

НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ

Інститут (факультет) біотехнології та екологічного контролю

Кафедра біотехнології і мікробіології

Освітній ступінь бакалавр

Спеціальність 162 «Біотехнології та біоінженерія»

(код і назва)

Освітньо-професійна програма «Біотехнології: фармацевтична, промислова, харчова, природоохоронна»

(назва)

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри

біотехнології і мікробіології

Віктор Стабніков

«01» березня 2023 року

ЗАВДАННЯ

НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ ЗДОБУВАЧА

ОХМАКЕВИЧ Анастасії Миколаївни

(прізвище, ім'я, по батькові)

1. Тема роботи Біосинтез поверхнево-активних речовин *Rhodococcus erythropolis* ІМВ Ас-5017 за наявності *Escherichia coli* ІЕМ-1

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

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

затверджені наказом закладу вищої освіти від «28» березня 2023 року №193-кс

2. Строк подання здобувачем роботи 05.06. 2023

3. Вихідні дані до роботи: біологічний агент: *Rhodococcus erythropolis* ІМВ Ас-5017;
цільовий продукт: поверхнево-активні речовини; геометричний об'єм ферментера:
250 л; коефіцієнт заповнення: 0,6

4. Зміст пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно розробити)

Характеристика цільового продукту; обґрунтування вибору та характеристика біологічного агента; техніко-економічне обґрунтування; біосинтез цільового продукту; обґрунтування вибору технологічної схеми; специфікація обладнання доферментаційних процесів та виробничого біосинтезу; опис технологічної схеми доферментаційних процесів та виробничого біосинтезу; контроль виробництва; аналіз перспектив впровадження системи екологізації виробництва; нормативно-технічна документація, використана під час проектування виробництва.

5. Перелік графічного матеріалу

Технологічна схема біосинтезу поверхнево-активних речовин – 2 аркуші формату А1

Апаратурна схема біосинтезу поверхнево-активних речовин – 1 аркуш формату А1

6. Консультанти розділів кваліфікаційної роботи

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

7. Дата видачі завдання 01 березня 2023 року

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№ з.п.	Назва етапів виконання кваліфікаційної роботи	Термін виконання етапів роботи	Примітка
1.	<i>Характеристика цільового продукту</i>	01.03.2023- 07.03.2023	
2.	<i>Обґрунтування вибору та характеристика біологічного агента</i>	08.03.2023- 14.03.2023	
3.	<i>Техніко-економічне обґрунтування</i>	15.03.2023- 21.03.2023	
4.	<i>Біосинтез цільового продукту</i>	22.03.2023- 28.03.2023	
5.	<i>Обґрунтування вибору технологічної схеми</i>	29.03.2023- 04.04.2023	
6.	<i>Специфікація обладнання доферментаційних процесів та виробничого біосинтезу</i>	05.04.2023- 11.04.2023	
7.	<i>Опис технологічної схеми доферментаційних процесів та виробничого біосинтезу</i>	12.04.2023- 18.04.2023	
8.	<i>Контроль виробництва</i>	19.04.2023- 25.04.2023	
9.	<i>Аналіз перспектив впровадження системи екологізації виробництва</i>	26.04.2023- 02.05.2023	
10.	<i>Нормативно-технічна документація, використана під час проектування виробництва</i>	03.05.2023- 09.05.2023	
11.	<i>Оформлення кваліфікаційної роботи</i>	10.05.2023- 19.05.2023	
12.	<i>Оформлення графічної частини</i>	22.05.2023- 31.05.2023	

Здобувач

(підпис)

Керівник роботи

(підпис)

Анастасія ОХМАКЕВИЧ

(ім'я та прізвище)

Тетяна ПИРОГ

(ім'я та прізвище)

ЗМІСТ

РЕФЕРАТ.....	6
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ.....	7
ВСТУП.....	8
РОЗДІЛ 1. Характеристика комплексу поверхнево-активних речовин <i>Rhodococcus erythropolis</i> ІМВ Ас-5017.....	10
1.1. Хімічний склад.....	10
1.2. Роль у деструкції ксенобіотиків.....	10
1.3. Антимікробна активність.....	11
1.4. Антиадгезивна активність.....	14
1.5. Здатність до руйнування біоплівок.....	16
РОЗДІЛ 2. Обґрунтування вибору та характеристика біологічного агента.....	18
2.1. Обґрунтування вибору біологічного агента та поживного середовища для його культивування.....	18
РОЗДІЛ 3. Техніко-економічне обґрунтування.....	24
3.1. Розрахунок потреби у поверхнево-активних речовинах, синтезованих <i>Rhodococcus erythropolis</i> ІМВ Ас-5017 за наявності <i>Escherichia coli</i> ІЕМ-1.....	24
3.2. Розрахунок потужності виробництва.....	26
3.3. Розрахунок кількості виробничих циклів та геометричного об'єму ферментера для біосинтезу ПАР.....	27
3.4. Розрахунок кількості стадій підготовки посівного матеріалу для біосинтезу ПАР <i>Rhodococcus erythropolis</i> ІМВ Ас-5017.....	27
3.5. Розрахунок кількості стадій підготовки посівного матеріалу для індуктору <i>Escherichia coli</i> ІЕМ-1.....	28
РОЗДІЛ 4. Біосинтез трегалозоміколатів при культивуванні <i>Rhodococcus erythropolis</i> ІМВ Ас-5017 на етанолі.....	29
4.1. Шляхи катаболізму ростового субстрату у <i>Rhodococcus erythropolis</i> ІМВ Ас-5017.....	29
4.2. Біотрансформація ростового субстрату у цільовий продукт.....	30
РОЗДІЛ 5. Обґрунтування вибору технологічної схеми.....	33

5.1. Обґрунтування доферментаційних процесів та виробничого біосинтезу..	33
5.1.1. Обґрунтування способу культивування і типу ферментера.....	33
5.1.2. Обґрунтування вибору стадії підготовки аераційного повітря.....	36
5.1.3. Вибір мийних та дезінфікуючих засобів.....	37
5.1.4. Особливості підготовки та стерилізації поживного середовища...	46
РОЗДІЛ 6. Специфікація обладнання доферментаційних процесів та виробничого біосинтезу.....	58
РОЗДІЛ 7. Опис технологічної схеми доферментаційних процесів та виробничого біосинтезу.....	60
РОЗДІЛ 8. Контроль виробництва.....	73
8.1. Мікробіологічний контроль.....	78
8.1.1. Висів на агаризовані поживні середовища.....	79
8.1.2. Мікроскопіювання.....	80
8.2. Показники росту і синтезу поверхнево-активних речовин	82
8.2.1. Концентрація біомаси.....	82
8.2.2. Концентрація поверхнево-активних речовин.....	82
8.2.3. Концентрація джерела вуглецю і азоту.....	83
РОЗДІЛ 9 Аналіз перспектив впровадження системи екологізації виробництва.....	84
9.1 Системи знешкодження рідких відходів.....	84
9.1.1. Розрахунок орієнтовного об'єму стічних вод.....	84
9.1.2. Визначення середніх витрат стічних вод від промислового підприємства.....	86
9.1.3. Система очищення стічних вод.....	87
9.2 Системи знешкодження газоподібних відходів.....	89
9.3 Системи знешкодження твердих відходів.....	90
РОЗДІЛ 10. Нормативно-технічна документація, використана під час проектування виробництва.....	92
ВИСНОВКИ.....	97
ЛІТЕРАТУРА.....	99
ДОДАТКИ.....	107

РЕФЕРАТ

Кваліфікаційна робота присвячена розробці технологічної та апаратурної схеми процесу біосинтезу поверхнево-активних речовин (скорочено ПАР) *Rhodococcus erythropolis* ІМВ Ас-5017 за наявності *Escherichia coli* ІЕМ-1. Продукт під час культивування у середовищі з етанолом як джерелом вуглецю синтезує 1,5 г/л ПАР. Поверхнево-активні речовини пропонується використовувати як доповнення до складу дезінфікуючих розчинів для обробки зубних протезів. Відповідно до даних Державної служби статистики України щодо використання щодо кількості людей похилого віку в Києві і використання ними зйомних зубних протезів, розрахована потужність виробництва становить 2859 л культуральної рідини за рік.

У технології виробництва ПАР передбачено проведення допоміжних робіт (таких як підготовка аераційного стерильного повітря, приготування титрувальних агентів – розчинів HCl та NaOH, також приготування і стерилізація запасних розчинів $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ та глюкози, приготування та стерилізація поживних середовищ задля вирощування продуцента та індуктора) та технологічного процесу (дві стадії одержання посівного матеріалу *R.erythropolis* ІМВ Ас-5017, дві стадії одержання посівного матеріалу *E. coli* ІЕМ-1, а також виробничий біосинтез у ферментаторі об'ємом 250 л з коефіцієнтом заповнення 0,6), а також знешкодження відходів. Складено карту постадійного контролю доферментаційних процесів, виробничого біосинтезу, а також вказано методики контролю концентрації утвореної біомаси, цільового продукту (ПАР), нітратного азоту, етанолу та глюкози.

Кваліфікаційна робота викладена на 106 сторінках, містить 23 таблиці, 6 рисунків, складається з переліку умовних позначень, вступу, десяти розділів, висновків, списку використаної літератури (68 найменувань), 21 додатка, апаратурної (формат А1, 1 аркуш) та технологічної (формат А1, 2 аркуші) схеми.

Ключові слова: бактерії *Rhodococcus erythropolis* ІМВ Ас-5017, *Escherichia coli* ІЕМ-1, індуктор, поверхнево-активні речовини, зйомні зубні протези, біосинтез, етанол.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

ПАР	поверхнево-активні речовини
КФ	класифікація ферментів
НДМА	4-нітрозо-N,N-диметиланілін
НАД	нікотинамідаденіндинуклеотид
НАДФ	нікотинамідаденіндинуклеотидфосфат
КоА	коензим А
ГТФ	гуанозинтрифосфат
KEGG	Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes
МПА	м'ясо-пептонний агар
СА	сусло-агар
ГКА	глюкозо-картопляний агар

ВСТУП

Останніми роками зростає попит на синтетичні поверхнево-активні речовини (ПАР), які володіють різноманітними властивостями, у багатьох галузях, таких як: медицина, фармацевтична, харчова, екологічна, нафтодобувна промисловість, сільське господарство тощо. Проте розвиток біотехнологій привернув увагу дослідників до ПАР мікробного походження, які мають значні переваги над синтетичними аналогами [1]: екологічна перевага (легка біодеградабельність), економічна (синтез цільового продукту із відносно недорогої сировини, можливо із відходів промислових виробництв), стабільність властивостей при різних значеннях рН і температури, відсутність токсичності, складну структуру комплексу мікробних ПАР важко створити за допомогою хімічного синтезу.

Промислове виробництво ПАР мікробного походження в Україні ще не набуло масштабного характеру, тому що воно стримується високими грошовими витратами на біосинтез (вартість сировини), на виділення і очищення продукту, а також через недостатню продуктивність багатьох продуцентів. Таким чином, варто шукати штами-продуценти мікробних ПАР, які ростуть на дешевших за вуглеводні (глюкоза, сахароза) і вуглеводневі (гексадекан тощо) субстратах (наприклад, етанол чи гліцерол, а також відходи інших виробництв) і які синтезують велику кількість цільового продукту (штами-надсинтетики), а також впроваджувати у процес дешевші технології виділення та очищення або по можливості вилучити цю стадію [2].

Серед усіх мікроорганізмів-продуцентів ПАР можна виокремити актинобактерії роду *Rhodococcus*. Ринковий інтерес до представників роду *Rhodococcus* зумовлений унікальними особливостями їх метаболізму, зокрема, здатністю до деструкції багатьох ксенобіотиків, що відбувається за участі синтезованих цими актинобактеріями поверхнево-активних речовин. Від описаних у літературі представників роду *Rhodococcus* вигідно відрізняється штам *Rhodococcus*

					НУХТ БТЕК 04.01.02 КР ПЗ			
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата				
Розробив		Охмакевич			ВСТУП	Літ.	Арк.	Аркуші
Перевірів		Пирог Т.П.					8	2
Реценз.						Кафедра БТМ		
Н. Контр.								
Затверд.		Стабніков						

erythropolis IMB Ac-5017, який має такі переваги (цит. за [3]) :

- синтезує позаклітинні ПАР на широкому спектрі вуглецевих субстратів, включаючи токсичні промислові відходи;
- окрім високої ефективності розкладання нафтових забруднень, включаючи й комплексні з важкими металами, ПАР характеризуються високою антимікробною та антиадгезивною активністю;
- антимікробна та антиадгезивна активність, у т.ч. здатність до деструкції біоплівки, притаманна супернатанту культуральної рідини, що дає можливість вилучити з технологічного процесу дороговартісну стадію виділення та очищення ПАР;
- окрім позаклітинних ПАР, даний штам синтезує також фітогормони ауксинової, цитокінінової, гіберелінової природи, що справді робить його перспективним для розробки інтегрованої безвідходної біотехнології отримання мікробного комплексного препарату з різними біологічними властивостями.

Відомості щодо біологічних властивостей ПАР представників роду *Rhodococcus* обмежені, оскільки вони характеризуються нижчою антимікробною активністю порівняно з іншими відомими у світі поверхнево-активними речовинами мікробного походження (аміноліпідами, рамноліпідами) [4]. У роботі [5] було встановлено, що можна суттєво підвищити антимікробну активність ПАР *R.erythropolis* IMB Ac-5017 введенням у середовище культивування продуцента конкурентних мікроорганізмів (біологічних індукторів), зокрема *Escherichia coli* IEM-1.

Мета кваліфікаційної роботи – проектування промислової ділянки доферментаційних процесів та виробничого біосинтезу (розробка технологічної, апаратурної схем) ПАР *Rhodococcus erythropolis* IMB Ac-5017 за наявності *Escherichia coli* IEM-1.

Новизною даної роботи є масштабування розробленої в лабораторних умовах технології [5] культивування *R.erythropolis* IMB Ac-5017 за наявності живих клітин *E. coli* IEM-1 з метою одержання комплексу поверхнево-активних речовин з високою антимікробною активністю.

РОЗДІЛ 1. ХАРАКТЕРИСТИКА КОМПЛЕКСУ ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИХ РЕЧОВИН *Rhodococcus erythropolis* ІМВ Ас-5017

Мікробні поверхнево-активні речовини (ПАР), мають дифільну структуру: містять гідрофільну (карбонова кислота, амінокислоти, пептиди, білки, вуглеводи) та гідрофобну частину (жирні спирти, жирні кислоти). ПАР мікробного походження мають значні переваги над синтетичними аналогами: біорозкладання, менша токсичність, безпечна взаємодія з навколишнім середовищем. Проте процес отримання мікробних ПАР у виробничих масштабах гальмується високою вартістю. Тому необхідно використовувати дешеві субстрати (включаючи відходи виробництва), нові штами-надсинтетики ПАР, шукати більш рентабельні методи виділення та очищення цільового продукту, а також оптимізувати склад поживних середовищ та умови культивування [6, 7].

1.1. Хімічний склад

Цільовий продукт, синтезований штамом *Rhodococcus erythropolis* ІМВ Ас-5017 на етанолі, - це комплекс поверхнево-активних речовин (ПАР), який складається з гліколіпідів (моно- та диміколати трегалози), нейтральних ліпідів (цетиловий спирт, пальмітинова кислота, метилпентадеканова кислота, тригліцериди, міколові кислоти) та аміноліпідів [8]. Якісний склад ПАР визначали методом тонкошарової хроматографії з наступною візуалізацією хроматограм обробкою нінгідрином (аміноліпіди), анісовим альдегідом і антроновим реагентом (гліколіпіди), розчиненої в етанолі фосфомолібденової кислоти та парів йоду (нейтральні ліпіди) [9].

1.2. Роль у деструкції ксенобіотиків

ПАР, синтезовані бактеріями *R. erythropolis* ІМВ Ас-5017, насамперед цікаві тим, що відіграють ключову роль у деградації ксенобіотиків – нафтових забруднень, включаючи також комплексні з важкими металами [3].

ПАР бере участь в інтенсифікації розкладання нафтових забруднень у воді та ґрунті. Імовірно, що основний механізм дії ПАР при деструкції ксенобіотиків

					НУХТ БТЕК 04.01.02 КР ПЗ		
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата			
Розробив	Охмакевич				Лім.	Арк.	Аркушів
Перевірів	Пирог Т.П.					10	8
Реценз.					10		
Н. Контр.					Кафедра БТМ		
Затверд.	Стабніков						

полягає в активації ними природної нафтоокислювальної мікробіоти у відповідних середовищах [10].

Так, ступінь деградації нафти становив 92,3% і 83,1% при початковій концентрації у воді 2,6 г/л через 30 днів після однієї обробки препаратами ПАР (постферментаційна культуральна рідина і супернатант відповідно) у концентрації 5% від об'єму води. Результати були помітні вже на сьомий день - масляна плівка нафтових забруднень втрачала свою маслянистість і перетворювалась на купу дрібних пластівців, причому одна частина лишалась на поверхні води, а друга – осідала на дно [11].

Ступінь деградації комплексу нафтових забруднень (2 г/л) з Cu^{2+} (0,01 мМ та 0,05 мМ) становив 95% і 75% відповідно через 20 днів після обробки ПАР у вигляді культуральної рідини у концентрації 5% від об'єму води [11].

R. erythropolis ІМВ Ас-5017 здатні розкладати деякі ксенобіотики ароматичної природи, використовуючи їх як єдине джерело вуглецю та енергії для біосинтезу ПАР. Дані бактерії можуть рости на фенолі і толуолі у концентрації 0,5%, проте вищі концентрації цих речовин проявили токсичну дію на клітини. Бензол і нафталін навіть у невисоких концентраціях пригнічують біосинтез ПАР [12].

1.3. Антимікробна активність

Відомо, що механізм антимікробної дії мікробних ПАР полягає у руйнуванні цитоплазматичних мембран клітин, причому ПАР проходять через клітинну стінку і не ушкоджують її. Окрім того, речовини проходять всередину клітин і взаємодіють з ядерною мембраною і, можливо, з мембранами інших органел [13].

Доведено, що ПАР спричиняє інгібуючу дію проти фітопатогенних бактерій родів *Pseudomonas* та *Xantomonas*. Встановлено, що за наявності препаратів ПАР (розчини ПАР, екстрагованих з супернатанту сумішшю Фолча, або супернатант; 0,4 мг/мл) виживання клітин фітопатогенних тест-культур (10^5 - 10^7 на мл суспензії) через 2 год становило 10-70% [14].

Антимікробну активність ПАР аналізували також за показником мінімальної інгібуючої концентрації (МІК). Так, МІК ПАР, синтезованих у середовищі з етанолом, щодо бактерій *Bacillus subtilis* БТ-2, *Enterobacter cloacae* С-8,

Staphylococcus aureus БМС-1, *Escherichia coli* ІЕМ-1, *Proteus vulgaris* ПА-12, дріжджів *Candida albicans* Д-6, *Candida utilis* ЕІ-8 та грибів *Aspergillus niger* Р-3 становило 15-500 мкг/мл [15].

Зазначимо проте, що ПАР *R. erythropolis* ІМВ Ас-5017 характеризуються нижчою антимікробною активністю, ніж софороліпіди (МІК 10-200 мкг/мл) і аміноліпіди (1-32 мкг/мл) [15, 16].

З цієї причини варто шукати методи підвищення антимікробної активності ПАР. Один із таких способів – культивування продуцента разом з індуктором. Ним може бути, наприклад, *E. coli* ІЕМ-1. Так, МІК ПАР, синтезованих без індуктора, проти *E. coli* ІЕМ-1, *S. aureus* БМС-1 і *B. subtilis* БТ-2 становить по 48 мкг/мл. МІК ПАР, синтезованих з індуктором *E. coli* ІЕМ-1, становить 6, 3 та 12 мкг/мл проти тих же бактерій відповідно. Таким чином, антимікробна активність цільового продукту підвищується у 4-16 разів [5].

У роботі [15] було встановлено, що підвищити антимікробну активність ПАР *R. erythropolis* ІМВ Ас-5017 можна додаванням у поживне середовище катіонів Ca^{2+} у вигляді CaCl_2 у концентрації 0,1 г/л. Ca^{2+} є активатором ключового ферменту біосинтезу поверхнево-активних аміноліпідів у *R. erythropolis* ІМВ Ас-5017 – НАДФ⁺-залежної глутаматдегідрогенази, який каталізує перетворення 2-оксоглутарату на глутамат. Глутамат є донором аміногруп у подальшому біосинтезі аміноліпідів. Додаткове внесення катіонів кальцію підвищувало активність ферменту. Так, МІК ПАР, одержаних у середовищі з кальцієм хлоридом, щодо тест-культур бактерій, дріжджів роду *Candida* і мікроміцетів *A. niger* Р-3 були в 1,2-5 разів нижчими, ніж МІК ПАР, синтезованих на базовому середовищі за відсутності катіонів кальцію [15].

Дані щодо антимікробної активності ПАР, синтезованих у різних умовах культивування *R. erythropolis* ІМВ Ас-5017, узагальнено у табл. 1.1.

Антимікробна активність ПАР *R. erythropolis* ІМВ Ас-5017 [5, 15]

Умови культивування	Мінімальні інгібуючі концентрації (мкг/мл) щодо тест-культур							
	<i>B. subtilis</i> БТ-2	<i>E. cloaceae</i> С-8	<i>S. aureus</i> БМС-1	<i>P. vulgaris</i> ПА-12	<i>E. coli</i> ІЕМ-1	<i>C. albicans</i> Д-6	<i>C. utilis</i> ЕІ-8	<i>A. niger</i> Р-3
Базове середовище	60 або 48	240	120 або 48	120	15 або 48	>480	120	500
Підвищення концентрації катіонів кальцію у середовищі	25	50	25	50	12,5	25	25	100
Наявність у середовищі живих клітин <i>Escherichia coli</i> ІЕМ-1	12	-	3	-	6	-	-	-

Примітки. Культивування здійснено на середовищі з етанолом; «-» - дані не наведено.

1.4. Антиадгезивна активність

Механізм антиадгезивної активності мікробних ПАР полягає у зміні фізико-хімічних властивостей поверхонь, оброблених цими ПАР. Адсорбція ПАР на абіотичних матеріалах змінює їх гідрофільність або гідрофобність, що перешкоджає адгезії мікроорганізмів [17].

Комплекс ПАР *R. erythropolis* ІМВ Ас-5017, синтезований на соняшниковій олії, володіє антиадгезивними властивостями, причому як у вигляді розчинів ПАР, екстрагованих з супернатанту сумішшю Фолча, так і супернатанту. Так, розчини ПАР у невисоких концентраціях (0,06-0,12 мг/мл) ефективно (на 10-70%) знижували адгезію клітин *E. coli* ІЕМ-1 та *C. albanis* Д-6 на акриловому матеріалі та на силіконовому базисі (зубних протезів). Так само і за наявності супернатанту в аналогічних концентраціях спостерігали зниження адгезії на цих медичних матеріалах клітин *P. vulgaris* БТ-1, *S. aureus* БМС-1, *Pseudomonas aeruginosa* П-55 та *E. cloacae* АС-22 на 50-85% [18].

Культивування продуцента разом з індуктором підвищує антиадгезивні властивості ПАР, синтезованих на етанолі. Наприклад, після обробки матеріалу ПАР, синтезованих за наявності індуктора *E. coli* ІЕМ-1, адгезія *C. albanis* Д-6 на кераміці становила 8-13%, на сталі – 7-15%, на склі – 7-24%. А після обробки ПАР, синтезованих без індуктора адгезія того ж мікроорганізму складала 42-87% на кераміці, 33-76% на сталі та 38-83% на склі. Також зниження адгезії спостерігається і для клітин *S. aureus* БТ-2: після обробки ПАР, синтезованих з індуктором – 24-34% на кераміці, 23-38% на сталі та 23-33% на склі; у той час як після обробки ПАР, синтезованих за відсутності індуктора, 50-72% на кераміці, 43-64% на сталі та 41-46% на склі [5].

Внесення катіонів Ca^{2+} у вигляді CaCl_2 у концентрації 0,1 г/л у поживне середовище приводило до утворення ПАР, після обробки якими адгезія клітин бактерій, дріжджів і мікроміцетів на пластику, кахелі, склі та лінолеумі знижувалась на 12-50% порівняно із застосуванням ПАР, синтезованих на середовищі без кальцію хлориду [15]. Дані щодо антиадгезивної активності ПАР, синтезованих у різних умовах культивування *R. erythropolis* ІМВ Ас-5017, узагальнено у табл. 1.2.

Антиадгезивна активність ПАР *R. erythropolis* ІМВ Ас-5017 [5, 15]

Умови культивування	Адгезія, %											
	<i>B. subtilis</i> БТ-2		<i>E. coli</i> ІЕМ-1		<i>S. aureus</i> БТ-2		<i>C. albicans</i> Д-6		<i>C. utilis</i> ЕІ-8		<i>A. niger</i> Р-3	
	кахель	сталь	кахель	сталь	кахель	сталь	кахель	сталь	кахель	сталь	кахель	сталь
Базове середовище	95	95	43	76	60	52	36* або 58	95* або 58	37	46	70*	95*
Підвищення концентрації катіонів кальцію у середовищі	69	71	20	64	-	-	11*	47*	15	39	45*	47*
Наявність у середовищі живих клітин <i>Escherichia coli</i> ІЕМ-1	-	-	-	-	34	33	10	15	-	-	-	-

Примітки. Культивування здійснено на середовищі з етанолом. Концентрація ПАР – 5 мкг/мл, * - 50 мкг/мл; «-» - дані не наведено.

1.5. Здатність до руйнування біоплівок

Механізм руйнування біоплівки за допомогою мікробних ПАР полягає, імовірно, в утворенні каналів всередині біоплівки, що підвищує її проникність [19].

Культивування продуцента ПАР *R. erythropolis* ІМВ Ас-5017 разом з індуктором *E. coli* ІЕМ-1 підвищує здатність цільового продукту до руйнування біоплівки. Так, застосування ПАР, синтезовані за наявності індуктора, концентрацією 3-192 мкг/мл приводить до руйнування біоплівки *B. subtilis* БТ-2 на 58-81%, а ПАР, синтезовані без індуктора, такого ж діапазону концентрації, - на 48-65% [5].

Комплекс ПАР володіє здатністю до руйнування біоплівки, утворюваних такими бактеріями, як, наприклад: *E. coli* ІЕМ-1, *B. subtilis* БТ-2, *S. albanis* Д-6 та *S. utilis* ЕІ-8. Внесення катіонів Ca^{2+} у вигляді CaCl_2 у концентрації 0,1 г/л у поживне середовище підвищує здатність синтезованих ПАР до деструкції біоплівки цих мікроорганізмів [15].

Дані щодо здатності ПАР до руйнування біоплівки, синтезованих у різних умовах культивування *R. erythropolis* ІМВ Ас-5017, узагальнено у табл. 1.3.

Здатність до руйнування біоплівки ПАР *R. erythropolis* ІМВ Ас-5017 [5, 15]

Умови культивування	Руйнування біоплівки, %					
	<i>B. subtilis</i> БТ-2	<i>E. coli</i> ІЕМ-1	<i>S. aureus</i> БМС-1	<i>Pseudomonas</i> sp. МІ-2	<i>C. albicans</i> Д-6	<i>C. utilis</i> ЕІ-8
Базове середовище	20 або 50,1	46 або 35,1	31,9	39,3*	49 або 32,5*	45
Підвищення концентрації катіонів кальцію у середовищі	40	53	-	-	55	55
Наявність у середовищі живих клітин <i>Escherichia coli</i> ІЕМ-1	60,7	71,6	40,6	64,3*	56,2*	-

Примітки. Культивування здійснено на середовищі з етанолом. Концентрація ПАР – 3-8 мкг/мл, * - 25-50 мкг/мл, «-» - дані не наведено.

РОЗДІЛ 2. ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТА ХАРАКТЕРИСТИКА БІОЛОГІЧНОГО АГЕНТА

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

На території України промислове виробництво ПАР мікробного походження поки що не набуло масштабного характеру. Воно стримується через високі грошові витрати на біосинтез (вартість сировини), на виділення і очищення продукту, а також через недостатню продуктивність багатьох продуцентів. Таким чином, варто шукати штами-продуценти мікробних ПАР, які ростуть на дешевших за вуглеводні (глюкоза, сахароза) і вуглеводневі (гексадекан тощо) субстратах (наприклад, етанол чи гліцерол, а також відходи інших виробництв) і які синтезують велику кількість цільового продукту (штами-надсинтетики), а також впроваджувати у процес дешевші технології виділення та очищення або по можливості вилучити цю стадію [20].

Крім *Rhodococcus erythropolis* IMB Ac-5017, відомі й інші штами, здатні до синтезу комплексу мікробних ПАР, основними компонентами яких є трегалозоліпіди (табл. 2.1).

Дані, які наведені у табл. 2.1, свідчать, що майже однакову кількість ПАР синтезують *R. erythropolis* IMB Ac-5017, *R. erythropolis* P6-4P та *R. erythropolis* sH-5, проте час культивування штамів, а також і склад поживних середовищ є дійсно різними.

Так, розглянуті штами *R. erythropolis* синтезують ПАР на етанолі, глюкозі та сахарозі. Загальний вміст солей у середовищі є найменшим для *R. erythropolis* IMB Ac-5017. Для *R. erythropolis* Au-1 та *R. erythropolis* P6-4P необхідні фактори росту, джерелом яких є дріжджовий екстракт, для останнього штаму також потрібний розчин мікроелементів.

					НУХТ БТЕК 04.01.02 КР ПЗ			
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата				
Розробив		Охмакевич			РОЗДІЛ 2. ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТА ХАРАКТЕРИСТИКА БІОЛОГІЧНОГО АГЕНТА	Літ.	Арк.	Аркуші
Перевірів		Пирог Т.П.					18	6
Реценз.						18		
Н. Контр.						Кафедра БТМ		
Затверд.		Стабніков						

Тому на подальшому етапі вибору біологічного агенту визначимо вартість поживних середовищ для культивування обраних мікроорганізмів (табл. 2.2).

Як бачимо з даних, що наведені нижче у табл. 2.2, середовище для культивування *R. erythropolis* ІМВ Ас-5017 є приблизно у 3,5 та 5,7 рази дешевшим, ніж для *R. erythropolis* Р6-4Р та *R. erythropolis* sH-5 відповідно. Також варто зазначити, що тривалість культивування *R. erythropolis* ІМВ Ас-5017 та *R. erythropolis* Р6-4Р є нижчою, ніж для *R. erythropolis* sH-5.

Для остаточного вибору найефективнішого біологічного агента визначаємо умовну вартість 1 г даного цільового продукту (табл. 2.3). Дані, які наведені нижче у табл. 2.3, свідчать про те, що умовна вартість ПАР, синтезованих штамом *R. erythropolis* ІМВ Ас-5017, є найнижчою (0,28 грн/г), а кількість утворених ПАР за 1 год – найвищою (0,013 г/год).

Крім того, перевагою використання *R. erythropolis* ІМВ Ас-5017 перед іншими родококами є те, що синтезовані цим штамом ПАР є мультифункціональними, тобто здатні до декструкції ксенобіотиків і володіють високою біологічною активністю – антимікробною, антиадгезивною та здатністю до руйнування біоплівки. При цьому ПАР інших родококів використовуються для декструкції ксенобіотиків, а відомості у літературі про їх біологічну активність дуже обмежені [4].

Особливості одержання ПАР різними продуцентами

Біологічний агент	Склад поживного середовища		Час культивування, год	Концентрація ПАР, г/л	Процес біосинтезу. Особливості	Посилання на літературу
	компонент середовища	концентрація компонентів, г/л				
№1	№2	№3	№4	№5	№6	№7
<i>Rhodococcus erythropolis</i> IMB Ac-5017	Етанол; NaNO ₃ ; NaCl; Na ₂ HPO ₄ ; KH ₂ PO ₄ ; MgSO ₄ ×7H ₂ O; FeSO ₄ ×7H ₂ O.	2% (об'ємна частка), або 16 г/л 1, 3 1,0 0,6 0,14 0,1 0,001	120	1,5 (неопубліковані експериментальні дані)	Культивування здійснюють у колбах об'ємом 750 мл, наповнених 100 мл середовища на качалці (при t° = 30°C; n = 320 об/хв) за наявності біологічного індуктора (2,5 мл суспензії живих клітин <i>Escherichia coli</i> IEM-1 на 100 мл середовища)	Pirog T., Kluchka L., Skrotska O., Stabnikov V. The effect of co-cultivation of <i>Rhodococcus erythropolis</i> with other bacterial strains on biological activity of synthesized surface-active substances. <i>Enzyme and Microbial Technology</i> . 2020, 142: 109677. doi: 10.1016/j.enzmictec.2020.109677.
<i>Rhodococcus erythropolis</i> P6-4P	Глюкоза; NaNO ₃ ; K ₂ HPO ₄ ×3H ₂ O; KH ₂ PO ₄ ; NaCl; дріжджовий екстракт; MgSO ₄ ×7H ₂ O; FeSO ₄ 7H ₂ O;	5 1,5 4.4 3.4 2.2 0,5 0.5 2.8×10 ⁻⁴	120	1,0	Культивування у конічних колбах об'ємом 50 мл з 15 мл середовища на качалці (t° = 30°C; n = 200)	Kazemi K, Zhang B, Lye ML. Production of biosurfactant by <i>Rhodococcus erythropolis</i> sp. cultivated in a novel fish waste compost extract substrate. Proceedings of CSCE Annual Conference (June 1-4, 2016, London, Canada). ENV-653.

Закінчення табл. 2.1

	розчин мікроелементів, який містить (г/л): ZnSO ₄ – 0,29; CaCl ₂ – 0,24; CuSO ₄ – 0,25; MnSO ₄ – 0,17.	0,5 мл/л				
<i>Rhodococcus erythropolis</i> Au-1	Сахароза; CO(NH ₂) ₂ ; K ₂ HPO ₄ ×3H ₂ O; KH ₂ PO ₄ ; дріжджовий екстракт; цитрат натрію MgSO ₄ ×7H ₂ O.	20 1,5 2 2 1 1 0,5	120	0,78	Культивування у колбах об'ємом 750 мл на качалці (t° = 30°C; n = 220 об/хв)	Корецька Н.І., Пристай М.В., Карпенко О.В. Біосинтез та властивості поверхнево-активних речовин штаму <i>Rhodococcus erythropolis</i> AU-1. <i>Вісник Національного університету "Львівська політехніка"</i> : Хімія, технологія речовин та їх застосування. 2014, 787: 258-263.
<i>Rhodococcus erythropolis</i> sH-5	Сахароза; (NH ₄) ₂ SO ₄ ; NaH ₂ PO ₄ ; NaCl; KH ₂ PO ₄ ; MgSO ₄ × 7H ₂ O; MnSO ₄ × H ₂ O; FeSO ₄ × 7H ₂ O; CaCl ₂ × 2H ₂ O.	2%, або 20 г/л 2,5 10 5 1 0,2 0,02 0,01 0,01	168	1,16	Культивування в колбах на качалці (t° = 30°C; n = 200 об/хв)	Gogotov IN, Khodakov RS. Surfactant production by the <i>Rhodococcus erythropolis</i> sH-5 bacterium grown on various carbon sources. <i>Applied Biochemistry and Microbiology</i> . 2008, 44(2):186-91. doi: 10.1134/S0003 683808020105.

Вартість 1 л поживних середовищ для культивування продуцентів ПАР

Назва продуцента	Компонент поживного середовища	Концентрація компоненту в ПС, г/л	Ціна компонента, грн/кг	Вартість компонента (грн), розрахована на 1 л середовища	Джерело даної інформації (1-6)*
№1	№2	№3	№4	№5	№6
<i>Rhodococcus erythropolis</i> IMB Ac-5017	Етанол	16 (20 мл)	17 (грн/л)	0,34	1
	NaNO ₃	1,3	24,30	0,03159	2
	NaCl	1,0	4,50	0,0045	2
	Na ₂ HPO ₄	0,6	65	0,039	2
	KH ₂ PO ₄	0,14	31	0,00434	3
	MgSO ₄ ×7H ₂ O	0,1	8,50	0,00085	4
	FeSO ₄ ×7H ₂ O	0,001	4	0,000004	3
Вартість 1 л середовища – 0,42 грн					
<i>Rhodococcus erythropolis</i> P6-4P	Глюкоза	5	50	0,25	3
	NaNO ₃	1,5	24,30	0,03645	2
	K ₂ HPO ₄ × 3H ₂ O	4,4	119	0,5236	2
	KH ₂ PO ₄	3,4	31	0,1054	3
	NaCl	2,2	4,50	0,0099	2
	дріжджовий екстракт	0,5	1100	0,55	2
	MgSO ₄ ×7H ₂ O	0,5	8,50	0,00425	4
	FeSO ₄ ×7H ₂ O	0,00028	4	0,000011	3
	ZnSO ₄ ×7H ₂ O	2,6×10 ⁻⁴	35,60	0,0000092	4
	CaCl ₂	1,2×10 ⁻⁴	9,05	0,000001	4
	CuSO ₄ ×5H ₂ O	1,95×10 ⁻⁴	99	0,0000193	2
	MnSO ₄ ×H ₂ O	9,5 × 10 ⁻⁵	41,40	0,0000039	5
Вартість 1 л середовища – 1,48 грн					
<i>Rhodococcus erythropolis</i> sH-5	Сахароза	20	84	1,68	5
	(NH ₄) ₂ SO ₄	2,5	25,20	0,063	2
	NaH ₂ PO ₄	10	61	0,61	2
	NaCl	5	4,50	0,0225	2
	KH ₂ PO ₄	1	31	0,031	3
	MgSO ₄ × 7H ₂ O	0,2	8,50	0,0017	4
	MnSO ₄ × H ₂ O	0,02	41,40	0,000828	5
	FeSO ₄ × 7H ₂ O	0,01	4	0,00004	3
	CaCl ₂ × 2H ₂ O	0,01	3,4	0,000034	6
Вартість 1 л середовища – 2,41 грн					

Примітка. * - Дані ціни наведено станом на лютий 2022 р. 1 - <https://spirit.trade/ua>, 2 - <http://prom.ua>, 3- <https://selitra.biz>, 4 - <https://flagma.ua>, 5 - <https://www.systopt.com.ua>, 6 - <https://russian.alibaba.com>.

**Умовна вартість 1 г синтезованих на вищезазначених поживних
середовищах ПАР**

Назва біологічного агента	Концентрація поверхнево- активних речовин, г/л	Час процесу культивування, год	Кількість синтезованих ПАР за одну годину, г/год	Вартість 1 л поживного середовища, грн/л	Умовна вартість 1 г ПАР, грн/г
<i>№1</i>	<i>№2</i>	<i>№3</i>	<i>№4</i>	<i>№5</i>	<i>№6</i>
<i>Rhodococcus erythropolis</i> IMB Ac-5017	1,5	120	0,013	0,42	0,28
<i>Rhodococcus erythropolis</i> P6-4P	1,0	120	0,008	1,48	1,48
<i>Rhodococcus erythropolis</i> sH-5	1,16	168	0,007	2,41	2,078

РОЗДІЛ 3. ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ

3.1. Розрахунок потреби у поверхнево-активних речовинах, синтезованих *Rhodococcus erythropolis* ІМВ Ас-5017 за наявності *Escherichia coli* ІЕМ-1

Комплекс поверхнево-активних речовин (ПАР), синтезований *Rhodococcus erythropolis* ІМВ Ас-5017 є препаратом мультифункціонального призначення, завдяки чому може застосовуватись у різних галузях, таких як: медицина, фармацевтична, харчова, екологічна, нафтодобувна промисловість, сільське господарство тощо. ПАР *R. erythropolis* ІМВ Ас-5017 здатні до декструкції ксенобіотиків і володіють високою біологічною активністю – антимікробною, антиадгезивною та здатністю до руйнування біоплівки [1, 4].

Використання зубних протезів – поширене явище серед людей похилого віку, відсоток яких в Україні зростає. Повна або часткова втрата зубів – це необоротний клінічний стан, а застосування знімних конструкцій є доступним та швидким способом повернення втрачених функцій і естетичного зовнішнього вигляду. Проте, у даної групи пацієнтів виникають запалення слизової оболонки ротової порожнини та інші захворювання пов'язані з незадовільною гігієною протезів та розвитком на них біоплівки у результаті цього. У той же час універсальної ефективної схеми догляду за штучними знімними зубами немає. Загалом рекомендовано промивати штучну щелепу під проточною водою після зняття, прополоскати порожнину рота антисептичним засобом, очищати протез за допомогою м'якої щітки зі спеціальними засобами та витримувати у дезінфікуючому розчині протягом 15-20 хвилин. Причому варто проводити гігієнічні процедури щоденно, а не періодично [21, 22].

Дріжджі *Candida albicans* утворюють масивні біоплівки на знімних зубних протезах, зокрема на виготовлених із матеріалів Біокрил та Вінакріл [23]. У роботі [5] показано здатність ПАР, синтезованих *R. erythropolis* ІМВ Ас-5017 за наявності у середовищі культивування *E. coli* ІЕМ-1, до руйнування біоплівки *C. albicans*.

					НУХТ БТЕК 04.01.02 КР ПЗ			
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата				
Розробив	Охмакевич				РОЗДІЛ 3. ТЕХНІКО- ЕКОНОМІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ	Літ.	Арк.	Аркушів
Перевірів	Пирог Т.П.						24	5
Реценз.						24		
Н. Контр.						Кафедра БТМ		
Затверд.	Стабніков							

Таким чином, пропонуємо застосовувати комплекс ПАР для приготування розчинів для дезінфекції знімних зубних протезів. Варто зазначити, що ПАР зазвичай застосовують як домішки до сучасних композиційних дезінфікувальних засобів медичного призначення [24].

Станом за 1 січня 2022 року (останні дані) загальна чисельність населення Києва становила 2 910 994 особи (дані Державної служби статистики України <http://www.ukrstat.gov.ua/>).

Зноймні зубні протези мають 50% у віці після 60 років [25]. Людей віком 60+ в Києві станом на 2022 рік 601 200 осіб, а отже зубні протези мають приблизно 300 600 осіб.

У даний час є три популярні дезінфікувальні засоби для догляду за зубними протезами, які продаються без рецепта в аптеках: «Protifix» (виробник «Queisser Pharma», Німеччина), «Корега» (виробник «GlaxoSmithKline Consumer Healthcare», Великобританія) та «Lacalut Dent» (виробник «Naturwaren», Німеччина). У таблиці 3.1. наведено характеристику даних засобів.

Таблиця 3.1

Перелік найпопулярніших дезінфікувальних засобів для догляду за знімними зубними протезами в Україні [26-28]

Назва засобу	Країна-виробник	Кількість таблеток в упаковці, шт	Вартість однієї упаковки, грн	Вартість одного застосування, грн
«Protifix»	Німеччина	66	179	2,7
«Корега»	Великобританія	30	102	3,4
«Lacalut Dent»	Німеччина	32	102	3,2

Дані, наведені у табл. 3.1 свідчать про бюджетність перелічених засобів, а отже й про доступність багатьом пацієнтам. Дані дезінфікувальні засоби випускають у формі таблеток [26-28], які необхідно розчинити у 100-200 мл теплої води для

приготування робочого розчину, занурити повністю протез і витримати 10-20 хвилин.

Ми пропонуємо розглянути ПАР, синтезованих *R. erythropolis* ІМВ Ас-5017 за наявності живих клітин *E. coli* ІЕМ-1, як можливе доповнення до вищерозглянутих засобів у складі дезінфікуючих розчинів для обробки зубних протезів з метою посилення руйнівної дії щодо утворюваних біоплівки та можливого зменшення тривалості експозиції.

3.2 Розрахунок потужності виробництва

Так, не всі пацієнти, що мають знімні зубні протези, дотримуються належним чином правил гігієни. Також не всі пацієнти виявляють бажання щось змінювати у звичному догляді. Припустимо, що принаймні 0,1-1% зацікавляться нашою пропозицією. Визначимо теоретичну кількість людей, що можуть скористатися нашими ПАР у складі дезрозчинів:

$$300\ 600 \text{ осіб} \times 0,0069 = 2074 \text{ осіб.}$$

Враховуючи, що на одну дезінфекцію потрібно 100 мл розчину, використання засобу щоденне, то для 1 пацієнта потрібно дезрозчину на рік:

$$365 \text{ днів} \times 0,1 \text{ л} = 36,5 \text{ л/рік.}$$

У роботі [5] проти біоплівки *S. albicans* застосовували препарат ПАР концентрацією 50 мкг/мл (0,05 г/л). Виходячи з цих даних, порахуємо масу ПАР, необхідну на 1 пацієнта в рік:

$$(0,05 \text{ г} \times 36,5 \text{ л}) / 1 \text{ л} = 1,825 \text{ г/рік.}$$

Далі визначимо масу ПАР для всіх пацієнтів на рік:

$$1,825 \text{ г} \times 2074 \text{ осіб} = 3785 \text{ г/рік.}$$

Таким чином, для забезпечення фармацевтичного ринку Києва ПАР, необхідно отримувати 3785 г ПАР на рік. Виходячи з того, що ПАР *Rhodococcus erythropolis* ІМВ Ас-5017 синтезуються у кількості 1,5 г/л, за рік отримаємо 2523 л культуральної рідини. З урахуванням витрат цільового продукту при відділенні біомаси за допомогою центрифугування (3%), необхідно отримати таку кількість культуральної рідини:

$$V_{\text{кр}}(1) = (2523 \text{ л} \times 0,03) + 2523 \text{ л} = 2599 \text{ л.}$$

Також варто врахувати втрати від нестерильних операцій (10%):

$$V_{кр(2)} = (2599 \text{ л} \times 0,1) + 2599 \text{ л} = 2859 \text{ л.}$$

3.3. Розрахунок кількості виробничих циклів та геометричного об'єму ферментера для біосинтезу ПАР

Плануємо, що необхідну кількість субстанції будемо виробляти за 60 робочих днів ($T_{тр} = 60$). Тоді кількість циклів на рік становить:

$$N_{цк} = 24 \cdot T_{тр} / T_{цф} = 24 \times 60 / 78,5 = 18,3 \text{ (19) циклів,}$$

де $T_{цф}$ – це цикл роботи ферментера, що включає тривалість промислового біосинтезу (72 год) і час підготовки ферментатора перед початком роботи (6,5 год), а саме: миття та огляд апарата (1,5 год), потім - перевірка на герметичність (0,5 год), далі - підігрів (0,5 год), стерилізація апарату (1 год) і охолодження (0,5 год), далі завантаження середовища (1,5 год), а також засів (0,5 год), і нарешті вивантаження культуральної рідини (0,5 год).

Таким чином, об'єм культуральної рідини, що зливається за кожний цикл:

$$V_{цк} = 2859 \text{ л} / 19 \text{ циклів} = 150,1 \text{ л}$$

Визначивши об'єм культуральної рідини за один цикл та знаючи коефіцієнт заповнення K_z , розраховуємо геометричний об'єм ферментера:

$$V_{МГ} = V_{цк} / K_z = 150,1 \text{ л} / 0,6 = 250,17 \text{ л}$$

У таблиці (див. додаток 5) бачимо, що найближчий геометричний об'єм має ферментер 250 л.

Уточнюємо коефіцієнт заповнення:

$$K_z = 150,1 \text{ л} / 250 \text{ л} = 0,6004 \text{ (0,6).}$$

Тоді робочий об'єм ферментеру, відповідно:

$$V_{рф} = 250 \text{ л} / 0,6 = 416,67 \text{ л.}$$

3.4. Розрахунок кількості стадій підготовки посівного матеріалу для біосинтезу ПАР *Rhodococcus erythropolis* IMB Ac-5017

Виходячи з розрахованого робочого об'єму ферментеру ($V_{рф} = 150 \text{ л}$), розраховуємо кількість стадій отримання посівного матеріалу *R. erythropolis* IMB-Ac-5017.

Доза інокуляту складає 10% від об'єму поживного середовища.

Отже, для одержання 150 л культуральної рідини потрібно:

$$V_{\text{роб. 1 продуцент}} = 150 \text{ л} \times 0,1 = 15 \text{ л посівного матеріалу.}$$

Дану кількість інокуляту ми можемо одержати під час культивування бактерій усередині посівного апарату об'ємом 30 л.

Задля одержання 15 л культуральної рідини потрібно попередньо отримати:

$$V_{\text{роб. 2 продуцент}} = 15 \text{ л} \times 0,1 = 1,5 \text{ л посівного матеріалу.}$$

1,5 л інокуляту можна отримати культивуванням бактерій у колбах на качалці.

Отже, для одержання посівного матеріалу необхідно 8 качалочних колб.

3.5. Розрахунок кількості стадій підготовки посівного матеріалу для індуктору *Escherichia coli* ІЕМ-1

Розрахуємо кількість стадій отримання посівного матеріалу *E. coli* ІЕМ-1.

У статті [5] вказано, що для біосинтезу на 100 мл поживного середовища потрібно 2,5 мл посівного матеріалу індуктора. Таким чином, на 150 л середовища потрібно 3,75 л інокуляту, який можна отримати під час культивування бактерій усередині посівного апарату об'ємом 6 л.

Для засіву вищезгаданого ферментеру доза посівного матеріалу дорівнює 5% від всього об'єму поживного середовища.

$$V_{\text{роб. 1 індуктор}} = 3,75 \text{ л} \times 0,05 = 0,188 \text{ л (190 мл) посівного матеріалу.}$$

Дану кількість інокуляту можна отримати культивуванням бактерій усередині колб на качалці.

Виходячи із вищезазначеного, процеси одержання посівних матеріалів *R. erythropolis* ІМВ-Ас-5017 та *E. coli* ІЕМ-1 для забезпечення виробничого біосинтезу ПАР у ферментері об'ємом 250 л із коефіцієнтом заповнення 0,6 будуть проходити у дві стадії кожен.

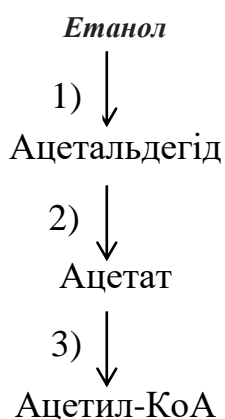
Таким чином, за результатами розрахунків для біосинтезу комплексу ПАР *R. erythropolis* ІМВ-Ас-5017 у присутності *E. coli* ІЕМ-1 приймаємо встановлення одного ферментера об'ємом 250 л, один інокулятор об'ємом 30 л та ще один інокулятор об'ємом 6 л.

РОЗДІЛ 4. БІОСИНТЕЗ ТРЕГАЛОЗОМІКОЛАТІВ ПРИ КУЛЬТИВУВАННІ *Rhodococcus erythropolis* IMB Ac-5017 НА ЕТАНОЛІ

4.1. Шляхи катаболізму ростового субстрату у *Rhodococcus erythropolis* IMB Ac-5017

Ростовим субстратом для біосинтезу моно- та диміколатів трегалози (основні компоненти комплексу синтезованих ПАР) за допомогою *Rhodococcus erythropolis* IMB Ac-5017 є етанол [3, 14].

На жаль, у базі даних Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes ще не представлено інформації стосовно штаму *Rhodococcus erythropolis* IMB Ac-5017, тому катаболізм етанолу у цього штаму представлено відповідно до статті [29]. Відповідно до цього джерела, катаболізм етанолу відбувається так: спочатку етанол перетворюється на ацетальдегід під дією НДМА-залежної алкогольдегідрогенази, потім ацетальдегід перетворюється на ацетат під дією НАД⁺- та НАДФ⁺-залежних дегідрогеназ, далі ацетат окиснюється до ацетил-КоА за допомогою ацетаткінази і ацетил-КоА-синтетази.



Ферменти: 1 – НДМА-залежна алкогольдегідрогеназа; 2 - НАД⁺- та НАДФ⁺-залежні дегідрогенази; 3 – ацетаткіназа та ацетил-КоА-синтетаза.

Такі ж стадії наведено у KEGG для *R. erythropolis* PR 4, проте ферменти відрізняються (див. додаток 9).

					НУХТ БТЕК 04.01.02 КР ПЗ		
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата			
Розробив		Охмакевич			Лім.	Арк.	Аркушів
Перевірів		Пирог Т.П.				29	4
Реценз.					29		
Н. Контр.					Кафедра БТМ		
Затверд.		Стабніков					
РОЗДІЛ 4. БІОСИНТЕЗ ТРЕГАЛОЗОМІКОЛАТІВ ПРИ КУЛЬТИВУВАННІ <i>Rhodococcus</i> <i>erythropolis</i> IMB Ac-5017 НА ЕТАНОЛІ							

4.2. Біотрансформація ростового субстрату у цільовий продукт

На жаль, у базі даних Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes ще не представлено інформації стосовно штаму *Rhodococcus erythropolis* IMB Ac-5017, тому розглянемо інший штам - *R. erythropolis* PR 4.

При катаболізмі ростового субстрату (вищеописано) етанол перетворюється на ацетил-КоА.

Після цього ацетил-КоА вступає у цикл трикарбонових кислот (також відомий як цикл Кребса). Реакції та ферменти циклу нижче зазначені (див. додаток 10).

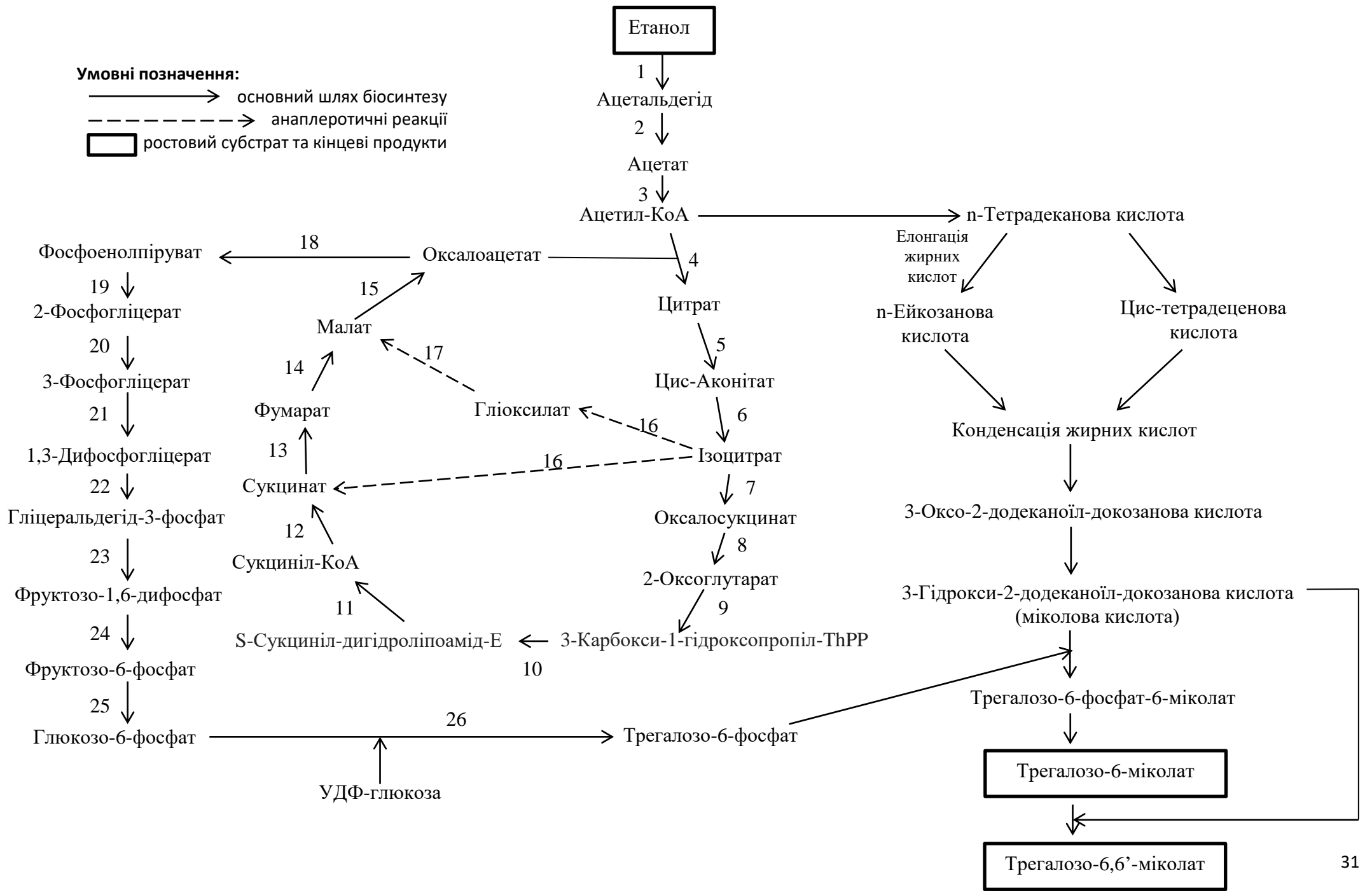
При рості на етанолі анаплеротичними реакціями для поповнення інтермедіатів циклу трикарбонових кислот є гліоксилатний цикл, який каталізується ферментами ізоцитратліазою (КФ 4.1.3.1) та малатсинтазою (КФ 2.3.3.9) (див. додаток 11).

У мікроорганізма функціонує глюконеогенез, у результаті якого оксалоацетат перетворюється на глюкозо-6-фосфат. Ключовим ферментом глюконеогенезу є ГТФ-залежна фосфоенолпіруваткарбоксікіназа (КФ 4.1.1.32) (див. додаток 12).

Глюкозо-6-фосфат вступає у реакцію з УДФ-глюкозою з утворенням трегалозо-6-фосфату під дією ферменту трегалозо-6-фосфатсинтази (КФ 2.4.1.15) (див. додаток 13).

Далі розглянуто синтез трегалозоліпідів у штаму *R. erythropolis* DSM 43215. З ацетилю-КоА утворюється n-тетрадеканова кислота (як і всі жирні кислоти). Відбувається елонгація жирних кислот з утворенням n-ейкозанової кислоти, також утворюється цис-тетрадеценева кислота. Ці дві жирні кислоти вступають у реакцію конденсації, у результаті чого синтезується 3-оксо-2-додеканоїл-докозанова кислота. Вона, у свою чергу, перетворюється на 3-гідрокси-2-додеканоїл-докозанову кислоту, яка належить до міколових кислот. Міколова кислота реагує з трегалозо-6-фосфатом з утворенням трегалозо-6-фосфат-6-міколату, з якого синтезується трегалозо-6-міколат. Трегалозо-6-міколат взаємодіє з міколовою кислотою, у результаті утворюється трегалозо-6,6'-диміколат [30].

Таким чином, з етанолу синтезуються цільові продукти – моно- та диміколати трегалози.



Ферменти: 1 – НДМА-залежна алкогольдегідрогеназа; 2 – НАД⁺- та НАДФ⁺-залежні дегідрогенази; 3- ацетаткіназа та ацетил-КоА-синтетаза; 4 – цитратсинтаза (КФ 2.3.3.1); 5, 6 – аконітатгідратаза (КФ 4.2.1.3); 7, 8 – ізоцитратдегідрогеназа (КФ 1.1.1.42); 9, 10 – мультифункціональний фермент метаболізму 2-оксоглутарату (КФ 1.2.4.2); 11 – мультифункціональний фермент метаболізму 2 – оксоглутарату (КФ 2.1.3.61); 12 – сукциніл-КоА: ацетат-КоА-трансфераза (КФ 2.8.3.18); 13 – сукцинатдегідрогеназа, залізо-сіркова субодиниця (КФ 1.3.5.1); 14 – фумаратгідратаза (КФ 4.2.1.2); 15 – малатдегідрогеназа (КФ 1.1.1.37); 16 – ізоцитратліаза (КФ 4.1.3.1); 17 – малатсинтаза (КФ 2.3.3.9); 18 – ГТФ-залежна фосфоенолпіруваткарбоксихіназа (КФ 4.1.1.32); 19 – енолаза (КФ 4.2.1.11); 20 – фосфогліцератмутаза (КФ 5.4.2.11); 21 – фосфогліцераткіназа (КФ 2.7.2.3); 22 – гліцеральдегід-3-фосфатдегідрогеназа (КФ 1.2.1.12); 23 – фруктозобіфосфатальдолаза (КФ 4.1.2.13); 24- 6-фосфофруктокіназа (КФ 2.7.1.11); 25 – глюкозо-6-фосфатізомераза (КФ 5.3.1.9); 26 – трегалозо-6-фосфатсинтаза (КФ 2.4.1.15).

РОЗДІЛ 5. ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ

5.1. Обґрунтування доферментаційних процесів та виробничого біосинтезу

5.1.1. Обґрунтування способу культивування і типу ферментера

Вибір способу і умов культивування безпосередньо залежать від фізіолого-біохімічних особливостей *Rhodococcus erythropolis* ІМВ-Ас-5017.

1. Виробниче культивування та вирощування посівного матеріалу проходить за температури 28-30°C і рН 6.8-7.0 [5]. За даних умов є ризик контамінації сторонніми мезофільними і нейтрофільними мікроорганізмами. Таким чином, необхідно забезпечити асептичні умови під час одержання комплексу ПАР. Для запобігання контамінації проводять стерилізацію обладнання і комунікації, поживного середовища, аераційного повітря (так як *R. erythropolis* ІМВ Ас-5017 є мікроорганізмом-аеробом). Задля попередження сторонньої контамінації усередині ферментатора створюють надлишковий тиск за допомогою подачі повітря стерильного аераційного.

2. Виробничий біосинтез мікробних ПАР можна здійснювати як при періодичному, так і при безперервному способі культивування. Біосинтез ПАР може відбуватись одночасно із ростом продуценту (експоненційна фаза), проте максимальна швидкість їх утворення досягається у стаціонарній фазі росту. Таким чином продуктивність процесу за умов безперервного культивування буде знижена. Зважаючи на цей нюанс, обираємо періодичний спосіб культивування.

3. Обираємо глибинний спосіб культивування, тому що при поверхневому важче досягти асептичних умов, а також при глибинному способі компоненти поживного середовища споживаються значно раціональніше, що дозволяє зменшити кількість відходів у процесі виробництва та отримати більшу кількість цільового продукту. Окрім того, за поверхневого способу культивування важче виділити позаклітинні продукти синтезу.

					НУХТ БТЕК 04.01.02 КР ПЗ			
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата				
Розробив	Охмакевич				РОЗДІЛ 5. ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ	Лім.	Арк.	Аркушів
Перевірів	Пирог Т.П.						33	25
Реценз.						33		
Н. Контр.						Кафедра БТМ		
Затверд.	Стабніков							

4. Під час одержання посівного матеріалу, починаючи з культивування в колбах та закінчуючи культивуванням у 30 л ферментері, концентрація етанолу у середовищі складає 4 г/л, а під час виробничого синтезу – 16 г/л [5]. Такої концентрації джерела вуглецю достатньо для синтезу ПАР, тому обираємо культивування без підживлення.

Отже, культивування продуценту ПАР здійснюється періодично без підживлення в аеробних умовах глибинним способом із дотриманням правил асептики при проведенні процесу.

Умови і спосіб культивування для індуктора *Escherichia. coli* IEM-1 також залежать від його фізіолого-біохімічних особливостей.

1. Вирощування посівного матеріалу *E. coli* IEM-1 відбувається за таких же параметрів, що і для *R. erythropolis* IMB-Ac-5017, тобто за температури 28-30°C і рН 6.8-7.0. Так як за даних умов розвивається більшість мікроорганізмів, то постає питання щодо забезпечення асептичних умов такими ж методами, як і при культивуванні *R. erythropolis* IMB-Ac-5017.

2. Одержання посівного матеріалу необхідно здійснювати в аеробних умовах, так як індуктором є клітини *E. coli* IEM-1, а, отже, необхідно забезпечити синтез біомаси.

Отже, культивування індуктору здійснюється періодично глибинним способом в аеробних умовах із дотриманням асептики при проведенні процесу.

Конструкція і оснащення ферментера може відрізнятись залежно від умов культивування біологічного агента. Визначившись зі способом культивування та фізіолого-біохімічними характеристиками продуцента, підбираємо необхідне обладнання для ферментатора, яке б забезпечило створення даних умов. Розглянемо бажані характеристики виробничого ферментеру для культивування *R. erythropolis* IMB-Ac-5017.

1. У процесі культивування продуценту ПАР необхідними є аеробні умови, тому ферментатор повинен бути оснащений барботером для забезпечення культури необхідною кількістю кисню. Також ферментер має містити газоаналізатор для контролю концентрації CO₂.

2. Процес ферментації проходить за нейтрального значення рН (6.8-7.0), тому ферментатор повинен бути оснащений датчиком, що контролює значення рівня рН.

3. Ферментація має проходити при постійній температурі (28-30°C), тому ферментер має бути обладнаний сорочкою і датчиком температури.

4. Культивування проценту ПАР не передбачає використання перемішуючого пристрою певної конструкції і типу, тому обираємо його довільно. Оберемо, наприклад, пропелерну мішалку для забезпечення розподілення клітин по всьому об'єму середовища і створення для них однакових умов.

Зважаючи на те, що лідери світового виробництва біореакторів виготовляють ферментери об'ємом 200 л або 300 л, то ферментер на 250 л виготовляється на замовлення. З приводу замовлення виготовлення ферментера на 250 л із заданими параметрами можна звернутися до компанії «Innova» (Китай) [<https://www.innovabiomed.com/stainless-steel-vessel-fermenter.html>]. Дана компанія приймає замовлення на виготовлення ферментерів Techfors, Infors загальним об'ємом від 5 до 1000 л за індивідуальним запитом із врахуванням конкретних характеристик.

Посівний апарат для *R. erythropolis* ІМВ-Ас-5017 по характеристикам не відрізняється від виробничого ферментеру, лише має менший об'єм – 30 л. Такий ферментер можна замовити у компанії «Solaris Biotechnology» (Італія) [<https://solarisbiotech.com/fermenters-bioreactor/m-series/>]. Він має всі необхідні нам характеристики: мікробарботаж, системи контролю температури, рН, СО₂, сорочку, перемішувальний пристрій.

Інокулятор для вирощування *E. coli* ІЕМ-1 має такі ж параметри, що і для продуцента ПАР, проте його об'єм – 6 л. Такий ферментер можна замовити у компанії «Infors HT» (Швейцарія) [<https://www.infors-ht.com/en/bioreactors/bench-top-bioreactors/minifors2/>]. Конструкція передбачає аерацію, перемішувальний пристрій, датчики температури та рН.

5.1.2. Обґрунтування вибору стадії підготовки аераційного повітря

Продуцент комплексу поверхнево-активних речовин (скорочено ПАР) *Rhodococcus erythropolis* ІМВ Ас-5017 є аеробом [31], тому постає необхідність у безперервній подачі стерильного аераційного повітря у процесі біосинтезу через барботер. Індуктор *Escherichia coli* ІЕМ-1 слід вирощувати також в аеробних умовах, щоб отримати біомасу. Таким чином, виникає потреба одержання стерильного повітря для здійснення аерації, що слід передбачити у технологічній схемі.

Для забезпечення стерильності при посіві культур усередину пробірок зі скошеним агаром, а також при внесенні посівного матеріалу усередину качалочних колб у приміщеннях боксів використовують газові пальники або спиртівки. У лабораторіях і боксах повітря попередньо стерилізується за допомогою ультрафіолетового опромінення (УФ-ламп).

Підготовка стерильного аераційного повітря для отримання посівного матеріалу *R. erythropolis* ІМВ Ас-5017 та індуктору *E. coli* ІЕМ-1 в інокуляторах об'ємом 30 л та 6 л відповідно, а також для виробничого біосинтезу ПАР у ферментері об'ємом 250 л здійснюють наступним чином [32]:

1. Забір повітря атмосферного здійснюють відступивши 2-3 м від найвищої точки планової будівлі. У нашому випадку - на висоті ~ 13 м (висота ферментеру 2,7 м (габарити 1000×1040×2730 [33])), висота стандартного поверху – 6 м, зазвичай косий дах будівлі (~1,5 м)).

2. Фільтри попереднього очищення, щоб позбавити його пилу і захистити компресори від швидкого забруднення на наступній стадії.

3. Стиснення у турбокомпресорі. Це дає змогу далі продути повітря, так як долаються місцеві опори у системі повітрепідготовки і гідравлічний опір у ферментерах при подачі повітря через барботер. Стиснення повітря призводить до підвищення його температури, а також до збільшення вологовмісту.

4. Далі необхідно застосувати водяний теплообмінник-охолоджувач повітря, щоб знизити температуру. Утворюється водяний пил, тобто туман.

5. Волога конденсується і видаляється у ресивері, щоб на подальших етапах не відбулось злипання волокон у фільтрах, що у свою чергу може призвести до погіршення осадження часток і розмноження осілих мікроорганізмів. Також у цьому апараті відбувається згладження пульсацій повітря, що вберігає фільтри від руйнування на подальших стадіях.

6. Повітря підігрівають парою у теплообмінниках. Це дозволяє довидаляти вологу з повітря та стабілізувати показники температури і тиску.

7. Повітря проходить очищення на головних фільтрах з набивним волокном аж до ступеня очищення $E = 95\%$.

У якості фільтрувального матеріалу обираємо базальтові волокна (товщина волокон складає 0,5-1 мкм), що можна простерилізувати гострою парою. Поліакрилонітрильне волокно також можна простерилізувати у такий спосіб, але цей матеріал характеризується більшою товщиною волокон (1,5-21 мкм), що знижує ефективність фільтрування. Перхловінілове волокно не витримує термічної стерилізації, його стерилізують токсичними газами [34].

8. Повітря проходить очищення в індивідуальних фільтрах, які встановлені на ферментаторах. Ступінь очистки повітря дорівнює аж 99,99%.

Це є фільтри патронного типу, а в якості фільтрувального матеріалу обираємо тонку скловату з можливістю стерилізації гострою парою. Тканина Петрянова стерилізується хімічно парами формальдегіду, що вимагає додаткової підготовки, тобто ускладнює технологічний процес.

У процесі використання фільтрів необхідна також їхня стерилізація. Найпоширеніший та найефективніший спосіб – це нагрівання вологою парою і витримування протягом певного часу за температури 125 – 130 °C. Після цього фільтрувальний матеріал висушують гарячим повітрям. Очищення відпрацьованого повітря. Після того, як повітря виходить з ферментера, воно потрапляє у мокрі скрубери, потім на головні фільтри і виходить в атмосферу.

5.1.3. Вибір мийних та дезінфікувальних засобів

Виробництво комплексу поверхнево-активних речовин *Rhodococcus erythropolis* ІМВ Ас-5017 у присутності індуктору *Escherichia coli* ІЕМ-1

здійснюється протягом 60 робочих днів і передбачає підготовку наступного обладнання: ферментер об'ємом 250 л, два інокулятори об'ємом 30 л та 6 л, три реактори об'ємом 5 л, 15 л та 130 л для приготування або зберігання компонентів поживних середовищ, качалки, бокс та лабораторне устаткування.

Процеси здійснюються в наступних приміщеннях: виробничий цех, лабораторне приміщення, приміщення з качалками. У виробничому цеху працюють реактори, інокулятори та ферментер. У лабораторному приміщенні знаходяться автоклави, бокс, термомстат, холодильники та устаткування для проведення контролю. На рис. 5.1 зображено ескіз плану приміщення з приблизним розташуванням основного обладнання для промислового виробництва поверхнево-активних речовин *R. erythropolis* ІМВ Ас-5017 у присутності індуктору *E. coli* ІЕМ-1. План враховує довжину та ширину обладнання, а також відстань між апаратами становить (не менше 1 м), а також від стін (1...1,5 м). Варто зауважити, що інокулятор об'ємом 6 л та реактор об'ємом 5 л не стоять на підлозі, тому на ескізі вони не показані.

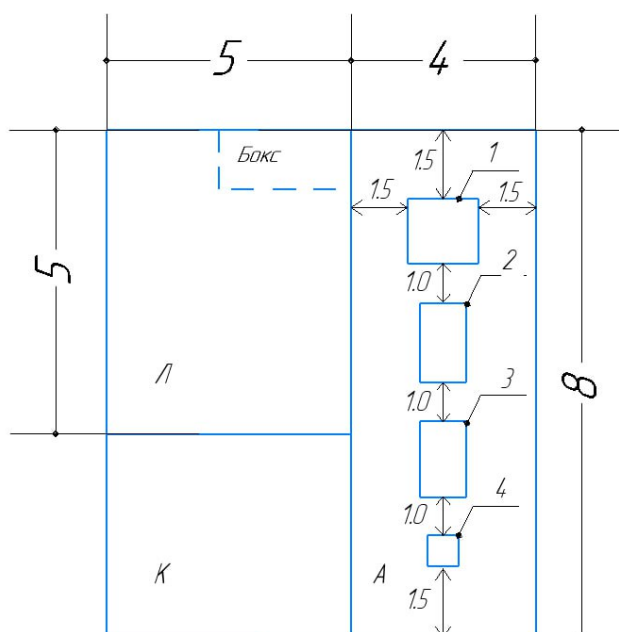


Рис. 5.1. Ескіз плану приміщення для одержання ПАР *R. erythropolis* ІМВ Ас-5017 у присутності індуктору *E. coli* ІЕМ-1

А – виробничий цех (1 –виробничий ферментер об'ємом 250 л; 2 - реактор об'ємом 130 л для приготування композиції А поживного середовища для

виробничого біосинтезу; 3 – інокулятор об’ємом 30 л для одержання посівного матеріалу *R. erythropolis* ІМВ Ас-5017; 4 - реактор об’ємом 15 л для приготування композиції А поживного середовища для інокулятора об’ємом 30 л); Л – лабораторія мікробіологічна; К – приміщення, де розміщені качалки.

Габаритні розміри використовуваного обладнання наведено нижче у табл. 5.1.

Таблиця 5.1

Габарити основного застосовуваного обладнання для процесу виробництва поверхнево-активних речовин *R. erythropolis* ІМВ Ас-5017 у присутності індуктору *E. coli* ІЕМ-1

Назва обладнання	Його геометричний об’єм, л	Його довжина, м	Його ширина, м	Його висота, м
Інокулятор для одержання посівного матеріалу <i>E. coli</i> ІЕМ-1	6	0,455	0,375	0,74
Ферментер	250	1	1,04	2,73
Реактор для етанолу	5	0,25	0,35	0,3
Реактор для приготування композиції А поживного середовища для виробничого біосинтезу	130	1,14	0,71	1,76
Інокулятор для одержання посівного матеріалу <i>R. erythropolis</i> ІМВ Ас-5017	30	1,14	0,71	1,91
Реактор для приготування композиції А поживного середовища для інокулятора об’ємом 30 л	15	0,56	0,58	1,7

Розрахунок ширини підлоги виробничого цеху. Враховуючи максимальну ширину обладнання (1,04 м), отримаємо:

$$1,5 \text{ м} + 1,04 \text{ м} + 1,5 \text{ м} = 4,04 \text{ м} (4 \text{ м}).$$

Розрахунок довжини підлоги цеху виробничого. Враховуючи значення довжини обладнання, відстань між ним та від стін, отримаємо:

$$1,5 \text{ м} + 1 \text{ м} + 1 \text{ м} + 1,14 \text{ м} + 1 \text{ м} + 1,14 \text{ м} + 1 \text{ м} + 0,56 \text{ м} + 1,5 \text{ м} = 8,34 \text{ м} (8 \text{ м}).$$

Проте, обладнання можна було б розвернути іншою стороною, тоді б ширину підлоги визначали б аналогічно, але із урахуванням максимальної довжини обладнання:

$$1,5 \text{ м} + 1,14 \text{ м} + 1,5 \text{ м} = 4,14 \text{ м} (4 \text{ м}),$$

а довжину підлоги, відповідно, із урахуванням ширин обладнання:

$$1,5 \text{ м} + 1,04 \text{ м} + 1 \text{ м} + 0,71 \text{ м} + 1 \text{ м} + 0,71 \text{ м} + 1 \text{ м} + 0,58 \text{ м} + 1,5 \text{ м} = 9,04 \text{ м} (9 \text{ м}),$$

тобто у такому випадку площа підлоги буде більшою, тому обираємо попередній варіант розміщення обладнання.

За даними таблиці 5.1, загальний об'єм ємнісного обладнання становить 436 л (250 л + 30 л + 6 л + 5 л + 15 л + 130 л).

Варто зазначити, що миття підлоги проводиться щодня, тобто 60 разів. Генеральне прибирання (обробка стін, підлоги, вікон, дверей, стелі) – раз на місяць, тобто 2 рази на 60 днів.

Для розрахунку кількості необхідних мийно-дезінфікувальних засобів необхідно розрахувати приблизну площу оброблення, враховуючи площу підлоги виробничих приміщень та висоту їх стін.

Висота виробничого цеху становить: 3,6 м (це висота, на якій розміщено «другий поверх» нашого обладнання) + 0,74 м (це максимальна висота обладнання «другого поверху») та ще + 1,5 м (це відступ до стелі = 5,84 м (6 м).

Площа підлоги та стін виробничого цеху:

$$S_{\text{підл А}} = 4 \text{ м} \times 8 \text{ м} = 32 \text{ м}^2;$$

$$S_{\text{стін А}} = (4 \text{ м} \times 6 \text{ м} + 8 \text{ м} \times 6 \text{ м}) \times 2 = 144 \text{ м}^2.$$

Площа підлоги та стін мікробіологічної лабораторії:

$$S_{\text{підл Л}} = 5 \text{ м} \times 5 \text{ м} = 25 \text{ м}^2;$$

$$S_{\text{стін Л}} = (5 \text{ м} \times 6 \text{ м} + 5 \text{ м} \times 6 \text{ м}) \times 2 = 120 \text{ м}^2.$$

Площа підлоги та стін приміщення з качалками:

$$S_{\text{підл К}} = 3 \text{ м} \times 5 \text{ м} = 15 \text{ м}^2;$$

$$S_{\text{стін К}} = (3 \text{ м} \times 6 \text{ м} + 5 \text{ м} \times 6 \text{ м}) \times 2 = 96 \text{ м}^2.$$

Площа стель дорівнює відповідним площам підлог.

Загальна площа поверхні для обробки мийно-дезінфікуючими засобами наведена у табл. 5.2.

Таблиця 5.2

Результати розрахунку загальної площі стін та підлоги у виробничих приміщеннях

Назва приміщення	Площа його підлоги, м ²	Площа його стелі, м ²	Площа його стін, м ²	Загальна його площа, м ²
Цех виробничий	32	32	144	208
Мікробіологічна лабораторія	25	25	120	170
Приміщення з качалками	15	15	96	126
Загальна площа	72	72	360	504

Кількість виробничих циклів для синтезу комплексу ПАР *Rhodococcus erythropolis* ІМВ Ас-5017 у присутності індуктору *Escherichia coli* ІЕМ-1 становить 19. Так як миття і дезінфекція обладнання проводяться перед кожним циклом, а також після останнього циклу, то кількість процесів обробки обладнання мийно-дезінфікувальними засобами за весь період виробництва становитиме 20. Тоді загальний об'єм засобів для обробки обладнання становитиме:

$$436 \text{ л} \times 20 = 8720 \text{ л} (8,72 \text{ м}^3).$$

Узагальнені дані стосовно розрахунку площі миття та/або дезінфекції за повний період виробництва наведено нижче в табл. 5.3.

Таблиця 5.3

Результати розрахунку загальної площі миття та/або дезінфекції планово оброблюваного об'єкту за весь період виробництва поверхнево-активних речовин *R. erythropolis* ІМВ Ас-5017 у присутності індуктору *E. coli* ІЕМ-1

Назва об'єкту миття та/або дезінфекції	Площа (або об'єм) цього об'єкту, м ² (м ³)	Кількість проведених процесів миття та/або дезінфекції за увесь період виробництва	Загальна площа (або об'єм) миття та/або дезінфекції об'єкту протягом усього періоду виробництва, м ² (м ³)
Обладнання	0,436	20	8,72
Підлога	72	60	4320

Стеля	72	2	144
Стіни, двері, вікна	360	2	720

Загальна площа миття та дезінфекції приміщення протягом усього періоду виробництва становить: $4320 \text{ м}^2 + 144 \text{ м}^2 + 720 \text{ м}^2 = 5184 \text{ м}^2$.

Пропонуємо розглянути декілька засобів для обробки поверхонь: «ДЕЗОлайт», «КлінДез 401», «SANDEZ» та "SUPER WASH" з концентраціями робочих розчинів при приблизно однаковому часу експозиції.

Дані щодо вибору мийних та дезінфікуючих засобів доцільно навести у вигляді узагальнюючої таблиці (табл. 5.4) [35-40].

Розрахунок кількості робочого розчину за весь період виробництва. Об'єм мийно-дезінфікувального засобу для обробки обладнання при використанні СІР-мийки становить 20-30% від ємності обладнання, тобто для 8720 л ємностей необхідно 1744 л засобу. Для обробку 1 м^2 приміщення необхідно 0,1 л мийно-дезінфікувального засобу, тоді для 5184 м^2 знадобиться 518,4 л засобу.

Розрахунок вартості 1 л робочого розчину. Для засобу «ДЕЗОлайт»: 1 л 0,25%-ого розчину коштує 0,9 грн, тому що 1 л 100%-ого коштує 360 грн. «КлінДез 401»: аналогічно 1 л 0,1%-ого розчину коштує 0,07 грн. Засоби «SANDEZ» та "SUPER WASH" продаються готовими до застосування, тому вартість 1 л засобу дорівнює вартості 1 л робочого розчину.

Для визначення загальної вартості миття та/або дезінфекції об'єкту за повний період виробництва необхідно вартість 1 л робочого розчину помножити на кількість робочого розчину за весь період виробництва.

Узагальнення витрат мийних і дезінфікуючих засобів для планового виробництва поверхнево-активних речовин бактерій *R. erythropolis* ІМВ Ас-5017 у присутності індуктору *E. coli* ІЕМ-1

Назва мийного або дезінфікуючого засобу (а також діюча речовина)	Поверхня-об'єкт миття та/або дезінфекції	Час експозиції, хв	Концентрація засобу у робочому розчині, %	Загальна площа (або об'єм) миття та/або дезінфекції поверхні за весь період планового виробництва, м ² (л)	Кількість робочого розчину за весь період планового виробництва, л	Вартість 1 л мийного або дезінфікуючого засобу, грн**	Розрахована вартість 1 л робочого розчину, грн	Розрахована загальна вартість миття та/або дезінфекції даного об'єкту за увесь період виробництва, грн
Дезінфекційний засіб з мийними властивостями «ДЕЗОлайт» (ЧАС*)	Обладнання	15	0,25	8720	1744	360	0,9	1569,6
	Приміщення			5184	518,4			466,56
Засіб мийний з дезінфікуючими властивостями «КлінДез 401» (галогени)	Обладнання	15	0,1	8720	1744	70	0,07	122,1
	Приміщення			5184	518,4			36,29
Засоби дезінфекційні універсальні «SANDEZ» (спирт, окисник, ЧАС*)	Обладнання	не вказано	100	8720	1744	109	109	190 096
	Приміщення			5184	518,4			56 505,6
Засіб мийний універсальний з ароматом морської свіжості ТМ "SUPER WASH" з дезінфікуючою дією (ЧАС*)	Обладнання	20	100	8720	1744	110	110	191 840
	Приміщення			5184	518,4			57 024

Примітки: *ЧАС – четвертинні амонієві сполуки; **ціни наведені станом на 17.03.23:

<https://gigenadez.com.ua/ua/p1648353852-dezolajt-dezinfitsiruyuschee-sredstvo.html>

https://www.mpi-dpr.com.ua/na-golovnu/70-381-klindez-401-dezinfekciya-pso.html#/6-cina-5_l

<https://rozetka.com.ua/ua/223967683/p223967683/>

<https://varus.ua/chistyaschij-sprej-super-wash-anti-zhir-500-ml>

Засіб «ДЕЗОлайт» дозволено використовувати на підприємствах мікробіологічної промисловості, його притаманні антимікробні властивості щодо грампозитивних та грамнегативних бактерій (включаючи збудників дифтерії, дезінтерії, черевного тифу, паратифу, туберкульозу), вірулоцидні (включаючи збудників гепатиту, грипу, герпесу) та фунгіцидні (включаючи гриби роду *Candida*) властивості. Робочі розчини не спричиняють подразнювальної дії на шкіри при випадковому контакті, алергенні властивості не виявлено. Таким чином, препарат діє на різні групи мікроорганізмів, що є важливим в умовах мікробіологічного виробництва, адже контамінуюча мікрофлора може бути різною; препарат відносно безпечний для персоналу, який здійснює приготування робочих розчинів і миття. Окрім того, так як діючі речовини належать на ЧАС, препарат характеризується гарним мийним ефектом, високою розчинністю, антикорозійними та антистатичними властивостями, невимогливістю до температури, стабільністю робочих розчинів і пролонгованим знезаражувальним ефектом. Так, препарат має обмежений спектр дії на мікроорганізми, але у поєднанні з іншими препаратами відбувається підсилення дії, також варто зазначити, що обладнання для проведення технологічного процесу піддається в подальшому стерилізації, тому обмежений спектр дії не є критичним. До того ж «ДЕЗОлайт» використовують у чистих приміщеннях класів С та D. Також він несумісний з милами та аніонними поверхнево-активними речовинами через інактивацію у таких умовах, що вимагає уваги при його комбінуванні з іншими засобами [35, 36].

Засіб «КлінДез 401» дозволено використовувати на підприємствах фармацевтичної та мікробіологічної промисловості, характеризується високою активністю до всіх патогенних мікроорганізмів та дешевизною як препарат із групи галогенів. Також має широкий спектр антимікробної дії. Так, такі препарати викликають корозію металів, нестабільні, але у засобі «КлінДез 401» наявні антикорозійні та стабілізуючі допоміжні речовини. Так, контакт зі слизовими оболонками та шкірою небезпечний, що вимагає обережного поводження і використання засобів індивідуального захисту. Зберігати засіб варто у темному

прохолодному місці, тому що він чутливий до сонячного світла та розкладається за підвищеної температури [35, 37].

Засіб «SANDEZ» дозволено використовувати на підприємствах фармацевтичної та біотехнологічної промисловості, перевагою якого є універсальність – його можна застосовувати і для обробки рук персоналу, і для поверхонь приміщень та обладнання. Засіб комбінований, поєднує в собі переваги спиртів, окисників та ЧАС. Проте, ми не радимо його застосовувати для обробки металу, так як перекис водню викликає корозію. Засіб не містить у своєму складі токсичних речовин, робочий розчин повністю нешкідливий для організму людини та навколишнього середовища [35, 38].

Засіб ТМ «SUPER WASH» дозволено використовувати на підприємствах біотехнологічної та фармацевтичної промисловості. Його перевагою є універсальність застосування щодо різних поверхонь. Діючою речовиною є представник ЧАС, переваги яких розглянуто вище [35, 39].

При виборі можливих мийних та дезінфікуючих засобів ми звертали особливу увагу та вплив діючих речовин на організм людини та навколишнє середовище. Так, альдегіди у складі засобів, наприклад «Dezaldum 20» - глутаровий альдегід, проявляють канцерогенні, мутагенні та тератогенні властивості; фенольні сполуки, наприклад «VITA DEZ 555» - 2-феноксіетанол, чинять негативний вплив на навколишнє середовище; кислоти, луги та їх солі, наприклад «DR Phosteril D.25» - фосфорна кислота, небезпечні для здоров'я. Також ми звернули увагу на те, щоб засоби містили різні класи діючих речовин задля зменшення імовірності виникнення резистентності мікроорганізмів [35].

Відповідно до табл. 5.4, з економічної точки зору для планового виробництва поверхнево-активних речовин бактерій *R. erythropolis* IMB Ac-5017 у присутності індуктору *E. coli* IEM-1 найкраще підійдуть засоби «ДЕЗолайт» та «КлінДез 401». Їх суттєвою перевагою є поєднання мийних та дезінфікувальних властивостей, що спрощує процедуру приготування робочих розчинів.

Так, для обробки поверхонь обладнання та приміщення фінансово не вигідно застосовувати готові до використання засоби («SANDEZ» та «SUPER WASH»).

Проте, «SANDEZ» можна застосовувати для обробки рук персоналу завдяки його універсальному використанню.

Також для обробки рук персоналу можемо запропонувати засоби «Стерилліум» та "АНІОСРАБ 85 НПК (ANIOSRUB 85 NPC)", які дозволено використовувати на підприємствах фармацевтичної, мікробіологічної та біотехнологічної промисловості. Діюча речовина – спирт - підходить для обробку шкіри рук, так як має антисептичні властивості. Спирти мають бактеріостатичні, туберкулоцидні та фунгіцидні властивості. Засоби варто закупати невеликими порціями, тому що спирт знижується у концентрації при зберіганні. Засоби не мають миючих властивостей та спричиняють резистентність спор бактерій і грибів, фіксують органічні забруднення, що не є проблемою, адже перед дезобробкою рук персонал має їх помити. Так, спирт може пошкодити гуму (гумові рукавички), але персонал періодично їх замінює [35, 40-42].

5.1.4. Особливості підготовки та стерилізації поживного середовища

Обґрунтування процесу підготовки та стерилізації поживного середовища задля культивування *Rhodococcus erythropolis* ІМВ-Ас-5017 – продуценту ПАР

Виробничий синтез комплексу ПАР здійснюється у ферментаторі об'ємом 250 л, що містить такий об'єм поживного середовища:

$$V_{\text{пс}} = V_{\text{роб}} - V_{\text{пм}} = 150 \text{ л} - (15 \text{ л} + 3,75 \text{ л}) = 131,25 \text{ л, де}$$

$$V_{\text{роб}} = V_{\text{гф}} / K_3 = 250 \text{ л} / 0,6 = 150 \text{ л;}$$

15 л – посівний матеріал продуцента *R. erythropolis* ІМВ Ас-5017, при дозі посівного матеріалу 10%;

3,75 л – посівний матеріал індуктора *E. coli* ІЕМ-1, тому що на 100 мл середовища необхідно 2,5 мл посівного матеріалу індуктора [5], отже на 150 л середовища треба 3,75 л.

Інокулят продуценту *R. erythropolis* ІМВ Ас-5017 отримують у два етапи: у колбах на качалках, а також в інокуляторі об'ємом 30 л.

Доза посівного матеріалу становить 10% від всього об'єму поживного середовища.

Виходить, що для одержання 150 л культуральної рідини потрібно:

$$V_{\text{роб. 1 продуцент}} = 150 \text{ л} \times 0,1 = 15 \text{ л посівного матеріалу.}$$

Цю кількість інокуляту ми можемо отримати під час культивування бактерій усередині посівного апарату об'ємом 30 л.

Для отримання 15 л культуральної рідини потрібно мати:

$$V_{\text{роб. 2 продуцент}} = 15 \text{ л} \times 0,1 = 1,5 \text{ л посівного матеріалу.}$$

Вищезазначену кількість інокуляту ми можемо отримати культивуванням бактерій усередині колб на качалці.

Для біосинтезу комплексу ПАР *R. erythropolis* ІМВ Ас-5017 у присутності індуктора *E. coli* ІЕМ-1 використовується середовище такого складу (г/л) [5]:

- Етанол – 2% (об'ємна частка);
- NaNO_3 – 1,3;
- NaCl – 1,0;
- Na_2HPO_4 – 0,6;
- KH_2PO_4 – 0,14;
- $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,1;
- $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,001.
- рН середовища 6,8-7,0.

Для вирощування посівного матеріалу продуценту використовують таке саме поживне середовище, проте вміст етанолу становить 0,5% (об'ємна частка).

Стерилізації підлягають усі компоненти поживного середовища, крім етанолу.

Необхідно визначити вміст мікроелементу $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$, необхідного для кожної стадії технологічного процесу (табл. 5.5), тому що у складі поживного середовища його кількість у порядку тисячних. Дані, наведені у табл. 5.5 свідчать, що задля вирощування посівного матеріалу продуцента всередині колб на качалках необхідно готувати запасний розчин $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ (з розрахунку як 1 г солі на 100 мл р-ну), так як розрахована кількість мікроелементу становить менше 10 мг. На наступних стадіях мікроелемент можна вносити в композицію з іншими солями.

Розрахунок вмісту мікроелементу $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ у різних об'ємах поживного середовища для виробничого біосинтезу і отримання посівного матеріалу *R. erythropolis* ІМВ Ас-5017

Стадія процесу	Об'єм середовища, л	Вміст $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$
колби на качалці	1,5	1,5 мг
інокулятор об'ємом 30 л	15	15 мг
виробничий ферментер об'ємом 250 л	150	150 мг

Для того, щоб визначити спосіб внесення деяких компонентів середовища (етанол) та обрати необхідні для цього колби чи збірники, визначаємо кількість таких компонентів, потрібну для приготування середовища для кожної з трьох стадій виробництва (табл. 5.6). Дані, наведені у табл. 5.6, свідчать про те, що для внесення етанолу у виробничий ферментер необхідно передбачити реактор об'ємом 5 л.

Розрахунок вмісту та особливості внесення етанолу як компоненту поживного середовища для *R. erythropolis* ІМВ Ас-5017

Об'єм середовища, л	Етанол	
	Об'єм, мл	Ємність для внесення
1,5	7,5	піпетка
15	75	колба на 100 мл
150	3000	реактор на 5 л

Особливості процесу підготовки та стерилізації поживного середовища задля одержання інокуляту *Rhodococcus erythropolis* ІМВ Ас-5017 в колбах на качалках

Для одержання необхідної кількості інокуляту потрібно у 8 качалочних колбах об'ємом 750 мл приготувати 1,5 л поживного середовища.

Після аналізу склад поживного середовища для вирощування *R. erythropolis* ІМВ-Ас-5017, умовно поділимо його на наступні композиції (залежно від режиму стерилізації їх компонентів):

Композиція А: NaNO_3 , NaCl , $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ (режим її стерилізації 131°C , 40 хв).

Композиція Б: Na_2HPO_4 , KH_2PO_4 (режим її стерилізації 131°C , 40 хв).

Солі композиції А стерилізують за стандартної для солей температури. Фосфати (що складають композицію Б) стерилізують окремо, задля того щоб запобігти утворенню нерозчинних фосфатів магнію. Процес стерилізації композицій А і Б проводять в автоклаві.

Розрахунок необхідних кількостей компонентів задля приготування середовища для вирощування інокуляту продуцента в колбах на качалках зазначений у табл. 5.7.

Таблиця 5.7

Композиції процесу стерилізації компонентів для вирощування посівного матеріалу продуценту всередині колб на качалці

Компонент поживного середовища	Його вміст, г/л	Розрахована кількість для приготування 1,5 л поживного середовища, г	Композиції	Об'єм даної композиції V, л
NaNO_3	1,3	1,95	А	1,0
NaCl	1,0	1,5		
$\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$	0,1	0,15		
Вода		1,0 (л)		
Na_2HPO_4	0,6	0,9	Б	0,5
KH_2PO_4	0,14	0,21		
Вода		0,5 (л)		
Усього				1,5

У нашому випадку при розрахунку води задля приготування композицій поживного середовища від об'єму рідини не віднімалися об'єми солей, так як вони мізерні. Інакше буде незручно відміряти об'єми води під час роботи (для композиції А – 996,4 мл, для композиції Б – 498,89 мл). Також не віднімаємо об'єм інокуляту, тому що при внесенні у качалочні колби він складає всього кілька мілілітрів. Не

віднімаємо об'єм етанолу (7,5 мл), тому що буде незручно працювати із 1492,5 мл води.

**Особливості процесу підготовки та стерилізації поживного середовища
зادля одержання інокуляту *Rhodococcus erythropolis* ІМВ Ас-5017 в посівному
апараті об'ємом 30 л**

Стерилізація 12 л поживного середовища, необхідного для підготовки посівного матеріалу *R. erythropolis* ІМВ-Ас-5017 у ферментері об'ємом 30 л, потребує перескладання композицій поживного середовища:

Композиція А: NaNO₃, NaCl, MgSO₄×7H₂O, Na₂HPO₄, KH₂PO₄, FeSO₄×7H₂O (її режим стерилізації композиції: 131 °С, 40 хв, рН 4,0 – 4,5).

Ці солі піддають розчиненню в окремому реакторі-змішувачі, із якого в подальшому вони будуть подані в інокулятор, де проводиться стерилізація.

Для запобігання утворення нерозчинних фосфатів магнію рН розчину з солями, перед процесом стерилізації доводять 6 %-вим розчином хлоридної кислоти до значення рН 4,0 – 4,5. Розрахунок необхідних кількостей компонентів задля приготування поживного середовища для вирощування інокуляту продуцента в посівному апараті об'ємом 30 л нижче наведений нижче у табл. 5.8.

Таблиця 5.8

**Композиції для процесу стерилізації компонентів задля вирощування
посівного матеріалу в інокуляторі об'ємом 30 л (Кз = 0,5)**

Компонент поживного середовища	Його вміст, г/л	Розрахована кількість для приготування 15 л середовища, г	Композиції	Об'єм даної композиції V, л
NaNO ₃	1,3	19,5	А	12
NaCl	1,0	15		
MgSO ₄ ×7H ₂ O	0,1	1,5		
Na ₂ HPO ₄	0,6	9		
KH ₂ PO ₄	0,14	2,1		
FeSO ₄ ×7H ₂ O	0,001	0,015		
Вода		12 (л)		
Конденсат		1,5 (л)		1,5
Усього				13,5

Конденсат становить 10% від об'єму середовища. Тобто, якщо середовище 15 л, то вміст конденсату складає 1,5 л.

У даному випадку при розрахунку води для приготування композиції поживного середовища від об'єму рідини не віднімалися об'єми солей, тому що вони невеликі. Під час роботи легше буде відміряти 12 л води, ніж 11,95 л. Окрім того, ми не можемо точно спрогнозувати скільки рідини втратиться (краплевиніс) під час процесу, тому краще брати із запасом.

Об'єм посівного матеріалу віднімаємо від об'єму середовища, тому що він має істотне значення – 1,5 л.

Об'єм етанолу (75 мл) не віднімаємо, тому що незручно буде відміряти 11,925 л води для приготування композиції.

Особливості процесу підготовки та стерилізації поживного середовища задля виробничого біосинтезу у ферментаторі об'ємом 250 л

Для цієї стадії необхідно приготувати 113,3 л поживного середовища. Середовище ділимо на такі композиції:

Композиція А: NaNO_3 , NaCl , $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$, Na_2HPO_4 , KH_2PO_4 , $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ (її режим стерилізації композиції: 131 °С, 40 хв, рН 4,0 – 4,5).

Дані солі піддають розчиненню в окремому реакторі-змішувачі, з якого в подальшому вони будуть подані у виробничий ферментер, де і проводиться процес стерилізації.

Етанол не підлягає попередній стерилізації, тому вноситься у ферментер.

Для запобігання утворення нерозчинних фосфатів магнію рН розчину з вищезазначеними солями, перед процесом стерилізації доводять 6 %-вим р-ном соляної кислоти до досягнення значення рН 4,0 – 4,5.

Розрахунок необхідних кількостей компонентів задля приготування поживного середовища для вирощування інокуляту продуцента у виробничому ферментері об'ємом 250 л наведений у табл. 5.9.

**Композиції процесу стерилізації компонентів для виробничого біосинтезу
у ферментаторі об'ємом 250 л ($K_3 = 0,6$)**

Компонент поживного середовища	Його вміст, г/л	Розрахована кількість для приготування 150 л середовища, г	Композиції	Об'єм даної композиції V, л
NaNO ₃	1,3	195	А	113,3
NaCl	1,0	150		
MgSO ₄ ×7H ₂ O	0.1	15		
Na ₂ HPO ₄	0,6	90		
KH ₂ PO ₄	0.14	21		
FeSO ₄ ×7H ₂ O	0,001	0,15		
Вода		113,25 л (113,3 л)		
Конденсат		15 (л)		15
Усього				128,3

Конденсат становить 10% від об'єму середовища. Тобто, якщо середовище 150 л, то вміст конденсату складає 15 л.

У даному випадку при розрахунку води задля приготування композиції поживного середовища від об'єму води не віднімалися об'єми солей, тому що краще взяти більше води (ми не можемо з точністю спрогнозувати втрати під час краплевиносу у процесі роботи).

Об'єм посівного матеріалу віднімаємо від об'єму середовища, тому що він має істотне значення – 15 л продуцента і 3,75 л індуктора.

Від об'єму середовища віднімаємо також етанол, тому що він має значний об'єм - 3 л.

**Обґрунтування процесу підготовки та стерилізації поживного середовища
задля культивування *Escherichia coli* ІЕМ-1 – індуктору**

Інокулят індуктора *E. coli* ІЕМ-1 також отримують у два етапи: у колбах на качалках, в інокуляторі об'ємом 6 л.

У статті [5] вказано, що для біосинтезу на 100 мл поживного середовища потрібно 2,5 мл посівного матеріалу індуктора. Таким чином, на 150 л середовища

потрібно 3,75 л інокуляту. Цю кількість посівного матеріалу ми можемо отримати під час культивування бактерій всередині інокулятора об'ємом 6 л.

Для засіву вищезгаданого ферментеру доза інокуляту становить 5% від об'єму поживного середовища.

$$V_{\text{роб. 1 індуктор}} = 3,75 \text{ л} \times 0,05 = 0,188 \text{ л (190 мл) посівного матеріалу.}$$

Дану кількість посівного матеріалу ми можемо отримати культивуванням бактерій усередині колб на качалці.

Для вирощування посівного матеріалу індуктору використовують таке саме поживне середовище, що і для продуценту, проте як джерело вуглецю використовують глюкозу, вміст якої становить 0,5% (об'ємна частка).

Стерилізації підлягають усі компоненти поживного середовища.

Необхідно визначити вміст мікроелементу $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$, необхідного для кожної стадії технологічного процесу (табл. 5.10), тому що у складі поживного середовища його кількість у порядку тисячних. Дані, наведені у табл. 5.10 свідчать про те, що задля вирощування посівного матеріалу індуктора в колбах на качалках і в інокуляторі об'ємом 6 л необхідно готувати запасний розчин $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ (з розрахунку як 1 г солі на 100 мл р-ну), тому що розрахована кількість мікроелементу становить менше 10 мг.

Таблиця 5.10

Розрахунок вмісту мікроелементу $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ у різних об'ємах поживного середовища задля отримання посівного матеріалу *E. coli* IEM-1

Стадія процесу	Об'єм середовища, л	Вміст $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$
колби на качалці	0,188 (0,190)	0,188 мг
інокулятор об'ємом 6 л	3,75	3,75 мг

Для того, щоб визначити спосіб приготування глюкози та підібрати необхідні для цього колби чи реактори, розрахуємо її, потрібну для приготування середовища для кожної з двох стадій виробництва (табл. 5.11). Дані, наведені у табл. 5.11, свідчать про те, що для приготування розчину глюкози не потрібні реактори.

Розрахунок вмісту та особливості приготування окремих компонентів поживного середовища для *E. coli* ІЕМ-1

Об'єм середовища, л	Глюкоза		
	Вміст, г	Об'єм 40%-го розчину, мл	Особливість приготування
0,188 (0,190)	0,94	2,35 (2,4)	у колбі на 100 мл*
3,75	18,75	46,9 (47)	

Примітка. * Враховуючи невелику кількість глюкози, можна приготувати і простерилізувати один розчин для середовища в колбах і інокуляторі.

Враховуючи об'єм 40%-го розчину глюкози, необхідного для приготування поживного середовища для культивування *E. coli* ІЕМ-1 в колбах на качалках, доцільно приготувати його у вигляді запасного стерильного розчину. Розчин готується з максимально можливою концентрацією через легку контамінацію.

Особливості підготовки та стерилізації поживного середовища для одержання інокуляту *Escherichia coli* ІЕМ-1 в колбах на качалках

Для одержання необхідної кількості інокуляту потрібно у одній качалочній колбі об'ємом 750 мл приготувати 0,190 л (0,2 л) поживного середовища (ПС).

Проаналізувавши склад поживного середовища для *E. coli* ІЕМ-1, умовно ділимо його на такі композиції (що залежить від режиму стерилізації компонентів):

Композиція А: NaNO_3 , NaCl , $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ (її режим стерилізації композиції становить 131°C, 40 хв).

Композиція Б: Na_2HPO_4 , KH_2PO_4 (її режим стерилізації композиції становить 131°C, 40 хв).

Солі у складі композиції А стерилізують при стандартній для мінеральних солей температурі. Фосфати (склад композиції Б) проходять стерилізацію окремо, щоб запобігти утворенню нерозчинних у воді фосфатів магнію. Процес стерилізації композицій А і Б проводиться в автоклаві.

Розрахунок потрібних кількостей компонентів задля приготування поживного середовища для вирощування інокуляту індуктора в колбах на качалках зазначений у табл. 5.12.

Таблиця 5.12

Композиції стерилізації компонентів задля вирощування посівного матеріалу індуктору в колбах на качалці

Компонент поживного середовища	Його вміст, г/л	Розрахована кількість для приготування 0,188 л (0,2 л) середовища, г	Композиції	Об'єм даної композиції V, л
NaNO ₃	1,3	0,2444 (0,25)	А	0,1
NaCl	1,0	0,188 (0,19)		
MgSO ₄ ×7H ₂ O	0.1	0,0188 (0,02)		
Вода		0,1 (л)		
Na ₂ HPO ₄	0,6	0,1128 (0,12)	Б	0,1
KH ₂ PO ₄	0.14	0,02632 (0,03)		
Вода		0,1 (л)		
Усього				0,2

У нашому випадку при розрахунку води задля приготування композицій поживного середовища від об'єму води не віднімалися об'єми солей, тому що вони мізерні. Інакше буде незручно відміряти об'єми води (для композиції А – 99,54 мл, для композиції Б – 99,85 мл). Також ми не віднімаємо об'єм посівного матеріалу, так як при внесенні усередину качалочних колб він складає всього кілька мілілітрів.

Не віднімаємо об'єм розчину глюкози, так як він незначний і становить всього 2,4 мл.

Особливості процесу підготовки та стерилізації поживного середовища задля одержання інокуляту *Escherichia coli* IEM-1 в інокуляторі об'ємом 6 л

Стерилізація 3,6 л поживного середовища, необхідного для підготовки посівного матеріалу *E. coli* IEM-1 у ферментері об'ємом 6 л не потребує перескладання композицій поживного середовища, тому що їх стерилізація також буде проходити в автоклаві, як і на попередньому етапі.

Стерилізація проходить в автоклаві, тому що у протилежному випадку необхідний реактор-змішувач і титрувальні агенти, що ускладнює технологічний процес.

Розрахунок потрібних кількостей компонентів задля приготування середовища для одержання посівного матеріалу індуктору в інокуляторі об'ємом 6 л наведений у табл. 5.13.

Таблиця 5.13

Композиції стерилізації компонентів задля вирощування посівного матеріалу індуктору у інокуляторі об'ємом 6 л ($K_3 = 0,625$)

Компонент поживного середовища	Його вміст, г/л	Розрахована кількість для приготування 3,75 л (3,8 л) середовища, г	Композиції	Об'єм даної композиції V, л
NaNO ₃	1,3	4,875 (4,88)	А	1,8
NaCl	1,0	3,75		
MgSO ₄ ×7H ₂ O	0,1	0,375 (0,38)		
Вода		1,8 (л)		
Na ₂ HPO ₄	0,6	2,25	Б	1,8
KH ₂ PO ₄	0,14	0,525 (0,53)		
Вода		1,8 (л)		
Усього				3,6

У нашому випадку при розрахунку води задля приготування композицій поживного середовища від об'єму води не віднімалися об'єми солей, тому що вони невеликі. Під час роботи зручніше буде відміряти по 1,8 л води (інакше - для композиції А – 1,791 л, для композиції Б – 1,797 л). Не віднімаємо також об'єм розчину глюкози (47 мл), том що незручно буде працювати з 3,553 л води. Окрім того, ми не можемо точно спрогнозувати скільки рідини втратиться (краплевиніс) під час процесу, тому краще брати із запасом.

Об'єм посівного матеріалу віднімаємо від об'єму середовища, тому що він має істотне значення – 0,2 л.

РОЗДІЛ 6. СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ ДОФЕРМЕНТАЦІЙНИХ ПРОЦЕСІВ ТА ВИРОБНИЧОГО БІОСИНТЕЗУ

Специфікація основного обладнання, що контури якого зображені на апаратурній схемі (див. графічна частина роботи), що наведена нижче в табл. 6.1.

Таблиця 6.1

Специфікація обладнання для ділянки допоміжних робіт та виробничого біосинтезу цільового комплексу поверхнево-активних речовин

Позиція	Найменування обладнання	Кількість	Технічна характеристика (виробник)
№1	№2	№3	№4
ПЗ-1	Повітрязабірний пристрій (компресор)	1	Повітрязабірний пристрій предстляє собою трубу компресора К-2, який обрано далі.
К-2	Компресор	1	Компресор гвинтовий F-Drive 8 «Almig» (Німеччина). Продуктивність: 0,23-1,21 м ³ /хв. Робочий тиск: 5-13 бар. Потужність двигуна: 7,5 кВт. Габарити, мм: 660×690×1586 [43].
Т-3	Теплообмінник-охолоджувач	1	Охолоджувач CoolPro-AF007 «МТА» (Італія). Продуктивність 0,6 м ³ /хв. Максимальний робочий тиск: 16 бар. Максимальна вхідна температура: 200°С [44].
Р-4	Ресивер	1	Ресивер 350 л «Voge» (Німеччина). Робочий тиск 11 бар. Габарити, мм: 1630×720×675 [45].
Т-5	Теплообмінник-нагрівач	1	Нагрівач АН-8500 «CryoSnow» (Німеччина). Робочий тиск: 3 бар. Здатний нагріти повітря максимум до 100°С. Продуктивність: 0,5 м ³ /хв. Габарити, мм: 570×420×400 [46].
Р-6	Реактор-змішувач для етанолу	1	Реактор А2413 JS FS об'ємом 5 л «Amar Equipments» (Індія). Наявна сорочка, турбінна мішалка з частотою обертів 100 об/хв. Габаритні розміри, мм: 250×350×300 [47].
І-7	Інокулятор	1	Біореактор «Infors НТ» (Швейцарія) об'ємом 6 л. Максимальний робочий об'єм 4 л. Оснащений аеруючим та перемішувальним пристроями, датчиками кисню та рН. Частота обертання мішалки 150-1600 об/хв. Габарити, мм: 455×375×740 [48].

НУХТ БТЕК 04.01.02 КР ПЗ				
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата
Розробив		Охмакевич		
Перевірів		Пирог Т.П.		
Реценз.				
Н. Контр.				
Затверд.		Стабніков		
РОЗДІЛ 6. СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ ДОФЕРМЕНТАЦІЙНИХ ПРОЦЕСІВ ТА ВИРОБНИЧОГО БІОСИНТЕЗУ			Літ.	Арк.
				57
			Кафедра БТМ	
			57	

Закінчення табл. 6.1

P-8	Реактор-змішувач, необхідний для приготування композиції А	1	Реактор-змішувач з нержавіючої сталі об'ємом 15 л «ХімМікс» (Україна, Івано-Франківськ). Оснащений сорочкою та якірною мішалкою із частотою 28-30 об/хв. Потужність приводу перемішуючого пристрою 0,25 кВт. Габаритні розміри, мм: 560×580×1700 [49].
H-9	Насос для перекачування рідини з реактора об'ємом 15 л в інокулятор об'ємом 30 л	1	Мембранний насос для рідин «АгроТех» (Україна, Львів). Продуктивність 1.5 л/хв. Максимальний робочий тиск 3,5 бар. Максимальна потужність: 15 Вт [50].
I-10	Інокулятор	1	Біореактор M Serie 30 об'ємом 30 л «Solaris Biotechnology» (Італія). Максимальний робочий об'єм 22,50 л. Оснащений барботером, сорочкою, газоаналізатором, датчиками рН і температури, лопатевою мішалкою. Максимальна температура 152°C. Матеріал: нержавіюча сталь AISI 316 L. Габарити, мм: 870×580×1910. Виготовлення на замовлення [51, 52].
P-11	Реактор-змішувач, необхідний задля приготування композиції А	1	Реактор-змішувач, виготовлений з нержавіючої сталі об'ємом 130 л «ХімМікс» (Україна, Івано-Франківськ). Оснащений сорочкою та магнітною мішалкою із частотою 200 об/хв. Потужність приводу перемішуючого пристрою 0,37 кВт. Габаритні розміри, мм: 1140×710×1760 [53].
H-12, H-14	Насоси для перекачування рідини із реактора об'ємом 130 л у ферментер об'ємом 250 та із ферментеру об'ємом 250 л у збірник культуральної рідини	2	Мембранний насос «АгроТех» (Україна, Львів). Продуктивність складає 10 л/хв. Максимальний робочий тиск дорівнює 13,5 бар. Потужність: 180 Вт [54].
ФР-13	Ферментер	1	Ферментер INOFE-JS з нержавіючої сталі об'ємом 250 л «Innova» (Китай). Оснащений барботером, сорочкою, датчиками рН, розчиненого кисню, температури, механічним перемішуючим пристроєм. Габарити, мм: 1000×1040×2730. Виготовлення на замовлення [55, 56].

Фільтр попередньої очистки повітря і головний фільтр продаються в комплекті з компресором для забезпечення аераційним повітрям культуральної рідини у пілотному і лабораторному обладнанні. Так само у комплекті з інокуляторами і виробничим ферментером продаються індивідуальні фільтри. Таким чином, у нашому випадку фільтри не є окремою позицією, а є складовою частиною відповідного обладнання.

РОЗДІЛ 7. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ДОФЕРМЕНТАЦІЙНИХ ПРОЦЕСІВ ТА ВИРОБНИЧОГО БІОСИНТЕЗУ

Плановий технологічний процес виробничого біосинтезу комплексу ПАР *Rhodococcus erythropolis* ІМВ-Ас-5017 у присутності індуктору *Escherichia coli* ІЕМ-1 складається із допоміжних та основних робіт. Стадії допоміжних робіт (ДР): підготовка аераційного повітря, приготування титрувальних агентів HCl та NaOH, приготування та стерилізація запасних розчинів FeSO₄×7H₂O та 40%-го розчину глюкози, підготовка та стерилізація поживного середовища. Далі - технологічний процес (ТП): приготування інокуляту продуценту і індуктору та виробничий біосинтез.

У графічній частині даної кваліфікаційної роботи наведено технологічну та апаратурну схеми біосинтезу ПАР.

ДР 1. Санітарна підготовка виробництва

ДР 1. Підготовка персоналу

ДР 1.1.1. Навчання персоналу

Здійснюється при прийомі на роботу та не рідше одного разу на рік, може проводитись у формі лекцій на підприємстві або в режимі онлайн. Після навчання обов'язкове складання іспиту у формі тестів або письмових питань.

ДР 1.1.2. Санітарно-гігієнічна підготовка персоналу і візуальний медогляд

Санітарно-гігієнічна підготовка персоналу перед зміною проводиться відповідно до правил GMP, що включає в себе миття рук та підготовку технологічного одягу (прання та прасування багаторазового одягу або закупівля одноразового). Також необхідні проходження візуальних медоглядів перед початком роботи. Крім того, необхідно проходити медогляди при прийомі на роботу та періодично.

					НУХТ БТЕК 04.01.02 КР ПЗ			
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата				
Розробив		Охмакевич			РОЗДІЛ 7. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ДОФЕРМЕНТАЦІЙНИХ ПРОЦЕСІВ ТА ВИРОБНИЧОГО БІОСИНТЕЗУ	Літ.	Арк.	Аркушів
Перевірів		Пирог Т.П.					59	13
Реценз.						59		
Н. Контр.						Кафедра БТМ		
Затверд.		Стабніков						

ДР 1.2. Підготовка мийно-дезінфікувальних засобів

ДР 1.2.1. Підготовка засобів для обробки поверхонь приміщень та обладнання

Застосовують мийно-дезінфікувальні засоби «ДЕЗОлайт» або «КлінДез 401», чергуючи їх раз на 1...3 місяці.

Приготування робочого розчину «ДЕЗОлайт» для одного миття:

- обладнання – у реактор через лічильники рідин наливають 200 мл засобу і 87 л питної води, вмикають перемішуючий пристрій та здійснюють підігрів подачею глухої пари до температури 70-80°C для повного розчинення рідкого концентрату;
- підлоги при щоденному прибиранні - в емальовану ємність наливають 20 мл засобу і 7,18 л питної води, відміряних мірними циліндрами . Вода попередньо підігріта до температури 65°C, перемішують до повного розчинення рідкого концентрату.
- стін, дверей, вікон, підлоги при генеральному прибиранні – у реактор через лічильники рідин наливають 125 мл засобу і 50,3 л питної води вмикають перемішуючий пристрій та здійснюють підігрів подачею глухої пари до температури 70-80°C для повного розчинення рідкого концентрату.

Приготування робочого розчину «КлінДез 401» для одного миття здійснюється аналогічно, проте розраховані кількості компонентів наступні:

- обладнання – 90 мл засобу і 87,11 л питної води;
- підлоги при щоденному прибиранні - 7 мл засобу і 7,193 л питної води;
- стін, дверей, вікон, підлоги при генеральному прибиранні – 50 мл засобу і 50,3 л питної води.

ДР 1.2.2. Підготовка засобів для обробки рук персоналу

Наявність на підприємстві готових до застосування засобів «SANDEZ», «Стерилліум» та "АНІОСРАБ 85 НПК (ANIOSRUB 85 NPC)", які варто чергувати раз на 1...3 місяці.

ДР 1.3. Підготовка приміщень

ДР 1.3.1. Щоденне прибирання

Миття та дезінфекція підлоги, протирання обладнання ззовні засобами «ДЕЗОлайт» або «КлінДез 401» (від ДР 1.2.1) концентрацією 0,25% та 0,1% відповідно. Періодичність зміни ємності з мийно-дезінфікувальним засобом кожні 30 м². Після миття поверхні протирають питною водою. Відпрацьовані рідини йдуть на стадію знешкодження відходів (ЗВ 10).

ДР 1.3.2. Генеральне прибирання

Миття та дезінфекція підлоги, стелі, стін, вікон, дверей засобами «ДЕЗОлайт» або «КлінДез 401» (від ДР 1.2.1) концентрацією 0,25% та 0,1% відповідно. Після миття поверхні протирають питною водою. Відпрацьовані рідини йдуть на стадію знешкодження відходів (ЗВ 10).

Для перевірки мікробіологічної чистоти проводять мікробіологічний контроль (має бути КУО < 800/см²).

ДР 1.4. Підготовка обладнання

ДР 1.4.1. Миття, ополіскування та огляд обладнання

Миття обладнання на допомогою СІР-мийки засобами «ДЕЗОлайт» або «КлінДез 401», концентрацією 0,25% та 0,1% відповідно (від ДР 1.2.1), попередньо підігрітими до температури 70-80°C.

Робочий розчин з реактора за допомогою насоса подають на миття обладнання. Розчином одного із засобів промивають обладнання протягом 1 год при перемішуванні.

Далі здійснюють ополіскування очищеною водою кімнатної температури. Відпрацьовані рідини йдуть на стадію знешкодження відходів (ЗВ 10).

Після миття та ополіскування ємностей проводять візуальний технічний огляд з метою виявлення потенційних неущільнень в комунікаціях та запірній арматурі. За потребою проводять підтягування різьбових з'єднань.

ДР 1.4.2. Перевірка на герметичність

Після закриття обладнання та всієї запірної арматури всередину ємностей подають аераційне повітря до досягнення надлишкового тиску 0,3 МПа. Далі

перекривають вентиль подачі повітря, фіксують показання манометра на кришці апаратів та час витримки (1,5-2 год) в операційному журналі. Апарат вважається герметичним, у разі якщо падіння тиску не перевищує 0,01 МПа. У разі виявлення неущільнень здійснюють їх ліквідацію.

ДР 1.4.3. Підігрів

Проводять підігрів обладнання насиченою парою, що подається в сорочку апарату, до температури 80-90°C.

ДР 1.4.4. Стерилізація

Проводять стерилізацію обладнання насиченою гострою парою. Для цього спочатку відкривають всю запірну арматуру. В ферментер (ФР-13), та інокулятори (І-7, І-10) гостру пару подають через барботер, а в реактор (Р-7) через нижній спуск, попередньо відкривши вентилі виходу відпрацьованого повітря з апаратів. При досягненні в апаратах температури стерилізації 131°C закривають всю запірну арматуру, крім парової, витримують протягом 1,5 год (тиск 0,15 МПа).

ДР 1.4.5. Охолодження

Спочатку закривають усю запірну арматуру подачі в апарати пари. Потім обладнання охолоджують за допомогою подачі в сорочку холодної води, одночасно компенсуючи падіння тиску подачею стерильного повітря. Охолодження здійснюють до досягнення значення температури 30-40°C і значення $P = 0,003-0,005$ МПа надлишкового тиску.

ДР 2. Підготовка аераційного повітря

ДР 2.1. Забір атмосферного повітря

За допомогою повітрязабірного пристрою (ПЗ-1) забирають атмосферне повітря у найвищій точці – на висоті 13 м (див. підрозділ 1.1).

ДР 2.2. Очистка повітря від грубих часток

Очищення повітря від грубих часток (від ДР 2.1) проводять у фільтрі попереднього очищення, що забезпечує ступінь очищення до 90%. Даний етап дає можливість знизити рівень контамінації повітря за рахунок затримання частини мікроорганізмів із часточками пилу.

ДР 2.3. Стиснення повітря

Процес стискання повітря (від ДР 2.2) проходить у компресорі (К-2) до 0,35-0,5 МПа. Стиснення повітря призводить до підвищення його температури до значення 120-200°C, а також до збільшення значення вологовмісту на одиницю об'єму повітря.

ДР 2.4. Охолодження повітря і видалення зайвої вологи

Повітря стиснене, що утворене при компресуванні, (від ДР 2.3) надходить до теплообмінника-охолоджувача (Т-3), де охолоджується до температури 25-40°C за участі води охолодженої як теплоносія. Потім зайву вологу видаляють за допомогою ресивера (Р-4). Показник вологості зменшується до 60-70%.

ДР 2.5. Нагрівання повітря

Повітря охолоджене (від ДР 2.4) надходить до нагрівача-теплообмінника (Т-5), де нагрівається до температури 45-50°C завдяки парі низького тиску. Показник вологості при цьому зменшується до значення 50%.

ДР 2.6. Очищення повітря у головному фільтрі

Повітря, нагріте на попередній стадії (від ДР 2.5), надходить до головного фільтра очистки, який ставлять поблизу ферментаційних відділень. На цьому етапі ступінь очищення дорівнює 95%.

ДР 2.7. Очищення повітря в індивідуальному фільтрі

Попередньо підготоване повітря (від ДР 2.6) подається в індивідуальні фільтри кожного з використовуваних біореакторів до ТП 7.5, ТП 8.5, ТП 9.1. Ступінь кінцевої очистки повітря складає 99,999%.

ДР 3. Приготування титрувальних розчинів

ДР 3.1. Приготування 6%-го розчину HCl для підкислення середовища для вирощування R. erythropolis ІМВ-Ас-5017 у посівному апараті об'ємом 30 л та виробничому ферментері об'ємом 250 л

Для приготування 330 мл 6%-го р-ну соляної кислоти усередину колби об'ємом 500 мл вносять мірним циліндром на 500 мл 265 мл води дистильованої і вносять циліндром мірним на 100 мл при постійному перемішуванні 65 мл 31%-ого

розчину соляної кислоти. Дві рідини обов'язково змішують у даному порядку, а не навпаки для уникнення сильної небезпечної екзотермічної реакції.

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

ДР 3.2.1. Приготування і стерилізація 6%-го розчину NaOH для підлужнення поживного середовища для вирощування R. erythropolis IMB-Ac-5017 у посівному апараті об'ємом 30 л

З метою приготування 30 мл 6%-го р-ну натрію гідроксиду на вагах технічних зважують 1,8 г їдкого натру у кристалічному стані. Цю наважку поміщають у колбу на 100 мл, а далі за допомогою мірного циліндра об'ємом 50 мл додають 28 мл води дистильованої, перемішують до повного розчинення, потім закривають ватно-марлевою пробкою. Процес стерилізації здійснюють при 131°C (0,15 МПа) упродовж 40 хв в автоклаві.

ДР 3.2.2. Приготування і стерилізація 6%-го розчину NaOH для підлужнення поживного середовища для вирощування R. erythropolis IMB-Ac-5017 у виробничому ферментері об'ємом 250 л

Задля приготування 300 мл 6%-го розчину NaOH за допомогою технічних вагів зважують 18 г їдкого натру у кристалічному стані. Цю наважку поміщають у колбу об'ємом 750 мл, а далі за допомогою мірного циліндра об'ємом 500 мл додають 280 мл води дистильованої, перемішують до повного розчинення, потім закривають ватно-марлевою пробкою. Процес стерилізації здійснюють при 131°C (0,15 МПа) за 40 хв в автоклаві.

ДР 4. Приготування і стерилізація запасного розчину FeSO₄×7H₂O

ДР 4.1. Приготування і стерилізація запасного розчину FeSO₄×7H₂O для вирощування посівного матеріалу R. erythropolis IMB-Ac-5017 у колбах на качалках

За допомогою технічних терезів виконують зважування 1 г FeSO₄×7H₂O. Цю наважку поміщають у колбу об'ємом 250 мл, потім додають 100 мл води дистильованої, відміряної мірним циліндром об'ємом 100 мл, перемішують, далі закривають ватно-марлевым корком і здійснюють процес стерилізації при 131°C (0,15 МПа) за 40 хв в автоклаві.

*ДР 4.2. Приготування і стерилізація запасного розчину $FeSO_4 \times 7H_2O$ для вирощування посівного матеріалу *E. coli* IEM-1 у колбах на качалках та у посівному апараті об'ємом 6 л*

За допомогою технічних терезів виконують зважування 1 г $FeSO_4 \times 7H_2O$. Дану наважку поміщають усередину колби об'ємом 250 мл, далі додають 100 мл води дистильованої, відміряної мірним циліндром на 100 мл, далі перемішують, потім закривають ватно-марлевым корком і здійснюють процес стерилізації при 131°C (0,15 МПа) за 40 хв в автоклаві.

ДР 5. Приготування і стерилізація запасного 40%-ого розчину глюкози

*ДР 5.1. Приготування і стерилізація запасного 40%-ого розчину глюкози для вирощування *E. coli* IEM-1 у колбі на качалці і посівному апараті об'ємом 6 л*

На технічних терезах зважують 20 г глюкози. Далі наважку поміщають усередину колби об'ємом 100 мл, потім додають 30 мл дистильованої води, відміряної мірним циліндром на 50 мл, далі перемішують, потім закривають ватно-марлевым корком і здійснюють процес стерилізації при 112°C (0,05 МПа) за 30 хв в автоклаві.

ДР 6. Приготування і стерилізація поживних середовищ

*ДР 6.1. Приготування і стерилізація поживного середовища для вирощування інокуляту *R. erythropolis* IMB-Ac-5017 в колбах на качалках*

ДР 6.1.1. Приготування і стерилізація композиції А

Зважують за допомогою технічних терезів 1,95 г $NaNO_3$, 1,5 г $NaCl$, 0,15 г $MgSO_4 \times 7H_2O$. Дані наважки поміщають у колбу об'ємом 2 л, далі додають за допомогою мірного циліндра об'ємом 1 л води дистильованої (1 л), далі перемішують, потім закривають ватно-марлевым корком і здійснюють процес стерилізації при 131 °C (0,15 МПа) упродовж 40 хв в автоклаві.

ДР 6.1.2. Приготування і стерилізація композиції Б

Зважують за допомогою технічних терезів 0,9 г Na_2HPO_4 і 0,21 г KH_2PO_4 . Ці наважки поміщають у колбу об'ємом 1 л, далі додають за допомогою мірного циліндра об'ємом 1 л води дистильованої (0,5 л), далі перемішують, потім

закривають ватно-марлевым корком і здійснюють процес стерилізації в автоклаві при 131 °С (0,15 МПа) за 40 хв.

ДР 6.2. Приготування і стерилізація поживного середовища для вирощування інокуляту R. erythropolis ІМВ-Ас-5017 в інокуляторі об'ємом 30 л

ДР 6.2.1. Приготування і стерилізація композиції А

Зважують за допомогою технічних терезів 19,5 г NaNO_3 , 15 г NaCl , 1,5 г $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$, 9 г Na_2HPO_4 , 2,1 г KH_2PO_4 і 15 мг $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$. Ці наважки переносять у реактор-змішувач (Р-8) на 15 л, додають через лічильник 12 л води питної, вмикають перемішувачий пристрій. При цьому для кращого розчинення компонентів у сорочку даного реактора подають пару, щоб досягти значення температури у ньому на рівні 40°С. Отриманий розчин перекачують насосом (Н-9) попередньо простерилізований інокулятор (І-10) об'ємом 30 л, подають 6 %-ий р-н HCl (від ДР 3.1) задля досягнення рН 4,0-4,5 і здійснюють процес стерилізації при 131 °С (0,15 МПа) тривалістю 40 хв.

ДР 6.3. Приготування і стерилізація поживного середовища для вирощування R. erythropolis ІМВ-Ас-5017 у виробничому ферментері об'ємом 250 л

ДР 6.3.1. Приготування і стерилізація композиції А

Зважують за допомогою технічних терезів 195 г NaNO_3 , 150 г NaCl , 15 г $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$, 90 г Na_2HPO_4 , 21 г KH_2PO_4 і 0,15 г $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$. Дані наважки переносять у реактор (Р-11) на 130 л, додають через лічильник 113,3 л питної води, вмикають перемішувачий пристрій. Для більш повного розчинення компонентів у сорочку даного реактора подають пару, щоб досягти значення температури усередині реактора на рівні 40°С. Далі отриманий розчин перекачують насосом (Н-12) у простерилізований виробничий ферментер (Фр-13) об'ємом 250 л, подають 6 %-ий розчин соляної кислоти (від ДР 3.1) задля досягнення рН 4,0-4,5 і здійснюють процес стерилізації при 131 °С (0,15 МПа) тривалістю 40 хв.

ДР 6.4. Приготування і стерилізація поживного середовища для вирощування E. coli ІЕМ-1 в колбах на качалках

ДР 6.4.1. Приготування і стерилізація композиції А

За допомогою технічних терезів зважують 0,25 г NaNO_3 , 0,19 г NaCl , 0,02 г $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$. Ці наважки поміщають у колбу об'ємом 250 мл, далі додають циліндром мірним об'ємом 100 мл воду дистильовану (0,1 л), далі перемішують, потім закривають ватно-марлевим корком і здійснюють процес стерилізації в автоклаві при 131 °С (0,15 МПа) за 40 хв.

ДР 6.4.2. Приготування і стерилізація композиції Б

За допомогою технічних терезів зважують 0,12 г Na_2HPO_4 і 0,03 г KH_2PO_4 . Ці наважки поміщають у колбу об'ємом 250 мл, далі додають за допомогою мірного циліндра об'ємом 100 мл воду дистильовану (0,1 л), далі перемішують, потім закривають ватно-марлевим корком і здійснюють процес стерилізації при 131 °С (0,15 МПа) упродовж 40 хв в автоклаві.

ДР 6.5. Приготування і стерилізація поживного середовища для вирощування E. coli IEM-1 в інокуляторі об'ємом 6 л

ДР 6.5.1. Приготування і стерилізація композиції А

Зважують за допомогою терезів технічних 4,88 г NaNO_3 , 3,75 г NaCl , 0,38 г $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$. Ці наважки переносять у колбу на 4 л, додають за допомогою мірного циліндру на 2 л 1,8 л води питної, далі перемішують, потім закривають ватно-марлевим корком і здійснюють процес стерилізації при 131 °С (0,15 МПа) тривалістю 40 хв.

ДР 6.5.2. Приготування і стерилізація композиції Б

За допомогою технічних терезів зважують 2,25 г Na_2HPO_4 і 0,53 г KH_2PO_4 . Наважки поміщають усередину колби об'ємом 4 л, додають за допомогою мірного циліндра об'ємом 2 л питну воду (1,8 л), далі перемішують, потім закривають ватно-марлевим корком і здійснюють процес стерилізації при 131 °С (0,15 МПа) упродовж 40 хв в автоклаві.

ТП 7. Підготовка посівного матеріалу R. erythropolis IMB-Ac-5017

ТП 7.1. Підтримання колекційної культури R. erythropolis IMB-Ac-5017

Отриману музейну культуру *R. erythropolis* IMB-Ac-5017 зберігають на скошеному щільному агаризованому середовищі (у даному випадку м'ясо-пептонний агар) у пробірці. Пересіви на свіже поживне середовище здійснюють раз

на 3-4 місяці. Усі види робіт із колекційною культурою виконують із дотриманням правил асептики у обов'язковому порядку.

*ТП 7.2. Одержання робочої культури *R. erythropolis* ІМВ-Ас-5017*

Музейну культуру за допомогою методу виснажувального штриха пересівають на чашку Петрі з попередньо підготовленим МПА для одержання ізолюваних колоній. Культивування здійснюють в термостаті за температури 30 ± 2 °С (протягом 48-72 год).

*ТП 7.3. Вирощування *R. erythropolis* ІМВ-Ас-5017 у пробірках на агаризованих середовищах*

На скошене м'ясо-пептонне агаризоване стерильне середовище (МПА) у пробірках пересівають бактеріологічною петлею ізолювані колонії *R. erythropolis* ІМВ-Ас-5017 (від ТП 7.2) із дотриманням правил асептики. Тривалість вирощування становить 48 год, температура 30 ± 2 °С. Після закінчення процесу культивування проводять відбір проби задля проведення контролю мікробіологічного.

*ТП 7.4. Вирощування *R. erythropolis* ІМВ-Ас-5017 в колбах на качалках*

Із дотриманням асептичних умов у колбу об'ємом 2 л з композицією поживного середовища А (від ДР 6.1.1) вносять і композицію Б (від ДР 6.1.2), вносять 0,15 мл запасного розчину $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ піпеткою на 1 мл (від ДР 4.1), додають за допомогою стерильної піпетки на 10 мл 7,5 мл етанолу, далі перемішують, потім розливають по 100 мл у попередньо підготовані стерильні качалочні колби об'ємом 750 мл.

Усередину пробірки з робочою культурою *R. erythropolis* ІМВ-Ас-5017 (від ТП 7.3) вносять 5 мл розчину фізіологічного, суспендують клітини, далі стерильною піпеткою відбирають отриману суспензію бактерій, вносять її у качалочні колби із поживним середовищем. Варто зазначити, що для засіву 1 колби застосовують бактеріальну суспензію, одержану з 1 пробірки.

Культивування здійснюють на качалках (320 об/хв) при температурі 30 ± 2 °С упродовж 72 год, після чого здійснюють мікробіологічний контроль і визначають концентрацію біомаси, яка повинна становити 1,1 г/л. Після проведення контролю культуральну рідину зливають усередину засівної колби об'ємом 2 л.

ТП 7.5. Вирощування R. erythropolis ІМВ-Ас-5017 в інокуляторі об'ємом 30 л

У посівний апарат (І-10) із композицією А (від ДР 6.2.1), через засівну колбу додають 75 мл етанолу, вмикають перемішуючий пристрій і далі доводять 6%-им р-ном NaOH (від ДР 3.2.1) значення рН середовища за показником датчика рН до 6,8-7,0. Потім через засівну колбу вносять інокулят (від ТП 7.4). Культивування здійснюють при температурі $30\pm 2^{\circ}\text{C}$ і значенні концентрації кисню розчиненого ($p\text{O}_2 = 20 - 30\%$ від насичення повітря), тривалість - 48 год. Підтримання показника $p\text{O}_2$ на оптимальному рівні здійснюють за допомогою регулювання швидкості процесу перемішування і рівня аерації (тобто витрати стерильного аераційного повітря).

Через кожні 4 год з посівного апарата відбирають проби культуральної рідини для подальшого проведення мікробіологічного контролю і визначення концентрації утвореної біомаси, яка повинна становити 1,1 г/л.

ТП 8. Підготовка посівного матеріалу E. coli ІЕМ-1

ТП 8.1. Підтримання колекційної культури E. coli ІЕМ-1

Отриману колекційну культуру *E. coli* ІЕМ-1 зберігають на скошеному щільному агаризованому середовищі (у даному випадку м'ясо-пептонний агар) у пробірці. Пересіви на свіже щільне поживне середовище проводять раз на 3-4 місяці. Усі види робіт із музейною культурою проводять із дотриманням правил асептики в обов'язковому порядку.

ТП 8.2. Одержання робочої культури E. coli ІЕМ-1

Колекційну культуру за допомогою методу виснажувального штриха пересівають на попередньо підготовану чашку Петрі з МПА для отримання ізольованих колоній. Культивування здійснюють в термостаті при температурі $30\pm 2^{\circ}\text{C}$ (48 год).

ТП 8.3. Вирощування інокуляту E. coli ІЕМ-1 у пробірках на агаризованих середовищах

На скошене м'ясо-пептонне агаризоване стерильне середовище (МПА) у пробірках пересівають бактеріологічною петлею ізольовані колонії *R. erythropolis* ІМВ-Ас-5017 (від ТП 8.2) із дотриманням асептичних умов. Тривалість

вирощування становить 24 год, а температура - 30 ± 2 °C. Після закінчення культивування відбирають проби для проведення мікробіологічного контролю.

ТП 8.4. Вирощування інокуляту E. coli IEM-1 в колбах на качалках

Із дотриманням асептичних умов у колбу об'ємом 250 мл з композицією А (від ДР 6.4.1) вносять композицію Б (від ДР 6.4.2), вносять 0,0188 мл (0,02 мл) запасного розчину $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ піпеткою на 0,5 мл (від ДР 4.2), додають за допомогою стерильної піпетки на 5 мл 2,4 мл розчину глюкози із колби об'ємом 100 мл (від ДР 5.1), далі перемішують і потім розливають по 100 мл у попередньо підготовані стерильні качалочні колби об'ємом 750 мл.

Усередину пробірки з робочою культурою *E. coli* IEM-1 (від ТП 8.3) вносять 5 мл розчину фізіологічного, суспендують клітини, далі стерильною піпеткою відбирають отриману суспензію бактерій і потім вносять у качалочні колби із поживним середовищем. Варто зазначити, що для засіву 1 колби застосовують бактеріальну суспензію, одержану з 1 пробірки. Культивування здійснюють на качалках (320 об/хв) за температури 30 ± 2 °C упродовж 48 год, вже після чого здійснюють мікробіологічний контроль і визначають концентрацію біомаси, яка повинна становити 1,1 г/л. Після проведення мікробіологічного контролю рідину культуральну зливають усередину засівної колби об'ємом 250 мл.

ТП 8.5. Вирощування E. coli IEM-1 в інокуляторі об'ємом 6 л

У колбу на 4 л із композицією А (від ДР 6.5.1) вносять композицію Б (від ДР 6.5.2), вносять 0,38 мл запасного розчину $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ піпеткою на 1 мл (від ДР 4.2), додають за допомогою стерильного мірного циліндру 47 мл запасного розчину глюкози (від ДР 5.1), подають у посівний апарат (І-7), далі вмикають перемішувач пристрій. Через засівну колбу здійснюють внесення інокуляту (від ТП 8.4). Культивування проходить при температурі 30 ± 2 °C і значенні концентрації кисню розчиненого ($p\text{O}_2 = 20 - 30$ % від насичення повітря) протягом 24 год. Підтримання показника $p\text{O}_2$ на заданому рівні здійснюють за допомогою регулювання швидкості перемішування і рівня аерації (тобто витрати стерильного аераційного повітря).

Через кожні 4 год з посівного апарата відбирають проби культуральної рідини задля проведення мікробіологічного контролю і визначення концентрацію біомаси, яка повинна становити 1,1 г/л.

ТП 9. Виробничий біосинтез

ТП 9.1. Виробничий біосинтез (отримання культуральної рідини)

У ферментатор (Фр-13) об'ємом 250 л з композицією А (від ДР 6.3.1) зі реактора (Р-6) подають самоплином 3 л етанолу. Вмикають перемішуючий пристрій і далі доводять 6%-им розчином NaOH (від ДР 3.2.2) значення рН середовища за показником датчика рН вже до 6,8-7,0. За допомогою труби перетискування подають з інокулятора (І-10) посівний матеріал продуцента (від ТП 7.5) і самоплином подають посівний матеріал індуктора (І-7) (від ТП 8.5). Культивують при температурі 30 ± 2 °С і значенні концентрації кисню розчиненого ($pO_2 = 20 - 30$ % від насичення повітря), тривалості - 72 год. Підтримання показника pO_2 на оптимальному рівні здійснюють за допомогою регулювання швидкості перемішування та рівня аерації (тобто витрати стерильного аераційного повітря).

Через кожні 4 год із ферментатора відбирають проби культуральної рідини задля проведення мікробіологічного контролю, визначення концентрації біомаси (2,2 г/л) та концентрації поверхнево-активних речовин (1,5 г/л).

Вже після закінчення процесу виробничого біосинтезу одержану культуральну рідину насосом (Н-14) перекачують у збірник для культуральної рідини.

ЗВ 10. Знешкодження відходів

ЗВ 10.1. Знешкодження рідких відходів

Застосування очисної споруди СПБ 6 (PROMTEHVOD, Україна) (див. пункт 9.1.3) для знешкодження стічних вод від промислового виробництва (від ДР 1.3.1, ДР 1.3.2, ДР 1.4.1), побутових та атмосферних. Очищену воду спускають в каналізацію.

ЗВ 10.2. Знешкодження газоподібних відходів

Використання головних фільтрів, що йдуть у комплекті з інокуляторами (І-7, І-10) та ферментером (Фр-13). для очищення відпрацьованого повітря (від ДР 1.4.2, ТП 7.5, ТП 8.5, ТП 9). Очищене повітря потрапляє в атмосферу.

ЗВ 10.3. Знешкодження твердих відходів

Знешкодження біомаси, твердих відходів на фільтрах, непридатних хімічних реактивів та інших відходів (див. підрозділ 9.3).

РОЗДІЛ 8. КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА

Карта контролю по стадіям

Таблиця 8.1

Біосинтез поверхнево-активних речовин - карта постадійного контролю

Номер контрольно-ї точки та назва стадії процесу	Об'єкт контролю та показник, який визначається	Засоби та методи контролю	Періодичність планової перевірки та відбору проб	Нормативні значення даного показника
№1	№2	№3	№4	№5
Кх 1.2.1. Підготовка засобів для обробки поверхонь приміщень та обладнання	Робочі розчини мийно-дезінфікувальних засобів «ДЕЗОлайт» та «КлінДез 401» Концентрація	Лічильники рідин, мірні циліндри	На етапі приготування розчину	С («ДЕЗОлайт») = 0,25%, С («КлінДез 401») = 0,1%
Км 1.3.2. Генеральне прибирання	Поверхні приміщень Мікробіологічна чистота	Змиви за допомогою стерильних тампонів і трафарету з подальшим висівом на поживні середовища	Після проведення генерального прибирання	КУО < 800 см ²
Кт 1.4.1. Миття, ополіскування та огляд обладнання	Робочі розчини мийно-дезінфікувальних засобів, обладнання Температура, час, несправності	Термометр, годинник, візуальний огляд	Температура робочих розчинів контролюється перед початком миття, час – протягом миття, несправності – під час огляду	T = 70-80°C, τ = 1 год, відсутність несправнос-тей
Кт 1.4.2. Перевірка на герметичність	Обладнання Тиск, час	Манометр, годинник	Після миття, ополіскування та огляду	P = 0,3 МПа, τ = 1,5-2 год
КТ 1.4.3. Підігрів	Обладнання температура	Термометр	Перед стерилізацією обладнання	T = 80-90°C

НУХТ БТЕК 04.01.02 КР ПЗ

Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата				
Розробив		Охмакевич			РОЗДІЛ 8. КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА	Літ.	Арк.	Аркушів
Перевірів		Пирог Т.П.					73	11
Реценз.						73		
Н. Контр.						Кафедра БТМ		
Затверд.		Стабніков						

Кт 1.4.4. <i>Стерилізація</i>	Обладнання температура, тиск, час	Термометр, манометр, годинник	Після підігріву	T = 131°C, P = 0,15 МПа, τ = 1,5 год
Кт 1.4.5. <i>Охолодження</i>	Обладнання температура, тиск	Термометр, манометр	Після стерилізації	T = 30-40°C, P = 0,003- 0,005 МПа
Кт 2.1. <i>Забір атмосферного повітря</i>	Повітрозабірний пристрій Висота забору повітря	-	Під час закупівлі та при встановленні	H = 10 м
Кт 2.2. <i>Очистка від грубих домішок</i>	Повітря очищене Ступінь очистки та перепад тисків	Манометр; перевірку ступеня очищення проводять згідно з паспортом фільтра	Після процесу проходження повітря через фільтр грубої очистки	E = 90%
Кт 2.3. <i>Стиснення повітря</i>	Повітря стиснене Тиск та температура	Манометр та термометр	Після компресування	P = 0,35-0,5 МПа, T = 120- 200°C
Кт 2.4. <i>Охолодження повітря та видалення зайвої вологи</i>	Повітря охоложене Температура та вологівміст	Термометр та психрометр	Після охолодження та вологовидалення	t = 25-30°C, W = 60-70%
Кт 2.5. <i>Нагрівання повітря</i>	Повітря нагріте Температура та вологівміст	Термометр та психрометр	Після нагрівання	t = 45-50°C, W = 50%
Кт 2.6. <i>Очищення повітря у головному фільтрі</i>	Повітря очищене Ступінь очистки та перепад тисків	Манометр; перевірку ступеня очищення проводять згідно з паспортом фільтра	Після проходження повітря через головний фільтр	E = 95%
Кт, Км 2.7. <i>Очищення повітря в індивідуальному фільтрі</i>	Повітря очищене Ступінь очищення; перепад тисків; мікробіологічна чистота	Манометр, перевірку ступеня очищення проводять згідно з паспортом фільтра, мікробіологічний контроль	Після проходження повітря через індивідуальний фільтр	E = 99,99%

Кх 3.1. <i>Приготування розчину соляної кислоти</i>	Р-н соляної кислоти Концентрація	Лабораторний посуд (мірний циліндр)	На етапі приготування даного р-ну	С = 6%
Кт, Кх, Км 3.2.1, 3.2.2. <i>Приготування і стерилізація розчину натрію гідроксиду</i>	Р-н натрію гідроксиду Тиск; температура; час; концентрація та стерильність	Манометр; термометр; годинник; технічні ваги; мірний циліндр; мікробіологічний контроль	Концентрація контролюється ще на етапі приготування розчину, тривалість, тиск і температура - безперервно під час процесу стерилізації, мікробіологічний контроль - після стерилізації	Р = 0,15 МПа, Т = 131 °С, τ = 40 хв, С = 6%, відсутність мікробіоти
Кт, Км 4.1, 4.2. <i>Приготування і стерилізація запасного розчину сульфату заліза(II) семиводного</i>	Розчин сульфату заліза (II) семиводного Тиск; час; температура та стерильність	Манометр; годинник; термометр; мікробіологічний контроль	Тривалість, тиск і температуру визначають безперервно під час процесу стерилізації, мікробіологічний контроль – вже після стерилізації	Р = 0,15 МПа, Т = 131 °С, τ = 40 хв, відсутність мікробіоти
Кт, Кх, Км 5.1. <i>Приготування і стерилізація запасного 40%-го розчину глюкози</i>	40%-вий р-н глюкози Тиск; час; температура; концентрація; стерильність	Манометр; годинник; термометр; технічні ваги; мірний циліндр; мікробіологічний контроль	Концентрацію контролюють на етапі приготування даного р-ну, тривалість, тиск і температура - безперервно під час стерилізації, контроль мікробіологічний – вже після стерилізації	Р = 0,15 МПа, Т = 112 °С, τ = 30 хв, С = 40%, відсутність мікробіоти

<p>Кт, Км 6.1.1, 6.4.1, 6.5.1.</p> <p><i>Приготування і стерилізація поживного середовища для вирошування інокуляту R. erythropolis ІМВ Ас-5017 та E. coli ІЕМ-1 у колбах на качалках, E. coli ІЕМ-1 в інокуляторі об'ємом 6 л</i></p> <p><i>Приготування і стерилізація композиції А</i></p>	<p>Композиція А Тиск; час; температура та стерильність</p>	<p>Манометр; годинник; термометр; контроль мікробіологічний</p>	<p>Тривалість, тиск і температуру визначають безперервно під час стерилізації, контроль мікробіологічний – вже після стерилізації</p>	<p>P = 0,15 МПа, τ = 40 хв, T = 131°C, відсутність мікробіоти</p>
<p>Кт, Км 6.1.2, 6.4.2, 6.5.2.</p> <p><i>Приготування і стерилізація композиції Б</i></p>	<p>Композиція Б Тиск; час; температура; стерильність</p>	<p>Манометр; годинник; термометр; контроль мікробіологічний</p>	<p>Тривалість, тиск і температуру визначають безперервно під час стерилізації, контроль мікробіологічний – вже після стерилізації</p>	<p>P = 0,15 МПа, τ = 40 хв, T = 131°C, відсутність мікробіоти</p>
<p>Кт, Кх, Км 6.2.1, 6.3.1.</p> <p><i>Приготування і стерилізація поживних середовищ для вирошування інокуляту R. erythropolis ІМВ Ас-5017 в інокуляторі об'ємом 30 л та у виробничому ферментері об'ємом 250 л</i></p>	<p>Композиція А Тиск; температура; час; рН; стерильність</p>	<p>Манометр; термометр; годинник; датчик рН; контроль мікробіологічний</p>	<p>Тривалість, тиск, температуру і рівень рН визначають безперервно під час стерилізації, контроль мікробіологічний – вже після стерилізації</p>	<p>P = 0,15 МПа, t = 131 °C, τ = 40 хв, рН = 4,0 – 4,5, відсутність мікробіоти</p>

<p>Кт, Км 7.1, 8.1. Підтримання колекційних культур <i>R. erythropolis</i> ІМВ Ас-5017 та <i>E. coli</i> ІЕМ-1</p>	<p>Колекційні культури <i>R. erythropolis</i> ІМВ Ас-5017 та <i>E. coli</i> ІЕМ-1 температура; частота пересіву; мікробіологічна чистота</p>	<p>Термометр в холодильнику; графік частоти пересіву; контроль мікробіологічний</p>	<p>Температура – безперервно при зберіганні, контроль мік- робіологічний і пересів – кожні 3- 4 місяці</p>	<p>$T = 2 - 4 \text{ }^{\circ}\text{C}$, $\tau = 3 - 4$ місяці, відсутність сторонньої мікробіоти</p>
<p>Кт, Км 7.2, 8.2. Одержання робочих культур <i>R. erythropolis</i> ІМВ Ас-5017 та <i>E. coli</i> ІЕМ-1</p>	<p>Робочі культури <i>R. erythropolis</i> ІМВ Ас-5017 та <i>E. coli</i> ІЕМ-1 на чашках Петрі температура; час; мікробіологічна чистота</p>	<p>Термометр у термостаті; годинник; мікробіологічний контроль</p>	<p>Температура та час - контролюються безперервно під час вирощування, мікробіологічний контроль -вже після вирощування</p>	<p>$T = 30 \pm 2 \text{ }^{\circ}\text{C}$, $\tau = 48-72$ год або 48 год, відсутність сторонньої мікробіоти</p>
<p>Кт, Км 7.3, 8.3. Вирощування <i>R. erythropolis</i> ІМВ Ас-5017 та <i>E. coli</i> ІЕМ-1 у пробірках на агаризованих середовищах</p>	<p>Робочі культури <i>R. erythropolis</i> ІМВ Ас-5017 та <i>E. coli</i> ІЕМ-1 у пробірках температура; час; мікробіологічна чистота</p>	<p>Термометр у термостаті; годинник; мікробіологічний контроль</p>	<p>Температура та час контролюються безперервно під час вирощування, контроль мікробіологічний проводять після вирощування</p>	<p>$T = 30 \pm 2 \text{ }^{\circ}\text{C}$, $\tau = 48$ год або 24 год, відсутність сторонньої мікробіоти</p>
<p>Кт, Км 7.4, 8.4. Вирощування культур <i>R. erythropolis</i> ІМВ Ас-5017 та <i>E. coli</i> ІЕМ-1 у колбах на качалках</p>	<p>Посівний матеріал <i>R. erythropolis</i> ІМВ Ас-5017 та <i>E. coli</i> ІЕМ-1 температура; час; швидкість перемішування; концентрація біомаси; чистота мікробіологічна</p>	<p>Термометр; годинник; тахометр; ФЕК; калібрувальний графік; мікробіологічний контроль</p>	<p>Температуру, час і частота обертів перемішуючого пристрою - контролюють автоматично під час вирощування, визначення концентрації біомаси і мікробіологічний контроль - вже після вирощування</p>	<p>$T = 30 \pm 2 \text{ }^{\circ}\text{C}$, $\tau = 72$ год або 48 год, $W = 320$ об/хв, $S_b = 1,1 \text{ г/л}$, відсутність сторонньої мікробіоти</p>

<p>Кт, Кх, Км 7.5, 8.5. Вирощування культур <i>R. erythropolis</i> IMB Ac-5017 та <i>E. coli</i> IEM-1 в інокуляторах об'ємом 30 л та 6 л відповідно</p>	<p>Посівний матеріал <i>R. erythropolis</i> IMB Ac-5017 та <i>E. coli</i> IEM-1 Температура; час; рН; концентрація кисню розчиненого; частота перемішуючого пристрою; концентрація біомаси; мікробіологічна чистота</p>	<p>Термометр; датчик рН; годинник; датчик рО₂; тахометр; ФЕК; калібрувальний графік; мікробіологічний контроль</p>	<p>Температура, рН, час, частота перемішуючого пристрою і концентрація кисню розчиненого - контролюються під час вирощування, визначення концентрації біомаси і контроль мікробіологічний – кожні 4 год, а також після процесу культивування</p>	<p>$T = 30 \pm 2$ °С, $\tau = 48$ год або 24 год, $pH = 6,8 - 7,0$, $pO_2 = 20 - 30\%$, $C_b = 1,1$ г/л, відсутність сторонньої мікробіоти</p>
<p>Кт, Км, Кх 9.1. Виробничий біосинтез у ферментері об'ємом 250 л</p>	<p>Культуральна рідина Температура; час; рН; концентрація кисню розчиненого; частота перемішуючого пристрою; концентрація біомаси; концентрація ПАР; мікробіологічна чистота</p>	<p>Термометр; датчик рН; годинник; датчик рО₂; тахометр; ФЕК; калібрувальний графік; центрифуга; модифікована суміш Фолча; роторний випарник; технічні ваги; мікробіологічний контроль</p>	<p>Температура, рН, частота обертів перемішуючого пристрою, час і концентрація кисню розчиненого - контролюються під час вирощування, визначення концентрації біомаси, ПАР і контроль мікробіологічний – кожні 4 год і вже після культивування</p>	<p>$T = 30 \pm 2$ °С, $\tau = 72$ год, $pH = 6,8 - 7,0$, $pO_2 = 20 - 30\%$, $C_b = 2,2$ г/л, $C_{par} = 1,5$ г/л, відсутність сторонньої мікробіоти</p>

8.1. Мікробіологічний контроль

Зважаючи на те, що культивування *R. erythropolis* IMB Ac-5017 та *E. coli* IEM-1 з метою одержання комплексу ПАР проводиться з дотриманням асептичних умов,

потрібно проводити контроль мікробіологічний на усіх етапах для того, щоб підтвердити відсутність контамінації.

Мікробіологічний контроль здійснюють для:

1) перевірки стерильності:

- 6-% розчину NaOH;
- запасних розчинів $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ та глюкози;
- композицій поживних середовищ для вирощування інокуляту і для біосинтезу цільового продукту.

2) виявлення сторонньої мікробіоти:

- у посівному матеріалі *R. erythropolis* IMB Ac-5017 та *E. coli* IEM-1;
- у культуральній рідині під час біосинтезу ПАР.

Мікробіологічний контроль здійснюється двома способами: висів на агаризовані поживні середовища і проведення мікроскопіювання.

8.1.1. Висів на агаризовані поживні середовища

Висівом на агаризовані поживні середовища можна перевіряти як стерильність поживних середовищ, так і відсутність сторонньої мікробіоти при культивуванні.

Перевірка стерильності середовищ

За допомогою стерильної бактеріологічної петлі пробу розсівають звичайним штрихом по поверхні агаризованого середовища. Після цього чашки інкубують у термостаті за температури $37 \pm 2^\circ\text{C}$ (м'ясо-пептонний агар - МПА) для виявлення бактерій та $24-26^\circ\text{C}$ (сусло-агар - СА та глюкозо-картопляний агар - ГКА) протягом 3 діб. Після інкубації чашки розглядають на наявність росту по штриху. Ріст повинен бути відсутній.

Перевірка мікробіологічної чистоти біологічного агента

З відібраної проби культуральної рідини стерильною бактеріологічною петлею здійснюють посів на чашки Петрі МПА, СА (ГКА) методом виснаженого штриха для отримання ізольованих колоній [57]. Після цього чашки інкубують у термостаті за температури оптимальної для росту продуцента та індуктора ($30 \pm 2^\circ\text{C}$) протягом 3 діб. Після процесу інкубації чашки розглядають на наявність чи відсутність

сторонньої мікрофлори. Повинні бути виявлені лише колонії *R. erythropolis* ІМВ Ас-5017 та/або *E. coli* ІЕМ-1.

R. erythropolis ІМВ Ас-5017 при рості на МПА утворює складчасті (шорохуваті) блідо-кремові колонії (рис. 8.1), а при рості на СА та ГКА – блідо-оранжеві [58].

При рості на МПА *E. coli* утворюють круглі маловипуклі непрозорі вологі колонії сіруватого або білого кольору, які можуть бути гладкими або шорохуватими (рис. 8.2) [59].



Рис. 8.1. Колонії *R. erythropolis* на МПА (3 доби при 30 ± 2 °С) [31]



Рис. 8.2. Колонії *E. coli* на МПА [59]

8.1.2. Мікроскопіювання

Методом мікроскопіювання додатково перевіряють відсутність сторонньої мікробіоти при культивуванні. Мікроскопіювання здійснюють у світловому мікроскопі з імерсійною системою.

Із дотриманням асептичних умов на чисте знежирене предметне скло стерильною бактеріологічною петлею наносять невелику краплину культуральної рідини і різподіляють рівномірно по склу (діаметр отриманого мазка близько 1 см). Даний мазок висушують без нагрівання за кімнатної температури. На сухий препарат скляною паличкою наносять імерсійну олію (1-2 краплини).

За умови відсутності у зразку контамінації під час процесу мікроскопіювання можна побачити лише клітини *R. erythropolis* ІМВ Ас-5017 та/або *E. coli* ІЕМ-1.

Актинобактерії *R. erythropolis* ІМВ Ас-5017 при вирощуванні на МПА протягом доби мають вигляд нерухомих рівних або зігнутих довгих паличок довжиною 3-8 мкм, рідше зустрічаються короткі - 2-3 мкм (рис. 8.3). Палички розташовуються переважно у вигляді ланцюжків по 2-5 шт, рідше зустрічаються ланцюжки із 3-6 коків.

При вирощуванні на СА протягом доби при мікроскопіюванні можна побачити нерухомі короткі палички, які в основному з'єднані попарно, та коки у вигляді рівних та зігнутих ланцюжків.

При вирощуванні на ГКА протягом доби кокові форми не виявлені, можна спостерігати у мікроскоп нерухомі короткі рівні та зігнуті палички, рідко зустрічаються і довгі (5-7 мкм) [58].



Рис. 8.3. Мікроскопіювання клітин *R. erythropolis*, вирощених на МПА протягом 2 діб та зафарбованих за Грамом (грампозитивні) [31]

Бактерії *E. coli* мають вигляд клітин паличкоподібної форми, які розташовані одинично або парами. Клітини переважно рухливі, їх розмір складає $1-3 \times 0,4-0,7$ мкм (рис. 8.4) [59].

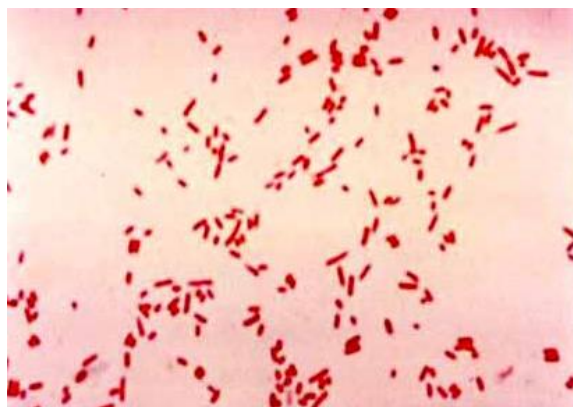


Рис. 8.4. Мікроскопіювання клітин *E. coli*, зафарбованих за Грамом (грамнегативні) [59]

8.2. Показники росту і синтезу поверхнево-активних речовин

8.2.1. Концентрація біомаси

При рості *R. erythropolis* на етанолі утворюється гомогенна суспензія, тому концентрацію біомаси можна визначити за оптичною густиною (при довжині хвилі 540 нм) з наступним перерахунком за допомогою калібрувального графіка на абсолютно суху біомасу [7].

8.2.2. Концентрація поверхнево-активних речовин

Концентрацію позаклітинних ПАР у культуральній рідині визначають гравіметричним методом після їх екстракції з супернатанту культуральної рідини модифікованою сумішшю Фолча (хлороформ, метанол, хлоридна кислота, 4:3:2) та упарювання органічного екстракту на роторному випарнику (при 50°C та 0,4 атм) як описано у роботі [5]. Концентрація ПАР – це різниця між масою колби з плівкою упарених ПАР і масою пустої колби. Далі перераховують отриману величину концентрації ПАР у г/л.

8.2.3. Концентрація джерела вуглецю і азоту

Визначення концентрації джерела Карбону (етанол) у середовищі

Етанол є джерелом вуглецю при отриманні посівного матеріалу *R. erythropolis* IMB Ac-5017 та при виробничому біосинтезі. У супернатанті концентрацію етанолу можна визначити методом газової хроматографії за допомогою СІС газового хроматографа, оснащеного полум'яно-іонізаційним детектором (Chromatography & Instruments Company, India). Застосовується колонка (довжина 1,8 м, внутрішній діаметр 2 мм), заповнена хромосорбом 101 (80-100 меш). Температура проведення аналізу становить 160 °C за термостатування і 170 °C для інжектора. Як рухома фаза використовується газ-носіє азот. Швидкість потоку 20 мкл/хв. Нерухомою фазою є адсорбент хромосорб [60, 61].

Визначення концентрації джерела Карбону (глюкоза) у середовищі

Глюкоза є джерелом вуглецю при отриманні посівного матеріалу *E. coli* IEM-1. У супернатанті концентрацію глюкози можна визначити глюкозооксидазним методом за допомогою набору GOD/POD (Accurex Biomedical Pvt. Ltd., Індія). У результаті отримуємо хіноніміновий барвник рожевого кольору. Вимірюємо поглинання цього барвника при довжині хвилі 505 нм на фотоелектроколориметрі. Інтенсивність забарвлення прямо пропорційна концентрації глюкози у пробі [62, 63].

Визначення концентрації джерела Нітрогену (нітрат натрію) у середовищі

Нітрат натрію є джерелом азоту у поживних середовищах для отримання посівного матеріалу і виробничого біосинтезу. Аналіз проводимо із супернатантом. Концентрацію нітрату натрію можна виміряти методом іонної хроматографії за допомогою системи Dionex ICS-90 (Dionex, Каліфорнія, США). Для хроматографічного поділу використовують аніонообмінну колонку IonPac AS19 (4 мм × 250 мм). Термостатування проводять за кімнатної температури (25±2°C), детектор кондуктометричний, встановлений на режим високої чутливості. Рухомою фазою є 4,5 мМ КОН, швидкість потоку становить 1 мл/хв. Об'єм проби складає 10 мкл. Колонка заповнена супермакропористою смолою (діаметр часток 7,5 мкм, розмір пор 2000 Å, ступінь зшивання дивінілбензолом 55%) [64, 65].

РОЗДІЛ 9. АНАЛІЗ ПЕРСПЕКТИВ ВПРОВАДЖЕННЯ СИСТЕМИ ЕКОЛОГІЗАЦІЇ ВИРОБНИЦТВА

Відходи – це речовини, що утворюються у процесі виробництва і не мають подальшого застосування за місцем утворення чи виявлення. Відходи біотехнологічних виробництв можна розділити на рідкі, газоподібні та тверді. Вони можуть становити небезпеку для організму людини, тварин та/або навколишнього середовища, тому їх необхідно грамотно знешкодити та утилізувати.

9.1. Системи знешкодження рідких відходів

Рідкі відходи під час виробництва комплексу ПАР за допомогою бактерій *Rhodococcus erythropolis* ІМВ-Ас-5017 у присутності індуктору *Escherichia coli* ІЕМ складаються з:

- відпрацьованих залишків мийних і дезінфікуючих засобів;
- відпрацьованої води для ополіскування обладнання.

Так як цільовий продукт отримуємо у вигляді ПАР-вмісного супернатанту, культуральна рідина не є рідким відходом.

Необхідно обрати режим очищення стічних вод (періодичний або безперервний), який залежить від загальних витрат стічних вод. Загальні витрати розраховують за середніми витратами стічних вод, які в свою чергу розраховуються знаючи об'єм стічних вод на масову одиницю продукції та добову потужність підприємства. Нижче наведено відповідні розрахунки.

9.1.1. Розрахунок орієнтовного об'єму стічних вод

Залишки мийно-дезінфікуючих засобів. Відомо, що для миття та дезінфекції обладнання за допомогою мобільної циркуляційної СІР-мийки необхідно приготувати робочі розчини із розрахунку 20-30% від об'єму ємкісного обладнання.

					НУХТ БТЕК 04.01.02 КР ПЗ			
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата				
Розробив		Охмакевич			РОЗДІЛ 9. АНАЛІЗ ПЕРСПЕКТИВ ВПРОВАДЖЕННЯ СИСТЕМИ ЕКОЛОГІЗАЦІЇ ВИРОБНИЦТВА	Літ.	Арк.	Аркушів
Перевірів		Пирог Т.П.					84	8
Реценз.						84		
Н. Контр.						Кафедра БТМ		
Затверд.		Стабніков						

Відповідно до специфікації обладнання (див. розділ 6), з ємкісного обладнання маємо: реактор Р-6 для етанолу, інокулятор І-7 для підготовки посівного матеріалу *E. coli* ІЕМ, реактор Р-8 для підготовки композиції А поживного середовища для вирощування посівного матеріалу продуценту, інокулятор І-10 для підготовки посівного матеріалу *R. erythropolis* ІМВ-Ас-5017, реактор Р-11 для підготовки композиції А поживного середовища для виробничого біосинтезу, ферментер Фр-13 для здійснення виробничого біосинтезу. Таким чином, потрібно розрахувати геометричний об'єм ємностей:

$$V_{\text{ємностей}} = V_{\text{реактору Р-6}} + V_{\text{інокулятору І-7}} + V_{\text{реактору Р-8}} + V_{\text{інокулятору І-10}} + V_{\text{реактору Р-11}} + V_{\text{ферментеру ФР-13}} = 5 \text{ л} + 6 \text{ л} + 15 \text{ л} + 30 \text{ л} + 130 \text{ л} + 250 \text{ л} = 436 \text{ л}$$

Тоді об'єм мийно-дезінфікуючих засобів становитиме:

$$V_{\text{засобів}} = V_{\text{ємностей}} \times 0,2 = 436 \text{ л} \times 0,2 = 87,2 \text{ л (90 л) або}$$

$$V_{\text{засобів}} = V_{\text{ємностей}} \times 0,3 = 436 \text{ л} \times 0,3 = 130,8 \text{ л (131 л)}.$$

Приймаємо, що об'єм відпрацьованих залишків засобів дорівнює об'єму цих засобів, тобто 90-131 л.

Відпрацьована вода після ополіскування обладнання. Об'єм води для ополіскування, так само як і мийно-дезінфікуючого розчину, становить 20-30% від об'єму ємкісного обладнання. Як розраховано вище, даний параметр дорівнює 90-131 л.

Таким чином, в сумі орієнтовна кількість стічних вод за один цикл виробництва становитиме: 131 л + 131 л = 262 л.

Орієнтовний об'єм стічних вод на 1 м³ супернатанту. Спочатку потрібно порахувати орієнтовну кількість супернатанту, одержуваного за один виробничий цикл. Відповідно до розрахунків з курсової роботи, за один цикл отримуємо 150 л культуральної рідини з концентрацією абсолютно сухої біомаси 2,2 г/л. Проте, після центрифугування біомаса не буде сухою, її волога складає 70%. У свою чергу, 70% від 2,2 г/л становить 1,54 г/л (вологість біомаси), тоді концентрація вологої біомаси дорівнює 3,74 г/л. Тоді у 150 л культуральної рідини вміст вологої біомаси становить 561 г. Так як основою культуральної рідини є вода, то 150 000 г – 561 г = 149 439 г супернатанту, або 149,439 л (149,4 л).

Таким чином, за один виробничий цикл отримуємо 149,4 л супернатанту та 262 л стічних вод. Тоді на 1 м³ супернатанту припадає 1753,7 л (1,75 м³) стічних вод.

9.1.2. Визначення середніх витрат стічних вод від промислового підприємства

Відповідно до ТЕО (див. розділ 3), за рік отримуємо 2859 л культуральної рідини. Тоді, відповідно до вищенаведених розрахунків кількості супернатанту за один виробничий цикл, за рік отримуємо 2,8 м³ супернатанту. Отже, річна потужність підприємства дорівнює 2,8 м³ супернатанту за рік. Добова потужність підприємства, з урахуванням кількості робочих днів $T_{рд} = 60$, становить 47 л супернатанту за добу.

Середні за зміну витрати виробничих стічних вод (Q_v):

$$Q_v = q_v \times n,$$

де q_v – норма водовідведення в м³ на одиницю продукції, яку випускає підприємство (вищерозраховано, що $q_v = 1,75 \text{ м}^3/\text{м}^3$);

n – кількість одиниць продукції, які виробляються за одну зміну (розраховується у масових одиницях випуску на добу готової продукції). Вищерозраховано, що $n = 0,047 \text{ м}^3/\text{добу}$.

$$Q_v = 1,75 \text{ м}^3/\text{м}^3 \times 0,047 \text{ м}^3/\text{добу} = 0,08 \text{ (м}^3/\text{добу)}.$$

Середні за одну зміну витрати побутових стічних вод (Q_n):

$$Q_n = q_n \times N,$$

де q_n – норма відведення стічних побутових вод в м³/зм на одного робітника. Приймаємо як для холодних цехів $0,025 \text{ м}^3/(\text{зм люд})$;

N – це кількість робітників, що працюють у зміну. Припустимо, що $N = 12$ (2 змінні майстри, 2 мікробіолога, 2 технолога, 2 апаратчики, 2 прибиральники, 2 оператора).

$$Q_n = 0,025 \text{ м}^3/(\text{зм люд}) \times 12 \text{ людей} = 0,3 \text{ м}^3/\text{зм}.$$

Перерахунок даного показника на добу:

$$(0,3 \times 3 \times 24)/8 = 2,7 \text{ м}^3/\text{добу},$$

де 3 – кількість змін на добу;

24 – кількість годин у добі;

8 – тривалість однієї зміни, год.

Загальна витрата атмосферних стічних вод, що утворюються на підприємстві (Q_a). Орієнтовно можна прийняти у об'ємах у 5-30 разів меншому за витрати побутових стічних вод:

$$Q_a = Q_{\text{п}}/5 = 2,7/5 = 0,54 \text{ (м}^3\text{/добу)}.$$

Загальні витрати стічних вод, які утворюються на підприємстві (Q):

$$Q = Q_{\text{в}} + Q_{\text{п}} + Q_a = 0,08 + 2,7 + 0,54 = 3,32 \text{ м}^3\text{/добу}.$$

9.1.3. Система очищення стічних вод

Як зазначено вище, загальні витрати стічних вод не перевищують 100 м³/добу, їх доцільно очишати у періодичному режимі. Пропонуємо блокову очисну споруду СПБО 6 (PROMTENVOD, Україна) як основний елемент очищення стічних вод підприємства. Це система повного біологічного очищення продуктивність 3-6 м³/добу. Габаритні розміри, м: 3,1×1,5×1,5. Встановлена потужність 1,8 кВт, споживана потужність 0,35 кВт [66]. Схема даної системи наведена на рис. 9.1.

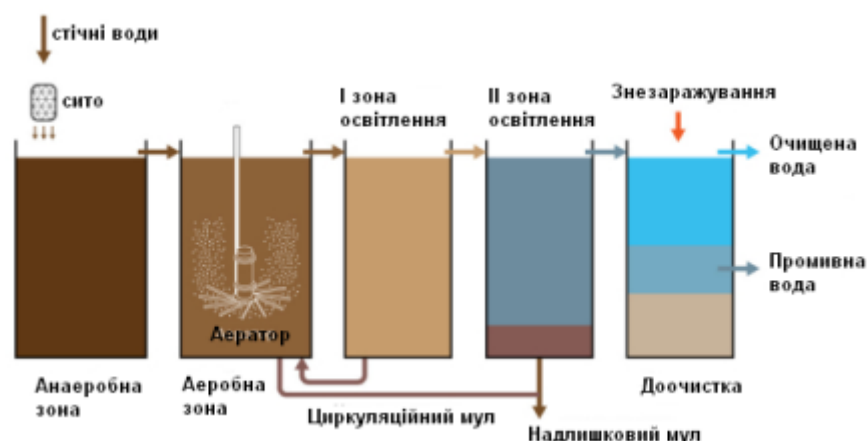


Рис. 9.1. Схема роботи установки СПБО 6 [66]

Опис особливостей системи очищення стічних вод. Система працює в автоматичному режимі, постійна присутність персоналу необов'язкова. Розміщувати дану установку можна у виробничому приміщенні або біля нього. Принцип роботи

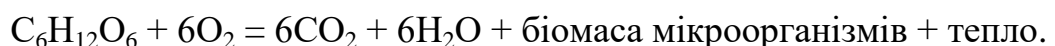
грунтується на використанні аеробної технології очищення стічних вод. СПБО 6 складається з шести секцій [67, 68]:

1. Секція вузла регулювання подачі стічних вод, що надходять до установки (не показано на схемі). Представляє собою камеру, де за допомогою засувки можна встановити потрібний протік подачі стічних вод, а у разі надлишку, частина забрудненої води попадає у усереджувально-накопичувальний резервуар. У резервуарі відбувається насичення води повітрям, що не дозволяє їй застоюватись і дає додаткову аерацію, що знадобиться далі.

2. Секція механічного очищення. Являє собою сито-контейнер, там затримуються механічні домішки більше 5 мм. Очищення сита відбувається вручну, в міру забруднення. Далі стічні води потрапляють у аеробну зону (аеротенки) очищення або спочатку в анаеробну (метантенки), якщо така присутня у комплектації.

3. Секція аерації стічних вод та перемішування їх з активним мулом – біологічне очищення. Стічні води насичуються киснем та перемішуються з активним мулом за допомогою занурювального електромеханічного аератора типу «ВМ».

Активний мул складається з живих мікроорганізмів (різноманітні бактерії, найпростіші, водорості) і твердого субстрату. Для їх життєдіяльності необхідний постійний доступ кисню та підтримання температури у межах 20-40°C. У результаті органічні речовини в стічних водах за допомогою процесу гліюконеогнезу перетворюються на глюкозу і окиснюються, що можна умовно показати за допомогою рівняння:



4, 5. Перша та друга секції освітлення. У ці секції стічні води потрапляють самопливом, причому у попередню секцію повертається циркуляційний мул, а надлишковий мул виводиться з установки. Освітлення дозволяє підвищити якість стічних вод.

6. Секція попереднього очищення стічних вод. Складається з самопромивного фільтра доочищення з плаваючим зернистим завантаженням. Після цього очищену воду можна злити до каналізації.

У разі відключення електропостачання установка працює як багатоступінчастий відстійник, а при відновленні – переходить у нормальний режим роботи [67].

9.2. Системи знешкодження газоподібних відходів

Утворення газоподібних відходів, що містять аерозоль клітин, у вигляді відпрацьованого повітря після аерації культуральної рідини на стадіях:

- отримання посівного матеріалу *R. erythropolis* ІМВ-Ас-5017 в інокуляторі об'ємом 30 л;
- отримання посівного матеріалу *E. coli* ІЕМ-1 в інокуляторі об'ємом 6 л;
- виробничого біосинтезу ПАР у ферментері об'ємом 250 л.

Розрахуємо об'єм відпрацьованого повітря, знаючи, що він приблизно дорівнює об'ємам аераційного повітря:

1. в інокуляторі об'ємом 30 л: робочий об'єм становить 15 л, отже аераційного повітря потрібно 30 л/хв, тобто 1800 л/год. Процес отримання посівного матеріалу *R. erythropolis* ІМВ-Ас-5017 триває 48 год, для цього необхідно відповідно 86 400 л аераційного повітря на виробничий цикл;

2. в інокуляторі об'ємом 6 л: робочий об'єм становить 3,75 л, отже аераційного повітря потрібно 7,5 л/хв, тобто 450 л/год. Процес отримання посівного матеріалу *E. coli* ІЕМ-1 становить 24 год, для цього необхідно 10 800 л аераційного повітря за виробничий цикл;

3. у ферментері об'ємом 250 л: робочий об'єм становить 150 л, отже аераційного повітря потрібно 300 л/хв, тобто 18 000 л/год. Процес виробничого біосинтезу ПАР становить 72 год, для цього необхідно 1 296 000 л аераційного повітря за виробничий цикл.

У сумі $86,4 \text{ м}^3 + 10,8 \text{ м}^3 + 1296 \text{ м}^3 = 1393,2 \text{ м}^3$ відпрацьованого повітря за цикл. Так як газоподібні відходи невеликі, на нашу думку, можна встановити головні

фільтри для очищення та знешкодження повітря безпосередньо на інокуляторах та ферментері перед випуском повітря в атмосферу.

Так як в нашому випадку обладнання пілотне та лабораторне, головні фільтри продаються у комплекті з ним, тобто фільтри є складовою частиною підбраного обладнання.

9.3. Системи знешкодження твердих відходів

Тверді відходи на підприємстві:

- біомаса *R. erythropolis* IMB-Ac-5017 та *E. coli* IEM-1 після виробничого біосинтезу;
- бруд на очисних фільтрах;
- непридатні хімічні реактиви (наприклад, порошки для приготування м'ясо-пептонного агару у випадку, якщо термін придатності збіг, також це можуть бути агаризовані середовища з чашок Петрі після контролю мікробіологічного, випадково розсипані солі при приготуванні поживних середовищ);
- матеріали пакувальні (картон, полівінілхлорид, поліетилен тощо);
- скло (у результаті склобою посуду лабораторного);
- використані ганчірки, засоби індивідуального захисту.

Біомаса. Розрахуємо скільки біомаси приблизно утвориться за один виробничий цикл. Вищераховано (див. пункт 9.1.1), що за один виробничий цикл утвориться 561 г вологої біомаси. Таку невелику кількість біомаси можна інактивувати в убойному автоклаві. Після цього інактивовану біомасу можна передати іншим підприємствам для виготовлення добрив.

Тверді відходи на фільтрах. На фільтрах можуть залишитись клітини продуценту і індуктору. Тому краще використані фільтри також піддати термічній обробці всередині убойного автоклаву і передати організаціям, які їх приймають задля утилізації.

Непридатні хімічні реактиви. Їх варто зберігати окремо в спеціально відведеній та відповідно промаркованій шафі, а пізніше передати спеціальним

організаціям задля утилізації. Агаризовані середовища з чашок Петрі із вирослими на них колоніями попередньо інактивувати в убойному автоклаві.

Інші відходи. Варто складати в окремі контейнери з кришками (мукулатура, ПВХ, поліетилен, скло тощо) та передавати на переробку до пунктів прийому вторсировини.

РОЗДІЛ 10. НОРМАТИВНО-ТЕХНІЧНА ДОКУМЕНТАЦІЯ, ВИКОРИСТАНА ПІД ЧАС ПРОЕКТУВАННЯ ВИРОБНИЦТВА

Перелік основної нормативно-технічної документації, а також науково-технічної літератури, яку можна застосовувати під час проектування виробництва та у технологічному процесі наведено у таблиці 9.1.

Таблиця 10.1

Нормативно-технічна документація та науково-технічна література

№	Нормативно-технічна документація та науково-технічна література	Використання у технологічному процесі	Стадія технологічного процесу	Позиція на апаратурній схемі
ДСТУ				
1)	ДСТУ ISO 9001:2015. Системи управління якістю. Вимоги. – К. ДП «УкрНДНЦ», 2016	при організації роботи виробництва	всі стадії	-
2)	ДСТУ 14001:2015. Системи екологічного управління. Вимоги та настанови щодо застосування. – К. ДП «УкрНДНЦ», 2016	при формулюванні екологічної політики, створенні критеріїв та системи екологічного контролю виробництва, розробці програми внутрішнього аудиту	всі стадії	-
3)	ДСТУ 50001:2020. Системи енергетичного менеджменту. Вимоги та настанова щодо використання. - К. ДП «УкрНДНЦ», 2020	при формулюванні енергетичної політики, проведенні енергетичного аналізу, оцінці показників діяльності	всі стадії	-
4)	ДСТУ 45001:2019. Системи управління охороною здоров'я та безпекою праці. Вимоги та настанови щодо застосування. - К. ДП «УкрНДНЦ», 2019	при формуванні політики стосовно ОЗіБП, для ідентифікації небезпек, зниження ризиків, реагування на аварійні ситуації, при оцінці дієвості та поліпшенні	всі стадії	-

					НУХТ БТЕК 04.01.02 КР ПЗ		
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата			
Розробив		Охмакевич			Літ.	Арк.	Аркуші
Перевірів		Пирог Т.П.			92	5	
Реценз.					92		
Н. Контр.					Кафедра БТМ		
Затверд.		Стабніков					

РОЗДІЛ 10. НОРМАТИВНО-ТЕХНІЧНА ДОКУМЕНТАЦІЯ, ВИКОРИСТАНА ПІД ЧАС ПРОЕКТУВАННЯ ВИРОБНИЦТВА

5)	ДСТУ ISO/CD 26000:2019 Системи управління соціальною відповідальністю. Вимоги. - К. ДЕРЖСПОЖИВЧСТАНДАРТ УКРАЇНИ, 2009	стосовно питань дискримінації, розвитку потенціалу, корупції тощо	всі стадії	-
6)	ДСТУ Б А.2.4-22:2008 Технологія виробництва. Основні вимоги до робочих креслень. – К. Мінрегіонбуд України, 2009	при складанні апаратурної схеми виробництва та її читанні	ДР 2	всі позиції
			ДР 6.2	
			ДР 6.3	
			ТП 7.5	
			ТП 8.5	
			ТП 9	
Інша нормативно-технічна документація				
7)	СТ-Н МОЗУ 42-4.0:2020. Лікарські засоби. Належна виробнича практика. – К. Міністерство охорони здоров'я України, 2020	підготовка персоналу, приміщень, обладнання, документації	ДР 1.1	-
			ДР 1.2	
			ДР 1.3	
			ДР 1.4	
8)	ДБН В.1.1-7:2016. Пожежна безпека об'єктів будівництва. Загальні вимоги. – К. Міністерство регіонального розвитку, будівництва та житлово-комунального господарства України, 2017	при будівництві споруд, складанні планів евакуації	всі стадії	всі позиції
Брошури виробників обладнання, інструкції				
9)	Інструкції щодо використання тест-смужок для визначення концентрації активно діючих речовин у дезінфікувальних засобах фірми «LaMotte» (США)	при приготуванні мийно-дезінфікуючих розчинів	ДР 1.2	-
10)	Брошури виробника обладнання Almig (Німеччина)	при виборі обладнання, складання специфікації обладнання, розробці інструкцій з експлуатації для працівників	ДР 2.1, ДР 2.3	К-2
11)	Брошури виробника обладнання «МТА» (Італія)		ДР 2.4	Т-3
12)	Брошури виробника обладнання «Voge» (Німеччина)		ДР 2.4	Р-4
13)	Брошури виробника обладнання «СгуоSnow» (Німеччина)		ДР 2.5	Т-5
14)	Брошури виробника обладнання «Amar Equipments» (Індія)		ТП 9	Р-6

15)	Брошури виробника обладнання «Infors HT» (Швейцарія)		ТП 8.5	I-7
16)	Брошури виробника обладнання «ХімМікс» (Україна)		ДР 6.2, ДР 6.3	P-8, P-11
17)	Брошури виробника обладнання «АгроТех» (Україна)		ДР 6.2, ДР 6.3, ТП 9	H-9, H-12, H-14
18)	Брошури виробника обладнання «Solaris Biotechnology» (Італія)		ДР 6.2, ТП 7.5	I-10
19)	Брошури виробника обладнання «Innova» (Китай)		ДР 6.3, ТП 9	Фр-13
Наукові статті, автореферати дисертацій				
20)	Pirog T., Kluchka L., Skrotska O., Stabnikov V. The effect of co-cultivation of <i>Rhodococcus erythropolis</i> with other bacterial strains on biological activity of synthesized surface-active substances. <i>Enzyme and Microbial Technology</i> . 2020, 142: 109677. doi: 10.1016/j.enzmictec.2020.109677	при складанні технологічної схеми, приготуванні та стерилізації поживних середовищ, підготовці посівного матеріалу, виділенні ПАР, контролі концентрації ПАР, при складанні карти постадійного контролю	ДР 4	всі позиції
			ДР 6	
			ТП 7	
			ТП 8 ТП 9	
21)	Ігнатенко С.В. Розробка технології періодичного культивування <i>Rhodococcus erythropolis</i> ЕК-1 – продуцента поверхнево-активних речовин: Автореф. дис. канд. тех. наук. Київ, 2014. 24 с.	при контролі біомаси	ТП 7.4 ТП 7.5 ТП 8.4 ТП 8.5 ТП 9	I-7 I-10 ФР-13
22)	Harish, K., Srijana, M., Madhusudhan, R.D., Gopal, R. Coculture fermentation of banana agro-waste to ethanol by cellulolytic thermophilic <i>Clostridium thermocellum</i> СТ2. <i>African Journal of Biotechnology</i> . 2010, 9(13): 1926-1934. doi: 10.5897/AJB09.1217	при контролі етанолу як джерела вуглецю – газова хроматографія	ТП 7.4 ТП 7.5 ТП 9	I-10 ФР-13

23)	Jadhav, J. V., Pratap, A. P., Kale, S. B. Evaluation of sunflower oil refinery waste as feedstock for production of sophorolipid. <i>Process Biochemistry</i> . 2019, 78:15-24. doi: 10.1016/j.procbio.2019.01.015.	при контролі глюкози як джерела вуглецю - глюкозооксидазний метод	ТП 8.4 ТП 8.5	I-7
24)	Wu T., Jiang J., He N., Jin M., Ma K., Long X. High-Performance Production of Biosurfactant Rhamnolipid with Nitrogen Feeding. <i>Journal of Surfactants and Detergents</i> . 2019, 22(2). doi: 10.1002/jsde.12256	при контролі нітрату як джерела азоту - іонна хроматографія	ТП 7.4 ТП 7.5 ТП 8.4 ТП 8.5 ТП 9	I-7 I-10 ФР-13
Методичні рекомендації, конспекти лекцій, лабораторні практикуми				
25)	Умовні графічні позначення технологічного обладнання та устаткування, застосовувані у фармацевтичних та біотехнологічних виробництвах: Дод. до метод. вказівок до викон. курс. та диплом. проектів для студ. спец. 6.092900 та 7.092901 «Біотехнологія біологічно активних речовин» напряму 0929 «Біотехнологія» ден. та заоч. форм навчання /Уклад.: В.М. Поводзинський, Т.П. Пирог, І.М. Волошина. – К.:НУХТ, 2006. – 69 с.	при складанні апаратурної схеми виробництва та її читанні, при монтажі для розуміння розташування обладнання	ДР 2	всі позиції
			ДР 6.2	
			ДР 6.3	
			ТП 7.5	
			ТП 8.5 ТП 9	
26)	Загальна мікробіологія і вірусологія: [Електронний ресурс] лабораторний практикум для здобувачів освітнього ступеня «бакалавр» спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія» освітньо-професійної програми «Біотехнології: фармацевтична, промислова, харчова, природоохоронна» денної форми навчання. / уклад. Т.П. Пирог, Л.В. Ключка. – К.: НУХТ, 2021. – 100 с.	при контролі біомаси	ТП 7.4 ТП 7.5 ТП 8.4 ТП 8.5 ТП 9	I-7 I-10 ФР-13

27)	<p>Красінько В.О. Методи контролю біотехнологічних, фармацевтичних і харчових виробництв [Електронний ресурс]: конспект лекцій для здобув. освіт. ступ. «бакалавр» спец. 162 «Біотехнології та біоінженерія» освіт.-проф. програми «Біотехнологія» ден. і заоч. форм навч. / В.О. Красінько. – К.: НУХТ, 2019. – 252 с.</p>	при проведенні мікробіологічного контролю	<p>ДР 1.4.4 ДР 3.2 ДР 4 ДР 5 ДР 6 ТП 7 ТП 8 ТП 9</p>	<p>Р-6 І-7 І-10 ФР-13</p>
28)	<p>Т.П. ПИРОГ, О.І. СКРОЦЬКА. Загальна мікробіологія [Електронний ресурс]: конспект лекцій для студентів освітнього ступеня «бакалавр» спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія» / Т.П. Пирог, О.І. Скроцька.–К.: НУХТ, 2018. – 106 с.</p>	при проведенні технологічного контролю – режими стерилізації композицій поживних середовищ, при складанні карти постадійного контролю	<p>ДР 3.2 ДР 4 ДР 5 ДР 6</p>	<p>І-7 І-10 ФР-13</p>
29)	<p>Пирог Т.П., Ігнатова О.А. Загальна біотехнологія: Підручник. – К.: НУХТ, 2009. – 336 с.</p>	при підготовці аераційного повітря	<p>ДР 2</p>	<p>ПЗ-1 К-2 Т-3 Р-4 Т-5</p>

ВИСНОВКИ

1. Цільовий продукт - комплекс поверхнево-активних речовин, основними компонентами якого є гліколіпіди (моно- та диміколати трегалози). ПАР *R.erythropolis* ІМВ Ас-5017 характеризуються здатністю до деструкції ксенобіотиків, антимікробною, антиадгезивною властивостями, а також здатністю до руйнування біоплівки.

2. Як біологічний агент для синтезу ПАР обрали штам *R. erythropolis* ІМВ Ас-5017, що вигідно відрізняється від інших розглянутих штамів родококів невеликою тривалістю культивування (120 год), низькою вартістю 1 л поживного середовища (0,42 грн) та 1 г цільового продукту (0,28 грн/кг).

3. Пропонуємо застосовувати ПАР, синтезовані *R. erythropolis* ІМВ Ас-5017 за наявності живих клітин *E. coli* ІЕМ-1, як можливе доповнення до дезінфікуючих засобів для обробки зйомних зубних протезів з метою посилення руйнівної дії щодо утворених біоплівки та можливого зменшення тривалості експозиції. Річна потужність виробництва становить 2859 л культуральної рідини. Геометричний об'єм виробничого ферментера складає 250 л. Посівний матеріал *R.erythropolis* ІМВ Ас-5017 та *E. coli* ІЕМ-1 вирощується у дві стадії: у качалочних колбах та в інокуляторах об'ємом 30 л та 6 л відповідно.

4. Розглянули біосинтез трегалозо-6-міколату та трегалозо-6,6'-міколату з етанолу як ростового субстрату. Основними попередниками цільового гліколіпіду є ацетил-КоА та трегалозо-6-фосфат.

5. Культивування продуценту ПАР і індуктору здійснюється періодично глибинним способом без підживлення в аеробних умовах із дотриманням асептики при проведенні процесу.

Для обробки поверхонь приміщень і обладнання обрали мийно-дезінфікувальні засоби «ДЕЗОлайт» та «КлінДез 401» концентрацією робочих розчинів 0,25% і 0,1% відповідно. Для обробки рук персоналу рекомендуємо засоби «SANDEZ», «Стерилліум» та "АНІОСРАБ 85 НПК (ANIOSRUB 85 NPC)".

6. Розробили технологічну та апаратурну схеми промислового виробництва ПАР, підбрали основне обладнання – ферментер, інокулятори, насоси, а також

обладнання для підготовки аераційного повітря закордонного та вітчизняного виробництва.

7. Склали карту постадійного контролю доферментаційних та технологічних процесів. Мікробіологічний контроль здійснюється за допомогою висіву проб на поживні середовища та мікроскопіювання. Концентрацію біомаси визначають за оптичною густиною з наступним перерахунком за допомогою калібрувального графіка, концентрацію ПАР – гравіметрично, етанолу – газовою хроматографією, глюкози – глюкоозоксидазним методом, нітрату - іонною хроматографією.

8. Проаналізували місця утворення стічних вод, газоподібних і твердих відходів. Підбрали очисну споруду для стічних вод - СПБО 6 (PROMTENVOD, Україна) продуктивністю 3-6 м³/добу.

9. Узагальнили у вигляді таблиці нормативно-технічну та науково-технічну літературу, що включає ДСТУ, брошури виробників обладнання, інструкції, наукові статті, автореферати дисертацій, конспекти лекції, методичні рекомендації, лабораторні практикуми та іншу нормативно-технічну документацію.

ЛІТЕРАТУРА

1. Lakatos E.S., Cioca L.I., Szilagyı A., Vladu M.G., Stoica R.M., Moscovici M. A systematic review on biosurfactants contribution to the transition to a circular economy. *Processes*. 2022, 10 (2647). doi.org/10.1016/j.cis.2022.102718.
2. Twigg M.S., Baccile N., Banat I.M., Deziel E., Marchant R., Rolants S. et al. Microbial biosurfactant research: time to improve the rigour in the reporting of synthesis, functional characterization and process development. *Microbial Biotechnologies*. 2020, 14:147-170. doi.org/10.1111/1751-7915.13704.
3. Пирог Т. П., Гейченко Б. С., Шевчук Т. А., Мучник Ф. В. Біосинтез поверхнево-активних речовин актинобактеріями роду *Rhodococcus*. *Мікробіол. журнал*. 2020, 82(2): 67-81. doi: 10.15407/microbiolj82.02.067.
4. Pirog T.P., Petrenko N.M., Skrotska O.I., Paliichuk O.I., Shevchuk T.A., Iutynska G.O. Practically valuable properties of the Surfactant synthesized by *Rhodococcus* genus *Actinobacteria*. *Mikrobiologichnyi Zhurnal*. 2020; 82(4):94-109. doi: 10.15407/microbiolj82.04.094.
5. Pirog T., Kluchka L., Skrotska O., Stabnikov V. The effect of co-cultivation of *Rhodococcus erythropolis* with other bacterial strains on biological activity of synthesized surface-active substances. *Enzyme and Microbial Technology*. 2020, 142: 109677. doi: 10.1016/j.enzmictec.2020.109677.
6. Jahan R., Bodratti A.M., Tsianou M., Alexandridis P. Biosurfactants, natural alternatives to synthetic surfactants: Physicochemical properties and applications. *Advances in Colloid and Interface Science*. 2020, 274:102061. doi: 10.1016/j.cis.2019.102061.
7. Ігнатенко С. В. Розробка технології періодичного культивування *Rhodococcus erythropolis* ЕК-1 - продуцента поверхнево-активних речовин: Автореф. дис. канд. тех. наук. Київ, 2014. 24 с.
8. Pirog T.P., Shevchuk T.A., Voloshina I.N., Karpenko E.V. Production of surfactants by *Rhodococcus erythropolis* strain ЕК-1, grown on hydrophilic and hydrophobic substrates. *Applied Biochemistry and Microbiology*. 2004, 40(5): 470-475. doi: 10.1023/B:ABIM.0000040670.33787.5f.

9. Addo S., Saito M. Chromatography Lipid Biomedical Research and Chemical Diagnostic. Elsevier. 1987. 266 p.

10. Пирог Т. П., Софілканіч А. П., Гриценко Н. А. Деструкція нафтяних забруднень в присутстві поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241, *Rhodococcus erythropolis* IMB Ac-5017 и *Nocardia vaccini* IMB B-7405. *Biotechnology. Theory and Practice / Биотехнология. Теория и практика*. 2015, 2:42–50.

11. Pirog T., Sofilkanych A., Shevchuk T., Shulyakova M. Biosurfactants of *Rhodococcus erythropolis* IMV Ac-5017: synthesis intensification and practical application. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 2013, 170:880-894. doi: 10.1007/s12010-013-0246-7.

12. Пирог Т. П., Антонюк С. О., Софілканіч А. П. Трансформація ароматичних сполук у поверхнево-активні речовини *Rhodococcus erythropolis* IMB Ac-5017, *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241 і *Nocardia vaccini* IMB B-7405. *Наукові праці НУХТ*. 2016, 22(1): 7–13.

13. Thimon L., Peypoux F., Wallach J., Michel G. Effect of the lipopeptide antibiotic, iturin A, on morphology and membrane ultrastructure of yeast cells. *FEMS Microbiology Letters*. 1995, 128(2): 101-106. doi: 10.1111/j.1574-6968.1995.tb07507.x.

14. Pirog T. P., Konon A. D., Sofilkanich A. P., Iutinskaya G. A. Effect of surface-active substances of *Acinetobacter calcoaceticus* IMV B-7241, *Rhodococcus erythropolis* IMV Ac-5017, and *Nocardia vaccinii* K-8 on phytopathogenic bacteria. *Prikl Biokhim Mikrobiol.* 2013, 49(4):364-371. doi: 10.7868/s0555109913040119.

15. Пирог Т.П., Шевчук Т.А., Петренко Н.М., Палійчук О.І., Іутинська Г.О. Вплив умов культивування *Rhodococcus erythropolis* IMB Ac-5017 на властивості синтезованих поверхнево-активних речовин. *Мікробіологічний журнал*. 2018, 80(4): 13-27.

16. Pirog T. P., Lutsay D. A., Kluchka L. V., Beregova K. A. Antimicrobial activity of surfactants of microbial origin. *Biotechnologia Acta*. 2019, 12(1): 39-57.

17. Janek T., Lukaszewicz M., Krasowska A. Antiadhesive activity of the biosurfactant pseudofactin II secreted by the Arctic bacterium *Pseudomonas fluorescens* BD5. *BMC Microbiol.* 2012, 12:24. doi: 10.1186/1471-2180-12-24.

18. Пирог Т. П., Конон А. Д., Береговая К. А., Шулякова М. А. Антиадгезивные свойства поверхностно-активных веществ *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241, *Rhodococcus erythropolis* IMB Ac-5017 и *Nocardia vaccini* IMB B-7405. *Микробиология.* 2014, 83(6): 631-639. doi: 10.7868/S0026365614060160.

19. Banat I.M., De Rienzo M.A., Quinn G.A. Microbial biofilms: biosurfactants as antibiofilm agents. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2014, 98: 9915-9929. doi: 10.1007/s00253-014-6169-6.

20. Пирог Т. П., Ігнатенко С. В. Мікробні поверхнево-активні речовини: проблеми промислового виробництва. *Biotex.* 2008, 1(4): 29-38.

21. Ramage G., O'Dannell L., Sherry L. та ін. Вплив частоти чищення протезів на мікробні і клінічні параметри. Підхід від розробки до впровадження. *Ортопедична стоматологія.* 2020, 5: 53-68.

22. Догляд за знімними зубними протезами. Amel dental clinic [Електронний ресурс] / Режим доступу: [https://ameldental.com/uk/doglyad-za-znimnimi-zubnimi-proteжами/](https://ameldental.com/uk/doglyad-za-znimnimi-zubnimi-proteзами/)

23. Рожко С.М., Куцик Р.В., Палійчук І.В. Формування біоплівки представниками оральної мікрофлори на поверхнях базисних матеріалів. *Zaporozhye medical journal.* 2021, 23(4): 547-554.

24. Сучасні дезінфікуючі засоби та їх застосування в медицині [Електронний ресурс] / Режим доступу: <https://medplatforma.com.ua/article/413-qqq-16-suchasn-deznfkuyuch-zasobi-ta-h-zastosuvannya-v-meditsin>

25. Чому українці втрачають зуби і як жити після заміни їх на протези [Електронний ресурс] / Режим доступу: <https://interfax.com.ua/news/press-conference/22649.html>

26. Таблетки Протефікс (Protifix) активні для очищення зубних протезів №66 [Електронний ресурс] / Режим доступу: <https://www.add.ua/ua/tabletki-protifiks-protifix-aktivnye-dlya-ochishheniya-zubnyh-protezo-66.html>

27. Корєга таблетки Подвійна Сила для очищення зубних протезів 30 шт [Електронний ресурс] / Режим доступу: <https://www.add.ua/ua/korega-tabletki-dvojnaya-sila-dlya-ochishheniya-zubnyh-protezo-30-sht.html>

28. Таблетки Lacalut Dent для очищення зубних протезів №32 [Електронний ресурс] / Режим доступу: <https://www.add.ua/ua/tabletki-dlja-ochistki-zubnyh-protezo-lacalut-dent-32.html>

29. Пирог Т. П., Корж Ю. В., Шевчук Т. А., Тарасенко Д. А. Особенности C₂-метаболизма и интенсификация синтеза поверхностно-активных веществ у штамма *Rhodococcus erythropolis* ЭК-1, растущего на этаноле. *Микробиология*. 2008, 77(6): 749-757.

30. Пирог Т. П., Пенчук Ю. М. Біохімічні основи мікробного синтезу: підручник – К: Видавництво Ліра-К, 2020.- с. 130.

31. *Rhodococcus erythropolis* [Elektronický zdroj] / Režim přístupu: <http://old.vscht.cz/obsah/fakulty/fpbt/ostatni/miniatlas/rhodo.htm>

32. Основи проектування біотехнологічних виробництв [Електронний ресурс]: метод. рекомендації до викон. курс. проекту для здобувачів вищої освіти освіт. ступ. «бакалавр» спец.162 ««Біотехнології та біоінженерія» осв.-проф. прогр. «Біотехнології: фармацевтична, промислова, харчова, природоохоронна» ден. форми навч./ уклад. Т. П. Пирог, Ю. В. Карлаш, В. О. Красінько. – К.: НУХТ, 2022. – 79 с.

33. Used stainless 250 litres Turu Grau reactor with jacket [Electronic resource] / Access mode: <https://comquima.com/en/equipo-industrial/bombas-en/used-bominox-stn-151-centrifugal-pump>

34. Карлаш Ю. В., Омельчук Є. О. Основи проектування біотехнологічних виробництв. [Електронний ресурс]: конс. лекцій для здобувачів освітнього ступеня «бакалавр» спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія» освітньо-

професійної програми «Біотехнологія» ден.та заоч. форм навчання /Ю. В. Карлаш, Є. О. Омельчук – К: НУХТ, 2019. – 252 с.

35. Державний реєстр дезінфекційних засобів 2021 рік [Електронний ресурс] / Режим доступу: <https://moz.gov.ua/uploads/ckeditor/%D0%92%D1%96%D0%B4%D0%BA%D1%80%D0%B8%D1%82%D1%96%20%D0%B4%D0%B0%D0%BD%D1%96/2021/05/13/2021-%D1%80%D0%B5%D1%94%D1%81%D1%82%D1%80%20%D0%B4%D0%B5%D0%B7%D0%B7%D0%B0%D1%81%D0%BE%D0%B1%D1%96%D0%B2%201-201.pdf>

36. Методичні вказівки із застосування засобу «ДЕЗОлайт» з метою дезінфекції та передстерилізаційного очищення [Електронний ресурс] / Режим доступу: http://antiseptica.com.ua/downloads/dl/file/id/64/product/286/mu_dezolajt.pdf

37. Методичні вказівки щодо застосування засобу мийного з дезінфекуючим ефектом «КлінДез 401» («Clean&Dez 401») з метою дезінфекції та достерилізаційного очищення [Електронний ресурс] / Режим доступу: <https://www.mpi-dpr.com.ua/content/24-klindez-401-metodichni-vkazivki>

38. Дезінфікуючий засіб для індивідуального застосування SanDez EveryDay 1л [Електронний ресурс] / Режим доступу: <https://rozetka.com.ua/ua/223967683/p223967683/>

39. Засіб чистячий універсальний Super Wash Анти-жир 500 мл [Електронний ресурс] / Режим доступу: <https://varus.ua/chistyaschij-sprej-super-wash-anti-zhir-500-ml>

40. Додаток 1 до наказу Міністерства охорони здоров'я України 16 лютого 2021 р. №270. Перелік дезінфекційних засобів, які відносяться до державного реєстру дезінфекційних засобів [Електронний ресурс] / Режим доступу: <https://www.apteka.ua/article/584840>

41. Інструкція для застосування Стерилліум [Електронний ресурс] / Режим доступу: <https://mozdocs.kiev.ua/likiview.php?id=29136>

42. Аніосраб 85 НПК UA 250 мл Anios деззасіб для рук Франція [Електронний ресурс] / Режим доступу: <https://ua.medsolve.com.ua/meditsinskim-uchrezhdeniyam/dezinfektsiya/gel-dezinfektant-aniosrab-85-npk-ua-flakon-250-ml-g-01-0109.html>

43. Screw compressor F-Drive [Electronic resource] / Access mode: <https://www.almig.de/en/products/compressed-air-generation/screw-compressors/screw-compressor-f-drive>

44. CoolPro - AF - Air cooled aftercooler [Electronic resource] / Access mode: <https://www.mta-it.com/eng/products/compressed-air-and-gas-treatment/aftercoolers/coolpro-af.php>

45. Receivers [Electronic resource] / Access mode: <https://www.boge.com/en/products/receivers/>

46. Compressed Air Heater AH-8500 [Electronic resource] / Access mode: <https://www.cryosnow.com/en/accessories/compressed-air-conditioning/compressed-air-heater-for-blasting-pistol-jp-25/compressed-air-heater-ah-8500/>

47. 5 ltr Stirred Autoclave [Electronic resource] / Access mode: <https://amarequip.com/public/uploads/specifications/stirred-pressure-autoclave-reactor/5-ltr-stirred-autoclave-1664368163.pdf>

48. Minifors 2 [Electronic resource] / Access mode: <https://www.infors-ht.com/en/bioreactors/bench-top-bioreactors/minifors2/>

49. Лабораторний реактор 15 л [Електронний ресурс] / Режим доступу: <https://khimmix.ua/himicheskie-reaktory/laboratornyj-reaktor-15-l>

50. Мембранний насос для рідин 1,5 л/хв [Електронний ресурс] / Режим доступу: <https://agro-teh.com.ua/ua/p860452263-membrannyj-nasos-dlya.html>

51. M series standard pilot sterelization in place solutions [Electronic resource] / Access mode: https://www.solarisbiotech.com/data/files/original/432/Catalog_-_M_SERIES.pdf

52. 10L/20L/30L Glass Reactor with CE [Electronic resource] / Access mode: <https://www.greatwall-online.com/products/showproduct.php?lang=en&id=71>

53. Фармацевтичний реактор 130 л. 3 магнітним міксером [Електронний ресурс] / Режим доступу: <https://khimmix.ua/himicheskie-reaktory/farmaceuticheskiy-reaktor-130l-s-magnitnoj-meshalkoj>

54. Мембранний насос 10 л/хв 13,5 бар [Електронний ресурс] / Режим доступу: <https://agro-teh.com.ua/ua/p570771963-membrannyj-nasos-lmin.html>

55. ALCHEMIST™ Stainless Steel Vessel Fermenter [Electronic resource] / Access mode: <https://www.innovabiomed.com/stainless-steel-vessel-fermenter.html>

56. Реактор 250 л. Для виробництва антисептиків [Електронний ресурс] / Режим доступу: <https://khimmix.ua/himicheskie-reaktory/reaktor-dlya-proizvodstva-antiseptikov>

57. Загальна мікробіологія і вірусологія: [Електронний ресурс] лаб. практикум для здобувачів освітнього ступеня «бакалавр» спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія» освітньо-професійної програми «Біотехнології: фармацевтична, промислова, харчова, природоохоронна» ден. форми навч. / уклад. Т. П. Пирог, Л. В. Ключка. – К.: НУХТ, 2021. – 100 с.

58. Патент України на винахід № 77345. Штам бактерій *Rhodococcus erythropolis* ЕК-1 - продуцент поверхнево-активних речовин / Пирог Т.П., Волошина І.М., Ігнатенко С.В. Опубл. 15.11.2006, Бюл. № 11.

59. Aryal S. *Escherichia coli* (*E. coli*) – An Overview. *Microbe Notes*. 2020 [Electronic resource] / Access mode: <https://microbenotes.com/escherichia-coli-e-coli/#cultural-characteristics-of-e-coli>

60. Harish, K., Srijana, M., Madhusudhan, R.D., Gopal, R. Coculture fermentation of banana agro-waste to ethanol by cellulolytic thermophilic *Clostridium thermocellum* CT2. *African Journal of Biotechnology*. 2010, 9(13): 1926-1934. doi: 10.5897/AJB09.1217.

61. GC Column 6Ft 1/8 2mm Chromosorb 101 80/100 SS [Electronic resource] / Access mode: <https://www.analytics-shop.com/gb/agg3591-80021-gb.html>

62. Jadhav, J. V., Pratap, A. P., Kale, S. B. Evaluation of sunflower oil refinery waste as feedstock for production of sophorolipid. *Process Biochemistry*. 2019, 78:15-24. doi: 10.1016/j.procbio.2019.01.015.

63. Діагностичний реагент для кількісного *in vitro* визначення глюкози у сироватці або плазмі людини на фотометричних сиситемах. D08220, Glucose, Hexokinase [Електронний ресурс] / Режим доступу: <https://diameb.ua/manuals/ua/D08220.pdf>

64. Wu T., Jiang J., He N., Jin M., Ma K., Long X. High-Performance Production of Biosurfactant Rhamnolipid with Nitrogen Feeding. *Journal of Surfactants and Detergents*. 2019, 22(2). doi: 10.1002/jsde.12256.

65. IonPac AS19 Anion-Exchange Column [Electronic resource] / Access mode: <http://www.cromlab.es/Articulos/Columnas/HPLC/Thermo/Dionex/AS19/7088-DS-IonPac-AS19-17Mar2010-LPN1616-04-R2.pdf>

66. СПБО [Електронний ресурс] / Режим доступу: <https://promtehvod.ua/ua/spbo/>

67. Біологічне очищення стічних вод [Електронний ресурс] / Режим доступу: <https://promtehvod.ua/ua/biologichne-ochishchennya-stichnih-vod/>

68. Аеробні та анаеробні процеси очищення стічних вод [Електронний ресурс] / Режим доступу: https://kegt.rshu.edu.ua/images/dustan/pl_3_5.pdf

ДОДАТКИ

Додаток 1

Особливості одержання ПАР у *Rhodococcus erythropolis* IMB Ac-5017

Bacterial strain *R. erythropolis* IMV Ac-5017 was cultivated in the liquid mineral medium with the following composition, g/L: NaNO₃, 1.3; MgSO₄·7H₂O, 0.1; NaCl, 1.0; Na₂HPO₄, 0.6; KH₂PO₄, 0.14; FeS-O₄·7H₂O, 0.001; pH 6.8–7.0. Ethanol, 2 % (v/v), was used as a source of the carbon and energy. Inoculum was produced by the bacterial strain cultivation in the liquid mineral medium containing 0.5 % (v/v) of ethanol until the exponential phase of growth with the concentration of cells 10⁴–10⁵ cells/mL. This inoculum was added to the medium for surface-active substances production in quantity of 10 % (v/v).

E. coli IEM-1 was grown on meat-and-peptone agar (MPA) for 14 h, and *B. subtilis* BT-2 was grown on MPA for 14 and 24 h. Bacterial cells were harvested and suspended in 100 mL of sterile tap water. Bacterial suspension, 2.5 mL, was added to 100 mL of medium for SAS producer cultivation in lag- or exponential phases of growth.

Cultivation of *R. erythropolis* IMB Ac-5017 with or without inducing bacteria (IB) was conducted in the flasks with the volume of 750 mL in 100 mL of medium under shaking at 320 rpm at 30 °C during 120 h.

Особливості одержання ПАР у *Rhodococcus erythropolis* P6-4P

2.1 Strain and culture condition

Biosurfactant producing microorganism P6-4P (*Rhodococcus erythropolis* sp.) isolated as an effective microorganisms from petroleum hydrocarbon contaminated marine sources in the North Atlantic was selected to produced biosurfactant (Cai et al., 2015). Bacteria colony was transferred from agar plate to 125-ml Erlenmeyer flask containing 50 ml BD 23400 nutrient broths (Fisher scientific company, Ottawa, Canada) to growth the culture on a rotary shaker for 24h at 37 °C and 180rpm to reach the optical density of the culture at 600 nm (OD600) of 0.8. Growth and biosurfactant production by the isolate was evaluated using media which is adopted and modified from (Peng, Liu, Wang, and Shao, 2007) including NaCl, 2.2 g; FeSO₄·7H₂O, 2.8×10⁻⁴ g; KH₂PO₄, 3.4 g; K₂HPO₄·3H₂O, 4.4 g; MgSO₄·7H₂O, 0.5 g; yeast extract, 0.5 g, N-hexadecane 30 ml/L, (NH₄)₂SO₄ 15 g, and 0.5 mL/L trace element solution in 125 mL conical flasks. The trace element solution contained ZnSO₄, 0.29 g; CaCl₂, 0.24 g; CuSO₄, 0.25 g; MnSO₄, 0.17 g L⁻¹ and was sterilized separately. The chemicals used were analytical grade, unless otherwise specified. Incubation was conducted at 30°C, 200 rpm for 2 days. After 2 days, before inoculation, purity check was conducted by spreading the medium over nutrition broth agar plate to avoid cross contamination. Nutrition broth composed of peptone, 8 g; yeast extract, 3 g; NaCl, 6 g; Glucose, 1 g; and agar, 15 g. Difference carbon and nitrogen sources has been used to compare the efficiency of FWC extract as substrate for biosurfactant producing bacteria.

2.2 Effect of carbon and nitrogen sources on biosurfactant production

The effect of different carbon sources was studied by replacing the n-hexadecane with sucrose, starch, glucose, and fish waste compost extract (FWCC). The different carbon sources were added to the media at a concentration of 5 g l⁻¹. To evaluate the nitrogen sources, ammonium sulphate was replaced by an equivalent amount of different nitrogen sources, namely yeast, ammonium nitrate and FWC extract (FWCN). The different nitrogen sources were added to the media at a concentration of 15 g l⁻¹. A 1% bacterial cell suspension from a 24-h culture was used as inoculum. 15 ml medium has been prepared in the 50 ml conical flask and incubated at 30°C, 200 rpm for 5 days. Cells were removed from the culture by centrifugation at 12, 000 rpm for 20 min. Cell- free culture broth was used for analytical measurements.

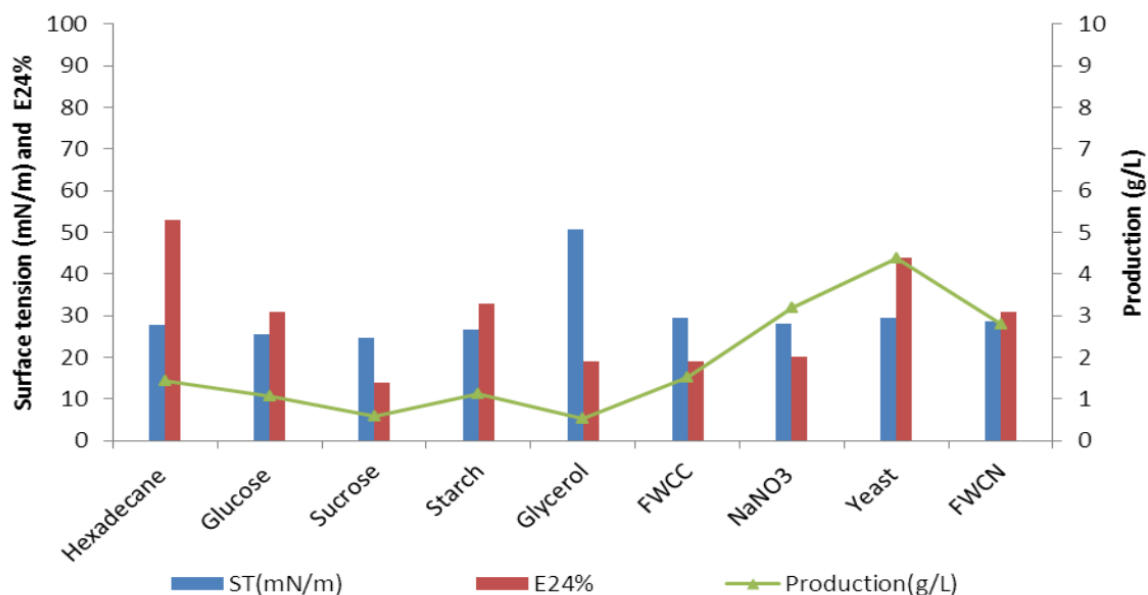


Figure 1: Effect of carbon and nitrogen sources on the biosurfactant production by *Rhodococcus* P6-4P

Особливості одержання ПАР у *Rhodococcus erythropolis* Au-1

Матеріали і методи. Об'єкт досліджень – штам *Rhodococcus erythropolis* Au-1 з Української колекції мікроорганізмів Інституту мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного НАН України.

Культивування мікроорганізмів проводили у колбах Ерленмейєра (750 мл) з робочим об'ємом 150 мл на ротаційній качалці (220 об/хв) за температури 30⁰С упродовж 5 діб. Застосовували поживне середовище такого складу (г/л): джерело вуглецю – 20,0; CO(NH₂)₂ – 1,5; дріжджовий екстракт – 1,0; K₂HPO₄×3H₂O – 2,0; KH₂PO₄ – 2,0; MgSO₄×7H₂O – 0,5; цитрат натрію – 1,0 (рН 6,8-7,0). Біомасу клітин визначали гравіметричним методом [6].

таблиця 1

Ріст та синтез біоПАР штамом *R. erythropolis* Au-1 на поживному середовищі з різними джерелами вуглецю

Джерела вуглецю	Абсолютно суха біомаса, г/л	Клітинно-зв'язані ПАР, г/л	Поверхневий натяг СКР, мН/м	Емульгувальна активність СКР E ₂₄ ,%
1	2	3	4	5
Сахароза	9,40±0,5	0,78±0,05	53,0±0,6	45,0±0,6
Гліцерин	9,34±0,38	0,38±0,03	50,5±0,5	45,2±0,4

Особливості одержання ПАР у *Rhodococcus erythropolis* sH-5Table 1. Compositions of growth media for *R. erythropolis* sH-5

Medium	Mineral salt, g/l												Substrate, %					pH	
	KH ₂ PO ₄	KH ₂ PO ₄ /NaH ₂ PO ₄	(NH ₄) ₂ SO ₄ /NH ₄ Cl	NaCl	FeSO ₄ · 7H ₂ O	MgSO ₄ · 7H ₂ O	CaCl ₂ · 2H ₂ O	MnSO ₄ · H ₂ O	NaOH	NH ₄ NO ₃	KNO ₃	Na ₂ HPO ₄	ethanol	glucose	liquid paraffins C ₁₀ -C ₁₆	hexadecane	kerosene		diesel fuel
No. 1 [15]	2.0	5.0	3.0	0.1	0.01	0.2	0.01	0.002	-	-	-	-	-	-	-	-	2.0	-	6.8–7.0
No. 2 [14]	1.0	10.0	2.5	5.0	0.01	0.2	0.01	0.02	-	-	-	-	-	-	-	-	2.0	2.0	
No. 3 [8]	6.8	-	-	-	0.001	0.4	0.1	-	1.0	0.6	-	-	-	-	-	-	-	-	
No. 4 [8]	0.14	-	-	1.0	-	0.1	-	-	-	-	1.0	0.6	1.0–2.0	1.0	0.5–1.0	1.0–2.0	-	-	

substances were added as carbon and energy sources (%): glucose (1–2), molasses (0.5), sucrose (1–2), ethanol (1), alkanes (kerosene or diesel fuel) (0.5), and oil (0.5). Nitrogen sources were the following (g/l): NH₄NO₃ (0.6) or KNO₃ (1.0–1.5). *n*-Alkanes were sterilized by filtering through MI filters (Gelman, Ann Arbor), which are polypropylene membranes with 0.2 μm pores. The strain was grown in flasks with shaking at 200 rpm or in 100- or 500-ml minifermenters with constant supply of sterile air at 30°C for 48–168 h. The media were inoculated with 2-day culture grown of glucose–potato agar. Biomass was evaluated from the optical density of cultures at 600 nm by recalculation to dry weight according to a standard plot or gravimetrically.

Table 2. Effect of carbon source and the intensity of culture liquid shaking on surfactant production by *R. erythropolis* sH-5

Medium*	Growth duration	Carbon source	n-Alkanes, 5%			Shaking intensity, rpm	BioSF, g/l (with air blow)			BioSF, g/l (with shaking)			σ, mN/m				Emulsification index, %					
			kerosene	diesel fuel	oil		kerosene	diesel fuel	oil	without n-alkanes	kerosene*	without n-alkanes	kerosene**	kerosene	diesel fuel	oil	without n-alkanes	kerosene**	kerosene	diesel fuel	oil	
No. 1	72	Sucrose	-	-	-	200				0.75			60					75				
	72	Kerosene	-	-	-	200				1.69			53					65				
	72	Ethanol	-	-	-	200				1.48			61					85				
No. 2	168	Sucrose	+	+	+	200	0.88	1.9	n.d.	1.16			54	57	56	n.d.		64	70	72	73	
No. 3	168	Glucose	+	+	+	200	0.8	2.9	n.d.	2.3			56.5	58	57.5	n.d.		57	69	71	72	
No. 4	168	Molasses	+	+	+	200	n.d.	4.2	n.d.	3.2			55	57.5	58	n.d.		65	65	69.5	70	

Технічні характеристики ферментерів

Номінальний об'єм, м ³	Внутрішній діаметр апарата, мм	Потужність приводу, кВт	Частота обертання, хв ⁻¹
0,01	250	0,25-0,75	25-1500
0,02	300	0,25-0,75	25-1500
0,03	350	0,25-0,75	25-1500
0,04	400	0,75-1,5	25-1500
0,06	400	0,75-1,5	20-1500
0,10	500	0,75-3,0	20-1500
0,16	600	0,75-5,5	20-1500
<u>0,25</u>	700	0,75-7,5	16-1250
0,40	800	0,75-11,0	16-1000
0,63	800; 1000	0,75-11,0	16-1000
1,00	1000; 1200	1,5-15	12,5-750
1,25	1000; 1200	1,5-15	12,5-750
1,60	1000;1200	1,5-18,5	12,5-750
2,00	1200;1400	1,5-15	10-750
2,50	1200; 1400	1,5-22	10-750
3,20	1200; 1600	1,5-30	10-750
4,00	1400; 1600	1,5-30	10-750
5,00	1400; 1800	1,5-37	8-500
6,30	1600; 1800	1,5-45	8-500
8,00	1600; 2000	1,5-45	8-500
10,00	1800; 2200	1,5-55	8-500
12,50	1800; 2400	1,5-55	8-500
16,00	2000;2400;2800	3,0-55	8-500
20,00	2200; 2600; 3000	3,0-75	6-500
25,00	2400; 2800; 3200	3,0-90	5-400
32,00	2600; 3000; 3400	3,5-90	5-400
40,00	2800; 3200; 3600	3,5-90	5-400
50,00	3000; 3400; 4000	7,5-110	5-320
63,00	3600; 4000; 4500	7,5-132	5-250
80,00	3200; 3600; 4000; 4500; 5000	11-132	5-250
100,00	3600;4000;4500;5000	11-132	5-200

Якісний склад комплексу ПАР, синтезованого *Rhodococcus erythropolis* ІМВ Ас-

5017

так, за умов росту штаму Au-1 на рафінованих соняшниковій і оливковій олії концентрація таких ПАР становила 1,73 і 2,9 г/л відповідно, на вазеліновій олії – 3,48, а на фузі олійному – 2,62 г/л. У роботі [37] ці ж автори встановили, що *R. erythropolis* Au-1 у процесі вирощування на середовищі з фузом ріпакової олії (20 г/л) утворює, крім асоційованих з клітинами, і позаклітинні ПАР, концентрація яких досягла 2,95 г/л.

Наші дослідження [38, 39] показали, що штам *R. erythropolis* ІМВ Ас-5017 синтезує 1,7 г/л позаклітинних ПАР на пересмаженій соняшниковій олії (2%). Оскільки основним компонентом комплексу гліколіпідних ПАР, синтезованих штамом ІМВ Ас-5017, є трегало-

табл. 2.

Ці дані свідчать про те, що концентрація ПАР, синтезованих представниками роду *Rhodococcus* на олієвмісних субстратах (рафіновані та пересмажені олії, фузи), є порівняною з такою на вуглеводнях (див. табл. 1), проте нижчою, ніж кількість рамно- та софороліпідів, які утворюються на аналогічних субстратах [28].

Утворення поверхнево-активних речовин на гідрофільних субстратах

Наші дослідження, результати яких опубліковано у 2004 році [40], були одними з перших, в яких встановлено здатність бактерій роду *Rhodococcus* синтезувати позаклітинні ПАР на етанолі. Кілька років потому – у 2008 році з'явилася інформація [25] про виділення штаму

кукурудзяній олії (20 %) штаму *R. rhodochrous* FNCC 0066, проте концентрацію поверхнево-активних речовин (в г/л) не визначали, а синтез ПАР оцінювали за зниженням поверхневого натягу (до 49 мН/м) і показником індексу емульгування (E_{24} 38%) вільної від клітин культуральної рідини.

White зі співавторами [36] показали, що *Rhodococcus* sp. PML026 за умов росту на соняшниковій олії синтезує як клітинно-зв'язані, так і позаклітинні ПАР. Встановлено, що на ранніх стадіях росту штам PML026 утворює переважно асоційовані з клітинами поверхнево-активні речовини, а в стаціонарній – збільшується вміст позаклітинних ПАР. Проте синтезувальна здатність *Rhodococcus* sp. PML026 виявилася невисокою: кількість трегалозоліпідних ПАР, визначена за концентрацією трегалози, не перевищувала 0,3–0,4 г/л.

У 2014 році Корецька зі співавторами [15]

зоміколати, припустили, що внесення в середовище з олією глюкози буде супроводжуватися підвищенням рівня ПАР за рахунок наявності в середовищі культивування майже готових блоків для утворення гліколіпідів. Дійсно, за внесення 0,1% глюкози на початку процесу культивування *R. erythropolis* ІМВ Ас-5017 на олієвмісному середовищі кількість синтезованих ПАР підвищувалася в 4 рази у порівнянні з вирощуванням бактерій на середовищі без глюкози [38, 39]. Подальші дослідження показали, що концентрація ПАР залежала як від типу відпрацьованої олії (олія після смаження картоплі, м'яса, змішана олія після смаження цибулі, сиру, котлет, картоплі), так і від її вмісту у середовищі культивування штаму ІМВ Ас-5017. Максимальна кількість ПАР (5,1–5,3 г/л) досягалася у разі використання як субстрату змішаної відпрацьованої олії (5–7%) і підвищення вмісту нітрату натрію (джерело азоту) у

Джерело вуглецю для культивування *Rhodococcus erythropolis* IMB Ac-5017

2.2. *Cultivation of R. erythropolis IMB Ac-5017*

Bacterial strain *R. erythropolis* IMV Ac-5017 was cultivated in the liquid mineral medium with the following composition, g/L: NaNO₃, 1.3; MgSO₄·7H₂O, 0.1; NaCl, 1.0; Na₂HPO₄, 0.6; KH₂PO₄, 0.14; FeS-O₄·7H₂O, 0.001; pH 6.8–7.0. Ethanol, 2 % (v/v), was used as a source of the carbon and energy. Inoculum was produced by the bacterial strain cultivation in the liquid mineral medium containing 0.5 % (v/v) of ethanol until the exponential phase of growth with the concentration of cells 10⁴–10⁵ cells/mL. This inoculum was added to the medium for surface-active substances production in quantity of 10 % (v/v).

Катаболізм етанолу - *Rhodococcus erythropolis* IMB Ac-5017

Окисление этанола у штамма *Rhodococcus erythropolis* ЭК-1 – продуцента поверхностно-активных веществ (ПАВ), осуществляется 4-нитрозо-*N,N*-диметиланилин (НДМА)-зависимой алкогольдегидрогеназой, окисление ацетальдегида – НАД⁺- и НАДФ⁺-зависимыми дегидрогеназами с оптимумом pH 9.5, окисление ацетата – ацетаткиназой и ацетил-КоА-синтетазой. При росте на этаноле в клетках *R. erythropolis* ЭК-1 функционирует как глиоксилатный цикл, так и полный цикл трикарбоновых кислот, синтез фосфоенолпирувата (ФЕП) обеспечивается двумя ключевыми ферментами глюконеогенеза – ФЕП-карбоксикиназой и ФЕП-синтетазой. Внесение в среду культивирования *R. erythropolis* ЭК-1, содержащую 2% этанола, цитрата (0.1%) и фумарата (0.2%) сопровождалось усилением глюконеогенеза, что подтверждается повышением в 1.5 и 3.5 раза активности изоцитратлиазы и ФЕП-синтетазы (ключевых ферментов глиоксилатного цикла и глюконеогенетической ветви обмена веществ соответственно), а также синтеза липидов, о чем может свидетельствовать снижение в 1.5 раза активности изоцитратдегидрогеназы. В присутствии фумарата и цитрата показатели синтеза ПАВ штаммом *R. erythropolis* ЭК-1 на этаноле повышались на 40–100%.

Цикл трикарбонових кислот - *Rhodococcus erythropolis* PR4



Citrate cycle (TCA cycle) - *Rhodococcus erythropolis* PR4

[Pathway menu | Pathway entry | Download KGML | Show description | Image file | Help]

Change pathway type

▼ Option

Scale: 100%

▼ Search

Go

▼ ID search

Go

▼ Color

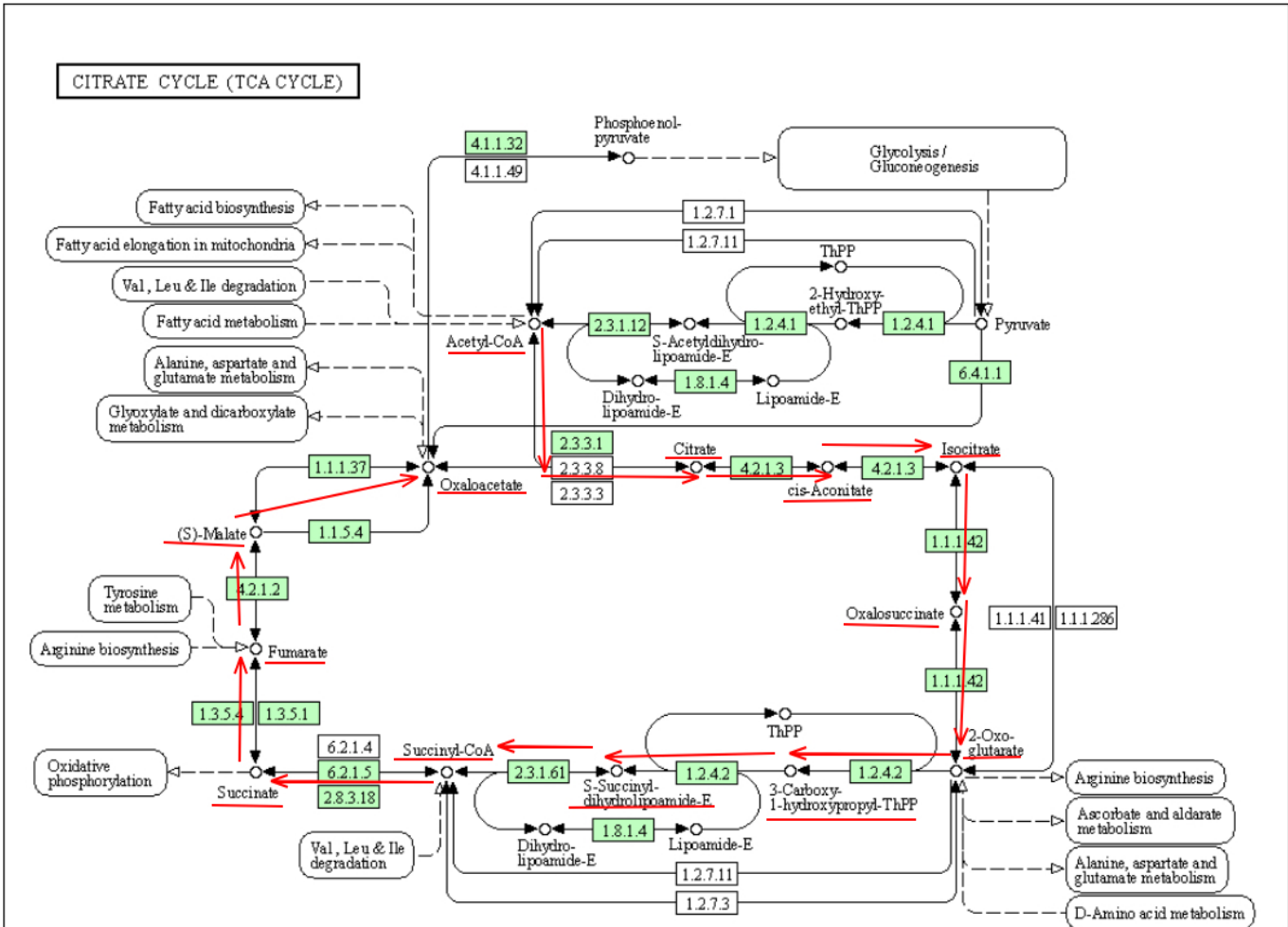
+

▼ Module

Complete only

Pathway modules

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

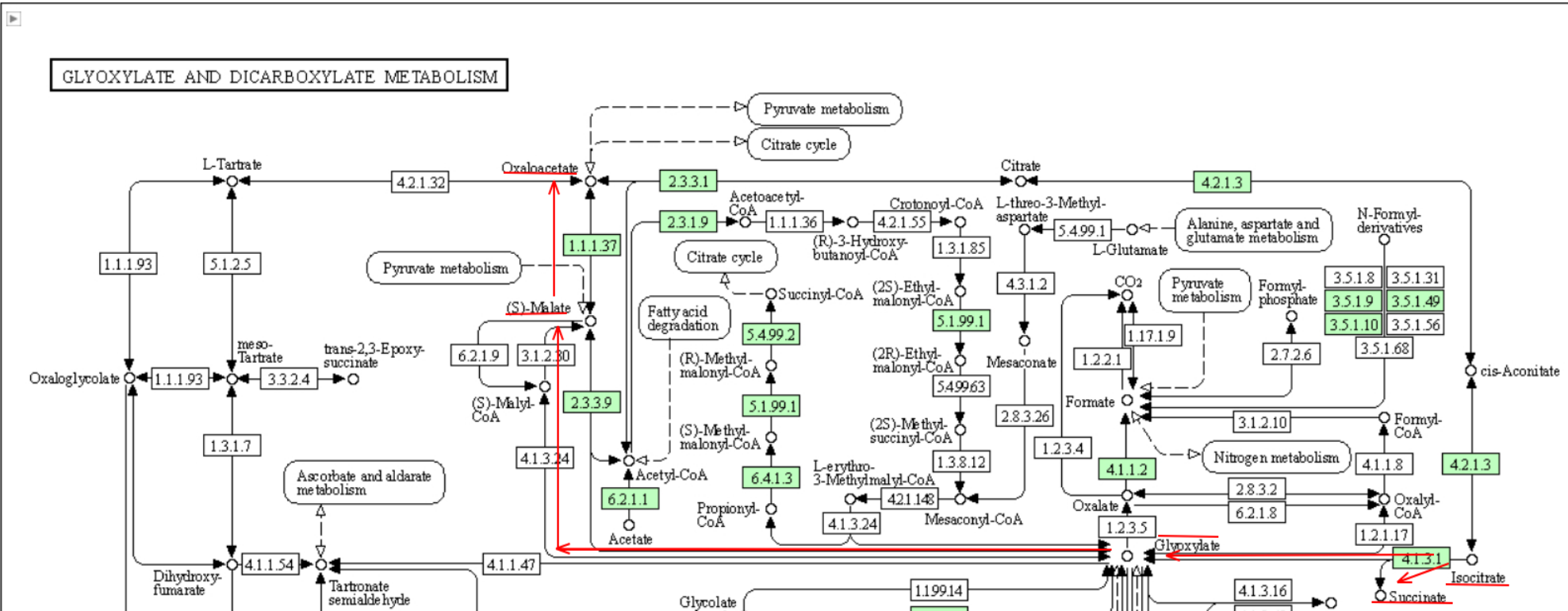


Гліоксилатний цикл - *Rhodococcus erythropolis* PR4



[Pathway menu | Pathway entry | Download KGML | Image file | Help]

Change pathway type



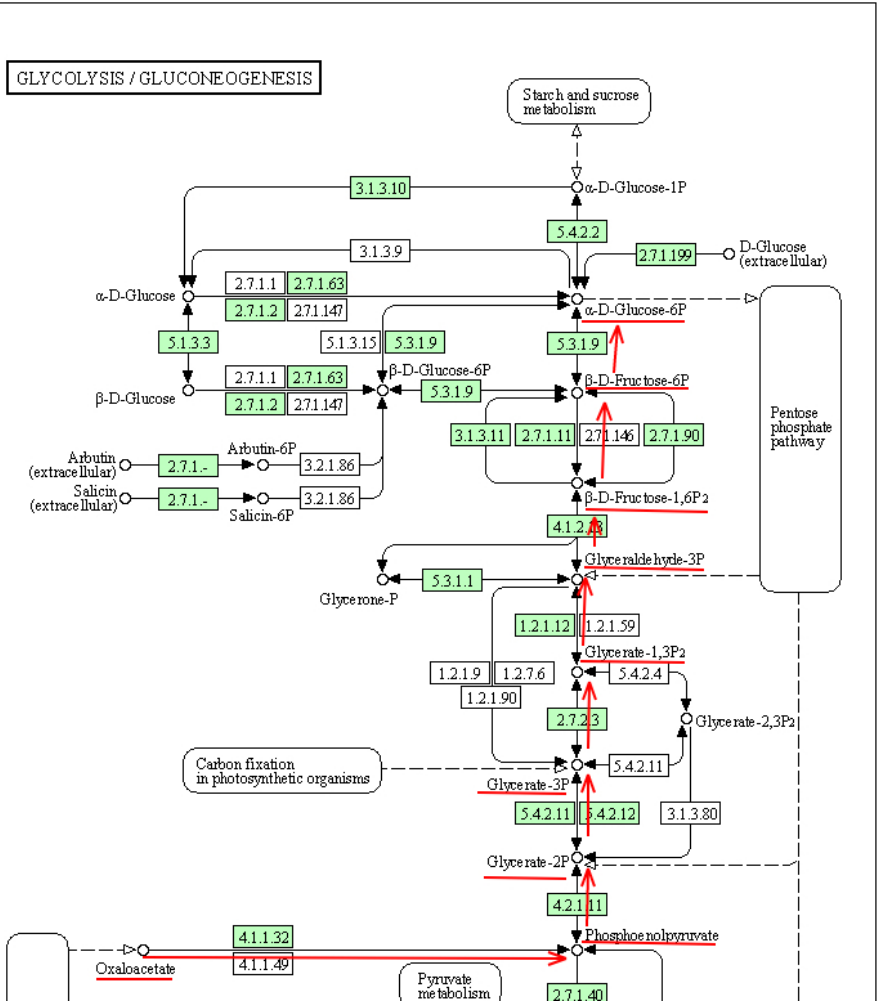
Глюконеогенез - *Rhodococcus erythropolis* PR4

KEGG Glycolysis / Gluconeogenesis - *Rhodococcus erythropolis* PR4

[Pathway menu | Pathway entry | Download KGML | Show description | Image file | Help]

Change pathway type

▼ Option
Scale: 100%
▼ Search
Go
▼ ID search
Go
▼ Color
▼ Module
Complete only
Pathway modules
 Carbohydrate metabolism
 Central carbohydrate metab
 M00001 Glycolysis (Emb
 M00002 Glycolysis, core n
 M00003 Gluconeogenesis
 M00307 Pyruvate oxidatio

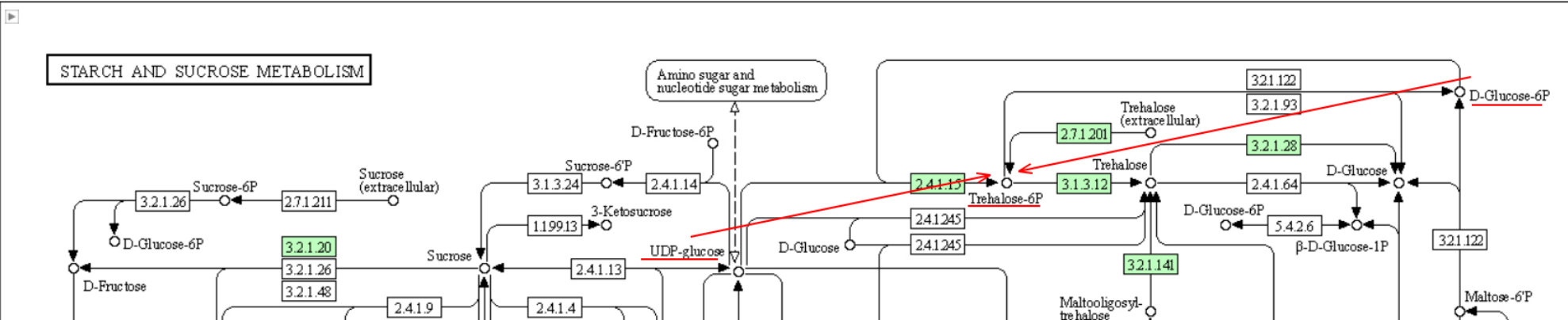


Утворення трегалозо-6-фосфату - *Rhodococcus erythropolis* PR4

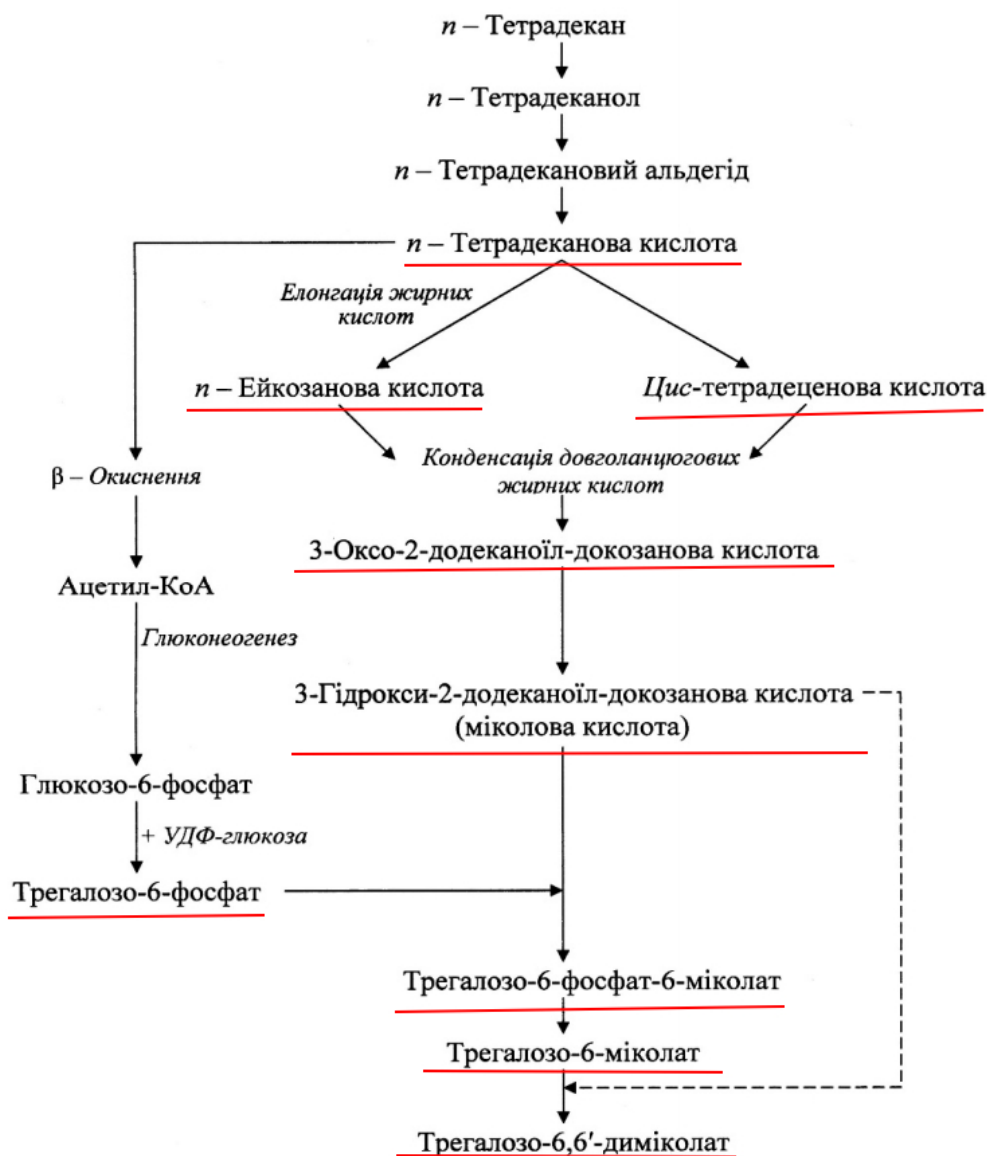
KEGG Starch and sucrose metabolism - *Rhodococcus erythropolis* PR4

[Pathway menu | Pathway entry | Download KGML | Image file | Help]

Change pathway type



Синтез моно- та диміколатів трегалози - *Rhodococcus erythropolis* DSM 43215



Засіб «ДЕЗолайт»

37	Дезинфекційний засіб "ДЕЗолайт" з мийними властивостями, основними діючими речовинами якого є дидецилдиметиламоній хлорид у межах 7,0 - 8,0%, алкїлдиметилбензиламоній хлорид у межах 6,0 - 7,0%	ТОВ «ГІГІЕНА ДЕЗ», Україна, 04159, м. Київ, вул. Калнишевського будинок, 7 секція 2, оф.1041, тел: (044)303-97-63, e-mail: gigenadez@ukr.net, www.gigenadez.com.ua, код за ЄДРПОУ: 37509013	ТОВ «ГІГІЕНА ДЕЗ», Україна, 04159, м. Київ, вул. Калнишевського будинок, 7 секція 2, оф.1041, адреса виробничих потужностей: м. Київ, провулок Бондарський, 5, тел: (044)303-97-63, e-mail: gigenadez@ukr.net, www.gigenadez.com.ua, код за ЄДРПОУ: 37509013	Профілактична, поточна та заключна дезінфекція; генеральні прибирання приміщень, приладів, устаткування, санітарно-технічного обладнання в закладах охорони здоров'я, дошкільних та учбових закладах; на підприємствах фармацевтичної, мікробіологічної, харчової, парфюмерно-косметичної промисловості ; на об'єктах залізничного транспорту, метрополітену; автомобільному, річковому, повітряному та санітарному транспорті; лабораторіях; об'єктах МО, МВС; вогнищах інфекційних захворювань бактеріальної, трибкової і вірусної етіології; дезінфекція виробів медичного призначення (включаючи стоматологічні інструменти, жорсткі та гнучкі ендоскопи та інструменти до них), а також дезінфекція наркозно-дихальної апаратури та інструментів до них, у тому числі суміщена з їх передстерилізаційним очищенням; знезараження медичних відходів, стоматологічних відсмоктуючих систем; дезінфекції систем вентиляції, інше згідно інструкцій. Оптова та роздрібна торгівля
----	--	---	--	---

- знезараження об'єктів, уражених пліснявими грибами;
- дезінфекції санітарного транспорту, включаючи машини швидкої допомоги;
- знезараження поверхонь при проведенні дезінфекції на підприємствах фармацевтичної, мікробіологічної, біотехнологічної, харчової, парфюмерно-косметичної промисловості, в аптечних закладах, включаючи "чисті" приміщення класу чистоти С і Д;
- дезінфекції поверхонь приміщень при проведенні профілактичної дезінфекції на комунальних об'єктах (лазні, ванни, парувальні та косметичні кабінети, басейни, гідромасажні ванни, клуби, громадські туалети (тоалети) у

Таблиця 2. Режими дезінфекції об'єктів розчинами засобу «ДЕЗолайт» при інфекціях бактеріальної (включаючи чуму, холеру) етіології (за винятком туберкульозу)

Об'єкт знезараження	Концентрація розчину, за препаратом, %	Експозиція, хв	Спосіб застосування
Поверхні приміщень, транспорту, тверді меблі, поверхні апаратів і приладів, не забруднені кров'ю**	0,08 0,1 0,25	45 30 15	Протирання

Засіб «КлінДез 401»

128	Засіб мийний з дезінфікуючим ефектом «КлінДез 401» («Clean&Dez 401») (діючі речовини: натрію гіпохлорит- 50,0% (вміст активного хлору 5,0%-9,0%)	ТОВ «НВК УКРАСЕПТИКА». Україна, 03061, м. Київ, вул. М. Шепелева, буд. 6, e-mail: yurist@ukraseptika.com, код за ЄДРПОУ 33956622	ТОВ «НВК УКРАСЕПТИКА». Україна, 03061, м. Київ, вул. М. Шепелева, буд. 6, e-mail: yurist@ukraseptika.com, код за ЄДРПОУ 33956622	Для дезінфекції поверхонь, предметів обстановки, медичних приладів і апаратів, промислового обладнання, великогабаритного та санітарно-технічного устаткування, посуду, предметів для миття посуду, білизни, прибирального інвентарю, предметів догляду за хворими та ін., згідно з інструкцією з застосування; дезінфекції, предстерилізаційного очищення виробів медичного призначення, для дезінфекції, у тому числі суміщеної з предстерилізаційним очищенням та стерилізації виробів медичного призначення; медичного інструментарію; проведення поточної, заключної, профілактичної дезінфекції, генеральних прибирань в закладах охорони здоров'я всіх профілів; на підприємствах харчової промисловості (м'ясо-, молоко-, рибопереробній, масложировій, на підприємствах з виробництва майонезів, соусів, кетчупів тощо, хлібопекарських та кондитерських, плодово-овочевих, консервних, крохмале-патокових виробництв, на хладокомбінатах, при виробництві продуктів дитячого харчування, виробництв безалкогольних, пивних, лікєро-горілчанних, напоїв тощо); в закладах торгівлі, ресторанного та житлово-комунального господарства; в дитячих дошкільних установах, учбових закладах усіх рівнів акредитації та інших підприємствах; для знезараження крові і біологічних виділень, посуду, з-під виділень, медичних	Наказ від 08.04.2021 №660	08.04.2026	Комісія з державної санітарно-епідеміологічної експертизи Державної установи "Інститут медицини праці імені Ю.І. Кудівєва Національної академії медичних наук України" від 22.03.2021 №12.2-18-5/5243
-----	--	--	--	--	---------------------------	------------	---

1.4. Призначення засобу.

Засіб призначений:

проведення поточної, заключної, профілактичної дезінфекції, проведення генеральних прибирань в закладах охорони здоров'я і лікувально-профілактичних закладах усіх профілів (включаючи акушерські стаціонари, відділення неонатології та відділення інтенсивної терапії для новонароджених, пологові будинки, палати новонароджених, кувети для недоношених дітей), дитячих установах, інфекційних вогнищах, відділеннях хірургічного профілю, у гнійно-септичних відділеннях, маніпуляційних, відділеннях інтенсивної терапії і реанімації, центрах з трансплантації органів, патологоанатомічної, судово-медичної експертизи, амбулаторіях, станціях швидкої та невідкладної медичної допомоги, донорських пунктах та пунктах переливання крові, медико-санітарних частинах та медпунктах, аптечних закладах, медичних профільних центрах, клінічних, мікробіологічних, біохімічних, бактеріологічних, вірусологічних, серологічних та інших профільних діагностичних лабораторіях; закладах соціального захисту населення; на комунальних об'єктах (готелі, кемпінги, гуртожитки, будинки відпочинку,

лазні, басейни, спорткомплекси, громадські пляжі, перукарні, манікюрні, педикюрні, солярії, SPA-салони, косметичні кабінети, громадські туалети (включаючи біотуалети), пральні, хімчистки тощо); у закладах сфери відпочинку (кінотеатри, театри, культурнооздоровчі комплекси); на підприємствах водопостачання, фармацевтичної (в т.ч. склади лікарських засобів), мікробіологічної, парфумерно-косметичної промисловості; на підприємствах харчової та переробної промисловості (м'ясо-, молоко-, рибопереробної, масложирової, овочеконсервної, пивобезалкогольної, лікєро-горілчаної та виноробної, кондитерської галузей), на підприємствах агропромислового комплексу; на об'єктах житлово-комунального господарства (в т.ч. дезінфекція

дезбар'ерами; у закладах ресторанного господарства і торгівлі (їдальні, ресторани, роздатні лінії), складах продуктів харчування, магазинах, базарах, споживчих ринках, стоянках, стадіонах, майданах, установах соціального забезпечення, пенітенціарних установах, хоспісах, закладах зв'язку, банківських установах, військових частинах, казармах та на інших об'єктах Міністерства оборони; на промислових підприємствах, заводах, фабриках, складах та сховищах,

включаючи архівні установи різних підпорядкувань; для дезінфекції поверхонь у приміщеннях, предметів обстановки, медичних

приладів та промислового обладнання, санітарно-технічного устаткування (ванни, душові, унітази, раковини та ін.), посуду (лабораторного, аптечного і столового, у т.ч. одноразового використання), предметів для миття посуду, білизни, візків для складання білизни, прибирального інвентарю, гумових і поліпропіленових килимків, іграшок, предметів догляду за хворими, засобів особистої гігієни; для обробки різних об'єктів з метою знищення та попередження появи плісняви; для дезінфекції спеціалізованих «критичних зон» лікувально-профілактичних та

Таблиця 2. Режими дезінфекції розчинами засобу «КлінДез 401» («Clean&Dez 401») при інфекціях **бактеріальної етіології** (крім туберкульозу)

Об'єкт знезараження	Концентрація (за активним хлором), %	Експозиція, хв	Спосіб знезараження
Поверхні приміщень, жорсткі меблі, предмети обстановки, медичні прилади, апарати, устаткування, візки для складання і транспортування білизни, транспортні засоби	0,015 0,1	30 15	Протирання або зрошування

Засіб «SANDEZ»

141	Засоби дезінфекційні універсальні «SANDEZ»: EveryDay (д.р.,%: Ізопропіловий спирт – 60,0-72,0; Гліцерин – 0-1,5; Перекис водню – 1,0-3,0; ЧАС – 1,0-1,5)	ТОВ «Екопласт Штанцл Україна», Україна, 49107, м. Дніпро, вул. Шинна, 35, код за ЄДРПОУ: 32192932	ТОВ «Екопласт Штанцл Україна», Україна, 49107, м. Дніпро, вул. Шинна, 35 (виробничі площі), код за ЄДРПОУ: 32192932	Для експрес-дезінфекції невеликих за площею, а також важкодоступних <u>поверхонь виробничих приміщень</u> , харчового технологічного, холодильного і торгового <u>устаткування</u> , дефростера, інвентарю, тари, нетравмованих шкіряних <u>покровів рук, рукавичок</u> , одягнутих на руки персоналу, вентиляційних решіток, транспорту для перевезення харчових продуктів на підприємствах харчової та переробної промисловості, на об'єктах з виготовлення та реалізації харчової продукції, в тому числі у відділах кулінарії роздрібною мережі, на об'єктах комунально-побутового обслуговування, торгівлі, в організаціях культури, відпочинку та спорту, соціального забезпечення, в пенітенціарних установах, а також на <u>підприємствах фармацевтичної та біотехнологічної промисловості</u> в приміщеннях класів чистоти С і D. Оптово-роздрібна торгівля
-----	--	---	---	--

дезінфекції особистого транспорту.

Дезінфікуючий засіб EveryDay від ТМ SanDez не містить токсичних речовин. Робочий розчин повністю нешкідливий для людини і навколишнього середовища.

Всі препарати від ТМ SanDez, пройшли ретельні лабораторні дослідження і випробування в реальних умовах, і мають всі необхідні сертифікати.

Засіб ТМ «SUPER WASH»

53	Засіб мийний універсальний з ароматом морської свіжості ТМ "SUPER WASH" з дезінфікуючою дією (діюча речовина: бензалконіум хлорид (50%) – 0,5-1,5%)	ПП «НАУКОВО – ВИРОБНИЧА ФІРМА СВК», Україна, 49126, м. Дніпро, бульвар Слави, будинок 54, тел: (067) 112-02-44 , postmaster@svk.com.ua, код за ЄДРПОУ: 20257936	ПП «НАУКОВО – ВИРОБНИЧА ФІРМА СВК», Україна, юр. адреса: 49126, м. Дніпро, бульвар Слави, будинок 54; фактична адреса: м. Дніпро, вул. Мандриківська, буд. 47, тел: (067) 112-02-44, postmaster@svk.com.ua, код за ЄДРПОУ: 20257936	Застосовують для миття та дезінфекції поверхонь у закладах охорони здоров'я; на підприємствах та закладах громадського харчування (їдальні, ресторани, кафе, роздавальні лінії); на підприємствах <u>біотехнологічної, парфумерно-косметичної і фармацевтичної промисловості</u> ; в учебних закладах усіх рівнів акредитації; у дитячих садках; в спортивно-оздоровчих установах, пансіонатах, санаторіях та інших закладах для дорослих та дітей; на рухомому складі та об'єктах забезпечення всіх видів транспорту (в тому числі громадського, автомобільного чи залізничного); на об'єктах комунально-побутового призначення (готелі, кемпінги, гуртожитки, будинки відпочинку, лазні, басейни, перукарні, пральні, кінотеатри тощо); на споживчих ринках; для проведення поточних і генеральних прибирань в організаціях охорони здоров'я, дитячих дошкільних, шкільних та інших загальноосвітніх та оздоровчих об'єктах, в комунальних, пенітенціарних і інших установах; поточної дезінфекції в домашніх і побутових умовах (організація догляду за хронічними пацієнтами, з обмеженими можливостями	№ 16
----	---	---	---	---	------



Засіб «Стерилліум»

№	Назва засобу, вміст діючих речовин	Назва заявника продукції, країна, місцезнаходження	Назва виробника продукції, країна, місцезнаходження	Об'єкти застосування
1.	Дезінфекційний засіб "СТЕРИЛЛІУМ® МЕД (STERILLIUM® MED) (д.р. етиловий спирт – 80,8-89,3 %)	"BODE Chemie GmbH", Німеччина, Melanchthonstr. 27, 22525 Hamburg, тел: +49 40 54006-0, fax: +494054006-200, e-mail: info@bode-chemie.de, код за ЄДРПОУ: HRB 108924	"BODE Chemie GmbH", Німеччина, Melanchthonstr. 27, 22525 Hamburg, тел: +49 40 54006-0, fax: +494054006-200, e-mail: info@bode-chemie.de, код за ЄДРПОУ: HRB 108924	Ввезення. Для гігієнічної та хірургічної дезінфекції шкіри рук та шкірних покривів у закладах охорони здоров'я, спортивно-оздоровчих, навчально-виховних, соціального захисту населення; підприємствах фармацевтичної, мікробіологічної, біотехнологічної, хімічної, парфумерно-косметичної, харчової промисловості, ресторанного господарства і торгівлі; об'єктах комунально-побутового призначення; побут тощо

Спосіб застосування та дози.

Засіб для зовнішнього застосування, можна використовувати всюди, навіть при відсутності раковин для миття і води.

Для зручності при використанні препарату Стерилліум® краще відбирати за допомогою дозуючого пристрою. Наявні системи дозування дозволяють відбирати Стерилліум® безконтактно. Дозатори можуть бути розміщені незалежно від наявності раковин або мийок там, де необхідна гігієнічна антисептична обробка шкіри рук.

1. Гігієнічна антисептична обробка шкіри рук спрямована проти транзиторної мікрофлори шкіри рук без порушення резидентної мікрофлори.

Гігієнічна антисептична обробка шкіри рук проводиться:

- у закладах, на підприємствах, в установах та організаціях охорони здоров'я;
- у дитячих дошкільних закладах, навчальних закладах різних рівнів акредитації;
- на підприємствах косметичної, фармацевтичної, мікробіологічної промисловості;
- на підприємствах харчової промисловості;
- у закладах громадського харчування та торгівлі;
- на всіх видах транспорту;
- на комунальних об'єктах;
- у закладах соціального захисту;
- у пенітенціарних установах;
- для антисептичної обробки шкіри рук на об'єктах, діяльність яких вимагає дотримання гігієни, т. ч. у побуті для обробки шкіри рук осіб, які доглядають за новонародженими, пацієнтами літнього віку, хворими, у подорожах тощо.

Засіб "АНІОСРАБ 85 НПК (ANIOSRUB 85 NPC)"

2	Засіб дезінфекційний "АНІОСРАБ 85 НПК (ANIOSRUB 85 NPC)" (діюча речовина: етанол - 66,5 - 73,5 %)	Laboratoires ANIOS, Франція, 1 rue de l'Espoir, 59260 Lezennes, France, тел: +33 3 20 67 67 67, fax: +33 3 20 67 67 68, www.anios.com, код за ЄДРПОУ: 823326061	Laboratoires ANIOS, Франція, 1 rue de l'Espoir, 59260 Lezennes, France, тел: +33 3 20 67 67 67, fax: +33 3 20 67 67 68, www.anios.com, код за ЄДРПОУ: 823326061	Ввезення. Для гігієнічної та хірургічної дезінфекції шкіри рук та шкірних покривів у закладах охорони здоров'я, спортивно-оздоровчих, навчально-виховних, соціального захисту населення; підприємствах фармацевтичної, мікробіологічної, біотехнологічної, хімічної, парфумерно-косметичної, харчової промисловості, ресторанного господарства і торгівлі; об'єктах комунально-побутового призначення, побут тощо
---	---	---	---	---

Аніосраб 85 НПК UA 250 мл Anios деззасіб для рук Франція

Арт. G-01-0109



Рейтинг: 0 | Відгуків: 0

- Готові до застосування засоби у вигляді гелю або рідини на основі етанолу для гігієнічної (експозиція 30 сек.) і хірургічної (експозиція 2х45 сек.) Дезінфекції рук втиранням.
- Мають бактерицидні (вкл. MRSA), туберкулоцидну, фунгіцидними, Віруліцидними (ВІЛ, віруси гепатитів В, С, герпесу тип 1, вірус грипу А (H5N1) (пташиний грип), вірус грипу А (H1N1), SARS, рота-, адено-, поліовірусу та ін.) властивостями.
- Не містять алергенів, ароматизаторів, барвників.
- Прекрасно сумісні зі шкірою.

Перелік тез

1. Охмакевич А., Ключка Л., Пирог Т. Вплив фізіологічного стану еукаріотичного індуктора у середовищі культивування *Rhodococcus erythropolis* ІМВ Ас-5017 на антимікробну активність синтезованих поверхнево-активних речовин. Матеріали 89 Міжнародної наукової конференції молодих учених, аспірантів і студентів «Наукові здобутки молоді – вирішенню проблем харчування людства у XXI столітті» (Київ, НУХТ, 3-7 квітня 2023 р.). С. 417.

2. Охмакевич А.М., Ключка Л.В., Пирог Т.П. Руйнування дріжджових біоплівок за дії поверхнево-активних речовин, синтезованих *Rhodococcus erythropolis* ІМВ Ас-5017 у середовищі з еукаріотичним індуктором. Матеріали III Міжнародної науково-практичної конференції інтернет-конференції «Проблеми та досягнення сучасної біотехнології» (Харків, НФаУ, 24 березня 2023 р.). С. 296-297.

3. Охмакевич А., Ключка Л.В., Пирог Т.П. Вплив еукаріотичних індукторів на здатність поверхнево-активних речовин *Rhodococcus erythropolis* ІМВ Ас-5017 руйнувати бактеріальні біоплівки. Матеріали X Міжнародної науково-практичної конференції «Сучасні досягнення фармацевтичної технології» (Харків, НФаУ, 10-11 травня 2023 р.). С. 244-245.

4. Охмакевич А.М., Ключка Л.В., Пирог Т.П. Вплив живих клітин еукаріотичного індуктора на біологічну активність поверхнево-активних речовин *Rhodococcus erythropolis* ІМВ Ас-5017. Матеріали Міжнародної наукової конференції «Актуальні питання біотехнології, екології та природокористування» (Харків, ДБТУ, 27-28 квітня 2023 р.). С. 52-53.

5. Охмакевич А.М., Ключка Л.В. Антимікробна активність поверхнево-активних речовин, синтезованих *Rhodococcus erythropolis* ІМВ Ас-5017 за наявності дріжджів роду *Saccharomyces*. Матеріали XVII Міжнародної науково-практичної конференції «Біотехнологія XXI століття» (Київ, КПІ ім. Ігоря Сікорського, 19 травня 2023 р.). С. 152-153.

6. Охмакевич А.М., Ключка Л.В., Пирог Т.П. Руйнування бактеріальних та дріжджових біоплівок за дії поверхнево-активних речовин, синтезованих

Rhodococcus erythropolis IMB Ac-5017 у середовищі з еукаріотичним індуктором. Матеріали XXVI Міжнародної науково-технічної конференції «Технологія-2023» (Київ, СНУ ім. В. Даля, 26 травня 2023 р.). С. 27-29.

7. Охмакевич А.М., Ключка Л.В., Пирог Т.П. Біологічна активність поверхнево-активних речовин *Rhodococcus erythropolis* IMB Ac-5017, синтезованих за наявності супернатанту *Saccharomyces cerevisiae*. Матеріали VII Міжнародної науково-практичної конференції «Хімія, біотехнологія, екологія та освіта» (Полтава, ПДАУ, 17-18 травня 2023 р.). С. 35-38.