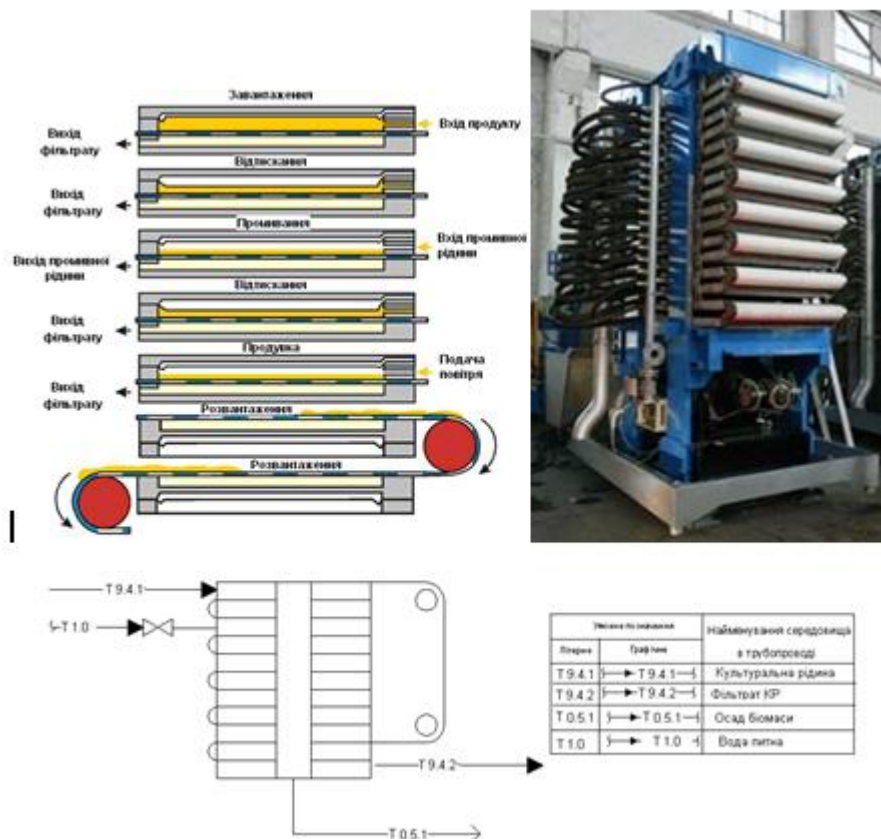


Рис.5.2. Схема роботи, зовнішній вигляд та графічне позначення на апаратурній схемі фільтр-прес КМП12,5-1К-11

### 5.2.2. Вибір способу виділення цефалоспорину С з фільтрату

Молекула цефалоспорину С добре розчиняється у воді, а також має гідрофільну і гідрофобну частини. При даних особливостях будови сполуки, для селективного виділення цефалоспорину С з фільтрату, використовується

метод сорбції з використанням макропористих сорбентів неіоногенного типу, так як тільки даний метод дозволяє виділити з нативного розчину цефалоспорин С, який не може бути адсорбований іншими відомими методами.

Вибір сорбентів для проведення етапів сорбції наведено в таблиці 5.5:

Таблиця 5.5

**Порівняльна характеристика сорбентів для етапів сорбції  
цефалоспорину С**

Назва сорбенту	Ціна за 100 мл, грн	Особливості
Amberlite XAD-16	1620	Селективність сорбенту, застосовується для затримання малих та середніх за розміром сполук, менша сорбційна здатність
Amberlite XAD-4	1215	Селективність сорбенту, застосовується для затримання відносно невеликих за розміром сполук
Amberlite LA-2	1520	Селективність сорбенту, використовується переважно для адсорбції домішок (наприклад, п-толуолсульфо кислоти)
Amberlite IRA-67	1355	Селективність сорбенту, застосовується для виділення кислих природних продуктів та очищення цефалоспорину і новобіоцину
Diaion WA-30	1390	Селективність сорбенту, застосовується для селективного виділення цефалоспорину

Amberlite XAD-16 – це нітрована ароматична смола, яка використовується для адсорбції цефалоспорину С з розчину шляхом гідрофобних взаємодій між сорбентом і цефалоспорином С. Даний сорбент потребує попередньої обробки фільтрату цефалоспорину С, а саме доведення його рН до 3, це зумовлено тим, що при такому рівні рН сорбуюча здатність даного сорбенту буде підвищуватися. Недоліками даного сорбенту є те, що він може затримувати на своїй поверхні високомолекулярні сполуки (наприклад, білки), тому застосовувати даний сорбент для очистки цефалоспорину С є не доречним, бо в такому випадку є необхідність в додатковій очистці, що збільшить кількість стадій сорбції і загальні витрати цефалоспорину С, а також найбільша ціна даного сорбенту серед представлених у таблиці 5.5 [83, 84].

Amberlite XAD-4 – це неіоногенна смола, що має здатність затримувати невеликі гідрофобні сполуки (наприклад, цефалоспорин С), поверхнево-активні речовини, хлоровані органічні речовини. Взаємодія даного сорбенту і молекули цефалоспорину С відбувається за рахунок гідрофобних взаємодій, а також через пряму взаємодію розчинена речовина – сорбент із залученням електрона на поверхні сорбенту. Перевагами даного сорбенту над іншими є відсутність попередньої обробки фільтрату, а також найнижча ціна даного сорбенту серед представлених у таблиці 5.5 [84, 85].

Amberlite LA-2 – це іонообмінна смола, що може використовуватися для адсорбції цефалоспорину С з фільтрату, але основне призначення даного сорбенту є звільнення розчину від домішок ліпофільної природи. Головним недоліком даного сорбенту є те, що адсорбція цефалоспорину С є не пріоритетною задачею і загальна кількість адсорбованої сполуки буде найнижчою серед представлених сорбентів, також ціна даної речовини є вищою, ніж у сорбентів Amberlite XAD-4, IRA-67 і Diaion WA-30 [86].

Amberlite IRA-67 – це низькоосновна смола в ацетатній формі, матриця якої представляє собою акрил зі структурою гелю, але функціональними групами виступають третинні аміни. Затримання цефалоспорину С на поверхні сорбенту зумовлене гідрофобними взаємодіями даних речовин. Даний сорбент належить до ароматичних, що характеризується більшою адсорбційною здатністю по відношенню до цефалоспорину С, також ціна даного сорбенту є відносно низькою, що повністю виправдовує його використання [86, 87].

Diaion WA-30 – це слабоосновний аніоніт на полістиролі з алкіламіном у формі ОН, що адсорбує цефалоспорин С за рахунок гідрофобних і гідрофільних взаємодій між молекулою сорбенту і цефалоспорину С. Головним призначенням даного сорбенту є адсорбція органічних кислот, але він також використовується для відділення цефалоспорину С від нативного розчину. Істотним недоліком даного сорбенту є необхідність застосування додаткових стадій сорбції і сорбентів (наприклад, Diaion HP-20, SK1B, SK-1B і Amberlite XAD-2000) для більш якісного виділення цефалоспорину С з фільтрату [86, 88].

Для виділення цефалоспоринової С з фільтрату доцільним буде використовувати два сорбенти, що дозволить більш якісніше очистити дану сполуку від високомолекулярних речовин, що наявні у фільтраті. Серед представлених сорбентів використовуватиметься неіоногенна смола Amberlite XAD-4, що дозволить відділити від фільтрату майже весь цефалоспорин С, але також буде затримано і ряд низькомолекулярних сполук (різні солі металів, вітаміни, моносахариди тощо). Для селективного виділення цефалоспоринової С з елюату використовується інший сорбент, а саме низькоосновна смола Amberlite IRA-67 в ацетатній формі, головним призначенням даного сорбенту є адсорбція цефалоспоринів з розчину з затриманням мінімальної кількості баластних речовин. Ціна даних сорбентів нижче майже на 15 %, ніж у інших вищезазначених сорбентів (таблиця 5.5), що, разом з ефективністю, економічно-вигідніше, через зменшення витрат на проведення етапу виділення цефалоспоринової С з фільтрату. Проведення додаткового етапу сорбції необхідно для виділення більш чистого цефалоспоринової С, так як дана сполука використовується для хімічного синтезу цефтобіпролу, який застосовується у медицині, і висока чистота субстанції є обов'язковою умовою.

Опис етапів сорбції і десорбції цефалоспоринової С з фільтрату:

1). Фільтрат об'ємом  $10,9 \text{ м}^3$  перекачується за допомогою відцентрового насоса продуктивністю  $80 \text{ л/хв}$  зі збірника об'ємом  $15 \text{ м}^3$  до сорбційної колонки об'ємом  $10 \text{ м}^3$ . Під час першої сорбції, фільтрат пропускається через колонку з неіоногенним сорбентом Amberlite XAD-4 об'ємом  $6,5 \text{ м}^3$ , який взаємодіє з гідрофобними частинами молекул цефалоспоринової С. Швидкість проведення даного процесу складає  $1,5$  об'єма фільтрату на  $1$  об'єм сорбенту за  $1$  годину. Після завершення подачі фільтрату, колонку промивають знесоленою водою об'ємом  $6,5 \text{ м}^3$  за тієї ж швидкості, для промивання сорбенту від незв'язаних органічних сполук (білки, вуглеводи та інші). Наступним етапом є десорбція цефалоспоринової С за допомогою  $20$  %-го розчину ацетону, що взаємодіє з молекулою цефалоспоринової С на молекулярному рівні, об'єм якого складає  $10 \text{ м}^3$ . До однієї молекули цефалоспоринової С може приєднатися кілька молекул

ацетону, що збільшує шанс відділити її від поверхні сорбенту Amberlite XAD-4 і тим самим зменшить витрати цефалоспоринової С на етапі першої десорбції. 20 %-ий розчин ацетону зберігається у збірнику об'ємом 15 м<sup>3</sup> і перекачується за допомогою відцентрового насоса продуктивністю 80 л/хв до сорбційної колонки об'ємом 10 м<sup>3</sup> [11, 89].

2). Елюат після першої десорбції перекачується до збірника об'ємом 15 м<sup>3</sup> за допомогою відцентрового насоса продуктивністю 400 л/хв, після чого перекачується до іншої сорбційної колонки об'ємом 1 м<sup>3</sup> за допомогою відцентрового насоса продуктивністю 80 л/хв, в якій використовується низькоосновний сорбент Amberlite IRA-67 в ацетатній формі об'ємом 612 л. Даний сорбент використовується для знекислювання і деіонізування технологічних розчинів, виділення кислих природних продуктів, очищення новабіоцину та цефалоспоринів, поділ нейтральних та кислих амінокислот рН яких нижче 10, видалення гепаринової кислоти при низькому рН та демінералізацією сирної сироватки. Швидкість проведення даного процесу складає 1,5 об'єма фільтрату на 1 об'єм сорбенту за 1 годину. По закінченню процесу сорбції, колонку промивають знесоленою водою об'ємом 612 л за тієї ж швидкості, для промивання сорбенту від незв'язаних органічних сполук (білки, вуглеводи та інші). Останнім етапом є десорбція цефалоспоринової С за допомогою 0,2 н водного розчину ацетату калію, що взаємодіє з молекулою цефалоспоринової С на молекулярному рівні, об'єм якого складає 2 м<sup>3</sup>. До однієї молекули цефалоспоринової С може приєднатися кілька молекул ацетату калію, що збільшує шанс відділити її від поверхні сорбенту Amberlite IRA-67 і тим самим зменшить витрати цефалоспоринової С на етапі другої десорбції. 0,2 н розчин ацетату калію зберігається у збірнику об'ємом 4 м<sup>3</sup> і перекачується за допомогою відцентрового насоса продуктивністю 80 л/хв до сорбційної колонки об'ємом 1 м<sup>3</sup> [11, 90].

Знесолена вода, що використовується на двох етапах сорбції, зберігається у одному збірнику об'ємом 10 м<sup>3</sup> і подається за допомогою відцентрового насоса продуктивністю 80 л/хв.

Після проведення етапів сорбції і десорбції, отримуємо елюат об'ємом 2 м<sup>3</sup>, в складі якого наявний цефалоспорин С у вигляді калієвої солі в розчиненому вигляді концентрацією 13,4 г/л. Даний розчин перекачується, за допомогою відцентрового насоса продуктивністю 250 л/хв, в збірник об'ємом 5 м<sup>3</sup>, після чого піддається концентруванню [11].

### 5.2.3. Обґрунтування вибору методу концентрування цефалоспорину С

Для економії осаджувального агента на етапі осадження цефалоспорину С, а також для зменшення витрат цільового продукту, доцільним буде використовувати етап концентрування цефалоспорину С. В якості методів концентрування для розчинів антибіотиків можна використовувати рідинну екстракцію, випарювання, ультрафільтрацію, діаліз, електродіаліз і зворотній осмос (таблиця 5.6).

Таблиця 5.6

#### Порівняльна характеристика методів концентрування

Метод	Переваги	Недоліки
Рідинна екстракція	Високий ступінь концентрування	Висока вартість обладнання і екстрагенту, необхідність підбору певних умов
Діаліз	Простота процесу, низька вартість обладнання	Тривалість процесу
Електродіаліз	Простота процесу, низька вартість обладнання	Використовується переважно для відокремлення іонів і катіонів, енергетичні витрати
Випарювання	Високий ступінь очистки, різноманіття обладнання	Великі витрати енергії, температурний вплив на цільовий продукт
Ультрафільтрація і зворотній осмос	Відсутність хімічного, біологічного і температурного впливу на продукт, низькі енергетичні витрати	Необхідність в очистці фільтруючого матеріалу

Рідинна екстракція являє собою перехід одного або декількох компонентів розчину з однієї рідкої фази в іншу, що містить в собі вибіркового розчинник – екстрагент. Головним недоліком даного методу концентрування цефалоспорину С є висока вартість екстракторів, що мають складну будову і тому складніші в обслуговуванні, а також висока вартість екстрагентів. Іншим важливим недоліком є те, що подібні по свої хімічній структурі речовини також

переходять в екстракт і їх відокремлення згодом може бути проблематичним [91].

Діаліз – це розділення високомолекулярних речовин (наприклад, білків) від низькомолекулярних (наприклад, цефалоспорину С або солей різних металів) в одній суміші за допомогою напівпроникної мембрани. Головним недоліком даного процесу є тривалість його проходження, так як він заснований на явищі дифузії – переміщення речовини з місця з високою її концентрацією, до місця з низькою, даний процес триває до тих пір, поки вміст речовини по обидві боки перегородки не вирівнюється. Подібним до процесу діалізу є електродіаліз, який характеризується відокремленням заряджених часточок з розчину до електродів за допомогою подачі електричного струму. Даний метод зазвичай використовується для знесолення води, а саме вилучення різних катіонів і аніонів хімічних елементів [92].

Процес випарювання являє собою нагрівання суміші, в наслідок чого леткий розчинник переходить в газоподібний стан, а нелеткі компоненти концентруються в твердому вигляді. Даний метод потребує постійної подачі насиченої пари для підтримання відповідної температури, що негативно впливає на молекули цефалоспорину С, так як даний компонент є термолабільний, також даний спосіб концентрування енергозатратний і потребує постійного контролю за процесом, а саме за температурою, яке повинна бути на певному допустимому рівні [93].

Ультрафільтрація і зворотній осмос – це методи фільтрації речовини через перегородки, що мають різні розміри пор. При використанні даних способів концентрування можливо відділити низькомолекулярні сполуки від високомолекулярних. Дані методи відрізняються лише тим, що мембрани, які використовуються у зворотному осмосі, мають пори меншого розміру (від 0,0001 до 0,001 мкм) і вищий тиск (не менше 0,3 МПа). Зворотній осмос, переважно, використовується у промисловості для отримання знесоленої води, тому застосовувати його для концентрування цефалоспорину С є не доречним, а використання установки ультрафільтрації дозволить якісно сконцентрувати

цефалоспорин С і відділити залишок низькомолекулярних домішок шляхом розділення елюату серією мембран, що будуть мати різний розмір пор [94].

Даний процес має ряд переваг перед іншими методами концентрування речовин, а саме:

- Відсутність температурних, механічних і хімічних дій на продукт;
- Простота апаратурного оформлення, відсутність рухомих деталей;
- Низька енергоємність процесу;
- Можливість забезпечення герметичності і асептики процесу;
- Більш високий ступінь концентрування речовин ніж більшість розповсюджених методів фільтрації.

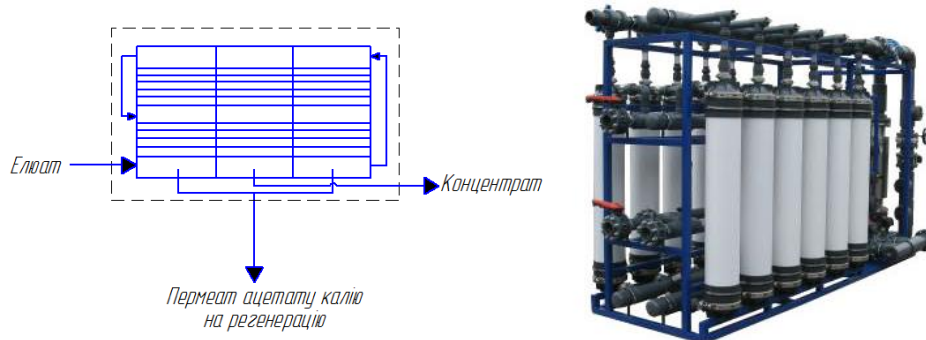
Для відділення цефалоспорину С від решти низькомолекулярних сполук необхідно використовувати дві мембрани різних розмірів, які підбираються в залежності від розміру самої молекули цефалоспорину С – 415,1 Да, дану кількість мембран можна розмістити в установці тангенціальної ультрафільтрації [95]:

1). Перша мембрана має розмір пор 420 Да, даний розмір мембрани зумовлений тим, що залишки високомолекулярних і низькомолекулярних сполук, розмір яких більше 420 Да, має затримуватися на даній мембрані. Через дану мембрану повинен проходити цефалоспорин С і розчинник;

2). Друга мембрана повинна мати розмір пор 410 Да, щоб перед даною мембраною затримувався тільки цефалоспорин С, а розчинник буде проходити через неї, в результаті чого цефалоспорин С буде концентруватися у середній зоні установки тангенціальної ультрафільтрації.

Дані мембрани виготовляються на замовлення компанією “Sterlitech” з поліаміду [96].

Для концентрування цефалоспорину С у вигляді калієвої солі використовується установка тангенціальної ультрафільтрації продуктивністю 800 л/год (рис. 5.3) [97].



*Рис.5.3.* Зовнішній вигляд та графічне позначення на апаратурній схемі установки тангенціальної ультрафільтрації

Даний процес протікає при 10...15°C за тиску 1,8...2,9 МПа, в результаті чого залишається розчин з концентрацією цефалоспориноу С у вигляді калієвої солі в ньому 40,2 г/л, ступінь концентрування дорівнює 3, пермеат ацетату калію об'ємом 1,4 м<sup>3</sup>, після концентрування, піддається регенерації, час роботи установки становить 2,5 години. Надлишковий тиск створюється за допомогою плунжерного насоса продуктивністю 220 л/хв, який розташовується перед установкою ультрафільтрації і перекачує елюат зі свого збірника об'ємом 5 м<sup>3</sup> до даної установки. Далі концентрат об'ємом 600 л перекачується, за допомогою відцентрового насоса продуктивністю 50 л/хв., до реактора-змішувача об'ємом 10 м<sup>3</sup>, де відбувається процес осадження цефалоспориноу С у вигляді калієвої солі [11].

#### 5.2.4. Осадження цефалоспориноу С у вигляді калієвої солі

Виділення цефалоспориноу С з розчину здійснюється за допомогою осадження. В якості осаджувальних агентів може використовуватися такі органічні речовини (таблиця 5.7):

*Таблиця 5.7*

**Порівняльна характеристика осаджувальних агентів**

Назва агенту	Ціна агенту за 100 мл(г), грн	Особливості
Ізопропіловий спирт	9,5	Розчинний у воді, висока бактерицидна дія, універсальний розчинник
Індол-3-карбінол	2750	Погано розчинний у воді, протипухлинна і протівірусна дія
Дітиловий ефір	150	Розчинний у воді, має властивості простих ефірів, універсальний розчинник

Індол-3-карбінол використовується, переважно, у лікувально-профілактичній сфері медицини в якості протипухлинного і противірусного засобу, а також як препарат, що затримує процеси старіння шляхом підвищення детоксикації організму. Але дану сполуку також можна застосовувати в якості осаджувального агента цефалоспоринової С і інших антибіотиків цефалоспоринового ряду. При використанні індол-3-карбінолу для осадження цефалоспоринової С необхідно додавати додатковий осаджуючий агент у співвідношенню 1:5, це зумовлено низькою седиментативною здатністю даної речовини. З огляду на вище наведені відомості, використовувати індол-3-карбінол для осадження цефалоспоринової С є недоцільним, а також економічно-невигодним, так як дана речовина має найвищу ціну серед представлених осаджуючих агентів [98, 99].

Діетиловий ефір – це аліфатичний простий ефір, що застосовується у промисловості в якості розчинника. Дана речовина використовується при осадженні цефалоспоринової С і інших антибіотиків цефалоспоринового ряду разом з іншими осаджувальними агентами у співвідношенні 1:1, 1:4 чи 1:5. Головним недоліком даної сполуки є його фізико-хімічні властивості, а саме розпадання діетилового ефіру під дією світла, температури і повітря до токсичних форм альдегідів, пероксидів і кетонів. Через дані недоліки є необхідність у спеціальних умовах зберігання даної речовини, що передбачає додаткові грошові витрати [100, 101].

Ізопропіловий спирт – це одноатомний спирт аліфатичного ряду, що використовується у фармацевтичній, біотехнологічній, харчовій і текстильній галузях в якості універсального розчинника. При використанні ізопропілового спирту немає необхідності в застосуванні інших осаджуючих агентів. Також можна використовувати спирт різних концентрацій, що розширює спектр можливих використовуваних агентів з відносно малими втратами седиментуючої здатності даного спирту. Головними перевагами даного осаджуючого агента є його висока стабільність, дуже низька ціна, порівняно з іншими представленими осаджувачами, а також сильна бактерицидна дія, що дозволить знищити більшість патогенної мікрофлори в розчині [102].

Отже, для осадження цефалоспорину С у вигляді калієвої солі використовуватиметься ізопропіловий спирт в якості осаджуючого агента. Осадження цефалоспорину С можна проводити двома методами з використанням ізопропілового спирту різної концентрації:

При використанні 99 %-го розчину ізопропілового спирту немає необхідності в проведенні стадії концентрування цефалоспорину С у вигляді калієвої солі, але втрати даної сполуки будуть більшими, ніж при використанні 92 %-го розчину ізопропілового спирту (більше на 3 %), також зростають витрати самого спирту, через більший об'єм елюату порівняно з концентратом (витрата спирту у 4 рази більша). Тому доцільним буде застосовувати 92 %-ий розчин ізопропілового спирту для осадження цефалоспорину С у вигляді калієвої солі, так як втрати продукту і самого розчину менші порівняно з використанням 99 %-го розчину ізопропілового спирту [11].

Концентрат цефалоспорину С, що знаходиться в реакторі-змішувачі об'ємом  $10 \text{ м}^3$ , оброблюється 92 %-им розчином ізопропілового спирту об'ємом  $6 \text{ м}^3$ , який подається за допомогою відцентрового насоса продуктивністю  $1 \text{ м}^3/\text{хв}$  зі свого збірника об'ємом  $10 \text{ м}^3$ , у співвідношенні 1:10, в результаті чого випадає нерозчинний осад цефалоспорину С у вигляді калієвої солі масою 91 кг. Надлишок спирту піддається регенерації для економії даного розчинника [11]. При даній обробці додатково знищується патогенна мікрофлора, що була наявна в концентраті, дана властивість зумовлена бактерицидною дією ізопропілового спирту [102]. Отримана водно-спиртова суміш з осадом цефалоспорину С об'ємом  $6,5 \text{ м}^3$  перекачується, за допомогою відцентрового насоса продуктивністю  $100 \text{ л/хв.}$ , до фільтраційної установки.

#### **5.2.5. Обґрунтування методів відокремлення солі цефалоспорину С від водно-спиртової суміші**

Для відокремлення солі цефалоспорину С від водно-спиртової суміші можна використовувати методи фільтрування, відстоювання і центрифугування. Переваги і недоліки даних методів наведені в таблиці 5.3. Для розділення осаду цефалоспорину С від рідини доцільним буде застосовувати метод фільтрування, так як даний метод не несе негативного

впливу на цільовий продукт, має низькі енергетичні витрати і низьку вартість обладнання.

Установки для відокремлення солі цефалоспориноу С від рідини наведені в таблиці 5.8:

Таблиця 5.8

**Порівняльна характеристика фільтруючих установок**

<b>Обладнання</b>	<b>Переваги</b>	<b>Недоліки</b>
Карусельний фільтр	Безперервна робота, висока продуктивність	Складність конструкції, висока вартість
Дисковий вакуумний фільтр	Велика площа поверхні фільтрування	Складність конструкції, зниження якості осаду
Нутч-фільтр	Простота у використанні і обслуговуванні, дешевий	Необхідність в заміні фільтруючого матеріалу

Карусельний фільтр складається з з'єднаних нутч-фільтрів, що працюють періодично, але при суміжній роботі можна досягти безперервності процесу. Даний тип фільтрів використовується для розділення суспензії з високим вміст твердої фази, тому вартість даного обладнання значно вища ніж ціна інших запропонованих установок [82, 103].

Дисковий вакуум фільтр використовується в тих випадках, коли необхідно отримати рідку фракції суспензії, так як якість отриманого осаду зменшується після проведення етапу фільтрування, також до твердої фракції висувається ряд вимог:

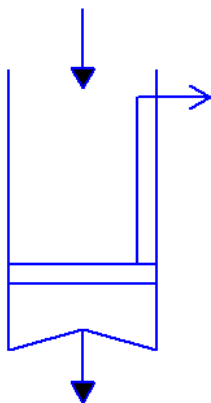
- Осад повинен бути однорідним;
- Не потребувати промивки;
- Складатися з повільно осаджуваних часточок.

Дані вимоги пов'язані з будовою і принципом роботи фільтру, а саме з вертикально розташованим фільтруючим полотном, до якого має прикріплюватися осад [82, 103].

Нутч-фільтри – це найпростіші ємнісні фільтри, що працюють під вакуумом чи під надлишковим тиском. Даний тип фільтрів використовується для відокремлення різних завислих часточок у розчині в малотоннажних виробництвах. Нутч-фільтри мають дуже просту конструкцію і низьку ціну, порівняно з іншими представленими фільтруючими установками, що дозволяє

нам вибрати даний тип фільтру для відокремлення солі цефалоспорину С від водно-спиртової суміші [82].

Для відокремлення солі цефалоспорину С у вигляді калієвої солі від рідини використовується нутч-фільтр продуктивністю 6,5 м<sup>3</sup>/год (рис. 5.4), фільтруючий матеріал представлений поліестером з тефлоновим напиленням [104]. Час роботи фільтру становить 1 годину. Отриманий фільтрат ізопропілового спирту об'ємом 6,41 м<sup>3</sup> піддається регенерації. Осад цефалоспорину С у вигляді калієвої солі у кількості 90 кг і вологістю ~ 50 % збирається у спеціальну ємність об'ємом 172 л (100 кг) після чого піддається сушінню.



*Рис.5.4.* Зовнішній вигляд та графічне позначення на апаратурній схемі нутч-фільтру продуктивністю 6,5 м<sup>3</sup>

### **5.2.6. Обґрунтування методу сушіння цефалоспорину С у вигляді калієвої солі**

Для висушування антибіотиків можна використовувати методи конвективного і сублимаційного сушіння, а також сушіння продукту під вакуумом. Дані способи сушіння характеризуються певним типом обладнання, які спроектовані спеціально під протікання специфічного процесу.

Для сушіння цефалоспорину С у вигляді калієвої солі можна використовувати такі установки (таблиця 5.9):

**Порівняльна характеристика сушильних установок**

<b>Обладнання</b>	<b>Переваги</b>	<b>Недоліки</b>
Сублимаційна сушка	Високий ступінь сушіння, м'які умови сушіння	Вартість обладнання, великі енерговитрати
Конвективна сушка	Автоматизація процесу, різноманіття обладнання	Великі енергетичні витрати, негативна дія температури на продукт, громіздкість обладнання
Вакуумна сушильна шафа	Можливість висушування термолабільних компонентів, швидкість процесу	Необхідність створення вакууму

Сублимаційне сушіння представляє собою попередню заморозку осаду цефалоспорину С, з подальшим його висушуванням під вакуумом, в результаті чого сіль цефалоспорину С висушується при м'якіших умовах, що дозволяє зберегти усі фізико-хімічні властивості даної речовини. Волога в середині осаду цефалоспорину С при висушуванні минає рідку фазу і переходить відразу в газову фракцію. Даний метод сушіння тривалий за часом (від 8 до 20 годин), дороговартісний, а також є потреба у великій кількості електроенергії [105].

Конвективне сушіння представляє собою висушування вологої солі цефалоспорину С під дією теплоносія – нагрітого повітря, пари чи парогазової суміші. Даний тип сушіння потребує великих енергетичних витрат, тривалий за часом, а також присутня негативна дія температури на продукт, що може змінити його фізико-хімічні властивості і тим самим зменшити якість продукту [106].

Для висушування солі цефалоспорину С масою 90 кг використовується вакуумна сушильна шафа FD-30 (рис. 5.5), що дозволяє якісно видалити зайву вологу без негативного впливу на матеріал, який піддається сушінню, а також дана установка для сушіння не потребує великої кількості електроенергії, вологість сухої солі цефалоспорину С дорівнює ~ 10 %. Час роботи вакуумної сушильної шафи становить 2 години (з урахуванням часу на підготовку до роботи установки). Даний тип сушарок використовується для висушування невеликої кількості матеріалу, який в свою чергу характеризується нетермостійкістю (наприклад, антибіотики), це забезпечується створенням вакууму в середині апарату за допомогою вакуумного насоса самої установки,

що зменшує потребу в певній температурі для нагрівання і висушування продукту [107].

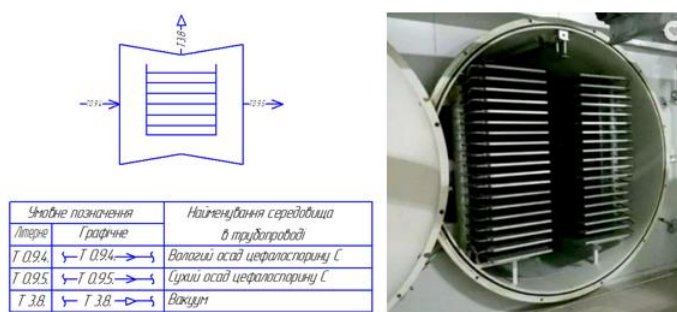


Рис.5.5. Зовнішній вигляд та графічне позначення на апаратурній схемі сушильної шафи FD-30

### 5.2.7. Обґрунтування вибору упаковки для зберігання сухого цефалоспориної С у вигляді калієвої солі

Висушена сіль цефалоспориної С характеризується гігроскопічністю, тому для його зберігання необхідно застосовувати упаковку, яка не буде накопичувати вологу з навколишнього середовища. В якості пакувального матеріалу можна застосовувати такі негігроскопічні матеріали (таблиця 5.10):

Таблиця 5.10

#### Порівняльна характеристика упаковуючих матеріалів

Матеріал упаковки	Переваги	Недоліки
Поліпропілен	Велика місткість упаковки, низька вартість	Легкозаймистий, важко склеюється, руйнується під дією УФ-променів
Скло	Відсутність впливу матеріалу на цільовий продукт, широкий асортимент, герметичність	Важкий матеріал, хрупкість, висока ціна
Поліетилен	Міцність, стійкість до дії агресивних середовищ, низька вартість	Швидке “старіння” матеріалу під дією УФ-променів, плавлення при температурі вище 100°C

Поліпропіленові пакети переважно використовуються в харчовій промисловості для зберігання різних сипучих інгредієнтів, що далі використовуються для приготування різноманітної продукції. Головним недоліком даної упаковки є зменшення міцності матеріалу при низьких температурах, що може призвести до розірвання упаковки і втрат продукту [108].

Скляні пакувальні матеріали характеризуються великою варіацією форм, відсутністю хімічного, фізичного і термічного впливу на цільовий продукт, а також можливістю забезпечити герметичність упаковки шляхом термічної обробки. Але важкість даного матеріалу, ціна скло-сирця і можливий ризик пошкодити упаковку при транспортуванні, не дозволяє використовувати його в якості пакувального матеріалу для зберігання сухого цефалоспорину С [109].

Для зберігання висушеної солі цефалоспорину С масою 44,45 кг використовуватимуться поліетиленові пакети, так як даний пакувальний матеріал характеризується високою міцністю, гнучкістю, а також стійкістю до несприятливих умов навколишнього середовища, а саме низької температури, що створюється в складському приміщенні, де зберігається висушений продукт [110]. Отриманий пакет висушеної солі цефалоспорину С запаюють вручну за допомогою індукційного приладу моделі Frosty PCS300A (рис.5.6) [111].



*Рис. 5.6.* Зовнішній вигляд індукційного запаючого приладу моделі Frosty PCS300A

Запаяні пакети маркуються, після чого фасуються у картонні коробки по 3 пакети у кожній коробці і зберігаються на складі при  $+5...10^{\circ}\text{C}$  за вологості менше 70 % до часу своєї експлуатації.

На основі вище наведеного обґрунтування, схема виділення і очищення цефалоспорину С у вигляді калієвої солі буде мати такий вигляд (рис. 5.7):

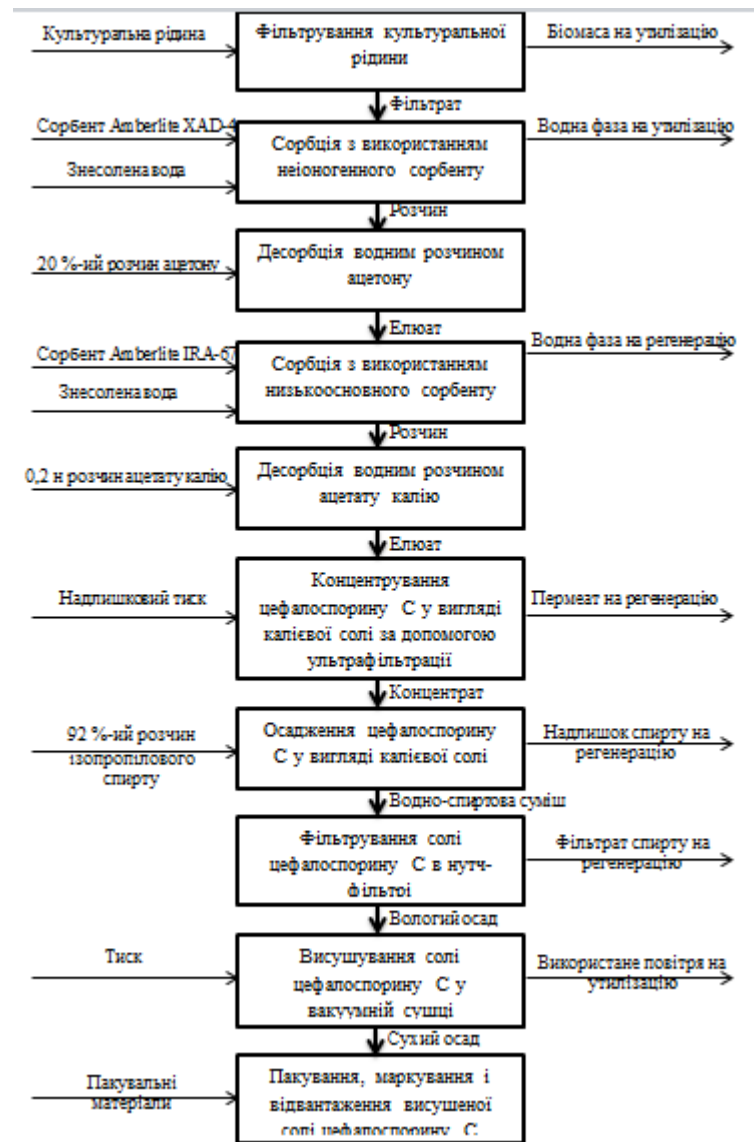


Рис. 5.7. Схема виділення цефалоспорино С у вигляді калієвої солі

### 5.3. Обґрунтування стадії допоміжних робіт для післяферментаційних процесів

На стадії сорбції цефалоспорино С з фільтрату, для промивання колонок після проходження сорбції з метою видалення незв'язаних органічних сполук з поверхні сорбенту (наприклад, білки, вуглеводи, поверхнево-активні речовини тощо), використовуються знесолена вода. Дану воду готують за допомогою установки зворотного осмосу продуктивністю 8 м<sup>3</sup>/год і зберігають у спеціальному збірнику об'ємом 10 м<sup>3</sup>.

По закінченню першого етапу сорбції, цефалоспорин С десорбують за допомогою 20%-ого розчину ацетону, кількість даного розчину становить 10 м<sup>3</sup>, який готується розведенням з 99 %-го розчину у збірнику даної

речовини: у збірник об'ємом  $15 \text{ м}^3$  вноситься  $2,02 \text{ м}^3$  99 %-го розчину ацетону, після чого додається знесолена вода до загального об'єму  $10 \text{ м}^3$ .

Після другої сорбції, повторюється процес десорбції, з використанням 0,2 н водного розчину ацетату калію, кількість даного розчину становить  $2 \text{ м}^3$ , який готується розведенням наважки відповідної солі: у збірник об'ємом  $4 \text{ м}^3$  зважується на технічних вагах 41 кг ацетату калію, після чого додається знесолена вода до загального об'єму  $2 \text{ м}^3$ .

На етапі осадження використовується 92 %-ий розчин ізопропілового спирту, який готується розведенням з 99 %-го розчину у збірнику даного розчину. Даний розчин не потребує стерилізації, так як його бактерицидні властивості не дають змогу рости і розвиватися патогенній мікрофлорі.

#### 5.4. Підбір технологічного обладнання для післяферментаційних стадій з урахуванням матеріальних потоків по стадіях

Вихідні дані:

- 1). Об'єм культуральної рідини з однієї ферментації ( $V_{кр}$ ) = 11,05 м<sup>3</sup>;
- 2). Концентрація цефалоспориноу С у культуральній рідині ( $C_{цеф}$ ) = 6,7 г/л;
- 3). Концентрація біомаси *A. chrysogenum* M35 в культуральній рідині ( $C_{біом}$ ) = 12,58 г/л;
- 4). Втрати на стадіях виділення і очищення цефалоспориноу С ( $W_{втрат}$ ) = 40 %;

Початкова кількість сухого цефалоспориноу С в культуральній рідині складає 11,05\*6,7=74,035 кг, а кінцева кількість сухого цефалоспориноу С, з урахуванням 40 %-ів втрат, має становити 44 кг. Розподіл втрат по усім стадіям виділення і очищення наведено в таблиці 5.11.

Таблиця 5.11

**Підбір технологічного обладнання з врахуванням матеріальних потоків по стадіям**

№ п/п	Назва стадії (операції)	Матеріальні потоки на стадії	Кількість по стадіям			Необхідне обладнання
			Надійшло	Втрати (разом 40 %)	Вийшло	
1	2	3	4	5	6	7
<b>ТП 10 Зберігання культуральної рідини</b>						
1	ТП 10 Зберігання культуральної рідини	Культуральна рідина	11,05 м <sup>3</sup>	-	11,05 м <sup>3</sup>	Збірник культуральної рідини об'ємом 15 м <sup>3</sup>
<b>ТП 11 Відокремлення біомаси від рідкої фази</b>						
2	ТП 11.1 Фільтрування культуральної рідини	Біомаса *	139 кг	-	139 кг	Фільтр-прес з площею фільтрування 12,5 м <sup>2</sup>
		Кількість цефалоспориноу С	136 кг	2 %	133 кг	-
		Фільтрат	10,91 м <sup>3</sup>	-	10,9 м <sup>3</sup>	Перекачується за допомогою відцентрового насоса продуктивністю 80 л/хв до збірника об'ємом 15

						м <sup>3</sup>
<b>ТП 12 Виділення цефалоспориноу С у вигляді калієвої солі</b>						
3	ТП 12.1 Сорбція цефалоспориноу С з використанням неіоногенного сорбенту	Фільтрат	10,9 м <sup>3</sup>	-	-	-
		Сорбент Amberlite XAD-4	6,5 м <sup>3</sup>	-	-	Колонка для сорбції об'ємом 10 м <sup>3</sup>
		Знесолена вода	6,5 м <sup>3</sup>	-	-	Збірник для зберігання об'ємом 10 м <sup>3</sup>
		Кількість цефалоспориноу С	133 кг	2 %	130 кг	-
		Не сорбований розчин	-	-	10,4 м <sup>3</sup>	На утилізацію
		Сорбований розчин	-	-	0,5 м <sup>3</sup>	-
4	ТП 12.2 Десорбція цефалоспориноу С з використанням 20 %-го ацетону	Сорбований розчин	0,5 м <sup>3</sup>	-	-	-
		20 %-ий розчин ацетону	10 м <sup>3</sup>	-	-	Збірник для зберігання об'ємом 15 м <sup>3</sup>
		Кількість цефалоспориноу С	130 кг	10 %	116 кг	-
		Елюат після першої десорбції	10,5 м <sup>3</sup>	-	10 м <sup>3</sup>	Перекачується за допомогою відцентрового насоса продуктивністю 400 л/хв до збірника об'ємом 15 м <sup>3</sup>
5	ТП 12.3 Сорбція цефалоспориноу С з використанням низькоосновного сорбенту	Елюат після першої десорбції	10 м <sup>3</sup>	-	-	-
		Сорбент Amberlite IRA-67	612 л	-	-	Колонка для сорбції об'ємом 1 м <sup>3</sup>
		Знесолена вода	612 л	-	-	Збірник для зберігання об'ємом 10 м <sup>3</sup>
		Кількість цефалоспориноу С	116 кг	2 %	113,5 кг	-
		Не сорбований розчин	-	-	9,7 м <sup>3</sup>	На регенерацію
		Сорбований розчин	-	-	0,3 м <sup>3</sup>	-
6	ТП 12.4 Десорбція	Сорбований розчин	0,3 м <sup>3</sup>	-	-	-

## Продовження таблиці 5.11

	цефалоспорину С з використанням 0,2 н розчину ацетату калію	0,2 н розчин ацетату калію	2 м <sup>3</sup>	-	-	Збірник для зберігання об'ємом 4 м <sup>3</sup>
		Кількість цефалоспорину С	113,5 кг	10 %	102 кг	-
		Елюат після другої десорбції	-	-	2 м <sup>3</sup>	Перекачується за допомогою відцентрового насоса продуктивністю 250 л/хв до збірника об'ємом 5 м <sup>3</sup>
<b>ТП 13 Концентрування цефалоспорину С у вигляді калієвої солі</b>						
7	ТП 13 Концентрування цефалоспорину С у вигляді калієвої солі*	Елюат після другої десорбції	2 м <sup>3</sup>	-	-	Установка ультрафільтрації продуктивністю 800 л/год
		Пермеат	1,4 м <sup>3</sup>	-	-	На регенерацію
		Кількість цефалоспорину С	102 кг	2 %	101 кг	-
		Концентрат	601 л	-	600 л	Перекачується за допомогою відцентрового насоса продуктивністю 50 л/хв до реактора-змішувача 10 м <sup>3</sup>
<b>ТП 14 Осадження цефалоспорину С у вигляді калієвої солі</b>						
8	ТП 14 Осадження цефалоспорину С у вигляді калієвої солі	Концентрат цефалоспорину С	600 л	-	-	Реактор-змішувач об'ємом 10 м <sup>3</sup>
		92 %-ий розчин ізопропілового спирту	6 м <sup>3</sup>	-	-	Готується і зберігається у збірнику об'ємом 10 м <sup>3</sup>
		Маса осаду цефалоспорину С	101 кг	10 %	91 кг	-
		Водно-спиртова суміш	-	-	6,5 м <sup>3</sup>	Перекачується за допомогою

Закінчення таблиці 5.11

		з осадом цефалоспориноу С				відцентрового насосу продуктивністю 100 л/хв до нутч-фільтра
<b>ТП 15 Відокремлення солі цефалоспориноу С від водно-спиртової суміші</b>						
9	ТП 15 Відокремлення солі цефалоспориноу С від водно- спиртової суміші	Водно-спиртова суміш з осадом цефалоспориноу С	6,5 м <sup>3</sup>	-	-	Нутч-фільтр продуктивністю 6,5 м <sup>3</sup> /год
		Фільтрат	-	-	6,41 м <sup>3</sup>	На регенерацію
		Вологий осад цефалоспориноу С у вигляді калієвої солі (50 % вологи)	91 кг	1 %	90 кг	Зберігається у ємності об'ємом 172 л (100 кг)
<b>ТП 16 Сушіння волого осадку цефалоспориноу С у вигляді калієвої солі</b>						
10	ТП 16 Сушіння волого осадку цефалоспориноу С у вигляді калієвої солі	Вологий осад цефалоспориноу С у вигляді калієвої солі	90 кг	-	-	Вакуумна сушильна шафа, що вміщує до 100 кг продукту
		Сухий осад цефалоспориноу С у вигляді калієвої солі (10 % вологи)	-	1 %	44,45 кг	Зберігається у ємності об'ємом 134 л (80 кг)
<b>ПМВ 17 Пакування, маркування і відвантаження висушеного цефалоспориноу С у вигляді калієвої солі</b>						
11	ПМВ 17 Пакування, маркування і відвантаження висушеного цефалоспориноу С у вигляді калієвої солі	Сухий осад цефалоспориноу С у вигляді калієвої солі	44,45 кг	-	-	-
		Упакований у поліетиленові пакети цефалоспорин С у вигляді калієвої солі	-	1 %	44 кг	Ручна упаковка

\* - ступінь концентрування дорівнює 3;

## РОЗДІЛ 6 СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ

Таблиця 6.1

### Специфікація обладнання процесу біосинтезу цефалоспоринолу С

Позиція	Найменування	Кількість	Технічна характеристика
П-1	Повітрязабірник	1	Матеріал – кислотостійка листовая сталь, ширина – 2,5 м, довжина – 0,5 м, модель – WSQ-K [41]
Ф-2	Фільтр грубої очистки	1	Фільтруючий матеріал – хімволокно, продуктивність – 1700 м <sup>3</sup> /год, E = 90 %, модель – ФВК-36-600-3-G4 [43]
К-3	Компресор	1	Матеріал – сталь, продуктивність – 1730 м <sup>3</sup> /год, ширина – 2,5 м, висота – 2,115 м, модель – VEGA 200 [44]
Т-4 Т-6	Теплообмінник	2	Продуктивність – 1890 м <sup>3</sup> /год, висота – 1,8 м, ширина – 1,96 м, матеріал – мідні труби з алюмінієвими ребрами, модель – AFR-315 [45]
Р-5	Ресивер	1	Матеріал – сталь, об'єм – 500 л, робочий тиск – до 1 МПа, ширина – 650 мм, висота – 1800 мм, модель - РВ 500.11.00 [46]
Ф-7	Головний фільтр	1	Матеріал – склопапір, продуктивність – 1700 м <sup>3</sup> /год, E = 95 %, модель - ФВК-36-300-4-F8 [47]
РЗ-8	Реактор-змішувач об'ємом 6 л	1	Об'єм апарату – 6 л; матеріал – нержавіюча сталь; витримує тиск – 0,6 МПа; товщина ковдри – 2 мм; товщина ізоляційного матеріалу – 10 мм; перемішування здійснюється за допомогою магнітної муфти за швидкості – 300 об/хв; виробник – Buchiglas [112]
Ф-9 Ф-11 Ф-19 Ф-22 Ф-24 Ф-33 Ф-43 Ф-45 Ф-54 Ф-64 Ф-65	Фільтр тонкої очистки	10	Модель – APF23DMF, продуктивність – 35 м <sup>3</sup> /год; висота – 234 мм, ширина – 80 мм; ступінь очистки повітря – 95 % [113]

					<b>НУХТ БТЕК 04.02.09 КР ПЗ</b>		
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата			
Розроб.	Цветков К.О.				Літ.	Арк.	Аркушів
Перевір.	Скороцька О.І.					84	146
Реценз.					<b>Кафедра БТМ</b>		
Н. Контр.							
Затверд.	Пирог Т.П.						
					<b>РОЗДІЛ 6. Специфікація обладнання</b>		

Продовження таблиці 6.1

РЗ-10 РЗ-23	Реактор-змішувач об'ємом 10 л	2	Об'єм апарату – 10 л; матеріал – нержавіюча сталь; перемішування здійснюється за допомогою магнітної муфти за швидкості – 300 об/хв; товщина ковдри – 2 мм; товщина ізоляційного матеріалу – 10 мм; діаметр – 219 мм, висота – 380 мм; витримує тиск – 0,39 МПа, виробник – МашХим [114, 115]
I-12	Інокулятор для вирощування посівного матеріалу об'ємом 30 л	1	Об'єм апарату – 30 л; матеріал – нержавіюча сталь 316L; модель - BIORUS 30L; висота – 1900 мм, ширина – 670 мм; товщина ковдри – 3 мм; товщина ізоляційного матеріалу – 40 мм; витримує тиск до 0,3 МПа; кисень подається кільцевим барботером; апарат обладнаний датчиками температури, тиску, рН, кисню, піни, стерильний відбір проб забезпечується спеціальним пробовідбірним клапаном [57-60]
З-13 З-14 З-15	Збірники для 6 %-их розчинів НСІ і NaOH, а також піногасника	3	Об'єм – 15 л; концентрація кислоти і луку – 6 %; діаметр – 280 мм, висота – 310 мм; матеріал – нержавіюча сталь [67]
Ф-16	Індивідуальний фільтр	1	Матеріал – скловолокно, Е = 99,995 %, продуктивність – 270 м <sup>3</sup> /год, ширина – 305 мм, висота – 305 мм, товщина – 78 мм, модель – Н14 [48]
РЗ-17	Реактор-змішувач об'ємом 60 л	1	Об'єм апарату – 60 л; матеріал – нержавіюча сталь AISI 304; частота обертання якірної мішалки – 200 об/хв.; товщина ковдри – 2 мм; товщина ізоляційного матеріалу – 30 мм; витримує тиск – 0,4 МПа; діаметр – 420 мм, висота – 570 мм; виробник – ТЕКСА Химмаш [116, 117]
Н-18 Н-21	Перистальтичний насос продуктивністю 3,8 л/хв	2	Максимальна кількість обертів насоса – 280 об/хв.; продуктивність – 3,8 л/хв.; модель - ТР 4000 [118]
РЗ-20	Реактор-змішувач об'ємом 100 л	1	Об'єм апарату – 100 л; матеріал – нержавіюча сталь; перемішування здійснюється за допомогою магнітної муфти за швидкості – 200 об/хв; товщина ковдри – 2 мм; товщина ізоляційного матеріалу – 30 мм; витримує тиск – 0,39 МПа; діаметр – 450 мм, висота – 970 мм; виробник – МашХим [114, 119]
I-25	Інокулятор для вирощування посівного матеріалу об'ємом 250 л	1	Об'єм апарату – 250 л; матеріал – сталь SS316L; виробник - Insitu; ширина – 1,19 м, висота – 2,175 м; товщина ковдри – 3 мм; товщина ізоляційного матеріалу – 50 мм; витримує тиск до 0,39 МПа; кисень подається кільцевим барботером, апарат обладнаний датчиками температури, тиску, піни, рН, кисню, стерильний відбір проб забезпечується спеціальним пробовідбірним клапаном [60, 61]

Продовження таблиці 6.1

3-26 3-27 3-28	Збірник для 6 %-их розчинів HCl і NaOH, а також піногасника	3	Об'єм – 60 л; концентрація кислоти і луку – 6 %; діаметр – 406 мм, висота – 463 мм; матеріал – нержавіюча сталь [68]
Ф-29	Індивідуальний фільтр	1	Матеріал – скловолокно, E = 99,995 %, продуктивність – 560 м <sup>3</sup> /год, ширина – 305 мм, висота – 610 мм, товщина – 78 мм, модель – Н14 [48]
РЗ-30	Реактор-змішувач об'ємом 630 л	1	Об'єм апарату – 630 л; матеріал – нержавіюча сталь AISI 304; частота обертання лопатевої мішалки – 150 об/хв.; товщина ковдри – 2 мм; товщина ізоляційного матеріалу – 40 мм; витримує тиск – 0,4 МПа; діаметр – 710 мм, висота – 1300 мм; виробник – Єврохиммаш [120, 121]
ОД-31 ОД-37 ОД-38 ОД-39 ОД-53	Об'ємно-ваговий дозатор	5	Ширина – 676 мм, висота – 1126 мм; діапазон завантаження – 10...100 кг (л) [122]
Н-32 Н-42	Перистальтичний насос продуктивністю 35 л/хв	2	Максимальна кількість обертів насоса – 350 об/хв.; продуктивність – 35 л/хв.; модель - LG350 [123]
РЗ-34	Реактор-змішувач для перемішування компонентів поживного середовища перед УБС	1	Об'єм апарату – 12,5 м <sup>3</sup> ; матеріал – нержавіюча сталь AISI 304; частота обертання лопатевої мішалки – 100 об/хв.; товщина ковдри – 2 мм; товщина ізоляційного матеріалу – 60 мм; витримує тиск – 0,6 МПа; діаметр – 2350 мм, висота – 2950 мм; виробник – Єврохиммаш [120, 124]
ОД-35 ОД-36 ОД-61	Об'ємно-ваговий дозатор	3	Ширина – 1710 мм, висота – 3340 мм; діапазон завантаження – 500...2000 кг [125]
Н-39 Н-59 Н-88	Відцентровий насос продуктивністю 1000 л/хв	3	Продуктивність – 1000 л/хв.; витримує тиск – 0,6 МПа; модель - LEO 3.0 [126]
РЗ-41 РЗ-52	Реактор-змішувач об'ємом 1000 л	2	Об'єм апарату – 1000 л; матеріал – нержавіюча сталь AISI 304; частота обертання лопатевої мішалки – 100 об/хв.; товщина ковдри – 2 мм; товщина ізоляційного матеріалу – 50 мм; витримує тиск – 0,6 МПа; діаметр – 1070 мм, висота – 1220 мм; виробник – Єврохиммаш [120, 124]
РЗ-44	Реактор-змішувач об'ємом 160 л	1	Об'єм апарату – 160 л; матеріал – нержавіюча сталь AISI 304; частота обертання лопатевої мішалки – 200 об/хв.; товщина ковдри – 2 мм; товщина ізоляційного матеріалу – 35 мм; витримує тиск – 0,3 МПа; діаметр – 500 мм, висота – 1025 мм; виробник – Єврохиммаш [120, 127]
І-46	Інокулятор для вирощування посівного матеріалу об'ємом 2,5 м <sup>3</sup>	1	Об'єм апарату – 2,5 м <sup>3</sup> ; матеріал – нержавіюча сталь AISI 316L; виробник - Biotechniskais centrs; ширина – 1,6 м, висота – 3,5 м; товщина ковдри – 3 мм; товщина

Продовження таблиці 6.1

			ізоляційного матеріалу – 50 мм; витримує тиск до 0,3 МПа; кисень подається кільцевим барботером, апарат обладнаний датчиками температури, тиску, піни, рН, кисню, стерильний відбір проб забезпечується спеціальним пробовідбірним клапаном [42, 62]
3-47 3-48 3-49	Збірник для 6 %-их розчинів HCl і NaOH, а також піногасника	3	Об'єм – 300 л; концентрація кислоти і лугу – 6 %; діаметр – 620 мм, висота – 1000 мм; матеріал – нержавіюча сталь [69]
Ф-50	Індивідуальний фільтр	1	Матеріал – скловолокно, E = 99,995 %, продуктивність – 1200 м <sup>3</sup> /год, ширина – 610 мм, висота – 610 мм, товщина – 78 мм, модель – Н14 [48]
УБС-51	Установка безперервної стерилізації продуктивністю 15 м <sup>3</sup> /год	1	Продуктивність – 15 м <sup>3</sup> /год; тиск пари – 0,5 МПа; ширина – 2000 мм, довжина – 3000 мм [128]
ФР-55	Ферментер для виробничого біосинтезу об'ємом 25 м <sup>3</sup>	1	Об'єм апарату – 25 м <sup>3</sup> ; матеріал – нержавіюча сталь AISI 316L; виробник - BIORUS®; ширина – 3 м, висота – 8,52 м; товщина ковдри – 3 мм; товщина ізоляційного матеріалу - 50 мм, витримує тиск до 0,3 МПа; кисень подається кільцевим барботером, апарат обладнаний датчиками температури, рН, кисню, стерильний відбір проб забезпечується спеціальним пробовідбірним клапаном [42, 59]
3-56 3-57	Збірник для 6 %-их розчинів HCl і NaOH	2	Об'єм – 6 м <sup>3</sup> ; концентрація кислоти і лугу – 6 %; діаметр – 1600 мм, висота – 3000 мм; матеріал – нержавіюча сталь [70]
Ф-58	Індивідуальний фільтр	1	Матеріал – скловолокно, E = 99,995 %, продуктивність – 2000 м <sup>3</sup> /год, ширина – 610 мм, висота – 610 мм, товщина – 292 мм, модель – Н14 [48]
РЗ-60	Реактор-змішувач для приготування гідролізату водоростей	1	Об'єм апарату – 2 м <sup>3</sup> ; матеріал – нержавіюча сталь AISI 304; частота обертання лопатевої мішалки – 100 об/хв.; товщина ковдри – 2 мм; товщина ізоляційного матеріалу – 60 мм; витримує тиск – 0,6 МПа; діаметр – 1350 мм, висота – 1550 мм; виробник – Єврохиммаш [120, 124]
3-62	Збірник для 37 %-го розчину HCl	1	Об'єм – 1,5 м <sup>3</sup> ; концентрація кислоти – 37 %; діаметр – 990 мм, висота – 2060 мм; матеріал – поліетилен [63]
Н-63	Відцентровий насос продуктивністю 100 л/хв	1	Продуктивність – 100 л/хв.; витримує тиск – 0,55 МПа; модель - Metabo HWA 6000 [129]
3-64 3-68 3-72 3-74	Збірник об'ємом 15 м <sup>3</sup>	4	Об'єм – 15 м <sup>3</sup> , габарити: діаметр – 2500 мм, висота – 3000 мм, товщина стінки – 8 мм, частота обертання лопатевої мішалки – 100 об/хв, матеріал – нержавіюча сталь [130]
Н-65	Відцентровий насос	7	Продуктивність – 80 л/хв, витримує тиск – до

Продовження таблиці 6.1

Н-67 Н-69 Н-71 Н-75 Н-77 Н-79	продуктивністю 80 л/хв		0,7 МПа, матеріал – нержавіюча сталь [131]
ФП-66	Фільтр-прес типу КМП	1	Площа фільтрування – 12,5 м <sup>2</sup> , габарити: висота – 3976 мм, ширина – 2845 мм, довжина – 3515 мм, об’єм камери – 0,55 м <sup>3</sup> , кількість камер – 8 шт, матеріал мембрани – поліефірні мононіти, модель – КМП12,5-1К-11 [132]
КС-70	Колонка для сорбції об’ємом 10 м <sup>3</sup>	1	Габарити: діаметр – 1800 мм, висота – 4500 мм, товщина стінки – 10 мм, об’єм – 10 м <sup>3</sup> , виробник - GEA [133]
Н-73	Відцентровий насос продуктивністю 400 л/хв	1	Продуктивність – 400 л/хв, витримує тиск – до 0,6 МПа, матеріал – нержавіюча сталь [134]
З-76	Збірник об’ємом 4 м <sup>3</sup>	1	Об’єм – 4 м <sup>3</sup> , матеріал – нержавіюча сталь, частота обертання лопатевої мішалки – 100 об/хв, габарити: довжина – 2900 мм, діаметр – 1400 мм, висота – 1500 мм [135]
КС-78	Колонка для сорбції об’ємом 1 м <sup>3</sup>	1	Габарити: діаметр – 650 мм, висота – 3000 мм, товщина стінки – 6 мм, об’єм – 1 м <sup>3</sup> , виробник - GEA [133]
З-80 З-89	Збірник об’ємом 10 м <sup>3</sup>	2	Об’єм – 10 м <sup>3</sup> , матеріал – нержавіюча сталь, частота обертання лопатевої мішалки – 100 об/хв, габарити: висота – 3600 мм, діаметр – 1900 мм, товщина стінки – 5 мм [136]
УЗ-81	Установка зворотного осмосу продуктивністю 8 м <sup>3</sup> /год	1	Продуктивність – до 8 м <sup>3</sup> /год, габарити: ширина – 3000 мм, глибина – 2100 мм, висота – 3200 мм, кількість корпусів – 4 шт, кількість мембран в 1 корпусі – 2 шт, матеріал – нержавіюча сталь, модель – RO B2 [137]
Н-82	Відцентровий насос продуктивністю 250 л/хв	1	Продуктивність – 250 л/хв, витримує тиск – до 1 МПа, матеріал – нержавіюча сталь [138]
З-83	Збірник об’ємом 5 м <sup>3</sup>	1	Об’єм – 5 м <sup>3</sup> , габарити: діаметр – 1485 мм, висота – 3876 мм, матеріал – нержавіюча сталь [139]
Н-84	Плунжерний насос продуктивністю 220 л/хв	1	Продуктивність – 220 л/хв, максимально створюваний тиск – 8 МПа, кількість обертів – 1500 об/хв, модель – MSZ 50 [140]
УФ-85	Установка ультрафільтрації продуктивністю 800 л/год	1	Продуктивність – до 800 л/год, режим роботи – циклічний, матеріал – нержавіюча сталь, фільтруюча поверхня – до 7 м <sup>2</sup> , виробник - Сартокарат [97]
Н-86	Відцентровий насос продуктивністю 50 л/хв	1	Продуктивність – 50 л/хв, витримує тиск – до 0,7 МПа, матеріал – нержавіюча сталь [141]
РЗ-87	Реактор-змішувач об’ємом 10 м <sup>3</sup>	1	Об’єм – 10 м <sup>3</sup> , матеріал – нержавіюча сталь, габарити: висота – 3500 мм, діаметр – 1900 мм, частота обертання лопатевої мішалки –

*Закінчення таблиці 6.1*

			100 об/хв, витримує тиск – 0,6 МПа [120]
Н-90	Відцентровий насос продуктивністю 100 л/хв	1	Продуктивність – 100 л/хв, витримує тиск – до 0,55 МПа, матеріал – нержавіюча сталь [142]
НФ-91	Нутч-фільтр продуктивністю 6,5 м <sup>3</sup> /год	1	Продуктивність – 6,5 м <sup>3</sup> /год, робочий тиск – 0,32 МПа, габарити: діаметр – 2400 мм, висота – 1430 мм, фільтруючий матеріал – поліестер з тефлоновим напиленням, модель – RND4 [104]
Е-92	Переносна ємність об'ємом 172 л	1	Габарити: довжина – 800 мм, ширина – 600 мм, висота – 420 мм, вмістимість – 172 л або 100 кг [143]
ВСШ-93	Вакуумна сушильна шафа	1	Продуктивність – 100 кг/год, габарити: діаметр – 2400 мм, довжина – 3900 мм, матеріал – сталь, температурні межі – 10...200°C, модель – FD-50 [144]
Е-94	Переносна ємність об'ємом 134 л	1	Габарити: довжина – 800 мм, ширина – 600 мм, висота – 320 мм, вмістимість – 134 л або 80 кг [145]

## РОЗДІЛ 7 ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ

### *ДР 1. Санітарна підготовка виробництва*

#### *ДР 1.1. Підготовка обладнання та комунікацій*

##### *ДР 1.1.1. Миття обладнання*

Для миття внутрішньої поверхні інокуляторів і ферментера використовуємо 5 %-ий розчин каустичної соди, який закупається вже в необхідній концентрації. Процес миття ведеться вручну кваліфікованим персоналом протягом 1–2 годин. Температура розчину становить 70°C. Відпрацьований розчин утилізується на ЗВ 18.1, а використані тари утилізуються на ЗВ 18.2.

##### *ДР 1.1.2. Технічний огляд обладнання та комунікацій*

Проводимо візуальну перевірку усього обладнання, що бере участь у даному технологічному процесі, підтягуємо усі різьбові фланцеві з'єднання як на самому обладнанні, так і на трубопроводах.

##### *ДР 1.1.3. Дезінфекція та ополіскування обладнання і комунікацій*

Для дезінфекції обладнання використовуємо 0,5 %-ий розчин “Аніосепт актив”, температурою 20°C, яким оброблюємо зовнішні поверхні усіх апаратів і також комунікацій, даний розчин закупається вже в необхідній концентрації. Ополіскування зовнішніх і внутрішніх поверхонь обладнання та комунікацій проводимо очищеною водою протягом 5 хв. Відпрацьований розчин утилізується на ЗВ 18.1, а використані тари утилізуються на ЗВ 18.2.

##### *ДР 1.1.4. Перевірка на герметичність обладнання*

У обладнання подаємо стерильне повітря за тиску 0,15–0,2 МПа і стежимо на наявність чи відсутність падіння тиску після 0,5–1 години. Якщо спостерігається падіння тиску більше чим 0,005 МПа, то апарат вважається не герметичним. Для пошуку нещільностей оброблюємо усі місця з'єднань мильним розчином і спостерігаємо за появою мильних бульбашок. При знаходженні нещільності у фланцевих з'єднань і кришок ємкісного обладнання,

					<b>НУХТ БТЕК 04.02.09 КР ПЗ</b>			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Цветков К.О.			РОЗДІЛ 7. Опис технологічної схеми	Літ.	Арк.	Аркушів
Перевір.		Скороцька О.І.					90	146
Реценз.						Кафедра БТМ		
Н. Контр.								
Затверд.		Пирог Т.П.						

проводимо розбір та профілактичне ущільнення дефектних поверхонь, в якості ущільнювача використовуємо пароніт, фторопласт або гуму. При необхідності проводимо заміну пошкоджених елементів. Відпрацьоване повітря утилізується на ЗВ 18.3.

#### *ДР 1.1.5. Стерилізація обладнання*

Для стерилізації усього обладнання та комунікацій використовуємо насичену водяну пару температурою 130°C за тиску 0,2 МПа упродовж 1 години. Для забезпечення асептичності, після закінчення стерилізації, у інокулятори і ферментер подається стерильне повітря для підтримки надмірного тиску у межах від 0,003 до 0,005 МПа, дана процедура необхідна, щоб уникнути попадання сторонньої мікрофлори з навколишнього середовища.

#### *ДР 1.2. Підготовка приміщень*

##### *ДР 1.2.1. Щоденне прибирання виробничих приміщень*

Для щоденного прибирання стін, підлоги, вікон, усіх робочих поверхонь і дверей використовуються 10 %-ві миючі засоби “Organic expert” і “Алосепт рідина”, що закупаються в готовій концентрації. Після прибирання проводиться змив з поверхонь, для виявлення загальної кількості залишкових мікроорганізмів, дана кількість не повинна перевищувати 300 КУО/см<sup>2</sup>. Відпрацьовані розчини утилізується на ЗВ 18.1, а використані тари утилізуються на ЗВ 18.2.

##### *ДР 1.2.2. Генеральне прибирання виробничих приміщень*

Для генерального прибирання обладнання і комунікацій використовуються 0,5 %-ві миючий засіб “Аніосепт актив”, що закупається в готовій концентрації. Після прибирання проводиться змив з поверхонь, для виявлення загальної кількості залишкових мікроорганізмів, дана кількість не повинна перевищувати 800 КУО/см<sup>2</sup>. Відпрацьований розчин утилізується на ЗВ 18.1, а використані тари утилізуються на ЗВ 18.2.

#### *ДР 2. Підготовка стерильного аераційного повітря*

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

Забір повітря відбувається за допомогою повітрозбірника (П-1), сам пристрій розміщений на найвищій точці будівлі, в якому відбувається весь технологічний

процес. Висота будівлі становить приблизно 12 м, що дорівнює висоті трьохповерхового будинку.

#### *ДР 2.2. Очищення повітря від пилу і механічних часток*

Виключення завислих часточок відбувається за допомогою фільтру грубої очистки (Ф-2) до ступеня очищення 90%,  $P =$  на початку 48 Па, а в кінці 250 Па.

#### *ДР 2.3. Стиснення повітря*

Процес стиснення повітря проходить у компресорі (К-3) за тиску 0,35 МПа, в результаті чого температура повітря підвищується до 120–200°C.

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

Охолодження повітря здійснюється за допомогою теплообмінника (Т-4) до температури 25–30°C, в результаті чого вологість повітря зменшується до 60 %. Сконденсовану вологу видаляємо за допомогою ресивера (Р-5).

#### *ДР 2.5. Нагрівання повітря*

Нагрівання повітря відбувається у теплообміннику (Т-6) до температури 50°C, в результаті чого вологість повітря зменшується до 50 %.

#### *ДР 2.6. Очищення повітря в головному фільтрі*

Очистка повітря проходить в головному фільтрі (Ф-7), який знаходиться поблизу ферментаційних відділень, до ступеня очищення 95 %,  $P =$  на початку 152 Па, а в кінці 450 Па.

#### *ДР 2.7. Очищення повітря в індивідуальних фільтрах*

Очистка повітря проходить в індивідуальних фільтрах (Ф-16, Ф-29, Ф-50 і Ф-58), до ступеня очистки 99,995 %,  $P =$  на початку 140 Па, а в кінці 600 Па.

### ***ДР 3. Приготування розчинів NaOH і HCl***

#### *ДР 3.1. Приготування 6 %-го розчину HCl для інокулятора об'ємом 30 л*

Відміряємо 1,162 л 37 %-го розчину HCl і переносимо у збірник об'ємом 15 л (З-14), після чого доливаємо водопровідної води до загального об'єму 10 л. Стерилізації даний розчин не потребує. Готовий розчин використовується на ТП 8.5.

#### *ДР 3.2. Приготування 6 %-го розчину NaOH для інокулятора об'ємом 30 л*

Відміряємо 0,841 л 50 %-го розчину NaOH і переносимо у збірник об'ємом 15 л (З-15), після чого доливаємо водопровідної води до загального об'єму 10 л.

Стерилізуємо при таких параметрах –  $t = 121^{\circ}\text{C}$ ,  $P = 0,075$  МПа упродовж 15 хв. Готовий розчин використовується на *ТП 8.5*.

*ДР 3.3. Приготування 6 %-го розчину HCl для інокулятора об'ємом 250 л*

Відміряємо 5,81 л 37 %-го розчину HCl і переносимо у збірник об'ємом 60 л (З-27), після чого доливаємо водопровідної води до загального об'єму 50 л. Стерилізації даний розчин не потребує. Готовий розчин використовується на *ТП 8.6*.

*ДР 3.4. Приготування 6 %-го розчину NaOH для інокулятора об'ємом 250 л*

Відміряємо 4,21 л 50 %-го розчину NaOH і переносимо у збірник об'ємом 60 л (З-28), після чого доливаємо водопровідної води до загального об'єму 50 л. Стерилізуємо при таких параметрах –  $t = 121^{\circ}\text{C}$ ,  $P = 0,075$  МПа упродовж 15 хв. Готовий розчин використовується на *ТП 8.6*.

*ДР 3.5. Приготування 6 %-го розчину HCl для інокулятора об'ємом 2,5 м<sup>3</sup>*

Відміряємо 29,16 л 37 %-го розчину HCl і переносимо у збірник об'ємом 300 л (З-48), після чого доливаємо водопровідної води до загального об'єму 250 л. Стерилізації даний розчин не потребує. Готовий розчин використовується на *ТП 8.7*.

*ДР 3.6. Приготування 6 %-го розчину NaOH для інокулятора об'ємом 2,5 м<sup>3</sup>*

Відміряємо 21,11 л 50 %-го розчину NaOH і переносимо у збірник об'ємом 300 л (З-49), після чого доливаємо водопровідної води до загального об'єму 250 л. Стерилізуємо при таких параметрах –  $t = 121^{\circ}\text{C}$ ,  $P = 0,075$  МПа упродовж 15 хв. Готовий розчин використовується на *ТП 8.7*.

*ДР 3.7. Приготування 6 %-го розчину HCl для ферментера об'ємом 25 м<sup>3</sup>*

Відміряємо 580 л 37 %-го розчину HCl і переносимо у збірник об'ємом 6 м<sup>3</sup> (З-56), після чого доливаємо водопровідної води до загального об'єму 5000 л. Стерилізації даний розчин не потребує. Готовий розчин використовується на *ТП 9*.

*ДР 3.8. Приготування 6 %-го розчину NaOH для ферментера об'ємом 25 м<sup>3</sup>*

Відміряємо 420 л 50 %-го розчину NaOH і переносимо у збірник об'ємом 6 м<sup>3</sup> (З-57), після чого доливаємо водопровідної води до загального об'єму 5000 л. Стерилізуємо при таких параметрах –  $t = 121^{\circ}\text{C}$ ,  $P = 0,075$  МПа упродовж 15 хв. Готовий розчин використовується на *ТП 9*.

#### ***ДР 4. Приготування та стерилізація розчину мікроелементів***

На технічних вагах зважуємо 0,25 г  $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$ , 1,85 г  $\text{ZnSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ , 0,375 г  $\text{MnSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ , 0,875 г  $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$  і переносимо у колбу об'ємом 2 л, після чого додаємо 1250 мл водопровідної води і перемішуємо, закриваємо колбу ватно-марлевою пробкою і стерилізуємо при  $131^\circ\text{C}$ ,  $P = 0,15$  МПа упродовж 40 хв в автоклаві. Готовий розчин використовується на *ТП 8.4, ТП 8.5, ТП 8.6 і ТП 8.7.*

#### ***ДР 5. Стерилізація піногасника***

##### ***ДР 5.1. Стерилізація піногасника для інокулятора об'ємом 30 л***

Відміряємо 10 л піногасника UCON™ LB-625 і вміщуємо в збірник об'ємом 15 л (З-13). Стерилізуємо при  $131^\circ\text{C}$ ,  $P = 0,15$  МПа упродовж 40 хв в самому збірнику. Простерилізований піногасник використовується в *ТП 8.5.*

##### ***ДР 5.2. Стерилізація піногасника для інокулятора об'ємом 250 л***

Відміряємо 50 л піногасника UCON™ LB-625 і вміщуємо в збірник об'ємом 60 л (З-26). Стерилізуємо при  $131^\circ\text{C}$ ,  $P = 0,15$  МПа упродовж 40 хв в самому збірнику. Простерилізований піногасник використовується в *ТП 8.6.*

##### ***ДР 5.3. Стерилізація піногасника для інокулятора об'ємом $2,5 \text{ м}^3$***

Відміряємо 250 л піногасника UCON™ LB-625 і вміщуємо в збірник об'ємом 300 л (З-47). Стерилізуємо при  $131^\circ\text{C}$ ,  $P = 0,15$  МПа упродовж 40 хв в самому збірнику. Простерилізований піногасник використовується в *ТП 8.7.*

#### ***ДР 6. Допоміжні роботи після ферментаційних процесів***

##### ***ДР 6.1. Приготування води знесоленої***

Для знесолення водопровідної води використовуємо установку зворотного осмосу (УЗ-81) продуктивністю  $8 \text{ м}^3/\text{год}$ . Об'єм даної води, що використовується для одного циклу виділення і очищення цефалоспорину С, становить  $7,2 \text{ м}^3$ . Отриману знесолену воду зберігаємо при  $25\text{-}30^\circ\text{C}$  у збірнику (З-80) об'ємом  $10 \text{ м}^3$ . Дана вода може зберігатися до 30 днів, після чого повторно пропускається через установку зворотного осмосу (УЗ-81). Знесолену воду використовуємо на *ДР 6.2, ДР 6.3, ДР 6.4, ТП 12.1 і ТП 12.3.* Рідкі відходи утилізуємо на *ЗВ 18.1.*

### *ДР 6.2. Приготування 20 %-го розчину ацетону*

У збірник (З-72) об'ємом 15 м<sup>3</sup> вносимо 2,02 м<sup>3</sup> 99 %-го розчину ацетону, після чого додаємо знесоленої води (від ДР 6.1) до загального об'єму 10 м<sup>3</sup> і перемішуємо (при 100 об/хв). Готовий розчин використовуємо на ТП 12.2.

### *ДР 6.3. Приготування 0,2 н розчину ацетату калію*

У збірник (З-76) об'ємом 4 м<sup>3</sup> зважуємо, на технічних вагах, 41 кг 99 %-го сухого ацетату калію, після чого додаємо знесоленої води (від ДР 6.1) до загального об'єму 2 м<sup>3</sup>, перемішуємо (при 100 об/хв). Готовий розчин використовуємо на ТП 12.4.

### *ДР 6.4. Приготування 92 %-го розчину ізопропілового спирту*

У збірник (З-89) об'ємом 10 м<sup>3</sup> вносимо 5,57 м<sup>3</sup> 99 %-го розчину ізопропілового спирту і додаємо знесоленої води (від ДР 6.1) до загального об'єму 6 м<sup>3</sup>, перемішуємо (при 100 об/хв). Стерилізації даний розчин не потребує, що зумовлено бактерицидною дією даного спирту. Приготовлений розчин використовуємо на ТП 14.

## ***ДР 7. Приготування та стерилізація поживних середовищ***

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

Вміст компонентів для приготування 1,2 л середовища наведено в таблиці 7.1.

*Таблиця 7.1*

### **Розрахунок вмісту компонентів поживного середовища для приготування 1,2 л субстрату**

Компонент поживного середовища	Концентрація, г/л	Вміст компонентів у 1,2 л середовища, г	Композиція	Об'єм композиції, мл
Кукурудзяний екстракт	50 мл	60 мл	А	700
DL-метіонін	5	6		
Вода		634 мл		
К <sub>2</sub> НРО <sub>4</sub>	5	6	Б	400
КН <sub>2</sub> РО <sub>4</sub>	3	3,6		
Вода		390 мл		
Розчин мікроелементів	-	1,2 мл	-	1,2
СаСО <sub>3</sub>	5	6	В	100
Вода		94 мл		

### *ДР 7.1.1. Приготування і стерилізація композиції А*

Відміряємо за допомогою мірного циліндра 60 мл кукурудзяного екстракту, зважуємо на технічних вагах 6 г DL-метіоніну і за допомогою 634 мл водопровідної води переносимо все в колбу об'ємом 2 л. Закриваємо колбу ватно-марлевою пробкою і стерилізуємо в автоклаві при  $t = 112^{\circ}\text{C}$ ,  $P = 0,05$  МПа упродовж 20 хв. Простерилізована композиція використовується на ТП 8.4.

### *ДР 7.1.2. Приготування і стерилізація композиції Б*

На технічних вагах зважуємо 6 г  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  і 3,6 г  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , наважки переносимо в колбу на 1 л і додаємо 390 мл водопровідної води. Закриваємо колбу ватно-марлевою пробкою і стерилізуємо в автоклаві при  $t = 131^{\circ}\text{C}$ ,  $P = 0,15$  МПа упродовж 40 хв. Простерилізована композиція використовується на ТП 8.4.

### *ДР 7.1.3. Приготування і стерилізація композиції В*

На технічних вагах зважуємо 6 г крейди і переносимо в колбу об'ємом 250 мл, додаємо 94 мл водопровідної води і суспендуємо. Закриваємо колбу ватно-марлевою пробкою і стерилізуємо в автоклаві при  $t = 131^{\circ}\text{C}$ ,  $P = 0,15$  МПа упродовж 50 хв. Простерилізована композиція використовується на ТП 8.4.

*ДР 7.2. Приготування і стерилізація поживного середовища для вирощування посівного матеріалу у інокуляторі об'ємом  $0,03 \text{ м}^3$*

Вміст компонентів для приготування 11,93 л середовища наведено в таблиці 7.2.

Таблиця 7.2

### **Розрахунок вмісту компонентів поживного середовища для приготування 11,93 л субстрату**

Компонент поживного середовища	Концентрація, г/л	Вміст компонентів у 11,93 л середовища, г	Композиція	Об'єм композиції, л
Кукурудзяний екстракт	50 мл	596,5 мл	А	4
DL-метіонін	5	59,65		
Вода		3,35 л		
$\text{K}_2\text{HPO}_4$	5	59,65	Б	7
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	3	35,79		
Вода		6,9 л		
Розчин мікроелементів	-	12 мл	-	0,012
$\text{CaCO}_3$	5	59,65	В	0,93
Вода		0,87 л		

### *ДР 7.2.1. Приготування і стерилізація композиції А*

Відміряємо за допомогою мірного циліндра 596,5 мл кукурудзяного екстракту, зважуємо на технічних вагах 59,65 г DL-метіоніну і переносимо все в реактор-змішувач об'ємом 6 л (РЗ-8), додаємо 3,35 л водопровідної води. Стерилізуємо при  $t = 112^{\circ}\text{C}$ ,  $P = 0,05$  МПа упродовж 20 хв. Даний розчин використовується на *ТП 8.5*. Можливі тверді відходи, а саме неякісна сировина і тара для неї, утилізуються на *ЗВ 18.2*.

### *ДР 7.2.2. Приготування і стерилізація композиції Б*

Зважуємо на технічних вагах 59,65 г  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ , 35,79 г  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  і переносимо все у реактор-змішувач об'ємом 10 л (РЗ-10), додаємо 6,9 л водопровідної води. Після перемішування компонентів, розчин самопливом подається у інокулятор (І-12). Стерилізуємо при  $t = 131^{\circ}\text{C}$ ,  $P = 0,15$  МПа упродовж 40 хв. Даний розчин використовується на *ТП 8.5*. Можливі тверді відходи, а саме неякісна сировина і тара для неї, утилізуються на *ЗВ 18.2*.

### *ДР 7.2.3. Приготування і стерилізація композиції В*

На технічних вагах зважуємо 59,65 г крейди і переносимо в колбу об'ємом 3 л, додаємо 0,87 л водопровідної води і суспендуємо. Закриваємо колбу ватно-марлевою пробкою і стерилізуємо в автоклаві при  $t = 131^{\circ}\text{C}$ ,  $P = 0,15$  МПа упродовж 50 хв. Даний розчин використовується на *ТП 8.5*.

*ДР 7.3. Приготування і стерилізація поживного середовища для вирощування посівного матеріалу у інокуляторі об'ємом  $0,25 \text{ м}^3$*

Вміст компонентів для приготування 118,18 л середовища наведено в таблиці 7.3.

*Таблиця 7.3*

### **Розрахунок вмісту компонентів поживного середовища для приготування 118,18 л субстрату**

Компонент поживного середовища	Концентрація, г/л	Вміст компонентів у 118,18 л середовища, г	Композиція	Об'єм композиції, л
Кукурудзяний екстракт	50 мл	5,909 л	А	40
DL-метіонін	5	590,9		
Вода		33,5 л		
$\text{K}_2\text{HPO}_4$	5	590,9	Б	70
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	3	354,54		

*Закінчення таблиці 7.3*

Вода		69 л		
Розчин мікроелементів	-	119 мл	-	0,119
CaCO <sub>3</sub>	5	590,9	В	8,18
Вода		7,6 л		

*ДР 7.3.1. Приготування і стерилізація композиції А*

Відміряємо за допомогою мірної ємкості 5,909 л кукурудзяного екстракту, зважуємо на технічних вагах 590,9 г DL-метіоніну і переносимо все в реактор-змішувач об'ємом 60 л (РЗ-17), додаємо 33,5 л водопровідної води. Стерилізуємо при  $t = 112^{\circ}\text{C}$ ,  $P = 0,05$  МПа упродовж 20 хв. Даний розчин використовується на ТП 8.6. Можливі тверді відходи, а саме неякісна сировина і тара для неї, утилізуються на ЗВ 18.2.

*ДР 7.3.2. Приготування і стерилізація композиції Б*

Зважуємо на технічних вагах 590,9 г K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 354,54 г KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> і переносимо у реактор-змішувач об'ємом 100 л (РЗ-20), додаємо 69 л водопровідної води. Після перемішування компонентів розчин подається за допомогою перистальтичного насоса (Н-18) в інокулятор (І-25). Стерилізуємо при  $t = 131^{\circ}\text{C}$ ,  $P = 0,15$  МПа упродовж 40 хв. Даний розчин використовується на ТП 8.6. Можливі тверді відходи, а саме неякісна сировина і тара для неї, утилізуються на ЗВ 18.2.

*ДР 7.3.3. Приготування і стерилізація композиції В*

На технічних вагах зважуємо 590,9 г крейди і переносимо в реактор-змішувач об'ємом 10 л (РЗ-23), додаємо 7,6 л водопровідної води. Стерилізуємо при  $t = 131^{\circ}\text{C}$ ,  $P = 0,15$  МПа упродовж 50 хв. Даний розчин використовується на ТП 8.6. Можливі тверді відходи, а саме неякісна сировина і тара для неї, утилізуються на ЗВ 18.2.

*ДР 7.4. Приготування і стерилізація поживного середовища для вирощування посівного матеріалу у інокуляторі об'ємом 2,5 м<sup>3</sup>*

Вміст компонентів для приготування 1,12 м<sup>3</sup> середовища наведено в таблиці 7.4.

**Розрахунок вмісту компонентів поживного середовища для приготування 1,12 м<sup>3</sup> субстрату**

Компонент поживного середовища	Концентрація, г/л	Вміст компонентів у 1,12 м <sup>3</sup> середовища, кг	Композиція	Об'єм композиції, л
Кукурудзяний екстракт	50 мл	56 л	А	400
DL-метіонін	5	5,6		
Вода		338,4 л		
К <sub>2</sub> НРО <sub>4</sub>	5	5,6	Б	700
КН <sub>2</sub> РО <sub>4</sub>	3	3,36		
Вода		690 л		
Розчин мікроелементів	-	1,12 л	-	1,12
СаСО <sub>3</sub>	5	5,6	В	100
Вода		94,4 л		

*ДР 7.4.1. Приготування і стерилізація композиції А*

За допомогою об'ємно-вагового дозатора (ОД-31) відміряємо 56 л кукурудзяного екстракту, а на технічних вагах зважуємо 5,6 кг DL-метіоніну і переносимо все в реактор-змішувач об'ємом 630 л (РЗ-30), додаємо 338,4 л водопровідної води. Стерилізуємо при  $t = 112^{\circ}\text{C}$ ,  $P = 0,05$  МПа упродовж 20 хв. Даний розчин використовується на ТП 8.7. Можливі тверді відходи, а саме неякісна сировина і тара для неї, утилізуються на ЗВ 18.2.

*ДР 7.4.2. Приготування і стерилізація композиції Б*

Зважуємо на технічних вагах 5,6 кг К<sub>2</sub>НРО<sub>4</sub>, 3,36 кг КН<sub>2</sub>РО<sub>4</sub> і переносимо все у реактор-змішувач об'ємом 1 м<sup>3</sup> (РЗ-41), додаємо 690 л водопровідної води. Після перемішування компонентів розчин подається за допомогою перистальтичного насоса (Н-42) в інокулятор (І-46). Стерилізуємо при  $t = 131^{\circ}\text{C}$ ,  $P = 0,15$  МПа упродовж 40 хв. Даний розчин використовується на ТП 8.7. Можливі тверді відходи, а саме неякісна сировина і тара для неї, утилізуються на ЗВ 18.2.

*ДР 7.4.3. Приготування і стерилізація композиції В*

На технічних вагах зважуємо 5,6 кг крейди і переносимо в реактор-змішувач об'ємом 160 л (РЗ-44), додаємо 94,4 л водопровідної води. Стерилізуємо при  $t = 131^{\circ}\text{C}$ ,  $P = 0,15$  МПа упродовж 50 хв. Даний розчин використовується на ТП 8.7.

Можливі тверді відходи, а саме неякісна сировина і тара для неї, утилізуються на ЗВ 18.2.

*ДР 7.5. Приготування і стерилізація поживного середовища для виробничого біосинтезу у ферментері об'ємом 25 м<sup>3</sup>*

Вміст компонентів для приготування 11,16 м<sup>3</sup> середовища наведено в таблиці 7.5.

Таблиця 7.5

**Розрахунок вмісту компонентів поживного середовища для приготування 11,16 м<sup>3</sup> субстрату**

Компонент поживного середовища	Концентрація, г/л	Вміст компонентів у 11,16 м <sup>3</sup> середовища, кг	Об'єм поживного середовища, м <sup>3</sup>
Гідролізат сухих водоростей	100 мл	1116 л	11,16 м <sup>3</sup>
Технічний гліцерин	48 мл	535,1 л	
Кукурудзяний екстракт	50 мл	558 л	
DL-метіонін	5	55,8	
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	5	55,8	
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	3	33,5	
CaCO <sub>3</sub>	5	55,8	
Вода		8750 л	

*ДР 7.5.1. Приготування і стерилізація гідролізату водоростей*

За допомогою об'ємно-вагового дозатора (ОД-61) зважуємо 1116 кг водоростей у реактор-змішувач об'ємом 2 м<sup>3</sup> (РЗ-60) і самопливом подаємо 37 %-ий розчин HCl до загального об'єму 1116 л з збірника об'ємом 1,5 м<sup>3</sup> (З-62). Стерилізуємо при t = 121°C, P = 0,075 МПа упродовж 15 хв у самому реакторі. Отриманий гідролізат перекачуємо за допомогою відцентрового насосу (Н-63) в реактор-змішувач об'ємом 12,5 м<sup>3</sup> (РЗ-28). Можливі тверді відходи, а саме неякісна сировина і тара для неї, утилізуються на ЗВ 18.2.

*ДР 7.5.2. Приготування і стерилізація поживного середовища в УБС*

В реактор-змішувач (РЗ-34) за допомогою об'ємно-вагових дозаторів (ОД-35 і ОД-36) відміряємо 535,1 л технічного гліцерину і 558 л кукурудзяного екстракту, а за допомогою дозаторів (ОД-37, ОД-38, ОД-39) зважуємо 55,8 кг DL-метіоніну; 55,8 кг K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 33,5 кг KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> і додаємо 7,95 м<sup>3</sup> водопровідної води, перемішуємо.

Після чого приготовлене поживне середовище перекачується відцентровим насосом (Н-40) до реактора УБС-15 (УБС-51), де проходить його стерилізація, що проходить при  $t = 130^{\circ}\text{C}$ ,  $P = 0,15$  МПа, загальний час стерилізації – 45 хв. Зважуємо на об'ємно-ваговому дозаторі (ОД-53) 55,8 кг крейди і переносимо в реактор-змішувач (РЗ-52) об'ємом  $1\text{ м}^3$  і додаємо 800 л водопровідної води, стерилізуємо при  $t = 131^{\circ}\text{C}$ ,  $P = 0,15$  МПа упродовж 50 хв в самому реакторі. Дані розчини використовуються на *ТП 9*. Можливі тверді відходи, а саме неякісна сировина і тара для неї, утилізуються на *ЗВ 18.2*.

### ***ТП 8. Підготовка посівного матеріалу***

#### *ТП 8.1. Підтримання колекційної культури*

Колекційну культуру *A. chrysogenum* М35 зберігають у пробірках із скошеним сусло-агаром, упродовж 3–4 місяців при температурі  $2\text{--}4^{\circ}\text{C}$ .

#### *ТП 8.2. Одержання робочої культури на агаризованих середовищах*

Колекційну культуру *A. chrysogenum* М35 з пробірок розсіваємо петлею до ізольованих колоній на чашки Петрі із сусло-агаром і вирощуємо при температурі  $27^{\circ}\text{C}$  упродовж 48 годин.

#### *ТП 8.3. Вирощування культури на агаризованих середовищах*

Отриманні ізольовані колонії *A. chrysogenum* М35 (від *ТП 8.2*) пересіваємо петлею в пробірки зі скошеним сусло-агаром (одну колонію в одну пробірку). Тривалість вирощування – 48 години, температура –  $27^{\circ}\text{C}$ .

#### *ТП 8.4. Вирощування культури в колбах на качалках*

В асептичних умовах, у колбу об'ємом 2 л з стерильною композицією А (від *ДР 7.1.1*) зливаємо простерилізовані композиції Б і В (від *ДР 7.1.2* і *ДР 7.1.3*), додаємо 1,2 мл розчину мікроелементів (від *ДР 4*), перемішуємо і розливаємо по 150 мл у 8 качалочних колб об'ємом 750 мл. У пробірку з робочою культурою *A. chrysogenum* М35 (від *ТП 8.3*) вносимо 5 мл фізіологічного розчину, суспендуємо клітини, піпеткою відбираємо одержану грибну суспензію і вносимо в качалочні колби з поживним середовищем. Для засіву однієї колби використовуємо суспензію однієї пробірки. Вирощуємо на качалках при  $w = 300$  об/хв.,  $t = 27^{\circ}\text{C}$  упродовж 48 годин,  $\text{pH} = 7$ .

### *ТП 8.5. Вирощування культури в інокуляторі об'ємом 0,03 м<sup>3</sup>*

З реактора-змішувача (РЗ-10) самопливом подається 7 л композиції Б (від ДР 6.2.2) у інокулятор (І-12), де проходить його стерилізація. Далі в інокулятор (І-12) з реактора-змішувача (РЗ-8), самопливом, подається простерилізована композиція А об'ємом 4 л (від ДР 7.2.1), а з колби об'ємом 3 л вноситься 0,93 л простерилізованої композиції В (від ДР 7.2.3), потім додаємо 12 мл простерилізованого розчину мікроелементів (від ДР 4). Після додавання усіх компонентів поживного середовища, додаємо 6 %-і розчини НСІ і NaOH (від ДР 3.1 і ДР 3.2) до доведення рівня рН до 7, потім, в асептичних умовах, вносимо посівний матеріал, через засівні колби (від ТП 8.4), у інокулятор (І-12). Параметри культивування: час – 48 годин,  $t = 27^{\circ}\text{C}$ ,  $\text{pH} = 7$ . Проби культуральної рідини відбираємо кожні 12 годин, для контролю. При піноутворенні використовуємо стерильний піногасник UCON™ LB-625 (від ДР 5.1). Газоподібні відходи, що утворюються під час подачі аераційного повітря, утилізуються на ЗВ 18.3.

### *ТП 8.6. Вирощування культури в інокуляторі об'ємом 0,25 м<sup>3</sup>*

З реактора-змішувача (РЗ-20), за допомогою перистальтичного насоса (Н-21), подається 70 л композиції Б (від ДР 7.3.2) у інокулятор (І-25), де проходить його стерилізація. Далі в інокулятор (І-25) з реактора-змішувача (РЗ-17) перистальтичним насосом (Н-18) подається простерилізована композиція А об'ємом 40 л (від ДР 7.3.1), а простерилізована композиція В об'ємом 8,18 л (від ДР 7.3.3) подається у інокулятор (І-25), з реактора-змішувача (РЗ-23), самопливом, тому даний реактор розташовується вище самого посівного апарата, потім додаємо 119 мл простерилізованого розчину мікроелементів (від ДР 4). Після додавання усіх компонентів поживного середовища, додаємо 6 %-і розчини НСІ і NaOH (від ДР 3.3 і ДР 3.4) до доведення рівня рН до 7. Посівний матеріал з інокулятора об'ємом 0,03 м<sup>3</sup> (І-12) перекачується у даний інокулятор (І-25) за допомогою труби перетискування (від ТП 8.5). Параметри культивування: час – 48 годин,  $t = 27^{\circ}\text{C}$ ,  $\text{pH} = 7$ . Проби культуральної рідини відбираємо кожні 12 годин, для контролю. При піноутворенні використовуємо стерильний піногасник UCON™ LB-625 (від ДР 5.2). Газоподібні відходи, що утворюються під час подачі аераційного повітря, утилізуються на ЗВ 18.3.

### ***ТП 8.7. Вирощування культури в інокуляторі об'ємом 2,5 м<sup>3</sup>***

З реактора-змішувача (РЗ-41), за допомогою перистальтичного насоса (Н-42), подається 700 л композиції Б (від ДР 7.4.2) у інокулятор (І-46), де проходить його стерилізація. Далі в інокулятор (І-46) з реактора-змішувача (РЗ-30) перистальтичним насосом (Н-32) подається простерилізована композиція А об'ємом 400 л (від ДР 6.4.1), а простерилізована композиція В об'ємом 100 л (від ДР 7.4.3) подається у інокулятор (І-46), з реактора-змішувача (РЗ-44), самопливом, тому даний реактор розташовується вище самого посівного апарата, потім додаємо 1,12 л простерилізованого розчину мікроелементів (від ДР 4). Після додавання усіх компонентів поживного середовища, додаємо 6 %-і розчини НСІ і NaOH (від ДР 3.5 і ДР 3.6) до доведення рівня рН до 7. Посівний матеріал з інокулятора об'ємом 0,25 м<sup>3</sup> (І-25) перекачується у даний інокулятор (І-46) за допомогою труби перетискування (від ТП 8.6). Параметри культивування: час – 48 годин,  $t = 27^{\circ}\text{C}$ , рН = 7. Проби культуральної рідини відбираємо кожні 12 годин, для контролю. При піноутворенні використовуємо стерильний піногасник UCON™ LB-625 (від ДР 5.3). Газоподібні відходи, що утворюються під час подачі аераційного повітря, утилізуються на ЗВ 18.3.

### ***ТП 9. Виробничий біосинтез у ферментері об'ємом 25 м<sup>3</sup>***

Після стерилізації поживного середовища (від ДР 7.5.1) в УБС-15 (УБС-51), весь її об'єм перекачується, за допомогою відцентрового насоса самої установки безперервної стерилізації, у ферментер (ФР-55), крейда з реактора-змішувача (РЗ-52) подається самопливом. Після додавання усіх компонентів поживного середовища, додаємо 6 %-і розчини НСІ і NaOH (від ДР 3.7 і ДР 3.8) до доведення рівня рН до 7. Через трубу перетискування перекачуємо увесь вміст (від ТП 8.7) інокулятора об'ємом 2,5 м<sup>3</sup> (І-46) у даний ферментер (ФР-55). Параметри культивування:  $t = 27^{\circ}\text{C}$ , тривалість культивування – 96 годин, рН = 7, з наступною його зміною: на 24 годину культивування – 6,3; 48 годину – 5,9; 72 годину – 5,8 і 96 годину – 5,7. Газоподібні відходи, що утворюються під час подачі аераційного повітря, утилізуються на ЗВ 18.3.

Параметри завершення виробничого біосинтезу: концентрація біомаси *A. chrysogenum* M35 ~ 12,5 г/л, концентрація цефалоспорину С у культуральній

рідині – 6,7 г/л. Така концентрація антибіотика зазвичай фіксується на 96 год культивування. Культуральна рідина використовується на *ТП 10*.

### ***ТП 10. Зберігання культуральної рідини***

Культуральну рідину (від *ТП 9*) об'ємом 11,05 м<sup>3</sup>, після виробничого біосинтезу, зберігаємо при 4-8°C упродовж 2 годин у збірнику (З-64) об'ємом 15 м<sup>3</sup>, після чого використовуємо на *ТП 11.1*.

### ***ТП 11. Відокремлення біомаси від рідкої фази***

#### ***ТП 11.1. Фільтрування культуральної рідини***

Культуральна рідина (від *ТП 10*) перекачується до башенного фільтр-пресу типу КМП (ФП-66) за допомогою відцентрового насосу (Н-65) продуктивністю 80 л/хв, де відбувається розділення рідкої фази від біомаси, час роботи установки становить 150 хв (2,5 години). Отримана біомаса, вагою 139 кг, утилізується на *ЗВ 18.2*, а фільтрат об'ємом 10,9 м<sup>3</sup> перекачується за допомогою відцентрового насосу (Н-67) продуктивністю 80 л/хв до збірника (З-68) об'ємом 15 м<sup>3</sup>, після чого, за допомогою відцентрового насосу (Н-69) продуктивністю 80 л/хв, перекачується до *ТП 12.1*.

### ***ТП 12. Виділення цефалоспоринолу С у вигляді калієвої солі***

#### ***ТП 12.1. Сорбція цефалоспоринолу С з використанням неіоногенного сорбенту***

У сорбційну колонку (КС-70) об'ємом 10 м<sup>3</sup>, в якій наявний неіоногенний сорбент Amberlite XAD-4 у об'ємі 6,5 м<sup>3</sup>, перекачується фільтрат (від *ТП 11.1*) у об'ємі 10,9 м<sup>3</sup> зі швидкістю 1,5 об'єма фільтрату на 1 об'єм сорбенту за 1 годину. Після завершення даної операції, колонку промивають знесолею водою об'ємом 6,5 м<sup>3</sup> (від *ДР 6.1*), яка перекачується зі збірника (З-80) об'ємом 10 м<sup>3</sup> за допомогою відцентрового насосу (Н-79) продуктивністю 80 л/хв, за тієї ж швидкості. Знесолена вода, після сорбції, піддається регенерації методом зворотного осмосу, а несорбований розчин у об'ємі 10,4 м<sup>3</sup> зливається на утилізацію до *ЗВ 18.1*. Отриманий сорбований розчин об'ємом 0,5 м<sup>3</sup> використовується на *ТП 12.2*.

#### ***ТП 12.2. Десорбція цефалоспоринолу С з використанням 20 %-го ацетону***

Сорбований розчин об'ємом 0,5 м<sup>3</sup> (від *ДР 12.1*) оброблюють 20 %-им розчином ацетону (від *ДР 6.2*) об'ємом 10 м<sup>3</sup>, що перекачується за допомогою відцентрового насосу (Н-71) продуктивністю 80 л/хв зі збірника (З-72) об'ємом

10 м<sup>3</sup>, у сорбційну колонку (КС-70) об'ємом 10 м<sup>3</sup>. Отриманий елюат об'ємом 10 м<sup>3</sup> перекачується до збірника (З-74) об'ємом 15 м<sup>3</sup> за допомогою відцентрового насосу (Н-73) продуктивністю 400 л/хв, після чого, за допомогою відцентрового насосу (Н-75) продуктивністю 80 л/хв, піддається повторній сорбції на *ТП 12.3*. Залишки елюату утилізуються на *ЗВ 18.1*.

*ТП 12.3. Сорбція цефалоспорину С з використанням низькоосновного сорбенту*

У сорбційну колонку (КС-78) об'ємом 1 м<sup>3</sup>, в якій наявний низькоосновний сорбент Amberlite IRA-67 у об'ємі 612 л, перекачується, за допомогою відцентрового насосу (Н-75) продуктивністю 80 л/хв, елюат (від *ТП 12.2*) у об'ємі 10 м<sup>3</sup> зі швидкістю 1,5 об'єма елюату на 1 об'єм сорбенту за 1 годину. Після завершення даної операції, колонку промивають знесоленою водою об'ємом 612 л (від *ДР 6.1*), яка перекачується зі збірника (З-80) об'ємом 10 м<sup>3</sup> за допомогою відцентрового насосу (Н-79) продуктивністю 80 л/хв, за тієї ж швидкості. Знесолена вода, після сорбції, піддається регенерації методом зворотного осмосу, а несорбований розчин об'ємом 9,7 м<sup>3</sup> зливається на регенерацію. Отриманий сорбований розчин об'ємом 0,3 м<sup>3</sup> використовується на *ТП 12.4*.

*ТП 12.4. Десорбція цефалоспорину С з використанням 0,2 н розчину ацетату калію*

Сорбований розчин об'ємом 0,3 м<sup>3</sup> (від *ДР 12.3*) оброблюють 0,2 н розчином ацетату калію (від *ДР 6.3*) об'ємом 2 м<sup>3</sup>, що перекачується за допомогою відцентрового насосу (Н-77) продуктивністю 80 л/хв зі збірника (З-76) об'ємом 4 м<sup>3</sup>, у сорбційну колонку (КС-78) об'ємом 1 м<sup>3</sup>. Отриманий елюат цефалоспорину С у вигляді калієвої солі об'ємом 2 м<sup>3</sup> перекачується за допомогою відцентрового насосу (Н-82) продуктивністю 250 л/хв до збірника (З-83) об'ємом 5 м<sup>3</sup>. Після чого використовується на *ТП 13*. Залишки елюату утилізуються на *ЗВ 18.1*.

***ТП 13. Концентрування цефалоспорину С у вигляді калієвої солі***

Перед проведення процесу концентрування відбирається проба елюату для перевірки концентрації цефалоспорину С, яка має бути ~ 13,4 г/л. Елюат (від *ТП 12.4*) зі збірника (З-83) об'ємом 5 м<sup>3</sup> перекачується плунжерним насосом (Н-84) продуктивністю 220 л/хв до установки ультрафільтрації (УФ-85) продуктивністю

800 л/год, де піддається концентруванню під тиском 1,8...2,9 МПа, що створюється плунжерним насосом (Н-84), час роботи установки становить 1 годину. Отриманий пермеат об'ємом 1,4 м<sup>3</sup>, після етапу концентрування, піддається регенерації. Концентрат цефалоспориноу С у вигляді калієвої солі об'ємом 600 л використовується на *ТП 14*.

#### ***ТП 14. Осадження цефалоспориноу С у вигляді калієвої солі***

Концентрат цефалоспориноу С у вигляді калієвої солі у об'ємі 600 л (від *ТП 13*) перекачується за допомогою відцентрового насосу (Н-86) продуктивністю 50 л/хв до реактора-змішувача (РЗ-87) об'ємом 10 м<sup>3</sup> де спочатку відбирається проба концентрату, щоб визначити концентрацію цефалоспориноу С, яка має бути ~ 40,2 г/л, а потім змішується з 92 %-им розчином ізопропілового спирту (від *ДР 6.4*) об'ємом 6 м<sup>3</sup>, який перекачується за допомогою відцентрового насосу (Н-88) продуктивністю 1 м<sup>3</sup>/хв зі збірника (З-89) об'ємом 10 м<sup>3</sup> до даного реактора-змішувача (РЗ-87). Процес осадження відбувається при постійному перемішуванні (100 об/хв). Отримана водно-спиртова суміш з осадом цефалоспориноу С об'ємом 6,5 м<sup>3</sup>, в складі якої міститься 91 кг вологого осаду цефалоспориноу С у вигляді калієвої солі, використовується на *ТП 15*.

#### ***ТП 15. Відокремлення солі цефалоспориноу С від водно-спиртової суміші***

Водно-спиртова суміш з осадом цефалоспориноу С перекачується відцентровим насосом (Н-90) продуктивністю 100 л/хв до нутч-фільтру (НФ-91) продуктивністю 6,5 м<sup>3</sup>/год, де осад відфільтровується і збирається у переносну ємність об'ємом 172 л (Е-92), маса вологого осаду становить 90 кг, час роботи установки становить 1 годину. Фільтрат ізопропілового спирту об'ємом 6,41 м<sup>3</sup> піддається регенерації. Отриманий вологий осад цефалоспориноу С у вигляді калієвої солі, з вологістю ~ 50 %, використовується на *ТП 16*.

#### ***ТП 16. Сушіння волого осаду цефалоспориноу С у вигляді калієвої солі***

Вологий осад цефалоспориноу С у вигляді калієвої солі вноситься до вакуумної сушильної шафи (ВСШ-93), що вміщує до 100 кг продукту, де піддається сушінню під вакуумом, що створюється насосом в середині самого апарату, при температурі 70°C, час роботи установки становить 2 години (з урахуванням підготовки апарату до роботи). Висушений цефалоспорин С у вигляді калієвої солі масою 44,45 кг і

вологістю ~ 10 % збирається у переносну ємність об'ємом 134 л (Е-94), після чого використовується на ПМВ 17. Газоподібні відходи, що утворюються в результаті виходу прогрітого повітря, утилізуються на ЗВ 18.3.

### ***ПМВ 17. Пакування, маркування і відвантаження висушеного цефалоспориноу С у вигляді калієвої солі***

Висушений цефалоспориноу С у вигляді калієвої солі пакують вручну в поліетиленові пакети по 2 кг і запаюють за допомогою індукційного приладу. Після чого приготовлені пакети фасуються в картоні коробки по 3 пакети в кожную коробку, далі коробки відвантажують до складу, де вони зберігаються до часу своєї експлуатації при температурі приміщення 5...10°C. Можливі тверді відходи, а саме браковані тари і засоби маркування, утилізуються на ЗВ 18.2.

### ***ЗВ 18. Знешкодження відходів виробництва цефалоспориноу С***

#### ***ЗВ 18.1. Знешкодження рідких відходів виробництва цефалоспориноу С***

Рідкі відходи, що утворюються на ДР 1.1.1, ДР 1.1.3, ДР 1.2.1, ДР 1.2.2, ДР 6.1, ТП 12.1, ТП 12.2 і ТП 12.4 утилізуються в біотенках, де їх перетворення здійснюється за рахунок мікроорганізмів в складі активного мулу.

#### ***ЗВ 18.2. Знешкодження твердих відходів виробництва цефалоспориноу С***

Тверді відходи, що утворюються на ДР 1.1.1, ДР 1.1.3, ДР 1.2.1, ДР 1.2.2, ДР 7.2.1, ДР 7.2.2, ДР 7.2.3, ДР 7.3.1, ДР 7.3.2, ДР 7.3.3, ДР 7.4.1, ДР 7.4.2, ДР 7.4.3, ДР 7.5.1, ДР 7.5.2, ТП 11.1 і ПМВ 17 утилізуються за допомогою вторинної переробки (використані тари і браковані матеріали), а також за допомогою компостування (компоненти поживного середовища незадовільної якості і біомаса).

#### ***ЗВ 18.3. Знешкодження газоподібних викидів виробництва цефалоспориноу С***

Газоподібні викиди, що утворюються на ДР 1.1.4, ТП 8.5, ТП 8.6, ТП 8.7, ТП 9 і ТП 16 утилізуються за допомогою крапельного біофільтру, а саме мікроорганізмів, що використовуються в даному обладнанні. Мікроорганізми перетворюють забрудненні речовини на вуглекислий газ і воду, а очищене повітря може піддаватися повторній очистці, або надходити у атмосферу.

## РОЗДІЛ 8 КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА

### 8.1. Мікробіологічний контроль

Мікробіологічний контроль здійснюють двома шляхами: розсівом на агаризовані поживні середовища і мікроскопіюванням. Прямий висів зразка культуральної рідини до ізолюваних колоній здійснюють на чашках Петрі з МПА для виявлення бактерій, а також з сусло-агаром (СА) для виявлення грибів і дріжджів.

Мікроскопіювання проводять за допомогою світлового мікроскопа з використанням імерсії. На чисте знежирене предметне скло наносять краплину культуральної рідини, яку розподіляють по поверхні скла за допомогою петлі. Мазок висушують на повітрі і після цього наносять краплину імерсійної рідини. Далі мазок аналізують за допомогою мікроскопа, описують морфологію клітин і наявність сторонніх клітин [146].

Клітини гриба *A. chrysogenum* M35 мають вигляд гіфів з конідіями, нерухливі, які здатні утворювати спори при процесі розмноження, міцелій септований, розмір конідій складає  $5,6 \times 3,1 \dots 11,2 \times 2,8$  мкм [17].

### 8.2. Показники росту і синтезу цефалоспорину С

#### 8.2.1. Визначення концентрації біомаси

Визначення маси сухих клітин міцелію – 10 мл культуральної рідини фільтруємо через скловолокнистий фільтр GF/C, двічі промиваємо дистильованою водою, а потім сушимо при  $80^{\circ}\text{C}$  упродовж 24 годин. Кількість біомаси на 10 мл культуральної рідини складає 0,1258 г [9].

#### 8.2.2. Визначення кількості синтезованого цефалоспорину С

Підготовка культуральної рідини до аналізу – розливаємо по 1 мл культуральної рідини в пробірки Еппендорфа, які переносимо в центрифугу 5810R Eppendorf, яка працює за таких параметрів – 14000 об/хв,  $4^{\circ}\text{C}$ , 15 хв. Супернатант можна використовувати для визначення концентрацій цефалоспорину С, джерел вуглецю і азоту [147].

					<b>НУХТ БТЕК 04.02.09 КР ПЗ</b>			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата	<i>РОЗДІЛ 8. Контроль виробництва</i>	Літ.	Арк.	Аркушів
Розроб.		Цветков К.О.					108	146
Перевір.		Скороцька О.І.				<i>Кафедра БТМ</i>		
Реценз.								
Н. Контр.								
Затверд.		Цирог Т.П.						

*Визначення концентрації цефалоспорину С* – методика проведення дослідження: відбираємо 1 мл супернатанту від пробірки Еппендорфа у колбу на 10 мл, додаємо розчин рухомої фази (1 мл), перемішуємо і, за допомогою мікроголки, переносимо зразок суміші (4–5 мкл) у колонку ВЕРХ. Для проведення ВЕРХ було використано колонку зворотної фази Bondapak C-18 та УФ-детектор 254 нм. Рухома фаза складалася з 40%-го ацетонітрилу, доданого при швидкості потоку 0,9 мл/хв, температура колонки  $t = 25^{\circ}\text{C}$ . Цефалоспорин С цинкової солі був використаний як стандарт. Кількість цефалоспорину С в 1 мл супернатанту складає 6,7 мг [9].

### **8.2.3. Визначення концентрації джерел вуглецю (гліцерину, глюкози і галактози) та азоту (амонійного азоту)**

*Визначення концентрації джерела вуглецю* – концентрацію гліцерину і цукрів (глюкоза і галактоза), що знаходяться як в гідролізаті водоростей при виробничому біосинтезі, так і в кукурудзяному екстракті при накопиченні посівного матеріалу в інокуляторах, вимірюємо за допомогою ВЕРХ з використанням колонки Aminex HPLC-87H та детектора показника заломлення. Методика проведення: відбираємо 1 мл супернатанту від пробірки Еппендорфа у колбу на 10 мл, додаємо розчин рухомої фази (1 мл), перемішуємо і, за допомогою мікроголки, переносимо зразок суміші (4–5 мкл) у колонку ВЕРХ. Температуру колонки та детектора підтримували на рівні  $50^{\circ}\text{C}$ . Рухома фаза становила 0,005 N  $\text{H}_2\text{SO}_4$  при швидкості потоку 0,8 мл/хв [9].

*Визначення концентрації азоту в кукурудзяному екстракті* – визначення амонійного азоту проводиться за допомогою колоритмічного методу з додаванням реактиву Несслера. Підготовка проби: освітлення – до 10 мл проби супернатанту додаємо 0,1 мл 12,5%-ного розчину алюмокалієвих квасців і розчин аміаку до отримання рН 5,8. Після збовтування колби даємо осаду осісти до повного освітлення проби. Фільтруємо через паперовий фільтр. Хід аналізу: у мірну колбу на 100 мл вносимо 10 мл фільтрату, додаємо 0,5 мл сегнетової солі і 1 мл реактиву Несслера, розбавляємо безаміачною водою до 100 мл. Через 15 хв визначаємо оптичну густину пофарбованого жовтого розчину на фотоколориметрі з синім світлофільтром [148].

### 8.3. Показники якості готового продукту

*Мікробіологічний контроль сухого цефалоспорину С у вигляді калієвої солі здійснюють наступним чином:* 1 г сухого цефалоспорину С у вигляді калієвої солі розчиняємо у 9 мл дистильованої води при постійному перемішуванні. До отриманого розчину додаємо 1 мл Amp-С-β-лактамази, що інактивує антибіотик, перемішуємо. З отриманого розчину, за допомогою стерильної піпетки об'ємом 1 мл, відміряємо по 0,1 мл зразку суміші і висіваємо їх на чашках Петрі з МПА для виявлення бактерій, а також з СА для виявлення грибів і дріжджів за допомогою шпателя Дрегальського, інкубуємо чашки Петрі при 37°C упродовж 48 годин [146, 149].

Параметри мікробіологічного контролю для нестерильних субстанцій (наприклад, цефалоспорину С у вигляді калієвої солі), що використовуються для створення стерильних лікарських засобів наведено у таблиці 8.1 [150].

Таблиця 8.1

#### Параметри мікробіологічного контролю для нестерильних лікарських субстанцій

Призначення	Загальна кількість аеробів, КУО/г або КУО/мл	Загальна кількість грибів, КУО/г або КУО/мл	Специфічні мікроорганізми (В 1 г або 1 мл)
Нестерильні субстанції для виробництва стерильних ЛЗ, ЛЗ для місцевого і інгаляційного застосування	Не більше $10^2$		Відсутність <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , грам негативних бактерій, що толерантні до жовчі, або бактерій родини <i>Enterobacteriaceae</i>
Нестерильні субстанції для виробництва нестерильних ЛЗ	$10^3$	$10^2$	Відсутність <i>Escherichia coli</i>
Субстанції природного походження, для яких попередня антимікробна обробка неможлива і для яких уповноважений орган допускає мікробне забруднення вихідної сировини понад $10^3$ в 1г або 1 мл	Не більше $10^4$		Відсутність <i>S. aureus</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>E. coli</i> , <i>Salmonella</i> (в 10 г або 10 мл), Не більше $10^2$ КУО грамнегативних бактерій, що толерантні до жовчі, або бактерій родини <i>Enterobacteriaceae</i>

При заростанні чашок Петрі будь-якою мікрофлорою, проводимо мікроскопіювання за допомогою світлового мікроскопа методом “роздавлена крапля”: на чисте знежирене предметне скло наносимо краплину води і, в стерильних умовах, відбираємо петлею зразок пророслої культури мікроорганізмів, після чого поміщуємо її в дану краплину. Накриваємо краплину покривним скельцем і мікроскопіюємо [146].

**Контроль вологості осаду цефалоспорину С у вигляді калієвої солі:** вологість осаду цефалоспорину С у вигляді калієвої солі, після фільтрації на нутч-фільтрі (ТП 15) і після сушіння у вакуумній сушильній шафі (ТП 16), визначаємо за допомогою вологоміра, який працює за принципами непрямих методів визначення вологовмісту, а саме надвисокочастотного вологоміра (НВЧ-вологоміра). Використання даного вологоміра дозволяє зменшити похибку вимірювання, що обумовлена хімічним складом матеріалу. Принцип роботи НВЧ-вологоміра пов’язаний у визначенням стану електромагнітної хвилі, що пройшла через аналізований зразок осаду, шляхом порівняння зі станом хвилі, що розповсюджується іншим шляхом. Вимірювання зводяться до визначення комплексного коефіцієнта передачі ділянки направляючої системи, заповненої аналізованим зразком осаду. Переведення відносних одиниць у відсотки вологості здійснюємо за спеціальними таблицями або аналітичними залежностями. Вміст вологи у осаді цефалоспорину С у вигляді калієвої солі після фільтрування має дорівнювати ~ 50 %, а після висушування ~ 10 % [151].

**Визначення концентрації розчиненого цефалоспорину С після етапів сорбції і концентрування:** визначення концентрації розчиненого цефалоспорину С проводимо за допомогою полярографа. Принцип роботи полярографа полягає у вимірюванні сили струму при постійному зростанні напруги на електродах, які занурені в досліджуваний розчин. Даний електрохімічний метод характеризується високою чутливістю (похибка вимірювання складає 2...3%), швидкістю аналізу, а також визначенням якісного і кількісного складу досліджуваного розчину. Проби, для аналізу концентрації цефалоспорину С, відбираємо після етапів сорбції з збірника об’ємом 5 м<sup>3</sup>, а також після етапу концентрування з реактора-змішувача об’ємом 12,5 м<sup>3</sup>.

*Хід аналізу:* відбираємо 10 мл зразку розчину, в склад якого входить цефалоспорин С, і поміщаємо його у полярограф для визначення концентрації розчиненого цефалоспорину С. Переведення відносних одиниць у масові здійснюють за спеціальними таблицями. Концентрація цефалоспорину С у розчинні ацетату калію після десорбції (ТП 12.4) повинна дорівнювати ~ 13,4 г/л, а після етапу концентрування (ТП 13) ~ 40,2 г/л [146].

***Контроль ваги продукту в одному пакеті (маса брутто):*** для визначення маси одного пакету використовується метод прямого взвішування однієї одиниці продукції на вагах. Маса одного пакету повинна бути 2 кг [152].

## 8.4. Карта постадійного контролю доферментаційних процесів

Таблиця 8.2

Карта постадійного контролю доферментаційних процесів біосинтезу цефалоспориноу С

Номер контрольної точки та назва стадії	Об'єкт контролю і показник, що визначається	Засоби та методи контролю	Періодичність перевірки та порядок відбору проб	Нормативна характеристика показника, що визначається
1	2	3	4	5
Кх, Кт 1.1.1 <i>Миття обладнання</i>	Обладнання, температура і концентрація розчину каустичної соди, час, чистота	Термометр технічний, годинник, кондуктометр	Під час проведення операції обробки	$t_{\text{розчину}} = 70^{\circ}\text{C}$ ; $C_{\text{розчину}} = 5\%$ ; $\tau = 1-2$ год
Кх, Кт 1.1.3 <i>Дезінфекція та ополіскування обладнання і комунікацій</i>	Обладнання та комунікації, концентрація і температура розчину перекису водню, час	Термометр технічний, годинник, кондуктометр	Під час проведення операції обробки	$C_{\text{розчину}} = 6\%$ ; $\tau = 5$ хв, $t = 20^{\circ}\text{C}$
Кт 1.1.4 <i>Перевірка на герметичність обладнання</i>	Герметичність обладнання, час, тиск	Манометр технічний, годинник	Тиск визначається безперервно під час перевірки на герметичність	$\tau = 0,5-1$ год; $P = 0,15-0,2$ МПа
Кт 1.1.5 <i>Стерилізація обладнання</i>	Обладнання, тиск і час стерилізації	Технічний манометр і годинник	Тиск визначається безперервно під час стерилізації	$\tau = 1$ год; $P = 0,2$ МПа
Кт 2.2 <i>Очищення повітря від пилу і механічних часток</i>	Повітря на виході з фільтра грубого очищення, ступінь очищення, перепад тисків	Манометр, перевірка ступеня очищення згідно паспорту фільтра	Після очистки повітря у фільтрі грубого очищення	$E = 80\%$ ; $P =$ на початку 48 Па, а в кінці 250 Па
Кт 2.3 <i>Стиснення повітря</i>	Стиснене повітря, температура, тиск	Технічний манометр і термометр	Після стиснення повітря	$P = 0,35$ МПа; $t = 120-200^{\circ}\text{C}$
Кт 2.4 <i>Охолодження повітря та видалення вологи</i>	Охоложене повітря, температура, повітря після видалення зайвої вологи	Термометр технічний, психрометричний метод	Після охолодження повітря, після видалення зайвої вологи	$t = 25-30^{\circ}\text{C}$ ; $W = 60\%$
Кт 2.5 <i>Нагрівання повітря</i>	Нагріте повітря, температура	Термометр технічний, психрометричний метод	Після нагрівання повітря	$t = 50^{\circ}\text{C}$ ; $W = 50\%$

Продовження таблиці 8.2

Кт 2.6 <i>Очищення повітря в головному фільтрі</i>	Очищене повітря, ступінь очищення, перепад тисків	Манометр, перевірка ступеня очищення згідно паспорту фільтра	Після очистки повітря у фільтрі тонкого очищення	E = 95 %; P = на початку 152 Па, а в кінці 450 Па
Кт 2.7 <i>Очищення повітря в індивідуальних фільтрах</i>	Очищене повітря, ступінь очищення, перепад тисків	Перевірка ступеня очищення згідно паспорту фільтра	Під час очистки повітря на індивідуальному фільтрі	E = 99,995 %, P = на початку 140 Па, а в кінці 600 Па
Кх 3.1, 3.3, 3.5, 3.7 <i>Приготування 6 %-го розчину HCl для інокуляторів об'ємом 30, 250 2500 л і ферментера об'ємом 25 м<sup>3</sup></i>	Розчин HCl, концентрація кислоти	Кондуктометр	У процесі приготування розчину	C = 6 %
Км, Кх, Кт 3.2, 3.4, 3.6, 3.8 <i>Приготування 6 %-го розчину NaOH для інокуляторів об'ємом 30, 250 2500 л і ферментера об'ємом 25 м<sup>3</sup></i>	Розчин NaOH, концентрація лугу, тиск і час стерилізації, стерильність	Манометр технічний, годинник, мікробіологічний контроль, кондуктометр	Концентрацію лугу визначають перед стерилізацією, тиск визначається безперервно під час стерилізації, відбір проби для мікробіологічного контролю після стерилізації	P = 0,075 МПа, τ = 15 хв, C = 6 %, відсутність мікробіоти
Км, Кт 4 <i>Приготування та стерилізація розчину мікроелементів</i>	Розчин мікроелементів, тиск і час стерилізації, стерильність	Годинник, манометр, мікробіологічний контроль	Тиск і час контролюються безперервно під час стерилізації, відбір проби для мікробіологічного контролю після стерилізації	P = 0,015 МПа, t = 131 <sup>0</sup> С, τ = 40 хв, відсутність мікробіоти
Км, Кт 5.1, 5.2, 5.3 <i>Стерилізація піногасника для інокуляторів об'ємом 30, 250 і 2500 л</i>	Піногасник, час і тиск стерилізації, стерильність	Годинник, манометр, мікробіологічний контроль	Тиск і час контролюються безперервно під час стерилізації, відбір проби для мікробіологічного контролю після стерилізації	P = 0,015 МПа, t = 131 <sup>0</sup> С, τ = 40 хв, відсутність мікробіоти
Кт, Км 7.1.1 <i>Приготування і</i>	Композиція А, температура, тиск і час	Технічний манометр і термометр, годинник,	Температура і тиск визначається безперервно	P = 0,05 МПа, t = 112 <sup>0</sup> С, τ = 20 хв, відсутність

Продовження таблиці 8.2

<i>стерилізація композиції А</i>	стерилізації, стерильність	мікробіологічний контроль	під час стерилізації, відбір проби для мікробіологічного контролю після стерилізації	мікробіоти
Кт, Км 7.1.2 <i>Приготування і стерилізація композиції Б</i>	Композиція Б, температура, тиск і час стерилізації, стерильність	Технічний манометр і термометр, годинник, мікробіологічний контроль	Температура і тиск визначається безперервно під час стерилізації, відбір проби для мікробіологічного контролю після стерилізації	$P = 0,15 \text{ МПа}$ , $t = 131^{\circ}\text{C}$ , $\tau = 40 \text{ хв}$ , відсутність мікробіоти
Кт, Км 7.1.3 <i>Приготування і стерилізація композиції В</i>	Композиція В, температура тиск і час стерилізації, стерильність	Технічний манометр і термометр, годинник, мікробіологічний контроль	Температура і тиск визначається безперервно під час стерилізації, відбір проби для мікробіологічного контролю після стерилізації	$P = 0,15 \text{ МПа}$ , $t = 131^{\circ}\text{C}$ , $\tau = 50 \text{ хв}$ , відсутність мікробіоти
Кт, Км 7.2.1 <i>Приготування і стерилізація композиції А</i>	Композиція А, температура, тиск і час стерилізації, стерильність	Технічний манометр і термометр, годинник, мікробіологічний контроль	Температура і тиск визначається безперервно під час стерилізації, відбір проби для мікробіологічного контролю після стерилізації	$P = 0,05 \text{ МПа}$ , $t = 112^{\circ}\text{C}$ , $\tau = 20 \text{ хв}$ , відсутність мікробіоти
Кт, Км 7.2.2 <i>Приготування і стерилізація композиції Б</i>	Композиція Б, температура, тиск і час стерилізації, стерильність	Технічний манометр і термометр, годинник, мікробіологічний контроль	Температура і тиск визначається безперервно під час стерилізації, відбір проби для мікробіологічного контролю після стерилізації	$P = 0,15 \text{ МПа}$ , $t = 131^{\circ}\text{C}$ , $\tau = 40 \text{ хв}$ , відсутність мікробіоти
Кт, Км 7.2.3 <i>Приготування і</i>	Композиція В, температура, тиск і час	Технічний манометр і термометр, годинник,	Температура і тиск визначається безперервно	$P = 0,15 \text{ МПа}$ , $t = 131^{\circ}\text{C}$ , $\tau = 50 \text{ хв}$ , відсутність

Продовження таблиці 8.2

<i>стерилізація композиції В</i>	стерилізації, стерильність	мікробіологічний контроль	під час стерилізації, відбір проби для мікробіологічного контролю після стерилізації	мікробіоти
Кт, Км 7.3.1 <i>Приготування і стерилізація композиції А</i>	Композиція А, температура, тиск і час стерилізації, стерильність	Технічний манометр і термометр, годинник, мікробіологічний контроль	Температура і тиск визначається безперервно під час стерилізації, відбір проби для мікробіологічного контролю після стерилізації	$P = 0,05$ МПа, $t = 112^{\circ}\text{C}$ , $\tau = 20$ хв, відсутність мікробіоти
Кт, Км 7.3.2 <i>Приготування і стерилізація композиції Б</i>	Композиція Б, температура, тиск і час стерилізації, стерильність	Технічний манометр і термометр, годинник, мікробіологічний контроль	Температура і тиск визначається безперервно під час стерилізації, відбір проби для мікробіологічного контролю після стерилізації	$P = 0,15$ МПа, $t = 131^{\circ}\text{C}$ , $\tau = 40$ хв, відсутність мікробіоти
Кт, Км 7.3.3 <i>Приготування і стерилізація композиції В</i>	Композиція В, температура, тиск і час стерилізації, стерильність	Технічний манометр і термометр, годинник, мікробіологічний контроль	Температура і тиск визначається безперервно під час стерилізації, відбір проби для мікробіологічного контролю після стерилізації	$P = 0,15$ МПа, $t = 131^{\circ}\text{C}$ , $\tau = 50$ хв, відсутність мікробіоти
Кт, Км 7.4.1 <i>Приготування і стерилізація композиції А</i>	Композиція А, температура, тиск і час стерилізації, стерильність	Технічний манометр і термометр, годинник, мікробіологічний контроль	Температура і тиск визначається безперервно під час стерилізації, відбір проби для мікробіологічного контролю після стерилізації	$P = 0,05$ МПа, $t = 112^{\circ}\text{C}$ , $\tau = 20$ хв, відсутність мікробіоти
Кт, Км 7.4.2 <i>Приготування і</i>	Композиція Б, температура, тиск і час	Технічний манометр і термометр, годинник,	Температура і тиск визначається безперервно	$P = 0,15$ МПа, $t = 131^{\circ}\text{C}$ , $\tau = 40$ хв, відсутність

Продовження таблиці 8.2

<i>стерилізація композиції В</i>	стерилізації, стерильність	мікробіологічний контроль	під час стерилізації, відбір проби для мікробіологічного контролю після стерилізації	мікробіоти
Кт, Км 7.4.3 <i>Приготування і стерилізація композиції В</i>	Композиція В, температура, тиск і час стерилізації, стерильність	Технічний манометр і термометр, годинник, мікробіологічний контроль	Температура і тиск визначається безперервно під час стерилізації, відбір проби для мікробіологічного контролю після стерилізації	$P = 0,15 \text{ МПа}$ , $t = 131^{\circ}\text{C}$ , $\tau = 50 \text{ хв}$ , відсутність мікробіоти
Кт, Км 7.5.1 <i>Приготування і стерилізація поживного середовища в УБС</i>	Компоненти поживного середовища, температура, тиск і час стерилізації, стерильність	Технічний манометр і термометр, годинник, мікробіологічний контроль	Температура і тиск визначається безперервно під час стерилізації, відбір проби для мікробіологічного контролю після стерилізації	$P = 0,15 \text{ МПа}$ , $t = 130^{\circ}\text{C}$ , $\tau = 0,744 \text{ год}$ , відсутність мікробіоти
Кт, Км 8.1 <i>Підтримання колекційної культури</i>	Колекційна культура <i>A. chrysogenum</i> М35 Час, температура, відсутність сторонньої мікробіоти	Годинник, термометр технічний, мікробіологічний контроль	Мікробіологічний контроль проводять кожен місяць	$t = 2-4^{\circ}\text{C}$ , $\tau = 3-4 \text{ місяці}$ , відсутність сторонньої мікробіоти
Кт, Км 8.2 <i>Одержання робочої культури на агаризованих середовищах</i>	Колекційна культура <i>A. chrysogenum</i> М35 Морфологічна однорідність, відсутність сторонньої мікробіоти, відсутність неконтрольованих мутацій	Годинник, термометр технічний, мікробіологічний контроль	Мікробіологічний контроль проводять кожні 12 годин	$t = 27^{\circ}\text{C}$ , $\tau = 48 \text{ годин}$ , відсутність сторонньої мікробіоти
Кт, Км 8.3 <i>Вирощування культури на агаризованих середовищах</i>	Колекційна культура <i>A. chrysogenum</i> М35 Морфологічна однорідність, відсутність	Годинник, термометр технічний, мікробіологічний контроль	Мікробіологічний контроль проводять кожні 12 годин	$t = 27^{\circ}\text{C}$ , $\tau = 48 \text{ годин}$ , відсутність сторонньої мікробіоти

Закінчення таблиці 8.2

	сторонньої мікробіоти, відсутність неконтрольованих мутацій			
Кх, Кт, Км 8.4 <i>Вирощування культури в колбах на качалках</i>	Посівний матеріал, температура, тривалість вирощування, частота обертів качалки, рН, мікробіологічна чистота культури, концентрація біомаси	Термометр технічний, годинник, технічний тахометр, рН-метр, мікробіологічний контроль, скловолоконний фільтр	Температура, рН і швидкість обертання контролюються протягом всього часу вирощування, відбір проб культуральної рідини – кожні 12 годин	$t = 27\text{ }^{\circ}\text{C}$ , $\tau = 48$ год, $\omega = 300$ об/хв, рН = 7, відсутність сторонньої мікробіоти, $X_{\text{біомаса}} \sim 12,58$ г/л
Кх, Кт, Км 8.5 <i>Вирощування культури в інокуляторі об'ємом 0,03 м<sup>3</sup></i>	Посівний матеріал, температура, тривалість вирощування, рН, мікробіологічна чистота культури, концентрація біомаси	Годинник, тахометр, датчик температури, датчик рН, мікроскоп, скловолоконний фільтр	Температура, рН і швидкість обертання контролюються протягом всього часу вирощування, відбір проб культуральної рідини – кожні 12 годин	$t = 27\text{ }^{\circ}\text{C}$ , $\tau = 48$ год, рН = 7, відсутність сторонньої мікробіоти, $X_{\text{біомаса}} \sim 12,58$ г/л
Кх, Кт, Км 8.6 <i>Вирощування культури в інокуляторі об'ємом 0,25 м<sup>3</sup></i>	Посівний матеріал, температура, тривалість вирощування, рН, мікробіологічна чистота культури, концентрація біомаси	Годинник, тахометр, датчик температури, датчик рН, мікроскоп, скловолоконний фільтр	Температура і рН контролюються протягом всього часу вирощування, відбір проб культуральної рідини – кожні 12 годин	$t = 27\text{ }^{\circ}\text{C}$ , $\tau = 48$ год, рН = 7, відсутність сторонньої мікробіоти, $X_{\text{біомаса}} \sim 12,58$ г/л
Кх, Кт, Км 8.7 <i>Вирощування культури в інокуляторі об'ємом 2,5 м<sup>3</sup></i>	Посівний матеріал, температура, тривалість вирощування, рН, мікробіологічна чистота культури, концентрація біомаси	Годинник, тахометр, датчик температури, датчик рН, мікроскоп, скловолоконний фільтр	Температура і рН контролюються протягом всього часу вирощування, відбір проб культуральної рідини – кожні 12 годин	$t = 27\text{ }^{\circ}\text{C}$ , $\tau = 48$ год, рН = 7, відсутність сторонньої мікробіоти, $X_{\text{біомаса}} \sim 12,58$ г/л
Кх, Кт, Км 9 <i>Виробничий біосинтез у ферментері об'ємом 25 м<sup>3</sup></i>	Культуральна рідина, температура, тривалість вирощування, рН, мікробіологічна чистота культури, концентрація цефалоспорину С	Годинник, тахометр, датчик температури, датчик рН, мікроскоп, ВЕРХ	Температура і рН контролюються протягом всього часу вирощування, відбір проб культуральної рідини – кожні 12 годин	$t = 27\text{ }^{\circ}\text{C}$ , $\tau = 96$ год, рН = 7, відсутність сторонньої мікробіоти, $S_{\text{цефалоспорину}} = 6,7$ г/л

## РОЗДІЛ 9 АВТОМАТИЗАЦІЯ ДІЛЯНКИ ВИРОБНИЦТВА

### ЦЕФАЛОСПОРИНУ С

#### Аналіз процесу концентрування цефалоспориноу С у вигляді калієвої солі з формуванням завдання на розробку системи автоматизації

Процес концентрування цефалоспориноу С у вигляді калієвої солі проводиться за допомогою установки ультрафільтрації. Дана установка використовуються для відокремлення від води, чи іншого розчинника, різних домішок, що не можуть відокремити за допомогою інших методів фільтрації – механічної фільтрації, мікро-, і нанофільтрації. Принцип роботи установки ультрафільтрації полягає у тому, що розчинник проходить крізь напівпроникну мембрану, на якій осідають завислі часточки, даний процес відбувається під надлишковим тиском, який прикладається зі сторони подачі розчину в даний апарат. Розмір пор використовуваної мембрани може досягати 0,01 мікрон, що дозволяє сконцентрувати цефалоспорин С у вигляді калієвої солі [94].

Цефалоспорин С у вигляді калієвої солі знаходиться у розчиненому вигляді і потрапляє до установки ультрафільтрації після етапу сорбції, в результаті якої, в елюаті залишається лише невелика кількість баластних речовин, а концентрація розчиненого цефалоспориноу С у вигляді калієвої солі в даному розчині становить 13,4 г/л, об'єм усієї суміші дорівнює 2 м<sup>3</sup> [11].

Ступінь концентрування цефалоспориноу С у вигляді калієвої солі дорівнює 3, від чого випливає, що концентрація даної солі буде становити 40,2 г/л, а об'єм самого концентрату дорівнює 600 л.

Загальна машино-апаратурна схема етапу концентрування цефалоспориноу С у вигляді калієвої солі представлена на рисунку 9.1.

					<b>НУХТ БТЕК 04.02.09 КР ПЗ</b>		
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата			
Розроб.		Цветков К.О.			Літ.	Арк.	Аркушів
Перевір.		Скороцька О.І.				119	146
Реценз.		Клименко О.М.			<b>Кафедра БТМ</b>		
Н. Контр.							
Затверд.		Пирог Т.П.					
					<b>РОЗДІЛ 9.</b> <b>Автоматизація ділянки</b> <b>виробництва</b>		

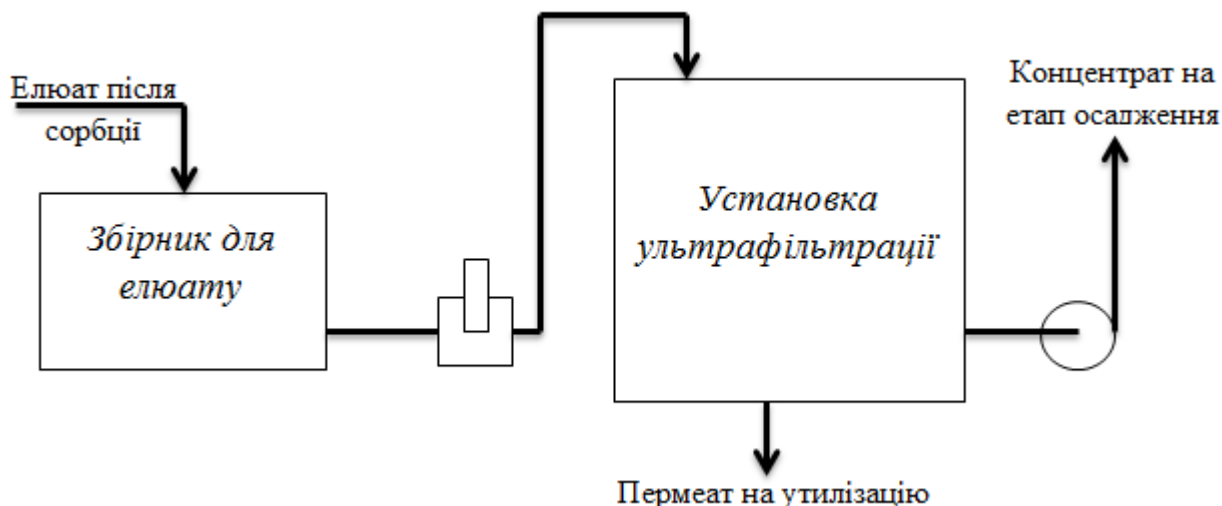


Рис. 9.1. Машино-апаратна схема етапу концентрування цефалоспорину С у вигляді калієвої солі

Для проведення процесу концентрування доцільним буде провести автоматизацію даної ділянки, що дозволить зручно і швидко слідкувати і керувати даним процесом. Автоматизація будь-якої ділянки виробництва складається з визначення контурів, які необхідно автоматизувати. Для автоматизації концентрування цефалоспорину С у вигляді калієвої солі необхідні такі контури:

1). Контроль рівня елюату, що надходить до збірника об'ємом 5 м<sup>3</sup>, контроль температури даного елюату, а також управління клапаном, що стоїть після збірника і відкривається, коли необхідно перекачати даний розчин до самої установки ультрафільтрації;

2). Витрати елюату після збірника, для контролю використаного об'єму суміші на даному етапі виділення і очищення цефалоспорину С у вигляді калієвої солі;

3). Стан плунжерного насосу, що подає елюат до установки ультрафільтрації і вплив на кількість його обертів, для створення необхідного тиску в середині фільтраційної установки;

4). Реєстрація тиску в середині установки ультрафільтрації, а також стан клапану, що відкривається при необхідності перекачати концентрат до наступного етапу виділення і очищення цефалоспорину С у вигляді калієвої солі, а саме осадження;

5). Стан відцентрового насосу, що перекачує концентрат до наступного етапу;

б). Реєстрація витрат концентрату, датчик для контролю яких встановлюється після відцентрового насосу.

Дані контури забезпечуються відповідними датчиками, які розташовуються безпосередньо біля обладнання (первинні перетворювачі), показник якого вимірюється, або на щиті перетворювачів, де встановлюються датчики, які переводять певний сигнал первинного перетворювача у необхідну вимірювану величину.

Вибір необхідних контурів, які треба визначати, показано у вигляді узагальненої таблиці 9.1.

Таблиця 9.1

**Завдання на розробку системи автоматизації етапу концентрування  
цефалоспорину С у вигляді калієвої солі**

№ п/п	Машина, апарат, агрегат	Параметр, місце відбору імпульсу	Значення параметру, допустимі відхилення	Система автоматизації		
				Вид системи автоматизації	Характер контролю, регулювання, управління	Засоби управління та контролю, реалізації управляючої дії
1	Збірник для елюату	Рівень елюату в збірнику	40 %	Контроль	Відображення, сигналізація	АРМ оператора, світова
2		Температура елюату	$12 \pm 3^{\circ}\text{C}$	Контроль	Відображення, реєстрація	АРМ оператора
3		Клапан подачі елюату	Відкрито / закрито	Контроль	Відображення	АРМ оператора
4				Управління	Ручне, дистанційне	По місцю, АРМ оператора
5	Трубопровід елюату	Витрати елюату після збірника	$250 \pm 10$ л/хв	Контроль	Відображення, реєстрація	АРМ оператора
6	Насос подачі елюату до установки ультрафільтрації	Тиск на виході з насосу	$2,4 \pm 0,6$ МПа	Контроль	Відображення, реєстрація, сигналізація	АРМ оператора, світова
7				Регулювання	Стабілізація	Влив на частоту обертання насосу
8		Стан насосу подачі елюату до установки ультрафільт-	Ввімкнено / вимкнено	Управління	Ручне, дистанційне	Пуск, зупинка з АРМа оператора і кнопка

		рації				“Стоп” по місцю
9	Установка ультрафільтрації	Тиск в середині апарату	$2,4 \pm 0,6$ МПа	Контроль	Відображення, реєстрація	АРМ оператора
10		Клапан подачі концентрату	Відкрито / закрито	Управління	Ручне, дистанційне	По місцю, АРМ оператора
11	Насос відкачки концентрату після установки ультрафільтрації	Стан насосу відкачки концентрату з установки ультрафільтрації	Ввімкнено / вимкнено	Контроль	Відображення	АРМ оператора
12				Управління	Ручне, дистанційне	Пуск, зупинка з АРМа оператора і кнопка “Стоп” по місцю
13	Трубопровід концентрату	Витрати концентрату після установки ультрафільтрації	$60 \pm 10$ л/хв	Контроль	Відображення, реєстрація	АРМ оператора

### Опис схеми автоматизації

Етап концентрування цефалоспорину С у вигляді калієвої солі включає такі стадії:

1. Отриманий елюат, об'ємом  $2 \text{ м}^3$ , подається до збірника об'ємом  $5 \text{ м}^3$ , де зберігається до часу ведення його в установку ультрафільтрації;
2. Відкривається клапан біля збірника елюату і перекачується увесь вміст збірника до установки ультрафільтрації, за допомогою плунжерного насосу продуктивністю  $220 \text{ л/хв}$ , який також створює необхідний тиск у розмірі  $2,4 \pm 0,6 \text{ МПа}$  у відповідному апараті;
3. Отриманий пермеат, об'ємом  $1,4 \text{ м}^3$ , піддається регенерації, а концентрат об'ємом  $600 \text{ л}$ , за допомогою відцентрового насосу продуктивністю  $50 \text{ л/хв}$ , перекачується до наступного етапу виділення і очищення цефалоспорину С, а саме осадження.

Для детальної побудови схеми автоматизації необхідною умовою є вибір датчиків для контролю, регулювання і управління самим процесом концентрування

цефалоспорину С у вигляді калієвої солі. Специфікація датчиків наведено в таблиці 9.2.

Таблиця 9.2

### Специфікація використаних датчиків

№ позиції на схемі	Найменування	Кількість	Технічна характеристика
1a	Сигналізатор рівня для збірника об'ємом 5 м <sup>3</sup>	1	Максимальна температура +50°C, матеріал корпусу – поліпропілен, тип датчика – ємкісний, тип сигналу – світловий і звуковий, модель – ALARM SET LC 2 [153]
2a	Термометр опору для збірника об'ємом 5 м <sup>3</sup>	1	Матеріал – нержавіюча сталь, діапазон вимірювань: -50...+150°C, клас точності – 0,2...0,5 %, модель – TCM 50M [154]
3a і 3б, 8a і 8б	Витратомір для вимірювання кількості елюату і концентрату	2	Магнітоіндукційний витратомір, діапазон вимірювань – 0-6,3 м <sup>3</sup> /ч, клас точності 0,01%, максимальна допустима температура до 150°C, максимальний допустимий тиск 40 бар, модель – DN 15 [155]
4a	Частотний перетворювач для насосу	1	Потужність – до 37 кВт, струм – 60 А, напруга – 380 В, модель - AC70-T3-037P [156]
KM1	Пускач двигуна	1	Магнітний пускач, робочий струм – 7А, управляючий сигнал – 220В, модель – 3RT2015-1AP01 [157]
SA1	Перемикач роботи двигуна	1	Перемикач 3-х позиційний (автоматичний-ручний з щита – ручний по місцю) з фіксацією, модель – 3SB3210-2DA11 [158]
SB1- SB4	Кнопочна станція	4	Двоклавішна кнопочка станція «Пуск»-«Стоп», виробник – Lovato [159]
4a, 6a	Датчик вимірювання тиску	2	Деформаційний манометр, матеріал – латунь, діапазон вимірювань 0... 10 МПа, клас точності 1,5, діаметр корпусу – 100 мм, модель – ДМ 05-05 [160]
9a, 10a	Клапан регулюючий	2	Матеріал – латунь, робочий тиск – 1 МПа, принцип роботи – відвідний, модель – MD-35R [161]

## РОЗДІЛ 10 ОХОРОНА ДОВКІЛЛЯ

### 10.1. Аналіз технологічної схеми виробництва цефалоспориноу С та місця емісії твердих, рідких та газоподібних відходів

Для одержання цефалоспориноу С необхідно провести ряд операцій, які включають – санітарну підготовку виробництва, приготування і стерилізацію титрувальних розчинів, піногасника, знесолоної води, розчинів десорбентів, ізопропілового спирту і мікроелементів, поживних середовищ для отримання посівного матеріалу і виробничого біосинтезу, безпосередньо сам процес вирощування посівного матеріалу і біосинтезу цефалоспориноу С. Після основного біотехнологічного процесу йде етапи виділення і очищення цефалоспориноу С, що включає в себе такі стадії – зберігання культуральної рідини, відокремлення біомаси *A. chrysogenum* M35 від рідини, виділення цефалоспориноу С у вигляді калієвої солі за допомогою сорбції, концентрування цефалоспориноу С методом ультрафільтрації, осадження цефалоспориноу С обробкою ізопропіловим спиртом, відокремлення солі цефалоспориноу С від рідини, сушіння вологої солі цефалоспориноу С за допомогою вакуумної сушильної шафи, а також пакування, маркування і відвантаження сухої солі цефалоспориноу С.

Детальний опис створюваних відходів на кожній стадії біотехнологічного процесу виробництва цефалоспориноу С у вигляді калієвої солі:

**1). Санітарна підготовка виробництва:** на даному етапі використовується миючі засоби “Organic expert” і “Алосепт Рідина” для щоденного і генерального прибирання, а саме ними оброблюється усі поверхні виробничого приміщення (столи, підлогу, стелі, стіни). Після проведення даних обробок відпрацьовані розчини зливають у каналізацію. Для миття обладнання і комунікацій використовується миючий розчин “Аніосепт актив”, промивні води, що утворюються, зливаються у каналізацію.

					<b>НУХТ БТЕК 04.02.09 КР ПЗ</b>		
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата			
Розроб.		Цветков К.О.				Літ.	Арк.
Перевір.		Скряцька О.І.					Аркушів
Реценз.							124
Н. Контр.							146
Затверд.		Пирог Т.П.			<b>РОЗДІЛ 10. Охорона докілья</b>		
					<b>Кафедра БТМ</b>		

Використані тари для зберігання миючих засобів представляють тверді відходи. На даному етапі передбачається невелика кількість рідких і твердих відходів.

**2). Приготування і стерилізація титрувальних розчинів:** для приготування і стерилізації солей в одній композиції необхідно додатково підкислити дану суміш, щоб унеможливити випадіння нерозчинних осадів, тому на виробництві необхідно забезпечити розчини лугу і кислоти, для регуляції рН. Такими титрантами є 6 %-ий розчин HCl і 6 %-ий розчин NaOH. Відходи на даному етапі можуть утворюватися тільки тоді, коли процес приготування і використання даних розчинів буде порушеним. Приймаємо, що на даному етапі не утворюється відходів, які б необхідно було утилізувати.

**3). Приготування та стерилізація піногасника:** на етапах накопичення посівного матеріалу в склад поживного середовища входить розчин мікроелементів. Даний розчин готується в колбі, тому приймаємо, що на етапі приготування і стерилізації розчину мікроелементів не утворюються відходи, що потребують утилізації.

**4). Стерилізація піногасника:** піногасник UCON™ LB-625 використовується для регуляції рівня піни під час накопичення посівного матеріалу. Даний піногасник стерилізується в окремому збірнику. На даному етапі ми не враховуємо відходи піногасника.

**5). Приготування знесоленої води:** на етапі знесолення води, за допомогою установки зворотного осмосу, утворюється концентрат, що потребує утилізації. Дана стадія технологічного процесу є місцем утворення рідких відходів.

**6). Приготування розчинів десорбентів:** на етапі виділення цефалоспорину С від фільтрату використовуються розчини десорбентів, а саме 20 %-ий розчин ацетону і 0,2 н розчин ацетату калію. Дані розчини готуються в спеціальних збірниках і подаються до колонки для сорбції за допомогою відцентрових насосів. Приймаємо, що на даному етапі не утворюються будь-які відходи.

**7). Приготування 92 %-го розчину ізопропілового спирту:** на даному етапі, у спеціальному збірнику, відбувається розведення 99 %-го ізопропілового спирту

знесоленою водою. Після приготування, даний розчин перекачується за допомогою відцентрового насосу до реактора-змішувача, де відбувається процес осадження цефалоспорину С. Приймаємо, що на даній стадії технологічного процесу не утворюються будь-які відходи.

**8). Приготування і стерилізація поживних середовищ для накопичення біомаси і виробничого біосинтезу цефалоспорину С:** можливе утворення твердих відходів через погану якість поставленої сировини, яку потім необхідно забракувати і утилізувати, також відходи вважається тари в яких надійшла сировина. Даний етап є місцем виникнення твердих відходів.

**9). Вирощування культури для накопичення посівного матеріалу:** накопичення біомаси відбувається спочатку в колбах на качалках з подальшим перенесенням посівного матеріалу в інокулятори, що збільшуються в об'ємах. Так як посівний матеріал передається до наступної стадії в повному обсязі і виникнення відходів може бути спричинене тільки несправністю систем інокуляторів, то приймаємо, що на цьому етапі не утворюється рідких чи твердих відходів.

Для отримання цефалоспорину С використовується штам міцеліальних грибів *A. chrysogenum* M35, який належить до облігатних аеробів, тому для його нормального росту і розвитку необхідно забезпечити постійний доступ кисню в ферментаційний простір. Також дана культура здатна утворювати спори, що будуть виходити разом з CO<sub>2</sub> в складі відпрацьованого повітря. Отже, на даному етапі буде спостерігатися велика кількість газоподібних викидів.

**10). Виробничий біосинтез цефалоспорину С:** головною метою даного етапу є отримання культуральної рідини, в якій знаходиться цефалоспорин С. Так як після ферментації культуральна рідина надходить до виділення і очищення цільового продукту, то рідкі відходи утворюватися на даному етапі не будуть. Відпрацьоване повітря, у складі якого міститься CO<sub>2</sub> і спори гриба, будуть джерелом великої кількості газоподібних викидів.

**11). Зберігання культуральної рідини:** на даному етапі культуральна рідина надходить до збірника, де зберігається до часу своєї експлуатації. Приймаємо, що на даній стадії не будуть утворюватися будь-які відходи.

**12). Відокремлення біомаси від рідини:** на даному етапі передбачається відокремлення рідини від біомаси, для цього використовується фільтр-прес. Для подальшої очистки цефалоспорину С біомаса не потрібна, тому вона і буде джерелом твердих відходів.

**13). Виділення цефалоспорину С з фільтрату за допомогою сорбції:** дана процедура (сорбція і десорбція) виконується двічі з використанням різних сорбентів і колонок, в якості сорбентів використовується смоли Amberlite XAD-4 і Amberlite IRA-67. Дана операція необхідна для додаткового очищення цефалоспорину С. На першому етапі сорбції утворюється несорбований розчин, який і буде підлягати утилізації, після етапу десорбції 20 %-им ацетоном, елюат пропускається через іншу колонку, де цефалоспорин С затримується іншим сорбентом, несорбований розчин ацетону піддається регенерації, для економії даної речовини.

**14). Концентрування цефалоспорину С за допомогою ультрафільтрації:** для проведення ультрафільтрації використовується спеціальна установка. Після проведення даної операції залишається розчин, з якого було видалено весь цефалоспорин С – пермеат ацетату калію, даний розчин підлягає регенерації для економії даної речовини.

**15). Осадження цефалоспорину С у вигляді калієвої солі:** для осадження використовується ізопропіловий спирт (92 %-ий), яким оброблюється концентрат, в складі якого міститься цефалоспорин С. Після осадження, увесь вміст реактора-змішувача, де і проходить процес осадження, перекачується на етап відокремлення солі цефалоспорину С від водно-спиртової суміші. Приймаємо, що на даному етапі не будуть утворюватися якісь відходи.

**16). Відокремлення солі цефалоспорину С від рідини:** дану операцію здійснюють за допомогою нутч-фільтра. Отриманий фільтрат піддається регенерації, тому на даному етапі не будуть утворюватися відходи, що потребуватимуть утилізації.

**17). Висушування осаду цефалоспорину С:** для висушування використовується вакуумна сушильна шафа, що висушує сіль цефалоспорину С до 10 % вологості. Під час цієї операції виділяється відпрацьоване повітря, що містить

в собі завислі часточки сухого цефалоспорину С. Даний етап є місцем утворення газоподібних викидів.

**18). Пакування, маркування і відвантаження сухої солі цефалоспорину С:** на даному етапі використовуються тари, в які пакується цефалоспорин С, а також засоби маркування. Дані матеріали можуть поступати з дефектом, тому є необхідність в їх утилізації.

## 10.2. Перспективи впровадження системи екологізації виробництва

### 10.2.1. Система знешкодження та утилізації газоподібних викидів

Для знешкодження газоподібних викидів використовується крапельний біофільтр. Він дозволяє очистити забруднене повітря шляхом використання мікроорганізмів, які осідають на поверхні підкладки, через яку і проходить повітря. Мікроорганізми перетворюють забруднюючі речовини на  $\text{CO}_2$  і воду, а очищене повітря виходить в атмосферу чи може повторно доочищуватися в даній установці, так яка вона має систему циркуляції. Також очищене повітря можна повернути в біотехнологічний процес [162]. Узагальнююча схема очищення газоподібних відходів наведено на рис. 10.1.

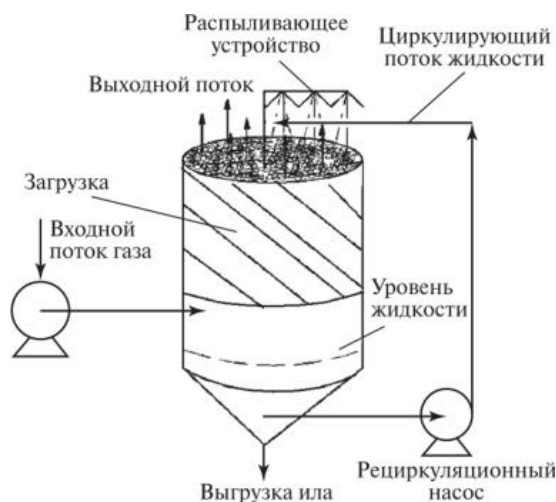


Рис. 10.1. Схема очистки повітря в крапельному біофільтрі

### 10.2.2. Система знешкодження та утилізації твердих відходів

Для утилізації тар, в яких зберігають миючі засоби і привозять компоненти поживного середовища, використовують пункти прийому вторинної сировини, де вони будуть перероблені і повторно використані.

Так як міцеліальна маса може містити залишки цефалоспорину С і інші продукту метаболізму штаму *A. chrysogenum* M35, то доцільним буде

використовувати утилізацію цієї біомаси шляхом компостування, так як мікроорганізми в складі ґрунту можуть переробити всі органічні речовини, в результаті чого буде утворений компост, який надалі можна використовувати як добриво для різних верств сільського господарства. Для проведення даної операції необхідно дотримуватися анаеробних умов, відповідної температури і вологості, щоб мікроорганізми в складі ґрунту мали найсприятливіші умови для свого росту і розвитку [163].

### 10.2.3. Система знешкодження ти утилізації рідких відходів

Для переробки рідких відходів застосовуються біотенки. Перевагою біотенків над аеротенками є те, що вони мають як вільно плаваючий активний мул, так і біологічні плівки, що підвищує їх окислювальні властивості. Дана особливість дозволяє мікроорганізмам такої установки переробляти відходи, які можуть розкладатися тільки при великій окислювальній здатності [164]. Узагальнююча схема очищення рідких відходів в біотенках наведено на рис. 10.2.

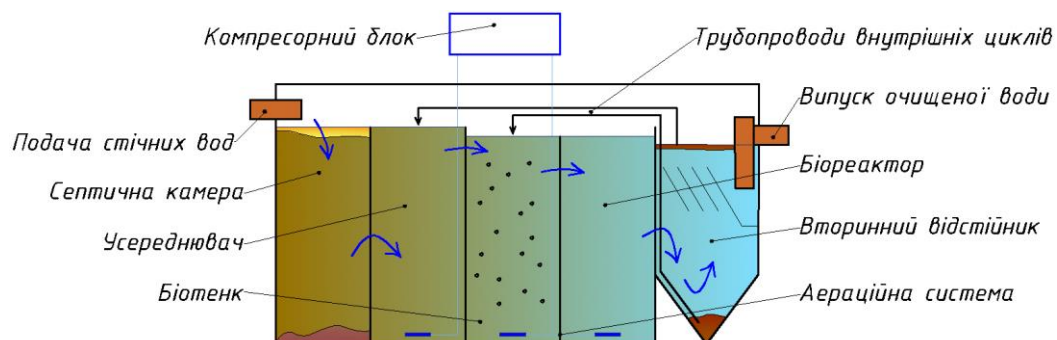


Рис.10.2. Узагальнююча схема очищення рідких відходів в біотенках

### 10.2.4. Заходи щодо зменшення об'ємів відходів

**Заходи для зменшення об'ємів газоподібних викидів:** відпрацьоване повітря, що містить  $\text{CO}_2$ , можна використовувати для забезпечення продування теплиць, в яких вирощують сільськогосподарські культури, що покращує процес фотосинтезу, тим самим покращуючи ріст самих рослин [165]. Для зменшення кількості відпрацьованого повітря під час сушіння цефалоспорину С пропонується використовувати апарати, що будуть мінімізувати втрати сушильного агента.

**Заходи для зменшення об'ємів рідких відходів:** для зменшення витрат миючих і дезінфікуючих засобів пропонується використовувати СІР-мийки, за допомогою якого можна повторно використовувати дані розчини, після проведення самого процесу миття і дезінфекції. Для зменшення витрат знесоленої води

пропонується використовувати трубопроводи і ущільнення між ними, що забезпечать герметичність процесу, тим самим унеможливить проливання знесоленої води у виробничій зоні.

**Заходи для зменшення кількості твердих відходів:** для зменшення витрат твердих відходів, а саме компонентів поживного середовища, що поступили на виробництво в незадовільному стані, пропонується вимагати у постачальників довідки про якість поставленої продукції, що унеможливить виникнення даної ситуації.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

- 1). Інформаційний посібник із застосування антибактеріальних препаратів цефалоспоринового ряду [Електронний ресурс] // Режим доступу: <http://www.petsinform.com/veterinary/statia/lekarstva/11-02.html>
- 2). Зефтера (Zeftera) – інструкція по применению, состав, аналоги препарата, дозировки, побочные действия [Електронний ресурс] // Режим доступу: [https://www.rlsnet.ru/tn\\_index\\_id\\_40008.htm](https://www.rlsnet.ru/tn_index_id_40008.htm)
- 3). Близько 10 тисяч хворих на цукровий діабет зареєстровано в Черкасах [Електронний ресурс] // Режим доступу: <http://chmr.gov.ua/ua/newsread.php?view=17458&s=1&s1=66>
- 4). Синдром діабетичної стопи: сучасні методи діагностики та лікування [Електронний ресурс] // Режим доступу: <https://urgent.com.ua/ua-issue-article-309>
- 5). Лікування діабетичної стопи в Луцьку [Електронний ресурс] // Режим доступу: <https://luck.oxford-med.com.ua/services/hirurgiya/likuvanna-diabetychnoi-stopu/>
- 6). Atroshenko D.L., Shelomov M.D., Zarubina S.A., Negru N.Y., Golubev I.V., Savin S.S. Multipoint TvDAAO Mutants for Cephalosporin C Bioconversion. *Int. J. Mol. Sci.* 2019, 20(18): 4412. Doi: 10.3390/ijms20184412
- 7). Nie Z., Luo H., Li J., Sun H., Xiao Y., Jia R., Liu T., Chang Y., Yu H., Shen Z. High-Throughput Screening of T7 Promoter Mutants for Soluble Expression of Cephalosporin C Acylase in *E. Coli*. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 2020, 190(1):293-304. Doi: 10.1007/s12010-019-03113-y.
- 8). Dumina M., Zhgun A., Novak M., Domratcheva A., Petukhov D., Dzhavakhiya V., Eldarov M., Bartoshevitch E. Comparative gene expression profiling reveals key changes in expression levels of cephalosporin C biosynthesis and transport genes between low and high-producing strains of *Acremonium chrysogenum*. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 2014; 30:2933–2941. Doi: 10.1007/s11274-014-1721-1
- 9). Ja H.L., Hah Y.Y., Xiaoguang Y., Dong S.K., Ju H.L., Soo K.L., Sung O.H., Seung W.K. Utilization of Algal Sugars and Glycerol for Enhanced Cephalosporin C Production by *Acremonium chrysogenum* M35. *Lett. Appl. Microbiol.* 2017;64(1):66-72. Doi: 10.1111/lam.12684

- 10). Hongzhen L., Jingshu Z., Guoqiang Y., Yanli Z., Han L., Zhenni H., Zhongping S. Performance improvement of cephalosporin C fermentation by *Acremonium chrysogenum* with DO-Stat based strategy of co-feeding soybean oil and glucose. *J. Proc. Biochem.* 2013; 48(12): 1822-1830 doi: org/10.1016/j.procbio.2013.09.021
- 11). Пат. RU2241039C1 Россия. Способ выделения цефалоспориноса С / Пшеничников В., Каминская М.И., Устюжанин И.Ю. Публ. 27.11.04. [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://patents.google.com/patent/RU2241039C1/ru>
- 12). В-Лактамные антибиотики [Электронный ресурс] // Режим доступа: [http://scask.ru/r\\_book\\_plem.php?id=55](http://scask.ru/r_book_plem.php?id=55)
- 13). Цефтобипрол (Ceftobiprolum) – описание вещества, инструкция, применение, противопоказание и формула [Электронный ресурс] // Режим доступа: [https://www.rlsnet.ru/mnn\\_index\\_id\\_3810.htm](https://www.rlsnet.ru/mnn_index_id_3810.htm)
- 14). Наказ МОЗ України від 15.02.2010 р. №107 [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://www.apteka.ua/article/37457>
- 15). ЗЕФТЕРА, інструкція, застосування препарату ЗЕФТЕРА Ліофілізат для приготування розчину для інфузії по 500 мг у флаконах №1, №10 [Электронный ресурс] // Режим доступа: <http://mozdocs.kiev.ua/likiview.php?id=23859>
- 16). Sandhya M., Sourish B., Sonam D., Priyanka S., Anupama S. Biodegradable Polymeric Substances Produced by a Marine Bacterium from a Surplus Stream of the Biodiesel Industry. *Bioengin.* 2016, 3(4), 34; doi: 10.3390/bioengineering3040034
- 17). Цехмистер А.В. Вивчення культурально-морфологічних особливостей фітопатогенного гриба *Acremonium sp.* 502. *Сільськогосподарська мікробіологія.* 2014, Вип. 20: 49-53. doi: 10.18524/2307-4663.2015.2(30).48082
- 18). *Acremonium chrysogenum* [Электронный ресурс] // Режим доступа: <http://www.mycobank.org/name/Acremonium%20chrysogenum>
- 19). Синдром діабетичної стопи Луцьку [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://empendium.com/ua/chapter/B27.II.13.4.4>.
- 20). Шаповал С.Д., Трибушний О.В., Савон І.Л. Летальність у хворих з ускладненим синдромом діабетичної стопи з проявами сепсису згідно з рекомендаціями «Sepsis–3». 2018, 85(3): 33-34. doi: 10.26779/2522 1396.2018.03.33

- 21). Гострі кишкові інфекції: симптоми, діагностика та профілактика [Електронний ресурс] // Режим доступу: <http://nar-rda.gov.ua:8080/novini/gostri-kishkovi-infekcii-simptomi-diaagnostika-ta-profilaktika-2019/>
- 22). В Україні з початку року зафіксували п'ять випадків правця [Електронний ресурс] // Режим доступу: <https://www.ukrinform.ua/rubric-society/2732021-v-ukraini-z-rosatku-roku-zafiksuvali-pat-vipadkiv-pravca.html>
- 23). ЗЕФТЕРА лиофил. д/п р-ра д/инф. 500 мг фл. [Електронний ресурс] // Режим доступу: [https://apteka-web.com.ua/zeftera/view/110380/?utm\\_source=spravka-apteka.com.ua&utm\\_medium=agregator](https://apteka-web.com.ua/zeftera/view/110380/?utm_source=spravka-apteka.com.ua&utm_medium=agregator)
- 24). Кларитроміцин-Дарниця таблетки – інструкція та ціна в аптеках України, аналоги та показання [Електронний ресурс] // Режим доступу: <https://compendium.com.ua/dec/337444/>
- 25). Синдром діабетичної стопи: рекомендації NICE 2019 [Електронний ресурс] // Режим доступу: <https://www.umj.com.ua/article/169654/sindrom-diabetichnoyi-stopi-rekomendatsiyi-nice-2019>
- 26). Кларитромицин-Дарниця 500 мг №14 таблетки [Електронний ресурс] // Режим доступу: <https://www.apteka24.ua/klaritromitsin-d-tabl-p-o-500mg-n14/>
- 27). Доксциклін (доксциклін) інструкція до застосування [Електронний ресурс] // Режим доступу: [https://www.vidal.ru/drugs/doxusyclyne\\_\\_13306](https://www.vidal.ru/drugs/doxusyclyne__13306)
- 28). Доксциклин капс. 100мг №10 [Електронний ресурс] // Режим доступу: <https://apteka911.com.ua/shop/doksitsiklin-kaps-100mg-10-p12640>
- 29). Флукацид / Flucacid / Флуклоксациллин [Електронний ресурс] // Режим доступу: <https://www.guttafarm.com/flukatsid-cena>
- 30). Еритроміцин (Erythromycin) [Електронний ресурс] // Режим доступу: <https://compendium.com.ua/dec/268278/>
- 31). Эритромицин табл. 100мг №20 [Електронний ресурс] // Режим доступу: <https://apteka911.com.ua/shop/eritromitsin-tabl-100mg-20-p2430>
- 32). Метронідазол-здоров'я (Metronidazolium-zdorov'ya) [Електронний ресурс] // Режим доступу: <https://compendium.com.ua/dec/271082/>
- 33). Метронидазол 0,25 таблетки №20 [Електронний ресурс] // Режим доступу: <https://www.add.ua/metronidazol-0-25-20-tabletki.html>

34). Youjia H., Baoquan Z. Study on genetic engineering of *Acremonium chrysogenum*, the cephalosporin C producer. *Synth. Syst. Biotechnol.* 2016;1(3):143-149. doi:

10.1016/j.synbio.2016.09.002

35). Glycolysis / Gluconeogenesis - Reference pathway [Электронный ресурс]

// Режим доступа: [https://www.kegg.jp/kegg-bin/highlight\\_pathway?scale=1.0&map=map00010&keyword=glycolysis](https://www.kegg.jp/kegg-bin/highlight_pathway?scale=1.0&map=map00010&keyword=glycolysis)

36). Galactose metabolism - Reference pathway [Электронный ресурс]

// Режим доступа: [https://www.genome.jp/kegg-bin/show\\_pathway?map00052](https://www.genome.jp/kegg-bin/show_pathway?map00052)

37). Penicillin and cephalosporin biosynthesis - Reference pathway [Электронный ресурс]

// Режим доступа: [https://www.genome.jp/kegg-bin/show\\_pathway?org\\_name=map&mapno=00311&scale=&orgs=&auto\\_image=&nocolor=&show\\_description=show](https://www.genome.jp/kegg-bin/show_pathway?org_name=map&mapno=00311&scale=&orgs=&auto_image=&nocolor=&show_description=show)

38). Фотогалерея фармацевтичного та біотехнологічного обладнання [Электронный ресурс] // Режим доступа:

<http://bioengineering.kpi.ua/ua/kafedra/fotohalereia-farmatsevtichnoho-ta-biotekhnolohichnoho-obladnannia/59-fermentatsiine-obladnannia-fermentery/286-fermenter>

39). Оборудование для биотехнологии купить в Москве [Электронный ресурс]

// Режим доступа: <https://bio-rus.ru/>

40). Знезараження повітря у приміщенні [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://aw-therm.com.ua/znezarazhennya-povitrya-u-primishenni/>

41). Настенные кислотостойкие воздуховыпускные устройства WSQ-K [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://www.vozduhovod-alnor.ru/assets/files/produkty-pliki-do-pobrania/RU/WSQ-K-RU-Steinless-steel-wall-exhaust-grille.pdf>

42). Здосяк О.М., Горшков Ю.Я., Пахамов Л.И., Кулагин К.М. Вертикальные стальные сварные аппараты с перемешивающими устройствами. – Москва: Цинтихимнефтемаш, 1978. – 28 с.

43). Фильтр для вентиляции воздуха карманный ФВК G3,G4 грубой очистки (материал полиэстр), цена [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://www.electrovent.ru/ventilyaciya-i-kondicionirovanie/filtry-dlya-ventilyacii/filtry-karmannye/filtr-vozdushnyj-karmannyj-fvk-fyak-gruboj-ochistki-g3-g4-f5-material-poliestr/>

44). KRAFTMANN VEGA [Электронный ресурс] // Режим доступа: [http://www.ks-ekb.ru/vintovye\\_kompressory/kraftmann\\_vega/](http://www.ks-ekb.ru/vintovye_kompressory/kraftmann_vega/)

45). Охладитель сжатого воздуха AFR 11 [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://tgko.ru/spravka/krio/?mark=12110>

46). Воздушный вертикальный ресивер РВ 500.11.00 [Электронный ресурс] // Режим доступа: [https://letiss.com.ua/aircast-remeza-resiveri/vozdushniy\\_vertikalniy\\_resiver\\_rv\\_500\\_1100](https://letiss.com.ua/aircast-remeza-resiveri/vozdushniy_vertikalniy_resiver_rv_500_1100)

47). Фильтр воздушный карманный ФВК тонкой очистки F5-F9 материал мельтблоун [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://electrovent.ru/ventilyaciya/filtry-dlya-ventilyacii/filtry-tonkoj-ochistki/filtr-vozdushnyj-karmannyj-fvk-tonkoj-ochistki-f5-f9-material-meltbloun/>

48). HEPA фильтр от компании NEW FILTER [Электронный ресурс] // Режим доступа: [https://newfilter.com.ua/ru/ventiljacionnie\\_filtri/hepa\\_filtr.html](https://newfilter.com.ua/ru/ventiljacionnie_filtri/hepa_filtr.html)

49). Методи дезінфекції. Методи якими проводять дезінфекцію [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://uk.interdez.com.ua/press/metody-dezinfektsii.html>

50). Державний реєстр дезінфекційних засобів 2020 рік [Электронный ресурс] // Режим доступа: [https://moz.gov.ua/uploads/ckeditor/документи/Доступ%20до%20публічної%20інформації/2020\\_реєстр%20деззасобів1.pdf](https://moz.gov.ua/uploads/ckeditor/документи/Доступ%20до%20публічної%20інформації/2020_реєстр%20деззасобів1.pdf)

51). ГОСТ 9805-84 Спирт изопропиловый. Технические условия (с Изменением N 1, с Поправкой) [Электронный ресурс] // Режим доступа: <http://docs.cntd.ru/document/1200020575>

52). Методичні вказівки щодо застосування засобу дезінфекційного «Алосепт рідина» з метою дезінфекції шкіри рук поверхонь та виробів медичного призначення [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://vencon.ua/uploads/products/manual/alosept-11-dlya-ruk-instrukciya.pdf>

53). Антисептическая композиция для дезинфекции кожных покровов, способ ее приготовления и полупродукт для ее приготовления [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://patents.google.com/patent/EA013233B1/ru>

54). Аниосепт актив UA. Инструкция. [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://dezmed.com.ua/ru/instruktsiia/item/aniosept-aktiv-ua-instruktsiya>

55). Автоклав вертикальный, 110 л, автоматический, с охлаждением, температура 100-134°C, 5050ELVC, Tuttnauer [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://www.dia-m.ru/catalog/lab/avtoklavu-ot-100-l/tuttnauer-5050elvc-avtoklav-vertikalnyj-5050elvc-110-l-avtom.-s-ohlazhd.-temperatura-100-134s/>

56). Силиконовые масла, пеногасители, эмульсии, СКТН, силикон для форм, гидрофобизаторы, силаны в Украине [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://siloxane.com.ua/p781897981-penogasiteli-ucon-antifoam.html>

57). Лабораторно-пилотный ферментер BIORUS 30L [Электронный ресурс] // Режим доступа: [https://bio-rus.ru/oborudovanie/fermenteryi-i-bioreaktoryi-\(laboratornyie-i-promyishlennyye\)/promyishlennyij-fermenteryi-i-bioreaktoryi-\(rossiya,-biorus®-\)/laboratorno-pilotnyij-fermenter-biorus-30l.html](https://bio-rus.ru/oborudovanie/fermenteryi-i-bioreaktoryi-(laboratornyie-i-promyishlennyye)/promyishlennyij-fermenteryi-i-bioreaktoryi-(rossiya,-biorus®-)/laboratorno-pilotnyij-fermenter-biorus-30l.html)

58). Sartorius Braun Biotech Biostat C-DCU 3 Sterilizable Fermenter Bioreactor 30L SOLDOUT [Электронный ресурс] // Режим доступа:

59). Промышленные ферментеры [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://bio-rus.ru/oborudovanie/fermenteryi-i-bioreaktoryi/promyishlennyye-fermenteryi-i-bioreaktoryi-biorus®/promyishlennyye-fermenteryi.html>

60). МАТ | Резервуары для созревания - резервуары для вторичной ферментации [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://www.czechminibreweries.com/ru/production/brewery-components/cold-block/beer-maturation-lager-tanks/>

61). 250 Liter Insitu Fermenter [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://www.indiamart.com/proddetail/250-liter-insitu-fermenter-15552715297.html>

62). Биореакторы пилотного масштаба [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://bioreactors.net/ru/pilot-bioreactors/>

63). Емкость 1500 л вертикальная ПБ [Электронный ресурс] // Режим доступа: [https://komandor2000.ua/p777-emkost\\_vo\\_1500\\_1\\_pb/](https://komandor2000.ua/p777-emkost_vo_1500_1_pb/)

64). Таблица химической устойчивости [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://polimer-group.com/help/tablitsa-khimicheskoy-ustoychivosti/>

65). Емкость 10 л Индукция [Электронный ресурс] // Режим доступа: [https://bigl.ua/p1116792588-emkost-induktsiya?click\\_track\\_data=.eJwdzssKgkAYQOF3-dcGjqKj7oIM0QypBDVCvA6j5gw64iV69y7Lw9l8L-ADK6dCpLQECyGkY1PRDEOCInvyjJL-PxRZNVVdk2Bk01BUYEFOSQcSCNZW\\_TcDdKBRRefVP8Y6zS-Msc8Paoy9qLyF8q3G8EW5jcz8FXn8LbCH7rZqE52IZBMX12gWzq61hluajzlwhN01sJ13EHfhBREXYsH4hI1h3pCFTxo\\_3B90kPS0.p0XFYKf6NRwI\\_AtxW7ttGzQREx8#all](https://bigl.ua/p1116792588-emkost-induktsiya?click_track_data=.eJwdzssKgkAYQOF3-dcGjqKj7oIM0QypBDVCvA6j5gw64iV69y7Lw9l8L-ADK6dCpLQECyGkY1PRDEOCInvyjJL-PxRZNVVdk2Bk01BUYEFOSQcSCNZW_TcDdKBRRefVP8Y6zS-Msc8Paoy9qLyF8q3G8EW5jcz8FXn8LbCH7rZqE52IZBMX12gWzq61hluajzlwhN01sJ13EHfhBREXYsH4hI1h3pCFTxo_3B90kPS0.p0XFYKf6NRwI_AtxW7ttGzQREx8#all)

66). Таблица химической стойкости нержавеющей сталей AISI 304 / AISI 316 [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://polimer-group.com/help/tablitsa-khimicheskoy-ustoychivosti/>

67). Емкость 15 литров нержавеющая сталь [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://neoton.su/magazin/product/emkost-15-litrov-nerzhaveyuschaya-stal>

68). Емкость 60л с краном. Нержавеющая сталь AISI-304 [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://mainhaus.com.ua/p980296428-emkost-60l-kranom.html>

69). Емкость 300 литров (0,3 м3, 30 дал) [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://beltank.ru/katalog/emkosti-nerzhaveyushhie/yomkosti-nerzhaveyushhie-vertikal-ny-e/emkost-300-litrov-03-m3-30-dal/>

70). Емкости из нержавеющей стали, баки из нержавеющей стали, резервуары и цистерны. Емкостное оборудование [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://www.rozavetrov.ua/index.php?cPath=193>

71). Cephalosporin C15H21N3O7S [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Cephalosporin>

72). Лекции по фармацевтической химии - часть 6 [Электронный ресурс] // Режим доступа: [https://zinref.ru/000\\_uchebniki/04600\\_raznie\\_3/254\\_farmac\\_himia/006.htm](https://zinref.ru/000_uchebniki/04600_raznie_3/254_farmac_himia/006.htm)

73). Wildfeuer M. Approaches to Cephalosporin C Purification from Fermentation Broth. *El. Lilly and Comp.* 1985, 155-174 doi: 10.1021/bk-1985-0271.ch010

74). Способы разделения смесей [Электронный ресурс] // Режим доступа: [https://izamorfix.ru/himiya/fiz/razdelenie\\_smesi.html](https://izamorfix.ru/himiya/fiz/razdelenie_smesi.html)

75). Технология производства кормовых дрожжей смесей [Электронный ресурс] // Режим доступа: <http://www.сpec-kniga.ru/tehnohimicheski-kontrol/obshchaya-tehnologiya-mikrobiologicheskikh-proizvodstv/kormovye-belkovye-produkty-tehnologiya-proizvodstva-kormovyh-drozhzhej.html>

76). Центрифуга. Процесс центрифугирования [Электронный ресурс] // Режим доступа: [https://oil-filters.ru/centrifuges\\_and\\_centrifuge\\_process/](https://oil-filters.ru/centrifuges_and_centrifuge_process/)

77). Фильтрование, фильтрация [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://vodalos.ru/slovar/slova-f/filtrovanie>

78). Друк-фільтр [Электронный ресурс] // Режим доступа: <http://ооо-kme.by/druk-filtr>

79). Ленточные фильтры [Электронный ресурс] // Режим доступа: [https://oil-filters.ru/belt\\_filters/](https://oil-filters.ru/belt_filters/)

80). Фильтр-прессы башенные типа МБЗ (старое наименование КМП или ФПАКМ) [Электронный ресурс] // Режим доступа: <http://hydrotrend.ru/filter-press/tower-filter-press-fpakm/>

81). Применение фильтр-пресса [Электронный ресурс] // Режим доступа: [http://www.pke.kz/ru/articles/663-primenenije\\_filtr\\_pressa/](http://www.pke.kz/ru/articles/663-primenenije_filtr_pressa/)

82). Классификация фильтров. Особенности фильтров. Виды и типы фильтров [Электронный ресурс] // Режим доступа: [https://oil-filters.ru/filter\\_types/](https://oil-filters.ru/filter_types/)

83). Yang S., Pyle D. The adsorption kinetics of cephalosporin-c on non-ionic polymeric macropore Amberlite XAD-16 resin. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 1999; 74:216–220 doi: 10.1002/(SICI)1097-4660(199903)74:3<216::AID-JCTB44>3.0.CO;2-J

84). Amberlite™ XAD16 (XAD16) – Product information Sheet [Электронный ресурс] // Режим доступа: [https://www.sigmaaldrich.com/content/dam/sigmaaldrich/docs/Sigma/Product\\_Information\\_Sheet/xad16pis.pdf](https://www.sigmaaldrich.com/content/dam/sigmaaldrich/docs/Sigma/Product_Information_Sheet/xad16pis.pdf)

85). Monali D. Revisiting adsorption of biomolecules on polymeric resins. *In. Inst. of Tec. Guw.* 2008; 196-204 doi: 10.1016/j.colsurfa.2007.07.026

86). Ghosh A., Mathur R., Dutta N. Extraction and Purification of Cephalosporin Antibiotics. *Reg. Res. Lab.* 1997; 111-145 doi: 10.1007/bfb0103031

- 87). Ducar G., Marchitan N., Mereula A., Herbert G. Study of the separation process of tartaric acid by ion-exchange with solid anionites amberlite IRA-67 and amberlite IRA-410. *Envir. Eng. and Man. J.* 2008; (7):4, 413-416 [Электронный ресурс] // Режим доступа: [https://www.researchgate.net/profile/Aliona-Mereuta/publication/289176624\\_Study\\_of\\_the\\_separation\\_process\\_of\\_tartaric\\_acid\\_by\\_ion-exchange\\_with\\_solid\\_anionites\\_amberlite\\_IRA-67\\_and\\_amberlite\\_IRA-410/links/5a8fdbf4a6fdccceff007421/Study-of-the-separation-process-of-tartaric-acid-by-ion-exchange-with-solid-anionites-amberlite-IRA-67-and-amberlite-IRA-410.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Aliona-Mereuta/publication/289176624_Study_of_the_separation_process_of_tartaric_acid_by_ion-exchange_with_solid_anionites_amberlite_IRA-67_and_amberlite_IRA-410/links/5a8fdbf4a6fdccceff007421/Study-of-the-separation-process-of-tartaric-acid-by-ion-exchange-with-solid-anionites-amberlite-IRA-67-and-amberlite-IRA-410.pdf)
- 88). Diaion® WA30 free base [Электронный ресурс] // Режим доступа: [https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/supelco/13541?lang=en&region=UA&gclid=CjwKCAjw-e2EBhAhEiwAJI5jg2emYfgr94w-5yPP-Wyq7orEVpyR4UWtKDX7wqhwgc6mISj\\_uWgReRoCR84QAvD\\_BwE](https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/supelco/13541?lang=en&region=UA&gclid=CjwKCAjw-e2EBhAhEiwAJI5jg2emYfgr94w-5yPP-Wyq7orEVpyR4UWtKDX7wqhwgc6mISj_uWgReRoCR84QAvD_BwE)
- 89). Amberlite® XAD4 [Электронный ресурс] // Режим доступа: [https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/xad4?lang=en&region=UA&gclid=Cj0KCQiA1KiBBhCcARIsAPWqoSpEYs7B0wah8aPw5sM55ZvEaigNDLHlcY0S3KTS EtRZPyds1caKfRkaAkavEALw\\_wcB](https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/xad4?lang=en&region=UA&gclid=Cj0KCQiA1KiBBhCcARIsAPWqoSpEYs7B0wah8aPw5sM55ZvEaigNDLHlcY0S3KTS EtRZPyds1caKfRkaAkavEALw_wcB)
- 90). Amberlite® IRA-67 free base [Электронный ресурс] // Режим доступа: [https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/476633?lang=en&region=UA&gclid=Cj0KCQiA1KiBBhCcARIsAPWqoSo6JkUs5hf-TamwbOuOpRJjdKaX0c0aSjhNHwqXaQUt8MDpvF4C0E4aAnTWEALw\\_wcB](https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/476633?lang=en&region=UA&gclid=Cj0KCQiA1KiBBhCcARIsAPWqoSo6JkUs5hf-TamwbOuOpRJjdKaX0c0aSjhNHwqXaQUt8MDpvF4C0E4aAnTWEALw_wcB)
- 91). Экстракция жидкостная [Электронный ресурс] // Режим доступа: [http://www.chemport.ru/data/chemipedia/article\\_4456.html](http://www.chemport.ru/data/chemipedia/article_4456.html)
- 92). Диализ [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://thesaurus.rusnano.com/wiki/article777>
- 93). Процесс выпаривания. Типы выпарных аппаратов [Электронный ресурс] // Режим доступа: [https://ence-gmbh.ru/tech\\_evaporation/](https://ence-gmbh.ru/tech_evaporation/)
- 94). Ультрафильтрация и обратный осмос: отличия, плюсы и минусы технологий [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://www.membranium.com/ru/about-us/articles/ultrafiltraciya-i-obratnyj-osmos/>
- 95). (+)-cephalosporin C [Электронный ресурс] // Режим доступа: <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.58980.html>

96). Flat sheet membrane specifications sterlitech corporation [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://www.sterlitech.com/flat-sheet-membranes-specifications.html>

97). Тангенциальная (cross-flow) фильтрация [Электронный ресурс] // Режим доступа: [http://sartorius.com.ua/promishlennaja\\_filtracija\\_biotehnologii\\_cross-flow\\_filtracija.html](http://sartorius.com.ua/promishlennaja_filtracija_biotehnologii_cross-flow_filtracija.html)

98). Что такое индол 3 карбинол? [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://nsp-sun.com/blog/chto-takoe-indol-3-karbinol/>

99). Пат. RU0002500403 Россия. Способ получения микрокапсул лекарственных препаратов группы цефалоспоринов физико-химическим методом / Быковская Е., Кролевец А. Публ.10.12.13. [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://patentscope.wipo.int/search/ru/detail.jsf;jsessionid=0A9B0F40F19E44ADD799BD30BEDE140B.wapp2nC?docId=RU95922295&tab=NATIONALBIBLIO>

100). Диэтиловый эфир (Aether diaethylicus) [Электронный ресурс] // Режим доступа: [https://www.rlsnet.ru/mnn\\_index\\_id\\_1958.htm](https://www.rlsnet.ru/mnn_index_id_1958.htm)

101). Пат. RU0002545752 Россия. Способ микрокапсулирования цефалоспориновых антибиотиков в подане / Быковская Е., Кролевец А. Публ. 10.04.15. [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://patentscope.wipo.int/search/ru/detail.jsf?docId=RU132273772&tab=NATIONALBIBLIO>

102). Свойства и сферы применения изопропилового спирта [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://promplace.ru/himicheskie-soedineniya-staty/izopropilovyj-spirit-2306.htm>

103). 13.7 Классификация фильтров [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://www.belstu.by/Portals/0/userfiles/72/LK/LK-1-13-2.pdf>

104). Нутч фильтр объемом 6,5 м<sup>3</sup> с площадью фильтрации 4,0 м<sup>2</sup> [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://perryvidex.eu/product/4-00-sq-m-rosenmund-ss-filter-dryer-10649-02>

105). Вакуум-сублимационные сушилки [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://food-mechanics.ru/?p=1041>

106). Процесс сушки. Конвективная и кондуктивная сушка [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://proiz-teh.ru/sushka.html>

107). Вакуумный сушильный шкаф и его применение в пищевой промышленности [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://rvs-ltd.ru/vakuumnyj-sushilnyj-shkaf-i-ego-primenenie-v-piwevoj-promyshlennosti.html>

108). Чистота и гигиеничность с полипропиленом [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://agroconversion.com/articles/chistota.html>

109). Достоинства и недостатки упаковки из стекла [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://ribalych.ru/2017/02/01/dostoinstva-i-nedostatki-upakovki/>

110). Плюсы и минусы полиэтилена низкого давления пакетов [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://www.vash-paket.ru/stati/plyusy-i-minusy-polietilena-nizkogo-davleniya>

111). Запайщик пакетов Frosty PCS300A [Электронный ресурс] // Режим доступа: [https://masshold.com.ua/zapayschik-paketov-Frosty-PFS300A?gclid=Cj0KCQjwi7yCBhDJARIsAMWFScPCNBpha6islA7HKM\\_66UCf3Y8IDDN9hYae9c2Mkv-Ie4NuUeX\\_YKMaAso4EALw\\_wcB](https://masshold.com.ua/zapayschik-paketov-Frosty-PFS300A?gclid=Cj0KCQjwi7yCBhDJARIsAMWFScPCNBpha6islA7HKM_66UCf3Y8IDDN9hYae9c2Mkv-Ie4NuUeX_YKMaAso4EALw_wcB)

112). Lab to pilot scale metal-free / inert reactors [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://www.buchiglas.com/ru/produkcija/reaktory-pod-davleniem-laboratornye-avtoklavy-s-peremeshivaniem/inertnoe-ispolnenie-50-ml-20-litrov/lab-to-pilot-scale-metal-free-inert-reactors.html>

113). DMF [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://air-part.ru/product/novaya-lineyka-ksi-dmf/>

114). Реакторы и автоклавы высокого давления с перемешивающими устройствами [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://mash-him.ru/reaktory-i-avtoklavy-vysokogo-davleniya>

115). Универсальный лабораторный реактор RV-12 [Электронный ресурс] // Режим доступа: [http://www.simas.ru/products/lab/common/synthesis/synthesis\\_13049.html](http://www.simas.ru/products/lab/common/synthesis/synthesis_13049.html)

116). Промышленные смесители и реакторы [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://tecsahimmash.ru/product/smesiteli-i-reaktory/>

117). Бочка пластиковая 60 л вертикальная реакторы [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://europplast.ua/emkost-vertikalnaya-60-litrov>

118). Встраиваемые перистальтические насосы [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://ranta-pumps.ru/product/promyshlennye-nasosy/tp-4000-do-38-lmin>

119). Емкость 100 л вертикальная двухслойная [Электронный ресурс] // Режим доступа: [https://komandor2000.ua/p54-emkost\\_100\\_1\\_vertikalnaya\\_dvuhsloynaya/](https://komandor2000.ua/p54-emkost_100_1_vertikalnaya_dvuhsloynaya/)

120). Реакторы химические с перемешивающим устройством [Электронный ресурс] // Режим доступа: [http://euromash.kiev.ua/ru/aparati\\_perem\\_ustroystvom\\_ru.php](http://euromash.kiev.ua/ru/aparati_perem_ustroystvom_ru.php)

121). Топливный бак Man,Daf,Iveco 630л (710x710x1300) Ман,Даф,Ивеко [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://bigl.ua/p625481831-toplivnyj-bak-mandafiveco#description>

122). Весовой дозатор сыпучих материалов [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://vis.ua/product/bunkernyi-dozator-sypuchikh/>

123). Перистальтический насос LG350 до 35 л/мин насосы [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://dozaplus.ru/product/peristalticheskij-nasos-lg350-do-35-l-min>

124). Размер емкостей [Электронный ресурс] // Режим доступа: [https://komandor2000.ua/c173-razmer\\_emkostey/](https://komandor2000.ua/c173-razmer_emkostey/)

125). Комбинированный дозатор [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://sweda.com.ua/produktsiya/kombinirovannyi-dozator/>

126). Насос центробежный 1.5кВт Нмах 15м Qмах 1000л/мин 3' LEO 3.0 (775291) [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://perfekto.in.ua/nasos-centrobezhnyu-15kvt-hmax-15m-qmax-1000lmin-3-leo-30-775291>

127). Бочка 160 литров пластиковая с крышкой [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://promtara59.ru/bak-160-l-bochka>

128). Стерилизационные системы непрерывного действия [Электронный ресурс] // Режим доступа: <http://sdlcentrifuge.ru/9-continuous-sterilization-system/192767/>

129). Metabo HWA 6000 Inox Центробежный насос (600980000) [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://stroyteh.ua/product/metabo-hwa-6000-inox-centrobezhnyj-nasos/>

130). Резервуар из нержавеющей стали 15 м<sup>3</sup> [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://glavrossnab.ru/product/rezervuary-iz-nerzhaveyushchey-stali/rezervuary-iz-nerzhaveyki-15-m3/>

131). Насос центробежный самовсасывающий Leo 1.2 кВт Hmax 48 м Qmax 80 л/мин пластик (775309) [Электронный ресурс] // Режим доступа: [https://storgom.ua/product/nasos-centrobeznyy-samovsasyvayushchiy-leo-1-2-kvt-hmax-48-m-qmax-80-l-min-plastik-775309.html?gclid=CjwKCAjwjuqDBhAGEiwAdX2cj8yV2\\_kvJhai2xd3Lp7cN5rfYdPM7jVKzFzQD05OR4frqGnUsyUXihoCnTcQAvD\\_BwE#properties-tab](https://storgom.ua/product/nasos-centrobeznyy-samovsasyvayushchiy-leo-1-2-kvt-hmax-48-m-qmax-80-l-min-plastik-775309.html?gclid=CjwKCAjwjuqDBhAGEiwAdX2cj8yV2_kvJhai2xd3Lp7cN5rfYdPM7jVKzFzQD05OR4frqGnUsyUXihoCnTcQAvD_BwE#properties-tab)

132). Фильтр-прессы башенные типа МБЗ (старое наименование КМП или ФПАКМ) [Электронный ресурс] // Режим доступа: <http://hydrotrend.ru/filter-press/tower-filter-press-fpakm/>

133). Absorption columns [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://www.gea.com/en/products/emission-control/gas-scrubbers/absorption-columns.jsp>

134). Насос центробежный 0.6кВт Hmax 12,5м Qmax 400л/мин 2" LEO 3.0 (775276) [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://sigma.ua/buy/nasos-tsentrobeznyy-0-6kvt-hmax-12-5m-qmax-400l-min-2-leo-3-0-775276/>

135). Резервуар из нержавеющей стали 4 м<sup>3</sup> [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://glavrossnab.ru/product/rezervuary-iz-nerzhaveyushchey-stali/rezervuary-iz-nerzhaveyki-4-m3/>

136). Резервуар вертикальный (емкость 10 м<sup>3</sup>) [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://www.prostanki.com/board/item/271249>

137). Долговечные установки обратного осмоса для подготовки промывной воды [Электронный ресурс] // Режим доступа: <http://www.coatings.net.ua/artykuly/dolgovechnye-ustanovki-obratnogo-osmosa-dlya-podgotovki-promyvnoj-vody,159>

138). Насос центробежный многоступенчатый 380В 3.0кВт Hmax 70м Qmax 250л/мин LEO 3.0 (7752983) [Электронный ресурс] // Режим доступа: [https://sigma.ua/buy/nasos-tsentrobeznyy-380v-3-0kvt-hmax-70m-qmax-250l-min-leo-3-0-7752983/?gclid=cjwkcaiayc2bbhaaeiwa44-ww\\_7neep\\_ftwgvrc6p0dqjp69edxxbofdwxlvqcum3l9rcs2w8zuboce-gqavd\\_bwe](https://sigma.ua/buy/nasos-tsentrobeznyy-380v-3-0kvt-hmax-70m-qmax-250l-min-leo-3-0-7752983/?gclid=cjwkcaiayc2bbhaaeiwa44-ww_7neep_ftwgvrc6p0dqjp69edxxbofdwxlvqcum3l9rcs2w8zuboce-gqavd_bwe)

139). Емкости из нержавеющей стали, баки из нержавеющей стали, резервуары и цистерны. Емкостное оборудование [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://www.rozavetrov.ua/index.php?cPath=193>

140). Плунжерные насосы высокого давления “Pratissoli” [Электронный ресурс] // Режим доступа: [http://www.stormua.com/nasos\\_pratissoli.php](http://www.stormua.com/nasos_pratissoli.php)

141). Насос центробежный самовсасывающий Leo 0.6 кВт Hmax 35 м Qmax 50 л/мин пластик (775306) [Электронный ресурс] // Режим доступа: [https://storgom.ua/product/nasos-centrobezhnyy-samovsasyvayushchiy-0-6kvt-hmax-35m-qmax-50l-min-plastik-leo.html?gclid=CjwKCAjwhYOFBhBkEiwASF3KGXdjbGXx21G5H9IRrebCj3rAktkCUgU9P\\_PXYoaxNwH02pwIAf201xoCwqwQAvD\\_BwE](https://storgom.ua/product/nasos-centrobezhnyy-samovsasyvayushchiy-0-6kvt-hmax-35m-qmax-50l-min-plastik-leo.html?gclid=CjwKCAjwhYOFBhBkEiwASF3KGXdjbGXx21G5H9IRrebCj3rAktkCUgU9P_PXYoaxNwH02pwIAf201xoCwqwQAvD_BwE)

142). Metabo HWA 6000 Inox Центробежный насос (600980000) [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://stroyteh.ua/product/metabo-hwa-6000-inox-centrobezhnyj-nasos/>

143). Пластиковый контейнер 80 x 60 x 42 см [Электронный ресурс] // Режим доступа: [https://admirel.kiev.ua/p653301858-plastikovyj-kontejner.html?source=merchant\\_center&utm\\_source=google&utm\\_medium=cpc&utm\\_campaign=12372637587&utm\\_network=g&utm\\_adposition=&utm\\_device=c&utm\\_matchtype=&utm\\_target=&utm\\_group=116550405103&utm\\_term=&gclid=CjwKCAjwjuqDBhAGEiwAdX2cjzkowjITt1TTODMHZBPKBDVDm2vxYsGSGmqut6FB83X0ylD3SYXyYhoCaFIQAvD\\_BwE](https://admirel.kiev.ua/p653301858-plastikovyj-kontejner.html?source=merchant_center&utm_source=google&utm_medium=cpc&utm_campaign=12372637587&utm_network=g&utm_adposition=&utm_device=c&utm_matchtype=&utm_target=&utm_group=116550405103&utm_term=&gclid=CjwKCAjwjuqDBhAGEiwAdX2cjzkowjITt1TTODMHZBPKBDVDm2vxYsGSGmqut6FB83X0ylD3SYXyYhoCaFIQAvD_BwE)

144). Вакуумная сушилка для фруктов и овощей, 50/100/200/500 кг фильтрация [Электронный ресурс] // Режим доступа: [https://russian.alibaba.com/product-detail/50kg-100kg-200kg-500kg-freeze-dryer-for-industrial-vacuum-freeze-dryer-fruit-food-vegetable-62154358156.html?spm=a2700.7724857.normal\\_offer.d\\_title.61b571f9USVYH3](https://russian.alibaba.com/product-detail/50kg-100kg-200kg-500kg-freeze-dryer-for-industrial-vacuum-freeze-dryer-fruit-food-vegetable-62154358156.html?spm=a2700.7724857.normal_offer.d_title.61b571f9USVYH3)

145). Пластиковый контейнер 800 x 600 x 320 [Электронный ресурс] // Режим доступа: [https://plastshop.com.ua/p636998200-plastikovyj-kontejner-800.html?source=merchant\\_center](https://plastshop.com.ua/p636998200-plastikovyj-kontejner-800.html?source=merchant_center)

146). Красінько В.О. Методи контролю біотехнологічних, фармацевтичних і харчових виробництв. Конспект лекцій для здобув. Освіт. Ступ. «бакалавр» спец.

162 «Біотехнології та біоінженерія» освіт.-проф. програми «Біотехнологія» ден. і заоч. Форм навч. / В.О. Красінько. – К.: НУХТ, 2019. – 252с.

147). David J., Christoph H., Oliver S. How to Determine Interdependencies of Glucose and Lactose Uptake Rates for Heterologous Protein Production with *E. Coli*. *Het. Gen. Expr. In E. Coli: Met. And Prot.* 2017; 26: 397-408 doi 10.1007/978-1-4939-6887-9\_26

148). Часть III. Определение биогенных веществ. Анализ осадков и ила [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://meganorm.ru/Data2/1/4293845/4293845767.htm>

149). Использование цефалоспоринов у детей [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://rpht.com.ua/ru/archive/2008/3-2/article-141/ispolzovanie-cefalosporinov-u-detey>

150). Лекция 9 микробиологический контроль нестерильных лекарственных средств [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://gmrua.com/QC/Microbiological.pdf>

151). Методи та обладнання для визначення вологості, що використовується в засобах автоматизації процесів висушування [Електронний ресурс] // Режим доступу: <http://kk.uad.lviv.ua/wp-content/uploads/2017/01/122-18.pdf>

152). Масса товаров, перемещаемых через таможенную границу евразийского экономического союза в упакованном виде. Методика измерений [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://free-ved.com/wp-content/uploads/2018/10/методика-измерения-1.pdf>

153). Сигнализаторы уровня жидкости (воды), жира, песка [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://ktr-g.ru/Signalizatory-urovnja.html>

154). ТЭРА – производитель датчиков температуры и КИП [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://ao-tera.com/>

155). Электромагнитный расходомер DMH [Электронный ресурс] // Режим доступа: [http://ria-group.com.ua/kobold-messring\\_1/pribory\\_dlya\\_izmereniya\\_rashoda\\_nemehanicheskie/283/](http://ria-group.com.ua/kobold-messring_1/pribory_dlya_izmereniya_rashoda_nemehanicheskie/283/)

156). AC70-T3-030G/037P Преобразователь частоты векторный 30 кВт (60 А - 150%) / 37 кВт (75А -120%) 3-ф/380 [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://chastotnik.com.ua/Veichi-r-AC70-T3-030G/037P>

157). Контактёр Siemens 3RT2015-1AP01 [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://www.siemens-pro.ru/3rt20/3rt2015/3RT2015-1AP01.html>

158). 3SB3210-2DA11 [Электронный ресурс] // Режим доступа: [http://siemens71.ru/new/?fn=10041416\\_F&art=3SB3210-2DA11](http://siemens71.ru/new/?fn=10041416_F&art=3SB3210-2DA11)

159). Кнопки и переключатели [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://www.lovatoelectric.ru/Кнопки-и-переключатели/200/pl>

160). Манометри ДМ 05-05 [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://steklopribor.com/catalog/measuring-instruments/pressure/5ff55ef4a50345425e7fd050>

161). Трёхходовый моторизованный клапан Yoshitake MD-35R [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://opeks.energy/ua/troxxhodovij-motorizovaniy-klapan-yoshitake-md-35r/>

162). Капельный биофильтр [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://mena-water.eu/ru/produkte/bio-tropfkoerper/>

163). Биоразлагаемый и компостируемый [Электронный ресурс] // Режим доступа: <http://www.biobag.ee/биоразлагаемый-и-компостируемый/?lang=ru>


164). 27.14. Аэротенки с пластмассовой загрузкой (биотенки) [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://vodalos.ru/spravochniki-stroitelya/spravochnik-proektirovshika/7/2/14>

165). Углекислый газ в теплице [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://izmerkoni.ru/podderzhka/publikaczii/uglekislyij-gaz-v-teplicze.html>

## ДОДАТОК 1

Анотація статті, повні вихідні данні якої прописанні у джерелі під номером 6 у списку літератури:

### Multipoint TvDAAO Mutants for Cephalosporin C Bioconversion

Denis L. Atroshenko<sup>1,2,3</sup>, Mikhail D. Shelomov<sup>1,2</sup>, Sophia A. Zarubina<sup>1,2</sup>, Nikita Y. Negru<sup>1</sup>, Igor V. Golubev<sup>1,2</sup>, Svyatoslav S. Savin<sup>1,2</sup> and Vladimir I. Tishkov<sup>1,2,3,\*</sup> 

<sup>1</sup> Department of Chemistry, Lomonosov Moscow State University, 119991 Moscow, Russia

<sup>2</sup> Innovations and High Technologies MSU Ltd., 109559 Moscow, Russia

<sup>3</sup> Bach Institute of Biochemistry, Federal Research Centre "Fundamentals of Biotechnology" of the Russian Academy of Sciences, 119071 Moscow, Russia

\* Correspondence: vitishkov@gmail.com; Tel.: +7-925-048-3458

Received: 15 July 2019; Accepted: 4 September 2019; Published: 7 September 2019




**Abstract:** D-amino acid oxidase (DAAO, EC 1.4.3.3) is used in many biotechnological processes. The main industrial application of DAAO is biocatalytic production of 7-aminocephalosporanic acid from cephalosporin C with a two enzymes system. DAAO from the yeast *Trigonopsis variabilis* (TvDAAO) shows the best catalytic parameters with cephalosporin C among all known DAAOs. We prepared and characterized multipoint TvDAAO mutants to improve their activity towards cephalosporin C and increase stability. All TvDAAO mutants showed better properties in comparison with the wild-type enzyme. The best mutant was TvDAAO with amino acid changes E32R/F33D/F54S/C108F/M156L/C298N. Compared to wild-type TvDAAO, the mutant enzyme exhibits a 4 times higher catalytic constant for cephalosporin C oxidation and 8- and 20-fold better stability against hydrogen peroxide inactivation and thermal denaturation, respectively. This makes this mutant promising for use in biotechnology. The paper also presents the comparison of TvDAAO catalytic properties with cephalosporin C reported by others.

## ДОДАТОК 2

Анотація статті, повні вихідні данні якої прописанні у джерелі під номером 7 у списку літератури:

### High-Throughput Screening of T7 Promoter Mutants for Soluble Expression of Cephalosporin C Acylase in *E. coli*

Check for updates

Zihao Nie<sup>1</sup> • Hui Luo<sup>1</sup>  • Jiufeng Li<sup>1</sup> • Hongxu Sun<sup>1</sup> • Ying Xiao<sup>1</sup> • Ruiqi Jia<sup>1</sup> • Tianjiao Liu<sup>1</sup> • Yanhong Chang<sup>2,3</sup> • Huimin Yu<sup>4</sup> • Zhongyao Shen<sup>4</sup>

Received: 13 May 2019 / Accepted: 18 July 2019 / Published online: 26 July 2019  
© Springer Science+Business Media, LLC, part of Springer Nature 2019

#### Abstract

Cephalosporin C acylase (CCA) is the key enzyme in the production of 7-aminocephalosporanic acid (7-ACA) via a one-step enzymatic process. To improve the soluble expression level of CCA in recombinant *Escherichia coli* at elevated temperatures, a library of T7 promoter mutants was created by site-saturation mutagenesis, and a series of mutated promoters were subsequently screened. Green fluorescent protein (GFP) was fused to the C-terminus of CCA to facilitate library screening, and the expression of the CCA and GFP fusion proteins was investigated under the control of the T7 promoter. Twenty-four mutants were selected by detecting the fluorescence intensity of colonies on agar plates to form a library with different expression levels. The enzyme activities of the mutants were positively correlated with their fluorescence intensities. The highest enzyme activity among these mutant promoters was 1.3-fold higher than the enzyme activity resulting from the wild-type promoter when the cells were cultured at 32 °C for 16 h. In addition, the transcription and expression levels of several typical promoters were discussed, and the effects of GFP fusion on the enzyme activity of CCA were investigated.

## ДОДАТОК 3

Анотація статті, повні вихідні данні якої прописанні у джерелі під номером 8 у списку літератури:

### **Comparative gene expression profiling reveals key changes in expression levels of cephalosporin C biosynthesis and transport genes between low and high-producing strains of *Acremonium chrysogenum***

M. V. Dumina · A. A. Zhgun · M. I. Novak ·  
A. G. Domratcheva · D. V. Petukhov · V. V. Dzhavakhiya ·  
M. A. Eldarov · Iu. E. Bartoshevitch

Received: 17 April 2014 / Accepted: 7 August 2014 / Published online: 28 August 2014  
© Springer Science+Business Media Dordrecht 2014

**Abstract** Transcript levels of several key genes responsible for cephalosporin C (CPC) biosynthesis and transport have been determined using qPCR analysis of *Acremonium chrysogenum* strains differing more than 100-fold in the levels of CPC production. The expression of genes involved in the final steps of CPC production was significantly increased in the high-producing RNCM F-4081D strain compared to the wild-type ATCC 11550 strain. Different dynamics in the course of cultivation was observed for the genes known to be involved in the transport of CPC intermediates between subcellular compartments. Overall, comparative expression analysis showed balanced and fine-tuned expression of the genes responsible for CPC biosynthesis and transport in the genetically selected *A. chrysogenum* RNCM F-4081D strain, reflecting its capacity to overcome known CPC biosynthesis “bottlenecks” and produce CPC of high yield and purity.

## ДОДАТОК 4

Анотація статті, повні вихідні данні якої прописанні у джерелі під номером 9 у списку літератури:

### **Utilization of Algal Sugars and Glycerol for Enhanced Cephalosporin C Production by *Acremonium chrysogenum* M35**

#### **ABSTRACT**

In our previous study, glycerol was utilized as an additional carbon source for the production of cephalosporin C (CPC) by *Acremonium chrysogenum* M35. In this study, algal sugars extracted from the third generation biomass, were utilized in the CPC production for the first time. The CPC production improved about two-fold when using the algal sugars as the carbon source. The complex medium including algal sugars and glycerol was utilized, and 7.3 g l<sup>-1</sup> CPC production was achieved in a 250 mL shaking flask. To determine the important variables for the CPC production, Plackett–Burman design was carried out and 6.18 g l<sup>-1</sup> of CPC was estimated under the numerically optimized conditions. Under the optimized conditions, the CPC production was performed in a 5 L scale bioreactor, affording CPC production at a rate of 7.1 g l<sup>-1</sup>. Moreover, 6.7 g l<sup>-1</sup> CPC was produced using crude glycerol as the substrate.

## ДОДАТОК 5

Анотація статті, повні вихідні данні якої прописанні у джерелі під номером 10 у списку літератури:

### Performance improvement of cephalosporin C fermentation by *Acremonium chrysogenum* with DO-Stat based strategy of co-feeding soybean oil and glucose

Hongzhen Luo<sup>a</sup>, Jingshu Zhang<sup>b</sup>, Guoqiang Yuan<sup>b</sup>, Yanli Zhao<sup>b</sup>, Han Liu<sup>a</sup>, Zhenni He<sup>a</sup>, Zhongping Shi<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> The Key Laboratory of Industrial Biotechnology, Ministry of Education, School of Biotechnology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China

<sup>b</sup> CSPC Hebei Zhongrun Pharmaceutical Co., Ltd., Shijiazhuang 050041, China

---

#### ARTICLE INFO

##### Article history:

Received 25 July 2013

Received in revised form

10 September 2013

Accepted 22 September 2013

##### Keywords:

Cephalosporin C

Co-substrates feeding

DO-Stat

Fermentation

---

#### ABSTRACT

Cephalosporin C (CPC) fermentation by *Acremonium chrysogenum* featured with two major problems: (1) high raw materials cost (low CPC yield from soybean oil) and (2) low oxygen transfer rate between gaseous/aqueous phases leading to low CPC productivity and quality instability of CPC fermentation product due to the accumulation of deacetoxycephalosporin C (DAOC). To solve the problems, in this study, we proposed a novel DO-Stat based co-substrates feeding strategy by simultaneously supplementing soybean oil and glucose, and testified the effectiveness of the strategy in a 7 L bioreactor. The CPC fermentation performance were significantly improved when co-feeding soybean oil and glucose at a weight ratio of 1:0.7, as compared with those when feeding pure soybean oil: (1) final CPC concentration and yield reached higher levels of 37 g/L and 23.5%, the increments were 46% and 82%, respectively; (2) oxygen transfer rate was largely improved, oil consumption rate and CPC productivity were enhanced by 31% and 136%, respectively; and (3) DO could be controlled at adequately high levels so that DAOC accumulation could be minimized and the quality of CPC fermentation product be ensured. The proposed strategy showed application potential in improving the economics of industrial CPC productions.

© 2013 Elsevier Ltd. All rights reserved.

---

## ДОДАТОК 6

Анотація патенту, повні вихідні данні якого прописанні у джерелі під номером 11 у списку літератури:

### Способ выделения цефалоспорины с

#### Abstract

Изобретение относится к области биотехнологии и касается производства антибиотика широкого спектра действия цефалоспорины С. Способ из фильтрата предусматривает выделение цефалоспорины с культуральной жидкости, полученной в процессе биосинтеза с использованием приема сорбции на неионогенном синтетическом сорбенте. Десорбцию целевого продукта осуществляют водно-органическим раствором. Полученный элюат пропускают через анионит, десорбируют водным раствором электролита. Далее элюат концентрируют с помощью мембранного метода - обратного осмоса при давлении от 1,8 до 2,9 МПа и температуре от 10 до 15°C с получением концентрированного элюата с содержанием цефалоспорины С от 80 до 120 мг/мл. Из полученного концентрированного элюата антибиотик осаждают в виде соли щелочного металла известными методами. Использование способа позволяет повысить выход цефалоспорины С, улучшить экологию за счет снижения расхода органических растворителей.

Через стеклянную колонку диаметром 110 мм, содержащую 7500 см<sup>3</sup> неионогенного синтетического сорбента Amberlite XAD-4, пропускали 12500 мл фильтрата культуральной жидкости цефалоспорины С (нативный раствор) с содержанием 10 мг/мл со скоростью 1,5 объема нативного раствора через один объем сорбента за 1 час. Колонку с сорбентом промывали с той же скоростью обессоленной водой в объеме 7500 мл.

Цефалоспорин С из колонки десорбировали водным раствором ацетона с массовой концентрацией 20%, получали 17500 мл элюата. Полученный элюат пропускали через стеклянную колонку, содержащую 750 см<sup>3</sup> низкоосновного анионита Amberlite IRA-67 в ацетатной форме.

После сорбции цефалоспорины С промывали анионит 750 мл обессоленной воды.

Для получения целевого продукта в виде калиевой соли десорбцию осуществляли 0,2 н. водным раствором ацетата калия с величиной водородного показателя 5,2-5,5 рН. Получали 5000 мл элюата с содержанием цефалоспорины С 20 мг/мл.

Для осаждения калиевой соли цефалоспорины С по прототипу к 5000 мл элюата с низкоосновного анионита добавляли 50000 мл изопропилового спирта с массовой долей основного вещества 99%. Полученный осадок отфильтровывали, промывали изопропиловым спиртом и высушивали. Потери на стадии осаждения составили 13%.

Для осаждения калиевой соли согласно предлагаемому изобретению элюат с низкоосновного анионита с содержанием 20 мг/мл подвергали концентрированию методом обратного осмоса. Процесс вели до содержания в растворе цефалоспорины С 80 мг/мл. Объем концентрированного раствора составил 1250 мл. Таким образом, степень концентрирования составила 4,0. Далее к полученному раствору добавляли 12500 мл изопропилового спирта с массовой долей основного вещества 92%. Полученный осадок калиевой соли цефалоспорины С отфильтровывали, промывали изопропиловым спиртом и высушивали. Потери на стадии осаждения составили 10%.

Таким образом, по отношению к прототипу расход растворителя снизился в 4 раза. Потери на стадии осаждения по отношению к способу по прототипу снизились на 3%.

## ДОДАТОК 7

Анотація статті, повні вихідні данні якої прописанні у джерелі під номером 16 у списку літератури:

### **Biodegradable Polymeric Substances Produced by a Marine Bacterium from a Surplus Stream of the Biodiesel Industry**

Sourish Bhattacharya <sup>1,†</sup>, Sonam Dubey <sup>2,†</sup>, Priyanka Singh <sup>3</sup>, Anupama Shrivastava <sup>4</sup> and Sandhya Mishra <sup>2,\*</sup>

<sup>1</sup> Process Design and Engineering Cell, CSIR-Central Salt and Marine Chemicals Research Institute, Bhavnagar 364002, India; sourishb@csmcri.org

<sup>2</sup> Salt and Marine Chemicals, CSIR-Central Salt and Marine Chemicals Research Institute, Bhavnagar 364002, India; sonamdubey20@gmail.com

<sup>3</sup> DTU BIOSUSTAIN, Novo Nordisk Foundation Center for Biosustainability, Technical University of Denmark, Lyngby 2800, Denmark; prnksingh254@gmail.com

<sup>4</sup> Research & Product Development, Algallio Biotech Private Limited, Vadodara 390020, India; anupamashrivastav@gmail.com

\* Correspondence: smishra@csmcri.org

† These authors contributed equally to this work.

Academic Editor: Martin Koller

Received: 13 September 2016; Accepted: 24 November 2016; Published: 30 November 2016

**Abstract:** Crude glycerol is generated as a by-product during transesterification process and during hydrolysis of fat in the soap-manufacturing process, and poses a problem for waste management. In the present approach, an efficient process was designed for simultaneous production of 0.2 g/L extracellular  $\epsilon$ -polylysine and 64.6% (w/w) intracellular polyhydroxyalkanoate (PHA) in the same fermentation broth (1 L shake flask) utilizing *Jatropha* biodiesel waste residues as carbon rich source by marine bacterial strain (*Bacillus licheniformis* PL26), isolated from west coast of India. The synthesized  $\epsilon$ -polylysine and polyhydroxyalkanoate PHA by *Bacillus licheniformis* PL26 was characterized by thermogravimetric analysis (TGA), differential scanning calorimetry (DSC), Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), and <sup>1</sup>H Nuclear magnetic resonance spectroscopy (NMR). The PHA produced by *Bacillus licheniformis* was found to be poly-3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate (P3HB-co-3HV). The developed process needs to be statistically optimized further for gaining still better yield of both the products in an efficient manner.

## ДОДАТОК 8

Анотація статті, повні вихідні данні якої прописанні у джерелі під номером 34 у списку літератури:

### Study on genetic engineering of *Acremonium chrysogenum*, the cephalosporin C producer

Youjia Hu\*, Baoquan Zhu

China State Institute of Pharmaceutical Industry, Shanghai 201203, China

---

#### ARTICLE INFO

##### Article history:

Received 13 April 2016

Received in revised form

11 August 2016

Accepted 11 September 2016

##### Keywords:

*Acremonium chrysogenum*

Cephalosporin C

Genetic engineering

Molecular breeding

#### ABSTRACT

*Acremonium chrysogenum* is an important filamentous fungus which produces cephalosporin C in industry. This review summarized the study on genetic engineering of *Acremonium chrysogenum*, including biosynthesis and regulation for fermentation of cephalosporin C, molecular techniques, molecular breeding and transcriptomics of *Acremonium chrysogenum*. We believe with all the techniques available and full genomic sequence, the industrial strain of *Acremonium chrysogenum* can be genetically modified to better serve the pharmaceutical industry.

© 2016 The Authors. Production and hosting by Elsevier B.V. on behalf of KeAi Communications Co. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

---

## ДОДАТОК 9

Анотація статті, повні вихідні данні якої прописанні у джерелі під номером 73 у списку літератури:

### **Approaches to Cephalosporin C Purification from Fermentation Broth**

M. E. WILDFEUER

Eli Lilly and Company, Lafayette, IN 47902

Different antibiotics generally lend themselves to specific purification techniques. Ceph C, however, is fairly unique since its separation from broth can be carried out by a variety of methods, each of which illustrates a particular approach to antibiotic isolation. Part of the reason for this versatile behavior results from the fact that ceph C is not the end use product, and for this reason modifications to the molecule to facilitate its separation or alter its physical characteristics--without affecting the active part of the ceph C molecule--are possible.

Examples of techniques used for purification of ceph C or its derivatives include: (1) carbon adsorption, (2) non-ionic resin adsorption, (3) ion exchange, (4) solvent extraction of derivatives, (5) precipitation of derivative acid or salt, (6) precipitation of metal salt, (7) broth drydown, (8) azeotropic extraction, and (9) enzymic modification. Many of these methods are not merely laboratory curiosities but have been successfully applied to large scale production of ceph C.

The initial isolation of antibiotics and other fermentation products from fermentation broths can take many routes. Those that have been used on a large scale have included the following:

- Carbon adsorption
- Non-ionic resin adsorption
- Ion-exchange adsorption (anion or cation)
- Solvent extraction
- Precipitation
- Broth drydown
- Azeotropic extraction
- Enzymic modification

## ДОДАТОК 10

Анотація статті, повні вихідні данні якої прописанні у джерелі під номером 83 у списку літератури:

### **The adsorption kinetics of cephalosporin-c on non-ionic polymeric macropore Amberlite XAD-16 resin†**

SA Yang and DL Pyle\*

*Department of Food Science and Technology, The University of Reading, Reading, RG6 6AP, UK*

**Abstract:** The adsorption kinetics of cephalosporin-c (CPC) on non-ionic polymeric macropore Amberlite XAD-16 resin were investigated in a well-stirred tank. The 'half-time' and non-linear methods were used to derive the intraparticle diffusivities from the experimentally determined adsorption uptake curves. It was found that both pore and solid surface diffusion processes made significant contributions, in parallel, to the intraparticle mass transfer. It was also found that the CPC concentration had an effect on the effective pore and surface diffusivities. The results are relevant to the mathematical modelling of adsorption processes.

© 1999 Society of Chemical Industry

## ДОДАТОК 11

Анотація статті, повні вихідні данні якої прописанні у джерелі під номером 85 у списку літератури:

### **Revisiting adsorption of biomolecules on polymeric resins**

Monali Dutta Saikia\*

*Department of Chemistry, Indian Institute of Technology Guwahati, North Guwahati 781039, Assam, India*

Received 27 April 2007; received in revised form 25 July 2007; accepted 26 July 2007

Available online 2 August 2007

---

#### **Abstract**

Adsorptive interactions of certain alkaloid and beta-lactam antibiotic onto polymeric resins such as Amberlite XAD-4, XAD-7 and Diaion HP2MG have been studied using FT-IR Spectroscopy and Scanning Electron Microscopy (SEM) techniques with the aim of in-depth understanding of the adsorption mechanism. IR studies show that there may be participation of some functional groups in the adsorption of caffeine and cephalosporin-C onto Amberlite XAD-4. SEM studies revealed the morphological observations of the unloaded adsorbent and thereby changes in the adsorbed polymeric resins. It was found that the adsorption of biomolecules onto polymeric resins may not be only due to hydrophobic interaction, a specific solute-sorbent interaction involving  $\pi$ -electron on the sorbent surface may also dominate the adsorption mechanism.

© 2007 Elsevier B.V. All rights reserved.

## ДОДАТОК 12

Анотація статті, повні вихідні данні якої прописанні у джерелі під номером 86 у списку літератури:

### Extraction and Purification of Cephalosporin Antibiotics

A.C. Ghosh, R.K. Mathur and N.N. Dutta  
Regional Research Laboratory, Jorhat 785 006, India

1	Introduction . . . . .	112
2	Product Distribution and Assay of Spent Medium . . . . .	115
2.1	Cell Mass Separation and Isolation . . . . .	115
2.2	Microbiological Assay . . . . .	117
3	Methods of Extraction . . . . .	118
3.1	Solid Phase Adsorption . . . . .	118
3.2	Liquid-Liquid Extraction . . . . .	120
3.2.1	Extraction via Lipophilic Intermediates . . . . .	120
3.2.2	Extractive Esterification . . . . .	121
3.2.3	Reactive Extraction . . . . .	121
3.3	Liquid Membrane Extraction . . . . .	122
3.3.1	Emulsion Liquid Membrane . . . . .	122
3.3.2	Supported Liquid Membrane . . . . .	124
3.3.3	Non-Dispersive Extraction in Hollow Fiber Membrane . . . . .	124
3.3.4	Emerging Liquid Membrane Processes . . . . .	125
3.4	Membrane (Synthetic) Separation: UF/MF/RO/ED . . . . .	125
3.5	Aqueous Two-Phase Partitioning . . . . .	126
4	Methods of Purification . . . . .	127
4.1	Selective Precipitation and Crystallization . . . . .	127
4.2	Separation and Purification by Chromatography . . . . .	128
4.2.1	Thin layer and Paper Chromatography . . . . .	128
4.2.2	Ion-Exchange Chromatography . . . . .	129
4.2.3	Hydrophobic Interaction and Hydroxyapatite Chromatography . . . . .	130
4.2.4	Gel Filtration/Size Exclusion Chromatography . . . . .	134
4.2.5	High Performance Liquid Chromatography . . . . .	134
4.3	Electrophoretic Techniques . . . . .	135
4.3.1	Polyacrylamide Gel Electrophoresis . . . . .	139
4.3.2	Isoelectric Focussing . . . . .	139
5	Process Design and Scale-Up Consideration . . . . .	140
6	References . . . . .	142

## ДОДАТОК 13

Анотація статті, повні вихідні данні якої прописанні у джерелі під номером 87 у списку літератури:

### STUDY OF THE SEPARATION PROCESS OF TARTARIC ACID BY ION-EXCHANGE WITH SOLID ANIONITES AMBERLITE IRA-67 AND AMBERLITE IRA-410

Gheorghe Duca<sup>1</sup>, Natalia Marchitan<sup>2</sup>, Aliona Mereuța<sup>2\*</sup>, Herbert G. Boechzelt<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Academy of Sciences of Moldova, 1 Stefan cel Mare Ave., MD-2001, Chisinau, Republic of Moldova

<sup>2</sup>Moldova State University, Faculty of Chemistry and Chemical Technology, Department of Ecological and Industrial Chemistry, 60 Mateevici str., MD-2009, Chisinau, Republic of Moldova

<sup>3</sup>Joanneum Research Forschungsges.m.b.H, Austria

#### Abstract

The present work describes an investigation of process of ion-exchange separation of tartaric acid in model systems. These investigations will be used for the separation of tartaric acid from secondary wine products. Their valorisation allows obtaining valuable compounds, as well as decreasing the huge quantities of wastes accumulated at wine making factories.

As ionic exchangers, there have been used weakly basic anion exchanger Amberlite IRA-67 (tertiary functional amine groups) and strongly basic exchanger Amberlite IRA-410 (quaternary functional amine groups). The following parameters of the ion-exchange process have been varied: concentration, temperature and pH of the tartaric acid solution and the stirring time in static systems, and the work intervals have been established. Thus, the highest rate of separation obtained in the given conditions is of 100 % for Amberlite IRA-410 and 99,88 % for Amberlite IRA-67.

## ДОДАТОК 14

Анотація патенту, повні вихідні данні якої прописанні у джерелі під номером 99 у списку літератури:

### 1. RU0002500403 - СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ МИКРОКАПСУЛ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ ГРУППЫ ЦЕФАЛОСПОРИНОВ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИМ МЕТОДОМ

[Нац. библиограф. данные](#) [Описание](#) [Формула изобретения](#)

[Постоянная ссылка](#) [Автоматизированный перевод](#) ▼

**Ведомство**  
Российская Федерация

**Номер заявки**  
2012118278/15

**Дата подачи**  
03.05.2012

**Номер публикации**  
0002500403

**Дата публикации**  
10.12.2013

**Номер предоставления патента**

**Дата выдачи патента**  
10.12.2013

**Название**

**[EN]** PHYSICOCHEMICAL METHOD FOR PREPARING CEPHALOSPORIN MICROCAPSULES

**[RU]** СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ МИКРОКАПСУЛ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ ГРУППЫ ЦЕФАЛОСПОРИНОВ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИМ МЕТОДОМ

**Реферат**

**[EN]**

FIELD: medicine, pharmaceuticals. SUBSTANCE: invention refers to microcapsulation of cephalosporins related to  $\beta$ -lactam antibiotics. A method for preparing cephalosporin microcapsules is implemented by physicochemical non-solvent addition. That involves using two non-solvents that are carbinol and isopropyl alcohol taken in ratio 1:4. The microcapsule yield makes more than 90%. EFFECT: method for cephalosporin microcapsules provides accelerating the process for preparing and simplifying the method. 3 ex

**[RU]**

Изобретение относится к области микрокапсулирования лекарственных препаратов группы цефалоспоринов, относящихся к  $\beta$ -лактамым антибиотикам. Способ получения микрокапсул лекарственных препаратов группы цефалоспоринов осуществляется физико-химическим методом осаждения нерастворителем. При этом используется два осадителя - карбинол и изопропиловый спирт, взятые по объему в соотношении 1:4. Способ микрокапсулирования цефалоспоринов обеспечивает ускорение процесса получения и упрощение метода. Выход микрокапсул составляет более 90%. 3 пр.

## ДОДАТОК 15

Анотація патенту, повні вихідні данні якої прописанні у джерелі під номером 101 у списку літератури:

### 1. RU0002545752 - СПОСОБ МИКРОКАПСУЛИРОВАНИЯ ЦЕФАЛОСПОРИНОВЫХ АНТИБИОТИКОВ В ПОЛУДАНЕ

Нац. библиограф. данные    Описание    Формула изобретения

[Постоянная ссылка](#)    [Автоматизированный перевод](#) ▼

**Ведомство**  
Российская Федерация

**Номер заявки**  
2013122832/15

**Дата подачи**  
17.05.2013

**Номер публикации**  
0002545752

**Дата публикации**  
10.04.2015

**Номер предоставления патента**

**Дата выдачи патента**  
10.04.2015

**Вид публикации**  
С2

**МПК**  
A61K 01/04    A61K 01/07    A61K 47/00

**Название**

**[EN]** METHOD OF MICROCAPSULATION OF CEPHALOSPORIN ANTIBIOTICS IN POLUDANUM  
**[RU]** СПОСОБ МИКРОКАПСУЛИРОВАНИЯ ЦЕФАЛОСПОРИНОВЫХ АНТИБИОТИКОВ В ПОЛУДАНЕ

**Реферат**

**[EN]**

FIELD: medicine. SUBSTANCE: invention relates to field of microcapsulation, in particular to method of obtaining microcapsules of medications of cephalosporin group. Method is characterised by the fact that as envelope of microcapsules applied is poludanum, powder of medication of cephalosporin group is added to poludanum water solution in presence of surface-active substance E 472c, ratio of poludanum amount and medication of cephalosporin group in counted per dry substance constitutes 3:1, obtained mixture is mixed to complete dissolution of reaction mixture components and carbinol is added drop-by-drop as first precipitator, and then diethyl ether is added as second precipitator, obtained suspension of microcapsules is filtered, washed by acetone, and dried in exsiccator. EFFECT: method ensures simplification and acceleration of process of obtaining microcapsules of water-soluble medications of cephalosporin group in poludanum, reduction of loss in the process of obtaining microcapsules. 3 ex

**[RU]**

Изобретение относится к области микрокапсулирования, в частности к способу получения микрокапсул лекарственных препаратов группы цефалоспоринов. Способ характеризуется тем, что в качестве оболочки микрокапсул используется полудан, при этом к водному раствору полудана добавляют порошок препарата группы цефалоспоринов в присутствии поверхностно-активного вещества E 472c, соотношение количества полудана и препарата группы цефалоспоринов при перерасчете на сухое вещество составляет 3:1, полученную смесь перемешивают до полного растворения компонентов реакционной смеси и по каплям приливают карбинол в качестве первого осадителя, а затем диэтиловый эфир в качестве второго осадителя, полученную суспензию микрокапсул фильтруют, промывают ацетоном, сушат в эксикаторе. Способ обеспечивает упрощение и ускорение процесса получения микрокапсул водорастворимых лекарственных препаратов группы цефалоспоринов в полудане, уменьшение потерь при получении микрокапсул. 3 пр.