

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ

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

«До захисту в ЕК»
Декан факультету
_____ Наталія ГРЕГІРЧАК
(підпис) (ім'я та прізвище)

«__» _____ червня _____ 2024 р.

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

«__» _____ червня _____ 2024 р.

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА
НА ЗДОБУТТЯ ОСВІТНЬОГО СТУПЕНЯ БАКАЛАВРА

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

освітньо-професійної програми _____ «Біотехнології: фармацевтична,
промислова, харчова, природоохоронна»

на тему: «Біосинтез поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus*
ІМВ В-7241 мультифункціонального призначення на олієвмісних субстратах»

Виконав: здобувач IV курсу, групи I

_____ ДОН Єлизавета Андріївна
(прізвище, ім'я, по батькові повністю) (підпис)

Керівник _____ ПИРОГ Тетяна Павлівна
(прізвище, ім'я та по батькові повністю) (підпис)

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

_____ (ім'я та прізвище) (підпис)

Рецензент _____ ІВАХНЮК Микола
(ім'я та прізвище) (підпис)

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

Здобувач _____
(підпис)

Київ – 2024 р.

НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ

Інститут (факультет) Біотехнології та екологічного контролю

Кафедра біотехнології і мікробіології

Освітній ступінь бакалавр

Спеціальність 162 «Біотехнології та біоінженерія»

(код і назва)

Освітньо-професійна програма « Біотехнології: фармацевтична

промислова, харчова, природоохоронна»

(назва)

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри біотехнології і
мікробіології

Віктор СТАБНИКОВ

“01” березня 2024 року

ЗАВДАННЯ

НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ ЗДОБУВАЧА

ДОН Єлизавети Андріївни

(прізвище, ім'я, по батькові)

1. Тема роботи «Біосинтез поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus*
ІМВ В-7241 мультифункціонального призначення на олієвмісних субстратах»

керівник роботи ПИРОГ Тетяна Павлівна, д.т.н., проф.,

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

затверджені наказом закладу вищої освіти від 29 березня 2024 року № 238-к

2. Строк подання здобувачем роботи 28 травня 2024 р.

3. Вихідні дані до роботи біологічний агент: *Acinetobacter calcoaceticus* ІМВ В-7241,
цільовий продукт: поверхнево-активні речовини

4. Зміст пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно розробити) РОЗДІЛ 1.
Характеристика поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* ІМВ
В-7241, РОЗДІЛ 2. Обґрунтування вибору біологічного агента, РОЗДІЛ 3. Біосинтез
цільового продукту, РОЗДІЛ 4. Техніко-економічне обґрунтування, РОЗДІЛ 5.
Обґрунтування вибору технологічної схеми, РОЗДІЛ 6. Специфікація обладнання,
РОЗДІЛ 7. Опис технологічної схеми біосинтезу *Acinetobacter calcoaceticus* ІМВ
В-7241, РОЗДІЛ 8. Контроль виробництва, РОЗДІЛ 9. Основні післяферментативні ста-
дії, РОЗДІЛ 10. Аналіз преспектив впровадження системи екологізації виробництв

5. Перелік графічного матеріалу 1 аркуш формату А1. Апаратурна схема, 1 аркуш
формату А1. Технологічна схема виробництва поверхнево-активних речовин

6. Консультанти розділів роботи

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

7. Дата видачі завдання _____ 01.03 2024 р. _____

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№	Назва етапів виконання кваліфікаційної роботи	Строк виконання етапів роботи	Примітка
1	Розділ 1. Характеристика поверхнево-активних речовин <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> IMB В-7241	01.03.24-07.03.24	
2	Розділ 2. Обґрунтування вибору біологічного агента	08.03.24-17.03.24	
3	Розділ 3. Біосинтез цільового продукту	18.03.24-21.03.24	
4	Розділ 4. Техніко-економічне обґрунтування	22.03.24-31.03.24	
5	Розділ 5. Обґрунтування вибору технологічної схеми	01.04.24-06.04.24	
6	Розділ 6. Специфікація обладнання	07.04.24-15.04.24	
7	Розділ 7. Опис технологічної схеми біосинтезу <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> IMB В-7241	16.04.24-24.04.24	
8	Розділ 8. Контроль виробництва	25.04.24-30.04.24	
9	Розділ 9. Основні післяферментаційні стадії	01.05.24-16.03.24	
10	Розділ 10. Аналіз преспектив впровадження системи екологізації виробництва	17.05.24-19.05.24	
11	Оформлення графічної частини	20.04.24-28.05.24	

Здобувачка _____
(підпис)

Керівник роботи _____
(підпис)

Єлизавета ДОН _____
(ім'я та прізвище)

Тетяна ПИРОГ _____
(ім'я та прізвище)

РЕФЕРАТ

Кваліфікаційна робота присвячена розробленню технологічної та апаратурної схем біосинтезу поверхнево-активних речовин (ПАР) *Acinetobacter calcoaceticus* ІМВ В-7241 на відпрацьованій соняшниковій олії. ПАР запропоновано використовувати у складі мийних засобів для прибирання приміщень однієї з середніх загальноосвітніх шкіл м. Києва. На основі потреб у мийних засобах розрахована потужність виробництва, яка сягає 13 кг ПАР на рік (об'єм культуральної рідини за один цикл 283,1 л).

Технологічна схема біосинтезу ПАР *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241 складається з допоміжних робіт: санітарної підготовки виробництва, підготовки стерильного аераційного повітря, приготування і стерилізації титрувальних розчинів (6% розчини HCl і NaOH), запасних розчинів (мікроелементів і дріжджового автолізу), поживних середовищ та технологічного процесу (вирощування інокуляту в колбах на качалках, в інокуляторах об'ємом 5 л та 50 л, біосинтезу ПАР у ферментері об'ємом 500 л з коефіцієнтом заповнення 0,6). Контроль виробництва включає: технічний (частота прибирань, висота забору повітря, ступінь його очищення, вологість, температура, тривалість процесу, тиск, швидкість перемішування, концентрація розчиненого кисню, концентрація біомаси і ПАР, соняшникової олії та сечовини), хімічний (концентрація титрувальних розчинів, кислотність середовища), мікробіологічний (змиви поверхонь після прибирань, перевірка стерильності поживних середовищ та контроль наявності сторонньої мікробіоти у процесі культивування продуцента).

Для реалізації технологічного процесу підібране відповідне обладнання (повітрозабірник, фільтри, компресор, теплообмінника-охолоджувач\нагрівач, ресивер, реактори-змішувачі, ферментери, насоси, лічильники води, автоматична станція миття), характеристику якого наведено у специфікації.

Кваліфікаційна робота складається з вступу, десяти розділів, списку використаної літератури (100 найменувань), технологічної (формат А1, 1 аркуш) та апаратурної (формат А1, 1 аркуш) схем. Загальний обсяг роботи – 118 сторінок, 8 рисунків, 21 таблиця.

Ключові слова: поверхнево - активні речовини, *Acinetobacter calcoaceticus* ІМВ В-7241, мийні засоби, середньо загальноосвітня школа, біосинтез, відпрацьована соняшникова олія.

REVIEW

The qualification work is devoted to the development of technological and hardware schemes for the biosynthesis of surface-active substances (SAS) by *Acinetobacter calcoaceticus* IMV V-7241 on waste sunflower oil. It is proposed to use surfactants in the composition of detergents for cleaning the premises of one of the secondary school in Kyiv. Based on the demand for detergents, the production capacity was calculated, which reaches 13 kg of surfactants per year (the volume of culture liquid per cycle is 283,1 litres).

The technological scheme of the biosynthesis of surfactant *A. calcoaceticus* IMV V-7241 consists of auxiliary works: sanitary preparation of production, preparation of sterile aerated air, preparation and sterilisation of titration solutions (6% HCl and NaOH solutions), stock solutions (trace elements and yeast autolysate), culture media and technological process (cultivation of inoculum in flasks on stirrers, in 5 litre and 50 litre inoculators, surfactant biosynthesis in a 500 litre fermenter with a filling factor of 0,6). Production control includes: technical (frequency of cleaning, height of air intake, degree of air purification, humidity, temperature, process duration, pressure, stirring speed, concentration of dissolved oxygen, concentration of biomass and surfactants, sunflower oil and urea) chemical (concentration of titration solutions, acidity of the medium), microbiological (surface cleaning after harvesting, checking the sterility of the culture media and monitoring the presence of foreign microbiota in the process of cultivating the product).

To implement the technological process, the appropriate equipment (air intake, filters, compressor, heat exchanger-cooler/heater, receiver, mixing reactors, fermenters, pumps, water meters, automatic weighing station) was selected, the characteristics of which are given in the specification.

The qualification work consists of an introduction, ten chapters, a list of references (100 titles), technological (A1 format, 1 sheet) and apparatus (A1 format, 1 sheet) diagrams. The total volume of the work is 118 pages, 8 figures, 21 tables.

Key words: surface active substances, *Acinetobacter calcoaceticus* IMV V-7241, detergents, secondary school, biosynthesis, waste sunflower oil.

ЗМІСТ

РЕФЕРАТ	4
ВСТУП.....	9
РОЗДІЛ 1. ХАРАКТЕРИСТИКА ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИХ РЕЧОВИН	
<i>ACINETOBACTER CALCOACETICUS</i> IMB B-7241	11
1.1. Хімічний склад	11
1.2. Біологічна активність поверхнево-активних речовин, синтезованих на олієвмісних субстратах.....	11
1.2.1. Антимікробна активність поверхнево-активних речовин.....	11
1.2.2. Синергізм антимікробної активності поверхнево-активних речовин з ефірними оліями та антибіотиками.....	15
1.2.3. Антиадгезивна активність поверхнево-активних речовин <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> IMB B-7241.....	16
1.2.4. Деструкція біоплівки.....	20
1.3. Роль поверхнево-активних речовин у деструкції нафтових забруднень	23
РОЗДІЛ 2. ОБГРУНТУВАННЯ ВИБОРУ БІОЛОГІЧНОГО АГЕНТА	25
2.1. Обґрунтування вибору біологічного агента та поживного середовища для його культивування	25
2.2. Морфолого-культуральні та фізіолого-біохімічні ознаки біологічного агента	30
2.3. Таксономічний статус біологічного агента	31
РОЗДІЛ 3. БІОСИНТЕЗ ЦІЛЬОВОГО ПРОДУКТУ	32
3.1. Шлях катаболізму ростового субстрату біологічним агентом.....	32
3.2. Біотрансформація ростового субстрату у цільовий продукт.....	33
РОЗДІЛ 4. ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБГРУНТУВАННЯ	37
4.1. Потреби в мікробних поверхнево-активних речовинах.....	37
4.2. Розрахунок потужності виробництва поверхнево-активних речовин для обробки поверхонь у закладах освіти	38
4.3. Розрахунок кількості виробничих циклів та геометричного об'єму ферментера для біосинтезу поверхнево-активних речовин <i>A. calcoaceticus</i> IMB B-7241	42
4.4. Розрахунок кількості стадій підготовки посівного матеріалу для біосинтезу ПАР <i>A. calcoaceticus</i> IMB B-7241	43

РОЗДІЛ 5. ОБГРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ	45
5.1. Вибір умов культивування та типу ферментера для <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> IMB В-7241	45
5.2. Обґрунтування стадії підготовки аераційного повітря для отримання поверхнево - активних речовин	46
5.3. Обґрунтування вибору мийних та дезінфікуючий засобів	48
5.4. Розрахунок витрат мийних та дезінфікуючих засобів для виробництва ПАР <i>A. calcoaceticus</i> IMB В-7241	51
5.5. Особливості підготовки і стерилізації поживного середовища для культивування <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> IMB В-7241– продуцента поверхнево – активних речовин	56
РОЗДІЛ 6. СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ	63
РОЗДІЛ 7. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ БІОСИНТЕЗУ ПОВЕРХНЕВО - АКТИВНИХ РЕЧОВИН ШТАМОМ <i>ACINETOBACTER CALCOACETICUS</i> IMB В-7241.....	66
РОЗДІЛ 8. КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА	79
8.1. Мікробіологічний контроль	79
8.2. Показники росту і синтезу цільового продукту	81
8.2.1 Концентрація біомаси.....	81
8.2.2. Концентрація поверхнево-активних речовин <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> IMB В-7241	81
8.2.3. Концентрація соняшникової олії.....	82
8.2.4. Концентрація сечовини	82
8.2.5.Карта контрольних точок виробництва поверхнево-активних речовин штаму <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> IMB В-7241.....	83
РОЗДІЛ 9. ОСНОВНІ ПІСЛЯФЕРМЕНТАЦІЙНІ СТАДІЇ.....	91
9.1. Методи виділення поверхнево-активних речовин.....	91
9.2. Методи очищення поверхнево-активних речовин	92
9.3. Метод виділення поверхнево-активних речовин <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> IMB В-7241	94
РОЗДІЛ 10. АНАЛІЗ ПЕРСПЕКТИВ ВПРОВАДЖЕННЯ СИСТЕМИ.....	99

ЕКОЛОГОЛІЗАЦІЇ ВИРОБНИЦТВА	99
10.1. Знешкодження та утилізація рідких відходів.....	99
10.1.1. Розрахунок орієнтовного об'єму стічних вод.....	99
10.1.2. Визначення середніх витрат стічних вод підприємства	101
10.1.3. Установка очистки стічних вод виробництва	102
10.2. Утилізація газоподібних відходів.....	103
10.3. Утилізація твердих відходів.....	104
ЛІТЕРАТУРНІ ДЖЕРЕЛА	106
ДОДАТКИ.....	116

ВСТУП

Останніми роками на заміну хімічно синтезованим поверхнево-активним речовинам приходять мікробно синтезовані поверхнево-активні речовини (ПАР), які мають значні переваги, а саме [1, 2]:

Біодеградабельність - ПАР, отриманні мікробним синтезом можуть руйнуватися природним шляхом у навколишньому середовищі на відміну від синтетичних ПАР, які можуть зберігатися та потенційно накопичуватися до токсичних рівнів.

Низька токсичність - ПАР мають низьку токсичність, що робить їх безпечнішими для людини та нешкідливими для навколишнього середовища та доступними для використання в харчовій промисловості і природоохоронних технологіях.

Біосумісність та засвоюваність - така властивість ПАР робить їх придатними для продуктів, призначених для безпосереднього споживання людиною (продукти харчування, засоби догляду за шкірою, фармацевтичні препарати).

Ефективність у широкому діапазоні температур та рН – ПАР зберігають свої властивості навіть в екстремальних умовах, що робить їх універсальними в різних сферах застосування, за різних умов зберігання.

Адаптивність: склад і властивості ПАР можна модифікувати, у тому числі й зміною умов культивування продуцентів, що дає змогу отримувати цільовий продукт з необхідними для кожної практичної галузі застосування властивостями.

Недоліками мікробних ПАР є дороговартісний процес їх виділення і очищення та можливість зміни фізико - хімічних властивостей і біологічної активності в залежності від умов культивування продуцента [1, 2].

Попри війну, соняшникова олія є одним з ключових експортних товарів для українського аграрного сектору, але в Україні не регламентуються відходи відпрацьованої соняшникової олії, що може стати серйозною проблемою для здоров'я людей та екосистем. Одним з підходів, щодо вирішення питання утилізації, є їх використання, як субстрату в біотехнологічних процесах, що не потребує попереднього

					<i>НУХТ БТЕК 04.01.02 КР ПЗ</i>			
<i>Змн.</i>	<i>Лист</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>				
<i>Розробив</i>		Дон Є.А.			ВСТУП	<i>Лит.</i>	<i>Арк.</i>	<i>Аркушів</i>
<i>Перевірив</i>		Пирог Т.П.					9	118
<i>Резенз.</i>						<i>Кафедра БТМ</i>		
<i>Н.контр.</i>								
<i>Затверд.</i>		Стадніков В.П.						
								9

очищення і додаткових витрат на нього [3].

Мікробно синтезовані ПАР мають значні переваги, як компоненти миючих засобів, в порівнянні з хімічними аналогами: біодеградабельність, не токсичність та вища ефективність [3-5].

Штам *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241 синтезує на промислових відходах ПАР, яким притаманна висока антимікробна та антиадгезивна активність (у тому числі, й здатність до руйнування біоплівки). При обробці абіотичних поверхонь, (скло, сталь, кахель, лінолеум, полістирол), поверхнево-активні речовина *A. calcoaceticus* IMB B-7241 показали високу антиадгезивну активність у невисоких концентраціях, що майже в 20 разів нижчі, ніж встановлені для інших ПАР [6-8].

Метою кваліфікаційної роботи є розробка та проектування ділянки доферментаційних процесів та виробничого біосинтезу ПАР та підбір післяферментаційних стадій процесу.

Новизною роботи є одержання практично важливих поверхнево-активних речовин *A. calcoaceticus* IMB B-7241, який на середовищі з токсичними олієвмісними відходами синтезує 7,7 г/л ПАР [6], що використовуватимуться як складові мийно-дизенфікувальних засобів для прибирання закладів освіти і реалізація синтезу яких відбуватиметься за чинними вимогами законодавства [9, 10].

РОЗДІЛ 1. ХАРАКТЕРИСТИКА ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИХ РЕЧОВИН

ACINETOBACTER CALCOACETICUS ІМВ В-7241

1.1. Хімічний склад

Поверхнево - активні речовини (ПАР), синтезовані *Acinetobacter calcoaceticus* ІМВ В-7241, представлені комплексом гліко - аміно та нейтральних ліпідів. Гліколіпіди представлені трегалозоміколатами, які містять дисахарид трегалозу приєднану у положеннях С₆ та С₆' до α-розгалуженої - β -гідроксикарбонової кислоти, відомої як міколат — R-СНОН-СНR'-СООН. Нейтральні ліпіди являють собою С₁₃ – С₁₈ – n - алканоли, С₁₁ – С₂₂ – n - алканові та міколові кислоти [11,12].

1.2. Біологічна активність поверхнево-активних речовин, синтезованих на олієвмісних субстратах

Мікробні ПАР *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241 - є препаратами широкого спектру застосування, завдяки комплексу фізико-хімічних (зниження поверхневого та міжфазного натягу, емульгувальну активність) та біологічних (антимікробна та антиадгезивна активності, здатність до руйнування біоплівки) властивостей [6-8,13].

Регулювання антимікробної та антиадгезивної активності ПАР, при їх культивуванні, можливі за рахунок оптимізації вмісту катіонів (натрію та калію), які є інгібіторами або активаторами ферментів (Нікотинамідаденіндинуклеотидфосфат (НАДФ⁺) - залежна глутаматдегідрогеназа, фосфоенолпіруваткарбоксілаза (ФЕП-карбоксілаза), фосфоенолпіруватсинтетази (ФЕП-синтетази), трегалозофосфатсинтази), що відповідають за синтез складових ПАР [6-8].

1.2.1. Антимікробна активність поверхнево-активних речовин

Згідно літератури [6-8,13] було встановлено, що ПАР *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241 показали високу антимікробну активність по відношенню до бактерій *Escherichia coli* ІЕМ-1, *Bacillus subtilis* БТ-2, *Staphylococcus aureus* БМС-1, *Pseudomonas sp.* МІ-2 та грибів, наприклад, *Candida albicans* Д - 6, *Candida tropicalis* РЕ-2 і *Candida utilis* БМС-65, що свідчить про їх антимікробну властивість.

					<i>НУХТ БТЕК 04.01.02 КР ПЗ</i>			
<i>Змн.</i>	<i>Лист.</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>				
<i>Розробив</i>	Дон Є.А.				РОЗДІЛ 1. ХАРАКТЕРИСТИКА ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИХ РЕЧОВИН <i>ACINETOBACTER CALCOACETICUS</i> ІМВ В-7241	<i>Літ.</i>	<i>Арк.</i>	<i>Акрушів</i>
<i>Перевірив</i>	Пироз Т.П.						11	118
<i>Реценз.</i>						<i>Кафедра БТМ</i>		
<i>Н.контр.</i>						11		
<i>Затверд.</i>	Стадніков В.П.							

Так, дані, що представлені у табл. 1.1 демонструють залежність мінімальної-інгібуючої концентрації (МІК) синтезованих ПАР *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241 від умов культивування штаму на олійних субстратах. При культивуванні на середовищі з підвищеною концентрацією смаженої соняшникової олії (4% - 5%), штам утворював ПАР з надзвичайно низькою антимікробною активністю, при цьому МІК для бактеріальних тест-культур становила 750-900 мкг/мл, а для грибів 1200-1700 мкг/мл [6,8].

Однак, коли концентрація рафінованої олії сягала 4% у культуральному середовищі, штам продукував ПАР з вищою антимікробною активністю (МІК 15-130 мкг/мл) порівняно з тими, які були отримані з смажених олій з аналогічною концентрацією (МІК > 600- 1700 мкг/мл). Така різниця у показниках та антимікробній активності зумовлена тим, що композиція смажених олій містить інгібітори синтезу складових ПАР, які є відповідальними за антимікробні властивості *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241 [7].

Також, важливим фактором при отриманні ПАР з високою антимікробною властивістю є концентрація катіонів калію і натрію у середовищі так, як данні катіони є активаторами ключових ферментів біосинтезу гліколіпідів (ФЕП-карбоксікіназа і ФЕП-синтетаза) та аміноліпідів (НАДФ⁺-залежна глутаматдегідрогеназа), які в свою чергу проявляють високу/низьку антимікробну властивість [6,8].

Так, саме на базовому середовищі були отриманні ПАР (3,6 г/л), які характеризувалися найкращою антимікробною активністю (0,88–56 мкг/мл), щодо тест-культур бактерій (*Pseudomonas sp.* МІ-2, *B. subtilis* БТ-2, *E. coli* ІЕМ-1, *S. aureus* БМС-1, *Enterobacter cloacae* С-8) і грибів (*C. albicans* Д-6, *Rhizopus nigricans* Р1, *Aspergillus niger* Р-3, *Fusarium culmorum* Т-7). Такий результат був на 2–3 порядки нижчими ніж для ПАР, які отримали з модифікованих середовищ 1–3 [6,8].

Така особливість зумовлена тим, що під час культивування в базовому середовищі активність ферментів, що відповідають за біосинтез гліколіпідів (ФЕП-карбоксікіназа, ФЕП-карбоксікіназа, ФЕП-синтетаза та трегалозофосфатсинтетаза) є значно нижчою в порівнянні з іншими середовищами, що забезпечується концентрацією зазначених катіонів [6,8].

Підбиваючи підсумки, можна сказати, що ПАР, синтезовані на базових (рафінована, відпрацьована після смаження картоплі та відпрацьована після смаження м'яса олії) та модифікованих середовищах, характеризуються антимікробними властивостями але ступінь їх прояву залежить від концентрації (2-5%), як субстрату та катіонів натрію та калію (5 - 100 мМ), які є активаторами ферментів синтезу аміно- або гліколіпідів, які в свою чергу проявляють більшу або меншу антимікробну властивість. Дослідження показало, що найвищу антимікробну активність мали ПАР (3,6 г/л), які були синтезовані на середовищі базового складу, а саме: відпрацьована олія після смаження картоплі (2%) з концентрацією NaCl – 1,0 г/л, але без KCl [6-8,13].

Антимікробна активність ПАР *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241, синтезованих на середовищі з різним вмістом одновалентних катіонів та різною концентрацією субстрату

Таблиця 1.1

Середовище	Олія як субстрат	Концентрація олії, %	Мінімальні інгібуючі концентрації (мкг/мл) щодо										
			<i>E. coli</i> ІЕМ-1	<i>B. subtilis</i> ВТ-2 (спори)	<i>S.aureus</i> БМС-1	<i>P. sp.</i> МІ-2	<i>C. albicans</i> Д-6	<i>C.tropicalis</i> РЕ-2	<i>C. utilis</i> БМС-65	<i>E. cloacae</i> С-8	<i>R.nigricans</i> Р1	<i>A.niger</i> Р-3	<i>F.culmorum</i> Т-7
Базове	Рафінована	2	0,8	51,2	1,6	0,8	25,6	Н.в.	Н.в.	Н.в.	Н.в.	Н.в.	Н.в.
		4	15	64	32	16	130	Н.в.	Н.в.	Н.в.	Н.в.	Н.в.	Н.в.
	Відпрацьована після смаження картоплі	2	0,88	1,75	0,88	14	28	22,5	45	0,88	56	0,88	3,5
		4	>750	>750	>750	>750	>1200	Н.в.	Н.в.	Н.в.	Н.в.	Н.в.	Н.в.
	5	>900	>900	>900	>900	Н.в.	Н.в.	Н.в.	Н.в.	Н.в.	Н.в.	Н.в.	Н.в.
	Відпрацьована після смаження м'яса	4	>850	>850	>850	>850	>1700	Н.в.	Н.в.	Н.в.	Н.в.	Н.в.	Н.в.
Середовище 1	Відпрацьована після смаження картоплі	2	24	384	24	384	>768	304	304	48	384	1,5	48
Середовище 2	Відпрацьована після смаження картоплі	2	144	18	576	18	144	118	59	72	>1152	144	>1152
Середовище 3	Відпрацьована після смаження картоплі	2	480	60	480	60	>960	384	385	480	>960	120	240

Примітка: Базове середовище: (г/л): $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$ – 0,35, NaCl – 1,0, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ – 0,6, KH_2PO_4 – 0,14, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,1, дріжджовий автолізат – 0,5 % (об'ємна частка) і розчин мікроелементів – 0,1 % (об'ємна частка). Модифікації складу базового середовища: середовище без NaCl (середовище 1), середовище, в якому концентрація NaCl становила 2,0 г/л (середовище 2), середовище, в яке додатково вносили 1,0 г/л KCl (середовище 3). Н.в. - не визначали

1.2.2. Синергізм антимікробної активності поверхнево-активних речовин з ефірними оліями та антибіотиками

Унікальною особливістю ПАР *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241 є синергізм антимікробної активності поверхнево-активних речовин з клотримазолом, флуконазолом, ефірною олією кориці або лемонграсу [8].

Згідно літературі [6,8] мінімальна інгібуюча концентрація клотримазолу (МІК), щодо *C. albicans* Д-6, *C. tropicalis* РЕ-2, сягали 62,5 мкг/мл, а проти, *C. utilis* БМС-65–31,2 мкг/мл. При поєднанні ПАР і клотримазолу, МІК препарату було знижено проти *C. albicans* Д-6, *C. tropicalis* РЕ-2, *C. utilis* БМС-65 у 4-32 рази (15,6 – 1,9 мкг/мл). Також, було виявлено, що МІК флуконазолу проти *C. albicans* Д-6, *C. tropicalis* РЕ-2, *C. utilis* БМС-65 становив 35,5 мкг/мл. Додавання ПАР до розчину флуконазолу знижував МІК цього препарату проти *C. albicans* Д-6, *C. tropicalis* РЕ-2, *C. utilis* БМС-65 35,5 мкг/мл до 1,1–9,3 мкг/мл. Було з'ясовано, також, що при більш високих значеннях фракційної інгібуючої концентрації (ФІК) суміші ПАР, синтезованих на середовищі 3 с флуконазолом (ФІК 0,51-0,76), мінімальні інгібуючі концентрації проти-грибкового препарату зменшилися майже в 4 рази (з 35,5 до 9,3 мкг/мл).

Літературні джерела [6,8] свідчать про те, що мінімальна інгібуюча концентрація ефірної олії кориці проти досліджуваних культур (*C. albicans* Д-6, *C. tropicalis* РЕ-2, *C. utilis* БМС-65) становила 156 мкг/мл. Однак, коли ефірну олію кориці використовували в поєднанні з ПАР, вирощеними на різних середовищах, МІК по відношенню до роду *Candida* були знижені від 156 мкг/мл до 8,5–39 мкг/мл. Так, ФІК була нижчою (0,04-0,37) від 0,5, що демонструє синергічний ефект даної суміші. Подібні результати спостерігалися з ефірною олією лемонграсу та ПАР. Наприклад, МІК проти *C. albicans* Д-6 знаходилися в межах 22,5 до 769 мкг/мл для самих ПАР і 312 мкг/мл для ефірної олії лемонграсу, а при їх поєднанні МІК становив лише 9,7–39 мкг/мл, а ФІК $\leq 0,5$, що вказувало на синергічну протигрибкову дію суміші.

Підсумовуючи, розуміємо, що ПАР, синтезовані на базовому середовищі (відпрацьована олія після смаження картоплі з концентрацією 2%, NaCl – 1,0 г/л та без KCl) є найбільш ефективними протигрибковими засобами. Так, значення МІК до тест-культур становить 22,5–45 мкг/мл, що були нижчими за МІК ПАР (59-769 мкг/мл),

синтезованих з використанням модифікованих середовищ 1-3 (середовище 1 - без NaCl, середовище 2 - концентрація NaCl = 2,0 г/л, середовище 3 - додаткове внесення 1,0 г/л KCl). Така різниця у дії зумовлена тим, що при високих концентрації катіонів натрію та калію (50-100 мМ), що використовували в модифікованих середовища 1-3, пригнічується активність НАДФ⁺-залежної глутаматдегідрогенази, ключового ферменту, який бере участь у синтезі ліпопептидів, які є основними протимікробними агентами, за рахунок чого протигрибкова активність ПАР знижується [6,8].

1.2.3. Антиадгезивна активність поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* ІМВ В-7241

Антиадгезивні властивості ПАР *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241 можуть бути використані у багатьох сферах, таких, як медицина, де зменшення адгезії патогенних мікроорганізмів може допомогти у запобіганні інфекцій або в природоохоронних технологіях [6,7,13].

З огляду табл. 1.2 стало зрозуміло, що ПАР (1,25 мкг/мл і 2,5 мкг/мл), які одержали при культивуванні *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241 на відпрацьованій (2%) та рафінованій оліях (2%) є досить ефективними щодо адгезії тестових клітин (*B. subtilis* БТ-2, *S. aureus* БМС-1, *C. albicans* Д-6) які прикріплювалися до полістиролу, кахельної плитки, сталі та лінолеума. На доказ цього припадає те, що обробка поверхонь була проведена ПАР у малих концентраціях що становили 1,25 мкг/мл і 2,5 мкг/мл, при цьому адгезія гриба на абіотичних поверхнях досягла 40% (*C. albicans* Д-6 (40–65%)), а для бактерій показники адгезії сягнули навіть 25% (*B. subtilis* (27–48%) та для *S. aureus* БМС-1: (25–58%)) [6,7].

Також, з табл 1.2 видно, що при обробці ПАР (0,12 мкг/мл), скла, полістиролу, кахельної плитки та сталі, які отримали на модифікованих середовищах 1 і 2, мали нижчу антиадгезійну активність порівняно з ПАР, синтезованими на базовому середовищі по відношенню до аналогічних тест-культур (*B. subtilis* БТ-2, *S. aureus* БМС-1, *C. albicans* Д-6, *A. niger* Р-3). В результаті при обробці абіотичних матеріалів розчинами таких ПАР адгезія бактерій і грибів була в середньому на 10-20% вищою, ніж після обробки поверхні ПАР, синтезованими на базовому середовищі. Однак при використанні для обробки поверхні розчинів ПАР, отриманих на середовищі 3, адгезія

тест-культур знижувалася лише на 3-10% порівняно з використанням ПАР, синтезованих у базовому середовищі [6,7].

Тож, ПАР, синтезовані на рафінованій і відпрацьованій після смаження картоплі оліях з концентраціями 2% та модифікованих середовищах (середовище 1 - без NaCl, середовище 2 - концентрація NaCl = 2,0 г/л, середовище 3 - додаткове внесення 1,0 г/л KCl) з різною концентрацією катіонів, характеризуються високими антиадгезивними властивостями але ступінь їх прояву залежить від умов культивування, концентрації ПАР у розчині, матеріалу до якого прикріплюються мікроорганізми та особливостей самих тест-культур [6,7].

**Вплив ПАР, синтезованих *A. calcoaceticus* IMB B-7241
на рафінованій або смаженій соняшниковій олії на адгезію мікроорганізмів до абіотичних поверхонь**

Таблиця 1.2

Тест-культура	Середовище	Олія як субстрат	Концентрація ПАР, мкг/мл	Адгезія, %				
				скло	полістирол	плитка	сталь	лінолеум
<i>Bacillus subtilis</i> БТ-2 (спори)	Базове	Рафінована	2,5	Н.в.	34	36	41	33
			1,25	Н.в.	27	47	48	41
		Відпрацьована після смаження картоплі	0,12	68	70	38	26	Н.в.
			1,25	Н.в.	29	49	44	44
			2,5	Н.в.	32	34	48	34
	Середовище 1	Відпрацьована після смаження картоплі	0,12	78	83	61	50	Н.в.
	Середовище 2	Відпрацьована після смаження картоплі	0,12	75	85	62	61	Н.в.
Середовище 3	Відпрацьована після смаження картоплі	0,12	56	79	48	36	Н.в.	
<i>Staphylococcus aureus</i> БМС-1	Базове	Рафінована	2,5	Н.в.	57	58	47	25
			1,25	Н.в.	46	81	56	36
		Відпрацьована після смаження картоплі	0,12	58	75	71	26	Н.в.
			1,25	Н.в.	53	79	51	37
			2,5	Н.в.	56	54	45	25
	Середовище 1	Відпрацьована після смаження картоплі	0,12	58	90	92	50	Н.в.
	Середовище 2	Відпрацьована після смаження картоплі	0,12	87	95	90	67	Н.в.
Середовище 3	Відпрацьована після смаження картоплі	0,12	62	78	70	36	Н.в.	
<i>Candida albicans</i> Д-6	Базове	Рафінована	2,5	Н.в.	46	52	34	47
			1,25	Н.в.	42	49	47	65
		Відпрацьована після смаження картоплі	1,25	Н.в.	Н.в.	48	43	51
			2,5	Н.в.	51	51	40	44
	Середовище 1	Відпрацьована після смаження картоплі	0,12	78	81	63	68	Н.в.
	Середовище 2	Відпрацьована після смаження картоплі	0,12	82	89	70	81	Н.в.
	Середовище 3	Відпрацьована після смаження картоплі	0,12	58	72	59	57	Н.в.

Закінчення табл 1.2

<i>Aspergillus niger</i> P-3	Базове	Рафінована	2,5	Н.в.	60	Н.в.	Н.в.	Н.в.
			1,25	Н.в.	77	Н.в.	Н.в.	Н.в.
		Відпрацьована після смаження картоплі	0,12	76	60	Н.в.	Н.в.	Н.в.
			1,25	Н.в.	51	Н.в.	Н.в.	Н.в.
			2,5	Н.в.	54	Н.в.	Н.в.	Н.в.
		Середовище 1	Відпрацьована після смаження картоплі	0,12	90	79	Н.в.	Н.в.
	Середовище 2	Відпрацьована після смаження картоплі	0,12	86	75	Н.в.	Н.в.	Н.в.
	Середовище 3	Відпрацьована після смаження картоплі	0,12	82	68	Н.в.	Н.в.	Н.в.

Примітка: Н.в. – не визначали.

1.2.4. Деструкція біоплівки

Дослідження [6-8], свідчить про те, що ПАР синтезовані *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241, можуть ефективно руйнувати бактеріальні біоплівки при низьких концентраціях, за умов культивування на смаженій олії.

Як видно з даних, наведених у табл. 1.3, деструкція біоплівки *B. subtilis* ВТ-2 при застосуванні ПАР, які отримали при культивуванні на смаженій соняшниковій олії, була вищою на 6-15% при всіх вивчених концентраціях ПАР (29-233 мкг/мл) у порівнянні зі значеннями, отриманими при застосуванні ПАР, синтезованих на рафінованій олії. Розглядаючи деструкції біоплівки *S. aureus* ВМС-1, при застосуванні ПАР, отриманих на смаженій соняшниковій олії, було на 4-11% результативніше, ніж при застосуванні ПАР, отриманих на рафінованій олії, тільки при більш високих концентраціях ПАР (116-233 (мкг/мл)). Найвищого результату руйнування біоплівки *E. coli* ІЕМ-1 (83%) було досягнуто при мінімальній концентрації ПАР (29 мкг/мл), отриманому на смаженій олії. Ступінь деструкції біоплівки *E. cloacae* С-8, при застосуванні концентрацій ПАР 116-233 мкг/мл була ідентичною для ПАР, синтезованих на рафінованій та смаженій олії (52-55%). Втім, при застосуванні нижчих концентрацій ПАР (29-58 мкг/мл), отриманих при культивуванні штаму на смаженій олії, ступінь деструкції була більш результативнішою для цієї тестової культури [6, 7].

Також, з табл. 1.3 при розгляді ПАР отриманих на модифікованих середовищах було виявлено, що синтезовані ПАР в середовищі 3, мали найменший вплив на руйнування біоплівок *S. aureus* ВМС-1 і *C. albicans* Д-6, зі ступенем руйнування в межах 6-22% у досліджуваному діапазоні концентрацій (37-296 мкг/мл). Натомість, у *B. subtilis* ВТ-2 руйнування біоплівки було найвищим (50-53%) у присутності ПАР, синтезованих у середовищі 3. ПАР, синтезовані в середовищах 1 і 2, мали дещо інший вплив на руйнування біоплівок тест-культури порівняно з ПАР, синтезованими в базовому середовищі, з різницею лише в кілька відсотків при аналогічних концентраціях (37-74 мкг/мл) [6-8].

ПАР, синтезовані на базових (рафінована (2%) і відпрацьована після смаження оліях (2%) (NaCl – 1,0 г/л та без KCl) та модифікованих середовищах (середовище 1 -

без NaCl, середовище 2 - концентрація NaCl = 2,0 г/л, середовище 3 - додаткове внесення 1,0 г/л KCl), характеризуються антиадгезивними властивостями, що сприяють деструкції біоплівки, але ступінь їх прояву залежить від якості використаної олії як субстрату (рафінованої або смаженої), концентрації ПАР та типу тестової культури [6-8].

Вплив ПАР, синтезованих *A. calcoaceticus* IMB В-7241 на рафінованій та смаженій соняшниковій олії на руйнування бактеріальних біоплівок

Таблиця 1.3

Тест-культура	Середовище	Олія як субстрат	Деструкція біоплівки (%) при концентрації поверхнево-активної речовини (мкг/мл)					
			29	37	58	116	148	233
<i>Bacillus subtilis</i> БТ-2 (спори)	Базове	Рафінована	5	Н.в.	7	37	Н.в.	48
		Відпрацьована після смаження картоплі	11	19	19	47	45	63
	Середовище 1	Відпрацьована після смаження картоплі	Н.в.	23	Н.в.	Н.в.	45	Н.в.
	Середовище 2	Відпрацьована після смаження картоплі	Н.в.	22	Н.в.	Н.в.	47	Н.в.
	Середовище 3	Відпрацьована після смаження картоплі	Н.в.	52	Н.в.	Н.в.	51	Н.в.
<i>Staphylococcus aureus</i> БМС-1	Базове	Рафінована	52	Н.в.	53	53	Н.в.	55
		Відпрацьована після смаження картоплі	36	36	38	57	57	66
	Середовище 1	Відпрацьована після смаження картоплі	Н.в.	27	Н.в.	Н.в.	35	Н.в.
	Середовище 2	Відпрацьована після смаження картоплі	Н.в.	34	Н.в.	Н.в.	14	Н.в.
	Середовище 3	Відпрацьована після смаження картоплі	Н.в.	6	Н.в.	Н.в.	18	Н.в.
<i>Candida albicans</i> Д-6	Базове	Рафінована	Н.в.	Н.в.	Н.в.	Н.в.	Н.в.	Н.в.
		Відпрацьована після смаження картоплі	Н.в.	24	Н.в.	Н.в.	39	Н.в.
	Середовище 1	Відпрацьована після смаження картоплі	Н.в.	24	Н.в.	Н.в.	46	Н.в.
	Середовище 2	Відпрацьована після смаження картоплі	Н.в.	27	Н.в.	Н.в.	45	Н.в.
	Середовище 3	Відпрацьована після смаження картоплі	Н.в.	14	Н.в.	Н.в.	20	Н.в.
<i>Escherichia coli</i> ІЕМ-1	Базове	Рафінована	50	Н.в.	54	67	Н.в.	75
		Відпрацьована після смаження картоплі	83	Н.в.	42	33	Н.в.	25
<i>Enterobacter cloacae</i> С-8	Базове	Рафінована	24	Н.в.	29	52	Н.в.	54
		Відпрацьована після смаження картоплі	32	Н.в.	47	53	Н.в.	55

Примітка: Н.в.- не визначали.

1.3. Роль поверхнево-активних речовин у деструкції нафтових забруднень

Згідно дослідженню [7,14] було з'ясовано, що поверхнево-активної речовини *A. calcoaceticus* IMV B-7241 відіграють важливу роль у деструкціях нафтових забруднень у навколишньому середовищі.

Одним із механізмів підвищення розкладання нафти є активація природної мікробіоти, що окислює нафту, під дією ПАР, які отримують культивуючи *A. calcoaceticus* IMV B-7241 на відходах соняшникової олії різної концентрації (2-4%). Однак слід враховувати той факт, що висока антимікробна активність ПАР іноді може негативно впливати на швидкість процесу очищення через руйнуючий вплив на деструкторів мікроорганізмів [7].

Спираючись на джерело інформації [7] та табл 1.1 стає зрозуміло те, що при збільшенні концентрації відпрацьованої олії в середовищі до 4 % утворювалися ПАР з низькою антимікробною активністю, за присутності яких ступінь руйнування нафти у воді (при концентраціях 3-6 г/л) досягало 80-88% на 20 добу, що на 10-16% вище, ніж при використанні ПАР, синтезованих у середовищі з 2% концентрацією масла, а загальна кількість мікроорганізмів, що збереглися до закінчення експерименту у присутності ПАР, синтезованих на смаженій олії (4%), в порівнянні з початковою концентрацією ($2.6 \cdot 10^4$) становила 10-16% (Колонієутворююча одиниця (КУО/м = $(3,1 \pm 0.15) \cdot 10^6$)) і в 1,3-1,5 разів перевищували встановлені значення для ПАР, отриманих в середовищі де концентрація субстрату нижча (2%) (КУО/м = $(2,2 \pm 0,15) \cdot 10^6$). Заміна рафінованої олії на смажену відпрацьовану олію з аналогічними концентраціями (2%), також дає можливість отримати ПАР, які також здатні руйнувати біоплівки нафти [7].

Отже, ПАР синтезовані на відходах соняшникової (2% чи 4% з концентрацією NaCl – 1,0 г/л, але без KCl) та рафінованої (2%) оліях, характеризуються антимікробною активністю але ступінь їх прояву залежить від концентрації використаною олії (2 чи 4%) так, як при підвищенні концентрації відпрацьованої олії в живильному середовищі призводить до утворення ПАР із низькою антимікробною активністю, які

не мають негативного впливу на природні мікроорганізми-деструктори, що є особливо важливим при деструкції саме нафтових забруднень у воді [7].

Підводячи підсумки, щодо властивостей поверхнево-активних речовин *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241, синтезованих на олієвмісних субстратах з впевненістю можна сказати, що дані ПАР володіють антимікробною та антиадгезивною активністю, яка дозволяє використовувати їх при боротьбі з прикріпленням до поверхонь патогенних мікроорганізмів, а також у деструкції біоплівки та при нафтових забрудненнях води. Без сумніву першість ПАР *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241 здобуває завдяки регуляції антимікробної та антиадгезивної активності в процесі культивування, при зміні у середовищі концентрації катіонів, які є інгібіторами/активаторами ферментів, відповідальних за синтез складових комплексу ПАР, яким притаманні певні біологічні властивості [6-8,13].

РОЗДІЛ 2. ОБГРУНТУВАННЯ ВИБОРУ БІОЛОГІЧНОГО АГЕНТА

Використання мікробних поверхнево-активних речовин (ПАР) гальмується через значні витрати на культивування їх продуцентів, що пояснюється використанням дорогих субстратів, процесу очищення та отриманням, в кінцевому результаті не високої концентрації ПАР. Тож, для обрання найкращого біологічного агента, слід звернути увагу на дані проблеми та об'єктивно оцінити можливості культивування відповідного штаму [15].

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

Під час огляду літературних джерел, було виявлено, що поверхнево-активні речовини *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241, *Pseudomonas aeruginosa* P6, *Pseudomonas aeruginosa* WO2 та *Pseudomonas aeruginosa* AMB AS7 є ефективними антимікробними агентами, які здатні до деструкції біоплівки сформованими бактеріями, наприклад, *Escherichia coli* [6,16-19]. Але лише поверхнево-активні речовини, синтезовані *A. calcoaceticus* IMB B-7241, виявили синергізм з клотримазолом, флуконазолом, ефірною олією кориці або лемонграсу, що значно покращує та розширює спектр їх дії та є однією з переваг даного штаму [8].

Підібрані штами можна культивувати на відходах виробництва, а саме оліях різного походження але в цьому випадку слід враховувати той момент, що Україна є найбільшим виробником соняшникової олії [20], тому при пошуку та закупівлі таких олій, як кокосова для *P. aeruginosa* AMB AS7 чи ріпакова для *P. aeruginosa* P6 можуть виникнути незначні складнощі з пошуком іноземного постачальника та тривалістю доставки олій, які є джерелом вуглецю в середовищах (табл. 2.1).

Як видно з даних, наведених у табл. 2.1, максимальна концентрація синтезованих поверхнево – активних речовин виявлена у *A. calcoaceticus* IMB B-7241 (7,7 г/л), а мінімальна у – *P. aeruginosa* WO2 (3,03 г/л), а склад середовища для кожного штаму є індивідуальним, як і час його культивування.

					<i>НУХТ БТЕК 04.01.02 КР ПЗ</i>			
<i>Змн.</i>	<i>Лст.</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис.</i>	<i>Дата.</i>				
<i>Розробив</i>		Дон Є.А.			РОЗДІЛ 2. ОБГРУНТУВАННЯ ВИБОРУ БІОЛОГІЧНОГО АГЕНТА	<i>Літ.</i>	<i>Арк.</i>	<i>Аркушів</i>
<i>Перевірив</i>		Пироз Т.П.					205	118
<i>Реценз.</i>						<i>Кафедра БТМ</i>		
<i>Н.контр</i>								
<i>Затверд.</i>		Стадніков В.П.						

Особливості одержання поверхнево-активних речовин на олієвмісних субстратах

Таблиця 2.1

Біологічний агент	Склад поживного середовища:		Тривалість культивування, год	Концентрація ПАР, г/л	Особливості процесу біосинтезу	Використана література
	компонент	концентрація, г/л				
1	2	3	4	5	6	7
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> IMB B-7241	Пересмажена соняшникова олія	2% (об'ємна частка)	120	7,7	В колбах об'ємом 750 мл зі 100 мл середовища на качалках (320 об/хв) при 30 °C упродовж 5 діб	Pirog T.P., Lutsai D.A., Shevchuk T.A., Iutynska G.O. Synthesis and biological activity of <i>Acinetobacter Calcoaceticus</i> IMV B -7241 surfactants depending on monovalent cations content in cultivation medium. <i>Mikrobiol. Z.</i> 2021, 83(2): 20-31. doi: https://doi.org/10.15407/microbiolj83.02.020
	(NH ₂) ₂ CO	0,35				
	NaCl	1,0				
	KCl	1,0				
	Na ₂ HPO ₄ ·12H ₂ O	0,6				
	KH ₂ PO ₄	0,14				
	MgSO ₄ ·7H ₂ O	0,1				
	Дріжджовий автолізат	0,5% (об'ємна частка) або 0,25 г				
	ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0,011				
	MnSO ₄ ·H ₂ O	0,006				
	FeSO ₄ ·7H ₂ O	0,001				
	CuSO ₄ ·5H ₂ O	0,00004				
	CoSO ₄ ·7H ₂ O	0,0003				
	H ₃ BO ₃	0,00006				
KI	0,000001					
ЕДТА (Трилон Б)	0,005					
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> P6	Відпрацьована ріпакова олія	3% (об'ємна частка)	336	3,6	Культивування в колбах Ерленмейєра 500 мл, що містить 100 мл середовища на качалці (t = 37 °C; n = 200 об/хв)	Pérez- Armendáriz B., Cal -y- Mayor -Luna C., Girgis El- Kassis E., Daniel Ortega -Martínez L. Use of waste canola oil as a low -cost substrate for rhamnolipid production using <i>Pseudomonas aeruginosa</i> . <i>AMB Expr.</i> 2019, 9(1): 61. doi: 10.1186/s13568-019-0784-7
	K ₂ HPO ₄	1				
	KH ₂ PO ₄	1				
	MgSO ₄ ·7H ₂ O	0,41				
	NaNO ₃	4				

Закінчення табл. 2.1

<i>Pseudomonas aeruginosa</i> WO2	Відпрацьована олія NaCl KH ₂ PO ₄ K ₂ HPO ₄ MgSO ₄ ·7H ₂ O Пептон	10 10 2 2 0,5 5	120	3,03	Культивування в колбах на качалці (t = 37±2 C°, n = 180 об/хв)	Shi S., Teng Z., Liu J., Li T. Conversion of Waste Cooking Oil to Rhamnolipid by a Newly Oleophilic <i>Pseudomonas aeruginosa</i> WO2. <i>Int. J. Environ. Res. Public Health</i> . 2022, 19(3): 1700. doi: 10.3390/ijerph19031700
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> AMB AS7	Відходи виробництва кокосової олії Na ₂ HPO ₄ KH ₂ PO ₄ NaCl NaNO ₃ MgSO ₄ ·7H ₂ O CaCl ₂ ·2H ₂ O	2% (об'ємна частка) 6,0 3,0 0,5 0,1 0,24 0,01	60	5,53	Культивування в біореакторі BioEngineering об'ємом 3,1 л (модель KLF 2000) з робочим об'ємом 2,5 л, (t = 37C°, n = 450 об/хв)	Samykanu M., Achary A. Utilization of Agro-Industry Residue for Rhamnolipid Production by <i>P. aeruginosa</i> AMB AS7 and Its Application in Chromium Removal. <i>Appl Biochem Biotechnol</i> . 2017, 183(1): 70-90. doi: 10.1007/s12010-017-2431-6

Для подальшого вибору найкращого біологічного агента, розрахуємо вартість поживних середовищ для культивування обраних нами продуцентів (табл 2.2) .

Дані, наведені у табл. 2.2, свідчать, що середовище для культивування для *A. calcoaceticus* IMB B-7241 є значно дешевшим, ніж для *P. aeruginosa* P6 та *P. aeruginosa* AMB AS7. Однак, тривалість культивування є найнижчою для штаму *P. aeruginosa* AMB AS7, ніж для штаму *A. calcoaceticus* IMB B-7241.

Таблиця 2.2

Вартість поживних середовищ для культивування продуцентів ПАР

Продуцент	Компонент поживного середовища	Концентрація, г/л	Ціна компонента грн/кг	Вартість компонента (грн) на 1 л середовища	Джерело інформації
1	2	3	4	5	6
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> IMB B-7241	Пересмажена соняшникова олія	2%	5 грн/л	0,10	https://flagma.ua/uk/kupuemo-perezharenu-oliyu-o7701322.html
	(NH ₂) ₂ CO	0,35	46,20	0,02	https://www.systopt.com.ua/item-sechovyna
	NaCl	1,0	15	0,02	https://prom.ua/p687151067-sol-pischevaya-povarennaya.html
	KCl	1,0	65,70	0,07	https://www.systopt.com.ua/ru/item-kalij-hlorystyj
	Na ₂ HPO ₄ ·12H ₂ O	0,6	99	0,06	https://www.systopt.com.ua/ru/item-natrij-fosfornokyslyj-fosfat-natriyu-dvozamishhenyj-12-vodnyj
	KH ₂ PO ₄	0,14	124	0,02	https://prom.ua/p569679738-monokalijfosfat.html
	MgSO ₄ ·7H ₂ O	0,1	34	0,03	https://td-everest.com.ua/p1387042939-sulfat-magniya-semivodnyj
	Дріжджовий автолізат	0,25	1964	0,49	https://tabletki.ua/Автолизат-пивных-дрожжей-Натурель/1043370/
	ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0,011	21,90	0,01	https://www.systopt.com.ua/item-magnij-sirchanokyslyj-7-vodnyj-sulfat-magniyu
	MnSO ₄ ·H ₂ O	0,006	43	0,01	https://prom.ua/p47505427-sulfat-margantsa.html
	FeSO ₄ ·7H ₂ O	0,001	36,60	0,01	https://www.systopt.com.ua/ru/item-zalizo-sirchanokysle-7-vodne?gclid=EA1aIQobChMI4NqB7IWcQIVNQuiAx0z6Q8hEAAAYASAAEgKs2PD_BwE
	CuSO ₄ ·5H ₂ O	0,00004	115	0,01	https://www.covalent.com.ua/ru/shop/copper_sulfate/
	CoSO ₄ ·7H ₂ O	0,0003	17,5	0,01	https://prom.ua/p670657017-sulfat-kobalta-20kg.html?&primelead=MC44NQ

Закінчення табл. 2.2

	H_3BO_3	0,00006	73,80	0,01	https://www.systopt.com.ua/item-bornakyslota
	KI	0,000001	2300	0,01	https://www.covalent.com.ua/ru/shop/potassium-iodide/
	ЕДТА (Трилон Б)	0,005	50	0,01	https://prom.ua/p1505121541-trilon-dinatrievaya-sol.html?&primelead=Mi4x
	Вартість 1 л середовища – 0,89 грн				
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> P6	Відпрацьована ріпакова олія	3%	21,57	0,65	https://flagma.pl/ru/maslo-rapsa-tehnicheskoe-o1776288.html
	K_2HPO_4	1	150	0,03	https://runainter.com/ua/p818241697-kalij-fosfomokislyj-zameschennyj.html
	KH_2PO_4	1	124	0,12	https://prom.ua/p569679738-monokalijfosfat.html
	$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0,41	34	0,01	https://td-everest.com.ua/p1387042939-sulfat-magniia-semivodnyj.html?source=merchant_center&gclid=EAIaIQobChMI-q2WycSN_QIVm9wYCh3KpgFUEAQYASABEGLSZvD_BwE
	$NaNO_3$	4	61	0,24	https://prom.ua/p1716959893-nitrit-natriya.html
Вартість 1 л середовища – 1,05 грн					
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> AMB AS7	Відходи виробництва кокосової олії	2%	13,32	0,27	https://www.indiamart.com/prod-detail/used-oil-22249784330.html
	Na_2HPO_4	6,0	99	0,59	https://www.systopt.com.ua/ru/item-natrij-fosfomokislyj-fosfat-natriyu-dvozamishhenyj-12-vodnyj
	KH_2PO_4	3,0	124	0,37	https://prom.ua/p569679738-monokalijfosfat.html
	NaCl	0,5	15	0,01	https://prom.ua/p687151067-sol-pischevaya-povarennaya.html
	$NaNO_3$	0,1	61	0,01	https://prom.ua/p1716959893-nitrit-natriya.html
	$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0,24	34	0,01	https://td-everest.com.ua/p1387042939-sulfat-magniia-semivodnyj.html?source=merchant_center&gclid=EAIaIQobChMI-q2WycSN_QIVm9wYCh3KpgFUEAQYASABEGLSZvD_BwE
	$CaCl_2 \cdot 2H_2O$	0,01	14,50	0,01	https://www.covalent.com.ua/ru/shop/calcium-chloride-technical/
	Вартість 1 л середовища – 1,27 грн				

Для фінального визначення кращого продуцента поверхнево-активних речовин знайдемо вартість 1 г цільового продукту (табл. 2.3). З даних, що наведені у табл. 2.3, стає зрозумілим, що умовна вартість цільового продукту є мінімальною для

A. calcoaceticus IMB B-7241 (0,116 грн/г), а кількість утворених поверхнево – активних речовин за одну годину є максимальною для *P. aeruginosa* AMB AS7 (0,092 грн/г).

Таблиця 2.3

**Умовна вартість 1 г поверхнево-активних речовин,
синтезованих на олієвмісних субстратах**

Біологічний агент	Концентрація ПАР, г/л	Тривалість культивування, год	Кількість утворених ПАР за годину, г/год	Вартість 1 л середовища, грн/л	Умовна вартість 1 г цільового продукту, грн/г
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> IMB B-7241	7,7	120	0,064	0,89	0,116
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> P6	3,6	336	0,011	1,05	0,292
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> AMB AS7	5,53	60	0,092	1,27	0,230

Таким чином, на основі аналізу даних, наведених у табл. 2.2 і 2.3, можна з впевненістю сказати, що *A. calcoaceticus* IMB B-7241 є найперспективнішим, серед наведених штамів так, як має переваги щодо біологічної активності у руйнуванні біоплівки, культивуванні, що зумовлено використанням пересмаженої соняшникової олії, яка значно здешевшує процес, а також, має найнижчу умовну вартість поверхнево-активних речовин, що у подальшому приверне увагу покупців [6, 8,17-20].

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

Бактерії *Acinetobacter calcoaceticus* належать до паличок із закругленими кінцями (1,0-1,5 мм x 1,5-2,5 мм), які при старінні стають коками (1,0-1,5 мм x 1,5-2,5 мм), часто розташовані парами або короткими ланцюжками [21,22]. Бактерії є грам-негативними у молодому віці, а при старінні стають грам-позитивними, притаманна твічінг-рухливість (ковзання) за рахунок утворення слизу та капсули. В *Acinetobacter* виявлено 23 види плазмід і нездатність до утворювання спор.

На кров'яному агарі *Acinetobacter calcoaceticus*, при 30°C, утворює маленькі, сірі, гладкі колонії, які не викликають змін у крові (Рис. 2.1). У рідких середовищах переважають палички, особливо під час раннього зростання [21-23].



Рис. 2.1 Колонії *Acinetobacter calcoaceticus* на кров'яному агарі [23]

Acinetobacter calcoaceticus належить до виключно строгих аеробних бактерій, оптимальна температура росту для якого становить 30°C (мезофіл), а оптимальне значення рН = 6,8 – 7 (нейтрофіл). При аналізі джерел інформації зростання [21-23] було з'ясовано, що бактерія відноситься до неферментуючих, індол – негативних, оксидазонегативних бактерій. *Acinetobacter* є резистентними до дії антибіотиків (ампіциліну, карбеніциліну, цефокситину, гентаміцину, хлорамфеніколу) та здатен до асиміляції різноманітних середовищ, починаючи простими вуглеводами, наприклад глюкозою та закінчуючи тканиною людини зростання [21-23].

2.3 Таксономічний статус біологічного агента

Штам *Acinetobacter calcoaceticus* К-4 був ізольований з зразків ґрунту, які містили забруднення нафтою, зареєстрований в Депозитарії мікроорганізмів Інституту мікробіології та вірусології Національної академії наук України під номером ІМВ В-7241 [12]. Штам *Acinetobacter calcoaceticus* К-4 був класифікований з використанням другого видання Керівництва Бергі і має таксономічний статус, який визначений на основі аналізу генетичних послідовностей, зокрема гена 16S рРНК [24]:

Домен – *Bacteria*

Відділ – *Gracilicutes*

Клас – *Pseudomonadales*

Родина – *Moraxellaceae*

Рід – *Acinetobacter*

РОЗДІЛ 3. БІОСИНТЕЗ ЦІЛЬОВОГО ПРОДУКТУ

3.1. Шлях катаболізму ростового субстрату біологічним агентом

Ростовим субстратом для біосинтезу поверхнево-активних сполук за рахунок *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241 є токсичні олієвмісні відходи [6]. Так, як поліненасичена лінолева кислота складає 62% відходів [25], тому катаболізм розпочинається саме з неї.

У зв'язку з відсутністю інформації у Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) про шляхи катаболізму ростового субстрату для штаму *A. calcoaceticus* IMB B-7241 для побудови шляху метаболізму ліноленової кислоти обираємо близькостпоріднені мікроорганізми *Acinetobacter calcoaceticus* BUM88_00505 і *Acinetobacter calcoaceticus* BUM88_01440 [26].

Згідно з KEGG катаболізм вищих жирних кислот (ліноленова кислота) відбувається шляхом β -окиснення. Так, за допомогою специфічного ферменту ацил-КоА-синтетази (тіокінази) (КФ 6.2.1.3) відбувається активація жирної кислоти з утворенням ацетил-КоА, який в подальшому вступає в реакцію окиснення [27].

Далі ацетил-КоА за рахунок ферменту ацил-КоА-дегідрогенази (КФ 1.3.99.3) перетворюється на 2,3-транс-еноїл-КоА, який в свою чергу під дією еноїлгідратази (3-оксиацил-КоА-гідролази (КФ 4.2.1.17)) трансформується в 3-оксиацилу-КоА (β -гідроксиацил-КоА).

За рахунок оксидоредуктази (3-гідроксиацил-КоА-дегідрогенази (КФ 1.1.1.35)) з 3-оксиацил-КоА утворюється 3-кетואцил-КоА (β -кетואцил-КоА), який за участі ферменту β -кетואцил-КоА-тіолази (КФ 2.3.1.16) та молекули КоА розщеплюється до ацетил-КоА [27]. Схему катаболізму жирної кислоти продемонстровано на рис. 4.1

					<i>НУХТ БТЕК 04.01.02 КР ПЗ</i>			
<i>Змн.</i>	<i>Лист.</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>				
<i>Розробив</i>	Дон Є.А.				РОЗДІЛ 3. БІОСИНТЕЗ ЦІЛЬОВОГО ПРОДУКТУ	<i>Літ.</i>	<i>Арк.</i>	<i>Акрушів</i>
<i>Перевірів</i>	Пирог Т.П.						32	118
<i>Реценз.</i>						<i>Кафедра БТМ</i>		
<i>Н.контр</i>						32		
<i>Затверд.</i>	Стадніков В.П.							

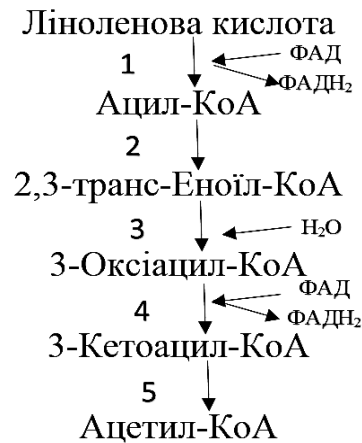


Рис.4.1 Катаболізм ліноленової кислоти

Ферменти: 1- ацил-КоА-синтетаза (тіокіназа) (КФ 6.2.1.3); 2 - ацил-КоА-дегідрогеназа (КФ 1.3.99.3); 3- еноїлгідратаза (3-оксиацил-КоА-гідролази (КФ 4.2.1.17)); 4- еноїлгідратаз (3-гідроксиацил-КоА-дегідрогеназа) (КФ 1.1.1.35); 5- β -кетоацил-КоА-тіолази (КФ 2.3.1.16)

3.2. Біотрансформація ростового субстрату у цільовий продукт

При рості *A. calcoaceticus* IMB B-7241 на олієвмісних відходах, які представленні пересмаженою олією, у результаті катаболізму лінолевої кислоти, утворюється ацетил-КоА, який залучається до циклу трикарбонових кислот (ЦТК) та з якої утворюється 3-оксо-2-додеканоїлдокозанова кислота, яка в подальшому перетворюється на міколову кислоту [28,29].

За відсутності інформації у KEGG про шляхи біотрансформації ростового субстрату у штаму *A. calcoaceticus* IMB B-7241 тому для подальшої побудови шляху метаболізму оберемо *Acinetobacter calcoaceticus* BUM88_15550 та BUM88_05550 [26].

При рості на пересмаженій олії гліюксилатний цикл як анаплеротична послідовність забезпечує поповнення інтермедіату ЦТК, а саме оксалоацетату, що синтезується за допомогою ізоцитратліази (КФ 4.1.3.1), малатсинтетази (КФ 2.3.3.9) та малатдегідрогенази (КФ 1.1.1.37) [30,31].

Для утворення фосфоенолпірувату (ФЕП), 3-фосфогліцерату, фруктозо-6-фосфату і глюкозо-6-фосфату необхідно забезпечити функціонування глюконеогенезу. Ключовим ферментом в цих реакціях є фосфоенолпіруваткарбоксикіназа (КФ 4.1.1.49) під впливом якого оксалоацетат перетворюється на ФЕП [32].

Поверхнево - активні речовини (ПАР), синтезовані *A.calcoaceticus* ІМВ В-7241, представлені комплексом основним компонентом, якого є трегалозомономіколати [29].

Згідно [29,32,33] у *A.calcoaceticus* ІМВ В-7241 проходить перетворення глюкозо-6-фосфат у глюкозо-1-фосфат за участю ферменту фосфоглюкомутази (КФ 5.4.2.2). Після чого глюкозо-1-фосфат за допомогою глюкозо-1-фосфатуридилтрансферази (УТФ) (КФ 2.7.7.9) перетворюється в уридин-дифосфат глюкозу (УДФ-глюкозу).

В подальшому за участі глюкозо-6-фосфату і УДФ-глюкози відбувається синтез трегалозо-6-фосфату за рахунок ферменту трегалозофосфатсинтази (КФ 2.4.1.15), яка в подальшому переходить у трегалозо-6-міколат з подальшим перетворенням у трегалозо-6-фосфат-6-міколат [29,30].

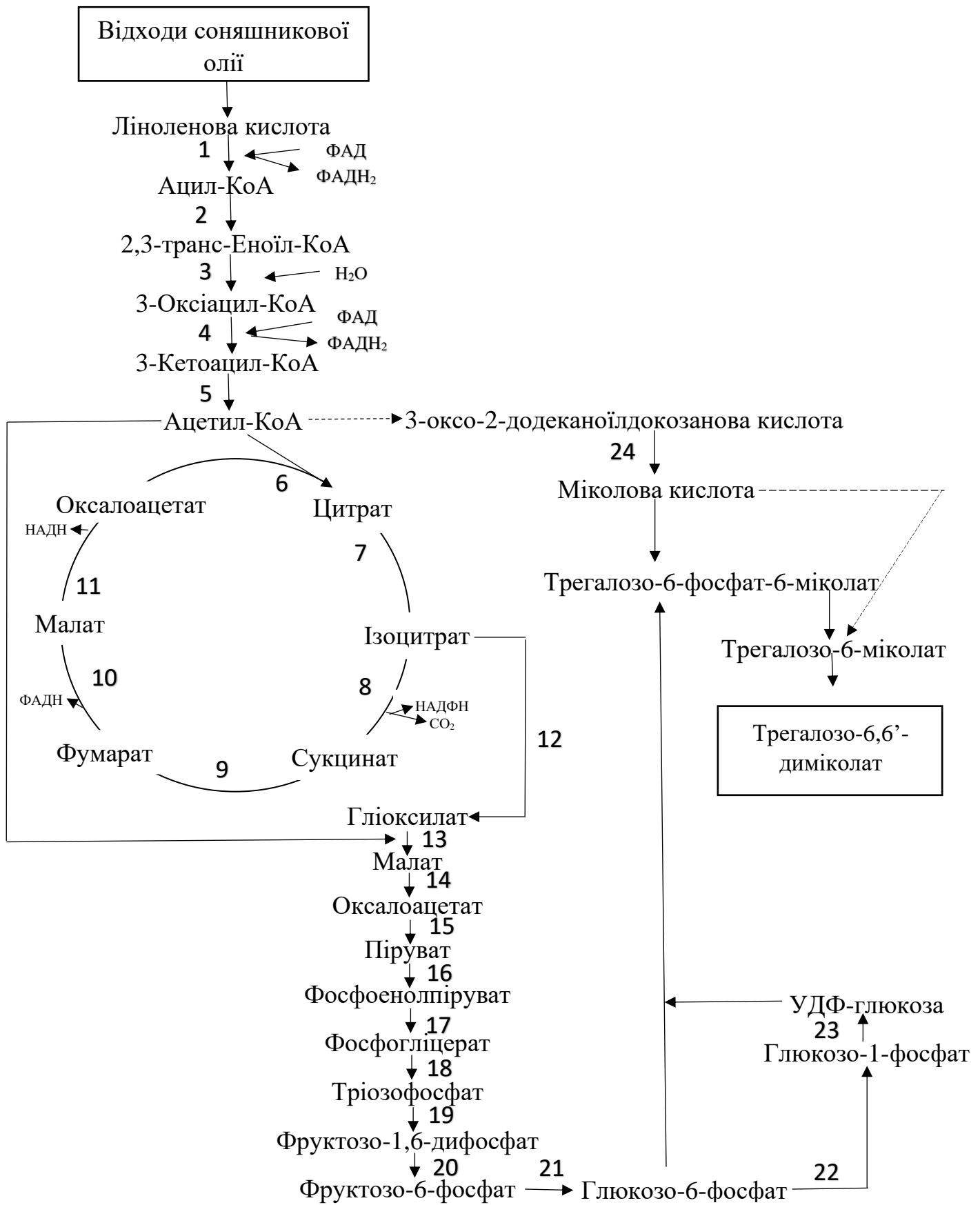


Рис. 4.2. Схема біосинтезу трегалозоміколатів з пересмаженої олії у *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241

Ферменти:

1. КФ 6.2.1.3 ацил-КоА-синтетаза; **2.** КФ 1.3.99.3 ацил-КоА-дегідрогеназа; **3.** КФ 4.2.1.17 3-оксиацил-КоА-гідролази; **4.** КФ 1.1.1.35 еноїлгідратаза; **5.** КФ 2.3.1.16 β -кетואцил-КоА-тіолази; **6.** КФ 2.3.3.1 Цитратсинтетаза; **7.** КФ 4.2.1.3 Аконітатгідратаза; **8.** КФ 1.1.1.42 Ізоцитратдегідрогеназа; **9.** КФ 1.3.5.1 Сукцинатдегідрогеназа; **10.** КФ 4.2.1.2 Фумаратгідратаза; **11.** КФ 1.1.1.37 Малатдегідрогеназа; **12.** КФ 4.1.3.1 Ізоцитратліаза; **13.** КФ 2.3.3.9 Малатсинтетаза; **14.** КФ 1.1.1.37 Малатдегідрогеназа; **15.** КФ 2.6.1.1 Ксалоацетаттрансaminaза; **16.** КФ 2.7.1.40 Піруваткіназа; **17.** КФ 5.4.2.11 Фосфогліцератфосфомутаза; **18.** КФ 2.7.2.3 Фосфогліцераткіназа; **19.** КФ 1.2.1.12 Гліцеральдегід-3-фосфатдегідрогеназа; **20.** КФ 4.1.2.13 Фруктозодифосфатальдолаза; **21.** КФ 3.1.3.11 Фруктозодифосфатаза; **22.** КФ 5.3.1.9 Глюкозо-6-фосфатізомераза; **23.** КФ 5.4.2.2 Фосфоглюкомутаза; **24.** КФ 1.1.1.35 3-гідроксиацил-КоА-дегідрогеназа.

РОЗДІЛ 4. ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ

4.1. Потреби в мікробних поверхнево-активних речовинах

Наразі, потреба в мікробних ПАР зумовлена тим, що найпоширенішою проблемою у світі є алергія на мийні засоби. Так, згідно досліджень Європейської академії алергії та клінічної імунології, більше ніж 150 мільйонів громадян ЄС страждають даним захворюванням, а за прогнозами до 2025 року дана статистика збільшиться у двічі [34].

Вирішенням даної проблеми є використання мікробних ПАР у мийних засобах які набули популярності через свої переваги над хімічно отриманими ПАР, а саме [1 35,36]:

-Низька токсичність і біосумісність: гарантує, що миючі засоби, що містять мікробні ПАР є безпечними для використання, що в свою чергу знижує ймовірність прояву алергічних реакцій людини на засіб.

-Екологічно сумісні: ПАР отриманні мікробним шляхом, на відміну від синтетичних ПАР мають здатність руйнуватися природним шляхом у навколишньому середовищі, що зводить до мінімуму шкоду для екосистем під час утилізації миючих засобів.

-Толерантність до широкого діапазону температур та рН: дозволяє збільшити термін зберігання миючих засобів.

Наразі, в Україні налічується близько 30 000 закладів освіти [37], де проводяться прибирання з використанням миючих засобів, в які входять хімічно синтезовані ПАР (через їх невисокі ціни), що ставить під загрозу здоров'я освітян та дітей через можливий контакт з поверхнями, які обробляються даними засобами та через вдихання випаровувань хімічних речовин, що в подальшому приведуть до виникнення алергії.

Тож, пропонуємо використовувати мікробні ПАР у якості домішок у мийно-дезінфікуючих засобах, які будуть використовуватися при прибираннях (підлоги

					<i>НУХТ БТЕК 04.01.02 КР ПЗ</i>			
<i>Змн.</i>	<i>Лист.</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>				
<i>Розробив</i>		Дон Є.А.			РОЗДІЛ 4. ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ	<i>Літ.</i>	<i>Арк.</i>	<i>Аркушів</i>
<i>Перевірив</i>		Пирог Т.П.					37	118
<i>Реценз.</i>						<i>Кафедра БТМ</i>		
<i>Нконтр</i>						37		
<i>Затверд.</i>		Стадніков В.П.						

(кахель і лінолеум) та стін (кахель) в закладах освіти, у зв'язку з можливістю виникнення алергії у дітей та співробітників на хімічно синтезовані ПАР та з метою забезпечення кращого освітнього простору [1, 34].

4.2. Розрахунок потужності виробництва поверхнево-активних речовин для обробки поверхонь у закладах освіти

Проаналізувавши ринок України було виявлено, що власне виробництво ПАР в нашій країні є мінімальним, що забезпечує власні потреби але більшість ПАР, що представлені на ринку є імпортованими з провідних країн, а саме: США (The Dow Chemical Company), Британія (Croda International) та Німеччини (BASF) [38-40]:

Знаючи те, що хімічні ПАР часто додаються, як домішки до мийно-дезінфікуючих засобів концентрація яких сягає до 5% [41], пропонуємо замінити їх на ПАР *Acinetobacter calcoaceticus* ІМВ В-7241, які є природними, нетоксичними та є значно дешевими через можливість отримання на відходах виробництва .

Беручи до уваги кількість закладів освіти, ми не зможемо замінити усі миючі засоби мікробними ПАР, тому для коректності підрахунків розглянемо середню загальноосвітню школу №162 Святошинського району м. Київ [42], загальна площа якої становить 11827,8 м² освітній процес у якої організований у 2 зміни (в середньому 9 уроків на день). На території школи знаходиться басейн площею 2093,2 м², який у вільний від уроків час здається в оренду ДЮСШ № 25. Отже, в середньому в басейні проходить 6 уроків (3 уроки на 1 зміні і 3 уроки на 2 зміні) учнів школи і 3 тренування орендаторів, а також укриття (1200 м²), яке можуть відвідувати люди з найближчих будинків [43]. В школі на протязі року працюють різноманітні гуртки (танці, айкідо, плавання, театральна школа та інше), відвідування яких можливе в канікулярний період [44].

Прибирання в школі проводиться миючим засобом «Bilysna surface aroma (Білизна поверхня (грейпфрут))» [45], який рекомендований СЕС України [46].

Проведемо розрахунки щодо необхідності «Bilysna surface aroma» для обробки кахелю (підлога та стіни (h= 3 м)) на рік, враховуючи кількість робочих днів школи становить 365 днів, з яких 300 днів (табл. 4.1), на території присутні діти і вчителі, а влітку, в середньому 65 днів (табл. 4.2). школу готують до нового навчального року, тобто в закладі присутні виключно технічний персонал, вчителі і адміністрація.

**Дані щодо обробки середньої загальноосвітньої школи №162 Святошинського району м. Київ під час
повного завантаження закладу**

Таблиця 4.1

Назва приміщення	S приміщення, м ² (підлога: кахель, лінолеум)	S приміщення, м ² (стіни: кахель) м ²	Кількість днів при повній наповненості школи	Кількість прибирань за день	Концентрація засобу, %	Кількість засобу на 10 л розчину, л	Кількість засобу для підлоги за день, л	Кількість засобу для стін за день, л	Кількість миючого засобу для підлоги на рік, л	Кількість миючого засобу для стін на рік, л
Класи	4400	*	300	2	3	0,3	132	*	39600	*
Коридори	3290,3	4935,5	300	2	3	0,3	98,709	148,065	29612,7	44419,5
Туалети	270	810	300	10	3	0,3	40,5	121,5	12150	36450
Їдальня	537,5	1612,5	300	4	3	0,3	32,25	96,75	9675	29025
Укриття	1200	2500	300	3	3	0,3	54	112,5	16200	33750
Медичний кабінет, ізолятор	140	420	300	4	3	0,3	8,4	25,2	2520	7560
Інші приміщення	2050	3900	300	2	3	0,3	61,5	117	18450	35100
Басейн	2093,2	6279,6	300	9	3	0,3	282,582	847,746	84774,6	254323,8
ВСЬОГО	13981	15522,1		36			754,974	1468,761	212982,3	440628,3

Примітка: * інше покриття

Дані щодо обробки середньої загальноосвітньої школи №162 Святошинського району м. Київ під час часткового завантаження закладу

Таблиця 4.2

Назва приміщення	S приміщення, м ² (підлога кахель, лінолеум)	S приміщення (стіни: кахель) м ²	Кількість днів при повній наповненості школи	Кількість прибирань за день	Концентрація засобу, %	Кількість засобу на 10 л розчину, л	Кількість засобу для підлоги за день, л	Кількість засобу для стін за день, л	Кількість миючого засобу для підлоги на рік, л	Кількість миючого засобу для стін на рік, л
Класи	4400	*	65	1	2	0,1	44	0	2860	0
Коридори	3290,3	3600	65	1	2	0,1	32,903	36	2138,695	234000
Туалети	270	810	65	3	2	0,1	8,1	24,3	526,5	1579,5
Їдальня	537,5	1612,5	65	1	2	0,1	5,375	16,125	349,375	1048,125
Укриття	1200	2500	300	2	2	0,1	36	75	10800	22500
Інші приміщення	3330	6900	65	1	2	0,1	33,3	69	2164,5	4485
Басейн	2093,2	6279,6	65	1	2	0,1	20,932	62,796	1360,58	4081,74
ВСЬОГО	15121	18102,1		10			180,61	283,221	20199,65	267694,365

Примітка: * інше покриття

Згідно інструкції [47] для прибирання місць з максимальним забрудненням використовується 100-300 мл засобу, а згідно наказу [48] на 100 м² витрачається 50 л води. Отже маємо, що на 1 м² підлоги та стін під час повної наповнюваності ми використовуємо 15 мл дезінфікуючого засобу, а під час неповної навантаженості на 1 м² для стін та підлоги по 10 мл.

Маємо при повному навантаженні школи:

0,3 л засобу – 10 л води

X л засобу – 50 л води

$$X = 50 * 0,3 / 10 = 1,5 \text{ л засобу}$$

Тож:

1,5 л засобу – 100 м²

X л засобу – 1 м²

$$X = 1,5 / 100 = 0,015$$

Під час неповної навантаженості:

Маємо:

0,2 л засобу – 10 л води

X л засобу – 50 л води

$$X = 50 * 0,2 / 10 = 1 \text{ л засобу}$$

Тож:

1 л засобу – 100 м²

X л засобу – 1 м²

$$X = 1 / 100 = 0,010 \text{ л засобу}$$

Загальна кількість миючого засобу на рік становить:

$$V_{\text{засобу на рік}} = 440628,3 + 212982,3 + 20199,65 + 267694,4 = 941504,615 \text{ л}$$

Знайдемо необхідну кількість ПАР, які синтезує *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241 для використання їх, як домішки у миючих засобах. Згідно літературному джерелу [7] мінімальна інгібуюча концентрація для *Bacillus subtilis* БТ-2 становить 60 мкг/мл. Прийемо, що концентрація ПАР у робочому розчині буде рівною 5 МІК тоді:

1 МІК - 60 мкг/мл

5 МІК - X мкг/мл

Звідси, X = 300 мкг/мл

Така, закономірність зумовлена тим, що МІК щодо бактерій (*Pseudomonas sp.* MI-2, *Staphylococcus aureus* BMC-1, *Escherichia coli* IEM-1, *Enterobacter cloacae* C-8) та грибів (*Candida albicans* Д-6, *Aspergillus niger* P-3, *Rhizopus nigricans* P1 і *Fusarium culmorum* T-7) є значно вищою в порівнянні з *B. subtilis* БТ-2

Тож, на рік необхідно:

$$G_{\text{гп}} = 941504,615 * 0,045 * 0,300 = 12710,3 \text{ г/рік} = 13 \text{ кг/рік, де } 0,045 \% \text{ ПАР [16] в миючому засобі та МІК} = 0,300 \text{ г/л [7]}$$

4.3. Розрахунок кількості виробничих циклів та геометричного об'єму ферментера для біосинтезу поверхнево-активних речовин

A. calcoaceticus ІМВ В-7241

Знаючи, що *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241 здатен синтезувати 7,7 г ПАР на 1 л культуральної рідини [7] сплануємо, що необхідну кількість продукту зможемо виробити за $T_{\text{рд}} = 30$ робочих трудоднів.

Тоді кількість циклів на рік складатиме:

$$N_{\text{цк}} = 24 \cdot T_{\text{рд}} / T_{\text{цф}} = 24 \cdot 30 / 81 = 8,8 = 9 \text{ циклів}$$

де $T_{\text{цф}}$ – цикл роботи ферментера, в яких входить тривалість виробничого біосинтезу (72 год) та час підготовки ферментера до роботи (8 год): миття та огляд апарата (1,5 год), перевірка на герметичність (1 год), підігрів (0,5 год), стерилізація апарату (1 год), охолодження (1 год), завантаження середовища (1 год), охолодження середовища та засів (3 год), вивантаження культуральної рідини (1 год) [49].

Кількість продукту за цикл складає:

$$G_{\text{цк}} = G_{\text{гп}} / N_{\text{цк}} = 12710,3 / 9 = 1412,26 \text{ г/цикл.}$$

Об'єм культуральної рідини, при врахуванні втрат цільового продукту при виділенні (20 %):

$$V_{\text{кр.}} = K_1 \cdot G_{\text{цк}} \cdot C_{\text{гп}} / P_{\text{кр}} * (1 - E_{\text{св}}) = 1,3 * 1412,26 * 0,95 / 7,7 * (1 - 0,2) = 283,1 \text{ л, де } K_1 \text{ – коефіцієнт запасу, який включає можливість нестерильних операцій } (K_1 = 1,1 - 1,5).$$

Отже, об'єм культуральної рідини, який одержать за виробничий цикл становитиме 283,1 л.

Розрахуємо геометричний об'єм ферментера при $K_3 = 0,6$, який необхідний для отримання культуральної рідини з врахуванням витрат рідини, які сягають 10-15%, що утворюються внаслідок виходу відпрацьованого повітря при процесі

$$V_{\text{мф}} = V_{\text{кр}} / K_3 = 283,1 / 0,6 = 471,8 \text{ л}$$

Згідно літературі найближчим за геометричним об'ємом ферментер: $V_{\phi} = 500$ л.

Для перевірки уточнимо коефіцієнт заповнення:

$$K_{з\phi} = V_{кр} / V_{\phi} = 283,1 / 500 = 0,6$$

За підрахунками уточнений коефіцієнт знаходиться у межах, які характерні для аеробних процесів (від 0,55 до 0,65).

4.4. Розрахунок кількості стадій підготовки посівного матеріалу для біосинтезу ПАР *A. calcoaceticus* IMB B-7241

Кількість посівного матеріалу зазвичай становить 10% від об'єму поживного середовища [20].

Тому кількість поживного середовища у ферментері:

$$V_{пс1} = V_{роб.1} / (1 + X_{\phi}) = 283,1 / (1 + 0,1) = 257,4 \text{ л,}$$

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

Кількість посівного матеріалу становить:

$$V_{пм1} = V_{роб.1} - V_{пс1} = 283,1 - 257,4 = 25,7 \text{ л}$$

Для отримання 25,7 л інокуляту в посівному апараті слід враховувати втрати вологи у результаті виходу відпрацьованого повітря через колектор (10-15%).

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

$$V_{роб.2} = V_{пм1} / (1 - E_{па}) = 25,7 / (1 - 0,1) = 28,6 \text{ л.}$$

Якщо враховувати, що кількість посівного матеріалу (доза) становить 10 % від об'єму поживного середовища, то його об'єм у посівному апараті складатиме:

$$V_{пс2} = V_{роб.2} / (1 + X_{па}) = 28,6 / (1 + 0,1) = 26 \text{ л,}$$

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

Кількість посівного матеріалу для посівного апарату становить:

$$V_{пм2} = V_{роб.2} - V_{пс2} = 28,6 - 26 = 2,6 \text{ л.}$$

Розрахуємо геометричний об'єм посівного апарату для одержання інокуляту, що становить 28,6 л при культивуванні біологічного агента:

$$V_{па2} = V_{роб.2} / K_{зап} = 28,6 / 0,6 = 47,7 \text{ л.}$$

При отриманому значенні ($V_{ін2} = 47,7$ л) оберемо стандартний ферментер $V_{сф} = 50$ л.

Уточнимо коефіцієнт заповнення, який обрали раніше:

$$K_{зап2} = V_{роб.2} / V_{сф} = 28,6 / 50 = 0,6.$$

При одержанні 2,6 л інокуляту в інокуляторі врахуємо втрати (від 10 до 15%), які можливі через краплевинос відпрацьованого повітря у колектор.

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

$$V_{роб.3} = V_{пм2} / (1 - E_{ін}) = 2,6 / (1 - 0,1) = 2,9 \text{ л.}$$

Кількість посівного матеріалу (доза) становить 10 % від об'єму поживного середовища. Звідси кількість поживного середовища у посівному апараті:

$$V_{пс3} = V_{роб.3} / (1 + X_{ін}) = 2,9 / (1 + 0,1) = 2,6 \text{ л,}$$

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

Кількість посівного матеріалу для посівного апарату становить:

$$V_{пм3} = V_{роб.3} - V_{пс3} = 2,9 - 2,6 = 0,3 \text{ л.}$$

Кількість інокуляту $V_{роб.3} = 2,9$ л можна одержати під час культивування бактерій в інокуляторі об'єм якого становитиме:

$$V_{ін3} = V_{роб.3} / K_{зап} = 2,9 / 0,6 = 4,8 \text{ л.}$$

При отриманому значенні ($V_{ін3} = 4,8$ л) оберемо стандартний ферментер $V_{сф} = 5$ Уточнимо коефіцієнт заповнення, який обрали раніше:

$$K_{зап3} = V_{роб.3} / V_{сф} = 2,9 / 5 = 0,6.$$

Для засіву малого інокулятора $V_{пм3} = 0,3$, кількість інокулятора можна одержати культивуванням *A. calcoaceticus* IMB B-7241 у колбах ($V_{колб} = 750$ мл та $K_{зк} = 0,2$) на качалці.

Знайдемо кількість необхідних колб для отримання посівного матеріалу:

$$N_{колб} = V_{пм4} / (V_{колб} \cdot K_{зк}) = 300 / (750 \cdot 0,2) = 2.$$

Таким чином, щоб отримати посівний матеріал необхідно використати 2 качалочні колби.

Отже, для оптимізації виробничого біосинтезу ПАР у ферментері, об'єм якого сягає 500 л, а коефіцієнт заповнення має значення 0,6 одержання посівного матеріалу *A. calcoaceticus* IMB B-7241 повинно відбуватися у чотири етапи.

РОЗДІЛ 5. ОБГРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ

5.1. Вибір умов культивування та типу ферментера для *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241

Так, як оптимальною температурою для культивування строго аеробного штаму *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241 є 30°C, а оптимальне значення рН становить 6,8 – 7 (нейтральне), то можлива контамінація середовища, спричинена мезофільними та нейтрофільними мікроорганізмами. Тому необхідним є забезпечення стерильних (асептичних) умов культивування *A. calcoaceticus* IMB B-7241. Асептичні умови під час біосинтезу можна забезпечити за рахунок стерилізації обладнання, комунікацій, аераційного повітря, (нестача якого може призвести до загибелі штаму *A. calcoaceticus* IMB B-7241 так, як біологічний агент є строгим аеробом), поживного середовища та піногасників. Також, для запобігання контамінації в ферментері створюється надлишковий тиск, за рахунок подачі стерильного повітря [21,49,50].

Оскільки *A. calcoaceticus* IMB B-7241 синтезує комплекс позаклітинних поверхнево-активних речовин (ПАР), що накопичуються у культуральній рідині, обираємо глибинний метод культивування, реалізація якого дасть змогу не тільки підвищити ефективність процесу, а полегшить подальше виділення ПАР та їх очищення [30].

Біосинтез поверхнево-активних речовин, які продукує штам *A. calcoaceticus* IMB B-7241 здійснюють при періодичному культивуванні, а не безперервному так як максимальна швидкість синтезу ПАР досягається у стаціонарній фазі росту продуцента [24,30].

Грунтуючись на фізіолого-біохімічних особливостях продуцента, а також обравши спосіб культивування, можемо підібрати оснащення для ферментера, що задовольнить необхідні умови біосинтезу поверхнево – активних речовин [50].

1. Знаючи, що *A. calcoaceticus* IMB B-7241 є строгим аеробом необхідною умовою культивування штаму є безперервна аерація поживного середовища, яку можна

					<i>НУХТ БТЕК 04.01.02 КР ПЗ</i>			
<i>Змн.</i>	<i>Лист</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>				
<i>Розробив</i>	Дон Є.А.				РОЗДІЛ 5. ОБГРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ	<i>Літ.</i>	<i>Арк.</i>	<i>Акрушів</i>
<i>Перевірив</i>	Пироз Т.П.						45	118
<i>Реценз.</i>						<i>Кафедра БТМ</i>		
<i>Н.контр</i>								
<i>Затверд.</i>	Стадніков В.П.					45		

забезпечити за рахунок підведення повітря через барботер, який встановлюється у нижній частині ферментера [49,50].

2. Для забезпечення сталої температури культивування, ферментер споряджають сорочкою в яку буде подаватися пара, а також датчиком температури для її контролю [49-51].
3. Для покращення показників масообмінних процесів та отримання однорідної культуральної рідини, необхідно встановити перемішувач. У нашому випадку можна не встановлювати мішалку, або обрати мішалку лопатевого типу (так, як кисень є однією з важливих умов для культивування *A. calcoaceticus* IMB В-7241 і саме даний тип мішалок забезпечує хорошу циркуляцію середовища, а також допомагає забезпечити рівномірне розподілення кисню у всьому об'ємі ферментера) [49-51].
4. Для контролю за кислотністю середовища ферментер оснащують датчиком рН [49,50].
5. Піна утворюватися не буде, бо сам субстрат (відходи соняшникової олії) відноситься до хімічних піногасників, який буде попереджати утворенню піни під час культивування біологічного агента [52].

Тож, для організації процесу біосинтезу в промислових масштабах необхідно замовити ферментер, при комплектації якого слід врахувати наявність барботеру та сорочки, а також відповідного типу мішалки.

5.2. Обґрунтування стадії підготовки аераційного повітря для отримання поверхнево - активних речовин

Так, як продуцентом поверхнево - активних речовин (ПАР) є *Acinetobacter calcoaceticus* IMB В-7241, який відноситься до облігатних аеробів, то при організації ферментаційного процесу необхідним є безперервне постачання стерильного аераційного повітря, яке реалізується за допомогою барботеру [6,49,50].

При підготовці посівного матеріалу та інокуляту, яке відбувається у лабораторіях і боксах, застосовують ультрафіолетове опромінення (УФ-лампи), що дозволяє отримати стерильне повітря.

Стадії підготовки стерильного аераційного повітря:

1. Через забірну шахту трубокомпресором роблять забір повітря на висоті 2-3 м від найвищої точки будівлі, тобто на висоті ~ 11 м (висота ферментера – 3,1 м, висота поверху 6 м, разом із косим дахом будівлі – 8 м) [49];
2. За допомогою фільтрів попереднього очищення, повітря позбавляють грубого аерозолю - пилу, що значно знижує кількість контамінантів у повітрі та попереджає забруднення компресорів [49-51]. Для даного етапу зазвичай обирають фільтри, які виконані з тонкої губки або сітки з відносно великими порами, для того, щоб фільтр не забивався і не було перешкод при проходженні повітря [53];
3. На далі, повітря піддається стисненню до 0,35 – 0,5 МПа, за рахунок чого досягається подолання опору матеріалів та гідравлічного тиску на стадіях фільтрування та при диспергуванні в об'ємі культуральної рідини повітря відповідно [49-51];
4. За рахунок теплообмінного апарату проводять охолодження нагрітого повітря та вологовиділення в краплевловлювачі [49,50].
5. Повітря подається у ресивер, який дозволяє вирівняти тиск та виділити вологу, що конденсується [49,50].
6. На головних фільтрах проводиться очистка, що дозволяє виділити до 98% мікроорганізмів у повітрі [53]. Проаналізувавши літературу [50,53,54], стає зрозумілим те, що зазвичай використовують кишенькові фільтри з поліестеру або поліпропіленових волокон та фільтр, який має багатошарову конструкцію фільтруючого матеріалу (шар активованого вугілля і скляної вати). Наш вибір на користь поліестеру припав через те, що основною проблемою на даному етапі є виділення частинки пилу, бактерії або інших твердих забруднення, чого не може повною мірою забезпечити фільтр з вугілля.
7. З головних фільтрів, повітря надходить в індивідуальні фільтри, які має кожен ферментер, що дозволяє уловити 99,999% мікроорганізмів [53]. Згідно аналізу літератури [49-51], зазвичай, індивідуальні фільтри виконанні з перхлорвінілового, поліакрилонітрильного, базальтових волокон, з тканини Петрянова (ацетилцелюлози) або виконані по типу сита з порами різних розмірів. Оберемо

фільтр з ацетилцелюлози так, як до його переваг можна віднести малий опір при проходженні повітря і високу ефективності стерилізації повітря, а фільтри по типу сита та набивні фільтри швидко забиваються та забезпечують проходження повітря повз фільтр відповідно.

8. Так, як виробництво має невеликий обсяг, то відпрацьоване повітря направляється на головні фільтри, які встановлені на ферментері, з метою очищення та безпечного виведення у навколишнє середовище [49].

При користуванні будь-якими фільтрами необхідним є їх стерилізація. Завдяки нагріванню вологою парою і витримуванням їх впродовж певного часу ($t = 125 - 130$ °С) можна досягти знищення мікроорганізми, які можуть бути присутніми в фільтрі [49,50].

5.3. Обґрунтування вибору мийних та дезінфікуючий засобів

При обранні мийних та дезінфікуючих засобів особливу увагу слід приділити вартості миючого засобу, спектру дії засобу, відсутності корозійної активності та безпечності миючого засобу, а саме їхній низькій токсичності та мінімальній алергенності для забезпечення здоров'я та комфорту працівників.

Згідно державного реєстру дезінфекційних засобів пропонуємо наступні миючі та дезінфікуючі засоби [55].

Дезінфекційний засіб «Хлорантоін» [56].

Склад засобу: 1,3- дихлор-5,5-диметилгідантоїн (дихлорантин) ((21,5-23,5% (діюча речовина)); 5,5-диметилгідантоїн (12,5-16,5%); диспергатор (9,0-12,5%); аніонні поверхнево- активні речовини - (3,2-5,0%); інгібітор корозії (до 10,0%); наповнювач (до 100,0%). Масова частка активного хлору становить не менше, ніж 14,1%

Форма випуску і фізико-хімічні властивості: сипкий порошок від білого до жовтуватого кольору з помірним запахом хлору. Можуть бути присутні грудочки, які розминаються при натисканні. масова частка води не перевищує 0,3%, а рН розчину з концентрацією 1% складає від 4,5 до 7,0 одиниць рН.

Призначення: Дозволено використовувати в фармацевтичній та мікробіологічній галузях для обробки обладнання та поверхні приміщень (кахель, скло). Не характерна корозійна активність, тому є можливість обробляти обладнання та поверхні з металу (нержавіюча сталь, алюміній, сталь). Володіє антибактеріальною, спороцидною та

фунгіцидною властивостями. При дотриманні правил роботи з миючими засобами та з дотримання рекомендованих концентрацій не проявляє сильних шкірно-подразнювальних, сенсibiliзуючих, мутагенних та канцерогенних властивостей.

Засіб дезінфікуючий «PROFI CHLOR» [57,58].

Склад засобу: натрієва сіль дихлорізаціанурової кислоти (не менше 85,5 % з масовою часткою активного хлору 54,0-58,0 %) Допоміжні речовини включають в себе: адипінову кислоту, бікарбонат натрію, карбонат натрію, сульфат натрію

Форма випуску і фізико-хімічні властивості: у вигляді білих таблеток круглої форми, масою $3,3 \pm 0,2$ г. Таблетки добре розчинні у воді (виділяється $1,5 \pm 0,09$ г активного хлору) Робочі розчини засобу прозорі, безбарвні, з легким запахом хлору, і не шкодять об'єктам з корозійностійких матеріалів.

Призначення: Даний засіб призначений для виконання поточної та заключної дезінфекції, генеральних прибирань, а також для дезінфекції поверхонь приміщень, приладів, устаткування та обладнання, дозволений для використання на фармацевтичних та мікробіологічних підприємствах. Даний засіб проявляє бактерицидну активність проти грамнегативних і грампозитивних бактерій, включаючи туберкульозний мікобактеріум, бактерії групи кишкової палички, стафілококи, ентерококи, сальмонели, легіонелли, лістерії, сальмонельози. Крім того, він проявляє фунгіцидну активність проти грибів роду *Candida*, дерматофітів, дерматомикозів, пліснявих грибів та спор, а також відомий за свою ефективність у знищенні та запобіганні появі плісняви. Відноситься до помірно небезпечних речовин, тому рекомендується використовувати засоби захисту шкіри та очей для уникнення появи сухості та лущення шкіри.

Засіб мийний універсальний «Бланідас Н Фоам» [59].

Склад: вода підготовлена, фосфорна кислота 15-30%, лимонна кислота 5-15%, фосфонат 5-15%, амоній хлористий 5-15%, неіоногенні ПАВ <5%, кумолсульфонат натрію <5% , барвник.

Форма випуску і фізико-хімічні властивості: концентрований, нейтральний, рідкий засіб без запаху, який має високий ступінь утворення піни та не залишає слідів після промивання.

Призначення: Дозволено використовувати у біотехнологічних, фармацевтичних та мікробіологічних галузях. Засіб для дезінфекції та очищення поверхонь, видалення

жирових та інших надскладних забруднень. Дозволяє глибоко проникати крізь застарілі забруднення, ефективно розчиняти і змивати їх. Рекомендується при використанні одягати засоби захисту.

Універсальний мийний засіб «ПРОФІ 241» [60].

Склад засобу: ПАР, гідроксид натрію, дезінфектант, комплексоутворювачі, підготовлена вода.

Форма випуску і фізико-хімічні властивості: концентрат, а саме прозора рідина з щільністю від 1,00 до 1,10 кг/дм³ і концентрацією іонів водню (рН) від 7,01 до 10,0.

Призначення: Дозволено використовувати на підприємствах фармацевтичної, біотехнологічної та мікробіологічної промисловості. За рахунок свого складу, володіє не тільки антибактеріальним але й антикорозійним ефектами (може застосовуватися при обробці всіх типів матеріалів, включаючи м'які метали, такі як алюміній.). Має широкий спектр дії на мікроорганізми, а саме *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Salmonella enteritidis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Candida albicans*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Aspergillus niger*, *Penicillium purpurogenum*. В робочих концентраціях подразнююча та сенсibiliзуюча дія відсутня, але при використанні рекомендується застосовувати засоби індивідуального захисту.

Дезінфікуючі засоби для обробки рук «Фамідез Дезодерм» та «ACTISEPT eth»/«Актісепт ет» призначенні для гігієнічної дезінфекції шкіри рук на підприємствах фармацевтичної, мікробіологічної і біотехнологічної промисловості. Виявляють широкий спектр антимікробної дії проти грам-позитивних і грам-негативних бактерій, а також фунгіцидну та туберкульоцидні дії, за рахунок основної діючої речовини - спирт. В свою чергу «Фамідез Дезодерм» володіє антиперспірантною дією, забезпечуючи зменшення кількості вологи під рукавичками, що перешкоджає виділенню резидентної мікрофлори та має пролонговану (реманентну, залишкову) антимікробну дію протягом 3-х год., навіть при носінні медичних рукавичок [61,62].

5.4. Розрахунок витрат мийних та дезінфікуючих засобів для виробництва ПАР *A. calcoaceticus* IMB B-7241

Виробництво вторинних метаболітів *A. calcoaceticus* IMB B-7241 передбачає такі приміщення: лабораторії для проведення хімічного і мікробіологічного контролів, які мають необхідне обладнанням (автоклави, термостати, холодильники, центрифуги, рН метри, фотоелектроколориметр) качалочна кімната, цех вирощування інокуляту і виробничого біосинтезу. Для розробки плану приміщення слід врахувати діаметр обладнання згідно його специфікацій та відстань між апаратами (не менше 1 м) і від стін (1...1,5 м) [49]. Приблизний ескіз виробничого приміщення наведений на рис 5.1

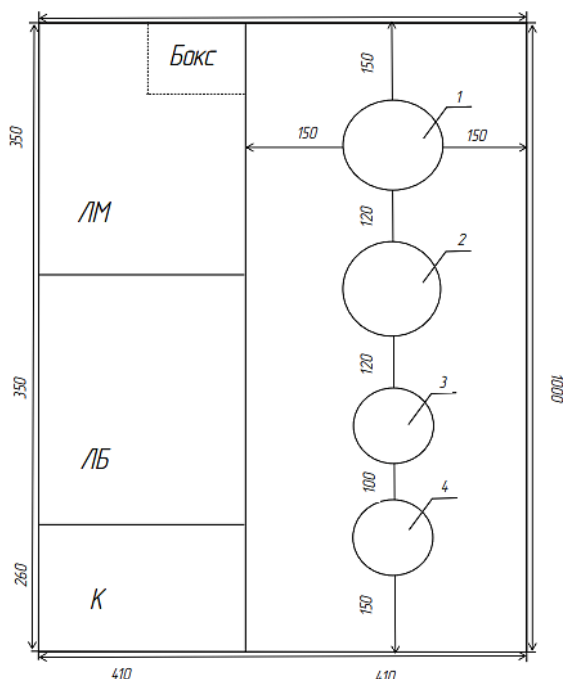


Рис. 5.1. Ескіз плану приміщення для отримання ПАР *A. calcoaceticus* IMB B-7241. А – цех виробничого біосинтезу та вирощування інокуляту (1 – виробничий ферментер об’ємом 500 л; 2– хімічний реактор-змішувач для приготування поживного середовища для виробничого біосинтезу; 3- Реактор-змішувач для приготування поживного середовища для культивування в ферментері 50 л; 4 – ферментер об’ємом 50 л); ЛМ – мікробіологічна лабораторія; ЛБ – біохімічна лабораторія;

К – качалочна кімната.

* – розміри наведені у см.

Для розрахунку витрат мийних засобів розрахуємо загальний об’єм обладнання, яке необхідно обробити для отримання кінцевого продукту.

Спираючись на специфікацію обладнання маємо, що для реалізації процесу нам необхідні:

Таблиця 5.1

Габаритні розміри основного обладнання для виробництва вторинних метаболітів *A. calcoaceticus* IMB B-7241

Обладнання	Геометричний об'єм, л	Діаметр, м	Висота, м
Лабораторний реактор-змішувач для приготування поживного середовища для культивування в ферментері	5	0,4	0,8
Ферментер	5	0,5	0,6
Реактор-змішувач для приготування поживного середовища для культивування в ферментері	50	0,7	1,1
Ферментер	50	0,8	1,7
Хімічний реактор-змішувач для приготування поживного середовища для виробничого біосинтезу	500	1,0	2,0
Реактор-змішувач для відпрацьованої олії	10	0,4	0,5
Реактор-змішувач для приготування і стерилізації дріжджового автолізу	2	0,4	1,0
Виробничий ферментер	500	1,1	3,1
Всього	1122		

Згідно табл. 5.1 загальний об'єм ємностей, що підлягають обробці:

$$V_{\text{ємностей}} = 5 + 5 + 50 + 50 + 500 + 500 + 10 + 2 = 1122 \text{ л (1,122 м}^3\text{)}$$

Технологічний процес отримання ПАР *A. calcoaceticus* IMB B-7241 реалізується за 30 трудоднів. Для підтримання чистоти приміщень передбачено щоденне прибирання (30 разів) і генеральне прибирання (1 раз на тиждень).

Для визначення необхідної кількості миючих засобів розрахуємо загальну площу приміщень беручи до уваги площі підлоги та стін виробничого приміщення на висоту 6 м, бо найвищий ферментер має висоту 3,1 м, а реактор-змішувач над ним, розміщено на висоті 3,6 (згідно будівельних норм) сягає 1 м [49].

Отже, маємо:

Площа підлоги цеху виробничого біосинтезу та вирощування інокуляту становить:

$$4,1 \cdot 10 = 41 \text{ м}^2$$

Площа стін:

$$((4,1*6) + (10*6))*2=(24,6+60)*2 = 169,2 \text{ м}^2$$

Загальна площа:

$$41 + 169,2 = 210,2 \text{ м}^2$$

Площу поверхні, яка потребує обробки мийними засобами зазначено у табл. 5.2

Таблиця 5.2

Загальна площа стін та підлоги виробничих приміщень

Приміщення	Площа підлоги, м ²	Площа стін, м ²	Загальна площа, м ²
Цех виробничого біосинтезу та вирощування інокуляту	41	169,2	210,2
Мікробіологічна лабораторія	14,35	91,20	105,55
Біохімічна лабораторія	14,35	91,20	105,55
Приміщення з качалками	10,66	80,4	91,06
Загальна площа	80,36	432,0	512,36

Згідно розрахунків наведених в ТЕО кількість виробничих циклів для реалізації біосинтезу ПАР *A. calcoaceticus* IMB В-7241 сягає 9. Загальна кількість миття становитиме 10, бо слід враховувати те, що апарати та комунікації піддаються додатковому миттю після останнього циклу.

Тому, загальний об'єм миття становитиме:

$$V_{\text{загал.}} = 1,122*10 = 11,22 \text{ м}^3$$

Розрахунки площі миття та дезінфекції за весь процес реалізації виробництва наведені у табл 5.3

Таблиця 5.3

Загальна площа миття та дезінфекції за весь період біосинтезу ПАР

A. calcoaceticus IMB В-7241

Об'єкт миття та дезінфекції	Площа (об'єм) оброблюваного об'єкту, м ² (м ³)	Кількість процесів миття та дезінфекції за весь період виробництва	Загальна площа (об'єм) миття та дезінфекції об'єкта за весь період виробництва, м ² (м ³)
Обладнання	1,122	10	11,22
Підлога	80,36	30	2410,8
Стіни	432,0	4	1728,0

Згідно табл. 2.3 загальна площа приміщення: $2410,8+1728,0=4138,8 \text{ м}^2$

При використанні автоматичної станції миття, а саме СІР-мийки для одного циклу використовується в середньому 25% миючого засобу від кожного з об'ємів обладнання [49].

За один цикл на миття та дезінфекцію обладнання витратиться:

$$1,122 * 0,25 = 0,28 \text{ м}^3 = 280 \text{ л}$$

Звідси маємо, що за весь період об'єм мийно-дезенфікуючих засобів становитиме:

$$V_{\text{м.д.з}} = V * X_{\text{сер. мий. зас.}} = 11,22 * 0,25 = 2,805 \text{ м}^3 = 2805 \text{ л,}$$

де $X_{\text{сер. мий. зас.}}$ - середні витрати мийного засобу для СІР-мийки на один цикл

**Узагальнена характеристика витрат мийно-дезінфікуючих засобів для отримання ПАР
A.calcoaceticus IMB B-7241**

Назва мийно-дезінфікуючого засобу	Об'єкт миття та дезінфекції	Концентрація робочого розчину, %	Загальна площа (об'єм) миття та дезінфекції об'єкту за весь період виробництва, м ² (м ³)	Витрата на 1 м ² поверхні, л*	Кількість робочого розчину за весь період виробництва, л	Вартість 1 л/кг мийно-дезінфікуючого засобу, грн.*	Вартість робочого розчину на 1 м ² поверхні, грн	Загальна вартість миття та дезінфекції за весь період виробництва, грн
1	2	3	4	5	6	7	8	9
Дезінфекційний засіб «Хлорантоін»	Обладнання	0,5	11,22	0,1*	2805	665 (кг)	0,33	925,65
	Приміщення	1	4138,8	0,1*	413,9		0,67	2773,66
Засіб дезінфікуючий «PROFI CHLOR»	Обладнання	0,1	11,22	0,1*	2805	360 (кг)	0,12	336,6
	Приміщення	0,1	4138,8	0,1*	413,9		0,12	496,66
Засіб мийний універсальний "Бланідас Н Фоам "	Обладнання	0,5	11,22	0,1*	2805	85,75 (л)	0,43	1206,15
	Приміщення	1	4138,8	0,1*	413,9		0,86	3559,37
Засіб мийний універсальний «ПРОФІ 241»	Обладнання	0,5	11,22	0,1*	2805	85 (л)	0,43	1206,15
	Приміщення	1	4138,8	0,1*	413,9		0,85	3517,98
Дезінфікуючий засіб для обробки рук «Фамідез Дезодерм TRIO»	Обробка шкіри	Готовий до використання	-	-	-	173,70 (л)	-	-
Дезінфікуючий засіб для обробки рук «Актисепт ет»	Обробка шкіри	Готовий до використання	-	-	-	210 (л)	-	-

*Примітка: *Згідно рекомендацій МОЗ України на 1 м² поверхні, що має бути обробленою, використовують 100 мл робочого розчину [9].

** Ціни вказано станом на березень 2024 р. 1 - <https://pestco.com.ua/ua/products/poroshok-hlorantoin-dlya-dezinfeksii-1-kg.html>; 2 - <https://vladasept.com.ua/ua/p1063164288-profi-chlor.html>; 3 - <https://www.5sec-pro.com.ua/ru/blandas-n-foam-20-l-20-6kg.html>; 4 - <https://mebliranok.com.ua/product/profi-241-universalnij-mijuchij-zasib-gel-z-antibakterialnoju-dieju-koncentrat/>; 5 - https://www.paradocs.com.ua/product-page/famidez-дезодерм-trio-засіб-для-дезінфекції-рук-та-тіла?gad_source=1&gclid=CjwKCAjwI7qvBhBrEiwA1rU9w5BYyEfuV95Q6vf3TDbCuhGyiES77NIQu1k-sTqcOZWxE2mc6VtJnxoCsSsQAvD_BwE; 6 - <https://vladasept.com.ua/ua/p1389119827-zasib-dezinfikuyuchij-astisert.html>

Так, як отримання ПАР *A.calcoaceticus* ІМВ В-7241 реалізовується за 30 днів, то можемо обрати по одному миючому і дезінфікуючому засобу.

Тож, зважаючи на наведену вище інформацію і розрахунки (див. табл 5.4) та зазначенні фактори, на які слід звертати увагу при виборі мийних та дезінфікуючих засобів, найкращим варіантом серед наведених дезінфікуючих засобів для обробки обладнання та приміщення є «PROFI CHLOR», який є не тільки дешевим, але й має широкий спектр дії та є мало небезпечним. Серед представлених миючих засобів оберемо універсальний мийний засіб «ПРОФІ 241» для обробки обладнання і приміщення, так як в порівнянні з "Бланідас Н Фоам " він має ширший спектр дії та є екологічно безпечним. Хоча вартість обробки обладнання для цих двох засобів є однаковою, але так, як «ПРОФІ 241» буде використовуватися і для обробки приміщення, то треба буде закуповувати більшу кількість, тому завдяки цьому є можливість ще більше знизити ціну за рахунок оптової закупівлі. Для обробки рук оберемо дезінфікуючий засіб «Фамідез Дезодерм TRIO». Вибір даного засобу ґрунтується на його дешевизні та більш вираженій лояльній дії при контакті на шкіру в порівнянні з «Актісепт ет»

5.5. Особливості підготовки і стерилізації поживного середовища для культивування *Acinetobacter calcoaceticus* ІМВ В-7241 – продуцента поверхнево – активних речовин

Для біосинтезу ПАР *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241 обирають середовище [6] такого складу (г/л):

- Пересмажена соняшникова олія – 2% (об'ємна частка)
- $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$ - 0,35;
- NaCl - 1;
- KCl - 1;
- $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ - 0,6;
- KH_2PO_4 - 0,14;
- $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,1;
- Дріжджовий автолізат – 0,25;

- розчин мікроелементів – 0,1% (об'ємна частка), що містить (г/100 мл):
ZnSO₄·7H₂O - 1,1; MnSO₄·H₂O - 0,6; FeSO₄·7H₂O - 0,1; CuSO₄·5H₂O – 0,004;
CoSO₄·7H₂O – 0,03; H₃BO₃ – 0,006; KI – 0,0001; ЕДТА – 0,5.

Для оптимізації процесу стерилізацію середовища, яке призначене для вирощування посівного матеріалу в колбах на качалках, будемо проводити в автоклаві так, як об'єм є невеликим (0,3 л), при вирощуванні в інокуляторах і при виробничому синтезі – у самих апаратах при рН = 4-4,5, який досягається за рахунок нестерильного розчину НСІ (6%) (готується одразу для всіх стадій у колбі об'ємом 1 літр) для запобігання утворенню осадів фосфатів магнію [49].

Вирощування культури відбувається при рН=7, який досягається за рахунок 6%-им розчином NaOH. Розчин NaOH (6%) необхідно готувати (і стерилізувати) для кожної стадії окремо, оскільки він слугує для підлужнення уже стерильного середовища.

Відпрацьовану олію піддавати стерилізації немає необхідності через її хімічний склад, що унеможливорює її контамінацію. Обрання концентрації олії 0,5 % для одержання інокуляту (у колбах, посівних апаратах 5 л і 50 л) було зумовлено тим, що інокулят вирощують до середини експоненційної фази

Піногасник не потрібен, так, як сама олія є хімічним піногасником, який попереджатиме утворення піни при культивуванні мікроорганізму [52].

Крім того, на стадіях вирощування інокуляту в колбах і в посівному апараті на 5 л необхідно приготувати запасний розчин дріжджового автолізату (табл 5.5). Це зумовлене такими причинами. По-перше, розчин автолізату легко піддається контамінації сторонньою мікробіотою, тому його готують у максимально можливій концентрації (за експериментальними даними 5 г автолізату розчиняють у 100 мл дистильованої води). По-друге, якщо приготувати розчини такої концентрації для 0,3 і 2,6 л середовища у вигляді окремих композицій, то їх об'єми будуть невеликими (1,5 і 13 мл відповідно), що в свою чергу, спричинить певні незручності при стерилізації таких об'ємів в автоклаві (вибір посуду для стерилізації, випаровування рідини під час стерилізації).

Також, для організації процесу, розрахуємо кількість компонентів мікроелементи, необхідних для приготування середовищ на кожну з чотирьох стадій. Згідно даних, які наведені у табл. 5.5 та 5.6 стає зрозумілим, що для перших двох стадій, які включають в себе вирощування інокуляту в колбах і в посівному апараті, треба підготувати запасний розчин мікроелементів на 100 мл так, як концентрація цих солей є дуже малою і їх не можна зважити з точністю на вагах. Для наступних стадій, мікроелементи можна вносити у композицію з іншими солями [49].

Таблиця 5.5

Розрахунок вмісту та особливості приготування деяких компонентів поживного середовища

Об'єм поживного середовища, л	Дріжджовий автолізат		Пересмажена соняшникова олія		HCl (6%)		NaOH (6%)	
	Вміст, г	Особливості приготування	Об'єм, мл	Ємність для внесення	Об'єм, мл	Ємність для внесення	Об'єм, мл	Ємність для внесення
0,3	0,075	Запасний розчин у колбі на 100 мл	6	піпетка	-	-	-	-
2,6	0,65		52	колба на 100 мл	5,2	Колба на 1 л	5,2	піпетка
26	6,5	у колбі на 250 мл	520	колба на 1 л	52		52	колба на 100 мл
257,4	64,35	у збірнику об'ємом 2 л	5148	реактор на 10 л	514,8		514,8	колба на 1 л

Примітка:*- запасний розчин дріжджового автолізату готується (5 г на 100 мл дистильованої води) у максимальній концентрації для унеможливлення контамінації.

Таблиця 5.6

Розрахунок вмісту мікроелементів в різних об'ємах поживного середовища

Об'єм середовища, л	Вміст мікроелементів							
	ZnSO ₄ ·7H ₂ O	MnSO ₄ ·H ₂ O	FeSO ₄ ·7H ₂ O	CuSO ₄ ·5H ₂ O	CoSO ₄ ·7H ₂ O	H ₃ BO ₃	KI	ЕДТА
0,3	3,3 мг	1,8 мг	0,3 мг	12 мкг	0,09 мг	18 мкг	0,3 мкг	1,5 мг
2,6	28,6 мг	15,6 мг	2,6 мг	0,10 мг	0,8 мг	0,15 мг	2,6 мкг	13 мг
26	286 мг	156 мг	26 мг	1,04 мг	8 мг	1,5 мг	26 мкг	130 мг
257,4	2,83 г	1,54 г	0,26 г	10 мг	77 мг	15 мкг	0,26 мг	1,3 г

Особливості в підготовці та стерилізації поживного середовища для вирощування інокуляту в колбах на качалках

Знаючи склад поживного середовища для культивування *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241, поділимо його на композиції, ґрунтуючись на особливостях режимів стерилізації цих компонентів [49].

Так, для вирощування інокуляту в колбах на качалках, окремо необхідно приготувати фосфоровмісні компоненти (KH_2PO_4 , Na_2HPO_4) для уникнення випадання осаду фосфатів магнію [49].

Композиція А: $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$, NaCl , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, KCl (режим стерилізації: 131°C , 40 хв).

Композиція Б: $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$, KH_2PO_4 (режим стерилізації: 131°C , 40 хв).

Дріжджовий автолізат (режим стерилізації 112°C , 30 хв) та розчин мікроелементів (режим стерилізації 131°C , 40 хв), готуються як запасні розчини через малі об'єми .

Пересмажена соняшникова олія не потребує стерилізації, тому безпосередньо вноситься у колбу та не враховується при підрахунку середовища через малий об'єм (6 мл).

Особливості в підготовці та стерилізації поживного середовища для отримання інокуляту в посівних апаратах 5 л

Для приготування великих об'ємів у апаратах стерилізацію солей магнію і фосфатів можна об'єднати, але лише за умови, що рН буде становити 4,0-4,5, яка досягається за рахунок 6% розчину соляної кислоти [49].

Стерилізація 2,6 л поживного середовища проходить у посівному апараті, тому склад композицій необхідно удосконалити:

Композиція А: $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$, NaCl , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, KCl , $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$, KH_2PO_4 (режим стерилізації: 131°C , 40 хв, рН = 4,0 - 4,5). Дану композицію стерилізуємо у ферментері, попередньо розчинивши солі і довівши їх до рН = 4,0 – 4,5 за рахунок соляної кислоти у реакторі .

Після процесу стерилізації в ферментер на 5 л подають композицію А, запасні розчини дріжджового автолізату і мікроелементів і пересмажену соняшкову олію.

В апараті доводять середовище до рН до 6,8-7,0 6% розчином їдкого натру, після чого додають посівний матеріал.

Особливості в підготовці та стерилізації поживного середовища для отримання інокуляту в посівних апаратах 50 л

Стерилізація 26 л поживного середовища проходить також у посівному апараті, тож розділимо склад поживного середовища на композицій [49]:

Композиція А: дріжджовий автолізат (режим стерилізації: 112°C, 30 хв).

Композиція Б: $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$, NaCl, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, KCl, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$, KH_2PO_4 (режим стерилізації: 131°C, 40 хв, рН = 4,0 - 4,5). Дану композицію стерилізуємо у ферментері, попередньо розчинивши солі і довівши їх до рН= 4,0-4,5 за рахунок соляної кислоти у реакторі.

Після процесу стерилізації в ферментер на 50 л подають композиції А та Б, речовини мікроелементів і пересмажену соняшникову олію. В апараті доводять середовище до рН до 6,8-7,0 6% розчином натрій гідроксиду, після чого вносять посівний матеріал.

Особливості в підготовці та стерилізації поживного середовища у ферментаторі об'ємом 500 л

Поділимо середовища на композиції [49]:

Композиція А: дріжджовий автолізат (режим стерилізації: 112°C, 30 хв).

Композиція Б: $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$, NaCl, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, KCl, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$, KH_2PO_4 , $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, $\text{CoSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, H_3BO_3 , KI, ЕДТА (режим стерилізації: 131°C, 40 хв, рН = 4,0 - 4,5).

Після стерилізації у ферментер зі реактора на 10 л подають (самоплинном) пересмажену олію і за рахунок 6 % гідроксиду натрію стабілізують середовище до рН 6,8 - 7,0, подають посівний матеріал, який був отриманий на попередніх стадіях.

Обґрунтування вибору розчинів для регуляції рН

Під час культивування продуцента регулювати рН немає необхідності так, як у процесі культивування *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241 рН культуральної рідини не змінюється [63].

Так, як оптимальним значенням рН для культивування *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241 становить 6,8 – 7,0, а приготування і стерилізація солей відбувається при рН = 4,0 - 4,5 на стадіях, де використовуються ферментери об'ємами 5 л, 50 л і 500 л є необхідність регулювання рівня рН, за рахунок титрувальних розчинів. На стадії культивування у колбі такої необхідності немає так, як приготування і стерилізація солей відбувається окремо [6,49].

Так, для запобігання утворенню осадів магнію фосфату, безпосередньо у ферментері, середовище підкислюють до значення 4,0 - 4,5 за допомогою 6% розчину хлоридної кислоти та проводять стерилізацію [49].

Перед безпосереднім внесенням посівного матеріалу у ферментери об'ємами 5 л та 50 л, а також, у виробничий ферментер середовище стабілізують до 6,8-7,0 за рахунок стерильного 6% натрій гідроксиду, так як саме дане значення рН=7 є оптимальним для росту обраного біологічного агента [6,49].

Тож, в технологічну схему необхідно включити ще такі додаткові стадії:

- 1) підготовка та очищення аераційного та відпрацьованого повітря відповідно;
- 2) приготування 6%-го розчину HCl для підкислення середовища у посівному апараті об'ємом 5 л, 50 л та у виробничому ферментері об'ємом 500 л;
- 3) приготування та стерилізація 6%-го розчину NaOH для підлужнення середовища у посівному апараті об'ємом 5 л та 50 л і у ферментері на 500 л;
- 4) приготування і стерилізація запасного розчину мікроелементів для вирощування інокуляту у колбах на качалці і посівних апаратах об'ємом 5 л та 50 л;
- 5) приготування та стерилізація запасного розчину дріжджового автолізату для колб і посівного апарату на 5 л.

РОЗДІЛ 6. СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ

Специфікація обладнання, яке представлено на апаратурній схемі (див. графічна частина), наведена у табл. 6.1

Таблиця 6.1

Специфікація обладнання ділянки допоміжних робіт та виробничого біосинтезу поверхнево – активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241

Позиція	Найменування	К-сть	Характеристика	Джерело інформації
ПЗ-1	Повітрязабірник	1	Труба з високоякісного поліуретану товщиною 25 мм (ТОВ «НОГ SLAT»); потужність вентилятора: 0,26 кВт	https://prom.ua/ua/p249537557-ventilyatsionnye-shahty.html http://www.hogslat.com/Global/Catalogs/UKR_2019/files/assets/common/downloads/publication.pdf
ГФ-2	Фільтр грубої очистки	1	Фільтри панельного типу EN 779: G4 / F5 (Компанія «ТЕКО Україна»). Фільтроматеріал: поліестер, скловолокно; продуктивність: 3200 м³/год; E = 90% габаритні розміри, мм: 892 x490x48	https://teko-ua.com/ua/filtryi-panelnogo-tipa.html https://ek.ua/ua/post/3783/90-ot-g1-do-u17-klassifikaciya-vozdushnyh-filtrov-po-stepeni-ochistki-vozduha/
К-3	Компресор	1	Компресор гвинтовий Kaeser SX 6 («KAESER Kompressoren»). Продуктивність 600 л/хв; макс. робочий тиск: до 10 бар; габаритні розміри, мм: 590 x 632 x 970 мм.	https://e-ukrservice.com/kompresory/kompresor-gvynotovyj-kaeser-sx-6
Т-4	Теплообмінник-охолоджувач	1	Адсорбційний осушувач NA077 («NEW FILTER»). Продуктивність: 0,76 м³/хв; габаритні розміри, мм: 1065 x 281 x 92	https://newfilter.com.ua/ru/podgotovka-sjatogo-vozduha/adsorbcionnij-osushitel-s-tochkoj-rosi-40s-i-70s.html
Р-5	Ресивер	1	Ресивер РМК-1-10 (ТОВ "Монтажник-К"). Об'єм: 1000 л; макс. роб. тиск: до 10 бар; габаритні розміри, мм: 800 x 800 x2 535.	https://montajnik.com.ua/resiver-1-m3-davlenie-10-atm-iz-uglerodistoy-stali
Т-6	Теплообмінник-нагрівач	1	Водяний нагрівач SWH 50-30 (AeroStar). Макс. тиск: 1,6 МПа, макс. температура: 130° С.	https://ventklimat.com.ua/products/vodyanoy-nagrevatel-aerostar-swh-50-30
ГФ-7	Головний фільтр очистки повітря	1	Компактний кишеньковий фільтр ФВКОМ-1 (F9) («NEW FILTER») Фільтроматеріал:: мікроскловолокно; E ≥ 95%	https://newfilter.com.ua/ru/ventiljacionnie-filtri/kompaktnye-karmannye-filtry-fvkom-w-tipa.html https://ek.ua/ua/post/3783/90-ot-g1-do-u17-klassifikaciya-vozdushnyh-filtrov-po-stepeni-ochistki-vozduha/
ІФ-8	Індивідуальний фільтр очистки повітря	1	Фільтр Ultradepth II P-SRF. Матеріал: боросилікат, макс. температура: 400 °С, E=99,9998%	https://www.precisionfiltration.com/productpdfs/Ultradepth%20II%20P-SRF%20Filter.pdf
Р-9	Реактор-змішувач для приготування композиції А	1	Лабораторний реактор РП-5 об'ємом 5 л.(НВК Промфарм). Має сорочку та мішалку (0 - 60 об/хв); потужність двигуна мішалки: 90 Вт; матеріал: нержавіюча сталь 316 L; габаритні розміри, мм: 620x410x840	https://promvit.com.ua/laboratornyj-reaktor-rp-5-dlya-mlf-kremy-mazi-geli-5-l/

НУХТ БТЕК 04.01.02 КР ПЗ

Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата
Розробив	Дон Є.А.			
Перевірив	Пироз Т.П.			
Реценз.				
Н.контр				
Затверд.	Стадніков В.П.			

РОЗДІЛ 6. СПЕЦИФІКАЦІЯ
ОБЛАДНАННЯ

Літ. Арк. Акрюшів

63 118

Кафедра БТМ

63

Продовження табл. 6.1

Н-10	Насос	1	Перистальтичний насос (Co-Di); продуктивність: 150 мл/хв; напруга: 12 В	https://co-di.com.ua/ua/p1265068734-nasos-peristalticheskij-12v.html
ФР-11	Ферментер	1	Ферментер BLBIO-5GJ об'ємом 5 л.(QingdaoInnova Bio-meditech). Має датчики рН, температури, рО ₂ , піноутворення,пробовідбірник; мішалку з потужністю двигуна: 0,8 кВт; матеріал: скло; габаритні розміри, мм: 800 x 500 x 600	file:///C:/Users/Asus/Desktop/CATALOG-Bioreactor-System-Innova-2016.pdf https://fermentertech.com/index.php/Products/pid/pid/39/l/zh-cn/
Р-12	Реактор-змішувач для приготування композиції А	1	Реактор-змішувач об'ємом 50 л (компанія «Технолог»). Має сорочку та рамну мішалку(24 - 30 об/хв); потужність двигуна мішалки: 0,37кВт;макс. температура: 140°C; матеріал: нержавіюча сталь; габаритні розміри, мм: 650 x 650 x 1100	https://tehnolog.com.ua/catalog/pharma/mixers-for-liquid-viscous-and-paste-like-products/
Л-13	Лічильник води	1	Лічильник води промисловий ЛВКч-25і («Склоприлад»). Об'ємні витрати води: 0,063 м ³ /год	https://steklopribor.com/catalog/meashuring-instruments/water-meter/5ff55f32a50345425e7fd3c9
Н-14	Насос	1	Мембранний насос для рідин («Агро-Тех»); продуктивність: 1,5 л/хв; напруга: 12 В; максимальний тиск: 3,5 бар	https://agro-teh.com.ua/ua/p860452263-membrannyj-nasos-dlya.html
ФР-15	Ферментер	1	Ферментер BLBIO-50SC об'ємом 50 л (QingdaoInnova Bio-meditech). Має датчики рН, температури, тиску, рО ₂ ,піноутворення, магнітну мішалку (50-700об/хв);потужність двигуна мішалки: 3 кВт;матеріал: нержавіюча сталь 316 L; габаритні розміри, мм: 1300 x 790 x 1700	https://blanc-labo.fr/wp-content/uploads/2017/11/CATALOG-Bioreactor-System-Innova-2016.pdf https://fermentertech.com/index.php/Products/pid/pid/60/l/en-us/#1
Р-16	Реактор-змішувач для композиції приготування Б	1	Хімічний реактор MR-500 об'ємом 500 літрів («Max Mixer»). Має мішалку (0 - 76 об/хв) та сорочку; матеріал: нержавіюча сталь 316 L; габаритні розміри, мм: 1000 x 1000 x 2000	https://www.maxmixers.com/mixing-tank/reactor/stainless-steel-chemical-reactor-vessel-with.html
Л-17	Лічильник води	1	Турбінний водолічильник СТВ-65 (ООО «Спецавтоматика Україна»). Об'ємні витрати води: 1,2 м ³ /год	https://ukrspecavtomat.com.ua/products/turbinnye-vodoschetchiki-marki-stv-stvg/
Н-18	Насос	1	Відцентровий насос Leo 775334 («LEO Group Co») Продуктивність: 20 л/хв; потужність: 0,55 кВт.	https://electromotor.kiev.ua/uk/p/1083369979-centrovezhnyy-nasos-leo-3-0-0-55-kvt-hsmax-30-m-hmax-37-m-qmax-20-l-min-vnesh-ezhektor-50-mm-775334/
Р-19	Реактор-змішувач для відпрацьованої олії	1	Реактор-змішувач SEон 0,010 об'ємом 0,01м ³ (ТОВ «ГК ЕВРОХІММАШ К.О.»). Має сорочку лопатеву (до 100 об/хв)мішалки; потужність двигуна мішалки: 0,75кВт; матеріал: корозійностійка сталь; габаритні розміри, мм: 420 x 350 x 450	http://euromash.kiev.ua/ua/home_ua.php

Закінчення табл. 6.1

P-20	Реактор-змішувач для дріжджового автолізу	1	Реактор SGR212-2L об'ємом 2 л (DOVMXTECH). Має сорочку та мішалку (0– 800 об/хв); потужність двигуна мішалки: 40 Вт; допустимий тиск:0,1 МПа; макс. температура: 250°C; матеріал: скло GG-17; габаритні розміри, мм: 350 x 345 x 1000	https://www.dovmxtech.com/collection/glass-reactor-uugx/products/11-2l-3l-double-layer-glass-reactor-dovmxtech-jacketed-glass-reactor?spm=..collection_905867d0-6763-486c-896c-0343cf328d2e.collection_1.1&spm_pre_v=..product_04ef7ebf-66cb-4f98-9836-fcbcf668c438.header_1.1&variant=fdd92d43-3ff2-4ead-a3ee-22840e57db4a
ФР-21	Виробничий ферментер	1	Ферментер об'ємом 500 л (НВК Промфарм). Має датчики рН, температури, рО ₂ , піноутворення, пробовідбірник, барботер, роторну мішалку (150 - 300 об/хв); потужність двигуна мішалки: 2,2кВт; макс. тиск 3 бар; матеріал: нержавіюча сталь 316 L; габаритні розміри, мм: 1500 x 1135 x 3122	https://promvit.com.ua/fermenter-500/
СІР-22	Автоматична станція миття (СІР)	1	Мобільна СІР/СІР станція СМ– 80 з регулюванням рН. Температура зовнішнього середовища: +10 до +35°C; атмосферний тиск, мм. рт. ст.:750 ± 30; продуктивність: до 20 м ³ /час, потужність 8,7 кВт; робочий об'єм накопичувальної ємності: 80 л; габаритні розміри першого модуля, мм:1137 x 500 x 1690; габаритні розміри другого модуля, мм: 660 x 456 x 991	https://promvit.com.ua/mobilna-sir-sir-stanciya-sm-80/

**РОЗДІЛ 7. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ БІОСИНТЕЗУ
ПОВЕРХНЕВО - АКТИВНИХ РЕЧОВИН ШТАМОМ *ACINETOBACTER
CALCOACETICUS* IMB B-7241**

Технологічний процес біосинтезу поверхнево - активних речовин штамом *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241 складається з допоміжних та основних робіт. Допоміжні роботи (ДР) включають такі етапи: санітарна підготовка виробництва, підготовка аераційного повітря, підготовка та стерилізація титрувальних агентів (6% соляної кислоти і 6% гідрооксиду натрію), запасних розчинів (мікроелементів та дріжджового автолізу), підготовку та стерилізацію поживних середовищ. До стадій основного технологічного процесу (ТП) відносять підготовку посівного матеріалу та біосинтезу ПАР штамом *A. calcoaceticus* IMB B-7241.

ДР 1. Санітарна підготовка виробництва

ДР 1.1 Підготовка персоналу

ДР 1.1.1 Навчання персоналу

При прийомі на роботу проводиться вступний інструктаж з охорони праці, техніки безпеки на виробництві, протипожежних заходів та електробезпеки. Повторні інструктажі проводяться не рідше, ніж раз на пів року. Також персонал має можливість навчатися поза межа виробництва (стажування, тренінги, ділові ігри).

ДР 1.1.2 Санітарний стан персоналу

Для роботи персоналу передбачено проходження медичного огляду відповідно до наказу Міністерства охорони здоров'я від 21 травня 2007 року № 246 "Про затвердження порядку проведення медичних оглядів працівників певних категорій" [64].

ДР 1.2 Підготовка технологічного одягу

ДР 1.2.1 Прання одягу

Безпосередньо прання проходить у пральній машині-автомат (Т=30-35°C, (Т_{нейлон} = 50-55°C, Т_{поліефір} = 60-67°C), в яку додають питну воду, що пройшла через мембранний

					<i>НУХТ БТЕК 04.01.02 КР ПЗ</i>			
<i>Змн.</i>	<i>Лист</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>				
<i>Розробив</i>	Дон Є.А.				РОЗДІЛ 7. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ БІОСИНТЕЗУ ПОВЕРХНЕВО – АКТИВНИХ РЕЧОВИН ШТАМОМ <i>ACINETOBACTER CALCOACETICUS</i> IMB B-7241	<i>Лит.</i>	<i>Арк.</i>	<i>Аркушів</i>
<i>Перевірив</i>	Пироз Т.П.							
<i>Реценз.</i>								
<i>Н.контр</i>								
<i>Затверд.</i>	Стадніков В.П.							
						<i>Кафедра БТМ</i>		66

фільтр (пори розміром 5,0 мікрметра) і мийний засіб. По закінченню прання одяг автоматично прополіскується і віджимається [65].

ДР 1.2.2 Сушіння одягу

Сушіння відбувається при температурі 80 – 90 °С протягом 45 хв в сушильній шафі [65].

ДР 1.2.3 Стерилізація одягу

Відбувається в паровому стерилізаторі при відповідних параметрах ($T = 120 \pm 1$ °С, $P = 0,10-0,11$ МПа тривалістю 45 ± 1 хв) [65].

ДР 1.3 Приготування засобів для дезінфекції та миття

ДР 1.3.1 Приготування миючого засобу «ПРОФІ 241» для миття обладнання за цикл

Готують 280 л миючого засобу концентрацією 0,5% для мобільної СІР-мийки (СІР-22). В реактор об'ємом 300 л додають 1,4 л миючого засобу та розбавляють його водою питною (266 л) перемішуючи 5-10 хв при температурі не більше 70°С [60].

ДР 1.3.2 Приготування робочого розчину «ПРОФІ 241»

Враховуючи рекомендовану концентрацію засобу (1%) та згідно рекомендацій по використанню для приготування робочого розчину даної концентрації беруть 100 мл засобу «ПРОФІ 241» на 10 л питної води, який перемішують і наносять щіткою з подальшим змивом теплою водою. При приготування засобу використовують засоби індивідуального захисту (до ДР 1.4.1 і до ДР 1.4.2) [60].

ДР 1.3.3. Приготування робочого розчину «PROFI CHLOR».

Враховуючи рекомендовану концентрацію засобу (0,1%) та згідно рекомендацій по використанню для приготування робочого розчину даної концентрації беруть 6 таблеток вагою 3,4 г «PROFI CHLOR» та 9 л питної води. При приготуванні засобу відповідної концентрації необхідно використовувати засоби індивідуального захисту для шкіри (халат, рукавички, фартух), очей (захисні окуляри) і дихальних шляхів (респіратори) (до ДР 1.4.1 і до ДР 1.4.2) [57,58].

ДР 1.3.4 Приготування засобу «Фамідез Дезодерм ТRІО» для обробки рук персоналу

Фамідез® Дезодерм ТRІО - готовий до використання спиртовий розчин, який призначений для дезінфекції шкіри тіла і рук шляхом обприскування або протирання [61].

ДР 1.4 Підготовка приміщення

ДР 1.4.1 Поточне прибирання.

Проводять щодня 1 раз протягом зміни (добу) після виготовлення кожної серії продукції. Включає в себе вологу обробку підлоги, шлюзів повітроводів, протирання зовнішніх поверхонь меблів та видалення відходів із приміщення [9]. Використовують засоби «ПРОФІ 241» (від ДР 1.3.2) та «PROFI CHLOR» (від ДР 1.3.3.)

ДР 1.4.2 Генеральне прибирання.

Проводять щотижня дотримуючись такої послідовності: спочатку миють стіни та двері від стелі до підлоги, потім миють і дезінфікують стаціонарне устаткування, і в кінці - підлогу. Після дезінфекції приміщення передбачено знезараження повітря за рахунок спеціальних установок. Використовують приготовлені засоби «ПРОФІ 241» (від ДР 1.3.2) та «PROFI CHLOR» (від ДР 1.3.3.). У змивах з 100 см² поверхні допускається не більше 10 колоній неспоруютьворюючих мікроорганізмів на 2-х чашках Петрі [9].

ДР 1.5 Підготовка обладнання та комунікацій

ДР 1.5.1 Миття та ополіскування обладнання

Для миття ємнісного обладнання (реактори та ферментери) використовують станцію СІР – мийку (СІР-22), воду питну і 0,5% розчин «ПРОФІ 241» (від ДР 1.3.1.) протягом 10 хвилин при температурі не вище 70°C, для видалення наявних забруднень. Ополіскування відбувається завдяки питній воді (протягом 1 год), для видалення миючих засобів та залишків забруднень, які утворилися [50].

ДР 1.5.2 Технічний огляд

Необхідно перевірити обладнання на наявність пошкоджень, вм'ятин та впадин, які можуть утримувати забруднення і призвести до перехресної контамінації. Якщо будь-які несправності виявлені, їх необхідно виправити перед початком процесу стерилізації [50].

ДР 1.5.3 Перевірка на герметичність

Для того, щоб переконатися у герметичності обладнання в апараті створюють надлишковий тиск 0,2 МПа, який витримують 30-60 хв спостерігаючи за показами манометра. При різниці показників менше 0,01 МПа до і після випробування апарат можна вважати герметичним [50].

ДР 1.5.4 Стерилізація обладнання

Для стерилізації обладнання в сорочку подають глуху пару з подальшим підігрівом самого апарату до 80–90⁰С. Відкривши запірну арматуру, подають гостру пару в сам апарат через нижній спуск (або барботер), при цьому відкривши вентиль повітря для можливості виходу пари з апарату. Коли температура становитиме 130–135⁰ С запірну арматуру (крім парової) закривають на 1 годину. По завершенню часу парову арматуру закривають, подаючи в сорочку холодну воду, а в сам апарат стерильне повітря до показань 30–40⁰ С і надлишкового тиску $P = 0,003–0,005$ МПа відповідно [50].

ДР 2. Підготовка аераційного повітря

ДР 2.1. Забір атмосферного повітря

Для забирання атмосферного повітря використовується повітрозабірник (ПЗ-1), який розташований на найвищій точці ($h \sim 11$ м).

ДР 2.2. Очистка повітря від грубих часток

Від грубого аерозолю повітря очищується за допомогою фільтра грубої очистки (ГФ-2) за рахунок якого ступінь очищення сягає близько 90%.

ДР 2.3. Стиснення повітря

Для забезпечення аерації та подолання гідравлічного тиску рідини в ферментері, необхідно провести стиснення повітря до 0,35 - 0,5 МПа в компресорі (К-3) при якому відбувається нагрівання до 120–250 °С.

ДР 2.4. Охолодження повітря та звільнення від вологи

Стиснене повітря (від ДР 2.3) потребує охолодження (25 - 40 °С), яке забезпечується за рахунок теплообміннику-охолоджувача (Т-4). Для відокремлення зайвої вологості та згладжування пульсацій, повітря подають до ресиверу (Р– 5), вологість повітря має бути 60 – 70 %.

ДР 2.5. Нагрівання повітря

За рахунок теплообмінника - нагрівача (Т-6) проводиться нагрівання охолодженого повітря (45-50°C) (від ДР 2.4)

ДР 2.6. Очищення повітря у головному фільтрі

Нагріте повітря (від ДР 2.5) подається на головний фільтр (ГФ-7), де відбувається виділення до 95% мікроорганізмів у повітрі.

ДР 2.7. Очищення повітря в індивідуальному фільтрі

Повітря (від ДР 2.6) подається в індивідуальні фільтри (ІФ-8), які встановлені на кожних реакторах та ферментерах де ступінь очищення сягає E=99,9998%.

ДР 3. Приготування титрувальних розчинів

ДР 3.1. Приготування 6%-го розчину HCl для підкислення середовища у посівному апараті об'ємом 5 л, 50 л та у виробничому ферментері об'ємом 500 л

У колбу об'ємом 1 л, за допомогою мірного циліндра на 500 мл вносять 456 мл питної води. Мірним стаканом об'ємом 200 мл відміряють 116 мл 36% соляної кислоти. Кислоту вносять у колбу з водою обережно перемішуючи, закривають скляним корком.

ДР 3.2. Приготування і стерилізація 6%-го розчину NaOH

ДР 3.2.1. Приготування і стерилізація 6%-го розчину NaOH для підлужнення середовища у посівному апараті об'ємом 5 л

На технічних вагах зважують 0,31 г NaOH. Наважку поміщають у колбу на 25 мл і за допомогою мірного циліндра на 25 мл додають 20 мл дистильованої води, перемішують до повного розчинення, закривають ватно-марлевою пробкою, стерилізують в автоклаві при 131°C, (0,15 МПа) протягом 40 хв.

ДР 3.2.2. Приготування і стерилізація 6%-го розчину NaOH для підлужнення середовища у посівному апараті об'ємом 50 л

На технічних вагах зважують 3,12 г кристалічного їдкого натру. Наважку поміщають у колбу на 100 мл і за допомогою мірного циліндра на 100 мл додають 52 мл дистильованої води, перемішують до повного розчинення, закривають ватно-марлевою пробкою, стерилізують в автоклаві при 131°C, (0,15 МПа) протягом 40 хв.

ДР 3.2.3. Приготування і стерилізація 6%-го розчину NaOH для підлужнення середовища у виробничому ферментері об'ємом 500 л

На технічних вагах зважують 30,89 г натрію. Отриману наважку переносять в колбу об'ємом 1 л і за допомогою мірного циліндра на 1000 мл додають 515 мл дистильованої води, перемішують до повного розчинення, закривають ватно-марлевою пробкою, стерилізують в автоклаві при 131°C, (0,15 МПа) протягом 40 хв.

ДР 4. Приготування та стерилізація запасних розчинів

ДР 4.1. Приготування і стерилізація запасного розчину мікроелементів для вирощування інокуляту у колбах на качалці і посівних апаратах об'ємом 5 л та 50 л

На технічних терезах зважують наважку $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ - 1,1 г, $MnSO_4 \cdot H_2O$ - 0,6 г, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ - 0,1 г, $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ – 0,004 г, $CoSO_4 \cdot 7H_2O$ – 0,03 г, H_3BO_3 – 0,006 г, KI – 0,0001 г, ЕДТА – 0,5 г. Отримані наважки переносять у колбу об'ємом 200 мл, додають 100 мл дистильованої води, яку відміряють мірним циліндром об'ємом 100 мл. Колбу закривають ватно-марлевым корком, ретельно перемішують та стерилізують в автоклаві при температурі 131°C (0,15 МПа), 40 хв.

ДР 4.2. Приготування та стерилізація запасного розчину дріжджового автолізату

На технічних терезах зважують наважку автолізату, масою 5 г. Наважку вносять у колбу об'ємом 100 мл та додають 100 мл дистильованої води, яку відміряють за допомогою мірного циліндру об'ємом 100 мл. Колбу закривають ватно-марлевым корком та ретельно перемішують, стерилізують при 112°C (0,05 МПа), протягом 30 хв.

ДР 5. Приготування і стерилізація поживних середовищ

ДР 5.1. Приготування і стерилізація поживного середовища для вирощування інокуляту *A. calcoaceticus* IMB В-7241 в колбах на качалках

На поданій стадії необхідно приготувати 300 мл середовища. Кількість компонентів для приготування середовища для вирощування *A. calcoaceticus* IMB В-7241 в колбах на качалках зазначено зазначено у табл 7.1. Конденсат утворюватися не буде так, як стерилізація компонентів проходить в автоклаві.

Розрахунок вмісту компонентів для вирощування посівного матеріалу в колбах на качалках

Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	Кількість для приготування 0,3 л середовища, г	Композиції	Об'єм композиції, V, л
(NH ₂) ₂ CO	0,35	0,11	А	0,25
NaCl	1,0	0,3		
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0,1	0,03		
KCl	1,0	0,3		
Вода	250 мл			
Na ₂ HPO ₄ ·12H ₂ O	0,6	0,18	Б	0,05
KH ₂ PO ₄	0,14	0,04		
Вода	50 мл			
Всього				0,3

ДР 5.1.1 Приготування і стерилізація композиції А

На вагах зважують наважки 0,11 г (NH₂)₂CO, 0,3 г NaCl, 0,03 г MgSO₄·7H₂O, 0,3 г KCl. Наважки вносять у колбу об'ємом 500 мл та за допомогою мірного циліндра на 250 мл, додають 250 мл дистильованої води, ретельно перемішують, закривають ватно-марлевим корком та стерилізують в автоклаві при температурі 131°C (0,15 МПа), протягом 40 хв.

ДР 5.1.2 Приготування і стерилізація композиції Б

На вагах зважують наважки 0,18 г Na₂HPO₄·12H₂O та 0,04 г KH₂PO₄. Отриманні наважки вносять у колбу об'ємом 100 мл та за допомогою мірного циліндра на 100 мл, додають 50 мл дистильованої води, ретельно перемішують, закривають ватно-марлевим корком та стерилізують в автоклаві при температурі 131°C (0,15 МПа), протягом 40 хв.

ДР 5.2. Приготування і стерилізація поживного середовища для вирощування інокуляту *A. calcoaceticus* IMB В-7241 у посівному апараті об'ємом 5 л

Вміст компонентів для приготування 2,9 л середовища наведено у табл. 7.2. Для культивування в посівному апараті об'ємом 5 л треба врахувати 52 мл олії, як субстрату (0,5%), 0,3 л інокуляту та 10% конденсату, що становить 0,3 л. Тож, для приготування даної композиції необхідно 2,3 л води

Розрахунок вмісту компонентів для вирощування посівного матеріалу в ферментері об'ємом 5 л

Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	Кількість для приготування 2,9 л середовища, г	Композиції	Об'єм композиції, V, л
(NH ₂) ₂ CO	0,35	1,02	А	2,3
NaCl	1,0	2,9		
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0,1	0,29		
KCl	1,0	2,9		
Na ₂ HPO ₄ ·12H ₂ O	0,6	0,74		
KH ₂ PO ₄	0,14	0,41		
Вода	2,3 л			
Інокулят	300 мл		-	0,3
Соняшникова олія	52 мл		-	0,052
Конденсат	300 мл		-	0,3
Всього				2,9

ДР 5.2.1. Приготування і стерилізація композиції А

На вагах зважують 1,02 г (NH₂)₂CO, 2,9 г NaCl, 0,29 г, MgSO₄·7H₂O, 2,9 г KCl, 0,74 г Na₂HPO₄·12H₂O, 0,41 г KH₂PO₄. Наважки переносять у реактор-змішувач (Р-9) об'ємом 5 л, додають 2,3 л води питної, за допомогою мірного стакану на 3 л, вмикають перемішувач (60 об/хв), у сорочку реактора подають пару для кращого розчинення солей (нагрівання розчину солей до 40° С). Отриманий розчин за допомогою насоса (Н-10) перекачують у ферментер (ФР-11) додають 6% розчин хлоридної кислоти (від ДР 2.1.) до рН=4,0-4,5 та стерилізують при 131°С, 40 хв.

ДР 5.3. Приготування і стерилізація поживного середовища для вирощування інокуляту *A. calcoaceticus* IMB В-7241 у посівному апараті об'ємом 50 л

Для культивування в посівному апараті об'ємом 50 л треба врахувати 520 мл олії, як субстрату (0,5%), 2,9 л інокуляту та 10% конденсату, що становить 2,9 л.

Тож, для приготування даної композиції необхідно 22,3 л води

Вміст компонентів для 28,6 л середовища наведено у табл. 7.3.

Розрахунок вмісту компонентів для вирощування посівного матеріалу в ферментері об'ємом 50 л

Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	Кількість для приготування 28,6 л середовища, г	Композиції	Об'єм композиції V, л
Дріжджовий автолізат	0,25	7,15	А	0,14
Вода		143 мл		
(NH ₂) ₂ CO	0,35	10,01	Б	22,3
NaCl	1,0	28,6		
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0,1	2,9		
KCl	1,0	28,6		
Na ₂ HPO ₄ ·12H ₂ O	0,6	17,2		
KH ₂ PO ₄	0,14	4,0		
Вода		22,2		
Інокулят		2,9 л	-	2,9
Соняшникова олія		520 мл	-	0,52
Конденсат		2,9 л	-	2,9
Всього				28,6

ДР 5.3.1. Приготування і стерилізація композиції А

На вагах зважують наважку 7,15 г дріжджового автолізату. Наважку поміщають у колбу об'ємом 250 мл і за допомогою мірного циліндру на 200 мл додають 143 мл води дистильованої, перемішують, закривають колбу ватно-марлевым корком та стерилізують при 112°С (0,05 МПа), 30 хв.

ДР 5.3.2. Приготування і стерилізація композиції Б

Зважують на вагах наважку 10,01 г (NH₂)₂CO, 28,6 г NaCl, 2,9 г, MgSO₄·7H₂O, 28,6 г KCl, 17,2 г Na₂HPO₄·12H₂O, 4,0 г KH₂PO₄. Отримані наважки переносять у реактор-змішувач (Р-12) об'ємом 50 л, за допомогою лічильника води (Л-13) додають 22,2 л води питної, вмикають перемішувач (30 об/хв), у сорочку реактора подають пару для кращого розчинення солей (нагрівання розчину солей до 40°С). Отриманий розчин за допомогою насоса (Н-14) перекачують у ферментер (ФР-15), додають 6% розчин хлоридної кислоти (від ДР 3.1.) до рН=4,0-4,5 та стерилізують при 131°С, 40 хв.

ДР 5.4. Приготування і стерилізація поживного середовища для вирощування інокуляту *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241 у виробничому ферментері об'ємом 500 л

Компонентний вміст для середовища об'ємом 283,1 представлений у табл. 7.4. Для культивування в ферментері об'ємом 500 л необхідно врахувати 28 л інокуляту

та 10% конденсату, що становить 28 л, а також необхідний об'єм олії 5,2 л (2 %). Тож, для приготування даної композиції необхідно 221 л води

Таблиця 7.4

Розрахунок вмісту компонентів для вирощування посівного матеріалу в ферментері об'ємом 500 л

Компонент поживного середовища	Вміст, г/л (мл)	Кількість для приготування 283,1 л середовища, г	Композиції	Об'єм композиції, V, л
Дріжджовий автолізат	0,25	70,78	А	1,4
Вода	1,4 л			
(NH ₂) ₂ CO	0,35	99,1	Б	221
NaCl	1,0	283,1		
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0,1	28,3		
KCl	1,0	283,1		
Na ₂ HPO ₄ ·12H ₂ O	0,6	169,9		
KH ₂ PO ₄	0,14	39,6		
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0,011	3,1		
MnSO ₄ ·H ₂ O	0,006	1,7		
FeSO ₄ ·7H ₂ O	0,001	0,3		
CuSO ₄ ·5H ₂ O	0,00004	0,01		
CoSO ₄ ·7H ₂ O	0,0003	0,09		
H ₃ BO ₃	0,00006	0,02		
KI	0,000001	0,0003		
ЕДТА (Трилон Б)	0,005	1,4		
Вода	220 л			
Інокулянт	28 л		-	28
Соняшникова олія	5,2 л		-	5,2
Конденсат	28 л		-	28
Всього				283,1

ДР 5.4.1. Приготування і стерилізація композиції А

На вагах зважують 70,78 г автолізату. Наважку поміщають у реактор-змішувач (Р-20) об'ємом 2 л і додають 1,4 л дистильованої води, яку вимірюють за допомогою мірного циліндра на 2 л, перемішують і стерилізують при 112°C, 30 хв.

ДР 5.4.2. Приготування і стерилізація композиції Б

За допомогою вагів готують наважки масою 99,1 г (NH₂)₂CO, 283,1 г NaCl, 28,3 г MgSO₄·7H₂O, 283,1 г KCl, 169,9 г Na₂HPO₄·12H₂O, 39,6 г KH₂PO₄, 3,1 г ZnSO₄·7H₂O, 1,7 г MnSO₄·H₂O, 0,3 г FeSO₄·7H₂O, 0,01 г CuSO₄·5H₂O, 0,09 г CoSO₄·7H₂O, 0,02 г H₃BO₃, 0,0003 г KI, 1,4 г ЕДТА. Наважки переносять у реактор (Р-16) об'ємом 500 л, додають за допомогою лічильника (Л-17) 220 л води питної, вмикають перемішувач (76 об/хв), у сорочку реактора подають пару для кращого розчинення солей (нагрі-

вання розчину солей до 40° С). Отриманий розчин за допомогою насоса (Н-16) перекачують у ферментер (ФР-21), додають 6% розчин хлоридної кислоти (від ДР 3.1.) до рН=4,0-4,5 та стерилізують при 131°С, 40 хв.

ТП 6. Підготовка посівного матеріалу *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241

ТП 6.1. Підтримання колекційної культури

Колекційну культуру *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241 зберігають на скошеному м'ясо-пептонному агарі (МПА) при температурі 4±1°С. Пересіви на свіже поживне середовище проводять один раз на три місяці. Роботи з колекційними культурами проводять з дотриманням асептичних умов.

ТП 6.2. Одержання робочої культури

Колекційну культуру *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241 пересівають на чашки Петрі з МПА методом виснажувального штриха для одержання ізольованих колоній. Вирощують у термостаті при температурі 30±2°С (48 год).

ТП 6.3. Вирощування інокуляту у пробірках на агаризованому середовищі

Ізольовані колонії із чашок Петрі (від ТП 6.2) пересівають за допомогою петлі у пробірки зі скошеним МПА (використовують одну ізольовану колонію для засіву однієї пробірки). У пробірки пересівають ізольовані колонії, які мають бути розташовані на відстані не менше 1 см. Тривалість вирощування становить 48 год при 30±2°С .

ТП 6.4. Вирощування інокуляту в колбах на качалках

З дотриманням асептичних умов у колбу об'ємом 500 мл з стерильною композицією А (від ДР 5.1.1) вносять композицію Б (від ДР 5.1.2), за допомогою піпетки на 1 мл вносять запасний розчин мікроелементів (0,3 мл) (від ДР 4.1), піпеткою на 2 мл додають запасний розчин дріжджового автолізу (1,5 мл) (від ДР 4.2), перемішують і розподіляють по 150 мл між чотирма стерильними качалочними колбами об'ємом 750 мл, після чого в кожену колбу піпеткою на 10 мл вносять по 6 мл пересмаженої соняшникової олії. У пробірку з робочою культурою *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241 (від ТП 6.3), піпеткою додають 5 мл фізіологічного розчину, суспендують (змивають) клітини, стерильною піпеткою відбирають отриману суспензію бактерій і переносять у качалочні колби із поживним середовищем. При засіві 1 колби беруть бактеріальну суспензію, яку отримують з 1 пробірки. Культивування відбувається на качалках (320

об/хв) при $30\pm 2^{\circ}\text{C}$ протягом 48 год. Після вирощування здійснюють мікробіологічний контроль та визначають концентрацію біомаси (0,6-0,8 г/л). У разі відсутності сторонньої мікробіоти у кожній колбі культуральну рідину з усіх колб переносять у засівну колбу об'ємом 1 л.

ТП 6.5. Вирощування в інокуляторі об'ємом 5 л

У ферментер (ФР-11) з композицією А (від ДР 5.2.1) через засівну колбу додають запасний розчин мікроелементів (3 мл) (від ДР 4.1), запасний розчин дріжджового автолізу (13 мл) (від ДР 4.2), 52 мл пересмаженої соняшникової олії, після чого вмикають мішалку і доводять рН до 6,8-7,0 6%-ним розчином NaOH (від ДР 3.2.1.). Після нейтралізації середовища через засівну колбу вносять посівний матеріал (від ТП 6.4). Культивують при температурі $30\pm 2^{\circ}\text{C}$ з аерацією ($p\text{O}_2 = 20 - 30\%$ від насичення повітрям), яка забезпечується швидкістю перемішування та витратами аераційного повітря, упродовж 24 год. Відбирають проби кожні 4 год для проведення мікробіологічного контролю та визначення концентрації біомаси (0,6-0,8 г/л).

ТП 6.6. Вирощування в інокуляторі об'ємом 50 л

У ферментер (ФР-15) з композицією Б (від ДР 5.3.2) вносять композицію А (від ДР 5.2.1), через засівну колбу додають запасний розчин мікроелементів (30 мл) (від ДР 4.1), 520 мл пересмаженої соняшникової олії, після чого вмикають мішалку і доводять рН до 6,8-7,0 6%-ним розчином NaOH (від ДР 3.2.2). Через трубу перетискування з ферментера об'ємом 5 л (ФР-11) подають посівний матеріал (від ТП 5.5) Культивують при температурі $30\pm 2^{\circ}\text{C}$ з аерацією ($p\text{O}_2 = 20 - 30\%$ від насичення повітрям), яка забезпечується швидкістю перемішування та витратами аераційного повітря, упродовж 24 год. Відбирають проби кожні 4 год для проведення мікробіологічного контролю та визначення концентрації біомаси (0,6-0,8 г/л).

ТП 7. Виробничий біосинтез поверхнево-активних речовин *A. calcoaceticus* IMB В-7241

ТП 7.1. Біосинтез ПАР у ферментері об'ємом 500 л

У ферментер об'ємом 500 (ФР-21) л з композицією Б (від ДР 5.4.2) самопливом подають композицію А з реактора - змішувача (Р-20) (від ДР 5.4.1), зі реактора-змішувача

(P-19) об'ємом 10 л подають самопливом 5,2 л пересмаженої соняшникової олії, вмикують перемішуючий пристрій та додають 6% розчин NaOH (від ДР 3.2.3) до рН 6,8-7,0, який контролюють за допомогою датчика рН. Через трубу перетискування подають посівний матеріал (від ТП 6.6) та культивують при температурі $30 \pm 2^\circ\text{C}$ при концентрації розчиненого кисню ($p\text{O}_2 = 20 - 30\%$ від насичення повітря) упродовж 72 год. Відбирають проби кожні 4 год, проводять мікробіологічний контроль, визначають концентрацію біомаси (1,2 – 1,6 г/л) та поверхнево-активних речовин (7,7 г/л).

РОЗДІЛ 8. КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА

Одержання поверхнево-активних речовин шляхом культивування бактерій *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241 проводять в асептичних умовах, тому для того, щоб переконатися у відсутності сторонньої мікробіоти, на кожному етапі промислового процесу здійснюють мікробіологічний контроль. Під час процесу культивування штаму, відбирають проби культуральної рідини (кожні 4 години) для проведення мікробіологічного аналізу поживних середовищ, посівного матеріалу та для визначення концентрацій джерел азоту ((NH₂)₂CO) і вуглецю (пересмажена соняшникова олія) у середовищі.

8.1. Мікробіологічний контроль

Для забезпечення мікробіологічного контролю використовують два методи: прямий висів на агаризовані поживні середовища та мікроскопіювання.

Прямим висівом культуральну рідину розсіюють на чашки Петрі з м'ясо-пептонним агаром (МПА) для виявлення бактерій та на чашки з сусло агаром (СА) – для виявлення грибів і дріжджів. Чашки з МПА інкубують при температурі 28-32 °С (1-2 доби) та з СА при температурі 24-28°С (3-5 діб). Візуально перевіряють на наявність сторонньої мікробіоти починаючи з 6 – 8 годин [49, 66].

Якщо стороння мікробіота відсутня, то на чашках Петрі можна побачити поодинокі колонії *A. calcoaceticus* (рис. 8.1), діаметром 2-2,5 мм з нерівними краями та зернистою текстурою, які мають округлу форму, непрозорий вигляд, блідо-жовтий або блідо-сірий колір. Колонії можуть мати гладку або неоднорідну текстуру [67].

					<i>НУХТ БТЕК 04.01.02 КР ПЗ</i>			
<i>Змн.</i>	<i>Лист</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>				
<i>Розробив</i>	Дон Є.А.				РОЗДІЛ 8. КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА	<i>Літ.</i>	<i>Арк.</i>	<i>Аркушів</i>
<i>Перевірив</i>	Пирог Т.П.						79	118
<i>Реценз.</i>						79		
<i>Н.контр</i>						<i>Кафедра БТМ</i>		
<i>Затверд.</i>	Стадніков В.П.							



Рис. 8.1. Колонії *Acinetobacter calcoaceticus* на агаризованому середовищі [67]

Мікроскопіювання проводять за допомогою світлового мікроскопа з імерсійною системою. Так, в асептичних умовах, на чисте, попередньо знежирене предметне скло стерильною петлею наносять краплину культуральної рідини. Бактеріальною петлею розподіляють краплю, в якій містяться мікроорганізми (діаметр мазка не більше 1 см). Мазок сушать, не нагріваючи його, до тих пір, поки повністю не випариться волога, при кімнатній температурі [66].

Якщо у зразку немає сторонньої мікробіоти, при мікроскопіюванні можна побачити клітини *A. calcoaceticus* (рис. 8.2). Бактерії представлені парами або короткими ланцюжками, в стаціонарній фазі - паличкоподібні (1,0-1,5 мм x 1,5-2,5 мм), а в логарифмічній фазі - кокоїдні (1,0-1,5 мм x 1,5-2,5 мм). Можуть бути грамнегативними (у молодому віці) та грампозитивними (при старінні), ковзаючі за рахунок слизової капсули, не здатні утворювати спори [21, 68].

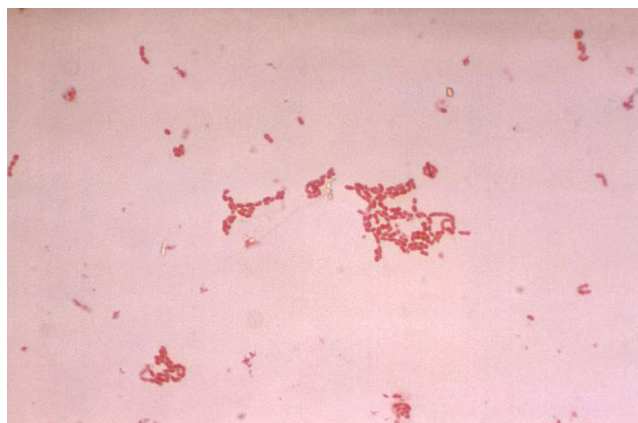


Рис. 8.2. Зображення клітин *Acinetobacter calcoaceticus* у світловому мікроскопі (X90) після фарбування за Грамом [69]

8.2. Показники росту і синтезу цільового продукту

8.2.1 Концентрація біомаси

Концентрацію біомаси визначають непрямим методом, за оптичною густиною клітинної суспензії з наступним перерахунком на абсолютно суху біомасу за калібрувальним графіком. Культуральну рідину розбавляють дистильованою водою до значення оптичної густини 0,2 - 0,8, яку вимірюють при довжиною хвилі $\lambda = 540$ нм та довжині світлового потоку 5 мм [70].

8.2.2. Концентрація поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* ІМВ В-7241

Концентрацію поверхнево-активних речовин визначають модифікованим методом Блайя і Дайера, як описано у роботі [8,12,71,72].

Оскільки, *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241 синтезує комплекс полярних і неполярних ліпідів, а класична суміш Фолча (хлороформ : метанол = 2:1) дає змогу виділяти в основному неполярні ліпіди, тому використовують модифіковану класичну суміш Фолча (хлороформ : метанол : вода = 4:3:2 відповідно), яку отримують шляхом додавання 1 М НСІ. Така система дозволяє максимально повно виділяти як полярні, так і неполярні ліпіди.

У циліндричну ділильну лійку, об'ємом 100 мл, вносять 25 мл супернатанту, який попередньо отримують центрифугуванням культуральні рідини при 5000 g, протягом 20 хв. Після цього додають 5 мл 1М розчин НСІ і закривши шліфованою пробкою воронку, струшують 5 хв. Після завершення струшування додають 20 мл модифікованої суміші Фолча (16 мл реактиву Фолча і 4 мл 1М НСІ), закривають пробкою і знову струшують (5 хв). По закінченню часу, отриману суміш залишають в ділильній лійці для поділу фаз, з подальшим зливанням нижньої фракції (екстракт 1). До отриманої водної фази додають 25 мл модифікованої суміші Фолча (16 мл реактиву Фолча і 9 мл 1М НСІ), екстрагують аналогічно та струшують протягом 5 хв. Отриману суміш залишають в ділильній лійці, з подальшим зливанням нижньої фракції (екстракт 2). Отримують екстракт 3, повторивши екстракцію, використовуючи водну фазу одержану при отриманні екстракту 2 і стандартну суміш Фолча (хлороформ: метанол = 2:1). Отримані екстракти об'єднують і випарюють на роторному випарнику ІР-1М2 при 50 °С до постійної маси [8,12,71,72].

8.2.3. Концентрація соняшникової олії

Джерелом Карбону для культивування *A. calcoaceticus* IMB В-7241 є соняшникова олія, концентрацію якої у культуральній рідині визначають ваговим методом після трикратної екстракції гексаном або петролейним ефіром у співвідношенні 1:1. Отриманий органічний екстракт упарюють на роторному випарнику IP-1M2 при 50 °С до постійної маси [73].

8.2.4. Концентрація сечовини

Джерелом азотного живлення є сечовина ((NH₂)₂CO), визначення якої здійснюють у супернатанті культуральної рідини спектрофотометричним методом, який ґрунтується на вимірюванні екстинції утвореного жовтого уреазного комплексу при довжині хвилі 480 нм [74,75].

Для отримання супернатанту культуральну рідину центрифугують при 5000 g протягом 20 хв. Відбирають 0,2 мл супернатанту та вносять 4 мл дистильованої води, перемішують і залишають на 10-15 хвилин. Додають 5 мл 30% трихлорооцтової кислоти для осадження білків у зразку, ретельно перемішують і центрифугують при 2500 обертах на хвилину протягом 15 хвилин або пропускають через паперовий фільтр. Відбирають 2 мл фільтрату в пробірку, куди вносять 2 мл діацетилмоноксиму та 0,30 мл 6N HCl (утворює сильноокисле середовище, що сприяє гідролізу сечовини з утворенням аміаку, який реагує з діацетилмоноксимом з утворенням жовтого комплексу), нагрівають пробірку протягом 15 хвилин і охолоджують до кімнатної температури.

Після появи жовтого кольору вимірюють екстинцію при довжині хвилі 480 нм. Розраховують концентрацію сечовини за калібрувальною кривою, побудовану з використанням стандартних розчинів сечовини з відомими концентраціями [74,75].

**8.2.5.Карта контрольних точок виробництва поверхнево-активних речовин штаму
Acinetobacter calcoaceticus IMB B-7241**

Номер контрольної точки та назва стадії	Об'єкт контролю та показник, що визначається	Засоби та методи контролю	Періодичність перевірки та відбору проб	Нормативні значення показника
<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>
<i>Кт 1.2.1 Прання одягу</i>	Випраний комплект одягу Температура, розмір пор	Термометр, перевірка розмір пор згідно технічних характеристик фільтра	Кожен комплект при пранні	$d_{пор} = 5 \text{ мкм}$, $T=30-35^{\circ}\text{C}$, $T_{нейлон} = 50-55^{\circ}\text{C}$, $T_{поліефір} = 60-67^{\circ}\text{C}$
<i>Кт 1.2.2 Сушіння одягу</i>	Сухий комплект одягу Температура, час	Термометр, годинник	Кожен комплект при сушінні	$T=80 - 90^{\circ}\text{C}$, $\tau=45 \text{ хв}$
<i>Кт 1.2.3 Стерилізації одяг</i>	Стерильний комплект одягу Температура, тиск, час	Термометр, манометр, годинник	Кожен комплект при стерилізації	$T = 120 \pm 1^{\circ}\text{C}$, $P = 0,10-0,11 \text{ МПа}$, $\tau=45 \text{ хв} \pm 1 \text{ хв}$
<i>Кт, Кх 1.3.1 Приготування миючого засобу «ПРОФІ 241» для миття обладнання за цикл</i>	Приготований миючий засіб «ПРОФІ 241» для обладнання Концентрація, об'єм, температура, час перемішування	Фізико-хімічний метод, мірна тара, лічильник, термометр, годинник	При та після приготуванні розчину	$C=0,5\%$, $V_{засобу}=1,4 \text{ л}$, $V_{води очищеної}=266 \text{ л}$ $T \leq 70^{\circ}\text{C}$, $\tau =5-10 \text{ хв}$
<i>Кт, Кх 1.3.2 Приготування робочого розчину «ПРОФІ 241»</i>	Робочий розчин «ПРОФІ 241» Концентрація, об'єм,	Фізико-хімічний метод, мірна тара	При та після приготуванні розчину	$C=1\%$, $V_{засобу}=100 \text{ мл}$, $V_{води}=10 \text{ л}$
<i>Кт, Кх 1.3.3 Приготування робочого розчину «PROFI CHLOR»</i>	Робочий розчин «PROFI CHLOR» Концентрація, кількість таблеток, об'єм, маса таблеток	Фізико-хімічний метод, візуально, мірна тара, аналітичні терези	При та після приготуванні розчину	$C=1\%$, $n_{таблеток} = 6 \text{ шт}$, $V_{води}=9 \text{ л}$, $m_{таблетки}=3,4 \text{ г}$

Продовження табл. 8.1

<i>Кт, Кх 1.3.4</i> <i>Приготування засобу</i> <i>«Фамідез Дезодерм</i> <i>TRIO» для обробки рук</i> <i>персоналу</i>	Розчин для обробки рук «Фамідез Дезодерм TRIO» <i>Концентрація, час</i> <i>втирання</i>	Візуально, годинник	При використанні розчину	$\tau = 15-30$ хв $C_{\text{спирту}} = 70\%$
<i>Кт 1.4.1 Поточне приби-</i> <i>рання</i>	Якість прибирання <i>Кратність</i> <i>прибирання</i>	Візуально	Після підготовки приміщень	$n_{\text{миття на день}} = 1-2$ рази
<i>Кт 1.4.2 Генеральне при-</i> <i>бирання.</i>	Якість прибирання <i>Кратність прибирання,</i> <i>кількість</i> <i>мікроорганізмів</i>	Візуально, змиви з поверхонь	Після підготовки приміщень	$n_{\text{миття на тиждень}} = 1$ раз, $KUO < 800 \text{ см}^2$
<i>Кт 1.5.1 Миття та ополі-</i> <i>скування обладнання</i>	Чистота обладнання <i>Температура,</i> <i>тривалість миття, час</i> <i>ополіскування</i>	Термометр, годинник	Перед початком виробничого процесу	$T \geq 70^\circ\text{C}$, $\tau = 10$ хв, $\tau_{\text{ополіскування}} = 60$ хв
<i>Кт, Км 1.5.2 Технічний</i> <i>огляд</i>	Цілісність обладнання <i>Наявність</i> <i>пошкоджень, вм'ятин та</i> <i>впадин</i>	Візуально	Перед початком виробничого процесу	Відсутність механічних пошкоджень
<i>Кт 1.5.3 Перевірка на ге-</i> <i>рметичність</i>	Герметичність ферментерів і реакторів <i>Тиск, час</i>	Манометр, годинник	Перед початком виробничого процесу	$P = 0,2$ МПа, $\tau = 30-60$ хв
<i>Кт 1.5.4 Стерилізація</i> <i>обладнання</i>	Стерильне обладнання <i>Температура, тиск</i>	Термометр, манометр, годинник	Перед початком виробничого процесу	$T_{\text{нагрів}} = 80-90^\circ\text{C}$, $T_{\text{max}} = 130-135^\circ\text{C}$, $\tau = 60$ хв $T_{\text{охолодження}} = 30-40^\circ\text{C}$, $P_{\text{надл.}} = 0,003-0,005$ МПа
<i>Кт 2.1</i> <i>Забір атмосферного по-</i> <i>вітря</i>	Повітрязабірник <i>Висота забору</i> <i>повітря</i>	-	Під час всього періоду культивування	$h = 11$ м

Продовження табл. 8.1

<i>Кт 2.2</i> <i>Очистка повітря від гру- бих часток</i>	Очищене повітря <i>Ступінь очистки, різниця тисків</i>	Манометр, перевірка ступеня очищення відповідно до технічних характеристик фільтра	Після того, як повітря пройшло через фільтр грубого очищення	E=90%
<i>Кт 2.3</i> <i>Стиснення повітря</i>	Стиснене повітря <i>Тиск, температура</i>	Манометр, термометр	Після компресування	P = 0,35-0,5 МПа, T = 120- 250 °C
<i>Кт 2.4</i> <i>Охолодження повітря та звільнення від вологи</i>	Охоложене повітря <i>Te- мпература, вологівміст</i>	Термометр, психрометр	Після охолодження і звільнення від вологи	T = 25-40 °C, W = 60-70%
<i>Кт 2.5</i> <i>Нагрівання повітря</i>	Нагріте повітря <i>Температура</i>	Термометр	Після нагріву повітря	T = 45-50°C
<i>Кт 2.6</i> <i>Очищення повітря у го- ловному фільтрі</i>	Очищене повітря <i>Ступінь очистки, різниця тисків</i>	Манометр, перевірка ступеня очищення відповідно до технічних характеристик фільтра	Після того, як повітря пройшло через головний фільтр	E = 95%
<i>Кт, Км 2.7</i> <i>Очищення повітря в індивідуальному фільтрі</i>	Очищене повітря <i>Ступінь очистки, мікробіологічна чистота</i>	Перевірка ступеня очищення відповідно до технічних характеристик фільтра, мікробіологічний контроль	Після того, як повітря пройшло через індивідуальний фільтр	E=99,9998% КУО = 0
<i>Кх 3.1</i> <i>Приготування розчину соляної кислоти для підкислення середовища у посівному апараті об'ємом 5 л, 50 л та у виробничому ферментері 500 л</i>	Розчин соляної кислоти <i>Концентрація</i>	Фізико-хімічний метод	Після приготування розчину	C=6%

Продовження табл. 8.1

<p><i>Кт, Кх, Км</i> 3.2.1, 3.2.2, 3.2.3 Приготування і стерилізація розчину натрію гідрооксиду для підлужнення середовища у посівному апараті об'ємом 5 л, 50 л і 500 л</p>	<p>Розчин натрію гідрооксиду Час, тиск, концентрація, стерильність</p>	<p>Годинник, манометр, фізико-хімічний метод, мікробіологічний контроль</p>	<p>Тривалість та тиск визначаються безперервно під час стерилізації, концентрація після приготування розчину, мікробіологічний контроль після стерилізації</p>	<p>$\tau = 40$ хв, $P = 0,15$ МПа, відсутність сторонньої мікробіоти</p>
<p><i>Кт, Км 4.1</i> Приготування і стерилізація запасного розчину мікроелементів для вироцування інокуляту у колбах на качалці і посівних апаратах об'ємом 5 л та 50 л</p>	<p>Розчин мікроелементів Час, тиск, стерильність</p>	<p>Годинник, манометр, мікробіологічний контроль</p>	<p>Тривалість та тиск визначаються безперервно під час стерилізації, мікробіологічний контроль здійснюється після стерилізації</p>	<p>$\tau = 40$ хв, $P = 0,15$ МПа, відсутність сторонньої мікробіоти</p>
<p><i>Кт, Км 4.2</i> Приготування та стерилізація запасного розчину дріжджового автолізату</p>	<p>Розчину дріжджового автолізату Час, тиск, стерильність</p>	<p>Годинник, манометр, мікробіологічний контроль</p>	<p>Тривалість та тиск визначаються безперервно під час стерилізації, мікробіологічний контроль здійснюється після стерилізації</p>	<p>$\tau = 30$ хв, $P=0,05$ МПа відсутність сторонньої мікробіоти</p>
<p><i>Кт, Км 5.1.1</i> Приготування і стерилізація поживного середовища для вироцування інокуляту <i>A. calcoaceticus</i> IMB B-7241 в колбах на качалках</p> <p>Приготування і стерилізація композиції А</p>	<p>Композиція А Час, тиск, стерильність</p>	<p>Годинник, манометр, мікробіологічний контроль</p>	<p>Тривалість та тиск визначаються безперервно під час стерилізації, мікробіологічний контроль здійснюється після стерилізації</p>	<p>$\tau = 40$ хв, $P = 0,15$ МПа, відсутність сторонньої мікробіоти</p>

<p><i>Кт, Км 5.1.2</i> Приготування і стерилізація композиції Б</p>	<p>Композиція Б Час, тиск, стерильність</p>	<p>Годинник, манометр, мікробіологічний контроль</p>	<p>Тривалість та тиск визначаються безперервно під час стерилізації, мікробіологічний контроль здійснюється після стерилізації</p>	<p>$\tau = 40$ хв, $P = 0,15$ МПа, відсутність сторонньої мікробіоти</p>
<p><i>Кт, Кх, Км 5.2.1</i> Приготування і стерилізація поживного середовища для вироцкування інокуляту <i>A. calcoaceticus</i> IMB В-7241 у посівному апараті об'ємом 5 л</p> <p>Приготування і стерилізація композиції А</p>	<p>Композиція А Час, температура, рН, стерильність</p>	<p>Годинник, термометр, датчик рН, мікробіологічний контроль</p>	<p>Тривалість та температура визначаються безперервно під час стерилізації, мікробіологічний контроль здійснюється після стерилізації</p>	<p>$\tau = 40$ хв, $T=131$ °С, рН = 4,0-4,5, відсутність сторонньої мікробіоти</p>
<p><i>Кт, Км 5.3.1</i> Приготування і стерилізація поживного середовища для вироцкування інокуляту <i>A. calcoaceticus</i> IMB В-7241 у посівному апараті об'ємом 50 л та у виробничому ферментері об'ємом 500 л</p> <p>Приготування і стерилізація композиції А</p>	<p>Композиція А Час, тиск, стерильність</p>	<p>Годинник, манометр, мікробіологічний контроль</p>	<p>Тривалість та тиск визначаються безперервно під час стерилізації, мікробіологічний контроль здійснюється після стерилізації</p>	<p>$\tau = 30$ хв, $P = 0,05$ МПа, відсутність сторонньої мікробіоти</p>

Продовження табл. 8.1

<p><i>Кт, Км 5.4.1</i> Приготування і стерилізація поживного середовища для вироцкування інокуляту <i>A. calcoaceticus</i> ІМВ В-7241 у виробничому ферментері об'ємом 500 л</p> <p>Приготування і стерилізація композиції А</p>	<p>Композиція А Час, температура, стерильність</p>	<p>Годинник, термометр, мікробіологічний контроль</p>	<p>Тривалість та температура визначаються безперервно під час стерилізації, мікробіологічний контроль здійснюється після стерилізації</p>	<p>$\tau = 30$ хв, $T=112$ °С, відсутність сторонньої мікробіоти</p>
<p><i>Кт, Кх, Км 5.3.2, 5.4.2</i> Приготування і стерилізація композиції Б</p>	<p>Композиція Б Час, температура, рН, стерильність</p>	<p>Годинник, термометр, датчик рН, мікробіологічний контроль</p>	<p>Тривалість та температура визначаються безперервно під час стерилізації, мікробіологічний контроль здійснюється після стерилізації</p>	<p>$\tau = 40$ хв, $T=131$ °С, рН=4,0-4,5 відсутність сторонньої мікробіоти</p>
<p><i>Кт, Км 6.1</i> Підтримання колекційної культури</p>	<p>Колекційна культура <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> ІМВ В-7241 Температура, час, мікробіологічна чистота культури</p>	<p>Холодильник, мікробіологічний контроль</p>	<p>Тривалість та температура визначаються безперервно під час зберігання, мікробіологічний контроль-кожні 2-3 місяці</p>	<p>$T=4 \pm 1$ °С, $\tau = 2-3$ місяці, відсутність сторонньої мікробіоти</p>

Продовження табл. 8.1

<p><i>Кт, Км 6.2</i> <i>Одержання робочої культури</i></p>	<p>Робоча культура <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> ІМВ В-7241 на чашках Петрі Температура, час мікробіологічна чистота культури</p>	<p>Термостат, термометр, годинник, мікробіологічний контроль</p>	<p>Тривалість та температура визначаються безперервно під час вирощування, мікробіологічний контроль - після вирощування</p>	<p>$T=30\pm 2^{\circ}\text{C}$ $\tau = 72$ год, відсутність сторонньої мікробіоти</p>
<p><i>Кт, Км 6.3</i> <i>Вирощування інокуляту у пробірках на агаризованому середовищі</i></p>	<p>Робоча культура <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> ІМВ В-7241 у пробірках Температура, час, мікробіологічна чистота</p>	<p>Термостат, термометр, годинник, мікробіологічний контроль</p>	<p>Тривалість та температура визначаються безперервно під час вирощування, мікробіологічний контроль - після вирощування</p>	<p>$T=30\pm 2^{\circ}\text{C}$ $\tau = 48$ год, відсутність сторонньої мікробіоти</p>
<p><i>Кт, Км 6.4</i> <i>Вирощування інокуляту в колбах на качалках</i></p>	<p>Посівний матеріал Температура, час, швидкість перемішування, мікробіологічна чистота, концентрація біомаси</p>	<p>Термостат, термометр, годинник, тахометр, ФЕК (непрямий метод визначення концентрації біомаси), мікробіологічний контроль</p>	<p>Температура і швидкість обертів качалки контролюються під час вирощування, визначення біомаси і мікробіологічний контроль здійснюють після культивування</p>	<p>$T=30\pm 2^{\circ}\text{C}$, $\tau = 48$ год., $W=180$ об/хв, $C_6=0,6-0,8$ г/л, відсутність сторонньої мікробіоти</p>
<p><i>Кт, Км, Кх 6.5</i> <i>Вирощування в інокуляторі об'ємом 5 л</i></p>	<p>Посівний матеріал Температура, час, рН, швидкість перемішування, витрати повітря, концентрація біомаси, концентрація розчиненого кисню, мікробіологічна чистота</p>	<p>Датчик температури, рН, рО₂, годинник, тахометр, ротаметр ФЕК (непрямий метод визначення, концентрації біомаси), мікробіологічний контроль</p>	<p>Температура, рН, частота обертів мішалки, витрати повітря, концентрація розчиненого кисню, контролюються автоматично під час вирощування, визначення біомаси і мікробіологічний контроль проводять кожні 4 год і після культивування</p>	<p>$T=30\pm 2^{\circ}\text{C}$, $\tau = 24$ год., рН=6,8-7,0, $W=300$ об/хв, $C_6=0,6-0,8$ г/л, рО₂ = 20 – 30 % відсутність сторонньої мікробіоти</p>

Закінчення табл. 8.1

<p><i>Кт, Км, Кх 6.6</i> <i>Вирощування в інокуляторі об'ємом 50 л</i></p>	<p>Посівний матеріал Температура, час, рН, швидкість перемішування, витрати повітря, концентрація біомаси, концентрація розчиненого кисню, мікробіологічна чистота</p>	<p>Датчик температури, рН, рО₂, годинник, тахометр, ротаметр, ФЕК (непрямий метод визначення концентрації біомаси) мікробіологічний контроль</p>	<p>Температура, рН, частота обертів мішалки, витрати повітря, концентрація розчиненого кисню, контролюються автоматично під час вирощування, визначення біомаси і мікробіологічний контроль проводять кожні 4 год і після культивування</p>	<p>T=30±2 °С, τ = 24 год., рН=6,8-7,0, W=300 об/хв. С₆=0,6-0,8 г/л, рО₂ = 20 – 30 % відсутність сторонньої мікробіоти</p>
<p><i>Кт, Км, Кх 7.1</i> <i>Біосинтез поверхнево-активних речовин у ферментері об'ємом 500 л</i></p>	<p>Культуральна рідина Температура, час культивування, рівень рН, концентрація розчиненого кисню, частота обертів мішалки, витрати повітря, концентрація біомаси і поверхнево-активних речовин, мікробіологічна чистота</p>	<p>Датчик температури, рН, рО₂, годинник, тахометр, ротаметр, ФЕК (непрямий метод визначення концентрації біомаси), ділильна лійка, суміш Фолча, центрифуга, роторний випарник, електронні ваги, мікробіологічний контроль</p>	<p>Температура, рН, частота обертів мішалки, витрати повітря, концентрація розчиненого кисню, контролюються автоматично, під час вирощування, визначення біомаси і поверхнево-активних речовин, мікробіологічний контроль проводять кожні 4 год і після культивування</p>	<p>T=30±2°С, τ = 72 год., рН=6,8-7,0 рО₂ = 20 – 30 % W=300 об/хв, С₆ =1,2-1,6 г/л, С_{ПАР}=7,7 г/л відсутність сторонньої мікробіоти</p>

РОЗДІЛ 9. ОСНОВНІ ПІСЛЯФЕРМЕНТАЦІЙНІ СТАДІЇ

9.1. Методи виділення поверхнево-активних речовин

У більшості робіт [76,77] для виділення гліколіпідів з супернатанту культуральної рідини використовували екстракцію етанолом на основі даних про те, що етанол є більш селективним для виділення трегалозоліпідів. Проте є інформація й про використання інших розчинників для виділення гліколіпідів [76], а саме гексаном, бензолом, метанолом, н-октаном, толуолом, хлороформом, тетрахлорметаном, ізобутанолом, т-бутанолом, пентанолом-2, етилацетатом, бутилацетатом, діетиловим ефіром. Так у роботі [78], запропоновано використовувати метанол для розділення манозилеритроліпідів (МЕЛ) та триацилгліцеринів на основі того, що метанол здатен ефективно та повністю розчинити МЕЛ і вільні жирні кислоти, демонструючи мінімальну здатність розчинити триацилгліцерини. Ця вибірковість дозволяє відокремити МЕЛ від триацилгліцеринів. Хлороформ або дихлорметан, були виключені через їхню хлорвуглеводневу природу і летючість.

Автори у роботах зазначають те, що для виділення ПАР можливим є використання адсорбентів магніточутливими композитними на основі оксидів купруму з подальшою екстракцією [76] та використання методу осадження за рахунок кислот [79,80] або солей [81]. У статті [79] автори демонструють найкраще осадження додаючи соляну кислоту, нагріваючи отриману композицію до 100 °С протягом 25 [80] хвилин за рахунок чого спостерігають збільшення концентрації ПАР від 7-28%, в порівнянні з іншими кислотами (H_2SO_4 , H_3PO_4 , HNO_3 , CH_3COOH). Надалі проводять центрифугування рідин після якої нижню фракцію (яка містить гліколіпідів) отримують шляхом простого зливання (в лабораторних умовах) або за використання сепараторів та деканторів (в промислових масштабах) Так, у роботі [81] застосовують два автономних методи: осадження сульфатом аммонія та осадження цинковим хлоридом, де до попередньо отриманого супернатанту додають $(NH_4)SO_4$ або $ZnCl_2$ і піддають екстракції за допомогою гексадекну та діетилового ефіру відповідно.

					<i>НУХТ БТЕК 04.01.02 КР ПЗ</i>			
<i>Змн.</i>	<i>Лист</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>				
<i>Розробив</i>	Дон Є.А.				РОЗДІЛ 9. ОСНОВНІ ПІСЛЯФЕРМЕНТАЦІЙНІ СТАДІЇ	<i>Літ.</i>	<i>Арк.</i>	<i>Аркушів</i>
<i>Перевірив</i>	Пирог Т.П.						91	118
<i>Реценз.</i>						<i>Кафедра БТМ</i>		
<i>Н.контр</i>								
<i>Затверд.</i>	Стадніков В.П.							

Популярним методом, який висвітлений у статтях [82,83] для виділення гліколіпідів з культуральних рідин є метод пінного фракціонування, заснований на селективній адсорбції поверхнево-активних сполук на повітряних бульбашках. Так у роботі [82] автори отримують піну, адсорбують на активованому вугіллі (масова частка 4%)/ діоксиді кремнію С18, піддають десорбції за допомогою ацетону [82] так як, в порівнянні з іншими органічними розчинниками (метанол, етанол та ефірні олії), він сприяє десорбції ПАР майже на 89% а також не забарвлює виділенні ПАР, а у [83] етанолом. Вугілля відокремлювали фільтруванням та промивали дистильованою водою для видалення неадсорбованого ПАР. Ацетон з кожного вилученого зразка, що містить ПАР, виділяється за рахунок пониженого тиску

У роботах [83,84] застосований більш механічний спосіб виділення ПАР, за рахунок того, що культуральну рідину, що містить ПАР, направляють у колону пінного фракціонування, де знизу вводиться повітря або інертний газ за рахунок чого молекули ПАР в бульйоні адсорбуються на повітряних бульбашках, що піднімаються. Цей піноматеріал багатий поверхнево-активними речовинами завдяки вибірковій адсорбції цих молекул бульбашками повітря під час утворення піни, збирається з поверхні колони. Так, при організації даних методів [82-84] і регуляції показниками, а саме швидкості повітря (низька швидкість повітряного потоку призводить до нестійкої тонкої піни, яка швидко руйнується, а висока швидкість повітряного потоку збільшує фракцію піни, але зменшує коефіцієнт збагачення рідини, що надходить у фракцію), розміру пор диска зі спеченого скла (маленький розмір пор утворює менші повітряні бульбашки з більшою площею поверхні, збільшуючи відновлення поверхнево-активної речовини; великий розмір пор призводить до більш вологої піни, зменшуючи коефіцієнт збагачення), рівня піни (надмірний рівень збільшує коефіцієнт збагачення, але зменшує відновлення поверхнево-активної речовини через підвищену сухість піни) та часу роботи (збільшений час покращує відновлення поверхнево-активних речовин, дозволяючи відокремлювати більші об'єми піни) можна досягти оптимального виділення ПАР .

9.2. Методи очищення поверхнево-активних речовин

У роботі [76] для очищення поверхнево-активних речовин від органічних розчинників після попередньої їх екстракції, використовують упарювання екстракту (5

мм.м.рт.ст при 60°C) з подальшим його сушінням (80°C, протягом 30 хв). Так, у статтях зазначенні інші методи реалізації очищення ПАР після їх виділення [78,84,85].

У статтях [78,84,85] згадується очищення ПАР за рахунок ультрафільтрації/нанофільтрації. Концентрація та очищення сурфактину методом ультрафільтрації (УФ) включає два етапи: УФ-1 та УФ-2. Ультрафільтрація (УФ-1), цілю якої є концентрація міцел сурфактину з одночасним очищенням від домішок, таких як глюкоза, солі та низькомолекулярні білки, використовуються мембрани з молекулярною масою зрізу від 30 до 10 кДа. Мембрани вибираються так, щоб утримувати міцели сурфактину, але пропускати домішки, які мають меншу молекулярну масу. Ретентат утворюється з розчину сурфактину та домішок після проходження через мембрану. Міцели сурфактину концентруються в ретентаті, тоді як глюкоза, солі та низькомолекулярні білки проникають через мембрану та видаляються. По закінченню проходження через мембрану, встановлюється ступінь концентрації сурфактину в ретентаті та ефективність очищення від домішок. Ультрафільтрація (УФ-2), метою якої є руйнування міцел сурфактину та відновлення сурфактину в пермеаті, мінімізуючи проникнення високомолекулярних сполук через мембрану при якому умови ретентату, одержаного після УФ-1, змінюються для руйнування структури міцел сурфактину. Це може включати розведення ретентату для зниження концентрації сурфактину до рівня нижче за критичну концентрацію міцелоутворення (ККМ). Зруйновані міцели сурфактину проникають через мембрану у пермеат. Високомолекулярні сполуки, такі як білки, залишаються в ретентаті та відштовхуються мембраною. Оцінюється рівень відновлення сурфактину в пермеаті після УФ-2. У свою чергу нанофільтрація [78] включає в себе правильний підбір мембран, які повинні мати відповідний розмір пор, щоб утримувати МЕЛ (з молекулярною масою в діапазоні від 580–650 Да), дозволяючи меншим похідним ліпідів (280–350 Да) проходити в пермеат.

У статті наведено спосіб [86] очищення ПАР, що ґрунтується на хроматографічних методах. Для адсорбційної хроматографії на смолі Amberlite XAD-2, скляну колонку (650 на 200 мм) заповнюють смолою Amberlite XAD-2, що забезпечує висоту шару приблизно 330 мм. Колонку врівноважують 0,1 М калій-фосфатним буфером (рН 6,1), щоб підготувати смолу для завантаження зразка. Завантаження зразка та ад-

сорбція: Супернатнат, що містить ПАР, подають у колонку з контрольованою швидкістю потоку (починаючи приблизно з 20 л/год і зменшуючи до 10 л/год), щоб забезпечити оптимальну адсорбцію ПАР на смолі. Хід адсорбції контролюють шляхом вимірювання поверхневого натягу на виході з колонки. Адсорбційна хроматографія продовжується, доки поверхневий натяг не впаде нижче певного порогу ($35 \text{ мН} \cdot \text{м}^{-1}$). Після адсорбції колонку промивають 2-3 об'ємами шару дистильованої води для видалення незв'язаних домішок. ПАР елюють зі смоли за допомогою відповідного елюенту. Використану смолу регенерують шляхом елювання колонки 2-3 об'ємами шару 1N NaOH у метанолі для видалення будь-яких залишкових ПАР і забруднень. Іонообмінна хроматографія на смолі DEAE-Sepharose CL 6B, аналогічно починається з підготовка колонки та врівноваження буфера. Так, смолу DEAE-Sepharose CL 6B заповнюють у колонку (400 на 200 мм), отримуючи об'єм шару приблизно 6,2 літра. Колонку врівноважують 10 мМ трис-гідрохлоридним буфером (рН 8), що містить 10% етанолу, для підготовки до нанесення зразка. Концентрований залишок адсорбційної хроматографії розбавляють у десять разів тим же буфером, що містить 20% етанолу, а потім фільтрують через ватний фільтр. Відфільтрований зразок подається в колонку DEAE-Sepharose зі швидкістю потоку 6 л/год. ПАР елюють зі смоли за допомогою 0,8 M NaCl у тому ж буфері. Елюйовані фракції ПАР піддають другій стадії адсорбційної хроматографії на смолі XAD-2. Елюат метанолу з адсорбції XAD-2 випарюють для концентрації ПАР з подальшою ліофілізацією для отримання сухого очищеного продукту [86].

9.3. Метод виділення поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241

У роботі зазначено [8], що поверхнево-активні речовини, а саме неполярні ліпіди, можна виділити ґрунтуючись на методі Блея і Дайєра [87] за рахунок використання класичної суміші Фолча (хлороформ : метанол = 2:1).

Оскільки, *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241 синтезує комплекс полярних і неполярних ліпідів, а класична суміш Фолча дає змогу виділяти виключно неполярні ліпіди, авторами статті [71] було прийнято рішення щодо використання модифікованої суміші Фолча (хлороформ : метанол : вода = 4:3:2 відповідно), яка була запропо-

нована [72]. Метою модифікації було внесення 0,1 М хлоридної кислоти (співвідношення 1:3,5), що змінює рівновагу електролітичної дисоціації ПАР, сприяючи утворенню недисоційованої форми, що у свою чергу, підвищує спорідненість полярних ліпідів до хлороформу, як ключового екстрагенту, для абсорбції ліпідів та їх локалізації у доступній для відокремлення фазі системи екстрагентів [12,71,72].

У зазначених роботах [8,12,71,72] та на рис. 9.1 процес екстракції ПАР модифікованою сумішшю Фолча був проведений за рахунок того, що у циліндричну ділительну лійку, об'ємом 100 мл, вносили 25 мл супернатанту, який попередньо отримували центрифугуванням культуральної рідини при 5000 g, протягом 15 хв. Після цього додавали 5 мл 1М розчин HCl і закривши шліфованою пробкою воронку, струшували 3-5 хв. Після завершення струшування додавали 20 мл модифікованої суміші Фолча (16 мл реактиву Фолча і 4 мл 1М HCl), закривали пробкою і знову струшували (5 хв). По закінченню часу, отриману суміш залишали в ділительній лійці для поділу фаз, з подальшим зливанням нижньої фракції (екстракт 1). До отриманої водної фази додавали 25 мл модифікованої суміші Фолча (16 мл реактиву Фолча і 9 мл 1М HCl), екстрагують аналогічно та струшували протягом 5 хв. Отриману суміш залишали в ділительній лійці, з подальшим зливанням нижньої фракції (екстракт 2). Отримували екстракт 3, повторивши екстракцію, використавши водну фазу одержану при отриманні екстракту 2 і стандартну суміш Фолча (хлороформ: метанол = 2:1). Отримані екстракти об'єднували і випарювали на роторному випарнику IP-1M2 при 50 °C та абсолютному тиску 0,4 атм до постійної маси [8,12,71,72].

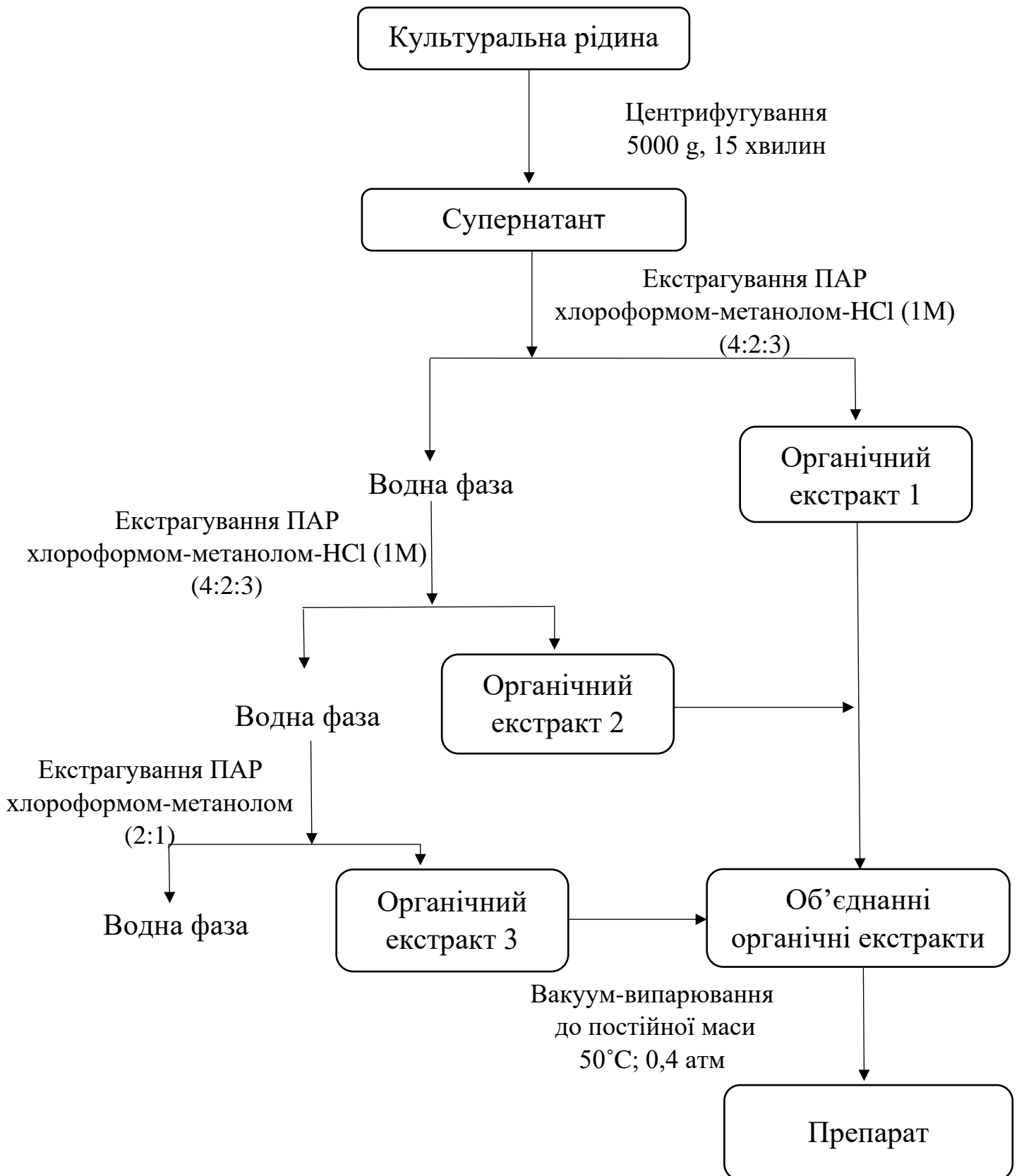


Рис. 9.1. Схема післяферментаційних етапів отримання позаклітинних поверхнево-активних речовин, синтезованих *Acinetobacter calcoaceticus* K-4 [88]

Проаналізувавши зазначену літературу, можна зробити висновки, що для виділення

та очищення поверхнево-активних речовин, наразі, існує велика кількість методів виділення (екстракція органічними розчинниками [71,72,76-78,87], осадження за рахунок кислот [79,80] або солей [81], метод пінного фракціонування в поєднанні з адсорбцією/десорбцією [77,83]) та очищення (фільтрація [78,84,85] або хроматографія [86]), кожен з яких має свої переваги і недоліки та може бути реалізований, як у лабораторій так і промислових масштабах при виробництві поверхнево-активних речовин різної хімічної природи.

Великої популярності набув метод екстракції ПАР органічними розчинниками [71,72,76-78,87], з подальшим упарюванням, до переваг [89,90], якого відносять те, що даний метод є багаторазовим, за рахунок можливості регенерації розчинника, відносно недорогим та доволі адаптивним, тобто дозволяє, змінивши склад екстрагуючої суміші збільшити вихідну концентрацію вторинних метаболітів. До недоліків даного методу, можна віднести роботу з токсичними речовинами, такими, як метанол та хлороформ, рішенням якого є дотримання правил поведження з токсичними речовинами та використання засобів індивідуального захисту і тоді, ризики будуть мінімальними. Так, у роботі [71] за рахунок модифікації суміші Фолча вдалося збільшити концентрацію ПАР *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241 на 20-40% та виділити, як полярні так і не полярні ліпіди.

Згідно робіт [89,90], до переваг осадження за рахунок кислот [79,80] можна віднести дешевизну процесу, економію часу, збільшення виходу продукту від 7-28% та безпечність, що не можна сказати про осадження солями [81] через потребу подальшої обробки ацетоном, що є токсичним для довкілля хоча і цей метод також є дешевим у організації.

Пінне фракціонування [82,83,90] з/без адсорбції/десорбції на адсорбентах є доволі новим та перспективним методом особливо при біосинтезі ПАР у реакторі, через надмірне піноутворення, що впливає на масштабування системи та подальшу обробку. Тому перевагами даного методу є не тільки можливість вирішення питання піноутворення, але й швидка регенерація сорбенту, але слід зауважити що для реалізації процесу необхідне спеціальне обладнання (колонки, розпилювачі, диски зі спеченого скла), що може призвести до значних витрат .

Згідно джерел [78,84,85,90] за допомогою фільтрації (нано та ультра) та іонообмінної хроматографії [86,89,90] є можливість швидко та дешево (багаторазове використання носія) отримати високоочищений продукт, але слід враховувати, що при масштабуванні даного процесу обранні мембрани особливо чутливі до концентраційної поляризації, що може призводити до зменшення ефективності процесу очищення через накопичення речовин біля поверхні мембрани.

Тож, підбір методів для виділення та очищення ПАР є доволі індивідуальним та дозволяє комбінувати декілька методів [89,90] для отримання високоякісного продукту в залежності від можливостей підприємства та подальшого призначення продукту.

РОЗДІЛ 10. АНАЛІЗ ПЕРСПЕКТИВ ВПРОВАДЖЕННЯ СИСТЕМИ ЕКОЛОГОЛІЗАЦІЇ ВИРОБНИЦТВА

Екологізація виробництва - це безперервний процес розробки та впровадження нових технологічних та управлінських рішень, спрямованих на підвищення ефективності використання природних ресурсів та збереження якості довкілля [91].

10.1. Знешкодження та утилізація рідких відходів

При технологічному процесі отримання комплексу поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* ІМВ В-7241 утворюються стічні води, джерелами яких є:

- Залишки мийно-дизинфікуючих засобів, що використовуються при санітарній підготовці виробництва
- Побутові стічні води

У нашому випадку, цільовий продукт буде супернатантом, тому до рідких відходів він не відноситься.

Враховуючи об'єми стічних вод на одиницю продукції та добову продуктивність, можна здійснити розрахунки, що допоможуть обрати оптимальний режим очищення стічних вод для ефективного та екологічно чистого управління водними ресурсами на підприємстві.

10.1.1. Розрахунок орієнтовного об'єму стічних вод

При використанні автоматичної станції миття, а саме СІР-мийки для одного циклу використовується в середньому 25% мийного засобу від кожного з об'ємів обладнання [49]. Такий підхід сприятиме економії мийного засобу і зменшенню викидів токсичних рідких відходів порівняно із звичайною ручною мийкою. Тому для санітарної підготовки нашого обладнання, яке було обрано в курсовому проєкті, оберемо саме СІР-мийки.

					<i>НУХТ БТЕК 04.01.02 КР ПЗ</i>		
<i>Змн.</i>	<i>Лист</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>			
<i>Розробив</i>		Дон Є.А.			<i>Літ.</i>	<i>Арк.</i>	<i>Аркушів</i>
<i>Перевірив</i>		Пироз Т.П.				99	118
<i>Реценз.</i>					<i>Кафедра БТМ</i>		
<i>Н.контр</i>							
<i>Затверд.</i>		Стадніков В.П.					
					РОЗДІЛ 10. АНАЛІЗ ПЕРСПЕКТИВ ВПРОВАДЖЕННЯ СИСТЕМИ ЕКОЛОГОЛІЗАЦІЇ ВИРОБНИЦТВА		
					99		

Загальний об'єм ємностей, що підлягають обробці:

$$\begin{aligned} V_{\text{ємностей}} &= V_{\text{P-9}} + V_{\text{ФР-11}} + V_{\text{P-12}} + V_{\text{ФР-15}} + V_{\text{P-16}} + V_{\text{P-19}} + V_{\text{P-20}} + V_{\text{ФР-21}} = \\ &= 5 + 5 + 50 + 50 + 500 + 500 + 10 + 2 = 1122 \text{ л}, \end{aligned}$$

де P-9 (Реактор-змішувач для приготування композиції А для вирощування інокуляту у посівному апараті об'ємом 5 л); ФР-11 (Ферментер для стерилізація поживного середовища для вирощування інокуляту у посівному апараті об'ємом 5 л); P-12 (Реактор-змішувач для приготування композиції А для вирощування інокуляту у посівному апараті об'ємом 50 л); ФР-15 (Ферментер для стерилізація поживного середовища для вирощування інокуляту у посівному апараті об'ємом 50 л); P-16 (Реактор-змішувач для приготування композиції Б для вирощування інокуляту у виробничому ферментері); P-19 (Реактор-змішувач для відпрацьованої олії); P-20 (Реактор-змішувач для приготування композиції А для вирощування інокуляту у виробничому ферментері); ФР-21 (Виробничий ферментер)

Звідси маємо, що об'єм мийно-дезінфікуючих засобів становитиме:

$$V_{\text{ємностей}} = V * X_{\text{сер. мий. зас.}} = 1122 * 0,25 = 280,5 \text{ л},$$

де $X_{\text{сер. мий. зас.}}$ - середні витрати мийного засобу для СІР-мийки на один цикл

Прийемо, що води для ополіскування обладнання після обробки мийними засобами треба в середньому також 25% *орієнтовна кількість стічних вод буде сягати :*

$$V_{\text{стічних вод}} = V_{\text{мийно-дез.засобів}} + V_{\text{ор.к-сть води}} = 280,5 + 280,5 = 561 \text{ л}$$

Так, як у нашому випадку, цільовим продуктом буде супернатант тому для достовірності розрахунку обчислимо скільки стічних вод утворюється при отриманні 1000 л (1 м^3) супернатанту. Згідно попередніх розрахунків у минулих курсових проєктах маємо, що об'єм культуральної рідини, який одержать за виробничий цикл становитиме 283,1 л, а абсолютно суха маса становитиме $C_6 = 1,6 \text{ г/л}$. Знаючи, що після центрифугування вологість біомаси становитиме 70% маємо:

$$\varphi_{\text{біомаси}} = 1,6 * 0,7 = 1,12 \text{ г/л}$$

Тоді концентрація вологої біомаси сягатиме:

$$C_{\text{волог.біомаси}} = 1,6 + 1,12 = 2,72 \text{ г/л}$$

Знайдемо вміст вологої біомаси у культуральній рідині:

$$\Phi_{\text{вол.біомаси}} = 283,1 * 2,72 = 770,03 \text{ (770 г)}$$

Розрахуємо кількість супернатанту за один цикл, враховуючи, що основою культуральної рідини є вода, то маємо:

$$X_c = 283100 \text{ г} - 770 \text{ г} = 282330 \text{ г} = 282,3 \text{ л}$$

Розрахуємо кількість утворених стічних вод для 1 м³ супернатанту:

$$X_{\text{ст.вод}} = 561/282,3 = 1990 \text{ л} = 1,99 \text{ м}^3$$

10.1.2. Визначення середніх витрат стічних вод підприємства

Згідно ТЕО річна потужність сягає 13 кг/рік . Кількість культуральної рідини на рік знаючи, що *A. calcoaceticus* IMV B-7241 здатен синтезувати 7,7 г на 1 л [7] сягає:

$$X_{\text{култ.рід.}} = 13/7,7 = 1688,3 \text{ л}$$

Знаючи, що кількість циклів за рік становить 9, а кількість супернатанту за один цикл дорівнює 282,3 л, маємо, що за рік супернатанту буде:

$$282,3 * 9 = 2540,7 \text{ л} = 2,5 \text{ м}^3$$

Добова потужність підприємства по супернатанту становитиме:

$$2,5/30 = 0,08 \text{ м}^3, \text{ де } T_{\text{рд}} = 30 \text{ робочих трудоднів}$$

Середні за зміну витрати побутових стічних вод, що надходять від підприємства:

$$Q_{\text{п}} = q_{\text{п}} \times N = 0,025 \times 6 = 0,15 \text{ м}^3/\text{змін}, \text{ де}$$

де $q_{\text{п}}$ - норма відведення побутових стічних вод в м³/зм на одного робітника, яку приймають для холодних - 0,025 м³/(зм. люд); $N = 6$ - кількість робітників, шт (мікробіолог, технолог, оператор, прибиральник, апаратчик, механік)

Зважаючи на те, що одна зміна триває 8 годин, то для отримання річної потреби ПАР *Acinetobacter calcoaceticus* IMV B-7241 буде працювати 90 змін (3 зм/добу•30 трудоднів = 90 змін)

Кількість побутових вод за рік:

$$Q_{\text{к}} = 0,15 * 90 = 13,5 \text{ м}^3$$

Кількість стічних і побутових вод за рік:

$$Q_{\text{к}} = 5 + 13,5 = 18,5 \text{ м}^3$$

Визначимо середні за зміну витрати виробничих стічних вод:

$$Q_{\text{в}} = q_{\text{е}} \times n = 1,99 \times 2,5 = 5 \text{ (м}^3/\text{добу)}, \text{ де}$$

q_e - норма водовідведення в m^3 на одиницю продукції, яку випускає підприємство; n - кількість одиниць продукції, що виробляється за зміну

Перерахунок середньої за зміну витрат побутових вод на добу:

$$Q_{\text{п}} = (0,15 \times 3 \times 24) / 8 = 1,35 \text{ м}^3/\text{добу, де}$$

8 - тривалість зміни, год; 24- тривалість доби, год; 3 - кількість змін на добу, шт
Загальна витрата атмосферних стічних вод (орієнтовно можна прийняти у об'ємах у 5 – 30 разів меншому за витрати побутових стічних вод).

$$Q_a = \frac{Q_{\text{п}}}{3} = \frac{0,15}{5} = 0,03 \text{ м}^3/\text{добу}$$

Загальні витрати стічних вод, що утворюються на підприємстві:

$$Q_{\text{доба}} = Q_{\text{п}} + Q_{\text{в}} + Q_a = 1,35 + 5 + 0,03 = 6,38 \text{ м}^3/\text{добу}$$

$Q_{\text{в}}$ – середні за добу витрати виробничих стічних вод, m^3 /добу; $Q_{\text{п}}$ – середні за добу витрати побутових стічних вод на підприємстві, m^3 /добу; Q_a – середні за добу витрати атмосферних стічних вод, m^3 /добу.

10.1.3 Установа очищення стічних вод виробництва

Згідно проведених розрахунків вище, оберемо періодичний режим очищення так, як витрати не перевищують $100 \text{ м}^3/\text{добу}$.

Найпоширенішими способами очищення стічних вод є механічні (відстоювання, фільтрація), механофізичні (коагуляція, флокуляція, нейтралізація з наступним відстоюванням), фізико-хімічні (іонний обмін, сорбція), термічні (пірроліз) та біологічні (аеробні, анаеробні, комплексні). Так, як біологічні процеси є економічнішими при експлуатації та більш екологічно безпечним, оберемо установку із використанням аеротенків, що реалізується компанією «Екополімер» (Україна) (рис 10.1) [92].

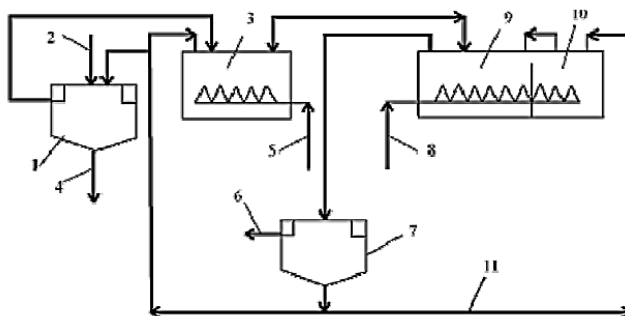


Рис. 10.1. Загальна схема установки для біологічного очищення стічних вод: 1-первинний відстійник; 2 - вхідні стічні води на очищення; 3 -преаератор; 4 - осад; 5,

8 - повітря; 6 - очищені стічні води; 7 - вторинний відстійник; 9 - аеротенк; 10 - регенератор; 11 – активний мул [93].

Основне призначення кожного елементу установки [93]:

1. Відстійник: Стічна вода спочатку потрапляє до відстійника, де відбувається відокремлення твердих частинок від рідини. Частину надлишкового мулу можуть використовувати для поліпшення осадження в цьому етапі.
2. Преаератор-усереднювач: Вода з відстійника подається до преаератора, де проводиться додаткова обробка, включаючи аерацію повітрям протягом 5-20 хв та нейтралізація (за необхідності).
3. Аеротенк: Процес включає два основні етапи: адсорбцію органічних речовин за рахунок мулом та мінералізацію легкозаймистих речовин за умови високого споживання кисню, окислення органічних сполук і відновлення активного мулу. Завдяки складовим аеротенку, зокрема регенератору (займає 25% від загального об'єму), можливе очищення стічних вод з вищою концентрацією забруднень та підвищення ефективності установки. Перед використанням аеротенків стічні води повинні містити не більше 150 мг/л зважених часток, мати температуру в межах від 6 °С до 30 °С і рН від 6,5 до 9.
4. Вторинний відстійник: На заключному етапі вода подається у даний відділ, де здійснюється відділення осаду (мулу) від очищеної води.

До переваг даного даної установки можна віднести швидке очищення, яке дозволяє відновлювати якість стічних вод швидше та можливість ефективно впоратися з високими рівнями забруднень [93].

10.2. Утилізація газоподібних відходів

Об'єм за цикл відпрацьованого повітря складатиме:

$$V_{\text{загал}} = V_{11} + V_{15} + V_{21} = 7,2 + 72 + 720 = 799,2 \text{ м}^3, \text{ де}$$

об'єм (V_{11}) необхідного аераційного повітря з врахування часу (24 год) виділеного на отримання посівного матеріалу для ферментера (ФР-11) на 5 л: $5 \cdot 60 \cdot 24 = 7200 \text{ л} = 7,2 \text{ м}^3$; об'єм (V_{15}) необхідного аераційного повітря з врахування часу (24 год) виділеного на отримання посівного матеріалу для ферментера (ФР-15) на 50 л: $50 \cdot 60 \cdot 24 = 72000 \text{ л} = 72 \text{ м}^3$; об'єм (V_{21}) необхідного аераційного повітря з врахування часу (72 год) на

біосинтез поверхнево-активних речовин для ферментера (ФР-21) на 500 л: $500 \cdot 60 \cdot 24 = 720000 \text{ л} = 720 \text{ м}^3$

Беручи до уваги масштаби газоподібних викидів ($799,2 \text{ м}^3$), які є невеликими та обладнання, яке представлено лабораторно-пілотними ферментерами в комплектацію, до яких одразу входять головні фільтри і забезпечують очистку повітря перед викидом у атмосферу, зникають потреби в додатковій комплектації обладнання або передбачення установок очищення відпрацьованого повітря.

10.3. Утилізація твердих відходів

До потенційних твердих відходів при біосинтезі поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* ІМВ В-7241 відносяться:

1. Біомаса продуцента [94]:

Використовують «убойний» автоклав, який за рахунок високого тиску та температури інактивує біомасу. Після цього залишки передають на подальшу утилізацію до відповідної компанії або переробку для вторинного використання (біогаз, добрива)

2. Хімічні відходи (невикористані, відпрацьовані, зіпсовані реагенти із закінченим терміном дії) [95]:

Для упаковки сипучих хімічних відходів використовують картонні коробки і поліетиленові пакети для передання у відповідні служби для утилізації згідно екологічної безпеки.

3. Скло (колби, пробірки, скляні короки, воронки) [96]:

Складають у промаркировані тари та передають на підприємства, де скло подрібнюють, піддають випалюванню у печі при температурі 1500°C для подальшого захоронення на спеціалізованих полігонах.

4. Матеріали пакувальні (картон, політилен, поліетилентерефталат (ПЕТ) і тари (від компонентів поживних середовищ, миючих та дезінфікуючих розчинів) [97,98]:

Відходи сортують відповідно до виду матеріалу з яких вони виготовленні. Всі види відходів направляють на переробку у відповідні організації, де пластик піддається утилізації згідно токсичності і потреби, а картон піддається повторній переробці, пройшовши попереднє очищення волокон.

5. Фільтри

За можливості стерилізація фільтра відбувається за допомогою гострої пари в технологічній обв'язці з ферментатором, фільтр зазнає обробки гострою парою, яка має високу температуру та тиск. Це дозволяє ефективно знищувати мікроорганізми та забезпечує стерильність фільтру. Якщо фільтр зазнав значного забивання, його передають спеціальній фірмі для утилізації

б. Засоби індивідуального захисту, одяг та ганчірки для санітарної підготовки виробництва [99,100]:

Розсортовують у контейнери під назвою "Побутові відходи: некондиційні засоби санітарії та гігієни" в залежності від призначення і матеріалу, які в подальшому передаються підприємствам, що мають ліцензію на операції з переробки небезпечних відходів та обладнання з відповідним сертифікатом.

ЛІТЕРАТУРНІ ДЖЕРЕЛА

1. Nagtode V.S., Cardoza C., Yasin H.K.A., Mali S.N., Tambe S.M., Roy P., Singh K., Goel A., Amin P.D., Thorat B.R., Cruz J.N., Pratap A.P. Green Surfactants (Biosurfactants): A Petroleum-Free Substitute for Sustainability-Comparison, Applications, Market, and Future Prospects. *ACS Omega*. 2023, 8(13): 11674-11699. doi: <https://doi.org/10.1021/acsomega.3c00591>
2. Пирог Т.П., Петренко Н.М., Палійчук О.І. Дія на мікроорганізми поверхнево-активних речовин, синтезованих *Rhodococcus erythropolis* ІМВ Ас-5017 на промислових відходах. *Наукові праці НУХТ*. 2020, 26(3): 60-69.
3. Талавирия М., Полюхович В., Берча О. Експорт соняшникової олії в Україні та світі. *Збірник наукових праць*, 2022, 1(28): 142-149 с. doi: [10.24144/2078-1431.2022.1\(28\).142-149](https://doi.org/10.24144/2078-1431.2022.1(28).142-149)
4. The call for green cleaners: impact of microbial biosurfactants on the detergents industry. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://www.gep.com/blog/mind/detergent-industry-impact-of-microbial-biosurfactants>
5. Drakontis C. E., Amin S. Biosurfactants: Formulations, properties, and applications *Current Opinion in Colloid & Interface Science*. 2020, 48 (1) : 77–90. doi:<https://doi.org/10.1016/j.cocis.2020.03.013>
6. Pirog T.P., Lutsai D.A., Shevchuk T.A., Iutynska G.O. Synthesis and biological activity of *Acinetobacter Calcoaceticus* IMV B - 7241 surfactants depending on monovalent cations content in cultivation medium. *Mikrobiol. Z.* 2021, 83(2): 20-31. doi:<https://doi.org/10.15407/mikrobiolj83.02.020>
7. Pirog T.P., Lutsai D.A., Antonuk S.I., Elperin I.V. The properties of surfactants synthesized by *Acinetobacter calcoaceticus* IMV B-7241 on refined and waste sunflower oil. *Biotechnologia Acta*. 2018, 11 (6): 82-91. doi: [10.15407](https://doi.org/10.15407)

					<i>НУХТ БТЕК 04.01.02 КР ПЗ</i>			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розробив	Дон Є.А.				РОЗДІЛ 10. АНАЛІЗ ПЕРСПЕКТИВ ВПРОВАДЖЕННЯ СИСТЕМИ ЕКОЛОГОЛІЗАЦІЇ ВИРОБНИЦТВА	Літ.	Арк.	Аркушів
Перевірив	Пирог Т.П.						106	118
Реценз.						<i>Кафедра БТМ</i> 106		
Н.контр								
Затверд.	Стадніков В.П.							

8. Pirog T., Kliuchka I., Kliuchka L. Antimicrobial activity of a mixture of surfactants produced by *Acinetobacter calcoaceticus* IMV B-7241 with antifungal drugs and essential oils. *Ukr. Food J.* 2022, 11(1): 176-186. doi: [10.24263/2304-974X-2022-11-1-16](https://doi.org/10.24263/2304-974X-2022-11-1-16)
9. Наказ МОЗ України від 24.04.2015 р. № 243 «Про затвердження методичних рекомендацій щодо виконання санітарно-гігієнічних вимог та проведення мікробіологічного контролю у виробництві нестерильних лікарських засобів». [Електронний ресурс] – режим доступу: <https://zakononline.com.ua/documents?page=1&limit=10&target=title&mode=sph04&type=7395>
10. Про затвердження документів з питань забезпечення якості лікарських засобів. Настанова СТ-Н МОЗУ 42-4.0:2008 "Лікарські засоби. Належна виробнича практика".
11. Pirog T., Shulyakova M., Sofilkanych A., Shevchuk T., Mashchenko O., Biosurfactant synthesis by *Rhodococcus erythropolis* IMV Ac-5017, *Acinetobacter calcoaceticus* IMV B-7241 and *Nocardia vaccinii* IMV B-7405 on byproduct of biodiesel production. *Food and Bioproducts Processing.* 2015, 76(2):17-23. doi: [10.1016/j.fbp.2013.09.003](https://doi.org/10.1016/j.fbp.2013.09.003)
12. Пирог, Т.П., Антонюк С.І., Карпенко Е.В., Шевчук Т.А. Влияние условий культивирования штамма *Acinetobacter calcoaceticus* К-4 на синтез поверхностно-активных веществ. *Прикладная биохимия и микробиология.* 2009, 45(3): 304–310 с.
13. Пирог Т.П., Никитюк Л.В., Сидор І., Палійчук О.І., Петренко Н.В. Антимікробна активність поверхнево-активних речовин, синтезованих *A. calcoaceticus* IMB B7241, *R. erythropolis* IMB Ac-5017 і *N. Vaccinii* IMB B-7405 на промислових відходах. Матеріали VI Міжнародної науково-технічної конференції «Наукові проблеми харчових технологій та промислової біотехнології в контексті Євроінтеграції» (Київ, НУХТ, 7-8 листопада 2017 р.). С. 18-19.
14. Деструкция нефти в присутствии Cu^{2+} и поверхностно-активных веществ *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241, *Rhodococcus erythropolis* IMB Ac-5017 и *Nocardia vaccinii* IMB B-7405. *Микробиологический журнал.* 2015, 77(2): 2–8. <https://dspace.nuft.edu.ua/jspui/handle/123456789/22061>

15. Domínguez Rivera Á, Martínez Urbina MÁ, López Y López VE. Advances on research in the use of agro-industrial waste in biosurfactant production. *World J Microbiol Biotechnol.* 2019, 35(10):155. doi: [10.1007/s11274-019-2729-3](https://doi.org/10.1007/s11274-019-2729-3)
16. Abaturov A. Bacterial surfactants as agents with antibiofilm activity. *J. Child's health.* 2021, 16(1): 94–104. doi: <https://doi.org/10.22141/2224-0551.16.1.2021.226463>
17. Pérez-Armendáriz B., Cal-y-Mayor-Luna C., Girgis El-Kassis E., Daniel Ortega-Martínez L. Use of waste canola oil as a low-cost substrate for rhamnolipid production using *Pseudomonas aeruginosa*. *AMB Express.* 2019, 9(1): 61. doi: [10.1186/s13568-019-0784-7](https://doi.org/10.1186/s13568-019-0784-7)
18. Shi S., Teng Z., Liu J., Li T. Conversion of Waste Cooking Oil to Rhamnolipid by a Newly Oleophilic *Pseudomonas aeruginosa* WO2. *Int. J. Environ. Res. Public Health.* 2022, 19(3): 1700. doi: [10.3390/ijerph19031700](https://doi.org/10.3390/ijerph19031700)
19. Samykannu M., Achary A. Utilization of Agro-Industry Residue for Rhamnolipid Production by *P. aeruginosa* AMB AS7 and Its Application in Chromium Removal. *Appl Biochem Biotechnol.* 2017, 183(1): 70-90. doi: [10.1007/s12010-017-2431-6](https://doi.org/10.1007/s12010-017-2431-6)
20. Семенда Д.К., Семенда О.В. Оцінка розвитку ринку продукції олійних культур. *Ж. Молод. вчений.* 2020, 3(79): 258-263. doi: <https://doi.org/10.32839/2304-5809/2020-3-79-54>
21. Салманов А.Г., Вернер О.М., Слепова Л.Ф. Епідеміологія та антимікробна резистентність *Acinetobacter*. *Inter. J. of Antib. and Prob.* 2018, 4-5 (4): 46-59. doi: [10.31405/ijap.4-5.18.05](https://doi.org/10.31405/ijap.4-5.18.05)
22. Гриценко Л.З., Колоколова Е.В., Колеснікова А.Г., Мішін В.В., Ананьева М.Н. Роль ацинетобактерій у виникненні проблемних інфекцій. *Журнал "Медико-соціальні проблеми родини"* 2014, 19(1): 122–127.
23. Мікроскопія та агаризоване середовище *Acinetobacter calcoaceticus*. Department of Veterinary Disease Biology, 2011 [Електронний ресурс]: https://atlas.sund.ku.dk/microatlas/food/bacteria/Acinetobacter_calcoaceticus/
24. Пирог, Т.П. Загальна мікробіологія: підручник, 2-е вид., доп. і перероб./Т.П. Пирог. – К. :НУХТ, 2010. – 632 с.

25. Олія насіння соняшника [Електронний ресурс] – режим доступу: <https://zilliamavky.ua/ingrediyenti/oliya-nasinnya-sonyashnyka/>
26. KEGG: Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes. Pathway Database. [Електронний ресурс] – режим доступу: <https://www.genome.jp/kegg/pathway.html>
27. Beta-Oxidation - *Acinetobacter calcoaceticus*. KEGG: Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes. [Електронний ресурс] – режим доступу: https://www.genome.jp/kegg-bin/show_pathway?acal00071
28. Citrate cycle (TCA cycle) - *Acinetobacter calcoaceticus*. KEGG: Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes. [Електронний ресурс] – режим доступу: https://www.genome.jp/kegg-bin/show_pathway?acal00020
29. Пирог Т.П., Конон А.Д., Шевчук Т.А., Білець І.В. Інтенсифікація синтезу поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* ИМВ В-7241 на суміші гексадекану та гліцерину. *МІКРОБІОЛОГІЯ*. 2012, 81(5): 611-619.
30. Пирог Т.П., Пенчук Ю.М. Біохімічні основи мікробного синтезу. Видавництво Ліра-К. 2019. 257 с.
31. Glyoxylate and dicarboxylate metabolism - *Acinetobacter calcoaceticus*. KEGG: Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes. [Електронний ресурс] – режим доступу: https://www.genome.jp/kegg-bin/show_pathway?acal00630
32. Glycolysis / Gluconeogenesis - *Acinetobacter calcoaceticus*. KEGG: Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes. [Електронний ресурс] – режим доступу: https://www.genome.jp/kegg-bin/show_pathway?acal00010
33. Starch and sucrose metabolism - *Acinetobacter calcoaceticus*. KEGG: Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes. [Електронний ресурс] – режим доступу: https://www.genome.jp/kegg-bin/show_pathway?acal00500
34. Алергія на мийні засоби вражає шкіру та дихальні шляхи - Все про алергію. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://allergy.org.ua/alerhiia-na-myini-zasoby-vrazhaie-shkiru-ta-dykhalni-shliakhy/>
35. Pardhi D.S., Panchal R.R., Raval V.H., Joshi R.G., Poczai P., Almalki W.H., Rajput K.N. Microbial surfactants: A journey from fundamentals to recent advances. *Front Microbiol.* 2022, 13(4): 1- 23. doi: [10.3389/fmicb.2022.982603](https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.982603)

36. Moldes A., Vecino X., Rodríguez-López L., Rincón-Fontán M., Cruz J.M. Biosurfactants: the use of biomolecules in cosmetics and detergents. *New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering*. 2020, 8(20): 163–185. doi: [10.1016/B978-0-444-64301-8.00008-1](https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64301-8.00008-1)
37. 30 років за партою: як змінилася шкільна освіта в Україні за часи незалежності. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://mind.ua/publications/20231819-30-rokiv-za-partoyu-yak-zminilasya-shkilna-osvita-v-ukrayini-za-chasi-nezalezhnosti>
38. The Dow Chemical Company . [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://latifundist.com/kompanii/875-dow-chemical>
39. Croda International. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://ukrchem.dp.ua/tag/croda-international>
40. BASF. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://www.basf.com/ua/uk.html>
41. Мийні засоби: за і проти. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://www.bsmu.edu.ua/blog/4296-miyni-zasobi-za-i-proti/>
42. Офіційний сайт середньої загальноосвітньої школи №162 м. Києва. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://www.school162.pp.ua/прозорість-та-відкритість/документи/статут-школи>
43. Інформація про укриття закладу. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://www.school162.pp.ua/загальна-інформація/події-школи>
44. Факультативи, спецкурси, гуртки. [Електронний ресурс]. Режим доступу: http://school162.kiev.sch.in.ua/uchnyam/fakuljtativi_speckursi_gurtki/
45. Білизна поверхня (грейпфрут). [Електронний ресурс]. Режим доступу: https://lysoform.shop/product/bilyzna-poverhnya-grejpfrut-5000-ml_trashed/
46. Висновок СЕС [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://lysoform.shop/wp-content/uploads/2020/08/ces-myyuchi-ta-chystyachi-2.pdf>
47. Інструкція щодо застосування засобу Bilysna surface aroma (Білизна поверхня з ароматом грейпфрут [Електронний ресурс]. Режим доступу: https://lysoform.shop/wp-content/uploads/2023/05/instrukciya_bilyzna_poverhnya_grejpfrut.pdf
48. Скільки м'ючих потрібно для шкіл і садків? [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://osvita.ua/blogs/62818/>

- 49.Метод рекомендації до викон. кваліфік. роботи для здобуття освіт. ступ. «бакалавр» [Електронний ресурс]: для здобувачів вищої освіти спец. 162 «Біотехнології та біоінженерія» осв.-проф. прогр. «Біотехнології. фармацевтична, промислова, харчова, природоохоронна» ден. та заоч. форм навч./ уклад. Т.П. Пирог, В.О. Красінько, Ю.В. Карлаш. - К.: НУХТ, 2022. – 61 с.
- 50.Карлаш Ю.В., Красінько В.О. Основи проєктування біотехнологічних виробництв. К.НУХТ. 2022. 373 с.
- 51.Марценюк О.С., Мельник Л.М. Процеси і апарати харчових виробництв. К.НУХТ. 2011. 407 с.
- 52.Юлевич О.І., Каратєєва О.І. Загальна біотехнологія метод. рекомендації для самостійного вивчення дисципліни і виконання лабораторно-практичних робіт для здобувачів освіт.ступ. «молодший бакалавр» спец. 162 «Біотехнології та біоінженерія» ден. форми навч. Видавничий відділ Миколаївського національного аграрного університету. 2021. 150 с.
- 53.Від G1 до U17: Класифікація повітряних фільтрів за ступенем очищення повітря. [Електронний ресурс] – режим доступу: <https://ek.ua/ua/post/3783/90-ot-g1-do-u17-klassifikaciya-vozdushnyh-filtrov-po-stepeni-ochistki-vozduha/>
- 54.Повітродозподільні пристрої. [Електронний ресурс] – режим доступу: <https://lib.chmnu.edu.ua/pdf/posibnuku/323/4.pdf>
- 55.Державний реєстр дезінфекційних засобів. [Електронний ресурс] – режим доступу: <https://moz.gov.ua/uploads/ckeditor/Держреєстр%20деззасобів/10-11-2023/Реєстр%20деззасобів%20908.xlsx>
- 56.ХЛОРАНТОІН®. [Електронний ресурс] – режим доступу: <https://uvt.agrobiz.net/goods/hlorantoin-por-dez-zasib-20-gr/>
- 57.Інструкція з використання дезінфікуючого засобу Profi Chlor 1 кг 300 таблеток Vladasept. [Електронний ресурс] – режим доступу: <https://epicentrk.ua/shop/dezinfitsiruyuschee-sredstvo-profi-chlor-1-kg-300-tabletok-vladasept.html>
- 58.Засіб дезінфікуючий «PROFI CHLOR». [Електронний ресурс] – режим доступу: <https://vladasept.com.ua/ua/p1063164288-profi-chlor.html>

- 59.Бланідас-Н Фоам. [Електронний ресурс] – режим доступу: <https://lysoform.ua/products/blanidas-n-foam/>
- 60.ПРОФІ 241 Універсальний мийний засіб (гель) з антибактеріальною дією (концентрат). [Електронний ресурс] – режим доступу: <https://mebliranok.com.ua/product/profi-241-universalnij-mijuchij-zasib-gel-z-antibakterialnoju-dieju-koncentrat/>
- 61.Famidez, Дезодерм TRIO, засіб для дезінфекції рук та тіла. [Електронний ресурс] – режим доступу: https://www.paradocs.com.ua/product-page/famidez-дезодерм-трио-засіб-для-дезінфекції-рук-та-тіла?gad_source=1
- 62.Засіб дезінфікуючий «ACTISEPT eth»/«АКТИСЕПТ ет». [Електронний ресурс] – режим доступу: <https://vladasept.com.ua/ua/p1389119827-zasib-dezinfikuyuchij-astisert.html>
- 63.Pirog T. P., Konon A. D., Antonyuk S. I., Chebotaryova K. V., Parfenyuk S. A. Influence of medium pH on surfactant synthesis by *Acinetobacter Calcoaceticus* IMV B-7241 on ethanol. Materials of International Scientific Conference «Development of Human Sciences» (February 27– 29, 2012, Poznan). P. 24 - 28
- 64.Наказ Міністерства охорони здоров'я від 21 травня 2007 року № 246 "Про затвердження порядку проведення медичних оглядів працівників певних категорій". [Електронний ресурс] – режим доступу: <https://ips.ligazakon.net/document/RE14113?an=2012>
- 65.СТП 64-23518596-04.033-2003 «Засоби індивідуального захисту при виробництві нестерильних ЛФ»
- 66.Красінько В.О. Методи контролю біотехнологічних, фармацевтичних і харчових виробництв [Електронний ресурс]: конспект лекцій для здобув. освіт. ступ. «бакалавр» спец. 162 «Біотехнології та біоінженерія» освіт.-проф. програми «Біотехнологія» ден. і заоч. форм навч. / В.О. Красінько. – К.: НУХТ, 2019. – 252 с.
- 67.Reghunath S.R., Siji J.V., Mohandas C., Nambisan B. Isolation and Identification of Bioactive Molecules Produced by Entomopathogenic bacteria, *Acinetobacter calcoaceticus*. *J. of Ap. Microb.*. 2017, 3(2): 1-9. doi: [10.4172/2471-9315.1000134](https://doi.org/10.4172/2471-9315.1000134)
- 68.Visca P., Seifert H., Towner K.J. *Acinetobacter* infection — an emerging threat to human health. *IUBMB Life*. 2011, 63 (12): 1048–1054. doi: [10.1002/iub.534](https://doi.org/10.1002/iub.534)

69. Public Health Image Library (PHIL). [Електронний ресурс] – режим доступу: <https://phil.cdc.gov/Details.aspx?pid=1259>
70. Пирог Т.П., Ключка Л.В. Загальна мікробіологія і вірусологія лабораторний практикум для здобувачів освіт. ступ. «бакалавр» спец. 162 «Біотехнологія та біоінженерія» осв-проф. прогр. «Біотехнологія: фармацевтична, промислова, харчова, природоохоронна» ден. форми навч. К.НУХТ. 2021. 100 с.
71. Павлюковець І., Пирог Т. Синтез поверхнево-активних речовин *Acinetobacter Calcoaceticus* ІМВ В-7241 на відпрацьованій соняшниковій олії за присутності екзогенних попередників. 2016, 20 (1): 21-27.
72. Тарасенко Д.О. Модифікація методу кількісного визначення поверхнево-активних речовин *Rhodococcus erythropolis* ЕК-1. *Харчова промисловість*. 2008, 2(7):40-42
73. Івахнюк М.О. Синтез мікробного полісахариду етаполану на олієвмісних промислових відходах Автореф. дис. канд. техн. наук. Київ, 2019. 25 с.
74. Faucher O, Coupal B, Leduy A. Utilization of seawater-urea as a culture medium for *Spirulina maxima*. *Can J. Microbiol.* 1979, 25(6): 752-759. doi:[10.1139/m79-109](https://doi.org/10.1139/m79-109)
75. McCleskey J. E. Fluorometric Method for the Determination of Urea in Blood. *Anal. Chem.* 1964, 36(8): 1646–1648. doi:[10.1021/ac60214a050](https://doi.org/10.1021/ac60214a050)
76. Корецька Н.І. Біотехнологія поверхнево-активних продуктів штаму *Rhodococcus Erythropolis* AU-1, властивості та застосування. Автореф. дис. канд. техн. наук. Київ, 2020. 26 с.
77. Dubey K. V., Juwarkar A. A., Singh S. K.. Adsorption-Desorption Process Using Wood-Based Activated Carbon for Recovery of Biosurfactant from Fermented Distillery Wastewater. *Biotechnol. Prog.* 2005, 21(1): 860–867
78. Nascimento M.F., Keković P., Ribeiro I.A.C., Faria N.T., Ferreira F.C. Novel Organic Solvent Nanofiltration Approaches for Microbial Biosurfactants Downstream Processing. *Membranes (Basel)*. 2023, 13(1): 2-23. doi:[10.3390/membranes13010081](https://doi.org/10.3390/membranes13010081)
79. Pokynbroda T.Ya., Karpenko I.V., Midyana H.H., Karpenko O.Ya. Isolation of surfactants synthesized by the pseudomonas bacteria and study of their properties. *Innov Biosyst Bioeng*, 2019, 3(2): 70–76. doi: : [10.20535/ibb.2019.3.2.165838](https://doi.org/10.20535/ibb.2019.3.2.165838)

80. United States Patent № 5,656,747. Process for the quantitative purification of glycolipids. Опубл. 12.03.1997
81. Singh V. Biosurfactant – Isolation, Production, Purification & Significance. *Intern. J. of Scientific and Research Publications*, 2012, 2(7): 1-4.
82. Dubey K.V., Juwarkar A.A., Singh S.K. Adsorption-desorption process using wood-based activated carbon for recovery of biosurfactant from fermented distillery wastewater. *Biotechnol Prog.* 2005, 21(3): 860-867. doi:[10.1021/bp040012e](https://doi.org/10.1021/bp040012e)
83. Najmi Z., Ebrahimipour G., Franzetti A., Banat I. M. In situ downstream strategies for cost-effective bio/surfactant recovery, *Biotechnol Appl Biochem.* 2018;65(4):523-532. doi:[10.1002/bab.1641](https://doi.org/10.1002/bab.1641).
84. Blesken C.C., Strümpfler T., Tiso T., Blank, L.M. Uncoupling Foam Fractionation and Foam Adsorption for Enhanced Biosurfactant Synthesis and Recovery. *Microorganisms.* 2020, 8(12): 2-23. doi:[10.3390/microorganisms8122029](https://doi.org/10.3390/microorganisms8122029)
85. Isa M. H. M., Coraglia D. E., Frazier R. A., Jauregi P. Recovery and purification of surfactin from fermentation broth by a two-step ultrafiltration process. *J. of Membrane Science* 2007, 296(2): 51–57
86. Reiling H. E., Thanei-Wyss T. U., Guerra-santos I. H., Hirt T.R., Kappeli O., Fiechter A. Pilot Plant Production of Rhamnolipid Biosurfactant by *Pseudomonas aeruginosa* *Appl. Environ. Microbiol.* 1986, 51(5): 985-989
87. Bligh E.G., Dyer W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can J. Biochem Physiol.* 1959, 37(8): 911-917. doi:[10.1139/o59-099](https://doi.org/10.1139/o59-099)
88. Pirog T., Antonyuk S., Karpenko Ye., Shevchuk T. The Influence of Conditions of *Acinetobacter calcoaceticus* K-4 Strain Cultivation on Surface-active Substances Synthesis. *Applied Biochemistry and Microbiology.* 2009, 45(3): 272–278.
89. Пирог Т.П., Ігнатенко С.В. Мікробні поверхнево активні речовини: проблеми промислового виробництва. *Біотехнологія.* 2008, 1(4): 29-38
90. Pardhi D.S., Panchal R.R., Raval V.H., Joshi R.G., Poczai P., Almalki W.H., Rajput K. N. Microbial surfactants: A journey from fundamentals to recent advances. *Front Microbiol.* 2022, 13:982603: 1-23 doi: [10.3389/fmicb.2022.982603](https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.982603)
91. Варламова С.І., Варламова І.С. Екологізація промисловості в Україні: проблеми та перспективи. *Ел. ж. Ефективна економіка* . 2016, 47(1):477-453.

92. Технології та обладнання для очищення води. [Електронний ресурс] – режим доступу: <http://www.ecopolymer.kh.ua/portfolio/referents-vodootvedenie/>
93. Кляченко О.Л., Мельничук М.Д., Іванова Т.В. Екологічні біотехнології: теорія і практика.: Навчальний посібник. –Вінниця, ТОВ «Нілан-ЛТД», 2015. –254 с
94. Утилізація і переробка сільськогосподарських відходів. [Електронний ресурс] – режим доступу: <https://утилізація.укр/uk/utilizatsiya-othodov/utilizatsiya-selskohozyajstvennyh-othodov/>
95. Хімічні відходи. [Електронний ресурс] – режим доступу: <https://ecological.investments/ximichni-vidxodi/>
96. Технічне скло, склобой. [Електронний ресурс] – режим доступу: <https://ecological.investments/texnichne-sklo,-skloboj.html>
97. Полімери, пластмаси, пластики забруднені, вироби з них. [Електронний ресурс] – режим доступу: <https://ecological.investments/polimeri,-plastmasi,-plastiki-zabrudneni,-virobi-z-nix.html>
98. Папір, картон забруднені, знищення документів. [Електронний ресурс] – режим доступу: <https://ecological.investments/papir,-karton-zabrudneni,-znishhennya-dokumentiv.html>
99. Утилізація ЗІЗ (засобів індивідуального захисту). [Електронний ресурс] – режим доступу: <https://othody.com.ua/uk/utylizatsiia-ziz-zasobiv-individualnoho-zakhystu>
100. Комплексні послуги поводження з відходами по всій території України. [Електронний ресурс] – режим доступу: [https://здайвідходи.укр/utylizatsiya_spetsodyahu.html#:~:text=Утилізація%20спецодягу%20та%20спецвзуття%20відбувається,при%20температурі%201200°%20С\).](https://здайвідходи.укр/utylizatsiya_spetsodyahu.html#:~:text=Утилізація%20спецодягу%20та%20спецвзуття%20відбувається,при%20температурі%201200°%20С).)

ДОДАТКИ

Додаток 1

KEGG Fatty acid degradation - Acinetobacter calcoaceticus

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

Change pathway type

Option

Scale: 100%

Search

ID search

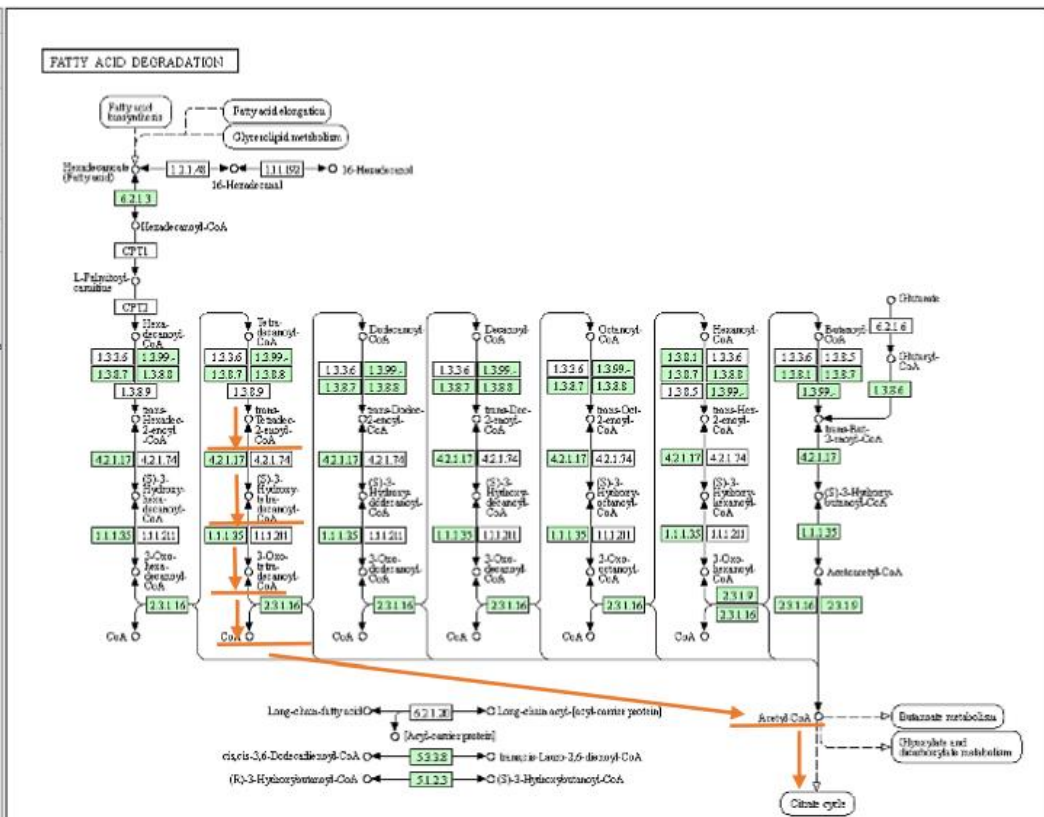
Color

Module

Complete only

Pathway modules

- Lipid metabolism
- Fatty acid metabolism
- M00085 beta-Oxidation
- M00087 beta-Oxidation



Додаток 2

KEGG Citrate cycle (TCA cycle) - Acinetobacter calcoaceticus

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

Change pathway type

Option

Scale: 100%

Search

ID search

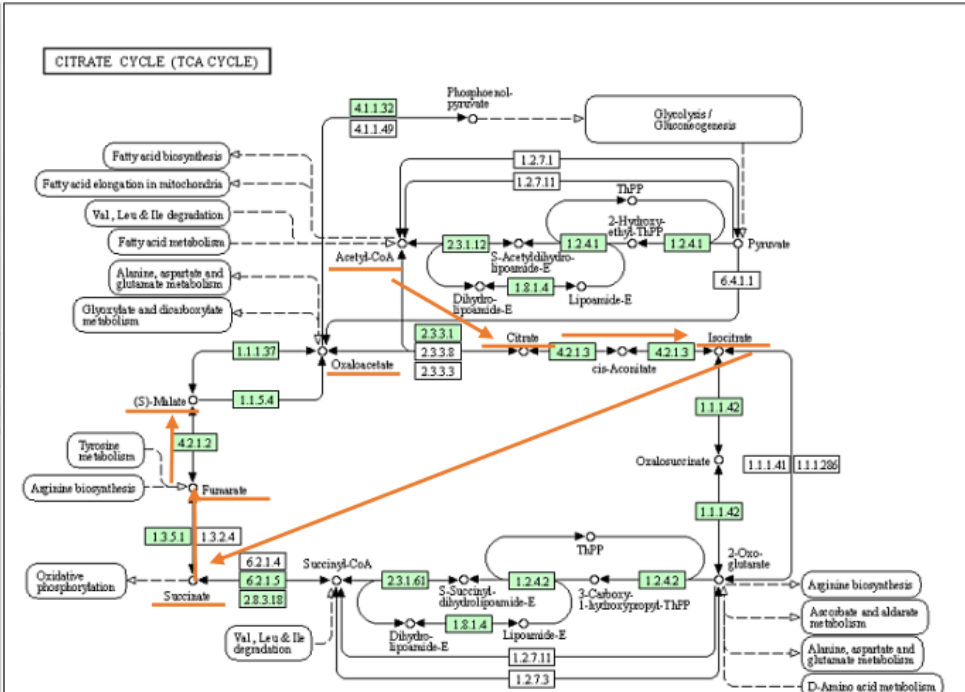
Color

Module

Complete only

Pathway modules

- Carbohydrate metabolism
- Central carbohydrate metab
- M00003 Gluconeogenesis
- M00307 Pyruvate oxidatio
- M00009 Citrate cycle (TC
- M00010 Citrate cycle, first
- M00011 Citrate cycle, sec



KEGG Glyoxylate and dicarboxylate metabolism - Acinetobacter calcoaceticus

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

Change pathway type

Option

Scale: 100%

Search

ID search

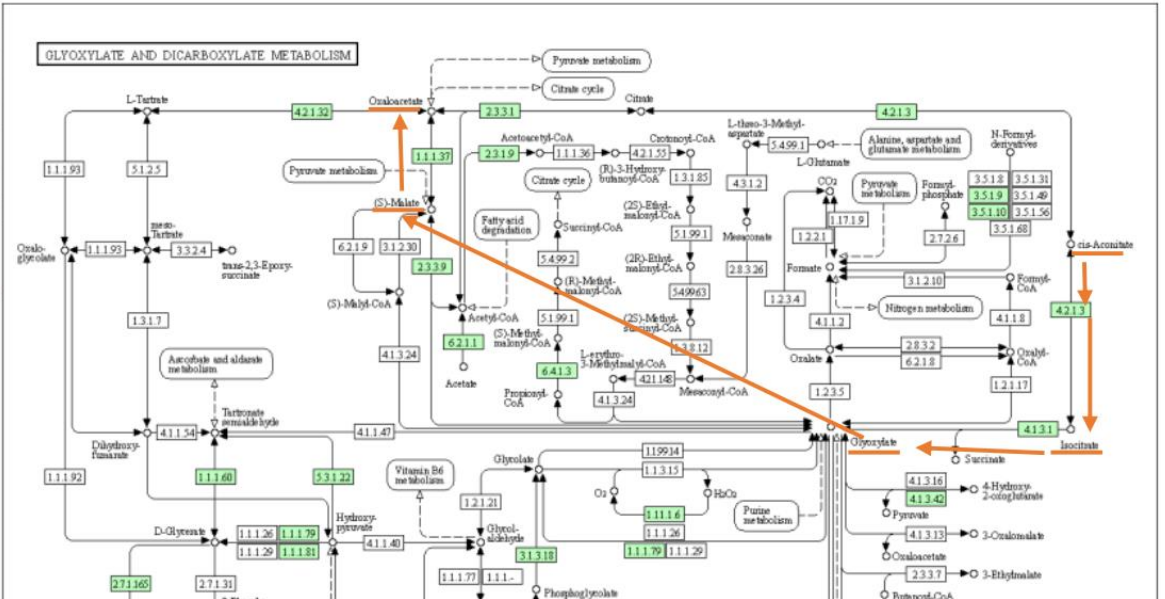
Color

Module

Complete only

Pathway modules

- Carbohydrate metabolism
- Other carbohydrate metabol
- M00012 Glyoxylate cycle



KEGG Starch and sucrose metabolism - Acinetobacter calcoaceticus

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

Change pathway type

Option

Scale: 100%

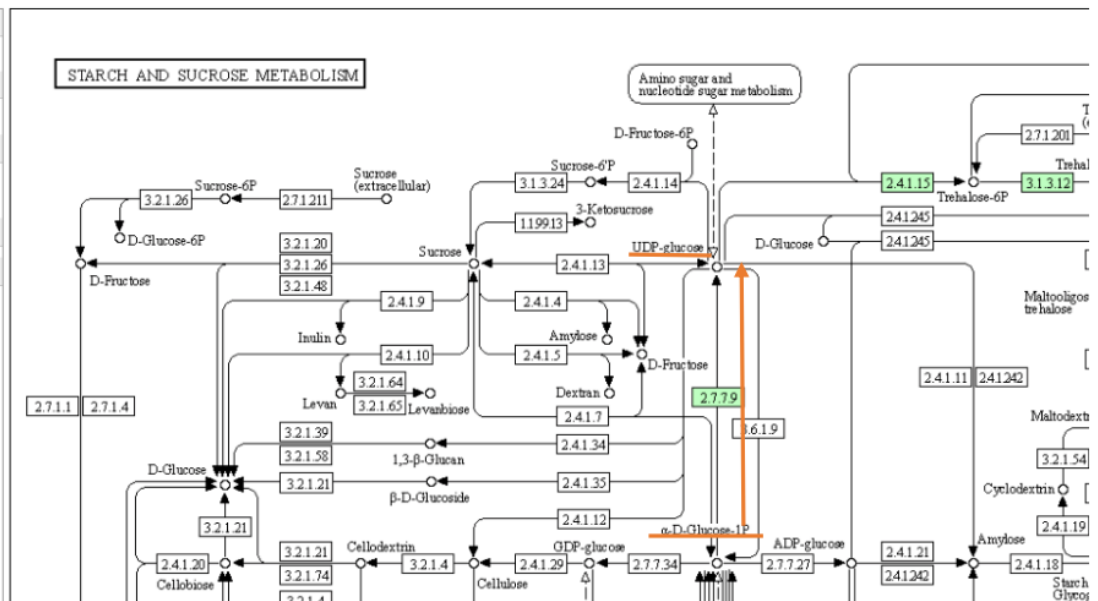
Search

ID search

Color

Module

Complete only



KEGG Glycolysis / Gluconeogenesis - Acinetobacter calcoaceticus

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

Change pathway type

Option

Scale: 100%

Search

ID search

Color

Module

Complete only

Pathway modules

- Carbohydrate metabolism
- Central carbohydrate metab
- M00003 Gluconeogenesis
- M00307 Pyruvate oxidatio

