

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

**Інститут (факультет) біотехнології та екологічного контролю**

**Кафедра біотехнології і мікробіології**

«До захисту в ЕК»

«До захисту допущено»

Директор інституту (декан факультету)

Завідувач кафедри

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

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

«\_\_» \_\_\_\_\_ 2020 р.

«\_\_» \_\_\_\_\_ 2020 р.

**Кваліфікаційна робота**

**на здобуття освітнього ступеня бакалавра**

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

освітньо-професійної програми \_\_\_\_\_

на тему: Культивування *Streptomyces griseus* для одержання  
фітобактеріоміцину

Виконав: здобувач IV курсу, групи 2 Балицька Ольга Юріївна  
(прізвище та ініціали)

Керівник Тетеріна Світлана Миколаївна \_\_\_\_\_  
(прізвище та ініціали) (підпис)

Консультанти Романов М.С. \_\_\_\_\_  
(прізвище та ініціали) (підпис)

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

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

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

Здобувач \_\_\_\_\_  
(підпис)

# НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ

Інститут (факультет) біотехнології та екологічного контролю  
Кафедра біотехнології і мікробіології  
Освітній ступінь бакалавр  
Спеціальність 162 «Біотехнології та біоінженерія»  
(шифр і назва)  
Освітньо-професійна програма «Біотехнологія»  
(назва)

**ЗАТВЕРДЖУЮ**

Завідувач кафедри біотехнології і мікробіології

Пирог Т.П.

«17» березня 2020 року

## **ЗАВДАННЯ**

### **НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ ЗДОБУВАЧА**

Балицької Ольги Юріївни

(прізвище, ім'я, по батькові)

1. Тема роботи Культивування *Streptomyces griseus* для одержання фітобактеріоміцину

керівник роботи доц., к.т.н. Тетеріна С. М.

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

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

2. Строк подання здобувачем роботи 01 червня 2020 року

3. Вихідні дані до роботи біологічний агент: *Streptomyces griseus*, цільовий продукт – фітобактеріоміцин

4. Зміст розрахунково-пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно розробити) ВСТУП; Розділ 1. Характеристика цільового продукту; Розділ 2. Обґрунтування вибору та характеристика біологічного агента; Розділ 3. Техніко-економічне обґрунтування; Розділ 4. Біосинтез цільового продукту; Розділ 5. Обґрунтування вибору технологічної схеми; Розділ 6. Матеріальний баланс та розрахунок технологічного обладнання; Розділ 7. Специфікація обладнання; Розділ 8. Опис технологічної схеми; Розділ 9. Контроль виробництва; Розділ 10. Автоматизація ділянки виробництва; список використаної літератури, додатки.

5. Перелік графічного матеріалу Апаратурна схема виробництва фітобактеріоміцину – 1 аркуш формату А1, 1 аркуш формату А2. Технологічна схема виробництва фітобактеріоміцину – 2 аркуші формату А2. Схема автоматизації ділянки зберігання культуральної рідини – 1 аркуш формату А4.

## РЕФЕРАТ

Представлено проект по виробництву препарату на основі фітобактеріюміцину за використанням культури *Streptomyces griseus 420*, який здатен синтезувати за  $60 \pm 10$  годин 20000 -33000 од/мл стрептотрицинового комплексу на середовищі з мелясою та кукурудзяним борошном. Фітобактеріюміцин з моменту відкриття застосовують у складі препарату «Фітолавін» у якості активної речовини. Саме тому, в багатьох літературних джерелах ці дві назви виступають як синоніми. Фітобактеріюміцин - антибіотична сполука, яка складається переважно з стрептотрицинів С і D з відсотковим вмістом 22% і 54% відповідно.

У проекті розраховано техніко-економічне обґрунтування (ТЕО) річної потреби препарату на основі фітобактеріюміцину на вітчизняному ринку. Обсяги виробництва (21000 л/рік концентрату) було вираховано виходячи з площі, що використовується під вирощування стандартних культур (огірки, томати, пшениця озимна, яблука). При цьому ми врахували наявність на ринку альтернативних препаратів, а також вже існуючих потужностей з вироблення фітолавіну.

Технологічна схема біосинтезу фітобактеріюміцину включає допоміжні роботи (санітарна підготовка, підготовка повітря, допоміжних розчинів, підготовка і стерилізація поживних середовищ) та технологічний процес (підготовка посівного матеріалу, біосинтез фітобактеріюміцину в ферментері об'ємом 2 м<sup>3</sup>, підкислення з наступним вакуум-випарюванням культуральної рідини, сушіння, протиточна екстракція спиртовим розчином та внесення стабілізуючих речовин ).

Дипломний проект складається з вступу, десяти розділів, списку використаної літератури (105 найменувань), технологічної схеми (2 листа формату А1 та А3), апаратурної схеми ( 2 листа формату А1 та А2) та додатку. Загальний обсяг роботи складає 125 сторінок, 30 таблиць, 12 рисунків.

**Ключові слова:** фітолавін, фітобактеріюміцин, стрептотрицин, *Streptomyces griseus 420*, біосинтез, виділення, екстракція, рідка форма.

## ЗМІСТ

<b>ВСТУП.....</b>	<b>6</b>
<b>РОЗДІЛ 1. Характеристика цільового продукту .....</b>	<b>8</b>
<b>2.1 Обґрунтування вибору біологічного агента та поживного середовища для його культивування.....</b>	<b>11</b>
<b>РОЗДІЛ 3. Техніко- економічне обґрунтування.....</b>	<b>21</b>
<b>3.1 Потреба у цільовому продукті.....</b>	<b>21</b>
<b>3.2 Розрахунок потужності виробництва.....</b>	<b>26</b>
<b>3.3 Розрахунок кількості виробничих циклів та геометричного об'єму ферментера .....</b>	<b>27</b>
<b>3.4 Розрахунок кількості стадій підготовки посівного матеріалу.....</b>	<b>28</b>
<b>РОЗДІЛ 4. Біосинтез цільового продукту.....</b>	<b>31</b>
<b>4.1 Шляхи катаболізму ростового субстрату .....</b>	<b>31</b>
<b>4.2. Біотрансформація ростового субстрату у цільовий продукт .....</b>	<b>33</b>
<b>РОЗДІЛ 5. Обґрунтування вибору технологічної схеми .....</b>	<b>35</b>
<b>5.1.1 Обґрунтування способу культивування .....</b>	<b>35</b>
<b>5.1.2 Обґрунтування вибору типу ферментера.....</b>	<b>35</b>
<b>5.1.4 Обґрунтування стадій підготовки обладнання і комунікацій .....</b>	<b>44</b>
<b>5.1.6 Обґрунтування способу підготовки та стерилізації ПС .....</b>	<b>46</b>
<b>5.2.1 Обґрунтування товарної форми.....</b>	<b>46</b>
<b>5.2.2 Аналіз способів одержання цільового продукту .....</b>	<b>48</b>
<b>5.2.3 Обґрунтування способу одержання препарату .....</b>	<b>50</b>
<b>РОЗДІЛ 6. Матеріальний баланс та розрахунок обладнання .....</b>	<b>59</b>
<b>6.1 Розрахунок матеріального балансу .....</b>	<b>70</b>

6.2 Розрахунок технологічного обладнання.....	73
6.3 Розрахунок кількості реакторів-змішувачів для приготування та стерилізації поживного середовища.....	74
<b>РОЗДІЛ 7. Специфікація обладнання .....</b>	<b>79</b>
<b>РОЗДІЛ 8. Опис технологічної схеми.....</b>	<b>89</b>
<b>РОЗДІЛ 9. Контроль виробництва .....</b>	<b>104</b>
9.1 Мікробіологічний контроль.....	104
9.2 Показники росту, синтезу, активності.....	105
5.3. Контроль фракційного складу .....	107
<b>РОЗДІЛ 10. Автоматизація виробництва.....</b>	<b>114</b>
10.1 Розробка системи автоматизації збірника для зберігання культуральної рідини.....	114
10.2. Опис функціональної схеми автоматизації .....	114
1.3. Специфікація на прилади та засоби автоматизації .....	115
<b>ВИКОРИСТАНА ЛІТЕРАТУРА.....</b>	<b>117</b>

## ВСТУП

Сучасна біотехнологія відіграє велику роль в якісному поліпшенні життя людини та економічному розвитку країн. Світові тенденції вказують на те, що саме за біотехнологічними розробками у сфері сільського господарства буде майбутнє. Адже все більшим стає попит на «зелену» продукцію, чисті, вирощені без хімікатів продукти харчування. Вона допомагає в збільшенні врожайності, захисту від шкідників, винайдення більш стійких видів сільськогосподарських культур. Враховуючи те що Україна має потужний аграрний сектор, це посилює зацікавленість у продуктах з сфери біотехнології.

Рослини мають вроджені механізми захисту від зовнішніх чинників. В даний час вчені ведуть активний пошук сполук, які активізували б природні механізми захисту, не завдаючи при цьому шкоди навколишньому середовищу [1].

Всі засоби захисту рослин класифікуються за хімічним складом, об'єктом застосування і характером дії (контактні і системні). Також важливою є градація за токсичністю продукту [2].

Речовину фітобактєріоміцин, у перше виділили в 1953 році. Препарат, який виготовили на її основі мав назву фітолавін. Так як ця сполука була унікальна, назву «Фітолавін» почали використовувати не тільки для означення товарної назви, а також як загальну назву для конкретного стрептотрицинового комплексу.

Фітолавін – перший вітчизняний препарат, для захисту рослин від різноманітних захворювань [3]. Він належить до фунгіцидів, а також має антибіотичну активність, клас небезпеки 3, має системну та контактну дію.

Фітолавін ефективний проти: м'якої бактеріальної гнилі, гнилі кореневої шийки, бактеріального і трахеомікозного в'янення, бактеріального раку, бактеріального опіку, чорної ніжки, незграбної плямистості листя, корневих гнилей, некрозу серцевини стебла, вершинної гнилизни, чорної бактеріальної плямистості, альтернаріозу, моніліоза.

					НУХТ БТЕК 04.02.39 ДП ПЗ		
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата	Літ.	Арк.	Акрушів
Розроб.		Балицька О.Ю.					
Керівник		Тетеріна С.М					
Реценз.					Кафедра БТМ		
Н. Контр.							
Затверд.		Пирог Т.П.					

Його можна застосовувати з моменту появи розсади, в якості профілактики або з моменту появи першої пари справжніх листочків. Потім в будь-якій фазі росту і розвитку рослин [4].

Механізм дії базується на подавленні стрептотрициновим комплексом системи білкового синтезу шляхом взаємодії з бактеріальною рибосомою, порушуючи правильність зчитування коду [5].

Фітобактеріоміцин застосовується у сільському господарстві, тож не потребує значної очистки. Основним завданням при його виробництві є надання найбільш зручної товарної форми для використання, при збереженні вихідної активності.

Для отримання сухого порошку потрібно значно менше ресурсів, але з огляду на функціональні можливості, його застосування значно обмежене і має ряд недоліків в порівнянні з рідкою формою.

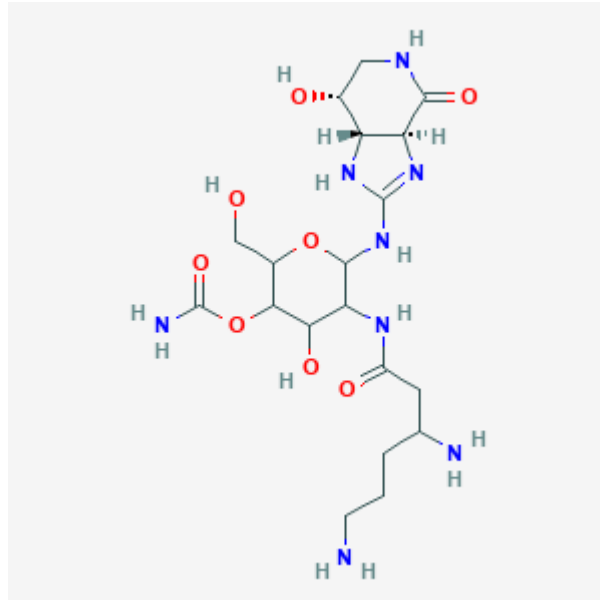
**Метою** представленої роботи є проектування ділянки виробництва (апаратна та технологічна схеми) для препарату на основі фітобактеріоміцину за допомогою культури *Streptomyces griseus 420* з наданням рідкої товарної форми та подальшого розливу у пластикову тару.

**Актуальність.** В даний час в практиці вітчизняного рослинництва для захисту рослин від фітопатогенних грибів і бактерій наявний широкий вибір препаратів серед яких присутні відносно безпечні для навколишнього середовища і людини. Але очевидно, що вітчизняні потужності не можуть покрити загальну потребу і Україна вимушена імпортувати засоби захисту рослинництва. Саме тому, такий ефективний, дешевий, перевірений, надійний, натуральний та безпечний продукт необхідний на українському ринку та може впевнено конкурувати на світових ринках.

**Новизною** даного проекту являється використання *S. griseus 420*, який порівняно з *S. lavendulae*, здатен продукувати більше цільового продукту 20000-33000 од. / Мл на противагу 3000-4000 од./Мг відповідно [6] [3] та пришвидшення виділення стрептотрицинового комплексу з культуральної рідини для надання рідкої товарної форми.

## РОЗДІЛ 1. Характеристика цільового продукту

**Фітобактеріоміцин** – це комплекс стрептотрицинових антибіотиків, який складається з 7 компонентів [3] з переважним вмістом стрептотрицинів С і D [6]. Загальна структурна формула стрептотрицину наведена на *рис. 1.1*. На даний момент відоме отримання фітобактеріоміцину при культивуванні за двома продуцентами *Streptomyces griseus* та *Streptomyces lavendulae*.



*Рис. 1.1* Структурна формула стрептотрицину [9].

**Хімічна формула:** C<sub>19</sub>H<sub>34</sub>N<sub>8</sub>O<sub>8</sub>.

**Молекулярна маса:** 502.529 г/моль.

**Синоніми:** Фітолавін, Fitobakteriomicin [7].

Фітобактеріоміцин – в це типова основа, утворює солі з сильними кислотами. У чистому вигляді аморфний порошок кремового кольору. Добре розчинний у воді, гірше – в етанолі та метанолі, зовсім не розчинний у більшості інших органічних розчинниках [3].

Відповідно до нормативної документації (ТУ 9291-001-49897929-2010) застосовується для особистих підсобних господарств у якості фунгіциду (засіб для захисту сільськогосподарських культур від бактеріальних та грибних захворювань). Має контактну та системну дію.

					НУХТ БТЕК 04.02.39 ДП ПЗ		
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата			
Розроб.		Балицька О.Ю.			Літ.	Арк.	Акрушів
Керівник		Тетеріна С.М.					
Реценз.					Кафедра БТМ		
Н. Контр.							
Затверд.		Пирог Т.П.					

Механізм дії базується на подавленні стрептотрицинами системи білкового синтезу шляхом взаємодії з бактеріальною рибосомою, порушуючи правильність зчитування коду [8].

Застосовується для профілактики корневих гнилей, судинного бактеріозу, захворюваннях типу чорної ніжки, бактеріального опіку, вугловатої пятнистості листя, бактеріальних вершинних гнилей, альтернarioзів на помідорах, моноліозу, парши, фузаріозу, антракнозу (рис. 1.2.).



Рис. 1.2. Захворювання культур при яких застосовується фітобактеріоміцин[9].

Застосування доцільно для плодових, овочевих, зернових культур, томатів, огірків, яблунь [10].

Згідно рекомендаціям по захисту корисних об'єктів флори та фауни, мало небезпечний для бджіл – 3й клас небезпеки. Обробку проводити в ранкові або вечірні години при швидкості вітру до 4-5 м/сек., обмеження льоту бджіл 9-12 год., прикордонно-захисна зона для бджіл не менше 2-3 км. Заборонено використовувати в межах водозахисної рибогосподарської зони. Відноситься до 3го класу небезпеки (помірно небезпечні речовини). Період захисної дії 15-20 діб. Швидкість дії 12-24 год. Можливість виникнення резистентності не виявлена [8].

Робочий розчин готувати згідно схемі зазначеній у інструкції. [11].

Можна застосовувати з іншими фунгіцидами, гербіцидами та інсектицидами. Небажано розводити з іншими бактеріальними препаратами [12].

Для знешкодження пролитого пестициду місце проливу препарату засипають сорбуючим матеріалом (пісок, гранульована глина, торф та ін.), які потім збирають, залишки і тару з препарату знешкоджують водяною суспензією гашеного вапна (1:3) або 5% розчином лугу (KOH, NaOH) [8].

Зберігати у не доступному для дітей місці в виробничій упаковці при температурі від +5° до +30°С [11]. Існує у вигляді водорозчинного концентрату (ВРК) та сухого порошку (СХП).



Рис. 1.2 Продукція компанії «Техноэкспорт» [13].

На даний момент найбільш розповсюджені товарні форми у вигляді ВРК в ампулах по 2 мл, в флаконах по 50, 100, 400 мл та каністрах по 1 і 5 літрів [6].



Рис. 1.3. Продукція компанії «Родонит» [14].

Фітолавін – перший вітчизняний фунгіцид, але завдяки невисокій коштовності, достатній ефективності та слабо вираженій дії на корисну мікрофлору, бджіл та людину на сьогодні він все ще актуальний засіб для рослин. Умови його успішного застосування – нагляд та достатнє піклування за насадженнями, адже фітолавін ефективний для профілактики та лікування не застарілих форм захворювань рослин.

## РОЗДІЛ 2. Обґрунтування вибору та характеристика біологічного агента.

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

В останні роки спостерігається посилення злякисності захворювань сільськогосподарських культур, що пов'язано з природньою зміною представників патогенних збудників. Ситуацію погіршує широке застосування фунгіцидів: селективний вплив на грибових збудників, відкриває ніші для розвитку бактеріозів [15].

Діюча речовина фітобактеріоміцин на ринку України представлена у вигляді готового препарату «Фітолавін-300 ВРК», «Фітолавін» - водорозчинного концентрату.

Фітолавін на сьогодні майже єдиний засіб для лікування хвороб рослин, який не має віддалених та довготривалих наслідків. Саме тому його широко застосовують для обробки насаджень на відкритому та під закритим ґрунтами. При цьому він достатньо безпечний для людей та корисної мікрофлори. В рекомендованих дозах він не є токсично небезпечним для різних видів комах. Його профілактична дія яскраво виражена та швидко проявляється, саме тому при своєчасному застосуванні можна запобігти застосуванню більш агресивних засобів [16].

Цей пестицид можна застосовувати для протравлювання сімян, ефективність фітолавіну не знижується в розчинах з будь якою концентрацією. Діюча речовина легко і швидко проникає в рослину і забезпечує захист до 20 діб [10].

На даний момент відоме отримання фітолавіну при культивуванні за *Streptomyces griseus* штам 420 та *Streptomyces lavendulae* штам 696. У таб.2.1 наведено порівняльну характеристику літературних даних що до їх культивування. Ще одним мікроорганізмом для порівняння було обрано *Trichothecium roseum* як продуцент трихотетцину.

					НУХТ БТЕК 04.02.39 ДП ПЗ		
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата	Літ.	Арк.	Акрушів
Розроб.		Балицька О.Ю.					
Керівник		Тетеріна С.М					
Реценз.					Кафедра БТМ		
Н. Контр.							
Затверд.		Пирог Т.П.					

Трихотецин був обраний для порівняння, так як має властивість пригнічувати ріст фітопатогенних збудників. Його отримують в промислових масштабах і використовують для захисту рослин [6]. Для цього препарату, на відміну від фітоспорину, триходерміну та бактофіту вказується активність а не вміст життєздатних спор як і для фітолавіну.

Таблиця 2.1

**Порівняльна характеристика продуцентів антибіотичних речовин**

Продуцент	Продукт синтезу	Склад поживного середовища (%)	Умови культивування	Активність продукту синтезу	Література
<i>Streptomyces griseus</i> Штам 420	фітолавін	<b><u>Середовище №1:</u></b> Борошно кукурудзяне – 3,0 (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> – 0,06 KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> – 0,03 NaCl – 0,2 MgSO <sub>4</sub> – 0,05 CaCO <sub>3</sub> – 0,5	Т - 60±10 год; t - 28±1°C; рН - 6,6-7,2 O <sub>2</sub> – 1,0- 1,5м <sup>3</sup> /м <sup>3</sup> *хв	20000-33000 од. / Мл	[6]
		<b><u>Середовище №2:</u></b> Борошно кукурудзяне – 3,0 М'яса – 2,0 Лізин -0,01 (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> – 0,6 KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> - 0,01 NaCl – 0,05 MgSO <sub>4</sub> – 0,005 CaCO <sub>3</sub> – 0,5 Пропінол – 0,1			
<i>Streptomyces lavendulae</i> Штам 696	фітолавін	Глюкоза – 1,0 Крохмаль – 1,5 Кукурудзяний екстракт – 0,5 Соняшникова олія – 0,5 NaCl - 0,5 (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> – 0,35 CaCO <sub>3</sub> – 0,5	Т - 60±10 год; t - 28 ± 1С; рН – 6,0;	3000-4000 од./Мг.	[3]
<i>Trichothecium roseum</i> Штам 124	трихотецин	Борошно кукурудзяне – 1,0 Гліцерин – 1,0 Соняшникова олія – 0,1 (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> – 0,06 CaCO <sub>3</sub> – 0,02 MgCl <sub>2</sub> - 0,02	Т – 64-90 год; t - 24±2°C; рН – 5,3-5,5 O <sub>2</sub> – 1,0 м <sup>3</sup> /м <sup>3</sup> *хв	300-380 мкг/мл	[3]

Слід зазначити, що препарат трихотецин має ряд недоліків у застосуванні порівняно з фітолавіном:

- Здатність викликати алергічну реакцію
- Менш широкий спектр застосування (менша кількість культур та збудників)
- Нездатність стимулювати ріст рослин [17].

Нижче наведено таблиці в яких розглядається вартість компонентів для поживних середовищ (таб.2.2.) та узагальнююча, де наведені цифри дають змогу предметно порівняти собівартість кінцевого продукту кожного з продуцентів (таб.2.3.).

Таблиця 2.2.

**Вартість компонентів поживного середовища для культивування *Streptomyces griseus*420, *Streptomyces lavendulae* 696, *Trichothecium roseum*124**

Продуцент	Концентрація компонентів у ПС (г/л)	Ціна компонентів (грн/кг)	Вартість компонента (грн) для приготування 1 л ПС	Джерела інформації *
<i>Streptomyces griseus</i> Штам 420	<u>Середовище №1:</u>			1 2 3
	Борошно кукурудзяне – 30,0	14,00	0,42	
	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> – 6,0	25,00	0,15	
	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> – 0,3	52,00	0,0156	
	NaCl – 2,0	5,00	0,01	
	MgSO <sub>4</sub> – 0,5	82,00	0,041	
	CaCO <sub>3</sub> – 5,0	3,60	0,018	
	<u>Середовище №2:</u>			
	Борошно кукурудзяне – 30,0	14,00	0,42	
	Меляса – 20,0	10,00	0,2	
	Лізін – 0,1	70,00	0,007	
	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> – 6,0	25,00	0,15	
	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> – 0,1	52,00	0,0052	
	NaCl – 0,5	5,00	0,0025	
	MgSO <sub>4</sub> – 0,05	82,00	0,0041	
CaCO <sub>3</sub> – 5,0	3,60	0,018		
Пропінол – 1,0	82,00	0,082		
Вартість 1 л: Середовище № 1 -2,02 грн; Середовище № 2 -2,23 грн. Всього 4,45 грн				
<i>Streptomyces lavendulae</i> Штам 696	Глюкоза – 10,0	69,00	0,69	1 2
	Крохмаль – 15,0	24,00	0,36	
	Кукурудзяний екстракт – 5,0	199,00	0,995	
	Соняшникова олія – 5,0	21,00	0,105	
	NaCl - 5,0	5,00	0,025	

	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> – 3,5	25,00	0,087	
	CaCO <sub>3</sub> – 5,0	3,60	0,018	
Вартість 1 л: 2,28 грн.				
<i>Trichothecium roseum</i> Штам 124	Борошно кукурудзяне – 10,0	14,00	0,14	1 4 5
	Гліцерин – 10,0	94,00	0,940	
	Соняшникова олія – 1,0	21,00	0,021	
	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> – 0,6	25,00	0,015	
	CaCO <sub>3</sub> – 0,2	3,60	0,00072	
	MgCl <sub>2</sub> – 0,2	13,00	0,0026	
Вартість 1 л: 1,12 грн				

Примітка. \* - Ціни наведено станом на квітень 2019 р.

1. – [www.agroukrain.com](http://www.agroukrain.com)

2. – [www.prom.ua](http://www.prom.ua)

3.- [www.flagma.com](http://www.flagma.com)

4. – [www.bigl.com](http://www.bigl.com)

5. – [www.aromasoap.com](http://www.aromasoap.com)

Таблиця 2.3.

**Умовна вартість 1 одиниці дії цільового продукту при культивуванні  
*Streptomyces griseus* 420, *Streptomyces lavendulae* 696, *Trichothecium roseum* 124**

Біологічний агент	Вартість 1 л ПС (грн.)	Активність цільового продукту	Умовна вартість 1 одиниці дії (грн./мл)	Тривалість культивування	Активність цільового продукту синтезованого за 1 год.
<i>Streptomyces griseus</i> Штам 420	2,23	20000-33000 од. / Мл	0,0001225	60±10 год	500 од. / Мл
<i>Streptomyces lavendulae</i> Штам 696	2,28	3000-4000 од./Мг.	0,0006	60±10 год	66,6 од./Мг.
<i>Trichothecium roseum</i> Штам 124	1,12	300-380 мкг/мл	0,0032	64-90 год	5,46 мкг/мл

На основі порівняння літературних даних, було вирішено, що доцільніше буде використовувати культуру *Streptomyces griseus* штам 420 для подальшого розрахунку.

### **Розрахунок поживного середовища (г/л):**

Борошно

кукурудзяне– 30,0;

Меяса – 20,0;

Лізін – 0,1;

(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> – 6,0;

KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> – 0,1;

NaCl – 0,5;

MgSO<sub>4</sub> – 0,05;

CaCO<sub>3</sub> – 5,0;

Пропінол – 1,0;

Поживні середовища мають містити всі елементи, що входять до складу клітини, при чому в такій формі, в якій мікроорганізми будуть здатні їх засвоювати.

До складу бактеріальної клітини входять такі хімічні елементи зазначені у відсотках по відношенню до сухої маси речовини: вуглець – 50; кисень- 20; азот- 10-14; водень – 8; фосфор- 3; сірка, калій – 1; магній, кальцій – 0,5; залізо – 0,2. Це головні 10 елементів, що необхідні мікроорганізмам. Решта елементів становить близько 0,3. Тільки невелика кількість елементів періодичної системи необхідна мікроорганізмам у відносно великих концентраціях ( $\geq 10^{-4}$ М) – це 10 вище перерахованих головних елементів [18].

Отже, дане середовище придатне для культивування *Streptomyces griseus* 420.

Концентрація фітобактеріоміцину у статті не вказано, тож умовно беремо – 0,3 г/л.

Так як в статті не вказано вихід біомаси, умовно візьмемо його за 2,25 г/л.

Взяті числа відповідають середнім показникам при культивуванні різних представників стрептоміцетів.

Для подальшого розрахунку застосуємо загальну формулу для антибіотиків класу стрептотрицини, до яких відноситься фітобактеріоміцин – C<sub>19</sub>H<sub>34</sub>N<sub>8</sub>O<sub>8</sub>.

Mг(C<sub>19</sub>H<sub>34</sub>N<sub>8</sub>O<sub>8</sub>) – 502,5 г/л.

**Перевірочний розрахунок середовища визначеного складу:**

### **Розрахунок вмісту в середовищі джерела вуглецевого живлення.**

Потреби для синтезу фітобактеріоцину:

Як джерело вуглецю для одержання фітобактеріоцину використовують мелясу. Вміст вуглеводів у мелясі становить 50%. Розрахуємо скільки вуглецю міститься в 0,3г фітобактеріоцину. Молекулярна маса фітобактеріоцину становить 502,5. Отже 502,5 г фітобактеріоцину міститься 228 г вуглецю:, а в 0,3 г фітобактеріоцину  $(228*0,3)/502,5 = 0,136$  г вуглецю.

Далі розрахуємо у скількох грамах вуглеводів міститься 0,136 г вуглецю, враховуючи, що вміст вуглецю у вуглеводах меляси становить 40 %:

У 100г вуглеводів міститься 40г вуглецю, а в 0,136 г міститься  $(0,136 *100)/40 = 0,340$  г вуглеводів.

Оскільки у мелясі міститься 50% вуглеводів, то для одержання 0,3г фітобактеріоцину, вміст меляси у середовищі має бути  $0,340 *2 = 0,68$ г/л або приблизно 0,06%.

Враховуючи те, що при вирощуванні мікроорганізмів на вуглеводах близько 40% окиснюється до  $CO_2$  для одержання енергії, необхідної для конструктивного метаболізму, вміст меляси у середовищі становитиме  $(0,68*0,4)+0,68 = 0,95$  г/л = 0,1%.

Потреби для синтезу біомаси:

У біомасі міститься 50% вуглецю, отже вміст вуглецю у 2,25 г біомаси становить  $2,25*0,5 = 1,125$  г. Ця кількість вуглецю міститься у  $(1,125 *0,3)/40 = 0,008$  г вуглеводів. У перерахунку на мелясу одержимо 0,016 г/л. Враховуючи те що 40% витрат субстрату йде на холосте окислення, для одержання 2,25 г/л біомаси у середовище необхідно внести  $(0,016*0,4)+0,016 = 0,0224$ г/л меляси.

Отже загальний вміст меляси у середовищі, необхідний для синтезу біомаси 2,25г/л та фітолавіну 0,3г/л, становить  $0,95+0,0224 = 0,97 = 0,1\%$ .

### **Розрахунок вмісту у середовищі джерела азотного живлення.**

Потреби для синтезу біомаси:

Припустимо що у біомасі міститься 10% азоту. Таким чином у 2,25 г біомаси міститься 0,225 г азоту. Продуцент фітолавіну асимілює як джерела азотного живлення амонійний та органічний азот. Для одержання фітолавіну в промислових масштабах використовується середовище, що містить  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ .

Для 2,25г/л біомаси необхідно: беручи до уваги що молекулярна маса  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 = 132$ , тож у 132г сульфату амонію міститься 28г азту, тоді 0,225г буде містити  $(132*0,225)/28 = 0,241\text{г}$  солі.

Для 2,25г біомаси вміст сульфату амонію має становити 0,241г/л.

Потреби для синтезу фітолавіну:

Фітолавін входить до складу не тільки біомаси а й в фітолавін. Розрахуємо вміст сульфат амонію у середовищі небхідний для культивування 0,3г/л фітолавіну.

Молекулярна маса фітолавіну становить 502,5. У 502,5 г фітолавіну міститься 112 г азоту, тоді у 0,3г лізину вміст азоту  $(0,3*112)/502,5=0,06\text{г}$ .

Далі розрахуємо в якій кількості сульфат амонію міститься ця кількість азоту: у 132г сульфату амонію міститься 28 г азту, тоді 0,06г буде міститись у  $(132*0,06)/28= 0,3$  г солі.

Для одержання 0,3г/л фітолавіну необхідно 0,3 г/л амонію сульфату.

### **Розрахунок фосфору у середовищі.**

У біомасі міститься близько 3% фосфору. Отже для синтезу 2,25г/л біомаси вміст фосфору у середовищі повинен досягати  $2,25* 0,03=0,067$  г/л. Джерелом фосфору є  $\text{K}_2\text{PO}_4$ . Вміст фосфору у  $\text{K}_2\text{PO}_4$  становить  $31/136=23\%$ . Отже  $(136*0,067)/31= 0,293\text{г}$ .

Характерною ознакою мікробного синтезу є т що існують різні вимоги до поживних середовищ, використовуваних для одержання посівного матеріалу та виробничого біосинтезу. Потрібно мати на увазі, що на стадії одержання посівного матеріалу продуцент вирощується здебільшого до середини експоненційної фази росту, і ця стадія не передбачає накопичення максимальної кількості цільового продукту. Тому у складі середовищ для одержання інокуляту концентрація джерл вуглецю і азоту можуть бути приблизно в два рази нижчою, ніж у середовищ для біосинтезу цільового продукту [18].

Фітобактеріоміцину, як препарат біологічного походження має однозначну перевагу перед хімічними аналогами з точки зору безпечності застосування. В порівнянні з трихотецином, сполукою що має схожі властивості, фітолавін лідирує по показникам безпеки, спектру застосування та зручності застосування.

Шляхом порівняння літературних даних було встановлено, що найбільш доцільним для біосинтезу фітобактеріоміцину буде застосування *Streptomyces griseus* штам 420, адже з точки зору продуктивності та економічності саме цей продуцент виграє в порівнянні продуцентом *Streptomyces lavendulae* 696.

У середовищі наведеного складу присутні всі необхідні елементи у повному обсязі для росту та розвитку нашого мікроорганізму.

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

Стрептоміцети утворюють тонкі ценоцитні (не розділений на клітинні субодиниці) гіфи діаметром 0,5-2 мкм, що рідко розпадаються на фрагменти. На лабораторних середовищах гіфи, розвиваючись, утворюють субстратний міцелій [19]. Ширина міцелію не перевищує 1,5 мкм, частіше 0,7-0,8 мкм, ядра не виявлені [20]. Паличкоподібні форми, часто з потовщеними кінцями, в мазку розташовуються поодиноці, парами, V- і Y-образно. Всі морфологічні форми здатні до істинного розгалуження, особливо на тіогликолієвому полурідкому середовищі. За Грамом забарвлюються погано, часто утворюють зернисті або чіткообразні форми, некислостійкі. Типовий вид - *Actinomyces bovis* [21]. Частина міцелію проникає безпосередньо в середовище, а частина розростається на поверхні, утворюючи помітні неозброєним оком колонії. Відразу після виділення колонії стрептоміцети зазвичай невеликі, відокремлені, лішайникоподібні, шкірясті або маслянисті. Поверхня колоній спочатку гладка, але з часом на ній формується переплетення гіфів повітряного міцелію, який може бути зернистим, порошкоподібним або оксамитовим. У процесі росту і розвитку можуть утворювати різноманітні пігменти, що визначають забарвлення субстратного і повітряного міцелію, а також середовища культивування. Розмножуються вегетативно і за допомогою спор, які формуються найчастіше в спеціальних утвореннях повітряного міцелію - спороносцах. Спори у стрептоміцетов нерухомі,

різної форми - кулястої, овальної, паличковидної або циліндричної. Оболонка гладка або покрита різними виростами - шипами, буграми, волосками [19].



Рис.2.4 Типовий вигляд *Streptomyces* [21]

*Streptomyces griseus* має характерний земляний запах через виділення летючого з'єднання геосміна. При культивуванні в рідких поживних середовищах утворює пеллети. Культуральна рідина солом'яно-жовтого кольору з земляно-ананасовим запахом [22]. Пеллет - осідаюча частина, яка накопичується під час центрифугування [23].



Рис.2.5 *S. griseus* [24]

Стрептоміцети хемоорганотрофні актинобактерії з метаболізмом окисного типу; мають широкий набір ферментів; здатні використовувати для життєдіяльності найрізноманітніші органічні сполуки [19]. Більшість - аероби, анаеробні або мікроаерофільні види зустрічаються рідко. Зростання актиноміцет відбувається при широкому значенні рН середовища від 5 до 9. Температурний оптимум для більшості видів 25-30 ° (мезофіли), але зростання можливе в діапазоні від 3 до 40 °. Наявні серед актиноміцет термофіли ростуть при t ° 45-50 ° [25]. Ферментують вуглеводи з утворенням кислоти без газу, продукти ферментації - оцтова, мурашина, молочна і бурштинова кислоти [21]. Наявність у актиноміцет великої кількості різноманітних ферментів - протеази, кератіназ,

хітинази, ліпази, амілази, інвертази та інше - збільшує здатність актиноміцет використовувати рослинні і тваринні залишки, а також такі субстрати, які не використовують інші мікроорганізми - парафін, гас, віск, смолу і інше. Деякі види актиноміцет фіксують молекулярний азот. Ферментативна активність проявляється також у властивих актиноміцетам літичних процесах, наприклад аутолізі, який може бути обумовлений також і літичним впливом на інші мікроорганізми. Майже всі актиноміцети здатні синтезувати вітамін В12 і його аналоги. Деякі види синтезують вітаміни Вх, В2, біотин, пантотенову і нікотинову кислоти, піридоксин, рибофлавін та ін. Деякі актиноміцети є продуцентами амінокислот - глютамінової, аспарагінової, валіну, метіоніну, цистеїну, цистину та інші. Деякі види утворюють ароматичні речовини з запахами землі (найбільш характерний для актиноміцет ознака), фруктів, камфори, йодоформу, сірководню, аміаку та інше [20].

Чутливі до пеніцилінів, тетрацикліну, еритроміцину, але резистентні до антимікотиками. Чутливі до дії зазвичай застосовуються антисептиків і дезінфектантів [21].

На підставі променистого будови цих організмів, виявлених в ураженій тканині великої рогатої худоби, Гарц (1877 р) назвав їх *Actinomycetes* і відніс до грибів. Н. А. Красильников (1970 р) також знаходить, що вони ближче до грибів. Ваксман (1962 р), Ейвері, Бланк (1954 р), Поллеманн (1961 р) вважають, що за розмірами, відсутності диференційованого ядра, чутливості до антибіотиків та іншими ознаками актиноміцети ближче до бактеріям, а Ліске (1928 р) брав їх за ті початкові форми, з яких відбулися гриби і бактерії. Невизначеність таксономічного положення актиноміцетів в ботанічній класифікації привела до виникнення великої кількості синонімів: *Oospora Wallroth*, *Streptothrix Corda*, *Leptothrix Kutzing*, *Cladothrix Conn*, *Discomyces Rivolta*, *Micromyces Gruber*, *Indiella Brumpt*, *Streptomyces Waksman a. Henrici* і ін. [18].

## РОЗДІЛ 3. Техніко- економічне обґрунтування

### 3.1 Потреба у цільовому продукті

Україна – аграрна країна, що активно вирощує різні культури для потреб власного ринку та на експорт. За даними Держстату, за 2018 рік найбільш високе зростання обсягу валового продукту зафіксували у кількох сферах, у тому числі і в сільському господарстві (+7,8%) [26]. Таким чином у 2018 році аграрний сектор генерував близько 13% українського ВВП [27].

За останні три роки площі під овочами закритого ґрунту в Україні поступово зростають. Згідно з офіційними даними, з 2016 по 2018 рік ці показники збільшились на 9%. Як свідчать дані державної служби статистики, у 2018 році під овочами закритого ґрунту в Україні було зайнято 6,47 тис.га. Понад половину цих площ зайнято під огірком. За підсумками 2018 року цей овоч вирощувався на площі у 3,3 тис.га, що на 9% більше, ніж попереднього року. На другому місці томати. Плянґації під цією культурою займають 39% від загалу, або 2,5 тис.га [28].

Згідно з офіційними даними, в 2018 році в Україні було зафіксовано 91,8 тис. га яблуневих садів, які були в плодоносному віці. [29] Посівні площі пшениці озимної 6617,3 тис.га [30]. Нажаль у вітчизняному сільському господарстві частка біопрепаратів становить лише 10% [31].

Загальний асортимент біопрепаратів українського ринку представлений препаратами на основі основних 6 груп мікроорганізмів: *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Streptomyces griseus*, *Trichoderma viridae*, *Trichoderma harzianum*. Вони включають у себе різні штами мікроорганізмів [32]. У таблиці нижче наведені основні біопрепарати ринку України і продуценти, що найчастіше застосовуються для їх виготовлення.

					НУХТ БТЕК 04.02.39 ДП ПЗ		
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата	Літ.	Арк.	Акрушів
Розроб.		Балицька О.Ю.					
Керівник		Етерьна С.М					
Реценз.					Кафедра БТМ		
Н. Контр.							
Затверд.		Пирог Т.П.					

Таблиця 3.4

## Зведена таблиця основних біопрепаратів на ринку України

Назва препарату	Продуцент	Активність	Товарна форма	Сроки зберігання	Культури для застосування		Спектор дії		Джерело інформації
					Притаманні саме цьому препарату	Загальні	Притаманні саме цьому препарату	Загальні	
Фітолавін	<i>Streptomyces griseus 420</i>	БА 120 000 ЕА/мл, 32 г/л	Розчин-концентрат	1р.	Соя Груша Пшениця Ячмінь	Капуста Томати Огірки Картопля Яблуна	Бактеріальний опік бактеріальний рак чорна ніжка вершинна гнилизна	м'яка бактеріальна гниль гниль кореневої шийки бактеріальне і	[4]
Алірін-Б	<i>Bacillus subtilis штамм В-10 ВИЗР</i>	10 <sup>9</sup> Куо/мл	Порошок	3р.	Виноград Зелені культури* Буряк Смородина		Пероноспоріз Септоріоз Парша Іржа	трахеомікозне в'янення кореневі гнилі некроз серцевини стебла чорна	[33]
		10 <sup>11</sup> Куо/г	Розчин-концентрат	4 місяці	Агрис Пшениця Ячмінь				
Бактофіт	<i>Bacillus subtilis ИИМ-215</i>	10000 од/г	Порошок	2,5р.	Виноград Роза Гвоздика		Вілт Оїдіум Пероноспіроз Фітофтора	бактеріальна плямистість альтернаріоз моніліоз	[34]
Триходермін**	<i>Trichoderma viride</i>	5*10 <sup>9</sup> КУО/г	Порошок	2р.	Баклажан Перець Арбуз Капуста	Аскохітоз Антракноз		[35] [36]	
		2*10 <sup>9</sup> Куо/мл	Розчин-концентрат	2 місяці	Диня Морква Буряк				

					Селера Горох Кукурудза Плодово-ягідні культури Квіткові декоративні культури			
Фітоспорин	<i>Bacillus subtilis 26 Д</i>	2 млрд. КУО /г,	Порошок	4р	Баклажан	Фітофтороз Іржа Бактеріальний рак Парша Пероноспороз Ризоктоніоз Фомоз		[37][38][39]
		100 млн. КУО /г,	Паста	4р				
		1 млрд КУО /мл	Розчин- концентрат	4р.				
Ризоплан	<i>Pseudomonas fluorescens AP-33</i>	1 млрд КУО/мл	Розчин- концентрат	30 діб	Суниця Пшениця Ячмінь Капуста Буряк Виноград	Іржа Фітофтороз		[40]
Гаупсин плюс	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> УКМ В-111 та УКМ В-306	4, 5x10 <sup>9</sup> КУО / 1 мл	Розчин- концентрат	2 місяці	Квіткові декоративні культури Виноград	Пероноспороз Фітофтороз		[41][42][43]
Трихоцин**	<i>Trichoderma harzianum</i>	10 <sup>10</sup> КУО/г	Порошок	2 р.	Пшениця Ячмінь Морква Буряк Рапс Капуста Соя	Септоріоз Ризоктоніоз Фітофтороз		[44]

\*- салат, укроп, кінза, рукула і т.д..

\*\* - Рекомендовано до використання лише на малих підсобних підприємствах [35] [44] .

Виходячи з цієї таблиці, можемо зробити висновок, що препарат «Фітолавін», у порівнянні з іншими біопрепаратами, має ряд переваг, а саме: зручну у використанні форму – розчин-концентрат, що дозволяє його застосування у промислових масштабах без додаткових витрат. При цьому термін зберігання значно більший у порівнянні з іншими препаратами в рідких формах. Виключенням є препарат «Фітоспорин», але його суттєвим недоліком є значно менший спектр культур дозволених до обробки. А для обробки у промислових масштабах підходить лише 6 препаратів.

Перелік біофунгіцидів, що присутні на ринку України можна доповнити такими засобами: Фітоцид [45], ФітоДоктор, Гамаір [46], Альбіт, Елена, Мікосан, Планріз [47]. Але так як вони менш популярні і їх застосування часто обмежене малими підсобними господарствами, ми можемо умовно припустити що вони займуть третю частину ринку. Таким чином можемо припустити площу сільськогосподарських угідь яка буде оброблена препаратом на основі фітобактеріоміцину.

*Таблиця 3.5*

**Розрахункові площі для обробки препаратом на основі  
фітобактеріоміцину**

<b>Культура</b>	<b>Площі посівів, га</b>	<b>Площі посівів оброблених біопрепаратами , га</b>	<b>Площі посівів оброблених фітолавіном , га</b>
Огірки	3300	330	33
Томати	2500	250	25
Яблуні	91800	9180	918
Пшениця озимна	6617300	661730	66173

Серед стрептоміцетів виділяють декілька продуцентів стрептотрицинового макролідного комплексу як фунгіцидного засобу, серед них: *Streptomyces griseus* [6], *S. lavendulae* [48], *S. lydicus* [49], *S. fradiae* [50]. Проте лише для *S. griseus*, *S. lavendulae* проводилися розрахунки для промислового культивування, інші продуценти культивувалися лише в лабораторних умовах. Час що йшов на культивування *S. griseus*, *S. lavendulae* складав 60±10 год, в той час як для *S. lydicus* та *S. fradiae* 72 год і 168-220 год відповідно. За результатами проведених досліджень, було встановлено, що культивування в промислових масштабах для останніх двох продуцентів економічно не вигідне. На даний момент у промисловості використовують лише *Str. griseus* як більш доцільний продуцент.

На основі отриманих даних, а також враховуючи популяризацію безпечного аграрництва, можемо припустити, що препарат на основі фіобактеріоміцину зможе зайняти 10% від всього ринку біопрепаратів.

Таблиця 3.6

**Вихідні данні для розрахунку річної потреби препарату «Фітолавін»**

Культура	Площі посівів, га	Час внесення	Кількість препарату для однієї обробки 1 га, л/га	Загальна кількість обробок за рік	Сумарна кількість препарату для обробки 1 га, л/га	Необхідний об'єм препарату для річної обробки всіх площ, м3
Огірки	33	2-3 справжні листки	2	8	51	1,683
		Після висадки	7			
Томати	25	2-3 справжні листки	2	8	51	1,275
		Після висадки	7			
Яблуни	918	Період вегетації	2	2	4	3,672
Пшениця озимна	66173	Передпосівне протравлювання	2 л/т	2	3	198,519
		Кущення	2			
Потреба у препараті						205,149

**Примітка.** Кількість обробок для томатів і огірків вказана з розрахунком вирощування в захищеному ґрунті в період з квітня до серпня місяця. Кількість насіння пшениці для висіву 135 кг на 1 га [51].

### 3.2 Розрахунок потужності виробництва

На ринок України фітолавін постачається відчизняними виробниками і за рахунок експорту.

Таблиця 3.7

#### Основні постачальники препарату «Фітолавін»

Країна походження	Назва підприємства	Джерело інформації
Україна	1. Родоніт	[52]
	2. Азот	[53]
	3. СГПП Об'єднання (м.Северодонецьк)	[54]
	4. ПП «Чароїт»	
Росія	5. Август	
	6. Техноекспорт	
	7. Фармбиомедсервис	
Естонія	8. Вегума ОУ	
Іспанія	9. Atlantica	

Незважаючи на велику кількість представників на ринку, Україна все ще потребує потужностей для виробництва препарату на основі фітобактеріоцину. Цей препарат також може експортуватися, адже в останній час в світі набуває популярність застосовувати препарати на основі біологічних агентів без хімічно небезпечних компонентів.

Враховуючи те, що на ринку вже є представники нашого продукту, візьмемо, що ми зможемо зайняти 10 частину ринку України. Таким чином з розрахованої загальної потреби у Фітолавіні 206 м<sup>3</sup> (див. Таб.3.7.) ми можемо претендувати на потребу у 21 м<sup>3</sup>.

Згідно патенту у культуральній рідині ми можемо насинтезувати 10 мг/мл біомаси [55]. Активність такого матеріалу становитиме 30 000 од/мл у культуральній рідині. Для отримання сухого стрептотрицинового комплексу культуральну рідину випарюють на вакуум-випарній установці до 10-12% сухих

речовин та висушують на розпилюючій сушарці. Отриманий матеріал стандартизують крейдою до отримання препарату з активністю 300 тис. од /г, передбачені втрати згідно патенту становлять до 20% [6]. Отриманий порошок входить до складу рідкої форми препарату у відношенні 4,0:10 [15].

Таким чином потреба у сухому стрептотрициновому комплексі становить (розраховуємо за допомогою пропорції):

На 1000 л препарату - 400 кг порошку,

На 21000 л - 8400 кг.

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

Згідно розрахунків наведених у підрозділі 3.2 для забезпечення річної потреби культуральної рідини, з урахуванням втрат, потрібно одержати 8400 кг ( $G_{нт}$ ).

Для розрахунку кількості стадій приготування посівного матеріалу треба розрахувати скільки необхідно накультивувати за цикл ферментації.

Приймаємо кількість трудоднів (Трд) за 300, тоді кількість продукту виготовленого за добу  $G_{нтд}$  буде:

Кількість продукту на добу,  $G_{нтд} = G_{нт} / T_{рд} = 8400 / 300 = 28$  кг/добу.

Кількість антибіотика за цикл,  $G_{цк} = G_{нтд} * T_{цф} / 24 = 28 * 70 / 24 = 81,7 = 82$  кг/цикл.

Де:

$T_{цф}$ - цикл роботи ферментера, який включає тривалість виробничого біосинтезу (60 год) та час підготовки ферментера (10 год).

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

Підготовка ферментера включає: миття та огляд (2 год), перевірка на герметичність (2 год), стерилізація (2 год), охолодження (1 год), завантаження середовища (1,5 год), засів (0,5 год), вивантаження культуральної рідини (1 год).

Кількість абсолютно сухого антибіотика, кг /цикл,  $G_{\text{цкф}} = G_{\text{цк}} * CP_{\text{гп}} = 82/0,9 = 74$ .

Кількість одиниць активності антибіотика, що знаходяться в в кг з за цикл, од. Ак/цикл,  $A_{\text{цкф}} = A_{\text{ст}} \cdot 10^3 \cdot G_{\text{цкф}} / (1 - E_a) = 300000 \cdot 10^3 \cdot 74 / (1 - 0) = 2,2 \cdot 10^{10}$ .

Об'єм КР, що зливається за одну ферментацію (циклу) з урахуванням втрат за робочий цикл ( $E_{\text{св}}$ ),  $V_{\text{кр}} = K_1 \cdot A_{\text{цкф}} / A_{\text{ст}} (1 - E_a) = 1,1 \cdot 2,2 \cdot 10^{10} / 300000 = 896,3 \text{ м}^3$ .

Кількість циклів на рік  $N_{\text{цик}} = G_{\text{нт}} / G_{\text{цк}} = 8400/82 = 102,9$ . Округлюємо кількість циклів до цілого  $N_{\text{цик}} = 103$ .

896,3 л культуральної рідини ( $V_{\text{кр}}$ ) можна отримати у ферментері, геометричний об'єм якого має становити:

$$V_{\text{кр}} = G_{\text{нтд}} / K_{\text{зап}} = 896,3 / 0,6 = 1493,3 \text{ л} = 1,49 \text{ м}^3,$$

де  $K_{\text{зап}} = 0,6$  – коефіцієнт заповнення ферментера.

У знаходимо стандартний ферментер що підійде за геометричними параметрами:  $V_{\text{ф}} = 1,6 \text{ м}^3$ .

Уточнюємо коефіцієнт заповнення:

$$K_{\text{зп}} = G_{\text{нтд}} / V_{\text{ф}} = 896,3 / 1600 = 0,5 - \text{що не перевищує заданого значення.}$$

### 3.4 Розрахунок кількості стадій підготовки посівного матеріалу

За виробничий цикл ( $V_{\text{цик}}$ ) отримують 896 л культуральної рідини.

Через втрати, що обумовлені крапле виносом через колектор відпрацьованого повітря, можемо втратити 10 - 15% культуральної рідини.

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

$$V_{\text{роб.1}} = V_{\text{кр}} / (1 - E_{\text{ф}}) = 896,3 / (1 - 0,1) = 995,8 = 996 \text{ л.}$$

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

Виробничий біосинтез здійснюють у ферментері з робочим об'ємом  $V_{\text{роб.1}} = 1 \text{ м}^3$ .

При коефіцієнті заповнення ( $K_{\text{зп}}$ ) 0,6, розраховують можливий геометричний об'єм ферментера ( $V_{\text{ф}}$ ):

$$V_{\text{ф}} = V_{\text{роб.1}} / K_{\text{зп}} = 996 / 0,6 = 1,66 \text{ м}^3.$$

Приймаємо за найближчий за об'ємом стандартний ферментер  $V_{сф} = 2 \text{ м}^3$  та уточнюємо раніше прийнятий коефіцієнт заповнення:

$$K_{зп1} = V_{роб.1} / V_{сф} = 996/2000 = 0,5.$$

Уточнений коефіцієнт заповнення перебуває в допустимих межах, отже геометричний об'єм підбрано вірно.

Кількість посівного матеріалу для ферментера згідно патенту становить 5% від об'єму поживного середовища.

Тоді кількість поживного середовища у ферментері становитиме:

$$V_{пс1} = V_{роб.1} / (1 + X_{ф}) = 996 / (1 + 0,05) = 948,5 \text{ л} = 0,949 \text{ м}^3.$$

Де  $X_{ф} = 0,05$  – доза посівного матеріалу згідно патенту.

Кількість посівного матеріалу ( $V_{пм1}$ ) становитиме:

$$V_{пм1} = V_{роб1} - V_{пс1} = 996 - 949 = 47 \text{ л.}$$

Для одержання 47 л інокуляту в посівному апараті враховуємо втрати внаслідок крапле виносу відпрацьованого повітря, що становитимуть 10-15%.

Тоді кількість поживного середовища становитиме:

$$V_{роб.2} = V_{пм1} / (1 - E_{па}) = 47 / (1 - 0,1) = 52,2 \text{ л.}$$

Кількість посівного матеріалу згідно патенту становитиме 5% від об'єму поживного середовища.

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

$$V_{пс2} = V_{роб.2} / (1 + X_{па}) = 52,2 / (1 + 0,05) = 49,7 \text{ л.}$$

Де  $X_{па} = 0,05$  – доза інокуляту для посівного апарату.

Кількість посівного матеріалу для посівного апарату ( $V_{пм2}$ ) становитиме:

$$V_{пм2} = V_{роб2} - V_{пс2} = 52,2 - 49,7 = 3,9 \text{ л.}$$

Кількість інокуляту  $V_{роб.2} = 2,2$  л можна одержати під час культивування в інокуляторі об'ємом:

$$V_{ін2} = V_{роб.2} / K_{зп} = 52,2 / 0,6 = 87 \text{ л.}$$

Стандартний ферментер ( $V_{сф}$ ) =  $0,1 \text{ м}^3$ , уточнюємо прийнятий раніше коефіцієнт заповнення:

$$K_{зп2} = V_{роб.2} / V_{сф} = 52,2/100 = 0,5$$

Для одержання 2,2 л посівного матеріалу в інокуляторі враховуємо втрати в результаті крапле виносу через колектор відпрацьованого повітря, що становитимуть 10-15%.

Тоді кількість поживного середовища становитиме:

$$V_{роб.3} = V_{пм2} / (1 - E_{ін}) = 3,9 / (1 - 0,1) = 4,3 \text{ л.}$$

Кількість посівного матеріалу для ферментера згідно патенту становить 5% від об'єму поживного середовища.

Тоді кількість поживного середовища у ферментері становитиме:

$$V_{пс3} = V_{роб.3} / (1 + X_{ф}) = 4,3 / (1 + 0,05) = 4,095$$

Де  $X_{ф} = 0,05$  – доза посівного матеріалу згідно патенту.

Кількість посівного матеріалу ( $V_{пм3}$ ) становитиме:

$$V_{пм3} = V_{роб3} - V_{пс3} = 4,3 - 4,09 = 0,21 \text{ л.}$$

Кількість інокуляту  $V_{роб.3} = 4,3$  л можна одержати під час культивування в інокуляторі об'ємом:

$$V_{ін3} = V_{роб.3} / K_{зп} = 4,3 / 0,6 = 7,2 \text{ л.}$$

Стандартний ферментер ( $V_{сф}$ ) =  $0,01 \text{ м}^3$ , уточнюємо прийнятий раніше коефіцієнт заповнення:

$$K_{зп3} = V_{роб.3} / V_{сф} = 4,3 / 10 = 0,4.$$

Кількість іноуляту для засіву інокулятора  $V_{пм3} = 0,2$  л можна одержати культивуванням у колбах на качалці. Для цього використовують качалочні колби об'ємом  $V_{колб} = 750$  мл та коефіцієнтом заповнення ( $K_{зпк}$ ) =  $0,2$ .

Тоді кількість колб для отримання посівного матеріалу становитиме:

$$N_{колб} = V_{пм3} / (V_{колб} * K_{зпк}) = 200 / (750 * 0,2) = 1,3.$$

Тобто, для одержання посівного матеріалу необхідно 2 качалочних колб.

Отже, процес одержання посівного матеріалу для забезпечення виробничого біосинтезу фітолавіну у ферментері об'ємом  $2 \text{ м}^3$  з коефіцієнтом заповнення  $0,6$  буде проходити у 3 етапи.

Таким чином, за результатами розрахунків для біосинтезу фітолавіну на основі продуцента *Str. griseus* 420 приймаємо до встановлення ферментер об'ємом  $2 \text{ м}^3$ , один інокулятор об'ємом  $0,1 \text{ м}^3$  і один інокулятор об'ємом  $0,01 \text{ м}^3$ .

## РОЗДІЛ 4. Біосинтез цільового продукту

### 4.1 Шляхи катаболізму ростового субстрату

Так як у KEGG відсутня інформація що до шляхів біосинтезу стрептотрицину, було вирішено розписати біосинтез по схемі стрептоміцину, адже стрептотрицин – це неочищений стрептоміцин.

Ростовим субстратом у поживному середовищі для біосинтезу стрептотрицину є кукурудзяне борошно. Під дією позаклітинних гідролаз воно розщеплюється до крохмалю. За участі амілаз відбувається розщеплення до декстринів, потім до мальтози, потім до глюкози [18]. Згідно KEGG [56], катаболізм глюкози відбувається за шляхом Ембдена-Мейєргофа-Парнаса (гліколіз) про що свідчить наявність ключового ферменту 6-фосфофруктокінази (КФ.2.7.1.11). Наводимо схему перетворення даного вуглеводу (рис. 4.6).

Перетворення  $\alpha$ -D-глюкозо-1-фосфат на  $\alpha$ -D-глюкозо-6-фосфат відбувається під дією ферменту фосфоглюкомутази (КФ.5.4.2.2).

Фермент глюкозо-6-фосфатізомераза (КФ.5.3.1.9.) каталізує перетворення  $\alpha$ -D-глюкозо-6-фосфату на  $\beta$ -D-фруктозо-6-фосфату. Потім 6-фосфофруктокіназа 1 (КФ.2.7.1.11) каталізує перетворення  $\beta$ -D-фруктозо-6-фосфату на  $\beta$ -D-фруктозо-1,6-дифосфат, частина якого за допомогою фруктозо-1,6-біфосфатази I (КФ.3.1.3.11) і дифосфатзалежної фосфофруктокінази (КВ.2.7.1.90) зворотно перетворюється на  $\beta$ -D-фруктозо-6-фосфат.

Під дією фруктозобіфосфатальдолази, клас II (КФ.4.1.2.13) та трифосфатізомерази (КФ.5.3.1.1)  $\beta$ -D-фруктозо-1,6-дифосфат перетворюється на: гліцеральдегід-3-фосфат та дигідроксиацетонфосфат.

Потім гліцеральдегід-3-фосфатдегідрогеназа (КФ.1.2.1.12) перетворює гліцеральдегід-3-фосфат на 1,3-дифосфогліцерат, який під дією фосфогліцераткінази (КФ.2.7.2.3) перетворюється на 3-фосфогліцерат.

					НУХТ БТЕК 04.02.39 ДП ПЗ		
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата	Літ.	Арк.	Акрушів
Розроб.	Балицька О.Ю.						
Керівник	Етерьна С.М						
Реценз.							
Н. Контр.							
Затверд.	Пирог Т.П.				Кафедра БТМ		

Фосфогліцератмутаза (КФ.5.4.2.11) перетворює 3-фосфогліцерат на 2-фосфогліцерат, який енолаза (КФ.4.2.1.11) перетворює на фосфоенолпіруват. Фермент піруваткіназа (КФ.2.7.1.40) перетворює фосфоенолпіруват на піруват. Далі піруват залучається до метаболізму за участю специфічної піруватдегідрогенази E1 (КФ.1.2.4.1) та піруватдегідрогенази E2 (КФ.2.3.1.12) [56].

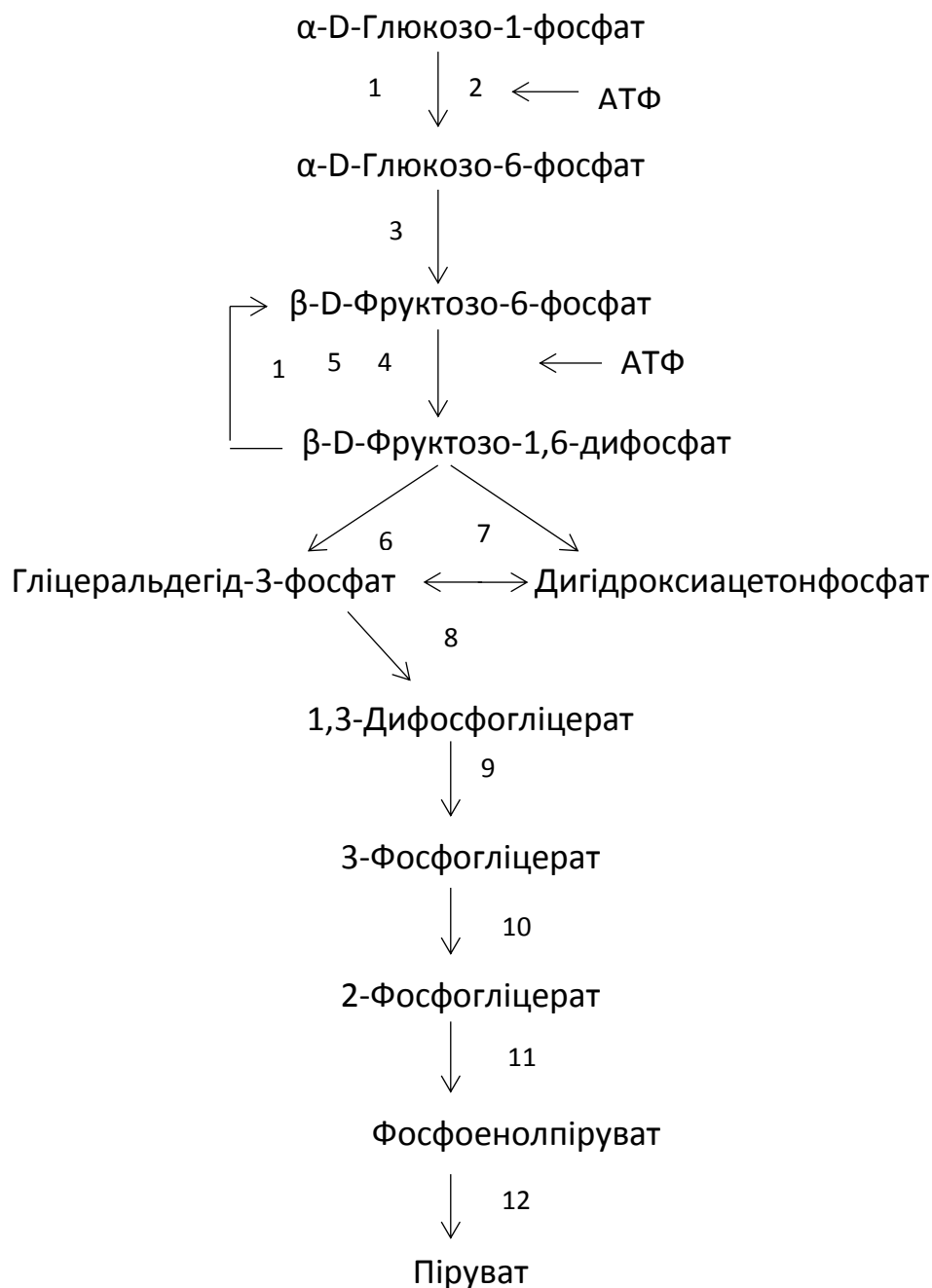


Рис.4.6 Катаболізм глюкози у *Streptomyces griseus*

Ферменти: 1 – гексокіназа (КФ.2.7.1.1); 2 – фосфоглюкомутаза (КФ.5.4.2.2); 3 – глюкозо-6-фосфатізомераза (КФ.5.3.1.9.); 4 - фруктозо-1,6-біфосфатаза I (КФ.3.1.3.11); 5 - дифосфатзалежна фосфотриозокіназа (КФ.2.7.1.90); 6 – фруктозобі-фосфатальдолаза, клас II (КФ.4.1.2.13); 7 – триозофосфатізомераза (КФ.5.3.1.1); 8 – гліцеральдегід-3-фосфатдегідрогеназа (КФ.1.2.1.12); 9 – фосфогліцераткіназа (КФ.2.7.2.3); 10 – фосфогліцератмутаза (КФ.5.4.2.11); 11 – енолаза (КФ.4.2.1.11); 12 – піруваткіназа (КФ.2.7.1.40).

#### **4.2. Біотрансформація ростового субстрату у цільовий продукт**

Вихідною сполукою для синтезу всіх структур стрептотрицину є глюкоза. Під дією гексокінази (КФ 2.7.1.1) або глюкокінази (КФ 2.7.1.2) глюкоза перетворюється на глюкозо-6-фосфат. Взаємоперетворення глюкозо-6-фосфату та глюкозо-1-фосфату здійснює фермент фосфоглюкомутаза (КФ 5.4.2.2). З глюкозо-1-фосфату утворюється НДФ-N-метил-L-глюкозамін і дТДФ-L-дигідрострептоза.

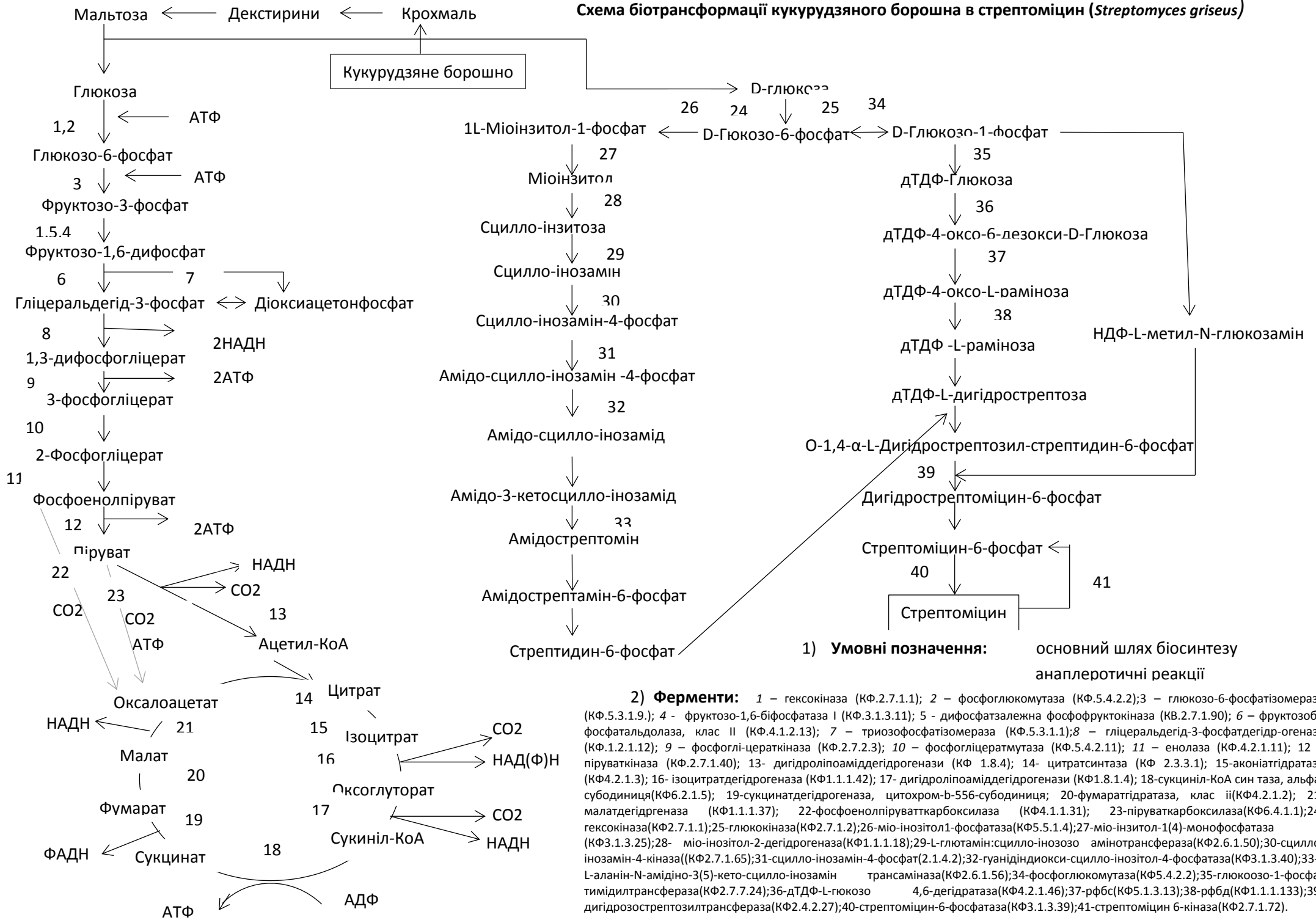
В утворенні дТДФ-L-дигідрострептози беруть участь такі ферменти: глюкозо-1-фосфат-тимідилтрансфераза (КФ 2.7.7.24), дТДФ-4-дегідрорамнозо-3,5-епімераза (КФ 5.1.3.13), дТДФ-4-дегідрорамнозоредуктаза (КФ1.1.1.133)

Глюкозо-6-фосфат вихідна сполука для синтезу стрептидину. З глюкозо-6-фосфату утворюється міо-інозитол (КФ 3.1.3.25) і 1-аміно-1-дезоксисцилло-інозитол-4-фосфат. Утворення 1-гуанідно-1-дезоксисцилло-інозитол-4-фосфату каталізує сцилло-інозамін-4-кіназа (КФ 2.1.4.2).

Стрептидин-6-фосфат полімеризується з дигідрострептозою (КФ 2.4.2.27) і з глюкозаміном, утворюючи стрептоміцин-6-фосфат перетворюється на стрептоміцин.

Схему перетворень ростового субстрату в кінцевий продукт наведено нижче.

## Схема біотрансформації кукурудзяного борошна в стрептоміцин (*Streptomyces griseus*)



## РОЗДІЛ 5. Обґрунтування вибору технологічної схеми

### 5.1.1 Обґрунтування способу культивування

Оскільки оптимальною температурою для культивування аеробного штаму *Streptomyces griseus* 420 є 28°C, а оптимальним значенням рН є нейтральне, то можливий ризик контамінації сторонніми мезофільними та нейтрофільними мікроорганізмами. Це зумовлює необхідність забезпечення асептичних умов під час біосинтезу, чого неможливо досягнути при поверхневому культивуванні. Асептичні умови забезпечуються стерилізацією обладнання, комунікацій, поживного середовища, аераційного повітря, піногасників. Для запобігання контамінації у ферментері створюється надлишковий тиск.

У зв'язку з наведеним вище, культивування *Streptomyces griseus* 420 для біосинтезу фітолавіну здійснюють глибинним способом.

Незважаючи на переваги культивування безперервним способом перед періодичним, біосинтез фітолавіну здійснюють у періодичній системі, оскільки максимальний синтез антибіотика відбувається у стаціонарній фазі росту продуцента. Отже, підтримання штаму у експоненційній фазі росту є недоцільним, так як в цьому разі знижується концентрація антибіотику [18].

### 5.1.2 Обґрунтування вибору типу ферментера

Спираючись на умови культивування зазначені в попередньому розділі, необхідний нам ферментер має мати барботер для забезпечення культури аераційним повітрям, системою регулювання та підтримки температури поживного середовища (контур нагріву). Так як в складі поживного середовища присутня меляса, крім хімічного піногасника що вноситься, бажані додаткові механічні системи піногасіння. Зважаючи на те що у літературі [6] зазначено, що через особливість росту стрептоміцетів, а саме утворення справжнього міцелію, не доцільне використання мішалок, тому ферментер не буде оснащено цією функцією.

					НУХТ БТЕК 04.02.39 ДП ПЗ		
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата	Літ.	Арк.	Акрушів
Розроб.		Балицька О.Ю.					
Керівник		Етерьна С.М					
Реценз.					Кафедра БТМ		
Н. Контр.							
Затверд.		Пирог Т.П.					

Для визначення кислотності мають бути встановлені датчики рН. Конструкція мусить бути легкодоступна для обробки зовнішніх та внутрішніх поверхонь. Бажана присутність клапану для відбору проб ти порту для внесення посівного матеріалу.

Всім вище перерахованим вимогам відповідає ферментер серії BIORUS-SJA на 2000л [57].



Рис.5.7. Ферментер серії BIORUS-SJA на 2000л [57].

Для синтезу фітолавіну використовують двостадійну схему культивування *Streptomyces griseus* штам 420, що являє собою аеробне глибинне культивування. У цих процесах послідовно використовують колби на качалці, посівний апарат і ферментер.

На першій стадії посівний матеріал вирощують у колбах на качалці, по закінченню цієї стадії отримують стандартний вегетативний посівний матеріал.

На другій стадії цим посівним матеріалом у кількості 5-10% засівають посівні апарати на попередньо простерилізоване поживне середовище.

Третя стадія передбачає внесення отриманого посівного матеріалу у промисловий ферментер в кількості 5-10% на попередньо простерилізоване ферментативне середовище. Процес біосинтезу може проходити у ферментерах з відсутністю перемішування.

### 5.1.3 Обґрунтування стадій підготовки виробничих приміщень, мийних та дезінфікуючих засобів

Враховуючи особливості культивування фітолавіну продуцентом *S. griseus* 420, що проходять в аеробних умовах, нейтральній кислотності і при температурі  $28\pm 1^\circ\text{C}$ , особливо важливо виключити контамінацію в процесі виробництва. Для цього необхідно проводити всі заходи для забезпечення асептичних умов.

Виробництво для культивування фітолавіну здійснюється протягом 300 днів, адже це економічно найбільш доцільно (виходячи з розрахунків що наведені в розділі 3). На виробництві буде використовуватися таке обладнання: ферментер на  $2\text{ м}^3$ , інокулятори на  $0,1$  та  $0,01\text{ м}^3$ , збірники, колби качалочці, автоклав, бокс та інше лабораторне устаткування.

Таким чином на виробництві існуватимуть наступні цехи: цех по підготовці інокуляту та виробничого біосинтезу, біохімічна лабораторія, мікробіологічна лабораторія та приміщення з качалками. В мікробіологічній лабораторії буд розташовано холодильники, автоклави, термостати, бокс та сухо жарова шафа. В біохімічній лабораторії буде розташовано апаратуру для проведення необхідного контролю: мікроскопи, хроматографи, центрифуга, реагенти, технічні та аналітичні ваги і т.д.. Відстань між апаратами, від стін до апаратів та прохід між ними становить 1 м. На рис.5.8 наведено приблизний план розміщення.

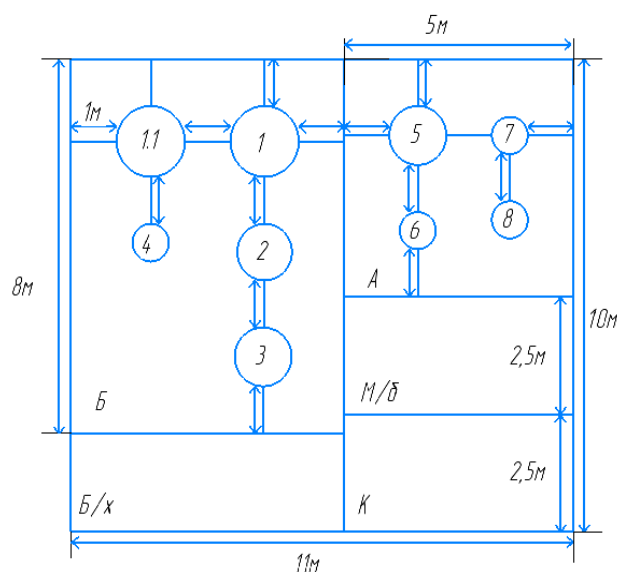


Рис.5.7 План виробничого приміщення

**А** – цех де здійснюється вирощування інокуляту;

**Б** – цех де здійснюється виробничий біосинтез;

1 – ферментер об'ємом 2 м<sup>3</sup>; 1.1 – місце для демонтажу кришки ферментера; 2 – реактор-змішувач для ферментера для композиції А; 3 - реактор-змішувач для ферментера для композиції Б; 4 - реактор-змішувач для ферментера для композиції С; 5- інокулятор на 0,1 м<sup>3</sup>; 6- реактор-змішувач для інокулятора для композиції А; 7 - реактор-змішувач для інокулятора для композиції Б; 8 – інокулятор на 0,01 м<sup>3</sup>; **М/б** – мікробіологічна лабораторія;

**Б/х** – біохімічна (технологічна) лабораторія;

**К** – приміщення з качалками.

Габаритні розміри основного обладнання наведено у табл.5.8.

Таблиця 5.8

**Габаритні розміри основного обладнання для виробництва фітолавіну**

Обладнання	Геометричний об'єм, л	Діаметр, м	Висота, м
Ферментер на, 1 шт*	2000	1,5	2,95
Реактор змішувач для ферментеру(1), 1 шт**	630	1,12	1,78
Реактор змішувач для ферментеру (2), 1 шт***	400	1,5	2,8
Реактор змішувач для ферментеру (3), 1 шт****	250	0,82	2,2
Інокулятор (4), 1 шт**	100	1,25	2,6
Реактор змішувач для інокулятора (5), 1 шт***	40	0,79	1,7
Реактор змішувач для інокулятора (6), 1 шт***	20	0,79	1,7
Інокулятор (7), 1 шт***	10	0,79	2,1
Всього	3450		

Примітка: \* - [57], \*\* - [58], \*\*\* - [59], \*\*\*\* - [60].

Виходячи з даних наведених у таблиці 2.1, загальний об'єм апаратів та реакторів-змішувачів становитиме 3,450 м3.

Для підтримання асептичних умов необхідна обробка підлоги кожного дня, тобто 300 разів. Генеральне прибирання – раз на місяць відповідно 10 раз на рік.

Для розрахунку необхідної кількості миючих засобів треба підрахувати приблизну площу обробки миючо-дезінфікуючими засобами, враховуючи висоту стін у 5 м та площу підлоги.

З урахуванням простору між апаратами та стінами, загальна площа стін у цеху виробничого біосинтезу для становитиме:  $((6*5)+(8*5))*2 = 140$  м2, Площа підлоги цеху виробничого біосинтезу, враховуючи місце для демонтажу кришки ферментера:  $6*8 = 40$  м2.

Аналогічно рахуємо площу стін та підлоги для у цеху вирощування інокуляту:  $S_{ст} = ((5*5)+(5*5))*2 = 100$  м2,  $S_{під} = 5*5 = 25$  м2.

Площа стін та підлоги у біохімічній лабораторії:  $S_{ст} = ((2*5)+(6*5))*2 = 80$  м2,  $S_{під} = 2*6 = 12$  м2.

Площу стін та площу підлоги у мікробіологічній лабораторії:  
 $S_{ст} = ((2,5*5)+(2,5*5)) = 50$  м2,  $S_{під} = 2,5*5 = 12,5$  м2

Площа стін та підлоги у качалочній кімнаті:  $S_{ст} = ((2,5*5)+(2,5*5)) = 50$  м2,  
 $S_{під} = 2,5*5 = 12,5$  м2

Таблиця 5.9

**Загальна площа поверхні обробки миючо-дезінфікуючими засобами**

Приміщення	Площа підлоги, м <sup>2</sup>	Площа стін, м <sup>2</sup>	Загальна площа, м <sup>2</sup>
Цех виробничого біосинтезу	40	140	180
Цех вирощування інокуляту	25	100	125
Мікробіологічна лабораторія	12,5	50	62,5
Біохімічна лабораторія	12	80	92
Приміщення з качалками	12,5	50	62,5
Загальна площа	102	420	522

Кількість виробничих циклів на рік складає 103. Миття проводиться перед кожним циклом, тож кількість обробок на рік становитиме 104 (необхідно додаткове миття після останнього циклу).

Для всіх апаратів крім інокулятора на 10 л буде встановлено обслуговуючі майданчики і вигляді залізних конструкцій. Для визначення потреби на обробку обслуговуючих майданчиків додамо 10% від загального обсягу потрібного для обробки підлоги.

Узагальнені дані про площу обробки за рік наведено у таблиці 5.10

Таблиця 5.10

### Загальна площа обробки об'єкту за рік

Об'єкт обробки	Площа оброблюваного об'єкту, м <sup>3</sup>	Кількість процесів за 1 рік	Загальна площа обробки за 1 рік, м <sup>2</sup>
Обладнання	3450	104	358800
Підлога	102	300	30600
Стіни, двері, вікна, обслуговуючі майданчики	430	10	4300

Всього — 393700 м<sup>2</sup>.

Так як кількість трудоднів на виробництві становить більше ніж пів року, необхідно передбачити зміну миючих засобів для уникнення появи резистентності мікроорганізмів. З цією метою ми провели порівняльну характеристику засобів з різними діючими речовинами. При виборі засобів ми спиралась на розрахункову вартість обробки 1 м<sup>2</sup> поверхні, спектр дії, простоту у використанні, клас безпеки. Адже концентрація готової препаративної форми для виготовлення робочого розчину може відрізнятись. Розхід робочого розчину зазвичай становить 100 мл / м<sup>2</sup>. Всі розчини мають дезінфікуючо-миючі властивості, що передбачає можливість використання єдиного препарату при прибираннях. Ця характеристика дозволяє заощаджувати час та кошти що йдуть на прибирання.

Фан - Багатофункціональний рідкий концентрований дезінфекційний засіб з посиленою очищувальною і мийною дією, призначений для професійної

дезінфекції, мийки, очищення і санітарної обробки. Активнодіюча речовина – дідецілдіметіламоній хлорид (не менше 5%), має бактерицидну (в т. ч. щодо *S.aureus*, *P.aeruginosa*, *E.coli*, *Enterococcus hirae*), віруліцидну (в т. ч. у відношенні HBV і HIV) і фунгіцидною (щодо грибів роду *Candida*, дерматофітів і цвілевих грибів в т. ч. в спорових форм) дією [61].

Дезекон - Рідкий концентрований лужний миючий дезінфікуючий засіб з посиленням миючим дією для дезінфекції, передстерилізаційного очищення, щоденних і генеральних прибирань і санітарної обробки. Активнодіюча речовина – комплекс 4-х четвертинних амонієвих солей (не менше 5,5%) і синергічно діючих допоміжних компонентів, які суміщають дезінфікуючий, виражене миючий ефекти і дезодорує. ефективний засіб проти грам + і грам- бактерій (включаючи *Listeria monocytogenes*, *Legionella pneumophila*, *P.aeruginosa* (*Antibiotic resistant*), MRSA, збудників туберкульозу), вірусів (включаючи віруси гепатитів В і С, ВІЛ, герпесу, грипу, рота-, корона -, хантавіруси, вірус *Avian influenza* (збудник «пташиного» грипу) і ін.), патогенних грибів (збудників кандидозів і дерматомікозів) і цвілевих грибів [62].

Стеріокс - Високоєфективний рідкий концентрований безпінний засіб для дезінфекції та миття. Активнодіюча речовина – надоцтова кислота. Володіє високою бактерицидною (в т. ч. туберкулоцидною), віруліцидною (включаючи найбільш стійкого до дії дезінфекційних засобів поліовірусу), фунгіцидною (в тому числі щодо дріжджових і цвілевих грибів) і спороцидною діями. Засіб не має селективної антимікробної дії і перешкоджає формуванню стійких штамів мікроорганізмів [63].

Санімакс - Рідкий висококонцентрований нейтральний дезінфекційний засіб з помірним піноутворенням для дезінфекції, передстерилізаційного очищення, поточних і генеральних прибирань та мийки. Активнодіюча речовина – комплекс чотирьох четвертинних амонієвих сполук (не менше 50%). Санімакс має бактерицидну (включаючи мікобактерії туберкульозу, *Listeria monocytogenes*, *P.aeruginosa*, *S.aureus* і *S.aureus Methicillin Resistant*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella choleraesuis*, *Shigella dysenteriae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Listeria*

*monocytogenes*, *Enterococcus faecium Vancomycin Resistant*, *Yersinia enterocolitica*), віруліцидні (в т. ч. вірусів гепатитів, герпесу, грипу, рота-, коронавірус, збудників «пташиного грипу»), фунгіцидною (проти патогенних грибів і цвілі) і спороцидною дією [64].

Біомой - Передстерилізаційна очищення виробів медичного призначення з металу, скла, гуми і полімерних матеріалів. Миття поверхонь приміщень, статі, предметів догляду за хворими, предметів інтер'єру тощо. Миття об'єктів навчально-виховних закладів, об'єктів комунально-побутового призначення, підприємств парфюмерно-косметичної, мікробіологічної, харчової, переробної та фармацевтичної промисловості. Активні діючі речовини – алкілбензолсульфонат натрію (сульфонол), лужна протеаза [65].

Пимол - Концентрований кислотний чистячий засіб для миття, дезінфекції і видалення забруднень неорганічної і органічної природи. Активні діючі речовини – кислота соляна, комплексонат, катіонні ПАВ (ЧАС). Водні робочі розчини засобу мають очищуючу і мийну дію, помірне піноутворення; видаляють солі жорсткості води, іржу, пивний, молочний, винний, сечовий камінь та інші забруднення; суттєво знижують мікробне забруднення; мають помірну корозійну дію на низьковуглецеві сталі [66].

Всі засоби відносяться до 4го класу небезпеки, окрім Стеріоксу (3й клас небезпеки). В характеристиці засобів Біомой та Пимол ми не вказували спектр дії, адже будемо їх використовувати виключно для миття обладнання перед стерилізацією.

## Узагальнена характеристика витрат миючо-дезінфікуючих засобів

Назва засобу	Об'єкт	Концентрація робочого розчину, %	Загальна площа обробки за весь період виробництва, м <sup>2</sup>	Кількість робочого розчину за весь період виробництва, л	Вартість 1 л/кг засобу, грн	Вартість 1 л робочого розчину, грн
Фан (дідецилдіметіламоний хлорид)	Стіни, підлога, вікна, двері	2,0	34900	3490	240,00	4,8
Дезекон (комплекс 4-х четвертинних амонієвих солей)	Стіни, підлога, вікна, двері	2,0		3490	255,00	5,1
Стеріокс (початкова Конц. 15% надоцтової кислоти)	Стіни, підлога, вікна, двері	0,01		3490	162,00	1,62
Санімакс (початкова Конц. 50% комплекс чотирьох четвертинних амонієвих сполук)	Стіни, підлога, вікна, двері	0,1	34800	3490	870,00	1,74
	Обладнання, інвентар, комунікації, тара		358800	3580		
Біомой	Обладнання, інвентар, комунікації, тара	0,3	358800	3580	163,00	0,48
Пимол	Обладнання, інвентар, комунікації, тара	5,0		3580	72,00	3,6

Виходячи із вище наведеної характеристики, для миття стін та проведення генерального миття доцільно обрати Санімакс та Фан. Стеріокс хоч і дешевший за Фан, але має 3й клас небезпеки. Для миття обладнання ми обрали Пимол, він значно дорожче за Біомой та Санімакс, але крім миючих властивостей, також може видаляти органічні відкладання, що в перспективі може подовжити термін експлуатації обладнання.

Обробка ферментеру буде здійснюватися за допомогою СІП мийки. При її використанні необхідний об'єм робочого розчину становить 20% від об'єму ферментера. Обробка апаратів об'ємом менше 100 л здійснюється вручну. Для

розрахунку потреби миючих розчинів приймемо витрату за 10%. Тобто:  
 $((3380 \cdot 104) \cdot 80\%) + 10\% = 77334,4$  л на рік.

Обробка підлоги буде проводитися кожного дня (300 раз за 1 рік). Обробка стін, вікон, дверей 1 раз на місяць (10 раз за рік). Для регулювання кількості мікроорганізмів в повітрі буде встановлено бактерицидні лампи. Їх застосовуватимуть кожен робочий день під час обідньої перерви та після проведення генерального прибирання протягом 30 хв.

#### **5.1.4 Обґрунтування стадій підготовки обладнання і комунікацій**

Після проведеного миття, що включає в себе ополіскування, проводиться технологічний огляд (ТО). Під час якого виявляють неполадки, які могли виникнути в комунікаціях (порушення системи ущільнення, непрацездатність механізмів, протікання і т.д.)

Наступний етап підготовки – перевірка обладнання на герметичність. Для його проведення закривають всю запірну арматуру, та за допомогою аераційного повітря створюють надлишковий тиск  $P = 0,1 - 0,2$  МПа. Витримують 30-60 хв фіксуючи показники манометрів, при цьому подача повітря вже не відбувається. Допустима норма зниження тиску 0,01 МПа. В разі недопустимих результатів проводиться пошук не ущільнених ділянок методом галогенових течіє шукачів. Для цього перед процедурою в апарат вноситься фреон-12, і за температури 80°C, тиску 0,2 МПа, проводять пошук. Процедура триває до 2 годин.

Далі проводиться стерилізація. Попередньо підігривають апарат до 80-90°C. Далі відкривають всю запірну арматуру, відкривають доступ до відведення пари. Подають гостру пару, за 130-135°C перекривають запірну арматуру крім парової, витримують заданий час при тиску 0,28-0,3 МПа. Після заданого часу припиняється подача пари, апарат охолоджують одночасно подаючи стерильне повітря. Процес припиняється за температури 30-40°C і надлишкового тиску 0,003-0,005 МПа.

### **5.1.5 Обґрунтування стадій підготовки аераційного повітря та очищення відпрацьованого**

Згідно патенту [6] для культивування *S. griseus* необхідна аерація поживного середовища. Для цього необхідно підготувати аераційне повітря. Цей процес проходить в 7 етапів.

Забір атмосферного повітря. Здійснюється на висоті близько 30 м за допомогою вертикальної труби з повітрозбірником. Розміщення даної установки здійснюється на будівлі де розташовано обладнання для наступних етапів.

Грубе очищення. Здійснюється для очищення від пилу за допомогою тканинних фільтрів грубого очищення ( $\delta > 50$  мкм).

Стиснення повітря. Здійснюється в компресорах, при цьому відбувається нагрів до 120-200°C.

Охолодження. Здійснюється за допомогою теплообмінників, при цьому утворюється конденсат.

Видалення вологи. Здійснюється за допомогою ресивера, при цьому значно зменшується пульсація руху повітря.

Стабілізація. Повітрю надають сталих показників (температура 40-50°C, тиск).

Очищення в індивідуальних фільтрах. Від попередньо описаних стадій по трубопроводу повітря подається на індивідуальні фільтри, що встановлено при апаратах.

Відпрацьоване повітря по трубопроводу подається на фотокаталітичне очищення. При виробництві даного продукту, це припустимо, адже необхідно деактивувати мікроорганізми, але при цьому у відпрацьованому повітрі майже відсутні хімічні сполуки. Органічні сполуки, присутні в газовій фазі, каталітично окислюються на поверхні  $TiO_2$  при опроміненні ультрафіолетом ближнього діапазону (320-400 нм) [66].

### 5.1.6 Обґрунтування способу підготовки та стерилізації ПС

Для досягнення оптимального накопичення біомаси і активності культурою *S. griseus* під час виробничого біосинтезу використовується поживне середовище наступного складу (г/л): Борошно кукурудзяне – 30,0; Меляса – 20,0; Лізин – 0,1;  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  – 6,0;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  – 0,1;  $\text{NaCl}$  – 0,5;  $\text{MgSO}_4$  – 0,05;  $\text{CaCO}_3$  – 5,0; Пропінол – 1,0. Об'єм становитиме 996 л. Одержання інокуляту проводиться в три етапи. Освітлювати мелясу нам не потрібно, адже кальцій ніяк не впливає на ріст стрептоміцетів. Для отримання інокуляту необхідно використовувати наступний склад (г/л): Борошно кукурудзяне – 30,0;  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  – 6,0;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  – 0,3;  $\text{NaCl}$  – 2,0;  $\text{MgSO}_4$  – 0,5;  $\text{CaCO}_3$  – 5,0. На першому етапі поживне середовище готується в колбах і стерилізується в автоклаві вертикального завантаження. Окремо готується, розварюється та стерилізується композиція з борошном, окремо стерилізуються солі. Стерилізація першої композиції відбувається за 112-115°C, під тиском 0,15 МПа, протягом 20-30 хв. Розчин соєй готується з додаванням 0,6% соляної кислоти до показників рН 4,0-4,5. Після чого проводиться стерилізація при 131°C, 0,15МПа, впродовж 40 хв. Паралельно проводиться стерилізація розчину лугу  $\text{NaOH}$  0,6% з розрахунком 2 мл на 1 л розчину.

Для підготовки поживного середовища для виробничого біосинтезу формується 3 композиції, дві з яких борошно та солі, що стерилізуються так само як описано вище. Ще однією композицією будуть лізин та меляса, що стерилізуються за 112-115°C, під тиском 0,15 МПа, протягом 20-30 хв.

### 5.2.1 Обґрунтування товарної форми

Кінцевим продуктом, який необхідно отримати є фітолавін. Вибір товарної форми базується зручності використання, складності виділення та кінцевих характеристик отриманого продукту.

Порошкоподібна форма має ряд недоліків. Для її використання потрібно попередньо розвести порошок з водою ( в практиці використовують 1-2% розчин). При розчиненні препарату в розчин переходить діюча речовина, в той час як біомаса продуцента та залишки поживного середовища, що містяться в препараті,

в воді не розчиняються та являються баластом. Також важливим фактором є те, що при використанні такої форми, баластні частинки забивають форсунки та перешкоджають використанню розчину. Досить важливим аргументом на користь рідкої форми являється і те що вона не викликає подразнення дихальних шляхів у робітників, які її використовують (не утворюється пил), більш якісно замочує листову поверхню

Для наочності вибору, нижче представлено порівняльну таблицю.

Таблиця 5.12

### Товарні форми фітолаву

	<b>Сухий порошок</b>	<b>Рідкий концентрат</b>
<b>Виробництво</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Менше стадій при виробництві</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Подовжений цикл виділення, що підвищує економічні витрати</li> </ul>
<b>Застосування</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ускладнюється наявністю твердих, нерозчинних часточок (неможливість використання розпилюючих пристроїв через закупорення баластними частинками)</li> <li>• Подразнення дихальних шляхів персоналу</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Можливе застосування у промислових масштабах ( не містить твердих частинок)</li> </ul>
<b>Зберігання</b>	12 місяців в крафтових мішках	12 місяців в пластикових ємкостях
<b>Ефективність</b>	Містить до 300 тис. од/г	При збереженні вмісту стрептотрицинового комплексу (3,5 -4,5 мас.%), містить синергічні речовини, що позитивно впливають на якісні показники препарату

## 5.2.2 Аналіз способів одержання цільового продукту

Після закінчення ферментаційних процесів ми отримаємо цільовий продукт та залишки поживного середовища. Згідно з дослідженням [6], для надання фітолавіну сухої (порошкоподібної) форми необхідно провести процеси:

- Підкислення
- Вакуум-випарювання
- Сушка на розпилюючій сушарці
- Стандартизація

Для переведення в рідку (водний концентрат) форму згідно дослідженням [15], необхідно провести:

- Екстракцію
- Фільтрацію
- Протиточну екстракцію

На першій стадії в якості підготовки до вакуум-випарювання, рН поживного середовища необхідно довести до значень 5,0-5,5. Адже при значеннях рН розчину менше 4,5 і більше 8,2 активність біологічно активних речовин починає падати вже при нагріванні розчину вище 35°C. При рН = 6 – 5, той самий ефект спостерігається лише при температурі вище 50°C [67].

Надалі необхідно провести концентрування розчину до 10-12% сухих речовин, для подальшої сушки. Запропоновано використання вакуум-випарюваної установки. Це найбільш уживаний спосіб концентрування, адже при цьому застосовуються досить низькі температури 40-55°C, що дозволяє зберегти активність продукту та заощадити на енерговитратах [68].

Наступним процесом є сушка. Найчастіше для сушки напіврідких продуктів, застосовують розпилючі сушарки. Отриманий після сушки порошок, який складається з дрібних твердих частинок, зберігає початкові властивості продукту. Запропоновано використання розпилюючої сушарки відцентрового типу, адже [69].

Надалі необхідно провести стандартизацію продукту. Це проводиться за допомогою каоліну (біла глина), хімічна формула  $Al_2O_3 \cdot 2SiO_2 \cdot 2H_2O$ , є хімічно стійкою речовиною, що має такі властивості: рН 20% водної суспензії становить 4,0–7,5 [70].

Також можливе використання крейди, хімічна формула  $CaCO_3$  - це одна з форм вапняку. Обидва матеріали мають гігроскопічні властивості, розчинні у воді, не вступають у хімічну реакцію з продуктом та мають низьку ціну на ринку. Стандартизують до значень 300000 од/г.

Під час процесу виділення втрати складають  $18 \pm 2\%$ . Таким чином отримують препарат у вигляді порошку. На далі можливе виготовлення рідкої форми.

Для отримання водорозчинного концентрату необхідно провести екстракцію. Користуючись цим методом, при нагріванні біологічного матеріалу з розчином сульфатної кислоти у витяжку переходить значна кількість домішок, які є продуктами гідролізу білкових речовин.

Встановлено, що сполуки білкових речовин з більшістю алкалоїдів, їхніх синтетичних аналогів та інших нітрогенвмісних сполук основного характеру розкладаються кислотами при рН = 2 – 3. Ці дані послужили основою для вибору рН рідин, за допомогою яких здійснюють ізолювання алкалоїдів та інших органічних основ з біологічного матеріалу [71].

Витяжки, добуті настоюванням біологічного матеріалу з підкисленою водою або водним розчином спирту, завжди містять певну кількість домішок білкових речовин, амінокислот, ліпідів та інших сполук, які заважають виділенню речовин, що знаходяться в цих витяжках. У зв'язку з цим витяжки з біологічного матеріалу потрібно очищати від домішок.

Для їх очистки від механічних забруднень (дрібних часточок біологічного матеріалу) застосовують фільтрування.

Фільтрацію застосовують для розділення різних суспензій. Рідина (фільтрат) проходить через фільтр, а тверді частинки залишаються у вигляді осаду.

Зважаючи на кількість осаду, що очікується та його характер, а також на переваги конструкції вакуумних фільтрів, доцільне використання вакуумних фільтрів. Для збагачення фільтрату діючою речовиною, його використовують для обробки наступної порції сухого фітолавіну.

Для того, щоб отримати розчин з вмістом діючої речовини аналогічного до сухого препарату, тобто 3,5-4,5% стрептотрицинового комплексу, додатково проводять екстракцію.

Найчастіше в промисловості застосовується багатоступінчата екстракція. Установа для багатоступінчатої екстракції складається з декількох послідовно сполучених апаратів — ступенів, в яких початковий розчин і екстрагент поступають з протилежних кінців і рухаються протитечею один до одного. При такій організації процесу початковий, найбільш концентрований розчин стикається з екстрактом, відносно насиченою витягнутою речовиною. Збіднений розчин (рафінат), що знаходиться в останньому апараті, стикається з чистим розчинником, унаслідок чого витягання наявного компонента відбувається достатньо повно. Таким чином, у всіх апаратах установки підтримується велика рушійна сила і здійснюється якнайповніше витягання компонента, що екстрагується, з початкового розчину [72].

### **5.2.3 Обґрунтування способу одержання препарату**

Вище наведені послідовності одержання були наведені згідно патентів [6] та [15]. Але були мало узгоджені між собою. Адже передбачали що різні форми препаратів будуть виготовлятися на окремих підприємствах. Так як, розробляється лінія для повного циклу виготовлення від біосинтезу до отримання готового продукту у формі рідкого концентрату, процеси одержання доцільно змінити.

Стрептотрицин – сполука, що майже не досліджується, у вільному доступі знайти конкретну інформацію що до розміщення її в середовищі (ендо- чи екзометаболіт) не вдалося. Аналізуючи наявну інформацію, можна припустити що

стрептотрициновий комплекс знаходиться як в культуральній рідині так і в клітині.

Після завершення біосинтезу, доцільно провести випарювання до вмісту сухих речовин 10-12%. Для захисту від деструкційного впливу підвищених температур попередньо необхідно підкислити середовище до показників рН 5,0-5,5.

Встановлено, що чим менше час випарювання, тим вище може бути температура гріючого агента. При випарюванні неочищеного розчину спостерігається менша втрата активності активних речовин. Останнє пояснюється тим, що присутні в розчині домішки "захищають" активну речовину від несприятливих температурних впливів [67].

Стадія концентрування розчину передбачає випарювання. Враховуючи густину поживного середовища, методи седиментації, фільтрування та мембранні методи будуть малоефективні. Лише в лабораторних умовах буде використано центрифугування для контролю процесів біосинтезу культури. Для проведення процесу було обрано кулясту вакуум-випарну установку з прямотечійним конденсором змішування, адже це конструкція проста в обслуговуванні і на відміну від трубчастих типів установок, не виникає занепокоєння що до пропускної здатності нашого концентрату [68].

### **Вакуум-випарна установка**

Вакуум - випарна установка являє собою герметичну циліндричну ємність з нержавіючої харчової сталі, оснащену перемішувачем, з приводом, сорочкою з теплоносієм. Розрядження в вакуум випарної установці створюється за допомогою вакуум-насоса.

На пульті управління знаходяться регулятори перемішувача, вакуум-насоса, терморегулятор з індикацією значення температури продукту, пускачі ТЕНів (при електропідігріві). Розрядження в вакуум випарної установці контролюється за допомогою вакуумметра. Передбачена можливість регулювання тиску в апараті [73].

## Технічні характеристики вакуум випарної установки ВВУ

1	Продуктивність по випареній волозі, КГД	200 – 230
2	Продуктивність по кінцевому продукту, л / год	до 100
3	Робочий тиск в установці, МПа	0,01 -0,015
4	Кількість вихідного продукту, кг	90 - 200
5	Температура випарює продукту, С	42-70
6	Температура охолоджуючої води, м / ч	10- 15
7	Витрата охолоджуючої води, м / ч	4,0
8	Витрата граючої пари, кг / год	300 - 350
9	Електрична потужність, кВт не більше	9,0
10	Габарити, мм	від обсягу
11	Маса, кг	від обсягу

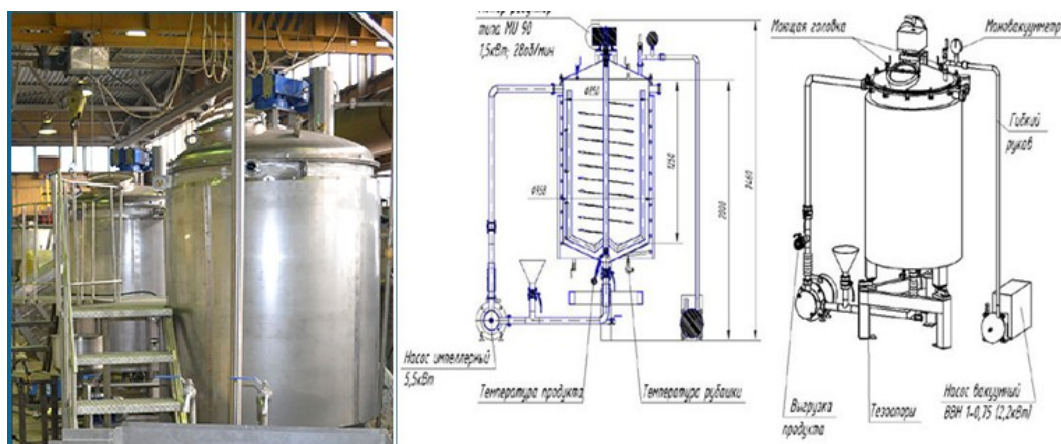


Рис.5.8 Вакуум-випарна установка [73].

Наступним процесом є сушка. Існують кондуктивні, конвективні, радіаційні, з безпосереднім використанням електроенергій та використанням механічної енергії. Для сушки напіврідких продуктів, застосовують розпилучі сушарки. При розпилюванні продукту на дрібні частинки значно збільшується поверхня контакту продукту з гарячим повітрям і процес відбувається протягом декількох секунд (50-30 с). Для розпилювання продукту застосовують відцентрові диски, які дозволяють розпилювати продукти будь-якої в'язкості. Сушарка такого типу має

металеву вежу циліндричної форми, в якій встановлено розпилюючий пристрій. У конусній частині дна вежі розміщені скребки, які збирають висушений продукт. Сушарка обладнана паровим підігрівачем, в якому повітря нагрівається на вході до 140-160 ° С парюю з тиском 0,8 МПа та має 60-70°С на виході [69].

### **Розпилююча відцентрова сушарка**

Розпилювач відцентровий. Призначений для розпилення концентрованої рідини в камері розпилювальної сушарки А1-ОРЧ. Розпилина сировина в в потоці гарячого повітря сушиться і випадає вниз вежі у вигляді сухого порошка.

Розпилювач розташовується зверху вежі, на спеціальному майданчику сушарки.

Розпилювач марки ОРБ складається з: корпус, кожух, рама, плита, стійка, маслопровід, установка насосна, трубопровід молока, електродвигун, вал, шків малий, шків великий, диск розпилювальний, бак, кожух, корпус підшипників, корпус продуктової.

Країна виробник Україна [74].



**Рис.5.9** Сушарка розпилююча відцентрова [74].

Так як згідно з ТЕО, розрахунок потреби було проведено для виготовлення рідкої форми, стандартизації сухого порошку не потребуємо.

Стрептотрициновий комплекс у вигляді порошку, надалі подається на триступеневу протиточну екстракцію, в якій фільтрація буде відбуватися за допомогою нутч-фільтрів.

Існує метод виділення речовин з біологічного матеріалу, оснований на їх ізолюванні водою, підкисленою сульфатною кислотою. Відповідно до методів, які тепер застосовують у хіміко-токсикологічному аналізі для ізолювання алкалоїдів та інших нітрогенвмісних основ з біологічного матеріалу, рідини, що використовуються для цього, підкислюють до рН = 2,5 – 4,0. При цих значеннях рН відбувається руйнування зв'язків між білками і алкалоїдами, а також іншими нітрогенвмісними основами, які у вигляді солей переходять у екстракти з біологічного матеріалу .

До рідин, які використовуються для ізолювання речовин з біологічного матеріалу, ставиться ряд вимог:

- ці рідини повинні добре проникати в клітини і тканини біологічного матеріалу;
- руйнувати зв'язки між отрутами і білковими речовинами в тканинах;
- добре розчиняти солі отруйних речовин, які утворюються в біологічному матеріалі під впливом кислот, що входять до складу рідин, використовуваних для ізолювання;
- розчиняти якнайменшу кількість домішок, які переходять з біологічного матеріалу у витяжки.

Відомо, що при виділенні алкалоїдів та інших речовин з біологічного матеріалу його настоюють з підкисленою водою (при рН = 2 - 3) протягом 2–3 год. Експериментальні дані свідчать, що за такий час гідроліз біологічного матеріалу не відбувається. Навіть для часткового гідролізу білків потрібні відносно жорсткі умови (вища концентрація кислоти і тривале нагрівання).

Під час ізолювання речовин підкисленою водою або етиловим спиртом у витяжки з біологічного матеріалу разом з необхідними речовинами переходять домішки білків, білкових речовин (переважно альбумінів) та деяких продуктів їх гідролізу (пептидів, амінокислот), ліпідів та інших сполук. Відомо, що в дистильованій воді білкові речовини розчиняються в незначній кількості. При додаванні до води кислот або лугів розчинність білкових речовин підвищується.

Отже, підкислення води, що застосовується для ізолювання потрібних речовин, сприяє збільшенню кількості білкових речовин у витяжках з біологічного матеріалу. У підкислену воду переходять і окремі амінокислоти, які є продуктами гідролізу білкових речовин. Під впливом етилового спирту та інших органічних розчинників, які змішуються з водою (метиловий спирт, ацетон тощо), відбувається денатурація білків. При добавлянні етилового спирту до біологічного матеріалу знижується ступінь гідратації білкових речовин, зменшується їх розчинність [71].

Виходячи з поставлених вимог до рідини – розчинника, можливим є застосування як води підкисленої соляною кислотою, так і етиловим спиртом. Зважаючи на те, що розрахунок необхідної кількості кислоти важко прорахувати, доцільно обрати в якості елюента етиловий спирт.

Відомо кілька способів очистки екстрактів. З цією метою застосовують фільтрування, центрифугування, осадження, екстракцію та ряд фізико-хімічних методів.

З огляду на те, що очистка, в даному випадку, виступає як проміжна стадія в процесі багатоступінчатої екстракції, обрано фільтрацію.

Фільтрування застосовують для очистки витяжок від механічних забруднень (дрібних часточок біологічного матеріалу).

Найголовнішим критерієм при виборі типу фільтрувальної установки – можливість застосування вибухонебезпечних речовин.

За цим принципом було обрано фільтр-сепаратор. Суспензія подається в фільтр через вхідний патрубок, розміщений на корпусі зверху. При вході в фільтр під дією сили тяжіння і інерції найбільші частки потрапляють у відстійник. Рідина продовжує стікати далі, зверху вниз, і проходить через фільтроелемент, який утримує в собі дрібні тверді частинки, що залишилися. У підсумку, екстракт надходить з фільтра з вихідного патрубка, а віддалені від нього тверді частинки виводяться з зливного патрубка [75].

Для максимального виділення стрептотрицинового комплексу, проводять багатоступінчасту протиточну екстракцію. Відомо, що під впливом етилового

спирту та інших органічних розчинників, які змішуються з водою, відбувається денатурація білків. При добавлянні етилового спирту до біологічного матеріалу знижується ступінь гідратації білкових речовин, зменшується їх розчинність, тобто буде відбуватися додаткове очищення продукту від баластних речовин. Саме тому на цій стадії буде використовуватися в якості розчинника етиловий спирт [71]. Найбільш доцільне використання 3-4 ступенів. Менша кількість не дасть бажаного результату, більша – буде економічно недоцільною.

### **Протитечійний екстрактор**

Багатоступенева протитечійна екстракція застосовується при необхідності глибокого вилучення компонента з суміші. Дозволяє в порівнянні з іншими схемами знизити витрату екстрагента, отримати більш насичений екстракт.

Здійснюють багатоступеневу протитечійну екстракцію в каскаді змушувачів-відстійників, або в протитечійних колонах екстракторів [76].

Апарат складається з 3 перколяторів (дифузоров), насосів, клапанів, фільтрів, трубопроводів і шафи управління (або системи управління на комп'ютері).

Залежно від технологічних вимог виробництва, кожен перколятор може виробляти екстракцію як окремо, так і в складі всієї батареї перколяторів в режимі протитечійної реперколяції. Крім того, кожен перколятор може виробляти примусову циркуляцію екстрагента в при постійній температурі.

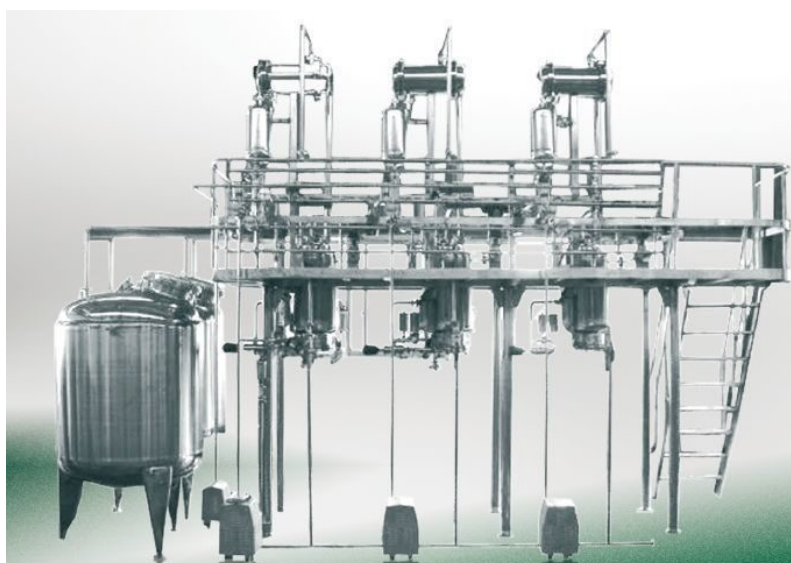
Робота апарату може управлятися в ручному і в автоматичному режимі.

В автоматичному режимі можуть встановлюватися і контролюватися такі параметри як:

- час і кількість екстрагента при циркуляції,
- температура нагріваючої води;
- тривалість, тиск і температура екстракції;
- час роботи мішалок;
- вимір концентрації та інших параметрів.

Опціонально апарат комплектується системою сигналізації, принтером, ємностями зберігання екстрагента, екстракту й іншими товарами.

Країна виробник Китай [77].



*Рис. 5.10* Протитечійний екстрактор [77].

Вміст спирту в екстрагенті може варіюватися у межах 50-75% [6].

Отриманий екстракт буде містити 3,5-4,5% стрептотрицинового комплексу. Але для надання йому готової форми, необхідно ввести до нього додаткові речовини.

Для надання препарату більш стійких показників, в отриманий екстракт, що містить 3,5-4,5% стрептотрицинового комплексу, вносяться: консервант, ПАР та інші формоутворюючі речовини.

В якості консерванту застосуємо пропілпарабен, так як він має виражену протигрибкову дію, що буде подовжувати термін зберігання та підсилювати дію препарату [6]. Це пропіловий ефір п-оксибензойної кислоти. У природі входить до складу значної кількості рослин і деяких комах. Але виготовляється хімічним способом. Дві основні галузі, де застосовують цей ефір: харчопром (добавка до їжі E216) і виробництво косметики, Пероральне і парентеральне введення не провокує токсичних впливів. Тобто ця речовина не несе токсичної небезпеки у разі потрапляння в організм людини [78].

В якості ПАР – рекомендований згідно патенту триетиленгліколь [15]. Було обрано саме цю речовину адже вона регулює в'язкість та має здатність до піногасіння [79]. Це водорозчинна речовина, що не взаємодіє з кислотами,

етиленовим спиртом, гліколями та ефірами. Мало токсична. В деяких випадках використовується як екстрагент. Окрім пластифікуючих має вологоутримуючі та дезінфікуючі властивості [80].

В якості формоутворюючого компонента – хітозан. Адже це речовина, що регулює ріст рослин. Ця здатність пояснюється тим, що при розкладанні його утворюється легко засвоюваний азот, що знаходиться в безпосередній близькості від об'єкту впливу. При обробці пагонів та кореневищ буде формуватися потужна коренева система, збільшуватиметься кількість зерен і т.д.. При цьому хітозан стимулює стійкість до стресових ситуацій (заморозки, посуха, зайва волога і т.п.). Важливим є також і те, що хітозан є хорошим плівкоутворювачем. Ця властивість хітозану посилюється тим, що плівка має оптимальну вологоутримуючу здатність при 6 ° С і нижче, а також володіє селективними властивостями щодо O<sub>2</sub> і CO<sub>2</sub>, вона є перешкодою для проникнення патогенів [81].

Склад кінцевого продукту в рідкій формі можна навести у вигляді таблиці.

*Таблиця 5.14*

**Склад рідкої форми препарату**

№	Назва речовини	Кількість (%)
1	Стрепторициновий комплекс	3,5-4,5
2	Триетиленгліколь	5,0-10,0
3	Пропілпарабен	0,5-1,0
4	Хітозан	0,2-0,4
5	Етиловий спирт	0-75,0
6	Вода	Все інше

## РОЗДІЛ 6. Матеріальний баланс та розрахунок обладнання

Згідно ТЕО потреба у фітолаівні у вигляді сухого стрептотрицинового комплексу складає  $G_{нд} = 8400$  кг/рік з концентрацією біомаси 10мг/мл. За умовами замовика цю кількість антибіотика треба виробити за  $T_{рд} = 300$  днів. За даними [5] максимальний синтез біомаси ( $P_{кр} = 10$  г/л за 60 год) досягається за умов росту штаму *S. griseus* 420 на середовищі наступного складу (г/л):  $C_1$  - Борошно кукурудзяне – 30,0;  $C_2$  - Меляса – 20,0;  $C_3$  - Лізин – 0,1;  $C_4$  -  $(NH_4)_2SO_4$  – 6,0;  $C_5$  -  $KH_2PO_4$  – 0,1;  $C_6$  - NaCl – 0,5;  $C_7$  -  $MgSO_4$  – 0,05;  $C_8$  -  $CaCO_3$  – 5,0;  $C_9$  - Пропінол – 1,0. Всього  $C_{\Sigma\phi} = 62,75$  г/л. Посівний матеріал вирощують на поживному середовищі наступного складу (г/л):  $C_1$  - Борошно кукурудзяне – 30,0;  $C_2$  -  $(NH_4)_2SO_4$  – 6,0;  $C_3$  -  $KH_2PO_4$  – 0,3;  $C_4$  - NaCl – 2,0;  $C_5$  -  $MgSO_4$  – 0,5;  $C_6$  -  $CaCO_3$  – 5,0. Всього  $C_{\Sigma\phi} = 43,8$  г/л.

Відповідно до нормативно-технічної документації вміст сухих речовин в готовому продукті  $CP_{гп}$  має складати не менше 94%.

Для подальших розрахунків приймаємо наступні початкові дані:

Час циклу роботи ферментера  $T_{цф} = T_{ф} + T_{по} = 60 + 10 = 70$  год, де  $T_{по}$  – час підготовчих операцій (див. Розділ 1);

Коефіцієнт запасу (втрати культуральної рідини або посівного матеріалу від нестерильних операцій 1,1 – 1,5)  $K_1 = 1,1$ ;

Коефіцієнт заповнення ферментера, приймаємо  $K_{зп} = 0,6$ ;

Коефіцієнт заповнення посівного апарату,  $K_{па} = 0,6$ ;

Коефіцієнт заповнення інокулятора,  $K_{ін} = 0,6$ ;

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

Сумарні втрати при виділенні готового продукту,  $E_{св} = 0,18$ ;

Сумарні втрати активності при виділенні,  $E_a = 0$ ;

Кількість посівного матеріалу для виробничих ферментерів,  $X_{\phi} = 0,05$ ;

НУХТ БТЕК 04.02.39 ДП ПЗ													
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата									
Розроб.		Балицька О.Ю.											
Керівник		Тетеріна С.М											
Реценз.													
Н. Контр.													
Затверд.		Пирог Т.П.											
<table border="1" style="display: inline-table; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 10%; padding: 2px;">Літ.</td> <td style="width: 10%; padding: 2px;">Арк.</td> <td style="width: 10%; padding: 2px;">Акрушів</td> </tr> <tr> <td style="padding: 2px;"></td> <td style="padding: 2px;"></td> <td style="padding: 2px;"></td> </tr> <tr> <td colspan="3" style="text-align: center; padding: 5px;">Кафедра БТМ</td> </tr> </table>					Літ.	Арк.	Акрушів				Кафедра БТМ		
Літ.	Арк.	Акрушів											
Кафедра БТМ													

Кількість посівного матеріалу для посівних апаратів,  $X_{па} = 0,05$ ;

Кількість посівного матеріалу для інокуляторів,  $X_{ін} = 0,05$

Кількість посівного матеріалу для качалочних колб,  $X_{кол} = 0,05$ ;

Втрати культуральної рідини при біосинтезі,  $E_{ф} = 0,1$ ;

Втрати посівного матеріалу під час культивування в посівних апаратах,  $E_{па} = 0,1$ ;

Втрати посівного матеріалу під час культивування в інокуляторах,  $E_{ін} = 0,1$ ;

Втрати посівного матеріалу під час культивування в колбах,  $E_{кол} = 0,01$ .

Розрахунок партій продукту (виробничих циклів):

Кількість продукту на добу,  $G_{нтд} = G_{нт} / T_{рд} = 8400 / 300 = 28$  кг/добу.

Кількість антибіотика за цикл,  $G_{цк} = G_{нтд} * T_{цф} / 24 = 28 * 70 / 24 = 81,7$  кг/цикл.

Кількість абсолютно сухого антибіотика, кг /цикл,  $G_{цкф} = G_{цк} * CP_{гп} = 81,7 / 0,9 = 74$ .

Кількість одиниць активності антибіотика, що знаходяться в в кг з за цикл, од. Ак/цикл,  $A_{цкы} = A_{ст} \cdot 10^3 \cdot G_{цкф} / (1 - E_a) = 300000 \cdot 10^3 \cdot 74 / (1 - 0) = 2,2 \cdot 10^{10}$ .

Об'єм КР, що зливається за одну ферментацію (циклу) з урахуванням втрат за робочий цикл ( $E_{св}$ ),  $V_{кр} = K_1 * A_{цкы} / A_{ст} (1 - E_a) = 1,1 * 2,2 * 10^{10} / 300000 = 896,3$  л.

Кількість циклів на рік  $N_{цик} = G_{нт} / G_{цк} = 8400 / 82 = 102,9$ . Округлюємо кількість циклів до цілого  $N_{цик} = 103$ .

Вихід продукту з 1 м<sup>3</sup> культуральної рідини, л/м<sup>3</sup>,  $q_{ац} = G_{цк} * 1000 / V_{кр} = 82 * 1000 / 896,3 = 91,48$ .

Розрахунок об'ємів поживного середовища та посівного матеріалу для виробничого біосинтезу:

*Об'єм готового поживного середовища та посівного матеріалу*

у ферментері з урахуванням втрат при біосинтезі,  $E_{ф} = 0,1$  складає

$V_{ф} = V_{кр} / (1 - E_{ф}) = 896,3 / (1 - 0,1) = 995,8 = 996$  л.

Об'єм готового поживного середовища для ферментера

$V_{псф} = V_{ф} / (1 + X_{ф}) = 996 / (1 + 0,05) = 948,5$  л.

Витрати посівного матеріалу на засів виробничого ферментера

$V_{пм} = V_{ф} - V_{псф} = 996 - 948,5 = 46,5$  л.

При вибраному коефіцієнті заповнення ферментера  $K_{зп} = 0,6$ , приблизний геометричний об'єм ферментера складатиме :

$$V = V_{\phi} / K_{зп} = 996 / 0,6 = 1660 = 1,66 \text{ м}^3$$

Зі стандартних ферментерів обираємо з геометричним об'ємом на  $2,00 \text{ м}^3$

*Визначення кількості стадій вирощування посівного матеріалу*

Оскільки кількість ПМ становить  $X_{\phi} = X_1 = X_{\text{колб}} = 5\%$  від кількості поживного середовища визначаємо кількість ПМ для інших стадій. Приблизна кількість ПМ для інших стадій становитиме:

Посівний матеріал інокулятора об'ємом  $V_{ін} = 0,10 \text{ м}^3$ :

$$V_{ін} = V_{пм} / K_{зп} = 46,5 / 0,6 = 78,3 \text{ л.}$$

Обираємо інокулятор на  $0,10 \text{ м}^3$ .

ПМ з інокулятора на  $0,10 \text{ м}^3$

Посівний матеріал інокулятора об'ємом  $V_{ін} = 0,01 \text{ м}^3$ :

$$V_{пін1} = V_{пм} * X_{ін} = 78,3 * 0,05 = 3,9 \text{ л.}$$

$$V_{ін} = V_{пін1} / K_{зп} = 3,9 / 0,6 = 6,5.$$

Обираємо інокулятор на  $0,01 \text{ м}^3$

ПМ з качалочних колб:

$$V_{пмк} = V_{пін1} * X_{ін} = 3,9 * 0,05 = 0,195 \text{ л}$$

$$N_{\text{колб}} = V_{пмк} / V_{\text{колб}} / K_{зп\text{колб}} = 0,195 / 0,75 / 0,2 = 1,3 = 2 \text{ колби}$$

Отже, маємо 3 ступеневу стадію отримання ПМ.

*Приготування та стерилізація поживного середовища для виробничого біосинтезу у ферментері об'ємом  $2,0 \text{ м}^3$*

У відповідності з прийнятим складом поживного середовища для виробничого біосинтезу загальні витрати компонентів на визначений об'єм поживного середовища  $V_{псф}$  складуть:

$$G_{\phi} = V_{псф} * C_{\Sigma \phi} = 0,949 * 62,75 = 59,5 \text{ кг, в тому числі:}$$

$$\text{Борошно кукурудзяне} \quad G_1 = G_{\phi} * C_1 / C_{\Sigma \phi} = 59,5 * 30 / 62,75 = 28,44$$

$$\text{Меляса} \quad G_2 = G_{\phi} * C_2 / C_{\Sigma \phi} = 59,5 * 20 / 62,75 = 18,96$$

$$\text{Лізин} \quad G_3 = G_{\phi} * C_3 / C_{\Sigma \phi} = 59,5 * 0,1 / 62,75 = 0,09$$

$$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 \quad G_4 = G_{\phi} * C_4 / C_{\Sigma \phi} = 59,5 * 6 / 62,75 = 5,68$$

$$\text{KH}_2\text{PO}_4 \quad G_5 = G_{\text{ф}} * C_5 / C_{\Sigma \text{ф}} = 59,5 * 0,1 / 62,75 = 0,09$$

$$\text{NaCl} \quad G_6 = G_{\text{ф}} * C_6 / C_{\Sigma \text{ф}} = 59,5 * 0,5 / 62,75 = 0,47$$

$$\text{MgSO}_4 \quad G_7 = G_{\text{ф}} * C_7 / C_{\Sigma \text{ф}} = 59,5 * 0,05 / 62,75 = 0,04$$

$$\text{CaCO}_3 \quad G_8 = G_{\text{ф}} * C_8 / C_{\Sigma \text{ф}} = 59,5 * 5 / 62,75 = 4,74$$

$$\text{Пропінол} \quad G_9 = G_{\text{ф}} * C_9 / C_{\Sigma \text{ф}} = 59,5 * 1 / 62,75 = 0,94$$

Розрахунок кількості води для приготування поживного середовища для виробничого ферментера:

Кількість води визначають за наступною формулою

$$V_{\text{вф}} = V_{\text{пф}} - G_{\text{ф}} - V_{\text{фк}}$$

Де,  $V_{\text{фк}} = V_{\text{пф}} - K_{\text{кон}}$  – розбавлення виробничого поживного середовища конденсатом пари при його стерилізації;

$K_{\text{кон}}$  – частка конденсату у загальній кількості воді, що йде на приготування поживного середовища.

Залежно від способу та обладнання, яке використують для стерилізації компонентів поживного середовища, величина  $K_{\text{кон}}$  може складати:

- У разі стерилізації у колбах в автоклаві  $K_{\text{кон}} = 0$ ;
- У разі стерилізації компонентів безпосередньо у реакторі-змішувачі або безпосередньо у ферментері  $K_{\text{кон}} = 0,1-0,15$
- У разі стерилізації компонентів в УБС  $K_{\text{кон}} = 0,2$

Оскільки об'єм поживного середовища у ферментері складає  $V_{\text{пф}} = 0,949 \text{ м}^3$ , приймаємо рішення що до стерилізації за допомогою збірників та реактора ферментера.

Оскільки розчин пропінолу не потребує стерилізації, його не було внесено до таблиці, а його об'єм був віднятий від загального об'єму поживного середовища. Пропінол не потребує стерилізації але необхідно його розрахувати для уникнення неточності.

$$\text{Тоді кількість конденсату становитиме } V_{\text{фк}} = V_{\text{пф}} * K_{\text{кон}} = 0,949 * 0,1 = 0,0949 \text{ л.}$$

Кількість води необхідної для розбавлення компонентів поживного середовища буде:

$$V_{\text{вф}} = V_{\text{псф}} - G_{\text{ф}} - V_{\text{фк}} = 949 - 59,5 - 94,7 = 794,8 \text{ л.}$$

Дану кількість води необхідно розподілити між трьома композиціями:

Композиція А: Розраховуємо кількість води покомпонентно, л:

$$\text{Борошно кукурудзяне } V_{1\text{в}} = V_{\text{вф}}(C_1 / C_{\Sigma\text{ф}}) = 794,8 * (30 / 62,75) = 379,98$$

Композиція В: Розраховуємо кількість води покомпонентно, л:

$$\text{Меляса } V_{2\text{в}} = V_{\text{вф}}(C_2 / C_{\Sigma\text{ф}}) = 794,8 * (20 / 62,75) = 253,32$$

$$\text{Лізин } V_{3\text{в}} = V_{\text{вф}}(C_3 / C_{\Sigma\text{ф}}) = 794,8 * (0,1 / 62,75) = 1,26$$

Всього: 254,58 л води

Композиція С: Розраховуємо кількість води покомпонентно, л:

$$\text{KH}_2\text{PO}_4 \quad V_{4\text{в}} = V_{\text{вф}}(C_4 / C_{\Sigma\text{ф}}) = 794,8 * (0,1 / 62,75) = 1,26$$

$$\text{NaCl} \quad V_{5\text{в}} = V_{\text{вф}}(C_5 / C_{\Sigma\text{ф}}) = 794,8 * (0,5 / 62,75) = 6,33$$

$$\text{(NH}_4\text{)}_2\text{SO}_4 \quad V_{6\text{в}} = V_{\text{вф}}(C_6 / C_{\Sigma\text{ф}}) = 794,8 * (6 / 62,75) = 75,9$$

$$\text{MgSO}_4 \quad V_{7\text{в}} = V_{\text{вф}}(C_7 / C_{\Sigma\text{ф}}) = 794,8 * (0,05 / 62,75) = 0,63$$

Композиція D: Розраховуємо кількість води покомпонентно, л:

$$\text{CaCO}_3 \quad V_{8\text{в}} = V_{\text{вф}}(C_8 / C_{\Sigma\text{ф}}) = 794,8 * (5 / 62,75) = 63,33$$

Всього: 147,45 л води

Композиція Е: Розраховуємо кількість води покомпонентно, л:

$$\text{Пропінол } V_{9\text{в}} = V_{\text{вф}}(C_9 / C_{\Sigma\text{ф}}) = 794,8 * (1 / 62,75) = 12,66$$

Враховуючи той факт, що пропіл не треба стерилізувати та враховуючи особливості при стерилізації композиції В розподіл води по композиціям буде змінено.

Формування композицій А,Б,С, наведено у таблиці 6.15

**Композиції для стерилізації поживного середовища для ферментера на 2 м<sup>3</sup>**

Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	К-ть для приготування 0,949 м <sup>3</sup> середовища, кг (л)	Композиція	Об'єм композиції, V, л
Борошно кукурудзяне	30	28,44	А	408,42
Вода		379,98		
Меяса	20	18,96	В	57
Лізін	0,1	0,09		
Вода		38,1		
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0,1	0,09	С	316
NaCl	0,5	0,47		
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	6	5,68		
MgSO <sub>4</sub>	0,05	0,04		
Вода		94		
CaCO <sub>3</sub>	5	4,74	D	68,07
Вода		63,33		
Пропінол	1	0,94	E	13,6
HCl	0,06	2	F	2,3
Вода		0,3		
Конденсат		94,9		94,9
Разом		949		949

**Примітка.** Оскільки борошно потребує попередньої підготовки (заварювання) воно готується у вигляді окремої композиції.

*Приготування та стерилізація поживного середовища для виробничого біосинтезу у ферментері об'ємом 0,1 м<sup>3</sup>*

Кількість ПС та ПМ в інокуляторі становить:

$$V_{\text{ін}} = V_{\text{пін}} / (1 - E_{\text{ф}}) = 47 / (1 - 0,1) = 52,2 \text{ л.}$$

Об'єм готового поживного середовища для інокулятора

$$V_{\text{псін}} = V_{\text{ін}} / (1 + X_{\text{ф}}) = 52,2 / (1 + 0,05) = 49,7 = 50 \text{ л.}$$

Витрати посівного матеріалу на засів інокулятора

$$V_{\text{пмін}} = V_{\text{ін}} - V_{\text{пін}} = 52,2 - 50 = 2,2 \text{ л.}$$

Розрахунок кількості компонентів ПС для ферментера:

У відповідності з прийнятим складом поживного середовища загальні витрати компонентів на визначений об'єм поживного середовища  $V_{\text{пін}}$  складуть:

$$G_{\text{ін}} = V_{\text{пін}} * C_{\Sigma\phi} = 50 * 43,8 = 2190 \text{ г} = 2,190 \text{ кг, в тому числі:}$$

$$\text{Борошно кукурудзяне } G_1 = G_{\phi} * C_1 / C_{\Sigma\phi} = 2190 * 30 / 43,8 = 1500$$

$$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 \quad G_2 = G_{\phi} * C_2 / C_{\Sigma\phi} = 2190 * 6 / 43,8 = 300$$

$$\text{KH}_2\text{PO}_4 \quad G_3 = G_{\phi} * C_3 / C_{\Sigma\phi} = 2190 * 0,3 / 43,8 = 15$$

$$\text{NaCl} \quad G_4 = G_{\phi} * C_4 / C_{\Sigma\phi} = 2190 * 2 / 43,8 = 100$$

$$\text{MgSO}_4 \quad G_5 = G_{\phi} * C_5 / C_{\Sigma\phi} = 2190 * 0,5 / 43,8 = 25$$

$$\text{CaCO}_3 \quad G_6 = G_{\phi} * C_6 / C_{\Sigma\phi} = 2190 * 5 / 43,8 = 250$$

$$\text{Кількість конденсату становитиме } V_{\text{інк}} = V_{\text{пін}} * K_{\text{кон}} = 50 * 0,2 = 10 \text{ л.}$$

Кількість води необхідної для розбавлення компонентів поживного середовища буде:

$$V_{\text{вф}} = V_{\text{пін}} - G_{\text{ін}} - V_{\text{інк}} = 50 - 2,190 - 10 = 37,81 = 37810 \text{ мл.}$$

Дану кількість води необхідно розподілити між трьома композиціями:

Композиція А: Розраховуємо кількість води покомпонентно, мл:

$$\text{Борошно кукурудзяне } V_{1\text{в}} = V_{\text{в}}(C_1 / C_{\Sigma\phi}) = 37810 * (30 / 43,8) = 25897,26$$

Композиція В: Розраховуємо кількість води покомпонентно, мл:

$$\text{KH}_2\text{PO}_4 \quad V_{2\text{в}} = V_{\text{в}}(C_2 / C_{\Sigma\phi}) = 37810 * (0,3 / 43,8) = 258,97$$

Композиція С: Розраховуємо кількість води покомпонентно, мл:

$$\text{NaCl} \quad V_{3\text{в}} = V_{\text{в}}(C_3 / C_{\Sigma\phi}) = 37810 * (2 / 43,8) = 1726,48$$

$$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 \quad V_{4\text{в}} = V_{\text{в}}(C_4 / C_{\Sigma\phi}) = 37810 * (6 / 43,8) = 5179,45$$

$$\text{MgSO}_4 \quad V_{5\text{в}} = V_{\text{в}}(C_5 / C_{\Sigma\phi}) = 37810 * (0,5 / 43,8) = 431,62$$

Композиція D: Розраховуємо кількість води покомпонентно, мл:

$$\text{CaCO}_3 \quad V_{6\text{в}} = V_{\text{в}}(C_6 / C_{\Sigma\phi}) = 37810 * (5 / 43,8) = 4316,21$$

Всього: 11912,7 мл води

Формування композицій А,Б наведено у таблиці 6.16

**Композиції для стерилізації поживного середовища для вирощування  
ПМ в інокуляторі об'ємом 0,1м<sup>3</sup>**

Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	К-ть для приготування 50 л середовища, г (мл)	Композиція	Об'єм композиції, V, мл
Борошно кукурудзяне	30	1500	А	27397
Вода		25897,26		
КН <sub>2</sub> РО <sub>4</sub>	0,3	15	В	275
Вода		260		
NaCl	2	100	С	7762
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	6	300		
MgSO <sub>4</sub>	0,5	25		
Вода		7336		
CaCO <sub>3</sub>	5	250	D	4566
Вода		4316		
Конденсат		10000		10000
Разом		50000		50000

*Приготування та стерилізація поживного середовища для виробничого біосинтезу у ферментері об'ємом 0,01 м<sup>3</sup>*

Кількість ПС та ПМ в інокуляторі становить:

$$V_{\text{ін}} = V_{\text{пін}} / (1 - E_{\text{ф}}) = 3,9 / (1 - 0,1) = 4,3 \text{ л.}$$

Об'єм готового поживного середовища для інокулятора

$$V_{\text{псін}} = V_{\text{ін}} / (1 + X_{\text{ф}}) = 4,3 / (1 + 0,05) = 4,09 \text{ л.}$$

Витрати посівного матеріалу на засів інокулятора

$$V_{\text{пмін}} = V_{\text{ін}} - V_{\text{пін}} = 4,3 - 4,09 = 0,2 \text{ л.}$$

Розрахунок кількості компонентів ПС для ферментера:

У відповідності з прийнятим складом поживного середовища загальні витрати компонентів на визначений об'єм поживного середовища  $V_{\text{псін}}$  складуть:

$$G_{\text{ін}} = V_{\text{псін}} * C_{\Sigma \text{ф}} = 4,09 * 43,8 = 179 \text{ г} = 0,17 \text{ кг, в тому числі:}$$

$$\text{Борошно кукурудзяне} \quad G_1 = G_{\text{ф}} * C_1 / C_{\Sigma \text{ф}} = 179 * 30 / 43,8 = 122,6$$

$$(NH_4)_2SO_4 \quad G_2 = G_{\text{ф}} * C_2 / C_{\Sigma \text{ф}} = 179 * 6 / 43,8 = 24,52$$

$$KN_2PO_4 \quad G_3 = G_{\text{ф}} * C_3 / C_{\Sigma \text{ф}} = 179 * 0,3 / 43,8 = 1,22$$

NaCl	$G_4 = G_{\phi} * C_4 / C_{\Sigma\phi} = 179 * 2 / 43,8 = 8,17$
MgSO4	$G_5 = G_{\phi} * C_5 / C_{\Sigma\phi} = 179 * 0,5 / 43,8 = 2,04$
CaCO3	$G_6 = G_{\phi} * C_6 / C_{\Sigma\phi} = 179 * 5 / 43,8 = 20,43$

Кількість конденсату становитиме  $V_{\text{інк}} = V_{\text{пін}} * K_{\text{кон}} = 4,09 * 0,2 = 0,818$  л.

Кількість води необхідної для розбавлення компонентів поживного середовища буде:

$$V_{\text{вф}} = V_{\text{пін}} - G_{\text{ін}} - V_{\text{ін}} = 4090 - 179 - 818 = 3093 \text{ мл} = 3,093 \text{ л.}$$

Дану кількість води необхідно розподілити між двома композиціями:

Композиція А: Розраховуємо кількість води покомпонентно, мл:

$$\text{Борошно кукурудзяне } V_{1\text{в}} = V_{\text{в}}(C_1 / C_{\Sigma\phi}) = 3093 * (30 / 43,8) = 2118,49$$

Композиція Б: Розраховуємо кількість води покомпонентно, мл:

$$\text{KH}_2\text{PO}_4 \text{ } V_{2\text{в}} = V_{\text{в}}(C_2 / C_{\Sigma\phi}) = 3093 * (0,3 / 43,8) = 40,6$$

Композиція С: Розраховуємо кількість води покомпонентно, мл:

$$\text{NaCl } V_{3\text{в}} = V_{\text{в}}(C_3 / C_{\Sigma\phi}) = 3093 * (2 / 43,8) = 141,23$$

$$\text{(NH}_4\text{)}_2\text{SO}_4 \text{ } V_{4\text{в}} = V_{\text{в}}(C_4 / C_{\Sigma\phi}) = 3093 * (6 / 43,8) = 423,69$$

$$\text{MgSO}_4 \text{ } V_{5\text{в}} = V_{\text{в}}(C_5 / C_{\Sigma\phi}) = 3093 * (0,5 / 43,8) = 35,3$$

$$\text{CaCO}_3 \text{ } V_{6\text{в}} = V_{\text{в}}(C_6 / C_{\Sigma\phi}) = 3093 * (5 / 43,8) = 353,08$$

Всього: 952,82 мл води

Формування композицій А,Б наведено у таблиці 6.17

**Композиції для стерилізації поживного середовища для вирощування  
ПМ в інокуляторі об'ємом 0,01м<sup>3</sup>**

Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	К-ть для приготування середовища, (мл)	Композиція	Об'єм композиції, V, л
Борошно кукурудзяне	30	122,6	А	2241
Вода		2118,49		
КН <sub>2</sub> РО <sub>4</sub>	0,3	1,22	Б	65,12
Вода		40,6		
NaCl	2	8,17		1049
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	6	24,52		
MgSO <sub>4</sub>	0,5	2,04		
CaCO <sub>3</sub>	5	20,43		
Вода		952,82		
Конденсат		818		818
Разом		4090		4090

*Приготування та стерилізація поживного середовища для вирощування інокуляту у колбах на качалці*

Кількість ПС та ПМ становить:

$$V_{\text{колб}} = V_{\text{пін}} / (1 - E_{\text{кол}}) = 195 / (1 - 0,01) = 197 \text{ мл.}$$

Об'єм готового поживного середовища

$$V_{\text{псколб}} = V_{\text{колб}} / (1 + X_{\text{ф}}) = 197 / (1 + 0,05) = 187,6 \text{ мл.}$$

Витрати посівного матеріалу на засів інокулятора

$$V_{\text{пмколб}} = V_{\text{колб}} - V_{\text{псколб}} = 197 - 187,6 = 9,3 \text{ мл.}$$

Розрахунок кількості компонентів ПС:

У відповідності з прийнятим складом поживного середовища загальні витрати компонентів на визначений об'єм поживного середовища  $V_{\text{колб}}$  складуть:

$$G_{\text{колб}} = V_{\text{псколб}} * C_{\Sigma \text{ф}} = 188 * 43,8 = 8,25 \text{ г, в тому числі:}$$

$$\text{Борошно кукурудзяне } G_1 = G_{\text{колб}} * C_1 / C_{\Sigma \text{ф}} = 8,25 * 30 / 43,8 = 5,65$$

$$(NH_4)_2SO_4 \quad G_2 = G_{\text{колб}} * C_2 / C_{\Sigma \text{ф}} = 8,25 * 6 / 43,8 = 1,13$$

$$KN_2PO_4 \quad G_3 = G_{\text{колб}} * C_3 / C_{\Sigma \text{ф}} = 8,25 * 0,3 / 43,8 = 0,05$$

$$\text{NaCl} \quad G_4 = G_{\text{колб}} * C_4 / C_{\Sigma \phi} = 8,25 * 2 / 43,8 = 0,37$$

$$\text{MgSO}_4 \quad G_5 = G_{\text{колб}} * C_5 / C_{\Sigma \phi} = 8,25 * 0,5 / 43,8 = 0,09$$

$$\text{CaCO}_3 \quad G_6 = G_{\text{колб}} * C_6 / C_{\Sigma \phi} = 8,25 * 5 / 43,8 = 0,94$$

Конденсат при стерилізації ПС в колбах в автоклаві не утворюватиметься

Кількість води необхідної для розбавлення компонентів поживного середовища буде:

$$V_{\text{вколб}} = V_{\text{пколб}} - G_{\text{колб}} = 188 - 8,25 = 179,75 \text{ мл.}$$

Дану кількість води необхідно розподілити між трьома композиціями:

Композиція А: Розраховуємо кількість води покомпонентно, л:

$$\text{Борошно кукурудзяне } V_{1в} = V_{\text{в}}(C_1 / C_{\Sigma \phi}) = 179,75 * (30 / 43,8) = 123,11$$

Так як при стерилізації у колбах ми можемо самостійно обирати об'єми води на кожну композицію:

Композиція Б: 29,19 мл

Композиція С: 30 мл

Формування композицій А,Б,С наведено у таблиці 6.18

*Таблиця 6.18*

**Композиції для стерилізації поживного середовища для вирощування ПМ в колбах на качалці**

Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	К-ть для приготування 188 мл середовища, г (мл)	Композиція	Об'єм композиції, V, мл
Борошно кукурудзяне	30	5,65	А	128,76
Вода		123,11		
КН <sub>2</sub> РО <sub>4</sub>	0,3	1,13	Б	30,32
Вода		29,19		
NaCl	2	0,05	С	30,6
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	6	0,37		
MgSO <sub>4</sub>	0,5	0,09		
CaCO <sub>3</sub>	5	0,94		
Вода		30		
Разом		188		188

## 6.1 Розрахунок матеріального балансу

Таблиця 6.19

### Матеріальний баланс на один цикл виробничого біосинтезу

№ з/п	Використано		Отримано	
	Назва сировини і напівпродукту	Кількість, кг, дм <sup>3</sup>	Назва кінцевого продукту, відходів та втрат	Кількість, кг, дм <sup>3</sup>
1	2	3	4	5
1.	ПРИГОТУВАННЯ ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА ДЛЯ ВИРОЩУВАННЯ ІНОКУЛЯТУ В КОЛБАХ НА КАЧАЛКАХ (мл,г)			
1.1	Борошно кукурудзяне	5,65	Нестерильне ПС	188
1.2	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1,13		
1.3	NaCl	0,05		
1.4	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0,37		
1.5	MgSO <sub>4</sub>	0,09		
1.6	CaCO <sub>3</sub>	0,94		
1.7	Вода	179,7		
1.8	Всього	188	Всього	188
2.	СТЕРИЛІЗАЦІЯ ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА В АВТОКЛАВІ (мл)			
2.1	Нестерильне ПС	188	Стерильне ПС	188
2.2	Всього	188	Всього	188
3	ОТРИМАННЯ ПОСІВНОГО МАТЕРІАЛУ ПІД ЧАС КУЛЬТИВУВАННЯ В КОЛБАХ НА КАЧАЛКАХ (мл)			
3.1	Стерильне ПС	187,6	Посівний матеріал	188
3.2	Посівний матеріал	9,3		
3.3	Всього	197	Всього	197
4	ПРИГОТУВАННЯ ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА ДЛЯ ІНОКУЛЯТОРА на 0,01 м <sup>3</sup> (г, мл)			
4.1	Борошно кукурудзяне	122,6	Нестерильне ПС	3272
4.2	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	24,52		

4.3	NaCl	1,22		
4.4	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	8,17		
4.5	MgSO <sub>4</sub>	2,04		
4.6	CaCO <sub>3</sub>	20,43		
4.7	Вода	3093		
4.8	Всього	3272	Всього	3093
5	СТЕРИЛІЗАЦІЯ ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА ДЛЯ ІНОКУЛЯТОРА на 0,01 м <sup>3</sup> (г, мл)			
5.1	Нестерильне ПС	3272	Стерильне ПС	4090
5.2	Конденсат	818	(втрат немає)	0,0
5.3	Всього	4090	Всього	4090
6	ОТРИМАННЯ ПОСІВНОГО МАТЕРІАЛУ В ІНОКУЛЯТОРІ на 0,01 м <sup>3</sup> (г, мл)			
6.1	Стерильне ПС	4090	ПМ	4090
6.2	ПМ з колб на качалках	197		
6.3	Втрати (частка)	0,1	Втрати (кількість)	409
6.4	Всього	4278	Всього	4278
7	ПРИГОТУВАННЯ ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА ДЛЯ ІНОКУЛЯТОРА на 0,1 м <sup>3</sup> (г, мл)			
7.1	Борошно кукурудзяне	1500	Нестерильне ПС	40000
7.2	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	300		
7.3	NaCl	15		
7.4	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	100		
7.5	MgSO <sub>4</sub>	25		
7.6	CaCO <sub>3</sub>	250		
7.7	Вода	37810		
7.8	Всього	40000	Всього	40000
8	СТЕРИЛІЗАЦІЯ ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА ДЛЯ ІНОКУЛЯТОРА на 0,1 м <sup>3</sup> (г, мл)			

8.1	Нестерильне ПС	40000	Стерильне ПС	50000
8.2	Конденсат	10000	(втрат немає)	0,0
8.3	Всього	50000	Всього	50000
9	ОТРИМАННЯ ПОСІВНОГО МАТЕРІАЛУ В ІНОКУЛЯТОРІ на 0,1 м <sup>3</sup> (г, мл)			
9.1	Стерильне ПС	50000	ПМ	50000
9.2	ПМ з інокулятору на 0,001 м <sup>3</sup>	4090		
9.3	Втрати (частка)	0,1	Втрати (кількість)	500
9.4	Всього	9090	Всього	9090
10	ПРИГОТУВАННЯ ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА ДЛЯ ІНОКУЛЯТОРА на 2 м <sup>3</sup> (кг, л)			
10.1	Борошно кукурудзяне	28,44	Нестерильне ПС	854,3
10.2	Меляса	18,96		
10.3	Лізін	0,09		
10.4	КН <sub>2</sub> РО <sub>4</sub>	0,09		
10.5	NaCl	0,47		
10.6	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	5,68		
10.7	MgSO <sub>4</sub>	0,04		
10.8	CaCO <sub>3</sub>	4,74		
10.9	Пропінол	0,94		
10.10	Вода	794,8		
10.11	Всього	854,3	Всього	854,3
11	СТЕРИЛІЗАЦІЯ ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА ДЛЯ ІНОКУЛЯТОРА на 2 м <sup>3</sup> (кг, л)			
11.1	Нестерильне ПС	854	Стерильне ПС	949
11.2	Конденсат	95	(втрат немає)	0,0
11.3	Всього	949	Всього	949
12	ОТРИМАННЯ ПОСІВНОГО МАТЕРІАЛУ В ІНОКУЛЯТОРІ на 16 м <sup>3</sup> (кг, л)			

12.1	Стерильне ПС	949	Культуральна рідина	999
12.2	ПМ з інокулятора на 0,1 м <sup>3</sup>	50		
12.3	Втрати (частка)	0,1	Втрати (кількість)	94,9
12.4	Всього	999	Всього	999

## 6.2 Розрахунок технологічного обладнання

### *Розрахунок кількості робочих ферментерів*

Приблизний загальний об'єм ферментерів при заданому  $K_{зп} = 0,6$

$$V_{фг} = V_{ф} / K_{зп} = 996 / 0,6 = 1,66 \text{ м}^3 = 1660 \text{ л.}$$

Обираємо з таблиці (додаток 4) найближчий за об'ємом ферментер, м<sup>3</sup>

$$V_{фг} = 2,00 \text{ м}^3$$

Кількість виробничих ферментерів при заданому  $K_{зп}$ , од.

$$N_{фр} = V_{фг} / V_{фг} = 1,66 / 2 = 0,83 - \text{приймаємо } 1$$

Уточнюємо коефіцієнт заповнення вибраних з таблиці ферментерів, частка

$$K_{зф} = V_{ф} / V_{фг} * N_{фр} = 0,996 / 2 * 1 = 0,49$$

Приймаємо до установки  $N_{фр} + 1$  запасний.

### *Розрахунок кількості посівних апаратів для отримання інокуляту на 0,1 м<sup>3</sup>*

Приблизний загальний об'єм посівного апарата при заданому  $K_{зп} = 0,6$

$$V_{пг} = V_{па} / K_{зп} = 47 / 0,6 = 78 \text{ л}$$

Обираємо з таблиці (додаток 4) найближчий за об'ємом апарат, м<sup>3</sup>

$$V_{пг} = 0,1 \text{ м}^3.$$

Кількість виробничих ферментерів при заданому  $K_{зп}$ , од.

$$N_{пар} = V_{пг} / V_{пг} = 78 / 100 = 0,78 - \text{приймаємо за } 1$$

Уточнюємо коефіцієнт заповнення вибраних з таблиці ферментерів, частка

$$K_{зф} = V_{па} / V_{пг} * N_{пар} = 47 / 100 * 1 = 0,47$$

Приймаємо до установки  $N_{пар} + 1$  запасний.

### *Розрахунок кількості посівних апаратів для отримання інокуляту на 0,001 м<sup>3</sup>*

Приблизний загальний об'єм посівного апарата при заданому  $K_{зп} = 0,6$

$$V_{пг} = V_{па} / K_{зп} = 3,9 / 0,6 = 6,5 \text{ л}$$

Обираємо з таблиці (додаток 4) найближчий за об'ємом апарат, м<sup>3</sup>

$$V_{\text{пт}} = 0,001 \text{ м}^3.$$

Кількість виробничих ферментерів при заданому  $K_{\text{зп}}$ , од.

$$N_{\text{пар}} = V_{\text{пт}} / V_{\text{пт}} = 6,5/10 = 0,65 - \text{приймаємо за } 1$$

Уточнюємо коефіцієнт заповнення вибраних з таблиці ферментерів, частка

$$K_{\text{зф}} = V_{\text{па}} / V_{\text{пт}} * N_{\text{пар}} = 3,9/10 * 1 = 0,39$$

Приймаємо до установки  $N_{\text{пар}} + 1$  запасний.

*Розрахунок кількості качалочних колб*

Приблизний загальний необхідний об'єм качалочних колб при заданому

$$K_{\text{колб}} = 0,2$$

$$V_{\text{колг}} = V_{\text{кол}} / K_{\text{кол}} = 0,195/0,2 = 0,975$$

Об'єм 1 качалочної колби

$$V_{\text{колт}} = 0,750 \text{ л}$$

Кількість качалочних колб при заданому  $K_{\text{колб}}$

$$N_{\text{колб}} = V_{\text{колг}} / V_{\text{колт}} = 0,975 / 0,75 = 1,3$$

### **6.3 Розрахунок кількості реакторів-змішувачів для приготування та стерилізації поживного середовища**

*Уточнюючий розрахунок кількості реакторів-змішувачів для приготування середовища для виробничого біосинтезу в ферментері об'ємом  $2 \text{ м}^3$*

Композицію С з внесенням композиції F (HCl) стерилізують в реакторі ферментера. Потім вносять окремо приготовані і простерилізовані композиції А, В, D. Композиція F стерилізації не потребує і вноситься одразу у ферментер.

Підбираємо геометричний об'єм реактора-змішувача для композиції А.

Приблизний геометричний об'єм реактора-змішувача при заданому  $K_{\text{зб}} = 0,7$ :

$$V_{\text{Б1Г}} = V_{\text{БГ}} / K_{\text{зб}} = 273,58/0,7 = 583,4 \text{ л}$$

Обираємо найближчий за номінальним об'ємом реактор-змішувач:  $V_{\text{нр}} = 0,63 \text{ м}^3$ .

Кількість реакторів при заданому  $K_{\text{зб}}$

$$N_{\text{р}} = V_{\text{Б1Г}} / V_{\text{нр}} = 583,4/630 = 0,9 - \text{приймаємо за } 1.$$

Уточнюємо коефіцієнт заповнення

$$K_{зр} = V_{БГ} / V_{нр} * N_p = 273,58 / 630 * 1 = 0,4$$

Приймаємо до установки кількість реакторів для приготування композиції А  
 $N_p = 1 + 1 \text{ запасний} = 2$  .

Підбираємо геометричний об'єм реактора-змішувача для композиції В.  
Приблизний геометричний об'єм реактора-змішувача при заданому  $K_{зб} = 0,7$ :

$$V_{БГ} = V_{БГ} / K_{зб} = 57 / 0,7 = 81,4$$

Обираємо найближчий за номінальним об'ємом реактор-змішувач:  $V_{нр} = 0,1$   
 $\text{м}^3$ .

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

$$N_p = V_{БГ} / V_{нр} = 81,4 / 100 = 0,8 \text{ – приймаємо за } 1$$

Уточнюємо коефіцієнт заповнення реактора:

$$K_{зр} = V_{БГ} / V_{нр} * N_p = 57 / 100 * 1 = 0,6$$

Приймаємо до установки кількість реакторів для приготування композиції Б  
 $N_p = 1 + 1 \text{ запасний} = 2$  .

Після приготування композиція В стерилізується в реакторі, а потім передається в інокулятор.

Під час приготування до композиції С додається розчин HCL 0,6 % у розрахунку 2 мл на 1 л, тобто 2 л.

Підбираємо геометричний об'єм реактора-змішувача для композиції С.  
Приблизний геометричний об'єм реактора-змішувача при заданому  $K_{зб} = 0,7$ :

$$V_{БГ} = V_{БГ} / K_{зб} = 316 / 0,7 = 451,4 \text{ л}$$

Обираємо найближчий за номінальним об'ємом реактор-змішувач:  $V_{нр} = 0,5$   
 $\text{м}^3$ .

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

$$N_p = V_{БГ} / V_{нр} = 451,4 / 500 = 0,9 \text{ – приймаємо за } 1$$

Уточнюємо коефіцієнт заповнення реактора:

$$K_{зр} = V_{БГ} / V_{нр} * N_p = 316 / 500 * 1 = 0,6$$

Приймаємо до установки кількість реакторів для приготування композиції Б  
 $N_p = 1 + 1 \text{ запасний} = 2$  .

Після приготування композиція С потім передається в інокулятор.

Підбираємо геометричний об'єм реактора-змішувача для композиції D.  
Приблизний геометричний об'єм реактора-змішувача при заданому  $K_{36} = 0,7$ :

$$V_{Б1Г} = V_{БГ}/K_{36} = 68/0,7 = 97 \text{ л}$$

Обираємо найближчий за номінальним об'ємом реактор-змішувач:  $V_{нр} = 0,1 \text{ м}^3$ .

Кількість реакторів при заданому  $K_{36}$  становить:

$$N_p = V_{Б1Г}/V_{нр} = 97/100 = 0,9 \text{ – приймаємо за } 1$$

Уточнюємо коефіцієнт заповнення реактора:

$$K_{зр} = V_{БГ}/V_{нр} * N_p = 68/100 * 1 = 0,6$$

Приймаємо до установки кількість реакторів для приготування композиції D  
 $N_p = 1 + 1 \text{ запасний} = 2$ .

Після приготування композиція D передається в інокулятор.

Підбираємо геометричний об'єм реактора-змішувача для композиції F.  
Приблизний геометричний об'єм реактора-змішувача при заданому  $K_{36} = 0,7$ :

$$V_{Б1Г} = V_{БГ}/K_{36} = 2,3/0,7 = 3,2 \text{ л}$$

Обираємо найближчий за номінальним об'ємом реактор-змішувач:  $V_{нр} = 5 \text{ л}$ .

Кількість реакторів при заданому  $K_{36}$  становить:

$$N_p = V_{Б1Г}/V_{нр} = 3,2/5 = 0,6 \text{ – приймаємо за } 1$$

Уточнюємо коефіцієнт заповнення реактора:

$$K_{зр} = V_{БГ}/V_{нр} * N_p = 2,3/5 * 1 = 0,5$$

Приймаємо до установки кількість реакторів для приготування композиції Б  
 $N_p = 1 + 1 \text{ запасний} = 2$ .

*Уточнюючий розрахунок кількості реакторів-змішувачів для приготування середовища для посівного апарату об'ємом  $0,1 \text{ м}^3$*

Підбираємо геометричний об'єм реактора-змішувача для композиції А.  
Приблизний геометричний об'єм реактора-змішувача при заданому  $K_{36} = 0,7$ :

$$V_{Б1Г} = V_{БГ}/K_{36} = 27,39/0,7 = 39 \text{ л}$$

Обираємо найближчий за номінальним об'ємом реактор-змішувач:  $V_{нр} = 0,04 \text{ м}^3$ .

Кількість реакторів при заданому  $K_{36}$

$$N_p = V_{\text{БГ}} / V_{\text{нр}} = 39/40 = 0,9 - \text{приймаємо за 1.}$$

Уточнюємо коефіцієнт заповнення

$$K_{\text{зр}} = V_{\text{БГ}} / V_{\text{нр}} * N_p = 27,39/40 * 1 = 0,6$$

Приймаємо до установки кількість реакторів для приготування композиції А

$$N_p = 1 + 1 \text{ запасний} = 2 .$$

Після заварювання та стерилізації композиція А передається до інокулятора.

Підбираємо геометричний об'єм реактора-змішувача для композиції С.

Приблизний геометричний об'єм реактора-змішувача при заданому  $K_{\text{зб}} = 0,7$ :

$$V_{\text{БГ}} = V_{\text{БГ}} / K_{\text{зб}} = 7,76/0,7 = 11 \text{ л}$$

Обираємо найближчий за номінальним об'ємом реактор-змішувач:  $V_{\text{нр}} = 0,02 \text{ м}^3$ .

Кількість реакторів при заданому  $K_{\text{зб}}$

$$N_p = V_{\text{БГ}} / V_{\text{нр}} = 11/20 = 0,6 - \text{приймаємо за 1.}$$

Уточнюємо коефіцієнт заповнення

$$K_{\text{зр}} = V_{\text{БГ}} / V_{\text{нр}} * N_p = 7,76/20 * 1 = 0,4$$

Приймаємо до установки кількість реакторів для приготування композиції С

$$N_p = 1 + 1 \text{ запасний} = 2 .$$

Підбираємо геометричний об'єм реактора-змішувача для композиції D.

Приблизний геометричний об'єм реактора-змішувача при заданому  $K_{\text{зб}} = 0,7$ :

$$V_{\text{БГ}} = V_{\text{БГ}} / K_{\text{зб}} = 4,56/0,7 = 6,5 \text{ л}$$

Обираємо найближчий за номінальним об'ємом реактор-змішувач:  $V_{\text{нр}} = 0,01 \text{ м}^3$ .

Кількість реакторів при заданому  $K_{\text{зб}}$

$$N_p = V_{\text{БГ}} / V_{\text{нр}} = 6,5/10 = 0,6 - \text{приймаємо за 1.}$$

Уточнюємо коефіцієнт заповнення

$$K_{\text{зр}} = V_{\text{БГ}} / V_{\text{нр}} * N_p = 4,5/10 * 1 = 0,4$$

Приймаємо до установки кількість реакторів для приготування композиції D

$$N_p = 1 + 1 \text{ запасний} = 2 .$$

*Уточнюючий розрахунок кількості реакторів-змішувачів для приготування середовища для посівного апарату об'ємом  $0,01 \text{ м}^3$*

Для приготування стерильного поживного середовища для інокулятору об'ємом 0,01 м<sup>3</sup> композиції А, Б і С готуються і стерилізуються в колбах.

## РОЗДІЛ 7. Специфікація обладнання

Специфікація обладнання ділянки біосинтезу та виділення фітобактеріоміцину нведено нижче у таблиці 7.20

Таблиця 7.20

Позиція	Найменування	Кількість	Технічна характеристика (виробник)
C-1	СП-мийка	1	<p>MES-CIP-5</p> <p>Двоконтурна система мийки для невеликих цехів, ємнісного і дозуючого обладнання, блоків розливу. Продуктивність - 5 м<sup>3</sup> / год.</p> <p>Тиск - 4 bar. Трубопроводи і клапани виконані з нержавіючої сталі AISI316, ємності з нержавіючої сталі AISI304 з внутрішнім поліруванням швів, дві ємності без теплоізоляції 500 л.</p> <p>Виробник Росія, «Membrane Engineering Systems» [82]</p>
H-2 H-5	Відцентровий насос	2	<p>Відцентровий насос Salvatore robuschi серії RG</p> <p>Нержавіюча сталь AISI 316 SS - (CF8M)</p> <p>Максимальна продуктивність 300 м<sup>3</sup>/год;</p> <p>Максимальний напір 140 метрів водяного стовпа;</p> <p>Максимальний тиск 16 бар.</p> <p>Виробник Італія, «Salvatore Robuschi» [83]</p>

НУХТ БТЕК 04.02.39 ДП ПЗ					
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата	
Розроб.		Балицька О.Ю.			
Керівник		Етерьна С.М			
Реценз.					
Н. Контр.					
Затверд.		Пирог Т.П.			
			Літ.	Арк.	Акрушів
			Кафедра БТМ		

Д-3 Д-16 Д-21 Д-25 Д-28 Д-30 Д-32 Д-35 Д-42 Д-51	Об'ємно-ваговий дозатор	10	<p>Дозатор складається з вантажопідйомного пристрою, виготовленого з харчової нержавіючої сталі, встановленого на тензодатчики. Бункер обладнаний впускним і випускним кранами з пневмоприводами і датчиками положення. Сам бункер закріплений на каркасі. Управління дозатором здійснюється з пульта керування в автоматичному або ручному режимі. Дозатор підраховує сумарну кількість продукту і може передати цю інформацію на комп'ютер або на програмований логічний контролер.</p> <p>Точність зважування -0,1%;</p> <p>Продуктивність – 5 - 50 кг/год;</p> <p>Виробник Україна, НВП «Техноваги» [84]</p>
Р-4	Збірник для миючо-дезінфікуючого розчину	1	<p>Збірник об'ємом 200 л. Робочий тиск в корпусі - 3,0 бар. Максимальна температура в корпусі - 130 С, матеріал корпусу і кришки н / ж 316 L AISI, інші - сталь 304 AISI. Запобіжний клапан, розрахований на тиск - 2,8 бар, швидкість перемішування 100 об/хв. Виробник Україна, «Промвіт» [85]</p>
Ф-6	Фільтр грубої очистки	1	<p>Магістральний антипиловий фільтр грубого очищення стисненого повітря від частинок розміром до 10 мікрон.</p> <p>Пропускна здатність фільтра - 1170 л/хв</p> <p>Розмір пори фільтруючого елемента фільтра - 10 мкм.</p> <p>Керамічний матеріал катриджу.</p> <p>Виробник Італія «ОМІ» [86]</p>

ПЗ-7	Повітрозабірник	1	Обладнений металевою сіткою для видалення механічних забруднень Виробник Україна, «КБ Технофільтр» [87]
К-8	Компресор	1	Компресор GX7 Робочий тиск, бар 7,5/10/13; Продуктивність, л/хв 1180/960/770; Потужність двигуна, кВт / к.с.7/10. Виробник Швейцарія, «AtlasCopco» [88]
Т-9	Теплообмінник охолоджувач	1	Круглий каналний водяний охолоджувач SALDA AVA 100 Охолоджувачі AVA конструктивно представляють собою мідні трубки з насадженими на них алюмінієвими пластинами. Корпус охолоджувача виготовлений з оцинкованої бляхи. Повітряохолоджувач має систему дренажу конденсату. Розрахунок і підбір нагрівачів і охолоджувачів проводиться виходячи з необхідних параметрів за допомогою спеціалізованої комп'ютерної програми підбору "Heaters / coolers" Виробник Україна, «Ventbazar» [89].
Р-10	Ресивер	1	У комплект поставки входять: манометр; запобіжний клапан; кран зливу конденсату; форма дна – еліптична; Граничний робочий тиск -10 бар Номінальна місткість - 0,05 м <sup>3</sup> Спосіб установки горизонтальний / вертикальний Виробник Україна «КМС» [90].

Т-11	Теплообмінник нагрівач	1	<p>Нагрівач каналний водяний ВЕНТС НКВ 500Х300-4</p> <p>Корпус водяного нагрівача для круглих повітроводів зроблений з оцинкованої листової сталі. У середині встановлені трубні колектори з мідних трубок, поверхня теплообміну забезпечують насаджені на них алюмінієві пластини. Герметичність з'єднань нагрівачів з повітроводами гарантують гумові ущільнювачі. Розраховані на експлуатацію при максимальній робочій температурі води + 100 ° С і максимальному робочому тиску в 1,6 МПа (16 бар). Водяний нагрівач забезпечений ніпелем для обезповітрявання системи.</p> <p>Витрата повітря, м куб. / Год - 2350</p> <p>Перепад тиску повітря, Па – 125</p> <p>Виробник Україна, «Ventbazar» [91]</p>
Ф-12	Фільтр головний	1	<p>Фільтр повітряний касетний AEROSTAR SFB 70-40</p> <p>Фільтри касетні AEROSTAR SFB призначені для очищення оброблюваного повітряного потоку, що проходить по воздуховодам, від твердих і волокнистих часток. Діапазон робочих температур повітря: від -40 ° до + 70 ° С.</p> <p>Корпус фільтра касетного SFB зроблений з оцинкованої листової сталі. У змінних фільтруючих вставках застосовуються фільтруючі матеріали класів очищення F5 (EU5).</p> <p>Виробник Україна, «Ventbazar»[92]</p>

ЗК-13	Засівний колба	1	Загальний об'єм до 5 л. Нержавіюча сталь Виробник Китай [93]
Ф-14 Ф-23 Ф-37	Індивідуальний фільтр	3	Фільтр тонкого очищення повітря Клас очищення: EN 779: Н10-Н14 Фільтроматеріал: мікростекловолокно Рамка: МДФ, алюмінієвий, оцинкований, нержавіючий профіль Виробник Україна, «КБ Технофільтр» [94]
ІН-15	Інокулятор	1	Інокулятор об'ємом 10 л, вироблений з харчової сталі. Комплектується датчиками рН, температури, перемішуючим пристроєм, швидкість перемішування 100 об/хв. Виробник Росія, «Віогус»[95]
Р-17	Реактор змішувач	1	Реактор об'ємом 40 л, вироблений з харчової сталі. Комплектується датчиками рН, температури, перемішуючим пристроєм, швидкість перемішування 100 об/хв. Виробник Росія, «Віогус»[95]
Н-18 Н-27 Н-34 Н-40 Н-45 Н-47 Н-49	Гвинтовий насос		Продуктивність до 260 м <sup>3</sup> / год Максимальний тиск 30 бар, Нержавіюча сталь AISI 316 SS - (CF8M) Виробник Італія, «Salvatore Robuschi» [96]

P-20	Реактор змішувач	1	Реактор об'ємом 20 л, вироблений з харчової сталі. Комплектується комплектуватися датчиками рН, температури, перемішуючим пристроєм, швидкість перемішування 100 об/хв. Виробник Росія, «Віогус»[95]
P-22	Реактор змішувач	1	Реактор об'ємом 10 л, вироблений з харчової сталі. Комплектується комплектуватися датчиками рН, температури, перемішуючим пристроєм, швидкість перемішування 100 об/хв. Виробник Росія, «Віогус»[95]
ІН24	Інокулятор	1	Інокулятор об'ємом 50 л, вироблений з харчової сталі. Комплектується комплектуватися датчиками рН, температури, перемішуючим пристроєм, швидкість перемішування 100 об/хв. Виробник Росія, «Віогус» [95]
P-26	Реактор змішувач	1	Реактор об'ємом 630 л, вироблений з харчової сталі. Комплектується комплектуватися датчиками рН, температури, перемішуючим пристроєм, швидкість перемішування 100 об/хв. Зовнішні розміри (Д*Ш*В*) (мм)1470*1120*1780 Виробник Україна, «Промвіт»[57]
P-26	Реактор змішувач	1	Реактор об'ємом 630 л, вироблений з харчової сталі. Комплектується комплектуватися датчиками рН, температури, перемішуючим пристроєм, швидкість перемішування 100 об/хв. Виробник Росія, «Віогус»[95]

P-29	Реактор змішувач	1	Реактор об'ємом 500 л, вироблений з харчової сталі. Комплектується комплектуватися датчиками рН, температури, перемішуючим пристроєм, швидкість перемішування 100 об/хв. Виробник Росія, «Віогус»[95]
P-31 P-33	Реактор змішувач	2	Реактор об'ємом 100 л, вироблений з харчової сталі. Комплектується комплектуватися датчиками рН, температури, перемішуючим пристроєм, швидкість перемішування 100 об/хв. Виробник Росія, «Віогус»[95]
P-36	Реактор змішувач	1	Реактор об'ємом 5 л, вироблений з харчової сталі. Комплектується комплектуватися датчиками рН, температури, перемішуючим пристроєм, швидкість перемішування 100 об/хв. Виробник Росія, «Віогус»[95]
Фр-39	Ферментер	1	Реактор об'ємом 2м <sup>3</sup> , вироблений з харчової сталі. Комплектується комплектуватися датчиками рН, температури, перемішуючим пристроєм, швидкість перемішування 100 об/хв. Зовнішні розміри (Д*Ш*В*) (мм)1500*2950*32 Виробник Росія, «Віогус»[56]
Pз 41	Реактор змішувач	1	Реактор об'ємом 2 л, з сорочкою вироблено з харчової сталі. Комплектується комплектуватися вагами, датчиками рН, температури, системою термостатування, перемішуючим пристроєм, швидкість перемішування 100 об/хв. Виробник Росія, «Віогус»[95]

Рз - 43, Рз - 54	Реактор змішувач	2	Реактор об'ємом 250 л, вироблений з харчової сталі. Комплектується комплектуватися датчиками рН, температури, перемішуючим пристроєм, швидкість перемішування 100 об/хв. Виробник Росія, «Віогус»[95]
Рз - 44	Реактор змішувач	1	Реактор об'ємом 1200 л, вироблений з харчової сталі. Комплектується комплектуватися датчиками рН, температури, перемішуючим пристроєм, швидкість перемішування 100 об/хв. Виробник Росія, «Віогус»[95]
ВВУ - 46	Вакуум- випарна установка	1	Вакуум - випарна установка герметична, циліндрична з нержавіючої харчової сталі, оснащена пристроєм, з приводом, теплової сорочкою з теплоносієм. Розрядження створюється за допомогою вакуум-насоса. На пульті управління знаходяться пускачі пристроями, терморегулятор з індикацією значення температури продукту, пускачі ТЕНів (При електропідігріву). Розрядження в вакуум випарної установці контролюється за допомогою вакуумметра. Передбачена можливість регулювання тиску в апараті. Продуктивність по кінцевому продукту, (л / год) до 100. Виробник Росія, «Агромаш» [97]
Рз - 48	Реактор змішувач	1	Реактор об'ємом 450 л, вироблений з харчової сталі. Комплектується комплектуватися датчиками рН, температури, перемішуючим пристроєм, швидкість перемішування 100 об/хв. Виробник Росія, «Віогус»[ 95]

РСШ - 50	Розпилююча сушарка	1	<p>Розпилююча сушарка відцентрового типу. Частота обертання розпилюючого диска, 12000 об. / Хв. Діаметр розпилюючого диска, 270 мм. Виготовлено з харчової сталі.</p> <p>Зовнішні розміри (Д*Ш*В*) (мм) 1256*1150*2080</p> <p>Виробник Україна, «Техно-т» [98]</p>
Ек - 52	Екстрактор протиточний триступеневий	1	<p>Апарат складається з 3 перколяторів (дифузорів), насосів, клапанів, трубопроводів і шафи управління (або системи управління на комп'ютері).</p> <p>Робота апарату може управлятися в ручному і в автоматичному режимі.</p> <p>В автоматичному режимі можуть встановлюватися і контролюватися такі параметри як час і кількість екстрагента при циркуляції, температура нагріваючої води; тривалість, тиск і температура екстракції; час роботи мішалок; вимір концентрації та інших параметрів.</p> <p>Виробник КНР, «СБН-ИМПЭКС» [99].</p>
Р - 53	Реактор змішувач	1	<p>Реактор об'ємом 7 л, вироблений з харчової сталі. Комплектується вагами. Виробник Росія, «Biorus» [95].</p>

ДР - 55	Дозатор рідин	1	<p>Дозатор рідин і паст призначений для дозування об'ємним способом рідин та інших текучих речовин в будь-яку готову тару або упаковку. Працює в напівавтоматичному режимі і вимагає від оператора установки тари, подачі команди на початок дозування, і забору заповненої тари (має 2 режими: "Ручн" - видача дози при натисненні педалі, "Авто" - видача дози послідовно). Об'єм тари для рідини (речовини), л – довільний. Межі дозування (обсяг дози), л - довільний.</p> <p>Зовнішні розміри (Д*Ш*В*) (мм) 500*500*1600</p> <p>Виробник Україна, «ЧП Нова-Пак» [100]</p>
ПМ - 56	Пакувальна машина	1	<p>Формуватель коробів використовується для автоматичного формування коробок із картону.</p> <p>Зовнішні розміри (Д*Ш*В*) (мм) 3000*1100*2100</p> <p>Виробник Китай, «Hualian»[101]</p>

## РОЗДІЛ 8. Опис технологічної схеми

Технологічна схема біосинтезу та отримання препарату на основі фітолавіну включає допоміжні роботи (санітарна підготовка, підготовка повітря, титрувальних розчинів, підготовка допоміжних розчинів, підготовка і стерилізація поживних середовищ) та технологічний процес (підготовка посівного матеріалу і біосинтез, отримання концентрату, пакування, маркування та вивантаження).

Технологічну схему біосинтезу та виділення фітолавіну наведено у графічній частині проекту.

### **ДР.1 Санітарна підготовка виробництва**

#### ***ДР1.1 Підготовка миючо-дезінфікуючих засобів***

##### *ДР1.1.1 Підготовка робочого розчину для миття обладнання*

Для обробки ємнісної апаратури, інокуляторів, ферментера необхідно підготувати розчин Пимолу 5%. Для його приготування у реактор змішувач (Р4), об'ємом 200л через об'ємно-ваговий дозатор (ДЗ) вносять 17,25 л концентрованого розчину, додають 327,75 л водопровідної води та вмикають перемішуючий пристрій на 5 хв.

##### *ДР 1.1.2 Приготування робочих розчинів для миття приміщення*

##### *ДР 1.1.2.1 Приготування робочого розчину Фан (Санімаксу)*

Для щоденної і генеральної обробки приміщень необхідно підготувати 2% розчин Фану. Для його приготування у реактор змішувач (Р7), об'ємом 200 л через об'ємно-ваговий дозатор вносять 0,05 л концентрованого розчину, додають 53,14 л водопровідної води та вмикають перемішуючий пристрій на 5 хв.

#### ***ДР1.2 Підготовка виробничих приміщень***

##### *ДР1.2.1 Щоденне прибирання приміщень*

Щоденне прибирання, а саме миття підлоги проводять щоденно, вологим способом. Для цього використовують миючо-дезінфікуючий засіб згідно графіку

					НУХТ БТЕК 04.02.39 ДП ПЗ		
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата	Літ.	Арк.	Акрушів
Розроб.		Балицька О.Ю.					
Керівник		Етерьна С.М					
Реценз.					Кафедра БТМ		
Н. Контр.							
Затверд.		Пирог Т.П.					

зміни засобів для попередження утворення резистентності мікроорганізмів.

Для контролю чистоти приміщення проводять мікробіологічний аналіз завислих частинок та змиви поверхонь ( $KУО < 800/см^2$ ). Отримані результати вносять в реєстраційний журнал.

#### *ДР1.2.2. Генеральне прибирання приміщень*

Генеральне прибирання проводять раз на місяць, використовуючи миючо-дезінфікуючий засіб згідно графіку зміни засобів для попередження утворення резистентності мікроорганізмів. Для контролю чистоти приміщення проводять мікробіологічний аналіз завислих частинок та змиви поверхонь ( $KУО < 800/см^2$ ). Отримані результати вносять в реєстраційний журнал.

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

#### *ДР 1.3.1 Миття та ополіскування ферментаційного обладнання*

Миття та ополіскування обладнання здійснюють після кожного циклу вручну. За допомогою СП мийки обробляють апарати Р16, Р19, Р22, ІН33, ФР35. Апарати Р25, Р28, ІН31 миють вручну. Кількість рідини, що використовується СП мийкою дорівнює 20% від об'єму апаратів і 10% при митті в ручну. Операція проводиться при  $t = 45^{\circ}C$ . Використана вода подається до установки знешкодження рідких відходів ЗВ7.2. Загальний час на обробку становить близько 1 год.

#### *ДР 1.3.2 Технічний огляд*

Після миття та ополіскування здійснюють візуальний огляд з метою виявлення не ущільнень та пошкоджень в комунікації. У разі їх знаходження, усувають шляхом підтягування різьбових з'єднань.

#### *ДР 1.3.3 Перевірка обладнання на герметичність*

Закривають усю запірну арматуру ємнісного обладнання і подають аераційне повітря до рівня надлишкового тиску  $P = 0,1-0,2$  МПа. Далі перекривають вентиль подачі повітря і фіксують показання манометра на кришці апарата та час витримки (30-60 хв) в операційному журналі. Апарат вважається герметичним, якщо падіння тиску не перевищує 0,01 МПа. В іншому випадку здійснюють пошук неущільнень за допомогою галогенових течіпошукачів.

В апарат вносять невелику кількість легкої галогенвмісної речовини (чотирихлористий карбон –  $CCl_4$ ), знову закривають усю запірну арматуру. Апарат нагрівають до температури 80 °С і збільшують тиск до 0,2 МПа. Пари галогенвмісної речовини проникають через неущільнення і виявляються у разі наближення щупа течієпошукача до них. Тривалість операції – 1,5-2 год. У разі виявлення неущільнень здійснюють їх ліквідацію – підтягують різьбове з'єднання або міняють ущільнюючу прокладку.

#### *ДР 1.3.4 Стерилізація ферментаційного обладнання*

Попередньо підігрівають апарат глухою парою до 80-90°С. Далі відкривають всю запірну арматуру, відкривають доступ до відведення пари. Подають гостру пару, за 130-135°С перекривають запірну арматуру крім парової, витримують заданий час при тиску 0,28-0,3 МПа. Після заданого часу припиняється подача пари, апарат охолоджують одночасно подаючи стерильне повітря. Процес припиняється за температури 30-40°С і надлишкового тиску 0,003-0,005 МПа.

#### *ДР 1.4 Підготовка персоналу*

##### *ДР 1.4.1 Навчання персоналу*

Весь персонал, включно з людьми, зайнятими складанням і технічним обслуговуванням, має проходити систематичне навчання щодо правильного виробництва продукції в асептичних умовах, гігієни і основ мікробіології.

##### *ДР 1.4.2 Санітарно-гігієнічна підготовка персоналу*

Весь персонал, включно з людьми, зайнятими складанням і технічним обслуговуванням, має проходити систематичне медичне обстеження. Весь персонал, що заходить у виробниче приміщення мусить мати відповідний змінний одяг. Для миття рук, персонал використовує туалетне мило, для дезінфекції – стериліум.

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

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

Забір атмосферного повітря. Здійснюється на висоті близько 30 м за допомогою вертикальної труби з повітрязбірником.

##### *ДР 2.2 Грубе очищення повітря*

Грубе очищення. Здійснюється для очищення від пилу за допомогою тканинних фільтрів грубого очищення ( $\delta > 50$  мкм). Видаляється до 90% завислих частинок.

### ***ДР 2.3 Стиснення повітря***

Здійснюється в компресорах, при цьому відбувається нагрів до 120-200°C, створюється тиск 0,35–0,5 МПа.

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

Здійснюється за допомогою теплообмінників, при цьому утворюється конденсат, температура зменшується до 18 - 20°C. Видалення вологи здійснюється за допомогою ресивера до 60%, при цьому значно зменшується пульсація руху повітря.

### ***ДР 2.5 Стабілізація термодинамічних показників***

Повітрю надають сталих показників (температура 20-30°C).

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

Ступінь очистки 95%.

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

Від попередньо описаних стадій по трубопроводу повітря подається на індивідуальні фільтри, що встановлено при апаратах. При цьому повітря очищають до ступеня очищення Е 99,99%.

## **ДР 3. Приготування допоміжних розчинів**

### ***ДР 3.1 Приготування 6% HCl для підкислення поживних середовищ***

Для сумісної стерилізації розчинів солей для поживних середовищ на 949 л необхідно приготувати 2 л 6%-го розчину HCl. Необхідна кількість компонентів для приготування наведена в табл. 8.21

**Розрахунок кількості компонентів для приготування 6% HCl**

Об'єм титрованого розчину, л	Об'єм необхідної кількості 6% HCl, л	Кількість 37% HCl для приготування титрувального розчину, мл	Кількість води для приготування розчину, мл
949	1,9	300	1600

Мірним циліндром відміряємо 300 мл 37 % розчину HCl, 1600 мл водопровідної води і вносимо у реактор змішувач (P36) об'ємом 5 л.

**ДР 3.2 Приготування 6% HCl для підкислення культуральної рідини**

Для створення захисту від інактивації активних речовин при дії високих температур необхідно підкислити культуральну рідину. З розрахунку 2 мл титранту на 1 л культуральної рідини, кількість 6% HCl буде 1,3 л. Необхідна кількість компонентів для приготування наведена в табл. 8.22

**Розрахунок кількості компонентів для приготування 6% HCl**

Об'єм титрованого розчину, л	Об'єм необхідної кількості 6% HCl, л	Кількість 37% HCl для приготування титрувального розчину, мл	Кількість води для приготування розчину, мл
944	1,3	210	1090

Мірним циліндром відміряємо 210 мл 37 % розчину HCl та 1090 мл водопровідної води і вносимо у реактор змішувач (P341) об'ємом 2 л. Вмикаємо перемішувач на 5 хв.

**ДР 3.3 Приготування 60% етилового спирту**

Для проведення багатоступінчатої екстрації в якості екстрагента використовують етиловий спирт у концентрації 60%.

Необхідна кількість компонентів для приготування наведена в табл. 8.23

**Розрахунок кількості компонентів для приготування 60% розчину  
етилового спирту**

Об'єм необхідної кількості 60% етилового спирту, л	Кількість 96% спирту, л	Кількість води для приготування розчину, л
169	106	63

Через об'ємно-ваговий дозатор відміряємо 60 л водопровідної води та 106 л етилового спирту, вносимо у реактор змішувач (P343) об'ємом 250 л. Вмикаємо перемішувач на 5 хв.

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

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

**Розрахунок компонентів для приготування поживного середовища на 188 мл**

Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	К-ть для приготування 188 мл середовища, г (мл)	Композиція	Об'єм композиції, V, мл
Борошно кукурудзяне	30	5,65	A	128,76
Вода		123,11		
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0,3	1,13	B	30,32
Вода		29,19		
NaCl	2	0,05	C	30,6
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	6	0,37		
MgSO <sub>4</sub>	0,5	0,09		
CaCO <sub>3</sub>	5	0,94		
Вода		30		
Разом		188		188

*ДР 4.1.1 Приготування та стерилізація композиції А*

На аналітичні ваги ставимо мірний посуд, таруємо відміряємо борошно кукурудзяне 5,65 г, мірним циліндром відміряємо 123,11 мл води. Вносимо у колбу об'ємом 250 мл, закриваємо ватно-марлевою пробкою. Ставимо у термостат при температурі 80°C заварюємо протягом 15-20 хв. Отриману масу

стерилізуємо в автоклаві при 115°C (0,05МПа) впродовж 25 хв. Простерилізовану композицію відправляємо до ТП5.3.

*ДР 4.1.2 Приготування та стерилізація композиції В*

На аналітичні ваги ставимо мірний посуд, таруємо відміряємо 1,13 г  $\text{KН}_2\text{PО}_4$ . Вносимо у колбу об'ємом 250 мл. Відміряємо мірним циліндром і вносимо 29 мл води. Колбу закриваємо ватно-марлевою пробкою та стерилізуємо в автоклаві при 131°C (0,15МПа) впродовж 40 хв. Простерилізовану композицію відправляємо до ТП5.3.

*ДР 4.1.3 Приготування та стерилізація композиції С*

На аналітичні ваги ставимо мірний посуд, таруємо відміряємо: 0,37 г  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ; 0,09 г  $\text{MgSO}_4$ ; 0,94 г  $\text{CaCO}_3$ ; 0,05г  $\text{NaCl}$ . Вносимо у колбу об'ємом 250 мл. Відміряємо мірним циліндром і вносимо 30 мл води. Закриваємо ватно-марлевою пробкою та стерилізуємо в автоклаві при 131°C (0,15МПа) впродовж 40 хв. Простерилізовану композицію відправляємо до ТП5.3.

***ДР 4.2 Приготування та стерилізація поживного середовища для вирощування інокуляту у апараті об'ємом 0,01 м<sup>3</sup>***

Таблиця 8.25

**Розрахунок компонентів для приготування поживного середовища на 4,09 л**

Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	К-ть для приготування 4,09 л середовища, г (мл)	Композиція	Об'єм композиції, V, л
Борошно кукурудзяне	30	122,6	А	2241
Вода		2118,49		
$\text{KН}_2\text{PО}_4$	0,3	1,22	В	65,12
Вода		40,6		
$\text{NaCl}$	2	8,17	С	1049
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	6	24,52		
$\text{MgSO}_4$	0,5	2,04		
$\text{CaCO}_3$	5	20,43		
Вода		952,82		
Конденсат		818		818
Разом		4090		4090

#### *ДР 4.2.1 Приготування та стерилізація композиції А*

На аналітичні ваги ставимо мірний посуд, таруємо відміряємо 122,6 г кукурудзяного борошна, відміряємо мірним циліндром 2241 мл води. Вносимо у колбу об'ємом 3 л. Ставимо у термостат при температурі 80°C заварюємо протягом 15-20 хв. Отриману масу стерилізуємо в автоклаві при 115°C (0,05МПа) впродовж 25 хв. Простерилізовану композицію відправляємо до ТП5.4.

#### *ДР 4.2.2 Приготування та стерилізація композиції В*

На аналітичні ваги ставимо мірний посуд, таруємо відміряємо 1,22 г  $\text{K}_2\text{H}_2\text{P}_2\text{O}_7$ . Вносимо у колбу об'ємом 250 мл. Відміряємо мірним циліндром і вносимо 40,6 мл води. Колбу закриваємо ватно-марлевою пробкою та стерилізуємо в автоклаві при 131°C (0,15МПа) впродовж 40 хв. Простерилізовану композицію відправляємо до ТП5.4.

#### *ДР 4.2.3 Приготування та стерилізація композиції С*

На аналітичні ваги ставимо мірний посуд, таруємо відміряємо: 24,52 г  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ; 2,04 г  $\text{MgSO}_4$ ; 20,43 г  $\text{CaCO}_3$ ; 8,17 г  $\text{NaCl}$ . Вносимо у колбу об'ємом 1 л. Відміряємо мірним циліндром і вносимо 952 мл води. Закриваємо ватно-марлевою пробкою та стерилізуємо в автоклаві при 131°C (0,15МПа) впродовж 40 хв. Простерилізовану композицію відправляємо до ТП5.4.

***ДР 4.3 Приготування та стерилізація поживного середовища для вирощування інокуляту у апараті об'ємом 0,1 м<sup>3</sup>***

**Розрахунок компонентів для приготування поживного середовища на 50л**

Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	К-ть для приготування 50 л середовища, г (мл)	Композиція	Об'єм композиції, V, мл
Борошно кукурудзяне	30	1500	А	27397
Вода		25897,26		
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0,3	15	В	275
Вода		260		
NaCl	2	100	С	7762
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	6	300		
MgSO <sub>4</sub>	0,5	25		
Вода		7336		
CaCO <sub>3</sub>	5	250	D	4566
Вода		4316		
Конденсат		10000		10000
Разом		50000		50000

*ДР 4.3.1 Приготування та стерилізація композиції А*

Через об'ємно-ваговий дозатор у реактор-змішувач (P17) об'ємом 40 л, вносять 1500 г кукурудзяного борошна та 26 л води. Впродовж 60 хв при температурі 80°C з ввімкненою мішалкою заварюємо борошно. Отриману композицію стерилізуємо при 115°C (0,05МПа) впродовж 25 хв. Простерилізовану композицію відправляємо до ТП5.5.

*ДР 4.3.2 Приготування та стерилізація композиції В*

На аналітичні ваги ставимо мірний посуд, таруємо, відміряємо 15 г KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>. Вносимо у колбу об'ємом 400 мл. Відміряємо мірним циліндром і вносимо 260 мл води. Колбу закриваємо ватно-марлевою пробкою та стерилізуємо в автоклаві при 131°C (0,15МПа) впродовж 40 хв. Простерилізовану композицію відправляємо до ТП5.4.

*ДР 4.3.3 Приготування та стерилізація композиції С*

Через об'ємно-ваговий дозатор реактор-змішувач (P20) об'ємом 20 л, вносять (г): 300 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> ; 15 NaCl; 100 (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>; 25 MgSO<sub>4</sub>. Через об'ємно-ваговий дозатор відміряють 700 мл води. Вмикають перемішувач на 5 хв. Після

цього композицію самотоком пускають у реактор інокулятора (Ін24). Стерилізуємо при 131°C (0,15МПа) впродовж 40 хв.

*ДР 4.3.4 Приготування та стерилізація композиції D*

Через об'ємно-ваговий дозатор реактор-змішувач (P22) об'ємом 10 л, вносять (г) 250 CaCO<sub>3</sub>. Через об'ємно-ваговий дозатор відміряють 400 мл води. Вмикають перемішуючий пристрій на 5 хв. Отриману композицію стерилізуємо при 131°C (0,15МПа) впродовж 40 хв.. Простерилізовану композицію відправляємо до ТП5.5.

*ДР 4.4 Приготування та стерилізація поживного середовища для виробничого біосинтезу у ферментері об'ємом 2 м<sup>3</sup>*

Таблиця 8.27

**Розрахунок компонентів для приготування поживного середовища на 949 л**

Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	К-ть для приготування 0,949 м <sup>3</sup> середовища, кг (л)	Композиція	Об'єм композиції, V, л
Борошно кукурудзяне	30	28,44	А	408,42
Вода		379,98		
Меяса	20	18,96	В	57
Лізін	0,1	0,09		
Вода		38,1		
КН <sub>2</sub> РО <sub>4</sub>	0,1	0,09	С	316
NaCl	0,5	0,47		
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	6	5,68		
MgSO <sub>4</sub>	0,05	0,04		
Вода		94		
CaCO <sub>3</sub>	5	4,74	D	68,07
Вода		63,33		
Пропінол	1	0,94	E	13,6
Конденсат		94,9		94,9
Разом		949		949

*ДР 4.4.1 Приготування та стерилізація композиції А*

Через об'ємно-ваговий дозатор у реактор-змішувач (P26) об'ємом 630 л, вносять 28,44 кг кукурудзяного борошна та 379,98 л води. Впродовж 60 хв при температурі 80°C з ввімкненою мішалкою заварюємо борошно. Впродовж 60 хв

при температурі 80°C з ввімкненою мішалкою заварюємо борошно. Отриману композицію стерилізуємо при 115°C (0,05МПа) впродовж 25 хв. Простерилізовану композицію відправляємо до ТП6.1.

#### *ДР 4.4.2 Приготування та стерилізація композиції В*

Через об'ємно-ваговий дозатор у реактор-змішувач (P33) об'ємом 100 л, вносять 18,96 л меляси, 90 мл лізину, 38 л води. Вмикаємо перемішувач на 15 хв. Отриману композицію стерилізуємо при 115°C (0,05МПа) впродовж 25 хв. Простерилізовану композицію відправляємо до ТП6.1.

#### *ДР 4.4.3 Приготування та стерилізація композиції С*

Через об'ємно-ваговий дозатор у реактор-змішувач (P29) об'ємом 500 л, вносять (кг): 0,09 -  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  ; 0,47  $\text{NaCl}$ ; 5,68 -  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ; 0,04 -  $\text{MgSO}_4$ . Через об'ємно-ваговий дозатор відміряють 94 л води. До реактора-змішувача підєднують подають 6%  $\text{HCl}$  (з ДР 3.1.1) та вносять 1,9 л розчину. Вмикають перемішувач на 5 хв. Після цього композицію направляють в реактор ферментера (ФР39). Стерилізуємо при 131°C (0,15МПа) впродовж 40 хв.

#### *ДР 4.4.4 Приготування композиції D*

Через об'ємно-ваговий дозатор у збірник (P31) об'ємом 100л вносять: 4,7 кг  $\text{CaCO}_3$  та 63 л води. Вмикають перемішувач на 5 хв. Стерилізуємо при 131°C (0,15МПа) впродовж 40 хв. Після цього композицію направляють в реактор ферментера (ФР39).

#### *ДР 4.4.5 Приготування композиції E*

Через об'ємно-ваговий дозатор у збірник (P38) об'ємом 2 л вносять: 0,94 л пропінолу. Подають до ТП.6.1..

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

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

Колекційну культуру *Streptomyces griseus* 420 зберігають у пробірках на скошеному картопляному агарі при 5°C. Пересіви здійснюють кожні 3 місяці. Всі роботи з культурою проводять у строго асептичних умовах. Кожен місяць роблять проби на відсутність сторонньої мікробіоти

#### ***ТП 5.2 Одержання робочої культури на агаризованих середовищах***

Дистильованою водою роблять змив спорового матеріалу з пробірок з колекційною культурою. Фільтрують отриманий розчин через скляний фільтр N4, суспензію одиничних спор розсівають на чашки Петрі з глюкозо-картопляним агаром. Культивують при 28°C протягом 72 год. Роблять пересів петлею у пробірки з скошеним глюкозо-картопляним агаром і культивують при 28°C протягом 3-4 діб. Наприкінці вирощування роблять проби на відсутність сторонньої мікробіоти.

### ***ТП 5.3 Вирощування посівного матеріалу в колбах на качалках***

Для вирощування рідкого посівного матеріалу у посівну колбу об'ємом 1л в асептичних умовах вносять 129 мл суміші композиції А (від ДР 4.1.1.), 30 мл розчину композиції В (від ДР 4.1.2.) та 30 мл розчину композиції С (від ДР 4.1.3.). Перемішують.

З окремих пробірок зі скошеною культури (від ТП 5.2) в асептичних умовах роблять змиви зі спорами і вносять в качалочні колби.

Культивують при 28±1°C протягом 24-30 год на качалці з 200 - 220 обертами на хвилину. Під час культивування кожні 12 годин роблять відбір проби культуральної рідини на відсутність сторонньої мікробіоти, антибіотичну активність, компонентний склад антибіотичних фракцій.

### ***ТП 5.4 Вирощування посівного матеріалу в інокуляторі об'ємом 0,01м<sup>3</sup>***

У попередньо простерилізованій реактор інокулятору в асептичних умовах подають (від ДР 4.2.1) 2241 мл композиції А, 65,12 мл композиції В (від ДР 4.2.2.), 1049 мл композиції С (від ДР 4.2.3.). Вмикають барботер інтенсивністю 1,0 -1,5 м<sup>3</sup>/м<sup>3</sup>\*хв. Автоматично проводиться контроль температури. При t = 28±1°C вносять посівний матеріал (від ТП 5.3.). Тривалість культивування становить 24-30 години. Під час культивування кожні 8 годин роблять відбір проби культуральної рідини на відсутність сторонньої мікробіоти, концентрацію біомаси.

### ***ТП 5.5 Вирощування посівного матеріалу в інокуляторі об'ємом 0,1м<sup>3</sup>***

У реактор інокулятору до простерилізованої композиції С в асептичних умовах подають 28 л композиції А (від ДР 4.2.1.), 4,6 л композиції D (від ДР 4.2.4.) та вносять за допомогою колби 275 мл композиції В. Вмикають барботер

інтенсивністю  $1,0 - 1,5 \text{ м}^3/\text{м}^3 \cdot \text{хв.}$ , датчик рН автоматично вимірює кислотність. Автоматично проводиться контроль температури. При  $t = 28 \pm 1^\circ\text{C}$  вносять посівний матеріал (від *ТП 5.4.*). Тривалість культивування становить 24-30 години. Під час культивування кожні 8 годин роблять відбір проби культуральної рідини на відсутність сторонньої мікробіоти, концентрацію біомаси.

## **ТП 6. Виробничий біосинтез**

### ***ТП. 6.1 Біосинтез культури в ферментері об'ємом $2 \text{ м}^3$***

У реактор ферментеру (*Фр39*) до простерилізованої композиції С в асептичних умовах за допомогою гвинтового насосу (*Н27*) подають 408,42 л розчину композиції А (від *ДР 4.4.1.*), за допомогою гвинтового насосу (*Н34*) подають 57 л композиції В (від *ДР 4.4.2.*), самотоком подають 68 л композиції D (від *ДР 4.4.4.*) та через збірник (*Р38*) подають композицію Е. Вмикають барботер інтенсивністю  $1,0 - 1,5 \text{ м}^3/\text{м}^3 \cdot \text{хв.}$ . Автоматично проводиться контроль температури. При  $t = 28 \pm 1^\circ\text{C}$  вносять посівний матеріал (від *ТП 5.5.*). Тривалість культивування становить  $60 \pm 10$  годин, Під час культивування кожні 8 години роблять відбір проби культуральної рідини на відсутність сторонньої мікробіоти, концентрацію біомаси (на момент завершення культивування має становити 10 г/л).

## **ТП 7. Підкислення культуральної рідини**

До реактора (*Рз44*) об'ємом 1200 л після проведення біосинтезу подають 945 л культуральної рідини ( від *Фр39*) та 1 л 6% *HCl* розчин (від *ДР 2.2*) (*Рз41*). Датчик рН автоматично вимірює кислотність. При значеннях 5,0 подача припиняється.

## **ТП 8. Вакуум випарювання**

Підкислена культуральна рідина (від *ТП 7*) через гвинтовий насос (*Н45*) подається на вакуум-випарну установку (*ВВУ46*). Випарювання відбувається за температури  $50 \pm 2^\circ\text{C}$ . За робочого тиску 0,01 МПа. Та проводиться для отримання маси з вмістом сухих речовин  $11 \pm 1$  %. Отриманий концентрат через гвинтовий насос (*Н47*) подають до збірника (*Зб48*).

## **ТП 9.Сушіння**

Отриманий концентрат (від ТП 8) (3б 48) через гвинтовий насос (Н49) подають на відцентрову розпилюючу сушарку (РСШ50). Сушіння відбувається при температурі  $150\pm 10^{\circ}\text{C}$  та на виході  $50\pm 10^{\circ}\text{C}$ . При  $P=0,8$  МПа.

### **ТП 10. Протитечійна екстракція**

До 3х ступінчастого екстрактора (ЕК52) подається екстрагент (від ДР 2.3). Вручну (від ТП 9) подається сухий стрептотрициновий комплекс у вигляді порошку. Співвідношення фаз становить 4:1. Екстракцію проводять протягом 150 хв.

### **ТП 11. Введення стабілізуючих речовин**

У реактор змішувач (P354) від екстракційної установки (ЕК52) подається екстракт (від ТП10).

#### **ТП 11.1 Внесення триетиленгліколя**

У реактор змішувач (P354) через реактор (P53) подають розчин триетиленгліколя у кількості 16,32л . Вмикають перемішуючий пристрій при 30 об/хв.

#### **ТП 11.2 Внесення пропілпарабену**

У реактор змішувач (P354) через реактор (P53) подають розчин пропілпарабену у кількості 1630 мл. Перемішуючий пристрій працює за попередньо заданих параметрах.

#### **ТП 11.3 Внесення хітозану**

У реактор змішувач (P354) через реактор (P53) подають розчин хітозану у кількості 615 г. Через 5хв після внесення, вимикаємо мішалку.

### **ПМВ 12. Пакування, маркування вивантаження**

#### **ПМВ 12.1 Фасування та маркування в ємності**

До фасувального апарату (ДР55) подається концентрат (від ТП11) та пластикові ємності, об'ємом 1 л. На упаковці нанесено назву підприємства, назву товару, номінальний об'єм, термін зберігання, дату виготовлення.

#### **ПМВ 12.2 Пакування у групові упаковки**

Після розфасування по індивідуальній упаковкам, заповнена тара (від ПМВ 12.1) надходить на установку (Пм56), що здійснює групове пакування за допомогою картонних коробок.

### **ЗВ 13. Знешкодження відходів**

#### ***ЗВ 13.1 Знешкодження газоподібних відходів***

Відпрацьоване повітря, яке надходить від посівних апаратів та ферментера (від ТП 5.4, ТП 5.5, ТП 6.1) відправляють на фотокаталітичне очищення. Знешкодження відбувається ультрафіолетом ближнього діапазону (320-400 нм).

#### ***ЗВ 13.2 Знешкодження рідких відходів***

Розчини миючо-дезінфікувальних засобів (від ДР 1.2, ДР 1.3.1) направляють на очисні споруди, де проводиться визначення рН і за потреби його доводять до нейтральних показників за допомогою розчинів НСІ та NaOH. Після чого рідкі відходи з нейтральним рН зливають в міську каналізацію.

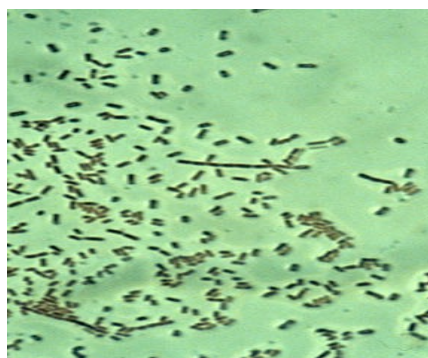
#### ***ЗВ 13.3 Знешкодження твердих відходів***

Осад після виділення з культуральної рідини активного антибіотичного комплексу (від ТП 10) направляють на регенерацію спирту, після чого отриману біомасу направляють на підприємства, що виробляють корма для сільськогосподарських тварин.

## РОЗДІЛ 9. Контроль виробництва

### 9.1 Мікробіологічний контроль

Для проведення мікробіологічного контролю в асептичних умовах здійснюється відбір проб культурального середовища кожні 4 години з подальшим розсівом на чашки Петрі з глюкозо-картопляним агаром а також проводять мікроскопіювання *рис.9.11*. Для мікроскопіювання використовують препарати «роздавлена крапля». Препарат «роздавлена крапля» готують на знежиреному предметному склі, на яке наносять краплю культуральної рідини, накривають накривним скельцем і розглядають з об'єктивом 40х, а також мікроскопіюють препарат з імерсійною системою [18]. Морфологічно це паличкоподібні форми, часто з потовщеними кінцями. В мазку розташовуються поодинці, парами, V- і Y-образно, здатні до істинного розгалуження. За Грамом забарвлюються погано, часто утворюють зернисті форми [21]. Ширина міцелію не перевищує 1,5 мкм, частіше 0,7-0,8 мкм, ядра не виявлені [20].

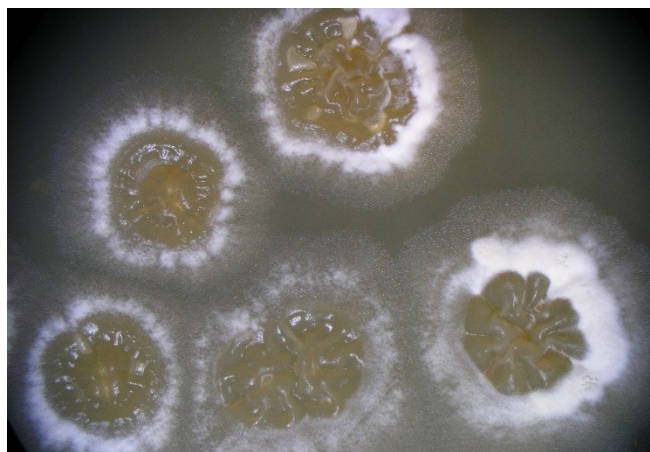


*Рис.9.11 S. griseus* під мікроскопом [102].

Для контрольного культивування на чашках Петрі культуральну рідину розсівають петлею до ізольованих колоній на м'ясо-пептонному агарі (МПА) для виявлення бактерій та на сусло-агарі (СА) або глюкозо-картопляному агарі (ГКА) для виявлення грибів та дріжджів. Культивування проводять при  $28\pm 1^\circ\text{C}$ , протягом 48 год [6].

					НУХТ БТЕК 04.02.39 ДП ПЗ		
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата			
Розроб.		Балицька О.Ю.			Літ.	Арк.	Акрушів
Керівник		Етерьна С.М					
Реценз.					Кафедра БТМ		
Н. Контр.							
Затверд.		Пирог Т.П.					

Культура має характерний земляний запах [22]. На твердих поживних середовищах гіфи, розвиваючись, утворюють субстратний міцелій. Частина міцелію проникає безпосередньо в середовище, а частина розростається на поверхні. Поверхня колоній утворена переплетенням гіфів повітряного міцелію, який може бути зернистим, порошкоподібним або оксамитовим. У процесі росту і розвитку можуть утворювати різноманітні пігменти *рис.9.12* [19].



*Рис.9.12* Культура *S. griseus* на чашці Петрі [24].

## 9.2 Показники росту, синтезу, активності

**Концентрація біомаси.** Зважаючи на наявність в культуральній рідині неосвітленої меляси, оптичні методи визначення концентрації біомаси не доступні. Концентрацію біомаси визначають шляхом центрифугування. Метод центрифугування заснований на різній поведінці частинок у відцентровому полі, створюваному центрифугою. Зразок, що знаходиться в посудині для центрифугування, поміщають в ротор, який приводиться в рух приводом центрифуги. Для поділу суміші частинок необхідно вибрати набір умов, таких як швидкість обертання, час центрифугування та радіус ротора. Для сферичних часточок швидкість осадження (седиментації) залежить не тільки від прискорення, але і від їх радіуса і щільності, а так само від в'язкості середовища, в якій проводиться осадження зразка.

Центрифугування можна розділити на два види: препаративне і аналітичне. Препаративне центрифугування використовується в разі, коли необхідно виділити

частину зразка для подальших досліджень. Цей метод застосовується для виділення клітин з суспензії, біологічних макромолекул і т.д.

Препаративні лабораторні центрифуги, в свою чергу, поділяються на групи за призначенням: препаративні ультрацентрифуги, центрифуги загального призначення і швидкісні центрифуги. Центрифуги загального призначення мають найбільше практичне застосування в медичних лабораторіях, мають максимальну швидкість до 6 тисяч об / хв [104].

**Техніка проведення.** Вмикають центрифужну установку, відкривають кришку центрифуги, устанавлюють ротор на вал приводу до упору в осьовому напрямку. Закріплюють ротор за допомогою гайки та ключа. Відібрані проби культуральної рідини по 10 мл вносять у 4 центрифужні пробірки та розмістити їх в діаметрально протилежних гніздах ротора. Закрити кришку центрифуги. Встановити кількість обертів на позначці 2500 об/хв та час 45 с. Натиснути кнпку «Пуск». Після повної зупинки ротора відкрити кришку, вилучити пробірки [105]. В подальшому центрифугат зливають, а осад у вигляді біомаси висушують та зважують на аналітичних вагах .

**Визначення активності цільового продукту.** Проводять біологічним методом.

**Техніка проведення.** Відібрані проби культуральної рідини асептичних умовах у кількості 20-25 мл вносять у хімічні колби місткістю 250 мл та підкислюють розбавленою соляною кислотою до рН 4,5. Витримують на протязі 30 хв та фільтрують крізь паперовий фільтр. З фільтрів стерильною петлею відбирають фільтрат та визначають вміст антибіотика висіваючи на чашки Петрі на агаризоване середовище з використанням в якості тест-культури *Bacillus subtilis* 6633. Висновки роблять виходячи з утворених зон затримки росту тест-культури [6].

### 9.3. Контроль фракційного складу

Так як фітолавін – це комплексний препарат, необхідно проводити контроль відповідності відносно кількісного і якісного складу його складових. Для цього застосовується тонкошарова хроматографія на пластинках з силікагелем 60.

**Техніка проведення.** В якості рухомої фази використовують розчин наступного складу: ацетат натрію – 123,03г, хлорид натрію – 58,44 г, спирт бутиловий третичний – 100 мл, вода дистильована до 1000 мл. Хроматографію проводять висхідним методом. На лінію старту наносять краплю відібраної проби, в якості порівняльного зразка наносять краплю чистого фітолавіну, склад якого (%): стрептоміцин В – 2,0; стрептоміцин С – 20,0; стрептоміцин D – 50,0; стрептоміцин Е – 13,0; стрептоміцин F- 15,0. Розчин елюенту поміщають у спеціальну посудину, що герметично закривається. Пластинку занурюють у розчин елюенту так що б нижній край був занурений але розчин знаходився за кілька см від лінії старту. Посудину герметично закривають за для уникнення випаровування розчину. Витримують час необхідний для досягнення достатньої лінії фронту, після чого пластинку достають та висушують на відкритому повітрі. Потім рівномірно обприскують 0,2% розчином нінгідрину в ацетоні. Переміщають в сушильну шафу де втримують при температурі 105°C протягом 5 хв., після чого пластинку достають і візуально оцінюють. Компоненти стрептоміцинового комплексу проявляються у вигляді фіолетових плям на рожевому фоні. Для кількісного визначення порівнюють розміри утворених плям з зразком [6].

Постадійний контроль виробництва фітолавіну на основі *S. griseus* 420 наведено в табл. 9.28.

Карта постадійного контролю біосинтезу фітолавіну на основі *S. griseus*

420

<i>Номер контрольної точки та назва стадії</i>	<i>Об'єкт контролю та показник, що визначається</i>	<i>Засоби та методи контролю</i>	<i>Періодичність перевірки та відбору проб</i>	<i>Нормативні значення показника</i>
Кх 1.1.1 Приготування робочого розчину Пимолу	Концентрація засобу Пимолу	Хімічний метод	Після приготування розчину	C=5,0% τ=5хв
Кх 1.1.2 Приготування робочого розчину Фану(Санімаксу)	Концентрація Фану (Санімаксу)	Хімічний метод	Після приготування розчину	C=2,0% (C=0,1%)
Км 1.2.1 Щоденне прибирання приміщень	Підлога, обладнання. Чистота	Змив поверхонь Кількість завислих мо у повітрі	До прибирання Після прибирання	Відсутність бруду та пилу
		Візуальний огляд Змив поверхонь Кількість завислих мо у повітрі	Після прибирання	Кількість КУО<800 /см <sup>2</sup>
Км 1.2.2. Генеральне прибирання приміщень	Підлога, стіни, вікна, двері, обладнання. Чистота	Змив поверхонь Кількість завислих мо у повітрі	До прибирання Після прибирання	Відсутність бруду та пилу
		Візуальний огляд Змив поверхонь Кількість завислих мо у повітрі	Після прибирання	Кількість КУО<800 /см <sup>2</sup>
Кт 1.3.1 Миття та ополіскування ферментаційного обладнання	Концентрація мийного розчину, час миття, чистота	Термометр технічний, годинник	Під час операції	C=5%, τ=1 год, візуально чисте обладнання
Кт 1.3.2 Технічний огляд	Міцність з'єднань	Перевірка на міцність з'єднань	Перед перевіркою на герметичність	Візуальна відсутність послаблення між частинами на обладнанні

Кт 1.3.3 Перевірка на герметичність	Герметичність обладнання, час перевірки	Манометр технічний, годинник	Тиск визначається безперервно протягом перевірки	P=0,1-0,2 МПа, τ=30-60 хв
Кт 1.3.4 Стерилізація обладнання	Температура стерилізації, тиск під час стерилізації, тривалість	Технічний манометр, годинник	Тиск визначається протягом стерилізації	t=130-135°C, P=0,28-0,3 МПа, τ=2 год ΔP<0,01М Па
Кт 2.1 Забір атмосферного повітря	Висота забору повітря	Висота труби забору	Протягом всього циклу виробництва	H=30 м
Кт 2.2 Грубе очищення	Очищене повітря, ступінь очищення повітря на виході з фільтра, перепад тисків	Манометр, перевірка ступеню очищення згідно паспорту фільтра	Після очистки у фільтрі грубого очищення	E=90%
Кт 2.3 Стиснення повітря	Стиснене повітря, температура, тиск	Манометр технічний, термометр	Повітря після компресування	P=0,35-0,5 МПа, t=120-200°C
Кт 2.4 Охолодження повітря та видалення вологи	Охолоджене повітря, температура	Термометр технічний, психрометричний метод	Після охолодження повітря і видалення вологи	t=18-20°C, W=60%
Кт 2.5 Стабілізація термодинамічних показників	Підігріте повітря, температура	Термометр технічний	Після нагріву повітря	t=20-30°C
Кт 2.6 Очищення повітря в головному фільтрі	Очищене повітря, перепади тисків, ступінь очищення повітря на виході з фільтра	Манометр, перевірка ступеню очищення згідно паспорту фільтра	Після очистки у фільтрі головного очищення	E=95%
Кт 2.7 Очищення повітря в індивідуальних фільтрах	Очищене повітря, ступінь очищення повітря	Перевірка ступеню очищення повітря згідно паспорту фільтра	Під час очищення повітря на індивідуальних фільтрах	E=99,999 %
Кх, 3.1.1 Приготування 6% розчину НСІ	Концентрація НСІ,	Хімічний метод	Після приготування розчину	C=6%

Кт Приготування 60% розчину етилового спирту	Концентрація етилового спирту	Аерометр	Після приготування розчину	C=60%
Кт, Км 4.1.1, 4.2.1, 4.3.1, 4.4.1 Приготування та стерилізація композиції А	Композиція А Тиск, температура, час, відсутність мікробіоти	Манометр, годинник, мікробіологічний контроль	Температура визначається безперервно під час стерилізації, мікробіологічний контроль після стерилізації	t= 112 °С, τ=30 хв, P=0,05 МПа, відсутність мікробіот и
Кт, Км 4.1.2, 4.2.2, 4.3.2 Приготування і стерилізація композиції В	Композиція В Тиск, температура, час, відсутність мікробіоти	Манометр, годинник, мікробіологічний контроль	Температура визначається безперервно під час стерилізації, мікробіологічний контроль після стерилізації	t= 131 °С, τ= 40 хв, P=0,15 МПа, відсутність мікробіот и
Кт, Км 4.1.3, 4.2.3, 4.3.3 Приготування і стерилізація композиції С	Композиція С Тиск, температура, час, відсутність мікробіоти	Манометр, годинник, мікробіологічний контроль	Температура визначається безперервно під час стерилізації, мікробіологічний контроль після стерилізації	t= 131 °С, τ=40 хв, P=0,15 МПа, відсутність мікробіот и
Кт, Км 4.3.4, 4.4.4 Приготування і стерилізація композиції D	Композиція D Тиск, температура, час, відсутність мікробіоти	Манометр, годинник, мікробіологічний контроль	Температура визначається безперервно під час стерилізації, мікробіологічний контроль після стерилізації	t= 131 °С, τ=40 хв, P=0,15 МПа, відсутність мікробіот и
Кт, Км 4.4.2 Приготування та стерилізація композиції В	Композиція D Тиск, температура, час, відсутність мікробіоти	Манометр, годинник, мікробіологічний контроль	Температура визначається безперервно під час стерилізації, мікробіологічний контроль після стерилізації	t= 112 °С, τ=30 хв, P=0,05 МПа, відсутність мікробіот и

Кт, Км 5.1 Підтримання колекційної культури	Колекційна культура, температура, мікробіологічна чистота культури	Холодильник календар	Мікробіологічний контроль кожен місяць	t=5°C, τ=3 місяці відсутність сторонньої мікробіоти
Км 5.2 Одержання робочої культури на агаризованих середовщах	Колекційна культура S griseus420 Морфологічна однорідність, відсутність сторонньої мікробіоти, відсутність неконтрольованих мутацій	Мікробіологічний контроль календар	Мікробіологічний контроль проводять в кінці культивування (3-4 доба)	t= 28±1 °C, τ= 12 діб Відсутність сторонньої мікробіоти
Кт, Км 5.3 Вирощування культури в колбах на качалках	Посівний матеріал, тривалість вирощування, температура, частота обертів качалки, мікробіологічна чистота культури, концентрація біомаси антибіотична активність, компонентний склад антибіотичних фракцій, концентрацію джерела вуглецю та азоту.	Годинник, термометр технічний, технічний тахометр, мікробіологічний контроль тонкошаровий хроматограф апарат Чижової	Температура і швидкість обертання контролюються і підтримуються автоматично весь час вирощування, мікроскопіювання – кожні 4 годин, концентрація біомаси в кінці культивування	t= 28±1 °C, τ= 24-30 год, ω = 200-220 об/хв, рН=6,6-7,2 відсутність сторонньої мікробіоти Стрептоцидин С=22% Стрептоцидин =54%.

<p>Кт, Км 5.4</p> <p>Вирощування культури в інокуляторі об'ємом 10 л</p>	<p>Посівний матеріал, тривалість вирощування, температура, аерація мікробіологічна чистота культури, морфологічна відповідність організмів, концентрація біомаси, джерела вуглецю та азоту</p>	<p>Датчик рН годинник, термометр, манометр, мікроскоп, тонкошаровий хроматограф, апарат Чижової мікробіологічний контроль</p>	<p>Температура і аерація контролюються і підтримуються автоматично весь час вирощування, мікроскопіювання та визначення концентрації джерела вуглецю та азоту – кожні 4 годин, концентрація біомаси в кінці культивування</p>	<p>pH=6,6-7,2 O<sub>2</sub> = 1,0-1,5м<sup>3</sup>/м<sup>3</sup>* хв. = 28±1 °С, τ= 24-30 год, ω = 200-220 об/хв, відсутність сторонньої мікробіоти</p>
<p>Кт, Км 5.5</p> <p>Вирощування культури в інокуляторі об'ємом 100 л</p>	<p>Посівний матеріал, тривалість вирощування, температура, аерація мікробіологічна чистота культури, морфологічна відповідність організмів, концентрація біомаси, джерела вуглецю та азоту</p>	<p>Датчик рН годинник, термометр, манометр, мікроскоп, тонкошаровий хроматограф, апарат Чижової мікробіологічний контроль</p>	<p>Температура і аерація контролюються і підтримуються автоматично весь час вирощування, мікроскопіювання та визначення концентрації джерела вуглецю та азоту – кожні 4 годин, концентрація біомаси в кінці культивування</p>	<p>pH=6,6-7,2 O<sub>2</sub> = 1,0-1,5м<sup>3</sup>/м<sup>3</sup>* хв. = 28±1 °С, τ= 24-30 год, ω = 200-220 об/хв, відсутність сторонньої мікробіоти</p>
<p>Кт, Км 5.5</p> <p>Вирбничий біосинтез в ферментері об'ємом 2м<sup>3</sup></p>	<p>Культуральна рідина тривалість вирощування, температура, аерація мікробіологічна чистота культури, морфологічна відповідність організмів, концентрація біомаси, джерела вуглецю та азоту</p>	<p>Датчик рН годинник, термометр, манометр, мікроскоп, тонкошаровий хроматограф, апарат Чижової мікробіологічний контроль</p>	<p>Температура і аерація контролюються і підтримуються автоматично весь час вирощування, мікроскопіювання та визначення концентрації джерела вуглецю та азоту – кожні 4 годин, концентрація біомаси в кінці культивування</p>	<p>pH=6,6-7,2 O<sub>2</sub> = 1,0-1,5м<sup>3</sup>/м<sup>3</sup>* в. = 28±1 °С, τ= 24-30 год, ω = 200-220 об/хв, відсутність сторонньої мікробіоти Сбіом.=10 г/л</p>

Кт 3 Підкислення культуральної рідини	pH	Хімічний метод	Безперервно під час титрування	pH = 5,0±0,5
Кт 4 Вакуум-випарювання	Тиск в установці, температура	Манометр технічний, градусник,	Тиск та температура визначаються безперервно під час випарювання,	P= 0,001Мпа t= 50±2 °С,
Кт 5 Сушіння	Температура, тиск	Термометр, манометр	Безперервно на протязі всього процесу	t (входу)= 150±10 °С, t (виходу)= 65±5 °С, P= 0,8МПа
Кт 6 Протиточна екстракція	Час	Годинник	Час безперервно на протязі всього процесу,	T = 150±10 хв
ЗВ 7.1 Знешкодження газоподібних відходів	Відсутність біологічного навантаження	Мікробіологічний контроль	кожні 4 години концентрація живих мікроорганізмів	КУО<800 /см2
ЗВ7.2 Знешкодження рідких відходів	Відсутність біологічного навантаження, кислотність	Датчик pH Мікробіологічний контроль	кожні 4 години концентрація живих мікроорганізмів та автоматичне вимірювання pH	КУО<800 /см2 pH=6,6-7,0

## РОЗДІЛ 10. Автоматизація виробництва

### 10.1 Розробка системи автоматизації збірника для зберігання культуральної рідини.

Зберігання культуральної рідини потребує досить простого апарату, який потребує автоматизації контролю та вимірювання основних параметрів таких як: температура, кількість обертів мішалки за хв та рівень культуральної рідини в збірнику. Детальний опис параметрів описано у таблиці 10.29

*Таблиця 10.29*

№	Машина, апарат	Параметр, місце відбору сигналу	Допустиме значення параметру	Вид автоматизації	Характер контролю управління	Засоби управління та контролю, реалізація управляючої дії
1	Реактор для зберігання культуральної рідини	Температура	(28±2)°C	Регулювання	Підтримка на заданому значенні	АРМ оператора
		Рівень поживного середовища	0,8± 0,005	Управління	Дистанційне	
		Кількість обертів мішалки	65 об/хв	Регулювання	Підтримка заданого значення	
				Контроль	Звукова сигналізація	

### 10.2. Опис функціональної схеми автоматизації

При зберіганні культуральної рідини у збірнику контролюється температура зберігання датчиком 2 контуру. Принцип роботи якого побудований на тому, що при підвищенні або пониженні температури міняється опір напівпровідника який вбудований в датчик. Таким чином при перевищенні заданої температури датчик посилає імпульс на контролер і той за допомогою магнітного імпульсу або вмикає, подачу холодної води у рубашку апарату.

					НУХТ БТЕК 04.02.39 ДП ПЗ		
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата			
Розроб.		Балицька О.Ю.			Літ.	Арк.	Акрушів
Керівник		Етерьна С.М					
Реценз.					Кафедра БТМ		
Н. Контр.							
Затверд.		Пирог Т.П.					

Температура у збірнику вимірюється датчиком температури (поз. 2а). Сигнал від датчика подається на контролер і в залежності від температури іде вмикання або вимикання подачі холодної води регулюючим органом (поз. 2в), що приводиться в дію за допомогою електромагнітного перетворювача 2б.

Рівень культуральної рідини у збірнику вимірюється датчиком рівня (поз. 1а). Сигнал від датчика подається на контролер і в залежності від рівня іде відкривання або закривання клапану подачі культуральної рідини в апарат регулюючим органом (поз. 1в), що приводиться в дію за допомогою електромагнітного перетворювача 1б.

Оберти мішалки забезпечує двигун, що встановлений зверху апарату (поз. 3а). При охолодженні культуральної рідини збільшується її в'язкість і необхідно подавати більшу напругу для підтримання встановлених обертів мішалки.

### 10.30. Специфікація на прилади та засоби автоматизації

Таблиця 10.30

Позиція	Параметр	Місце установки	Найменування, характеристика приладу	Тип моделі	Виробник
2а	Температура	В агрегатах	Датчик термоперетворювач опору ТСП-НСХ Pt100	Pt100	ЧТП «Теплоприбор» м.Челябінськ
2б	Температура	По місцю	Електропневмоперетворювач з сигналом 4-20 Ма в сигнал 20-100кПа	Dwyer Серія 2700	СВ «Альтера» м.Київ
2в	Температура	По місцю	Пневматичний клапан	Dwyer Hi-flow 2001V A32-L0	СВ «Альтера» м.Київ
1а	Рівень	В агрегаті	Рівнемір Hansa-Flex GVM100-1+9H	Flex GVM100-1+9H	ДП «» М.Київ
1б	Рівень	На щиті	Електропневмоперетворювач з сигналом 4-20 Ма в сигнал 20-100кПа	Dwyer	СВ «Альтера» м.Київ

*Закінчення таблиці 10.30*

1в	Рівень	По місцю	Пневматичний клапан	Dwyer Hi-Flow 2001V A32- 230-L0	СВ «Альтера» м.Київ
3а	Оберти мішалки	На щиті	Тахометр DT- 2234C+. Діапазон вимірювань 2,5- 9999 об/хв	DT-2234C+	Tondaj Китай

## ВИКОРИСТАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Биотехнология в сельском хозяйстве: растения [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://cbio.ru/page/51/id/2834/>
2. Биотехнология возделывания сельскохозяйственных культур без минеральных удобрений и фунгицидов [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://agri-news.ru/>
3. Мосичев М. С., Складнев А. А., Котов В. Б. Общая технология микробиологических производств / – М.: Лёгкая промышленность, 1982. – 264с
4. Інструкція до застосування Фітолавіну [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://iplants.ru/fitolavin.htm>
5. Інструкція до застосування Фітолавіну [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://imarketsemyan.com.ua/catalog/sredstva-zashity-rastenii/fungicidy/multinacionalnye/fitolavin-biofungicid-baktericid-r-k--1-litr-rodonit>
6. Пат. № РД0002958Т Способ получения препарата для борьбы с болезнями растений / Мосин В.А., Дриняев В.А., Кругляк Е.Б., Котова Г.Л., Суставова С.И., Сафонов В.С. – Опубл. 13.10.2005
7. Streptothricin [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://pubchem.ncbi>.
8. Рекомендации о транспортировке, применении и хранении пестицида Фитолавин ВРК [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://www.avgust.com>
9. Интернет каталог. Засоби захисту рослин [Електронний ресурс] // Режим доступу: <http://agrostart.com.ua>
10. Особливості застосування препарату «Фітолавін» [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://agronomu.com/bok/4249-osobennosti-primeneniya-preparata-fitolavina-dlya-rasteniy.html#h-id-7>
11. Засоби захисту рослин для дому, дачі, огороду [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://sad-ogorod.biz.ua>
12. Засоби захисту. Біопрепарати [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://nashedelo.biz.ua>

13. Торгівельно-промислова компанія «Техноекспорт» [Електронний ресурс]. Режим доступу: <http://technoexport.in.ua>
14. Технології підвищення врожайності [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://rodonit.ua/ru/o-kompanii>
15. Пат. № RU2324351 Средство для защиты растений / Будинков Н. И., Вікторов О. В., Плешков Е. М., Мосин В. О., Новик Т. С., Дриняев В. А., Кругляк Е. Б., Тихомирова О. И. – Опубл.
16. Агрохімія [Електронний ресурс]. Режим доступу: <http://udobreniya.info>
17. Антибиотики для растений [Електронний ресурс]. Режим доступу: <http://vitusltd.ru>
18. *Пирог Т.П.* Загальна мікробіологія: Підруч. – 2-е вид., доп. і перероб. – К.: НУХТ, 2010. – 632 ст.
19. *Иутинская Г. А., Пономаренко С. П.* Биорегуляция микробно-растительных систем: Монография, 2010. — 472 с.
20. Актиномицеты [Електронний ресурс]. Режим доступу: <http://xn--90aw5c.xn/>
21. Актиномицеты. Характеристика, свойства, диагностика [Електронний ресурс]. Режим доступу: <http://biofile.ru/bio/4753.html>
22. *Иутинская* продуцента *Streptomyces lavendulae* под воздействием УФ-облучения [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://repetitora.com/>
23. Какие бывают средства для защиты растений от болезней и вредителей [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://7dach.ru/>
24. *Streptomyces griseus* [Електронний ресурс]. Режим доступу: <http://atlas.actino.jp/subwin.cgi?target=8-22>
25. *Olaitan G. Akintunde.* Production of an Antibiotic-like Activity by *Streptomyces* sp. COUK1 under Different Growth Conditions. East Tennessee State University, 2014. [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://dc.etsu.edu/cgi/>

26. Журнал «GROWHOW» [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://www.growhow.in.ua/chastka-sil-s-koho-hospodarstva-u-vvp-ukrainy-za-2018-rik-sklala-360-mlrd-hrn/>
27. Журнал «AGROPOLIT» [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://agropolit.com/news/12492-chastka-agrosektoru-u-vvp-ukrayini-torik-sklala-13>
28. Журнал «AGRI-GATOR» [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://agri-gator.com.ua/2019/03/26/v-ukraini-zrostaiut-ploshchi-pid-ovochoamy-zakrytoho-gruntu/>
29. Журнал «AGROPOLIT» [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://agropolit.com/news/11836-u-2018-rotsi-v-ukrayini-zibrano-rekordnu-kilkist-yabluk>
30. Державна служба статистики України [Електронний ресурс]. Режим доступу: [www.ukrstat.gov.ua](http://www.ukrstat.gov.ua) › operativ › operativ2018 › ppsgk › ppsgk2018
31. Агрохімічна рокировка сил [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://uteka.ua/ua/publication/news>
32. Інструкція до застосування Фітолавіну [Електронний ресурс]. Режим доступу: [http://www.pesticity.ru/group\\_substances/bacterial\\_fungicides](http://www.pesticity.ru/group_substances/bacterial_fungicides)
33. Інструкція до застосування Алеріну [Електронний ресурс]. Режим доступу: [http://www.pesticity.ru/pesticide/alerin\\_b](http://www.pesticity.ru/pesticide/alerin_b)
34. Інструкція до застосування Бактофіту [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://iplants.ru/bactofit.htm>
35. Інструкція до застосування Триходерміну [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://vseroste.com.ua/bio-fungitsid-viridin-trihodermin-bt-20-gr-enzim-agro>
36. Триходермін [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://prom.ua/p1002247080-biofungitsid-trihodermin-viridin.html>
37. Інструкція до застосування Фітоспорину [Електронний ресурс]. Режим доступу: [ <https://orchardo.ru/30251-fitosporin-instrukciya-po-primeneniyu.html> ]
38. Фітоспорин [Електронний ресурс]. Режим доступу: [ [https://sad-ogorod.biz.ua/catalog/fungitsidy/fitosporin\\_m\\_pasta\\_100\\_g/](https://sad-ogorod.biz.ua/catalog/fungitsidy/fitosporin_m_pasta_100_g/) ]

39. Інструкція до застосування Фітоспорину [Електронний ресурс]. Режим доступу: [<http://www.pesticidy.ru/pesticide/fitosporin-m>]
40. Інструкція до застосування Ризоплану [Електронний ресурс]. Режим доступу: [<http://www.pesticidy.ru/pesticide/rizoplan>]
41. Інструкція до застосування Гаупсину [Електронний ресурс]. Режим доступу: [<https://agronomu.com/bok/3083-gaupsin-instrukciya-po-primeneniyu-dlya-obrabotki-sadov-vinogradnikov-i-ogorodov.html#h-id-2>]
42. Гаупсин [Електронний ресурс]. Режим доступу: [<https://www.m-dachnik.com/gaupsin-guapsin-330-ml>]
43. Гаупсин [Електронний ресурс]. Режим доступу: [<https://prom.ua/p1035157130-gaupsin-500.html>]
44. Інструкція до застосування Трихоцину [Електронний ресурс]. Режим доступу: [http://www.pesticidy.ru/pesticide/trihotcin/regulations\\_of\\_using](http://www.pesticidy.ru/pesticide/trihotcin/regulations_of_using)
45. Інструкція до застосування Фітоциду [Електронний ресурс]. Режим доступу: <http://btu-center.com/ru/products/promisloviy-sektor/696/>
46. Препарати біофунгіциди [Електронний ресурс]. Режим доступу: <http://vsaduidoma.com/2017/10/15/preparaty-biofungicidy-spisok-i-primeneniye-ot-a-do-ya-otzyvy-professionala/>
47. Сучасні біофунгіциди [Електронний ресурс]. Режим доступу: <http://nature-home.ru/ogorod/sovremennye-biofungicidy.html>
48. Общая технология микробиологических производств [Електронний ресурс]. Режим доступу <http://www.spec-kniga.ru/tehnohimicheski-kontrol/obshchaya-tehnologiya-mikrobiologicheskikh-proizvodstv/antibiotiki-nemedicinskogo-naznacheniya-fitobakteriomicin.html>
49. Патент № RU21275221C1 Штамм актиномицета streptomyces lydicus для защиты растений от грибковой инфекции, композиция для защиты растений от грибковой инфекции (варианты), способ снижения чувствительности растения к грибковой инфекции (варианты) / Л.Кроуфорд Дональд, Вон Сух Хунг – Опубл. 20.03.1999

50. Розрахунок кількості пшениці для посіву [Електронний ресурс].  
Режим доступу: <https://propozitsiya.com/ua/rozrahunok-normi-visivu-nasinnya-ozimoyi-pshenici>
51. Інструкція до застосування Фітолавіну [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://agrarii-razom.com.ua/preparations/fitolavin>
52. Продукція компанії Atlantica [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://prom.ua/brands/Atlantica-agricola>
53. Продукція компанії Rodonit [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://rodonit.ua/ru/fitolavin-rk>
54. Ферментационная среда для биосинтеза стрептомицина штаммом *Streptomyces griseus* [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://findpatent.ru/patent/211/2111251.html>
55. Streptomycin biosynthesis - Reference pathway [Електронний ресурс].  
Режим доступу: [[https://www.kegg.jp/kegg-bin/highlight\\_pathway?scale=1.0&map=map00521&keyword=streptomyc](https://www.kegg.jp/kegg-bin/highlight_pathway?scale=1.0&map=map00521&keyword=streptomyc)]
56. Ферментер серії BIORUS-SJA [Електронний ресурс]. Режим доступу: <http://www.alsi.ua>
57. Реактор [Електронний ресурс]. Режим доступу: (<https://promvit.com.ua/reaktor-630-l-s-vstroennym-gomogenizatorom/>)
58. Реактор [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://biorus.ru/oborudovanie/fermenteryi-i-bioreaktoryi->
59. Реактор [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://biorus.ru/oborudovanie/fermenteryi-i-bioreaktoryi->
60. Інструкція до миючого засобу Фан [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://uk.interdez.com.ua/product/dezinficiruyuschee-sredstvo-fan-baltiachemi-kiev>
61. Інструкція до миючого засобу Дезекон [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://interdez.com.ua/product/dezekon-unvcpd>

62. Інструкція до миючого засобу Стеріокс [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://uk.interdez.com.ua/product/sterioks-baltiachemi-kiev>

63. Інструкція до миючого засобу Санімакс [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://uk.interdez.com.ua/product/dezinficiruyuschee-sredstvo-sanimaks-interdez-kiev>

64. Інструкція до миючого засобу Біомой [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://dezmed.com.ua/ru/instrukcii/761-biomoj-metodicheskie-rekomendacii-instrukciya-po-primeneniyu>).

65. Інструкція до миючого засобу Пимол [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://uk.interdez.com.ua/product/pimol>).

66. *Красінько В.О.* Основи екобіотехнології. Конспект лекцій. К: НУХТ, 2018. – 216 с.

67. Методы выделения и очистки продуктов биотехнологических производств : Учебное пособие по курсу "Биотехнология" для студентов фармацевтического факультета / Светлана Иванцова. - Нижний Новгород: Изд-во Нижегородской государственной медицинской академии, 2005.

68. Технологія лікарських препаратів промислового виробництва / За ред. Д. І. Дмитрієвського. - Вінниця: Нова книга, 2008. - 280 с.

69. Лекція 10. Тема. Обладнання для сушки і стерилізації консервної сировини [Електронний ресурс]. Режим доступу: <http://www.tsatu.edu.ua/ophv/wp-content/uploads/sites/13/lekcija-10.pdf>

70. Каолін. Фармацевтична енциклопедія [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://www.pharmencyclopedia.com.ua/article/3432/kaolin>

71. Лекція 10-11 Тема. Отруйні і сильнодіючі речовини, що ізолюються з біологічного матеріалу підкисленим етиловим спиртом або підкисленою водою. [Електронний ресурс]. Режим доступу: [http://www.dlearn.pu.if.ua/data/users/4757/import/Toxic/lecture\\_10\\_11.pdf](http://www.dlearn.pu.if.ua/data/users/4757/import/Toxic/lecture_10_11.pdf)

72. Экстракция в системе рідина — рідина [Электронный ресурс] – Режим доступа: <https://poznayka.org/s1547t1.html>
73. Вакуум - выпарная установка [Электронный ресурс] – Режим доступа: [http://www.agro-mash.ru/260308\\_vak\\_vyp\\_yst.html](http://www.agro-mash.ru/260308_vak_vyp_yst.html)
74. Оборудование рыбомучное. Распылитель А1-ОРЧ [Электронный ресурс] – Режим доступа: <http://fishflour.com/15-raspylitel.html>].
75. Фильтры сепараторы: назначение и область применения [Электронный ресурс] – Режим доступа: <http://rama.com.ua/filtryi-separatoryi-naznachenie-i-oblast-primeneniya/>
76. Экстракция [Электронный ресурс] – Режим доступа: <https://www.belstu.by/Portals/0/userfiles/72/LK/LK-3-06.pdf>
77. Автоматический противоточный экстрактор из 3-х перколяторов [Электронный ресурс] – Режим доступа: <http://sbn-impex.ru/magazin/product/avtomaticheskij-protivotochnyy-ekstraktor-iz-3-kh-perkolyatorov>
78. Користь пропілпарабену [Электронный ресурс] – Режим доступа: <https://www.systopt.com.ua/koryst-propilparabenu/>
79. Полиэтиленгликоли — вещества с крайне широким спектром применения [Электронный ресурс] – Режим доступа: <https://pcgroup.ru/blog/polietilenglikoli-veschestva-s-krajne-shirokim-spektrom-primeneniya/>
80. Триэтиленгликоль: основные сведения [Электронный ресурс] – Режим доступа: <http://www.urzol.ru/tryetilenglicol.shtml>
81. Хитозан в сельском хозяйстве [Электронный ресурс] – Режим доступа: <https://sonat-chitin.ru/chitozan-v-selskom-khozyaistve/>
82. Установка СІП-мийки [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://www.moika-cip.ru/oborudovanie/cip-moiki/>
83. Насос відцентровий [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://mir-nasosov.com.ua/production/nasosy-serii-rg-i-rd>

84. Весовой дискретный дозатор-расходомер для жидкостей [Электронный ресурс] - Режим доступа:

<http://technowagy.com.ua/ru/product/vesovoj-diskretnyj-dozator-rashodomer-dlya-zhidkih-2/>

85. Збірник об'ємом 200 л [Электронный ресурс] - Режим доступа:

<https://promvit.com.ua/sbornik-obemom-200-l/>

86. Фільтр грубої очистки стисненого повітря F 0010 DF Італія

[Электронный ресурс] - Режим доступа:

[https://www.autom.com.ua/ua/oborudovanie\\_sto/kompressory\\_fini/filter\\_ochistki\\_vozduha/f0010-df/](https://www.autom.com.ua/ua/oborudovanie_sto/kompressory_fini/filter_ochistki_vozduha/f0010-df/)

87. КБ Технофільтр [Электронный ресурс] - Режим доступа:

<https://technofiltr.ub.ua/>

88. Компрессор [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://m-trade.pro/atlas-copcogxga>

89. Охладитель водяной SALDA AVA 100 [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://ventbazar.ua/okhladitel-vodyanoi-salda-ava-100.html>

90. Воздухосборник (ресивер) [Электронный ресурс]. Режим доступа:

<https://kompressormash.com/p/142218250-vosduhosbornik-resiver-r-50-294-50l/>

91. Нагреватель водяной ВЕНТС НКВ 500X300-4 [Электронный ресурс].

Режим доступа: <https://ventbazar.ua/nagrevatel-vodyanoi-vents-nkv-500x300-4.html>

92. Фильтр кассетный AEROSTAR SFB 70-40 [Электронный ресурс].

Режим доступа: <https://ventbazar.ua/filtr-kassetnyi-aerostar-sfb-70-40.html>

93. Колба засівна [Электронный ресурс]. Режим доступа:

<https://shop.hlr.ua/laboratornaya-posuda-i-aksessuary/kolby/>

94. Фильтр тонкой очистки воздуха [Электронный ресурс]. Режим доступа:

<http://tehnofilter.com.ua/filtry-vozdushnyye/filtr-tonkoy-ochistki-vozdukha-ftov-hepa>

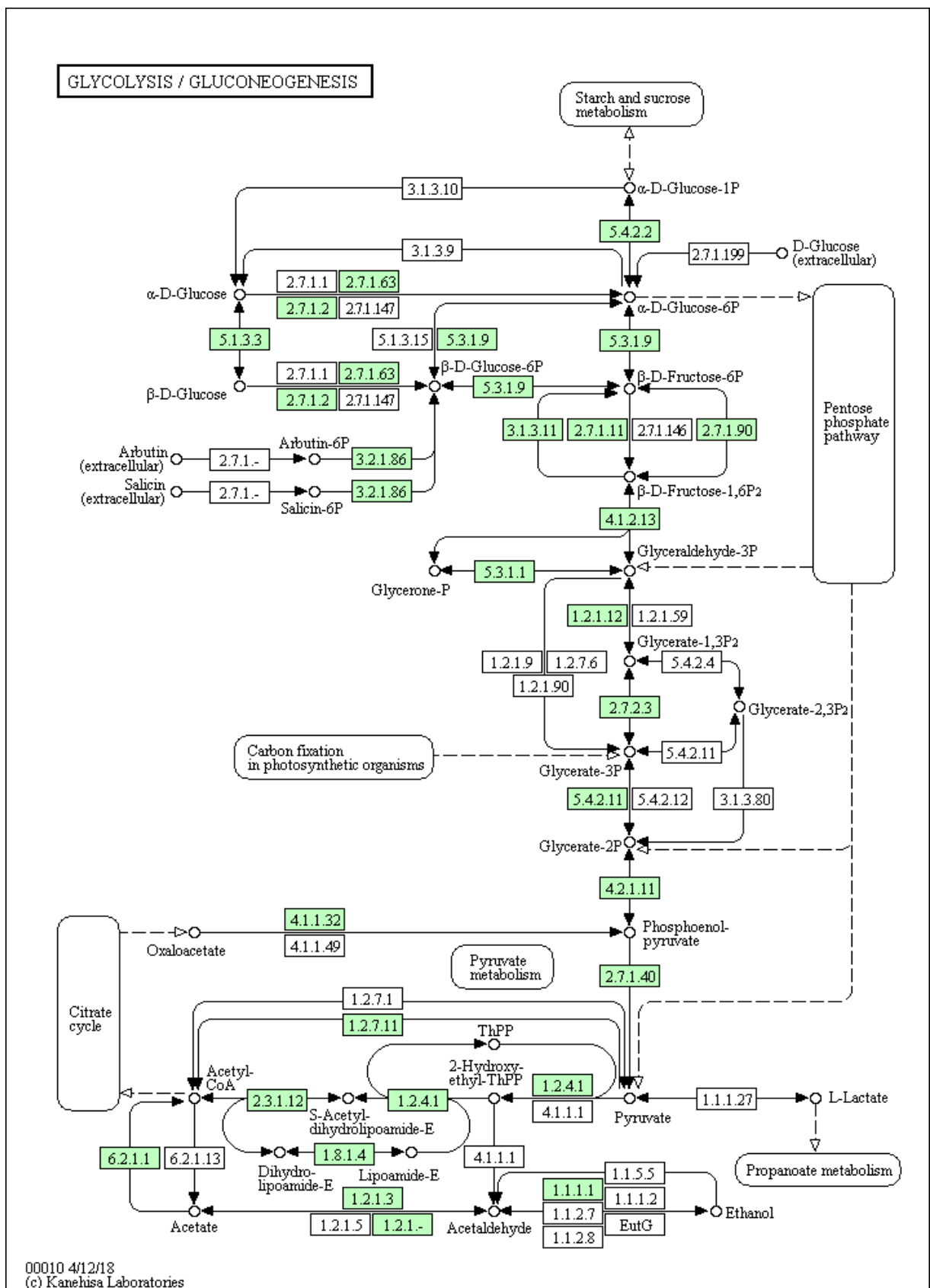
95. Биорус.Все для масштабированной биотехники [Электронный ресурс] –

Режим доступа: <https://bio-rus.ru/>

96. Винтовые насосы [Электронный ресурс] – Режим доступа: <https://mir-nasosov.com.ua/catalog/vintovye-nasosy>
97. Вакуум-выпарная установка [Электронный ресурс] – Режим доступа: <https://www.agro-mash.ru/vakuum-vyparnaya-ustanovka.html>
98. Распылительная сушилка [Электронный ресурс] – Режим доступа: <http://fishflour.com/72-nashi-kontakty.html>
99. Автоматический противоточный экстрактор из 3-х перколяторов [Электронный ресурс] – Режим доступа: <http://sbn-impex.ru/magazin/product/avtomaticheskii-protivotochnyy-ekstraktor-iz-3-kh-perkolyatorov>
100. Дозатор жидкостей и паст [Электронный ресурс] – Режим доступа: <https://novapak.prom.ua/p30656573-dozator-zhidkostej-past.html>
101. Формуватель коробів [Электронный ресурс] – Режим доступа: <https://hualian.com.ua/p688868226-formuvatel-korobiv-cxj.html>
102. *Streptomyces griseus* [Электронный ресурс]. Режим доступа: [\[http://bioweb.uwlax.edu\]](http://bioweb.uwlax.edu)
103. *Streptomyces griseus* [Электронный ресурс]. Режим доступа: [\[http://microbe-canvas.com/Bacteria.php?p=1282\]](http://microbe-canvas.com/Bacteria.php?p=1282)
104. Шакир И. В., Красноштанова А. А., Парфенова Е. В. Общая биотехнология. Лабораторный практикум: учеб. пособие, – М.: РХТУ им. Д. И. Менделеева, 2008. – 120 с.
105. Центрифуга лабораторная медицинская ОПН-0539 [Электронный ресурс]. Режим доступа: [\[http://www.tehno.com/specification/pasport\\_opn0539.pdf\]](http://www.tehno.com/specification/pasport_opn0539.pdf)

# ДОДАТКИ

[1]



Изобретение относится к микробиологическому производству препарата для борьбы с бактериальными и грибковыми болезнями растений. Способ получения препарата для борьбы с болезнями растений, содержащего в качестве действующего начала комплекс стрептотрициновых антибиотиков, включает подготовку посевного материала, выращивание продуцента - *Streptomyces griseus* штамм 420 на ферментационной среде, содержащей источники азота, углерода, минеральные соли и 0,01 -0,2% лизина, последующее концентрирование и высушивание культуральной жидкости и стандартизацию препарата. При подготовке посевного материала отбирают клоны с преимущественным образованием стрептотрицинов С и D с помощью тонкослойной хроматографии. Целесообразно для выращивания продуцента использовать среду следующего состава (%): мука кукурузная 3-5, меласса 1,5-2,0, лизин 0,01-0,2,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  или  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  0,6-0,7,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0,01-0,09, NaCl 0,05-0,25,  $\text{MgSO}_4$  0,005-0,05,  $\text{CaCO}_3$  0,5-1,5, пропинол 0,1-0,5, вода - остальное. Способ позволяет достичь выхода антибиотика 8-9 кг/м<sup>3</sup> культуральной жидкости. 2 з.п. ф-лы.

Изобретение относится к микробиологической промышленности, а именно к производству препарата для борьбы с бактериальными и грибковыми болезнями растений.

Одним из микробиологических препаратов, применяемых для борьбы с болезнями растений, является фитобактериомицин, который в качестве действующего начала содержит комплекс стрептотрициновых антибиотиков с преобладанием в нем стрептотрицинов С и D (Мельникова Е.А., Макарова Г.Я., Кругляк Е. Б. Антибактериальная активность и токсичность антибиотика фитобактериомицина и входящих в него стрептотрицинов // Физиологически активные вещества.- Киев, 1980.- N 12, стр. 93-96).

Известен способ получения препарата фитолавин, содержащего в своем составе фитобактериомицин, Фитолавин применяют для борьбы с бактериальными и грибковыми заболеваниями растений: корневыми гнилями

злаковых, бактериозами овощных культур и др. (Гаврилина Г.В., Лободюк В.Д., Периханова А.Г., Попков Г. П. , Софиенко И.А., Шепетуха И.М., Эстеркес Е.В. Результаты изучения фитолавина // Сб. научных трудов. Препараты микробиологического синтеза - сельскому хозяйству.- М" 1981, стр. 25-30).

Для получения фитолавина используют культуру *Streptomyces lavendulae* штамм 12-10 ВНИИбакпрепарат. Выращивание культуры ведут глубинным способом на жидкой питательной среде, содержащей источники углерода, азота и минеральные соли; после окончания ферментации культуральную жидкость концентрируют в вакууме, высушивают на распылительной сушилке и получают продукт, содержащий 100000 ед. антибиотика в г.

Антибиотический комплекс содержит стрептотрицина С - 17-27%; стрептотрицина D-45-55%.

Недостатком такого способа получения фитолавина является низкое содержание антибиотика в готовом продукте и невысокий его выход на конечной стадии производства.

В последнее время для производства фитолавина предлагается использовать другой вид микроорганизма, а именно *Streptomyces griseus*, в частности штамм *S. griseus*-420, в связи с его высокой продуктивностью, обеспечивающей большой выход с единицы производственного объема.

При использовании культуры *S. griseus* штамм 420 получают препарат фитолавин-300, содержащий 300000 ед./г. Антибиотический комплекс препарата содержит стрептотрицина С - 22% и стрептотрицина D - 54%. Производственные испытания фитолавина-300 показали его высокую эффективность в борьбе с болезнями растений (Быкова Г. А., Белых Е.Б., Строева И.А., Новикова И.И. Активность фитолавина, полученного на основе двух штаммов продуцентов // Защита растений от вредителей и болезней в условиях экологизации сельскохозяйственного производства. - С-Пб., 1992, стр. 66-70).

Однако на практике оказалось, что не каждый клон *S. griseus*-420 способен продуцировать стрептотрициновый комплекс, идентичный фитобактериомицину, т. е. продуцировать в основном стрептотрицины С и D. В ряде случаев появлялись

клоны, синтезирующие в основном стрептотрицин F, обладающий низкой антибактериальной и антигрибковой активностью.

Предлагаемое изобретение представляет собой способ получения препарата для борьбы с болезнями растений - фитолавина-300 с необходимым компонентным составом стрептотрицинового комплекса и высоким выходом целевого продукта.

Такой результат достигается путем отбора на стадии подготовки посевного материала штамма *Streptomyces griseus*-420 клонов, образующих в основном стрептотрицины C и D, а также путем оптимизации условий ферментации отобранных клонов, способствующих образованию стрептотрицинового комплекса необходимого состава, что достигается с помощью внесения в ферментационную среду лизина в количестве 0,01-0,2%.

Предлагаемый способ осуществляется следующим образом: В культуру *S. griseus* 420 на скошенном агаре добавляют дистиллированную воду и производят смыв спорового материала с косяка. Полученную после фильтрования через стеклянный фильтр N4 чистую суспензию единичных спор высевают на чашки Петри с глюкозо-картофельной агаризованной средой и растирают ее по чашке.

После культивирования при 28 °С в течение 12 дней проводят пересев 100 колоний с чашек Петри на скошенный глюкозо-картофельный агар и выращивают при 28 °С в течение 10 дней, после чего культуру проверяют на продуктивность. Для этого из каждой скошенной культуры берут по кусочку агаровой среды со спорами и вносят в качалочные колбы, емкостью 750 мл, со средой следующего состава (%): мука кукурузная - 4,0;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  - 0,03;  $(\text{NH}_4)\text{SO}_4$  - 0,06;  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  - 0,7;  $\text{NaCl}$  - 0,2;  $\text{MgSO}_4$  - 0,05,  $\text{CaCO}_3$  - 0,5; вода водопроводная - до 100 (приведены усредненные значения концентраций, которые для каждого отдельного компонента могут изменяться в интервале ±15%). Значение pH до стерилизации - 6,6-7,2. Выращивание ведут на качалке с числом оборотов 220 в мин и выращивают инокулят при температуре 28 °С в течение 24-30 час.

Затем инокулят из каждой колбы в количестве 5% переносят в колбы с ферментационной средой следующего состава (%): кукурузная мука - 3-5; меласса - 1,5-2,0; лизин - 0,01-0,2;  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  или  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  - 0,6-0,7;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  - 0,01-0,09;  $\text{NaCl}$  - 0,05- 0,25;  $\text{MgSO}_4$  - 0,005-0,05;  $\text{CaCO}_3$  - 0,5-1,5; пропиол - 0,1-0,5; вода водопроводная. Выращивание ведут на качалке при температуре 28 °C в течение 72 часов. Определение уровня антибиотикообразования и компонентный состав антибиотического комплекса проводят следующим образом: пробы культуральной жидкости из каждой колбы в количестве 20-25 мл подкисляют разбавленной соляной кислотой до pH 4,5 и, после выдерживания в течение 30 мин фильтруют через бумажный фильтр. В фильтратах определяют содержание антибиотика микробиологическим методом с использованием в качестве тест-культуры *Bac. subtilis* 6633 (ГФ XI, вып.2).

Компонентный состав антибиотической фракции определяют с помощью тонкослойной хроматографии на пластинках с силикагелем 60. В качестве подвижной фазы используют раствор следующего состава: ацетат натрия - 123,03 г, хлорид натрия - 58,44 г, спирт бутиловый третичный - 100 мл, вода дистиллированная - до 1000 мл.

Хроматографию проводят восходящим способом. По окончании хроматографирования пластинку высушивают на воздухе. Далее хроматограмму равномерно опрыскивают 0,2% раствором нингидрина в ацетоне. Пластинку прогревают в сушильном шкафу при 105°C в течение 5 мин. Компоненты стрептотрицинового комплекса проявляются в виде фиолетовых пятен на розовом фоне. Хроматографирование испытуемых образцов нативного раствора ведут в сравнении со стандартным образцом чистого фитобактериомицина, содержащим (в %): стрептотрицин В - 2,0 стрептотрицин С - 20,0 стрептотрицин D - 50,0 стрептотрицин Е - 13,0 стрептотрицин F - 15,0 По результатам хроматографирования отбирают клоны, образующие антибиотический комплекс, соответствующий стандартному образцу фитобактериомицина и используют их

для наработки посевного материала на скошенном агаре. Из 100 проверенных клонов только 15% образуют антибиотический комплекс необходимого состава.

Продуктивность отобранных клонов по антибиотикообразованию составляют 20000-36000 ед./мл.

Приготовленный посевной материал используют для производства препарата. Для чего вначале на качалке выращивают посевной материал в маточных колбах на среде следующего состава, %:

мука кукурузная	-	4,0
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	-	0,03
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	-	0,06
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	-	0,7
NaCl	-	0,2
MgSO <sub>4</sub>	-	0,05
CaCO <sub>3</sub>	-	0,5
вода (водопроводная)	-	до 100
pH	-	6,6-7,2

Через 24-36 часов роста при температуре 28 °С на качалке с 200-220 об/мин получают стандартный вегетативный посевной материал.

Этим посевным материалом в количестве 5% засевают посевные аппараты на предварительно простерилизованную питательную среду. Время выращивания - 24-36 часов. Затем полученный посевной материал передают в промышленные ферментаторы в количестве 5-10% на предварительно простерилизованную ферментационную среду следующего состава, %: кукурузная мука - 3-5; меласса - 1,5-2,0; лизин - 0,01- 0,2; (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> или NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> - 0,6 - 0,7; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> - 0,01 - 0,09; NaCl - 0,05 - 0,25, MgSO<sub>4</sub> - 0,005 - 0,05; CaCO<sub>3</sub> - 0,5-1,5; пропинол - 0,1- 0,5.

Процесс биосинтеза антибиотика идет 60-10 часов, при температуре 28 °С, расходе воздуха 1,0-1,5 м<sup>3</sup>/м<sup>3</sup> мин, при этом образуется 20000-33000 ед. /мл антибиотика. Процесс биосинтеза может осуществляться в безмешалочных ферментаторах.

Далее культуральную жидкость подкисляют до pH 5,0-5,5, упаривают на вакуум-выпарной установке до 10-12% сухих веществ, сушат на распылительной сушилке при температуре на входе 140-160°C, на выходе - 60-70°C. Стандартизируют мелом или каолином до получения препарата, содержащего 300000 ед./г, готовый препарат упаковывают в крафт-мешки по 10, 15, 20 кг. При этом потери антибиотика составляют 18 - 2 %.

Сведения, подтверждающие возможность осуществления изобретения  
 Пример 1. Приготовленный вышеописанным способом посевной материал штамма *Str. griseus-420* из пробирок на скошенном агаре пересеяли в маточные колбы со стерильным пеногасителем и питательной средой следующего состава, %:

мука	кукурузная	-	4,0
$\text{KH}_2\text{PO}_4$ -			0,03
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -			0,6
$\text{NH}_4\text{NO}_3$ -			0,7
$\text{NaCl}$		-	0,2
$\text{MgSO}_4$ -			0,05
$\text{CaCO}_3$ -			0,5
вода	водопроводная	-	до 100
pH		-	6,8-7,2

Через 24 часа роста при температуре 28 °C на качалке с 200-220 об/мин получили стандартный посевной материал.

Этим посевным материалом в количестве 5% засеяли посевные аппараты на вышеописанную предварительно простерилизованную питательную среду. Время выращивания - 24 часа. Затем полученным посевным материалом засеяли промышленные ферментаторы в количестве 5% на предварительно простерилизованную ферментационную среду следующего состава: кукурузная мука - 3%, меласса - 1,5; лизин - 0,01;  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  - 0,7;  $\text{NaCl}$  - 0,2;  $\text{MgSO}_4$  - 0,05;  $\text{CaCO}_3$  - 0,5; пропинол - 0,1. Время ферментации - 50 часов при температуре 28

1°C, расходе воздуха 1,0-1,5 м<sup>3</sup>/м<sup>3</sup> мин. Активность культуральной жидкости составила 30000 ед/мл. Содержание стрептотрицина С составило 22%, стрептотрицина D - 52%. Далее культуральную жидкость подкислили соляной кислотой до pH 5,0-5,5, упарили на вакуум-выпарной установке до 10% сухих веществ, сушили на распылительной установке при температуре воздуха на входе 150°C, на выходе - 65°C. Стандартизовали мелом, готовый препарат упаковывали в крафт-мешки по 20 кг. Потери по антибиотику составили 18 2%.

Пример 2. Подготовку посевного материала и технологию биосинтеза провели как в примере 1. Время выращивания посевного материала составило 36 часов. 10% посевного материала засеяли ферментационную среду следующего состава, %: кукурузная мука -5,0; меласса - 2,0; лизин - 0,1; КН<sub>2</sub>РО<sub>4</sub> - 0,03; NaCl - 0,2; MgSO<sub>4</sub> - 0,05; СаСО<sub>3</sub> - 0,5; пропинол -0,1 и вода. Время ферментации 70 часов при температуре 28 1°C. Активность культуральной жидкости 33000 ед/мл. Компонентный состав антибиотической фракции соответствовал стандартному образцу фитобактериомицина.

Далее культуральную жидкость подкислили до pH 5,5, упарили на вакуум-выпарной установке до 12% сухих веществ, сушили на распылительной сушилке при температуре воздуха 160°C на входе и 70°C на выходе. Стандартизовали каолином, готовый препарат упаковали в крафт-мешки по 20 кг. Потери по антибиотику составили 20%.

Пример 3. Подготовку посевного материала и биосинтез провели, как описано в примере 1. Время выращивания посевного материала составило 30 часов. 5% посевного материала засеяли ферментационную среду следующего состава, %: кукурузная мука - 4,0, меласса - 1,8, лизин - 0,05, КН<sub>2</sub>РО<sub>4</sub> - 0,03, NaCl - 0,2, MgSO<sub>4</sub> - 0,05, СаСО<sub>3</sub> - 0,5, пропинол - 0,1. Время ферментации - 60 часов при температуре 28 1°C. Активность культуральной жидкости 32000 ед./мл. По компонентному составу антибиотик соответствовал фитобактериомицину.

Далее культуральную жидкость подкислили до pH 5,5, упарили на вакуум-выпарной установке до 10% сухих веществ, сушили на распылительной сушилке при температуре на входе 140°C, на выходе - 60°C. Стандартизовали каолином, готовый препарат упаковывали в крафт-мешки по 20 кг. Потери по антибиотику составили 18%.

При использовании более обедненных ферментационных питательных сред (чем описано в примере 1) активность культуральной жидкости значительно снижается. При использовании более обогащенных ферментационных сред (чем описано в примере 2) получают густые среды и активность культуральной жидкости также значительно снижается.

Как видно из приведенных примеров, с помощью данного способа получения фитовлавина можно за 60-10 часов ферментации достичь активности культуральной жидкости 30000-33000 ед./мл или 10000-11000 мкг/мл и достичь выхода антибиотика 8-9 кг/м<sup>3</sup> культуральной жидкости.

#### Формула изобретения

1. Способ получения препарата для борьбы с болезнями растений, содержащего в качестве действующего начала комплекс стрептотрициновых антибиотиков, включающий подготовку посевного материала, выращивание продуцента на ферментационной среде, содержащей источники азота, углерода и минеральные соли, концентрирование и высушивание культуральной жидкости и стандартизацию препарата, отличающийся тем, что в качестве продуцента используют *Streptomyces griseus* штамм 420, при подготовке посевного материала ведут отбор клонов с преимущественным образованием стрептотрицинов С и D, а выращивание продуцента ведут на ферментационной среде, содержащей 0,01 - 0,2% лизина.

2. Способ по п.1, отличающийся тем, что выращивание продуцента ведут на ферментационной среде следующего состава, %:

Мука	кукурузная	-	3	-	5
------	------------	---	---	---	---

Меласса	-	1,5	-	2,0
Лизин	-	0,01	-	0,2
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> или	NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub> -	0,6	-	0,7
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> -	0,01	-	-	0,09
NaCl	-	0,05	-	0,25
MgSO <sub>4</sub> -	0,005	-	-	0,05
CaCO <sub>3</sub> -	0,5	-	-	1,5
Пропиол	-	0,1	-	0,5
Вода	-	-	-	Остальное

3. Способ по п.1, отличающийся тем, что отбор клонов при подготовке посевного материала ведут с помощью тонкослойной хроматографии.

#### **QB4A Регистрация лицензионного договора на использование изобретения**

Лицензиар(ы): **Мосин Владимир Александрович, Дриняев Виктор Антонович, Кругляк Елена Борисовна**

Вид лицензии\*: **НИЛ**

Лицензиат(ы): **ООО "Фармбиомедсервис"**

Договор № **РД0002958** зарегистрирован **13.10.2005**

Извещение опубликовано: **20.12.2005** **БИ: 35/2005**

\* ИЛ - исключительная лицензия      НИЛ - неисключительная лицензия

Изобретение относится к сельскому хозяйству. Средство для защиты растений от болезней содержит комплекс стрептотрициновых соединений в водном или водно-спиртовом экстракте высушенной культуральной жидкости продуцентов *Streptomyces lavendulae* или *Streptomyces griseus*, консервант, поверхностно-активное вещество, хитозан и мочевины при следующем соотношении компонентов (мас.%): Стрептотрициновый комплекс 3,5-4,5, ПАВ 5,0-10,0, консервант 0,5-1,0, хитозан 0,2-0,4, мочевина 0,4-0,8, этиловый спирт 0-75,0, вода - остальное. Изобретение позволяет реализовать указанное назначение.

1 з.п. ф-лы, 4 табл.

Изобретение относится к области сельского хозяйства и может быть использовано для защиты растений от болезней.

В последние годы отмечается усиление вредоносности бактериальных заболеваний сельскохозяйственных культур, что в известной степени связано с естественной сменой патогенного состава, обусловленной подавлением паразитических грибов гиперпаразитами. Усугубляет эту ситуацию и широкое использование фунгицидов: воздействуя селективно на грибковых возбудителей, они не затрагивают бактерий и тем самым освобождают им нишу.

Отдельные химические и микробиологические средства защиты растений могут подавлять некоторых возбудителей бактериальных болезней при своевременном применении в системе защитных и профилактических мероприятий, однако с бактериальными заболеваниями приходится сталкиваться тогда, когда они уже распространились и необходимы срочные меры.

Средств борьбы с бактериозами растений описано не так много. Среди них получило известность средство, действующее вещество которого имеет микробное происхождение. Продуцентами действующего вещества, представляющего собой комплекс стрептотрициновых соединений, являются почвенные актиномицеты *Str. lavendulae*, *Str. griseus* и др. (Хохлов А.С. Успехи в изучении стрептотрициновых антибиотиков. «Антибиотики и химиотерапия».

1983, с.613-622). Упомянутое средство, получившее название фитолавин, активно подавляет рост таких возбудителей бактериальных заболеваний как *Erwinia carotovora* (черная ножка), *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*, *Clavibacter michiganensis* (кольцевая гниль), *Ralstonia solanacearum* (бурая гниль), *Agrobacterium tumefaciens* (рак плодовых культур), *Xanthomonas campestris* (черная гниль томатов) и многие другие (Будынков Н.И. и др. «Эффективность препарата фитолавин-300 против заболеваний овощных культур защищенного грунта». «Гавриш», Москва, 2001, №1. с.26-28).

Описаны способы получения фитолавина, заключающиеся в глубинном культивировании продуцента *Str. lavendulae* на питательных средах и последующего концентрирования и высушивания культуральной жидкости (Сборник научных трудов «Препараты микробиологического синтеза - сельскому хозяйству». Киев, 1980, №12, с.93-96).

Известен способ получения фитолавина с использованием культуры *Str. griseus*-420 (патент RU 2144291, 2000 г.). Препарат, получаемый по указанному способу, представляющий собой высушенную способом распылительного высушивания культуральную жидкость, содержит 3,5-4,5% комплекса стрептотрицинов, что соответствует 250000-300000 ед. биологической активности в 1 г препарата. Фитолавин-300 СХП (сухой порошок), нашел широкое применение для защиты овощных культур открытого и закрытого грунта, картофеля, злаковых культур, ягодных кустарников, цветов и ряда других сельскохозяйственных культур от различных болезней бактериального и грибного происхождения. Препарат включен в «Список пестицидов и агрохимикатов, разрешенных для применения в Российской Федерации».

Однако несмотря на высокую эффективность и практическую значимость средство фитолавин, препаративной формой которого является сухой порошок, имеет существенный недостаток: способ применения фитолавина СХП состоит в смешивании его с водой (в практике используют 0,1-0,2% раствор). Используют раствор для предпосевной обработки семян и клубней, полива вегетирующих растений или подлива под корень. При смешивании препарата с водой в раствор

переходит действующее вещество, тогда как биомасса продуцента и остатки питательной среды, содержащиеся в сухом порошке, в воде не растворяются и являются балластом. При использовании современных средств для опрыскивания растений и для подлива под корень балластные частицы забивают форсунки и затрудняют использование средства, особенно это сказывается при малообъемном выращивании овощей в теплицах и при использовании препарата при обработке злаковых культур.

В настоящем изобретении предлагается усовершенствованная препаративная форма средства, представляющая собой водный или водно-спиртовой концентрат действующего вещества, содержащий ПАВ и другие формообразующие компоненты.

Предлагаемое изобретение осуществляется следующим образом: сухой фитолавин-300, получаемый известным способом, экстрагируют водой, подкисленной соляной кислотой до pH 3,0-4,0, или водным спиртом. Экстракт, содержащий действующее вещество, отделяют от биомассы фильтрацией под вакуумом и с целью обогащения его действующим веществом используют для обработки следующей порции сухого фитолавина. Для получения раствора с содержанием действующего вещества аналогично сухому препарату, то есть 3,5-4,5% стрептотрицинового комплекса проводят противоточную экстракцию из 3-4 ступеней. Для улучшения фильтруемости экстрагируемой массы в качестве экстрагента используют также смесь воды с этиловым спиртом. Содержание спирта в такой смеси может быть 50-75%.

В полученный экстракт, содержащий 3,5-4,5 (мас.%) стрептотрицинового комплекса, вносят консервант, ПАВ и другие формообразующие компоненты.

В качестве консерванта в жидкую форму фитолавина предпочтительно вносят пропилпарабен, обладающий противогрибковой активностью. В качестве ПАВ используют триэтиленгликоль или полиэтиленоксид-400, в качестве других формообразующих компонентов - хитозан или мочевины. Состав предлагаемой формы следующий (мас.%):

Стрептотрициновый комплекс	3,5-4,5
ПАВ	5,0-10,0
консервант	0,5-1,0
хитозан	0,2-0,4
мочевина	0,4-0,8
этиловый спирт	0-75,0
вода	остальное

Снижение содержания в предлагаемой форме ПАВ, пропилпарабена, хитозана и мочевины ниже указанных величин снижает эффективность препарата, увеличение их содержания - экономически нецелесообразно.

Полученный концентрат, представляющий собой жидкую препаративную форму фитолавина, содержащую комплекс стрептотрициновых соединений, по своей антибактериальной активности не отличается от сухой препаративной формы. В таблице 1 приведены сравнительные данные по действию фитолавина-300 СХП, содержащего 4% действующего вещества, и фитолавина в жидкой форме, также содержащего 4% д.в., на некоторых возбудителей бактериальных и грибных болезней растений *in vitro*.

Полученные данные свидетельствуют о том, что практически весь стрептотрициновый комплекс переходит в раствор при осуществлении процесса экстракции. Жидкая форма удобна в применении. Она не вызывает у работников, использующих ее, раздражений дыхательных путей, как пылящая порошкообразная форма, рабочий раствор, используемый для обработки растений, не забивает форсунки, хорошо смачивает листовую поверхность.

Предлагаемое изобретение может быть проиллюстрировано следующими примерами.

Пример 1

100 г сухого фитолавина-300, полученного на основе *Str. griseus*, экстрагировали водой, подкисленной до pH 3,5. Объем воды - 400 мл. Экстракцию проводили в течение 0,5 часа, после чего суспензию фильтровали под вакуумом; полученный экстракт использовали с целью обогащения для экстракции новой порции фитолавина. В итоге подобную экстракцию проводили 4 раза для обогащения экстракта действующим веществом. В результате получен экстракт с содержанием действующего вещества 4,2%. Содержание действующего вещества определяли известным микробиологическим методом (XI Госфармакопея) с использованием в качестве тест-культуры *Bac.subtilis*, а также методом ВЭЖХ. В полученный экстракт добавили 10% триэтиленгликоля; 1% пропилпарабена; 0,8% мочевины и 0,4% хитозана, pH раствора - 3,5.

#### Пример 2

Так же, как и в примере 1, 100 г сухого фитолавина-300 экстрагировали 400 мл 50% раствора этилового спирта. Так же, как и в примере 1, провели 4-кратное обогащение экстракта, после чего содержание действующего вещества в конечном экстракте составило 3,95%. В экстракт внесли 10% триэтиленгликоля; 1% пропилпарабена; 0,5% мочевины и 0,2% хитозана. pH раствора 4,0.

#### Пример 3

Так же, как и в примере 1, 100 г сухого фитолавина-300 экстрагировали 400 мл 75% раствора этилового спирта. Далее провели обогащение, как это сделано в 1 и 2 примерах. Содержание действующего вещества в конечном экстракте 3,75%. В экстракт внесли 5% полиэтиленоксида-400; 0,5% пропилпарабена; 0,4% мочевины и 0,2% хитозана. pH раствора 4,2.

#### Пример 4

Так же, как и в примере 1, 100 г сухого фитолавина-300 экстрагировали 300 мл 75% раствора этилового спирта. Экстракцию провели в 3 ступени. Конечный экстракт содержал 3,7% действующего вещества. В экстракт внесли 5% полиэтиленоксида-400; 0,5% пропилпарабена; 0,4% мочевины и 0,2% хитозана. pH раствора 4,0.

#### Пример 5

5 кг сухого фитолавина-300, полученного на основе, *Str. griseus*, экстрагировали 20 литрами 65% спирта. Дальнейшая экстракция состояла из 3-х стадий. Конечный экстракт содержал 3,9% действующего вещества.

В подготовленный описанным способом экстракт вносили по 0,5% пропилпарабена, 10% триэтиленгликоля, 0,2% хитозана и 0,4% мочевины. pH раствора - 4,2.

Эффективность действия приготовленных вариантов водорастворимого средства в сравнении с фитолавином-300 СХП проверяли в стационарных теплицах при заболеваниях растений огурца и томата: при бактериальной гнили огурца, раке томатов, бактериальном некрозе внутренних тканей. Результаты применения различных вариантов жидкой формы приведены в таблицах 2, 3 и 4. В качестве препарата сравнения использовали фитолавин СХП. Норма расхода для всех образцов 0,2%.

Приведенные в условиях тепличных комбинатов исследования показали, что по своей эффективности все варианты жидкой формы не уступали известной форме фитолавина-300 СХП, а при применении средства путем опрыскивания вегетирующих растений эффективность жидкой формы во всех случаях была выше.

При сравнении некоторых технологических параметров процесса получения различных вариантов (например, скорость фильтрации) предпочтение отдается варианту, в котором для экстракции использовали 65% спирт, что было показано в примере 5.

1. Средство для защиты растений от болезней, характеризующееся тем, что содержит комплекс стрептотрициновых соединений в водном или водно-спиртовом экстракте высушенной культуральной жидкости продуцентов *Streptomyces lavendulae* или *Streptomyces griseus*, консервант, поверхностно-активное вещество, хитозан и мочевину при следующем соотношении компонентов, мас. %:

стрептотрициновый комплекс	3,5-4,5
ПАВ	5,0-10,0
консервант	0,5-1,0
хитозан	0,2-0,4
мочевина	0,4-0,8
этиловый спирт	0-75,0
вода	остальное

2. Средство по п.1, отличающееся тем, что в качестве консерванта содержит пропилпарабен, а в качестве поверхностно-активного вещества содержит триэтиленгликоль или полиэтиленоксид - 400.