

НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ

Інститут Біотехнології та екологічного контролю

Кафедра Біотехнології і мікробіології

Освітній ступінь бакалавр

Спеціальність 162 «Біотехнології та біоінженерія»

(код і назва)

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

(назва)

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри біотехнології і мікробіології

Віктор СТАБНИКОВ

“ 29 ” березня 2024 року

З А В Д А Н Н Я

НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ ЗДОБУВАЧА

ЗОЛОТАРЯ Олександра Сергійовича

(прізвище, ім'я, по батькові)

1. Тема роботи «Біосинтез антибіотику тейкопланіну *Actinoplanes teichomyceticus* S-45»

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

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

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

2. Строк подання здобувачем роботи 30 травня 2024 р.

3. Вихідні дані до роботи: біологічний агент: *Actinoplanes teichomyceticus*; цільовий продукт: *тейкопланін*; геометричний об'єм ферментера: 5 м^3 ; коефіцієнт заповнення: 0,5.

4. Зміст пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно розробити): Вступ, характеристика цільового продукту, вибір біологічного агента, техніко-економічне обґрунтування, біосинтез цільового продукту, обґрунтування технологічної схеми, специфікація обладнання, опис технологічної схеми, контроль виробництва та охорона довкілля.

5. Перелік графічного матеріалу:

Лист 1. Технологічна схема, формат аркушу А1

Лист 2. Апаратурна схема, формат аркушу А1

6. Консультанти розділів роботи

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

7. Дата видачі завдання 29.03.2024 р.

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№	Назва етапів виконання кваліфікаційної роботи	Строк виконання етапів роботи	Примітка
1	ВСТУП	29.03.2024	Виконано
2	РОЗДІЛ 1. ХАРАКТЕРИСТИКА ЦІЛЬОВОГО ПРОДУКТУ	29.03.2024-30.03.2024	Виконано
3	РОЗДІЛ 2. ОБГРУНТУВАННЯ ВИБОРУ БІОЛОГІЧНОГО АГЕНТУ	01.04.2024-06.04.2024	Виконано
4	РОЗДІЛ 3. ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБГРУНТУВАННЯ	07.04.2024-12.04.2024	Виконано
5	РОЗДІЛ 4. БІОСИНТЕЗ ЦІЛЬОВОГО ПРОДУКТУ	13.04.2024-16.04.2024	Виконано
6	РОЗДІЛ 5. ОБГРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ	16.04.2024-23.04.2024	Виконано
7	РОЗДІЛ 6. СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ	24.04.2024-01.05.2024	Виконано
8	РОЗДІЛ 7. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ	01.05.2024-10.05.2024	Виконано
9	РОЗДІЛ 8. КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА	11.05.2024-13.05.2024	Виконано
10	РОЗДІЛ 9. ОХОРОНА ДОВКІЛЛЯ	14.05.2024-20.05.2024	Виконано
11	СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	29.03.2024-23.05.2024	Виконано
12	ГРАФІЧНИЙ МАТЕРІАЛ. АПАРАТУРНО-ТЕХНОЛОГІЧНА СХЕМА	01.05.2024-10.05.2024	Виконано

Здобувач _____
(підпис)

Олександр ЗОЛОТАР
(ім'я та прізвище)

Керівник роботи _____
(підпис)

Тетяна ПИРОГ
(ім'я та прізвище)

РЕФЕРАТ

Дипломна робота була присвячена вибору біологічного агента для одержання глікопептидного антибіотику – тейкопланіну, механізм дії якого ускладнює набуття резистентності мікроорганізмів до глікопептидних антибіотиків. Було розроблено технологічну та апаратурну схеми отримання тейкопланіну за допомогою штаму *Actinoplanes teichomyceticus* S-45, після аналізу літературних даних, було встановлено, що *A. teichomyceticus* S-45 здатний найкраще накопичувати антибіотик тейкопланін у кількості 5,4 г/л.

Технологічна схема біосинтезу тейкопланіну включає допоміжні роботи (приготування та стерилізація амінокислот аргініну та валіну для інтенсифікації біосинтезу тейкопланіну, приготування та стерилізація поживних середовищ для вирощування інокуляту та виробничого біосинтезу). Технологічний процес включає в себе 4 стадії вирощування посівного матеріалу (вирощування інокуляту в колбах на качалках, посівних апаратах об'ємом 6 л, 63 та 630 л) та виробничий біосинтез у ферментері об'ємом 5 м³.

Контроль виробництва складається з мікробіологічної та технологічної частини. Під час мікробіологічного контролю перевіряють поживні середовища на стерильність та слідкують за чистотою посівного матеріалу та культуральної рідини. Технологічний контроль включає перевірку концентрації вуглецю, азоту та визначення концентрації тейкопланіну.

Дипломний проєкт було виконано згідно отриманого варіанту завдань. Робота складається з вступу, п'яти розділів, списку використаної літератури з 84 найменувань. Загальний обсяг роботи – 125 сторінок, 8 рисунки, 15 таблиць.

Ключові слова: тейкопланін, глікопептидний антибіотик, актинобактерія, *Actinoplanes teichomyceticus*.

ABSTRACT

The diploma project was devoted to the selection of a biological agent for the preparation of a glycopeptide antibiotic – teicoplanin, the mechanism of action of which complicates the acquisition of resistance of microorganisms to glycopeptide antibiotics. A technological and apparatus scheme for obtaining teicoplanin using the *Actinoplanes teichomyceticus* S-45 strain was developed, after analyzing literature data, it was established that *A. teichomyceticus* S-45 is able to accumulate the antibiotic teichoplanin in the amount of 5.4 g/l.

The technological scheme of teicoplanin biosynthesis includes auxiliary works (preparation and sterilization of amino acids arginine and valine for intensification of teicoplanin biosynthesis, preparation and sterilization of nutrient media for growing inoculum and production biosynthesis). The technological process includes 4 stages of growing seed material (cultivation of the inoculum in flasks on rockers, 6 L, 63 and 630 L seeders) and production biosynthesis in a 5 m³ fermenter.

Production control consists of microbiological and technological parts. During microbiological control, nutrient media is checked for sterility and the purity of seed material and culture liquid is monitored. Technological control includes checking the concentration of carbon, nitrogen and determining the concentration of teicoplanin.

The diploma project was completed according to the received version of the tasks. The work consists of an introduction, five chapters, a list of 84 references. The total volume of work is 125 pages, 8 figures, 15 tables.

Key words: teicoplanin, glycopeptide antibiotic, actinobacterium, *Actinoplanes teichomyceticus*.

ЗМІСТ

ВСТУП

РОЗДІЛ 1. ХАРАКТЕРИСТИКА ЦІЛЬОВОГО ПРОДУКТУ	11
1.1. Хімічні властивості	11
1.2. Структура антибіотику	12
1.3. Застосування у медицині	13
1.4. Характеристика лікарського засобу	14
РОЗДІЛ 2. ОБГРУНТУВАННЯ ВИБОРУ БІОЛОГІЧНОГО АГЕНТА	17
2.1. Обґрунтування вибору біологічного агента та поживного середовища для його культивування	17
2.2. Перевірочний розрахунок складу поживного середовища для вирощування <i>Actinoplanes teichomyceticus</i> S-45 – продуцента антибіотику тейкопланіну	28
РОЗДІЛ 3. ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБГРУНТУВАННЯ	31
3.1. Потреба населення України в тейкопланіні	31
3.2. Розрахунок потужності виробництва тейкопланіну	34
3.3. Розрахунок кількості виробничих циклів і геометричного об'єму ферментера для біосинтезу тейкопланіну	34
3.4. Розрахунок кількості стадій підготовки посівного матеріалу для біосинтезу тейкопланіну <i>Actinoplanes teichomyceticus</i> S-45	35
РОЗДІЛ 4. БІОСИНТЕЗ ЦІЛЬОВОГО ПРОДУКТУ	40
4.1 Шляхи катаболізму ростового субстрату у біологічного агента	40
4.2 Біотрансформація ростового субстрату у цільовий продукт	42
РОЗДІЛ 5. ОБГРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ	47
5.1. Вибір типу ферментера для культивування продуцента антибіотику тейкопланіну – <i>Actinoplanes teichomyceticus</i> S-45	47

НУХТ БТЕК 04.01.4 КР ПЗ

					ЗМІСТ			
Змн.	Арк.	№ документа	Підпис	Дата	ЗМІСТ	Літера	Аркуш	Аркушів
Розроб.		<i>Золотар О.С.</i>					8	115
Перевір.		<i>Пирог Т.П.</i>						
Консультант								
Н. контр.								
Затверд.		<i>Стабніков В.П.</i>			Кафедра БТМ			

5.2. Обґрунтування стадії підготовки аераційного повітря	49
5.3 Вибір мийних та дезінфікуючих засобів	52
5.4. Обґрунтування способу підготовки та стерилізації поживного середовища	56
5.5. Обґрунтування вибору розчинів для піногасника	66
РОЗДІЛ 6. СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ	69
РОЗДІЛ 7. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ	78
РОЗДІЛ 8. КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА	87
8.1. Мікробіологічний контроль стерильності поживних середовищ	87
8.2. Мікробіологічний контроль чистоти культури	90
8.3. Визначення концентрації біомаси	91
8.4. Визначення концентрації цільового продукту	91
8.5. Визначення концентрації джерела вуглецевого живлення (глюкози)	93
8.6. Визначення концентрації джерела азотного живлення (амінного азоту)	94
8.7. Карта постадійного контролю	94
РОЗДІЛ 9. ОХОРОНА ДОВКІЛЛЯ	103
9.1 Аналіз технологічної схеми проєктованого біотехнологічного виробництва	103
9.2 Перспективи впровадження системи екологізації виробництва	105
9.3 Розрахунок об'ємів стічних вод	106
9.4 Система очищення стічних вод	110
9.5 Розрахунок об'ємів газоподібних відходів	112
9.6 Розрахунок об'ємів твердих відходів	114
9.7 Система екологізації підприємства та методи щодо зменшення кількості відходів	115
СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ	117

ВСТУП

На даний момент виробництво лікарських препаратів є однією з найперспективніших галузей у світі. За останні роки світовий ринок фармацевтики показує сталу тенденцію зростання. Фармацевтичний ринок – це потужний промисловий сектор, що входить до п’ятірки найприбутковіших галузей господарського комплексу світу. Фармацевтична галузь займає провідну позицію і в економіці нашої країни, оскільки є досить важливою складовою національного ринку та певним чином визначає національну і оборонну безпеку країни [1].

Вже деякий час світ зіштовхнувся з такою проблемою як резистентність мікроорганізмів до дії антибіотиків. Бактерії можуть стати стійкими до антибіотиків через мутацію гена або шляхом отримання генетичної інформації, яка кодує резистентність інших бактерій. Вибірковий тиск, створений масовим використанням антибіотиків, змушує бактерії, що несуть ген стійкості, виживати та рости. Наприклад, у 2017 році *Klebsiella pneumoniae* були визначені як резистентні до карбапанемів, у той же час *Escherichia coli* були визначені як стійкі до цефалоспоринів третього покоління. Частка інвазивних ізолятів *Staphylococcus aureus*, стійких до метициліну (MRSA), досягла великих коливань по Європі (1,0% у Норвегії до 44,4% у Румунії). Саме тому виникла велика потреба у антибіотиках з високою активністю щодо резистентних мікроорганізмів [2].

Глікопептидні антибіотики, включаючи ванкоміцин і тейкопланін, є молекулами, які інгібують пізню стадію синтезу пептидоглікану клітинної стінки бактерій. Тривимірна структура містить щілину, в яку можуть поміститися пептиди високоспецифічної конфігурації (L-aa-D-aa-D-aa): такі послідовності знаходяться лише в клітинних стінках бактерій, отже,

Змн.	Арк.	№ документа	Підпис	Дата	НУХТ БТЕК 04.01.04 КР ПЗ			
Розроб.		Золотар О.С.			ВСТУП	Літера	Арквш	Арквшів
Перевір.		Пирог Т.П.					8	125
Консультант						Кафедра БТМ		
Н. контр.								
Затверд.		Стабніков В.П.						

глікопептиди є вибірково токсичними. Глікопептиди взаємодіють з пептидами цієї конформації шляхом утворення водневих зв'язків, утворюючи стійкі комплекси. В результаті зв'язування з групами L-aa-D-Ala-D-Ala в проміжних продуктах стінки глікопептиди інгібують утворення основних ланцюгів гліканів (каталізованих пептидогліканполімеразою) із простих субодиниць стінки, оскільки вони виштовхуються через цитоплазматичну мембрану. Подальша реакція транспептидації, яка надає жорсткості клітинній стінці, також таким чином пригнічується. Цей унікальний механізм дії, що включає зв'язування об'ємного інгібітора із субстратом поза мембраною, так що активні центри двох ферментів не можуть правильно вирівнятися, ускладнює набуття стійкості до глікопептидних антибіотиків, ніж до більшості інших груп антибіотиків [3].

Тейкопланін — антибіотик, який активно використовується в медичній практиці для лікування серйозних грампозитивних бактеріальних інфекцій. Завдяки своїй ефективності та низькій цитотоксичності тейкопланін також використовується для пацієнтів з ускладненнями, включаючи дітей та пацієнтів з ослабленим імунітетом. Перевагою тейкопланіну в порівнянні із ванкоміцином – він сильніше зв'язується з білками сироватки крові (більше 70%) та має досить тривалий період напіврозпаду в сироватці (понад 50 год) [4].

Ванкоміцин і тейкопланін широко поширені у використанні в клінічній практиці для лікування гострих інфекцій, що загрожують життю, які викликані грампозитивними бактеріями, стійкими до бета-лактаму. Вони мають подібний спектр охоплення, за винятком резистентності до ванкоміцину ентерококів, які чутливі до тейкопланіну. Проте ванкоміцин може спровокувати низку побічних явищ, включаючи нефротоксичність та ототоксичність, тому під час лікування слід контролювати концентрацію в сироватці крові. Тейкопланін навпаки ж має довший період напіввиведення, ніж ванкоміцин, його можна вводити у вигляді внутрішньовенного болюсу, а нефротоксичність і ототоксичність є відносно рідкісними. Попередній огляд

показав, що ванкоміцин і тейкопланін були однаково ефективний, але тейкопланін викликає менше побічних ефектів ніж ванкоміцин. Таким чином, лікування тейкопланіном може мати переваги перед лікуванням ванкоміцину за умови, що вони мають подібну клінічну ефективність [5].

Отже, новизною даної роботи є використання генно-модифікованого штаму актинобактерій *A. teichomyceticus* S-45, який характеризується здатністю до синтезу антибіотику тейкопланіну у високих концентраціях на економічно вигідному поживному середовищі.

РОЗДІЛ 1

ХАРАКТЕРИСТИКА ЦІЛЬОВОГО ПРОДУКТУ

Тейкопланін є антибіотиком, який хімічно споріднений з ванкоміцином. Тейкопланін має аналогічну до ванкоміцину бактерицидну активність щодо аеробних і анаеробних грампозитивних бактерій, але з більш тривалим періодом напіввиведення з плазми (40-100 год), що дозволяє парентерально вводити його один раз на добу. Було проведено дослідження, у якому 20 пацієнтів з інфекціями шкіри та м'яких тканин було проліковано даним антибіотиком з показником успіху 84%. За даними цього дослідження було зроблено висновок, що антибіотик тейкопланін є безпечним та ефективним при лікуванні шкіри та м'яких тканин [6].

Тейкопланін був відкритий в результаті дослідницької програми, яка була створена для виявлення тих речовини, які пригнічують синтез клітинної стінки бактерій. Пошук зосередився на групі організмів, що належать до родів *Actinoplanes*, *Dactylosporangium*, *Planomonospora* і *Planobispora*. Шуканим організмом став *Actinoplanes teichomyceticus*, штам-продуцент тейкопланіну [7].

1.1. Хімічні властивості

Брутто-формула – $C_{78}H_{77}Cl_2N_8O_{32}R$, молярна маса становить 1709.4 г/моль [8].

Тейкопланін являє собою білий аморфний порошок з температурою плавлення 260°C і УФ-максимумом у 0,1 N HCL 278 нм [8].

Тейкопланін розчинний у водних розчинах при рН 7,0 і частково розчинний у метанолі та етанолі. Він нерозчинний у розведеній мінеральній кислоті та неполярних органічних розчинниках [8].

					<i>НУХТ БТЕК 04.01.04 КР ПЗ</i>			
Змн.	Арк.	№ документа	Підпис	Дата				
Розроб.		<i>Золотар О.С.</i>			РОЗДІЛ 1. ХАРАКТЕРИСТИКА ЦІЛЬОВОГО ПРОДУКТУ	Літера	Аркуш	Аркушів
Перевір.		<i>Пирог Т.П.</i>					11	125
Консультант						Кафедра БТМ		
Н. контр.								
Затверд.		<i>Стабніков В.П.</i>						

1.2. Структура антибіотику

Тейкопланін є комплексом речовин, п'ять основних компонентів мають назву тейкопланін від A₂-1 до A₂-5 (T-A₂-1, T-A₂-2, T-A₂-3, T-A₂-4, T-A₂-5), чотири другорядні компоненти - тейкопланін від R_S-1 до R_S-4. Також є ще один компонент T-A₃-1, його назвали гідролізним компонентом, тому що ця сполука є продуктом деградації (гідролізу) групи T-A₂. А також T-A₃-1 являє собою зливу кільцеву структуру, до якої приєднані два вуглеводи (маноза та N-ацетилглюкозамін) [9].

Глікопептидні антибіотики характеризуються пептидною основою, що складається з семи амінокислот, з'єднаних шістьма пептидними зв'язками. Цю базову структуру називають агліконом. Аглікон тейкопланіну складається з p-гідроксифенілгліцину в положеннях 1, 4 і 5; m-хлортирозин в положенні 2; m,m-дигідроксифенілгліцин в положенні 3 і 7; і m-хлор-b-гідрокситирозин у положенні 6. N-Ацил-b-D-глюкозамін, N-ацетил-b-D-глюкозамін і α-D-маноза пов'язані з агліконом у положеннях 4, 6 і 7 відповідно [9].

На Рис.1.1. зображено структуру тейкопланіну, яка є лінійним гептапептидом (олігопептид із семи амінокислотних залишків), що складається з трьох парагідроксифенілгліцинів (PHPG), двох дигідроксифенілгліцинів (DHPG) і двох тирозинів (TYR), з наступною послідовністю, починаючи з аміно-терміналу: PHPG-TYR-DHPG-PHPG-PHPG-TYR-DHPG. Ця послідовність відрізняється від послідовності ванкоміцину, який містить метиллейцин на амінокінці і аспарагін [10,11].

Компоненти тейкопланіну A-2 відрізняються структурою зв'язаного фрагмента жирної кислоти амідним зв'язком із залишком глюкозаміну, який пов'язаний з b-окисленням клітинних довголанцюгових жирних кислот[10,11].

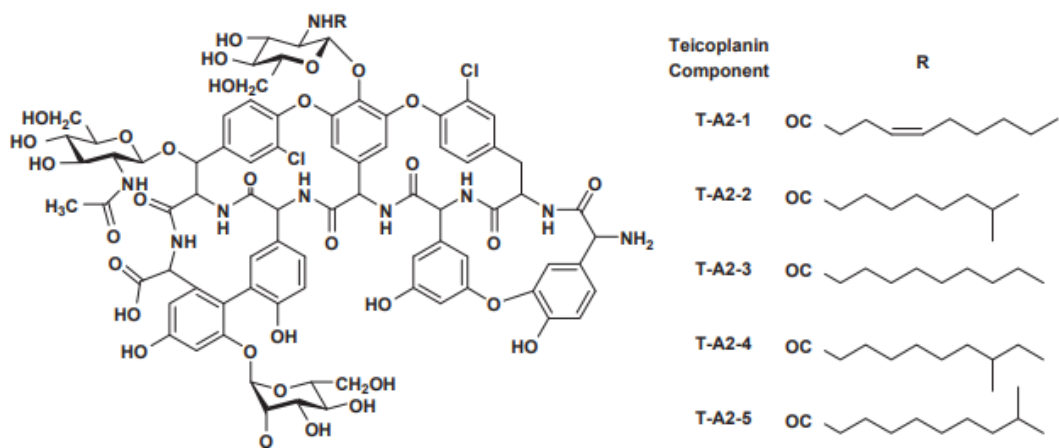


Рис.1.1 Структура компонентів тейкопланіну [10,11].

1.3. Застосування у медицині

Тейкопланін введено в клініку використання в Італії в 1988 році. З тих пір цей глікопептид був ліцензований і в інших країнах світу. Тейкопланін має широкий спектр антибактеріальної дії, спрямований проти грампозитивних бактерій, в тому числі тих, що виявляють резистентність до неспоріднених сполук, що є подібним до ванкоміцину, але зі збільшенням активності, особливо проти *Streptococcus spp.* і *Enterococcus spp.* Деякі штами коагулазонегативних *Staphylococcus spp.*, зокрема *S. haemolyticus*, менш сприйнятливі до тейкопланіну, ніж ванкоміцину. Проте враховуючи його низький потенціал для ниркової токсичності та ототоксичності, а також його легкість введення, оптимальна терапія шляхом коригування дози в бік підвищення дозволила можливість охопити більшість із цих відносно незвичайних патогенів [7].

Грампозитивні бактерії є найбільш поширеними збудниками, що викликають остеомієліт, ендокардит та інфекції м'яких тканин. Глікопептиди необхідні для домашньої терапії в районах з високою поширеністю резистентних грампозитивних збудників, зокрема MRSA (*Methicillin-resistant Staphylococcus aureus*), в позалікарняні інфекції. Фармакоеконімічні аналізи показують, що таке використання може призвести до значної економії коштів і підвищення добробуту пацієнтів. Хоча ефективність двох глікопептидів є подібною, тейкопланін має перевагу над ванкоміцином в амбулаторній

терапії серйозних грампозитивних інфекцій, оскільки він має тривалий період напіврозпаду, що дозволяє вводити один раз на день, має відчутний постантибіотичний ефект, пропонує можливість вибору внутрішньовенної або внутрішньом'язової болюсної ін'єкції та має менший ризик нефротоксичності або синдром «червоної людини» [12].

Рекомендована схема прийому тейкопланіну — три навантажувальні дози по 6 мг/кг (400 мг) кожні 12 годин, потім 6 мг/кг (400 мг) кожні 24 години. Немає суттєвої різниці в ефективності між тейкопланіном і ванкоміцином, якщо використовується принаймні 6 мг/кг тейкопланіну або, у випадку стафілококового ендокардиту, його вводять у комбінації з іншим протимікробним препаратом. Тейкопланін ефективний і безпечний при стафілококових інфекціях, включаючи ендокардит, остеомієліт і септичний артрит. Одноразове або альтернативне щоденне дозування дозволяє проводити домашнє лікування інфекцій, спричинених *Staphylococcus aureus*, у тому числі стійких до метициліну штамів і ентерококів, із значною економією госпіталізованих витрат і покращенням якості життя [13].

1.4. Характеристика лікарського засобу

Для більш детального ознайомлення з властивостями продукції для прикладу беремо препарат ТЕЙКОПЛАНІН-ТЕВА.

Назва продукції: ТЕЙКОПЛАНІН-ТЕВА.

Міжнародне непатентоване найменування: Teicoplanin

Реєстраційне посвідчення: UA/12402/01/02

Термін державної реєстрації: з 26.07.2012 по 26.07.2017

АТХ-код: J01XA02 Teicoplanin

Склад : діюча речовина: тейкопланін; 1 флакон містить тейкопланіну 200 мг або 400 мг; допоміжна речовина:натрію хлорид; розчинник:вода для ін'єкцій.

Лікарська форма: ліофілізат для розчину для ін'єкцій або інфузій.

Фармакотерапевтична група: Глікопептидні антибіотики. Код АТС J01X A02.

Показання: Лікування тяжких інфекцій, спричинених грамполозитивними бактеріями, в тому числі чутливими та резистентними до метициліну, а також інфекцій у хворих, які мають алергію на бета-лактамі антибіотики.

Протипоказання: Гіперчутливість до тейкопланіну або інших глікопептидних антибіотиків; введення в лікворний простір.

Спосіб застосування: Тейкопланін вводиться парентерально: внутрішньо-венно болюсно (шляхом швидкої (3-5 хв) ін'єкції або інфузійно (30 хв), використовуючи відповідний розчинник (вода для ін'єкцій), внутрішньом'язово або внутрішньоперитонеально.

Фармакодинаміка: Тейкопланін-Тева містить тейкопланін – глікопептидний антибіотик, що отримують з *Actinoplanes teichomyceticus*. Спектр дії тейкопланіну включає аеробні й анаеробні грамполозитивні мікроорганізми. Тейкопланін інгібує ріст чутливих мікроорганізмів, діючи на біосинтез клітинної стінки. Завдяки специфічному зв'язуванню з D-аланіл-D-аланіновими залишками інгібує синтез пептидглікану.

Фармакокінетика: Після внутрішньовенних разових ін'єкцій тейкопланіну в дозі 3 мг/кг плазмові концентрації в середньому становили 53 мкг/мл, а після введення препарату в разових дозах 6 мг/кг - 112 мкг/мл. Після внутрішньом'язової ін'єкції препарату в дозі 3 мг/кг максимальна плазмова концентрація в середньому становить 7,1 мкг/мл. Після перорального прийому тейкопланіну системної резорбції не відбувається. 40 % уведеної дози можна виявити в калі в мікробіологічно активній формі. Зміна плазмової концентрації після внутрішньовенного введення препарату носить триекспоненційний характер, при цьому кінцевий період напіввиведення становить приблизно 150 годин. Об'єм розподілу після внутрішньовенного введення препарату в дозах 3-6 мг/кг у стаціонарному стані становить відповідно 0,94-1,4 л/кг. Тейкопланін практично не зазнає жодних метаболічних змін. Він виводиться переважно нирками в незмінній

формі (протягом 7 діб приблизно 70 % уведеної внутрішньовенно дози виявляється в сечі та близько 2,4 % – у калі). При нирковій недостатності тейкопланін виводиться повільніше, спостерігається порушення співвідношення між періодом напіввиведення та кліренсом креатиніну. В осіб літнього віку внаслідок погіршення функції нирок тейкопланін виводиться повільніше. Тейкопланін потрапляє в більшість тканин, але в цереброспінальній рідині його концентрація є дуже низькою. Однак ефективні антимікробні концентрації виявляються в кістках, шкірі (сполучній тканині), синовіальній рідині, суглобах, тканині міокарда, легеневій тканині та плевральній рідині. Тейкопланін також легко проникає в нейтрофільні гранулоцити та посилює їх бактерицидну активність.

Термін придатності: 2 роки.

Умови зберігання: Зберігати при температурі не вище 30 °С у недоступному для дітей, захищеному від вологи місці.

Упаковка: По 200 мг або 400 мг ліофілізату у флаконах; по 3 мл розчинника в ампулах в картонній коробці.

Категорія відпуску: За рецептом.

Виробник: Лемері С.А. де С.В.

Місцезнаходження: Мартірес де Ріо Бланко № 54, мун. Уїчапан, р-н Шочимилько, штат Мехіко, 16030, Мексика [14].

РОЗДІЛ 2

ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ БІОЛОГІЧНОГО АГЕНТА

Actinoplanes teichomyceticus ATCC 31121 є «рідкісною» або «непоширеною» актинобактерією (група ниткоподібних актинобактерій, крім *Streptomyces* spp., які досить важко виділити, культивувати та генетично маніпулювати), продуцентом клінічно значущого ліпоглікопептидного антибіотика тейкопланіну. На даний момент єдиним мікроорганізмом, що здатен синтезувати антибіотик тейкопланін – є *A. teichomyceticus*. Тейкопланін був вперше схвалений для продажу в Італії як Таргоцид, з міжнародною датою народження (IBD) 30 липня 1987 року. Незважаючи на те, що тейкопланін існує на ринку більше 30 років, він все ще залишається препаратом останньої інстанції, який успішно використовується в клінічних умовах завдяки своїй антимікробній активності та клінічній безпеці. З наведених вище причин лабораторії активно працюють над виробництвом тейкопланіну за допомогою *A. teichomyceticus*, і постійно виконують програми вдосконалення та підтримки штаму. Тому порівняння концентрації синтезованого антибіотику тейкопланіну відбувається за культивуванням різних генно-модифікованих штамів *A. teichomyceticus* [15].

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

Одним із таких методів є утворення клонів регенерацією міцелію з протопластів. Протопласти *A. teichomyceticus* були отримані шляхом центрифугування ростової культури, після чого протопласти відокремлювали від залишкових грудок міцелію та залишкових фрагментів гіф. Потім суспензію протопластів центрифугували при 16200×g і ресуспендували у

					НУХТ БТЕК 04.01.04 КР ПЗ		
Змн.	Арк.	№ документа	Підпис	Дата			
Розроб.		Золотар О.С.			РОЗДІЛ 2. ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ БІОЛОГІЧНОГО АГЕНТУ		
Перевір.		Пирог Т.П.					
Консультант							
Н. контр.							
Затверд.		Стабніков В.П.					
					Літера	Аркуш	Аркушів
						17	125
					Кафедра БТМ		

свіжому середовищі [15].

Для регенерації міцелію з протопластів було взято гіпертонічні середовища, які позбавлені сахарози, що сприяло росту гіф, але не протопластів. Після цього, з клонів, створених з протопластів, було синтезовано антибіотик тейкопланін. Але, на жаль, у результаті культивування було синтезовано занадто малу кількість тейкопланіну (0,5 г/л) [15].

Для вдосконалення штаму актиноміцету продуценту тейкопланіна шляхом транскрипційної інженерії було сконструйовано екзогенний головний сигма-фактор σ HrdB (керований геном *hrdB*), що відповідає за транскрипцію генів “домашнього господарства” [16].

Ініціація транскрипції є ключовим центром експресії генів у прокариотів. Ключові учасники цього процесу, сигма-фактори (σ), зв'язуються з РНК-полімеразою, щоб провести її через основні етапи ініціації: розпізнавання та відкриття промотора та синтез кількох перших нуклеотидів транскрипту. Також, дослідження показали [17], що σ HrdB ініціює транскрипцію регуляторних генів, специфічних для шляху, які є важливими для вторинного біосинтезу метаболітів [18].

Сигма-фактори — це білкові субодиниці бактеріальної РНК-полімерази (RNAP), які відіграють вирішальну роль в ініціації транскрипції, включаючи розпізнавання та відкриття промоторів, а також початкові етапи синтезу РНК. Сигма-фактор σ HrdB кодують гени *hrdB* [19].

З *Actinoplanes missouriensis* 431, *Micromonospora aurantiaca* ATCC 27029 і *Salinispora arenicola* CNS-205 було відібрано плазмиди pUC19-AmhrdB, pUC19-MahrdB і pUC19-SahrdB, що містять синтезовані кодуючі послідовності гену *hrdB* [16].

Для урізноманітнення та перенаправлення метаболічного потоку до біосинтезу тейкопланіну за допомогою регуляції транскрипції, було створено екзогенні бібліотеки випадкових мутантів *hrdB*. Бібліотека мутантів – це набір варіантів генів, які можна сконструювати за допомогою стратегій

білкової інженерії. Фрагменти hrdB, які було отримані з *A. missouriensis* 431, *M. aurantiaca* ATCC 27029 і *S. arenicola* CNS-205, як вихідний генетичний пул, спочатку піддавали системі StEP для створення первинної бібліотеки, що містить приблизно 1×10^5 клонів. Поетапний процес розширення (StEP) — це простий, але ефективний метод рекомбінації ДНК *in vitro*, який використовує гомологічні гени як шаблони для синтезу химерних генів-нащадків[20]. Далі близько 700 клонів були піддані скринінгу бібліотеки генів, у результаті якої було виділено 27 клонів, у яких за допомогою ПЛР були ампліфіковані мутантні фрагменти hrdB, після чого гени були перенесені в *A. teichomyceticus* L-27. Серед цих штамів виявлено найкращий рекомбінант під назвою P-22 [16]. Детальніше про скринінг описано у роботі [21].

Згодом фрагмент hrdB з *A. teichomyceticus* P-22 був мутований за допомогою ПЛР, і була створена друга бібліотека, що містила приблизно $6,4 \times 10^5$ клонів. 53 штами з другої бібліотеки генів було відібрано для подальшого синтезу антибіотику [16].

Загалом 85 штамів (включало 27 штамів з первинної бібліотеки, 53 з вторинної бібліотеки, та 5 контрольних штамів) синтезували різну кількість тейкопланіну, однак найкращим виявився штам з другої бібліотеки S-45, який продукував 5,4 г/л тейкопланіну. Він навіть синтезував на 34% більше тейкопланіну, ніж штам *A. teichomyceticus* P-22 з першої бібліотеки, який синтезував 3,5 мг/мл антибіотику. Рекомбінантний штам *Actinoplanes teichomyceticus* S-45 синтезує антибіотик у великій концентрації, тому процес його культивування розглянемо детальніше [16].

За даними результатів дослідження (Horbal et al. 2012[22], 2013[23]) показано, що *tei15** і *tei16** є генами, необхідними для біосинтезу тейкопланіну. Таким чином, було створено надсинтетичні тейкопланіну за допомогою генів *tei15** або *tei16**, що переносяться на реплікативних або інтегративних векторах, з гетерологічним промотером *aac(3)IV* [24].

До кластеру генів біосинтезу тейкопланіну (tcp-кластеру) входять гени, що контролюють етапи біосинтезу молекули антибіотика, гени стійкості до власного антибіотика, а також регуляторні гени. Було виявлено два потенційні шлях-специфічні регуляторні гени: tcp28(tei15*) і tcp29(tei16*), що кодують білки родин StrR і LuxR, відповідно. За допомогою таких біоінформатичних методів як моделювання вторинної та третинної структури цих білків (HNHPred), пошук гомологів і порівняння з ними (Blastp, delta-blast) було встановлено, що Tcp28 і Tcp29 (білки продуковані генами tcp28 і tcp29) містять потенційні ДНК-зв'язувальні, а також сигнальні домени. Ці дані свідчать про те, що Tcp28 і Tcp29 можуть брати участь у регуляції експресії генів tcp-кластера на транскрипційному рівні. Відомо, що у представників роду *Streptomyces* білки цих родин зазвичай задіяні в позитивній регуляції біосинтезу вторинних метаболітів. Уведення додаткових копій таких генів у штами дикого типу часто зумовлює зростання продукції антибіотиків, синтез яких вони контролюють. Базуючись на цих даних, було зроблено висновок, що продукти генів tcp28 і tcp29 є позитивними регуляторами продукції тейкопланіну, а маніпуляції з ними можуть впливати на його біосинтез [25].

Таким чином було створено новий штам *A. teichomyceticus* pKC1139Atcp28 із підвищеним синтезом тейкопланіну, що базується на методі генетичної інженерії. Для цього ввели гетерологічний промотор aac(3)IVp перед обома регуляторними генами tei15* і tei16* у реплікативному векторі pKC1139. Дану рекомбінантну ДНК ввели у клітини *A. teichomyceticus*. Таким чином, застосувавши опрацьований підхід, вдалося підняти синтез антибіотика від 100 мг/л до 4 г/л. Деталі культивування продемонстровані у таблиці 2.2. [25].

Узагальнену інформацію про вдосконалені штами-продуценти антибіотику тейкопланіну наведено у табл. 2.1.

Таблиця 2.1.

Вдосконалення штамів-продуцентів тейкопланіну

Штам-продуцент	Вдосконалення штаму	Концентрація тейкопланіну	Література
<i>Actinoplanes teichomyceticus</i> ATCC 31121	Клонування регенерацією міцелію з протопластів	0,5 г/л	Mellere L., Bava A., Capozzoli C. Strain Improvement and Strain Maintenance Revisited. The Use of <i>A. teichomyceticus</i> ATCC 31121 Protoplasts in the Identification of Candidates for Enhanced Teicoplanin Production. 2022, 11, 24. Doi: https://doi.org/10.3390/antibiotics11010024
<i>Actinoplanes teichomyceticus</i> pKC1139Atcp28	Використання генів <i>tei15*</i> і <i>tei16*</i> для надсинтезу	4 г/л	Horbal L., Kobylyanskyu A. The pathway-specific regulatory genes, <i>tei15*</i> and <i>tei16*</i> , are the master switches of teicoplanin production in <i>Actinoplanes teichomyceticus</i> . Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014. doi:10.1007/s00253-014-5969-z
<i>Actinoplanes teichomyceticus</i> S-45	Конструювання сигма-фактору σ^{HrdB}	5,4 г/л	Wang H., Yang L., Wu K. Rational selection and engineering of exogenous principal sigma factor (σ^{HrdB}) to increase teicoplanin production in an industrial strain of <i>Actinoplanes teichomyceticus</i> . Wang et al. Microbial Cell Factories 2014. doi:10.1186/1475-2859-13-10

Порівняння різних штамів-продуцентів тейкопланіну наведено у табл. 2.2, в якій вказано повний склад поживних середовищ, особливості та умови їх культивування.

За даними, наведеними у табл. 2.2. можна зробити висновок, що усі штами-продуценти синтезують приблизно однакову кількість тейкопланіну (4-5 г/л), окрім *A. teichomyceticus* ATCC 31121, що продукував лише 0,5 г/л антибіотика. Проте тривалість культивування штамів, як і склад поживних середовищ є різним. Тому на наступному етапі вибору біологічного агента розрахуємо вартість поживних середовищ для культивування вибраних мікроорганізмів.

Як видно з даних, наведених у табл. 2.3, середовище для культивування *A. teichomyceticus* A8327 є найдорожчим, вартістю майже в 12 грн. Поживне середовище з продуцентом *A. teichomyceticus* pKC1139Atcp28 є трохи дешевшим (9,37 грн). Поживне середовище з продуцентом *A. teichomyceticus* S-45 має вартість 6,8 грн, але досі не є найдешевшим варіантом. Найоптимальнішим поживним середовищем є поживне середовище для

культивування *A. teichomyceticus* NRRL B-16726, вартість якого дорівнює 3,4 грн. А також, порівнюючи тривалість культивування, штам *A. teichomyceticus* NRRL B-16726 показав найнижчий час 70 годин, що є удвічі менше, ніж час культивування усіх інших штамів-продуцентів.

Тому для остаточного вибору найефективнішого біологічного агента розрахуємо умовну вартість 1 г цільового продукту (табл. 2.4). Найкращим варіантом є поживне середовище зі штамом-продуцентом *A. teichomyceticus* S-45, оскільки його умовна вартість антибіотику є майже найнижчою – 1,28 грн/г, а кількість утвореного тейкопланіну за 1 год – найвищою 0,38 г/год. Звичайно, за даними наведеними у таблиці 2.4 зображено, що умовна вартість антибіотику тейкопланіну, синтезованого *A. teichomyceticus* NRRL B-16726, є найнижчою – 0,62 грн/г. Але кількість утвореного тейкопланіну за 1 год є меншою, ніж кількість синтезованого антибіотику усіх інших штамів – 0,08 г/год. Тобто, якщо порівнювати кількість утвореного антибіотику у середовищі для вирощування штаму NRRL B-16726 з середовищем для вирощування штаму S-45, то за однаковий час культивування штам *A. teichomyceticus* NRRL B-16726 синтезує меншу кількість тейкопланіну, ніж штам *A. teichomyceticus* S-45. До того ж, у склад поживного середовища для вирощування штаму NRRL B-16726 входять такі водонерозчинні компоненти, як порошок макухи насіння бавовни та порошок соєвої макухи. Наявність таких водонерозчинних компонентів ускладнює визначення концентрації біомаси, оскільки, наприклад, такі компоненти можуть налипати на стінки ферментера. Тому для майбутніх розрахунків використовуємо середовище для вирощування штаму S-45, оскільки воно є «технологічнішим», ніж середовище для вирощування штаму NRRL B-16726.

Синтез антибіотику тейкопланіну різними штамми *Actinoplanes teichomyceticus*

Біологічний агент	Склад поживного середовища: компоненти	Склад поживного середовища: концентрація (г/л)	Тривалість культивування год	Концентрація антибіотику (г/л)	Особливості процесу біосинтезу	Використана література
<i>Actinoplanes teichomyceticus</i> ATCC 31121	Солодовий екстракт Глюкоза Бавовняне борошно Дріжджовий екстракт	35 12 11 4	96-120	0,5	Культивування в колбах 250 мл, протягом 48 год при 28°C на ротаційному шейкері при 240 об/хв, pH 6.	Mellere L., Bava A., Capozzoli C. Strain Improvement and Strain Maintenance Revisited. Use of <i>A. teichomyceticus</i> ATCC 31121 Protoplasts in the Identification of Candidates for Enhanced Teicoplanin Production. 2022, 11, 24 Doi: https://doi.org/10.3390/antibiotics11010024
<i>Actinoplanes teichomyceticus</i> pKC1139Atcp28	Солодовий екстракт Глюкоза Соевий шрот Дріжджовий екстракт CaCO ₃ [1]	30 10 15 5 4	144-168	4	Культури в колбах інкубували протягом 120-144 годин на ротаційному шейкері при 220 об/хв і 28°C.	Horbal L., Kobylanskyy A., Truman A.W., Zaburranyi N., Ostash B., Luzhetskyy A. The pathway-specific regulatory genes, <i>tei15*</i> and <i>tei16*</i> , are the master switches of teicoplanin production in <i>Actinoplanes teichomyceticus</i> . Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014. doi:10.1007/s00253-014-5969-z
<i>Actinoplanes teichomyceticus</i> A8327	Соевий шрот Розчинний крохмаль Ріпакова олія Глюкоза Пептон CaCO ₃ (NH ₄) ₂ SO ₄ (K ₂ HPO ₄ •3H ₂ O) MgCl ₂	30 20 20 15 8 5 0,5 0,3 0,2	120	4,6	Культивування в колбах 30 °C на шейкері при 230 об/хв протягом 120 годин. pH 7-8.	Patent CN107267581B. Fermentation medium for producing teicoplanin / 张祝兰, 连云阳, 杨煌建. Publ. 2017-10-20.

Закінчення таблиці 2.2.

<i>Actinoplanes teichomyceticus</i> S-45	Кукурудзяне борошно	40	120-140	5,4	Культивування в ферментері при 29° при 220 об/хв. Валін, аргінін та бутанол (кожен по 4мг/л) додали у культуру у 60 год, 60 год і 30 год, відповідно. рН 7.	Wang H., Yang L., Wu K., Li G. Rational selection and engineering of exogenous principal sigma factor (σ^{HrdB}) to increase teicoplanin production in an industrial strain of <i>Actinoplanes teichomyceticus</i> . Wang et al. Microbial Cell Factories 2014. doi:10.1186/1475-2859-13-10
	Глюкоза	20				
	Соєве борошно	6				
	Пептон	2				
	Дріжджовий екстракт	2,5				
	MgSO ₄ · 7H ₂ O	0,3				
	CaCO ₃	3				
	Валін	0,004				
	Аргінін	0,004				
Бутанол	0,004					
<i>Actinoplanes teichomyceticus</i> NRRL B-16726	Кукурудзяний крохмаль	35	70	5,5	Культивування у ферментаторі при 27-29°С. Тиск становить 0,03-0,05 МПа. швидкість перемішування становить 600 об/хв. Під час культивування було додано у середовище 4 г/л п-бутанолу, також 0,4 г/л та 0,2 г/л валінію	Patent CN106854670B. Method for producing teicoplanin and regulating and controlling component content of teicoplanin by fermentation method / 张贵民, 杨西建, 朱兵峰. Publ. 2020-03-10.
	Дріжджовий порошок	22				
	Глюкоза	20				
	Порошок макухи насіння бавовни	10				
	Гліцерол	10				
	Порошок соєвої макухи	6				
	CaCO ₃	4				
	Бутанол	4				
	NaCl	1				
	Валін	0,6				
	KH ₂ PO ₄	0,6				
	MgSO ₄ ·7H ₂ O	0,3				

Примітка. Табл. 2.2 і 2.3: [1] – Taurino, C., Frattini, L., Marcone, G., Gastaldo, L., & Marinelli, F. (2011). *Actinoplanes teichomyceticus* ATCC 31121 as a cell factory for producing teicoplanin. *Microbial Cell Factories*, 10(1), 82. doi:10.1186/1475-2859-10-82

Вартість поживних середовищ для вирощування продуцентів антибіотику тейкопланіну

Продуцент	Компонент поживного середовища	Концентрація у ПС, г/л	Ціна компонента грн/кг	Вартість компонента (грн) на 1 л середовища	Джерело інформації *
<i>Actinoplanes teichomyceticus</i> pKC1139Atcp28	Солодовий екстракт	30	100	3	https://prom.ua/ua/p1350965399-ekstrakt-yachmennogo-soloda.html
	Глюкоза	10	55,80	0,56	https://www.systopt.com.ua/item-glyukoza
	Соевий шрот	15	19	0,285	https://prom.ua/ua/p1558430776-soevyj-shrot-zhmyh.html
	Дріжджовий екстракт	5	1100	5,5	https://prom.ua/ua/p1086437845-ekstrakt-drozhzhej.html
	CaCO ₃ [1]	4	6	0,024	https://flagma.ua/caco3-karbonat-kalciya-99-99-o8778043.html
Вартість 1 л середовища - 9,37 грн					
<i>Actinoplanes teichomyceticus</i> A8327	Соевий шрот	30	19	0,57	https://prom.ua/ua/p1558430776-soevyj-shrot-zhmyh.html
	Розчинний крохмаль	20	22,50	0,45	https://flagma.ua/uk/krokhmal-kartoplanyi-vs-25kh-o4214761.html
	Ріпакова олія	20	100	2	https://www.olx.ua/d/uk/obyavlenie/olya-rpakova-ekstra-klasu-100grn-1l-IDPUCgx.html?sd=1#72203fa4f3;promoted
	Глюкоза	15	55,80	0,84	https://www.systopt.com.ua/item-glyukoza
	Пептон	8	987,22	7,89	https://shop.hlr.ua/pepton-fermentativnyy-pan-gis-12817.html
	CaCO ₃	5	6	0,03	https://flagma.ua/caco3-karbonat-kalciya-99-99-o8778043.html
	(NH ₄) ₂ SO ₄	0,5	42	0,021	https://systopt.ub.ua/goods/view/17153239/all/fosfat-kaliyu-kaliy-fosfornokisliy-dvozamishcheniy/
	(K ₂ HPO ₄ •3H ₂ O)	0,3	156	0,046	https://prom.ua/p953593209-kalij-fosfornokislyj-zameschennyj.html?&primelead=MC40MjU
MgCl ₂	0,2	20	0,004	https://tdchem.com.ua/product/%D1%85%D0%BB%D0%BE%D1%80%D0%B8%D0%B4-%D0%BC%D0%B0%D0%B3%D0%BD%D0%B8%D1%8F/	
Вартість 1 л середовища – 11,8 грн					
<i>Actinoplanes teichomyceticus</i>	Кукурудзяне борошно	40	14	0,56	https://k.agrotorg.net/ru/board/m-379414/prodam-kukuruznyu-muku-ultra-tonkogo-pomola-v-meshka-roznitsa-opt/
	Глюкоза	20	55,80	1,12	https://www.systopt.com.ua/item-glyukoza

S-45	Соєве борошно	6	65	0,39	https://ukrbee.ua/uk/korm-dlya-bdzhil/798-soevaya-muka-podkormka.html
	Пептон	2	987,22	1,97	https://shop.hlr.ua/pepton-fermentativnyy-pan-gis-12817.html
	Дріжджовий екстракт	2,5	1100	2,75	https://prom.ua/ua/p1086437845-ekstrakt-drozhzhej.html
	MgSO ₄ · 7H ₂ O	0,3	14,56	0,004	https://prom.ua/p1300436998-sulfat-magniya-mgso47h2o.html
	CaCO ₃	3	6	0,018	https://flagma.ua/caco3-karbonat-kalciya-99-99-o8778043.html
	Валін	0,004	550	0,0022	https://prom.ua/p181802984-valin.html
	Аргінін	0,004	750	0,003	https://www.covalent.com.ua/ru/shop/arginine-l/
	Бутанол	0,004	39	0,0002	https://soda.kiev.ua/p57018827-butanol.html
Вартість 1 л середовища – 6,8 грн					
<i>Actinoplanes teichomyceticus</i> NRRL B-16726	Кукурудзяний крохмаль	35	17	0,595	https://flagma.ua/krahmal-kukuruzny-o13349506.html
	Дріжджовий порошок	22	14	0,308	https://flagma.ua/uk/ekstrakt-drizhdzhiv-drozhzhevoy-ekstrakt-o11604150.html
	Глюкоза	20	55,80	1,12	https://www.systopt.com.ua/item-glyukoza
	Порошок макухи насіння бавовни	10	12	0,12	https://prom.ua/ua/p1462212567-lnyanoj-zhmyh-makuha.html?&primelead=MC44NQ
	Гліцерол	10	62	0,62	https://prom-pg.com.ua/ua/p1281268677-glitserin-glitserin-sirets.html
	Порошок соєвої макухи	6	18	0,108	https://prom.ua/p1558430776-soevyj-shrot-zhmyh.html
	CaCO ₃	4	6	0,024	https://flagma.ua/caco3-karbonat-kalciya-99-99-o8778043.html
	Бутанол	4 (3,24 г)	39	0,126	https://soda.kiev.ua/p57018827-butanol.html
	NaCl	1	11	0,011	https://kreon-d.com.ua/ua/p1610327967-sol-kamennaya.html
	Валін	0,6	550	0,33	https://prom.ua/p181802984-valin.html
	KH ₂ PO ₄	0,6	58	0,035	https://prom.ua/p1026105573-digidroortofosfat-kaliya.html?&primelead=MC40MjU
	MgSO ₄ ·7H ₂ O	0,3	14,56	0,004	https://prom.ua/p1300436998-sulfat-magniya-mgso47h2o.html
	Вартість 1 л середовища – 3,4 грн				

Примітка. * – Ціни наведено станом на лютий 2023 р.

Таблиця 2.4

Умовна вартість 1 г антибіотику тейкопланіну, синтезованого різними штамами *Actinoplanes teichomyceticus*

Біологічний агент	Концентрація антибіотику, г/л	Тривалість культивування, год	Кількість утвореного антибіотику за годину, г/год	Вартість 1 л середовища, грн/л	Умовна вартість 1г цільового продукту, грн/г
<i>Actinoplanes teichomyceticus</i> pKC1139Atcp28	4	168	0,24	9,38	2,35
<i>Actinoplanes teichomyceticus</i> A8327	4,6	120	0,38	11,8	2,56
<i>Actinoplanes teichomyceticus</i> S-45	5,4	140	0,38	6,8	1,28
<i>Actinoplanes teichomyceticus</i> NRRL B-16726	5,5	70	0,08	3,4	0,62

2.2. Перевірочний розрахунок складу поживного середовища для вирощування *Actinoplanes teichomyceticus* S-45 – продуцента антибіотику тейкопланіну

Концентрація антибіотику - 5,4 г/л [16].

Розрахунок вмісту джерела вуглецевого живлення для синтезу тейкопланіну

Як джерело вуглецю для одержання тейкопланіну використовується глюкоза.

Розрахуємо, скільки вуглецю (за елементом С) міститься в 100 г тейкопланіну. Брутто формула тейкопланіну: $C_{88}H_{97}Cl_2N_9O_{33}$; Молекулярна маса тейкопланіну становить: 1879,658 г/моль.

Отже, у 1879,658 г тейкопланіну міститься 1056 г вуглецю, а в 5,4 г антибіотика – X г вуглецю.

$$X = (1056 \cdot 5,4) / 1879,658 = 2,9775 \approx 2,98 \text{ г вуглецю.}$$

Розрахуємо, в якій кількості глюкози міститься 2,98 г вуглецю:

У 180 г глюкози міститься 72 г вуглецю,

В X г глюкози – 2,98 г вуглецю.

$$X = (180 \cdot 2,98) / 72 = 7,45 \text{ г глюкози.}$$

Враховуючи, що 50% глюкози окиснюється до вуглекислого газу для синтезу АТФ, для утворення 5,4 г/л антибіотику необхідно 14,9 г/л глюкози.

Розрахунок вмісту джерела азотного живлення для синтезу тейкопланіну

Брутто формула тейкопланіну: $C_{88}H_{97}Cl_2N_9O_{33}$; Молекулярна маса тейкопланіну становить: 1879,658 г/моль.

Знаходимо відсотковий склад (масову частку) азоту у молекулі тейкопланіну: $w_n = (14 \cdot 9 \cdot 100) / 1879,658 = 6,7 \%$

Знаючи масову частку азоту у молекулі знаходимо кількість азоту, необхідну для біосинтезу 5,4 г/л: $(5,4 \cdot 6,7) / 100 = 0,4 \text{ г/л}$

З розрахунку необхідної кількості азоту видно, що для синтезу 5,4 г/л продукту необхідно майже 0,4 г/л азоту, а так як джерелом азоту виступають кукурудзяне борошно, дріжджовий екстракт та соєве борошно у кількості 40 г/л, 2,5 г/л і 6 г/л відповідно, необхідно знайти кількість азоту у цих джерелах сумарно.

За специфікацією даних продуктів вміст білка у них становить: кукурудзяне борошно – 10%, дріжджовий екстракт – 50%, соєве борошно – 67% [26–28]. Сумарна кількість білка буде: $40 \cdot 0,1 + 2,5 \cdot 0,5 + 6 \cdot 0,67 = 9,27$ г.

Вміст азоту у білку зазвичай становить 9-15%, для розрахунків беремо 10%. Розраховуємо загальну кількість азоту у середовищі:

$$X_1 = (9,27 \cdot 10) / 100 = 0,9 \text{ г/л}$$

Цієї кількості азоту достатньо для синтезу антибіотика.

Разом з тим, і вуглець, і азот у середовищі культивування витрачаються також і на синтез біомаси. Оскільки в статті [16] не вказана концентрація біомаси, то ми розрахуємо її теоретично, знаючи концентрацію азоту в середовищі культивування.

Теоретичний розрахунок концентрації біомаси

Загальна кількість азоту у середовищі 0,9 г/л, а для синтезу антибіотика необхідно 0,4 г/л азоту. Різницею цих даних ми знайдемо кількість азоту, яка залишилась після синтезу антибіотика:

$$n = 0,9 - 0,4 = 0,5 \text{ г/л}$$

Приймаємо вміст азоту в біомасі 10%, отже з 0,5 г/л азоту може утворитися 5 г/л біомаси.

Розрахунок вмісту джерела вуглецю для синтезу біомаси

У біомасі міститься 50 % вуглецю, отже вміст вуглецю у 5 г/л біомаси:

$$x = 5 \cdot 0,5 = 2,5 \text{ г/л}$$

Розрахуємо, в якій кількості глюкози міститься 2,5 г вуглецю:

У 180 г глюкози міститься 72 г вуглецю,

В X г глюкози – 2,5 г вуглецю

$$X = (180 \cdot 2,5)/72 = 6,25 \text{ г/л глюкози.}$$

Враховуючи, що 50 % глюкози окиснюється до вуглекислого газу для синтезу АТФ, для утворення 5 г/л біомаси необхідно 12,5 г/л глюкози.

Отже, для синтезу 5,4 г/л антибіотика і 5 г/л біомаси необхідно $14,9 + 12,5 = 27,4$ г/л глюкози.

Висновок: У статті [16] вказано, що у середовищі для вирощування *A. teichomyceticus* S-45 20 г/л глюкози, а за результатами розрахунків вийшло, що потрібно 27,4 г/л глюкози. Тобто глюкози у середовищі недостатньо для синтезу антибіотика та біомаси, але глюкоза не єдине джерело вуглецю у середовищі. До складу середовища входять соєве та кукурудзяне борошно. Соєве борошно є багатим джерелом азотистих речовин, особливо білків, але окрім цього у ньому міститься 5-10% сахарози. Кукурудзяне борошно містить 67-70 % крохмалю, який під час катаболізму розщеплюється амілазами до глюкози і мальтози. Можна зробити висновок, що вуглецю у середовищі вистачить, оскільки джерелом вуглецю окрім глюкози ще можуть бути соєве та кукурудзяне борошно [29].

Інші компоненти середовища:

До складу поживного середовища також входять пептон, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, CaCO_3 , які слугують для синтезу усіх інших необхідних для мікроорганізму та його продукту органічних та мінеральних речовин.

РОЗДІЛ 3

ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБГРУНТУВАННЯ

3.1. Потреба населення України в тейкопланіні

Тейкопланін - це глікопептидний антибіотик, який використовується для лікування бактеріальних інфекцій, викликаних грампозитивними бактеріями (включаючи штами, резистентні до метициліну та цефалоспоринів). Через підвищений ризик серйозних побічних ефектів цей препарат слід застосовувати з обережністю пацієнтам із захворюванням нирок. Антибіотик допомагає вбивати бактерії, не даючи їм утворити захисну оболонку, необхідну для їх виживання [15].

Препарати з тейкопланіном застосовуються для лікування таких хвороб, як: інфекції шкіри та м'яких тканин, інфекції верхніх і нижніх сечових шляхів з ускладненнями та без них, інфекції дихальних шляхів, інфекції вуха, горла, носа, інфекції кісток і суглобів; септичний артрит, сепсис, остеомієліт, ендокардит, перитоніт [16].

Приймати даний препарат можна дорослим пацієнтам, дітям віком від 2 місяців та пацієнтам літнього віку з нормальною функцією нирок.

Лікування дорослим для інфекції дихальних шляхів, інфекції шкіри та м'яких тканин, сечового тракту, вуха, горла, носа та інших інфекції середнього ступеня тяжкості: навантажувальна доза – 400 мг/добу (що зазвичай становить 6 мг/кг/добу) у вигляді 1 внутрішньовенної ін'єкції (в перший день); підтримуюча терапія: 200 мг/добу (що зазвичай становить 3 мг/кг/добу) у вигляді 1 внутрішньовенної ін'єкції на добу [17].

Дозування для дітей від 2 місяців до 12 років: доза навантаження – 10

<i>НУХТ БТЕК 04.01.04 КР ПЗ</i>				
Змн.	Арк.	№ документа	Підпис	Дата
Розроб.		<i>Золотар О.С.</i>		
Перевір.		<i>Пирог Т.П.</i>		
Консультант				
Н. контр.				
Затверд.		<i>Стабніков В.П.</i>		
РОЗДІЛ 3. ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБГРУНТУВАННЯ				
		Літера	Аркуш	Аркушів
			31	125
Кафедра БТМ				

мг/кг маси тіла, що вводиться внутрішньовенно кожні 12 годин, загальною кількістю 3 введення; доза, що підтримує – 6-10 мг/кг маси тіла, що вводиться внутрішньовенно 1 раз на добу. Рекомендації щодо дозування для дітей віком від 12 років такі ж, як у дорослих [17].

Тривалість терапії не більше 7 днів, з обов'язковою корекцією дози: спочатку застосовують навантажувальну дозу, потім – підтримувальну. Тривалість терапії визначають на основі клінічної відповіді і визначати її може тільки лікар. Зважаючи на дані клінічного спостереження, тривалість терапії може бути подовжена. Тривалість терапії не повинна перевищувати 2 місяці.

За статистичними даними ДУ «Центр громадського здоров'я МОЗ України» у звітності про мережу та діяльність медичних закладів на території України за 2022 рік до лікарської установи надійшло(поступило) з хворобами шкіри та м'яких тканин 0,7 млн осіб, з захворюваннями органів дихання – 1,5 млн осіб, з інфекціями кісток та суглобів – 0,5 млн осіб. Препарати з тейкопланіном частіше призначають для лікування хвороб шкіри, а також, враховуючи наведені вище показники, для подальших розрахунків будуть використовуватись показники захворюваності шкіри та підшкірної клітковини [18].

Згідно даних, що було продемонстровано вище, робимо фокус на лікуванні хвороб шкіри та м'яких тканин, для яких розрахунок річної потреби антибіотику наведено у табл. 3.1.

За розрахунками Державної служби статистики України на 1 січня 2022 року відсоток дітей до 12 років становив 14,2% [19]. Таким чином, знаходимо кількість хворих дітей від 2 місяців до 12 років з хворобами шкіри та м'яких тканин за 2022 рік:

$$721119 - 100\%; \quad X = 102399 - \text{кількість хворих дітей.}$$

$$X - 14,2\%;$$

Для знаходження кількості хворих дорослих, від загальної кількості хворих віднімаємо кількість хворих дітей:

$$Y = 721119 - 102399 = 618720 - \text{кількість хворих дорослих.}$$

Вихідні дані для розрахунку річної потреби в тейкопланіні

Група пацієнтів	Вид дозування	Доза препарату на добу, ін'єкцій	Вміст тейкопланіну в дозі препарату на добу, мг	Тривалість прийому, днів	Кількість тейкопланіну на 1 людину, г	Кількість хворих в Україні на 2022 рік, млн. осіб	Загальна кількість тейкопланіну на всіх хворих, кг
Дорослі та діти від 12 років з масою тіла від 45 кг	Підтримувальна доза	1	200	7	4	0,618720	2475
	Навантажувальна доза	1	400				
Діти від 2 місяців до 12 років з масою тіла від 5 до 45 кг	Підтримувальна доза	1	400	7	6	0,102399	614
	Навантажувальна доза	2	600				
Всього:							3089

3.2. Розрахунок потужності виробництва тейкопланіну

Згідно з Державним реєстром лікарських засобів [20], більшу половину препаратів тейкопланіну на ринку України є імпортованими, їх частка становить 67%. Єдиним препаратом українського виробництва є Тейкопланін-Фармекс (ТОВ «Фармекс Груп»).

Згідно з попередніми розрахунками (див. п.3.1), потреба у тейкопланіні для лікування хвороб шкіри та м'яких тканин становить 3089 кг.

З урахуванням того, що на ринку України стабільно присутні перевірені імпортовані препарати з тейкопланіном і той факт, що в Україні лише одне підприємство випускає подібний препарат, пропонуємо виробляти тейкопланін для задоволення 15% від загальної потреби. Отже, вироблятимемо тейкопланін в кількості: $G_{\text{гп}} = 3089 \cdot 15 / 100 = 463,35$ кг/рік.

Обраний біологічний агент *Actinoplanes teichomyceticus* S-45 синтезує антибіотик у концентрації 5,4 г/л (кг/м³). Об'єм культуральної рідини, необхідної для отримання 463,35 кг тейкопланіну, становить:

$$\begin{array}{l} 5,4 \text{ кг} - 1 \text{ м}^3 \\ 463,35 \text{ кг} - X \end{array} \quad X = 85,8 = 86 \text{ м}^3$$

З урахуванням втрат цільового продукту при виділенні (40%), необхідно отримати таку кількість культуральної рідини: $V_{\text{кр}} = 86 \cdot 1,4 = 120,4$ м³

3.3. Розрахунок кількості виробничих циклів і геометричного об'єму ферментера для біосинтезу тейкопланіну

Для забезпечення річної потреби у тейкопланіні (згідно п.3.2) потрібно отримати (з урахуванням втрат під час виділення) 120,4 м³ культуральної рідини.

Розрахуємо, скільки культуральної рідини потрібно отримати за цикл ферментації, щоб розрахувати кількість стадій приготування посівного матеріалу. Приймаємо кількість трудоднів – 330, тоді об'єм культуральної рідини за добу становить: $V_{\text{д}} = V_{\text{гп}} / T_{\text{тр}} = 120,4 / 330 = 0,36 \approx 0,4$ м³

Кількість продукту за цикл буде становити: $V_{\text{цк}} = (K_1 * V_d * T_{\text{цф}}) / 24 = (1,1 * 0,4 * 128,5) / 24 = 2,35 \approx 2,4 \text{ м}^3 / \text{цикл}$,

де $T_{\text{цф}}$ – цикл роботи ферментера, який включає тривалість виробничого біосинтезу (120 год) та час підготовки ферментера до роботи (8,5 год). K_1 – коефіцієнт запасу, що враховує можливість нестерильних операцій ($K_1 = 1,1 - 1,5$).

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

Визначивши об'єм КР за один цикл і знаючи коефіцієнт заповнення K_3 , визначаємо геометричний об'єм ферментера:

$$V_r = V_{\text{цк}} / K_3 = 2,4 / 0,5 = 4,8 \text{ м}^3$$

Згідно з таблицею, найближчим за геометричним об'ємом є ферментер $V_{\text{ф}} = 5 \text{ м}^3$.

Уточнюємо коефіцієнт заповнення:

$$K_3 = 2,4 / 5 = 0,48 - \text{не перевищує заданого значення.}$$

3.4. Розрахунок кількості стадій підготовки посівного матеріалу для біосинтезу тейкопланіну *Actinoplanes teichomyceticus* S-45

За один виробничий цикл отримують $2,4 \text{ м}^3$ культуральної рідини. При одержанні культуральної рідини потрібно врахувати її втрати в результаті краплевиносу через колектор відпрацьованого повітря ($E_{\text{ф}}$), які становлять від 10-15%.

Отже, з урахуванням покриття 10% втрат об'єм поживного середовища та посівного матеріалу перед виробничим біосинтезом має становити:

$$V_{\text{роб.1}} = V_{\text{кр}} \cdot (1 + E_{\text{ф}}) = 2,4 \cdot 1,1 = 2,64 \text{ м}^3,$$

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

Робочий об'єм ферментера дорівнює $2,64 \text{ м}^3$. За вибраного коефіцієнта заповнення 0,5 геометричний об'єм ферментера становить: $V_{\text{ф}} = 2,64 / 0,5 =$

5,28 м³. Приймаємо найближчий за об'ємом стандартний ферментер $V_{ст1} = 5$ м³.

Уточнюємо коефіцієнт заповнення: $K_{з1} = 2,64/5 = 0,528$. Геометричний об'єм ферментера було обрано правильно, оскільки уточнений коефіцієнт заповнення перебуває у вибраних для аеробних процесів межах (0,5-0,65).

Кількість посівного матеріалу для ферментера становить 10 % від об'єму поживного середовища.

Для засіву $V_{роб.1} = 2,64$ м³ середовища необхідно приготувати

$$V_{пм1} = V_{роб.1} \cdot X_{\phi} = 2,64 \cdot 0,1 = 0,264 \text{ м}^3 \text{ посівного матеріалу,}$$

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

Тоді об'єм поживного середовища в ферментері буде становити:

$$V_{пс1} = V_{роб.1} - V_{пм1} = 2,64 - 0,264 = 2,376 \text{ м}^3 \approx 2,4 \text{ м}^3,$$

Врахуємо, що під час одержання 0,264 м³ інокуляту в посівному апараті 10% культуральної рідини буде втрачено внаслідок краплевиносу через колектор відпрацьованого повітря. З урахуванням цього об'єм поживного середовища та посівного матеріалу в посівному апараті становитиме:

$$V_{роб.2} = V_{пм1} \cdot (1 + E_{\phi}) = 0,264 \cdot 1,1 \approx 0,29 \text{ м}^3$$

Об'єм інокуляту 0,29 м³ за коефіцієнта заповнення 0,5 можна отримати в посівному апараті об'ємом: $V_{па2} = 0,29/0,5 = 0,58$ м³. Приймаємо найближчий за об'ємом стандартний ферментер $V_{ст2} = 0,63$ м³.

Уточнюємо коефіцієнт заповнення: $K_{з2} = 0,29/0,63 = 0,46 \approx 0,5$. Уточнений коефіцієнт заповнення перебуває у вибраних межах для аеробних процесів (0,5-0,65), отже геометричний об'єм посівного апарату обрано правильно.

Кількість посівного матеріалу для посівного апарата становить 10% від об'єму поживного середовища. Отже, для засіву $V_{роб.2} = 0,29$ м³ необхідно приготувати

$$V_{пм2} = V_{роб.2} \cdot X_{\phi} = 0,29 \cdot 0,1 = 0,029 \text{ м}^3 \approx 0,03 \text{ м}^3 \text{ посівного матеріалу,}$$

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

Тоді об'єм поживного середовища в посівному апараті буде становити:

$$V_{\text{пс2}} = V_{\text{роб.2}} - V_{\text{пм2}} = 0,29 - 0,03 = 0,26 \text{ м}^3$$

Врахуємо, що під час одержання $0,03 \text{ м}^3$ (30 л) посівного матеріалу в інокуляторі 10 % культуральної рідини буде втрачено внаслідок краплевиносу через колектор відпрацьованого повітря. Тоді об'єм поживного середовища та посівного матеріалу в посівному апараті становитиме:

$$V_{\text{роб.3}} = V_{\text{пм2}} \cdot (1 + E_{\phi}) = 0,03 \cdot 1,1 = 0,033 \text{ м}^3 \approx 33 \text{ л}$$

Об'єм інокуляту $0,033 \text{ м}^3$ за коефіцієнта заповнення 0,5 можна отримати в посівному апараті об'ємом: $V_{\text{па3}} = 0,033 / 0,5 = 0,066 \text{ м}^3 = 66 \text{ л}$. Приймаємо найближчий за об'ємом стандартний ферментер $V_{\text{ст3}} = 63 \text{ л}$.

Уточнюємо коефіцієнт заповнення: $K_{3,3} = 0,033 / 0,06 = 0,55$. Уточнений коефіцієнт заповнення перебуває у вибраних межах, отже геометричний об'єм посівного апарату обрано правильно.

Кількість посівного матеріалу становить 10% від об'єму поживного середовища. Для засіву поживного середовища об'ємом 33 л необхідно:

$$V_{\text{пм3}} = V_{\text{роб.3}} \cdot X_{\phi} = 0,033 \cdot 0,1 = 3,3 \text{ л посівного матеріалу}$$

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

Тоді об'єм поживного середовища в посівному апараті буде становити:

$$V_{\text{пс3}} = V_{\text{роб.3}} - V_{\text{пм3}} = 33 - 3,3 = 29,7 \text{ л}$$

Врахуємо, що під час одержання 3,3 л посівного матеріалу в інокуляторі 10% культуральної рідини буде втрачено внаслідок краплевиносу через колектор відпрацьованого повітря. Тоді об'єм поживного середовища та посівного матеріалу в інокуляторі становитиме:

$$V_{\text{роб.4}} = V_{\text{пм3}} \cdot (1 + E_{\phi}) = 3,3 \cdot 1,1 = 3,63 \text{ л}$$

Об'єм інокуляту 3,63 л за коефіцієнта заповнення 0,5 можна отримати в інокуляторі об'ємом: $V_{\text{ін2}} = 3,63 / 0,5 = 7,26 \text{ л}$. Обираємо інокулятор об'ємом $V_{\text{ст4}} = 6 \text{ л}$.

Уточнюємо коефіцієнт заповнення: $K_{3,4} = 3,63 / 6 = 0,605$. Уточнений коефіцієнт заповнення перебуває у вибраних межах, отже геометричний об'єм інокулятора обрано правильно.

Кількість посівного матеріалу становить 10% від об'єму поживного середовища. Для засіву інокулятора необхідно підготувати

$$V_{\text{пм4}} = V_{\text{роб.4}} \cdot X_{\text{ф}} = 3,63 \cdot 0,1 = 0,363 \text{ л} \approx 0,4 \text{ л}$$

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

Тоді об'єм поживного середовища в інокуляторі буде становити:

$$V_{\text{пс4}} = V_{\text{роб.4}} - V_{\text{пм4}} = 3,63 - 0,4 = 3,23 \text{ л}$$

Одержання посівного матеріалу $V_{\text{пм4}} = 0,4$ л (400 мл) для засіву інокулятора можна здійснити культивуванням актинобактерій у колбах на качалці. Для цього використовують качалочні колби об'ємом $V_{\text{колб}} = 750$ мл з коефіцієнтом заповнення $K_{\text{зк}} = 0,2$.

Тоді кількість колб становить:

$$N_{\text{колб}} = V_{\text{пм4}} / (V_{\text{колб}} \cdot K_{\text{зк}}) = 400 / (750 \cdot 0,2) = 3 \text{ колби}$$

$$V_{\text{роб.5}} = V_{\text{пм4}} \cdot (1 + E_{\text{ф}}) = 0,4 \cdot 1,1 = 0,44 \text{ л}$$

$$V_{\text{пм5}} = V_{\text{роб.5}} \cdot X_{\text{ф}} = 0,44 \cdot 0,1 = 0,044 \text{ л}$$

$$V_{\text{пс5}} = V_{\text{роб.5}} - V_{\text{пм5}} = 0,44 - 0,044 = 0,396 \text{ л}$$

Отже, за результатами розрахунків для біосинтезу антибіотику тейкопланіну актинобактеріями *Actinoplanes teichomyceticus* S-45 необхідно встановити ферментер для біосинтезу об'ємом 5 м^3 , інокулятор об'ємом $0,63 \text{ м}^3$, інокулятори по 63 та 6 л та 3 качалочні колби.

Об'єми середовищ та апаратів для стадії підготовки посівного матеріалу та виробничого біосинтезу

№ стадії	Об'єм культуральної рідини $V_{кр}$, м ³ (л)	Уточнений об'єм культуральної рідини* $V_{роб.}$, м ³ (л)	Об'єм посівного матеріалу, $V_{пм}$, м ³ (л)	Об'єм поживного середовища, $V_{пс}$, м ³ (л)	Коефіцієнт заповнення, $K_{зап}$, частка	Геометричний об'єм ферментера, $V_{ст}$, м ³ (л)
V	2,4 **	2,64	0,264	2,4	0,5	5
IV	0,264	0,29	0,03	0,26	0,5	0,63
III	0,03	0,033 (33 л)	3,3 (л)	29,7 (л)	0,5	63 (л)
II	3,3 (л)	3,63 (л)	0,4 (л)	3,23 (л)	0,5	6 (л)
I	0,4	0,44 (л)	0,044 (л)	0,396 (л)	0,2	3 колби

* З урахуванням $E_{ф}$

** Об'єм КР за один виробничий цикл, значення розраховано у п.1.3

РОЗДІЛ 4.

БІОСИНТЕЗ ЦІЛЬОВОГО ПРОДУКТУ

4.1 Шляхи катаболізму ростового субстрату у біологічного агента

Ростовим субстратом для біосинтезу тейкопланіну за допомогою *Actinoplanes teichomyceticus* S-45 є – глюкоза.

Так як у Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) [1] відсутня інформація про шляхи катаболізму ростового субстрату у штаму *A. teichomyceticus* S-45, тому було обрано іншого близькоспорідненого представника роду *Actinoplanes* з родини *Micromonosporaceae*, а саме *Actinoplanes missouriensis* 431, інформація щодо катаболізму якого наявна у базі даних KEGG [1].

Базуючись на даних з KEGG перетворення глюкози відбувається за гліколізом (шлях Ембдена-Меєргофа-Парнаса), схему перетворення якого зображено на Рис.1. Оригінальну схему перетворення зображено у Додаток 1.

За допомогою гексокінази (КФ 2.7.1.1.) глюкоза перетворюється на глюкозо-6-фосфат, де остання за дії глюкозо-6-фосфат ізомеразі (КФ 5.3.1.9) перетворюється на β -D-фруктозу-6-фосфат. Далі β -D-фруктозо-6-фосфат за участі фосфофруктокінази (КФ 2.7.1.11) перетворюється на β -D-фруктозу-1,6-дифосфат. Далі фруктозодифосфат альдолаза (КФ 4.1.2.13.) активує перетворення β -D-фруктозо-1,6-дифосфат на гліцеральдегід-3-фосфат та діоксиацетонфосфат. Під дією тріозофосфатізомеразі (КФ 5.3.1.1) діоксиацетонфосфат перетворюється на гліцеральдегід-3-фосфат. Гліцеральдегід-3-фосфат за допомогою гліцеральдегід-3-фосфат дегідрогенази (КФ 1.2.1.12.) перетворюється на 1,3-дифосфогліцерат, на який діє фосфогліцерат кіназа (КФ 2.7.2.3.) і утворюється 3-фосфогліцерат. Далі залучається фосфогліцерат-фосфомутаза (КФ 5.4.2.11.), яка провокує перетворення 3-фосфогліцерату на

НУХТ БТЕК 04.01.4 КР ПЗ

Змн.	Арк.	№ документа	Підпис	Дата				
Розроб.		<i>Золотар О.С.</i>			РОЗДІЛ 4. БІОСИНТЕЗ ЦІЛЬОВОГО ПРОДУКТУ	Літера	Аркуш	Аркушів
Перевір.		<i>Пирог Т.П.</i>					40	125
Консультант						Кафедра БТМ		
Н. контр.								
Затверд.		<i>Стабніков В.П.</i>						

2-фосфогліцерат. У свою чергу 2-фосфогліцерат під дією енолази (КФ 4.2.1.11.) переходить у фосфоенолпіруват. Кінцевою стадією перетворення є утворення пірувату з фосфоенолпірувату під дією піруваткінази (КФ 2.7.1.40).

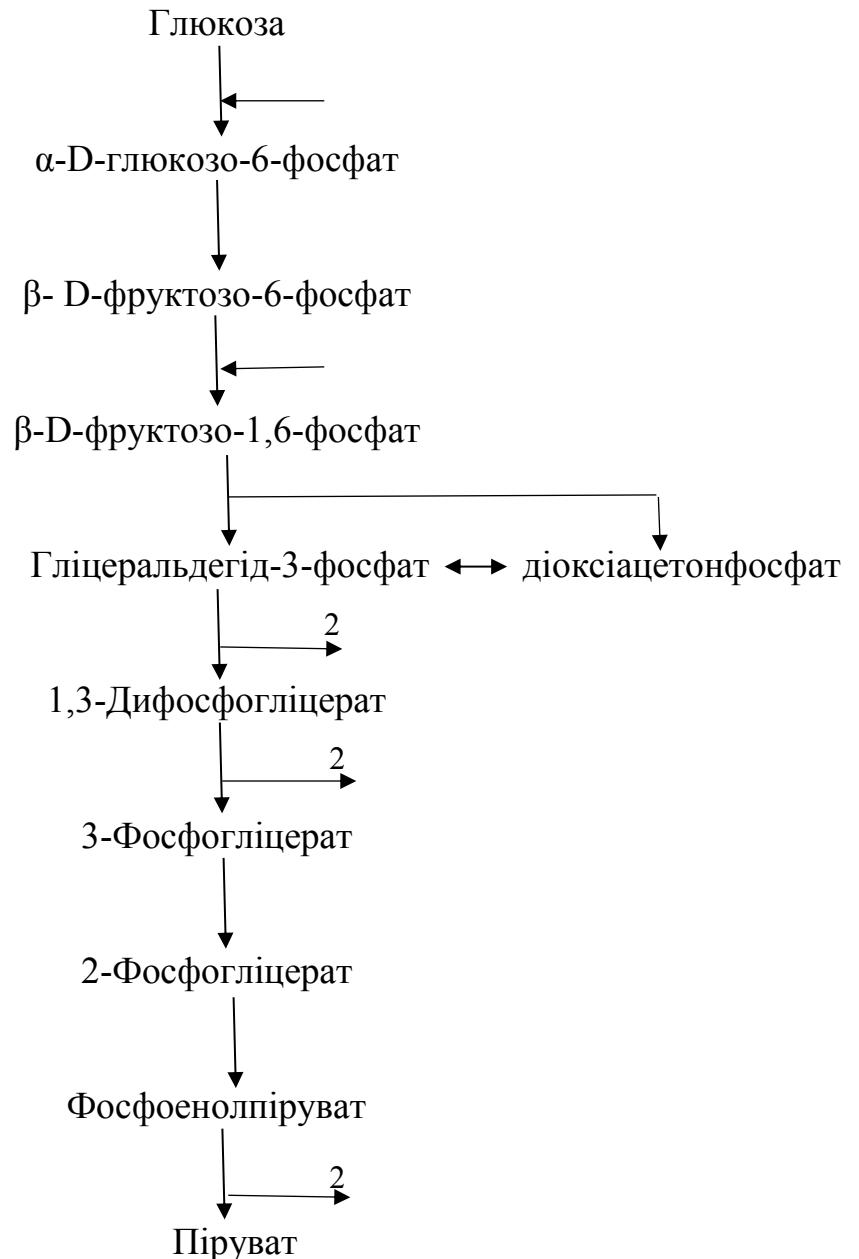


Рис 4.1. Катаболізм глюкози. Шлях Ембдена-Месейргофа-Парнаса

Ферменти: 1 – гексокіназа (КФ 2.7.1.1.); 2 - глюкозо-6-фосфат ізомераза (КФ 5.3.1.9); 3 - фосфоглюкокіназа (КФ 2.7.1.11); 4 - фруктозодифосфат альдолаза (КФ 4.1.2.13.); 5 - тріозофосфатізомераза (КФ 5.3.1.1); 6 - гліцеральдегід-3-фосфат дегідрогеназа (КФ 1.2.1.12.); 7 - фосфогліцерат

кіназа (КФ 2.7.2.3.); 8 - фосфогліцерат-фосфомутаза (КФ 5.4.2.11.); 9 - енолаза (КФ 4.2.1.11.); 10 - піруваткіназа (КФ 2.7.1.40).

4.2 Біотрансформація ростового субстрату у цільовий продукт

Тейкопланін – це глікопептидний антибіотик, що продукується *A. teichomyceticus* ATCC 31121, активний проти аеробних і анаеробних грампозитивних бактерій. Використовується для профілактики та лікування серйозних інфекцій, викликаних грампозитивними бактеріями, включаючи метицилінрезистентний *Staphylococcus aureus* і *Enterococcus faecalis* [2].

Тейкопланін є комплексом речовин, п'ять основних компонентів мають назву тейкопланін від A₂-1 до A₂-5 (T-A₂-1, T-A₂-2, T-A₂-3, T-A₂-4, T-A₂-5), чотири другорядні компоненти - тейкопланін від R_S-1 до R_S-4. Також є ще один компонент T-A₃-1, його назвали гідролізічним компонентом, тому що ця сполука є продуктом деградації (гідролізу) групи T-A₂. А також T-A₃-1 являє собою зливу кільцеву структуру, до якої приєднані два вуглеводи (маноза та N-ацетилглюкозамін) [2].

Глікопептидні антибіотики характеризуються пептидною основою, що складається з семи амінокислот, з'єднаних шістьма пептидними зв'язками. Цю базову структуру називають агліконом. Аглікон тейкопланіну складається з p-гідроксифенілгліцину в положеннях 1, 4 і 5; m-хлортирозин в положенні 2; m,m-дигідроксифенілгліцин в положенні 3 і 7; і m-хлор-b-гідрокситирозин у положенні 6. N-Ацил-b-D-глюкозамін, N-ацетил-b-D-глюкозамін і a-D-маноза пов'язані з агліконом у положеннях 4, 6 і 7 відповідно [2].

Як вже було встановлено раніше ростовим субстратом для біосинтезу тейкопланіну є глюкоза.

Було встановлено, що внаслідок катаболізму глюкози шляхом Ембдена-Меейргофа-Парнаса утворюється піруват, що за допомогою піруват-дегідрогенази перетворюється на ацетил-КоА. Далі ацетил-КоА залучається до циклу трикарбонових кислот (ЦТК).

Анаплеротичними реакціями, які забезпечують поповнення втрат інтермедіатів ЦТК – попередників біосинтезу амінокислот, при рості на глюкозі є реакції карбоксилювання фосфоенолпірувату та пірувату з утворенням оксалоацетату, які каналізують ферменти фосфоенолпіруват-карбоксилаза (КФ 4.1.1.32.) та піруваткарбоксилаза (КФ 6.4.1.1.).

Глюкозо-6-фосфат залучається до пентозофосфатного циклу, в якому утворюються попередники ароматичних амінокислот – фосфорибозил-пірофосфат (попередник гістидину) і еритрозо-4-фосфат. Еритрозо-4-фосфат разом з фосфоенолпіруватом є попередниками фенілаланіну, тирозину та триптофану. 3-Фосфогліцерат є попередником серину, гліцину і цистеїну. А попередником аланіну, валіну і лейцину є піруват.

Кінцевий продукт – тейкопланін. Для синтезу тейкопланіну потрібні: 4-гідроксифенілгліцин, 3,5-дигідроксифенілгліцин, гідроксихлортирозин, 3-хлортирозин, маноза та ацетилглюкозамін. Утворення кожної речовини, що утворює аглікон тейкопланіну, розглянемо окремо.

Хлортирозин утворюється за допомогою ферменту мієлопероксидаза (КФ 1.11.2.2.). Система мієлопероксидаза- H_2O_2 - Cl^2 окислює тирозин з утворенням 3-хлортироzinу [4]. Рівняння реакції перетворення зображено у Додаток 2.

Для утворення хлоро- β -гідрокситирозину сприяють монооксигеназа(КФ 1.14.14.36.) та хлорування [5].

Шляхом ізомеризації глюкози за участі ксилозоізомерази (КФ 5.3.1.5.), та ізомеризації фруктози за участі манозоізомерази (КФ 5.3.1.7.), утворюється маноза. Утворення манози зображено у Додаток 3.

Маноза також необхідна для утворення N-ацетил-D-глюкозаміну. За допомогою манокінази(КФ 2.7.1.7.) маноза перетворюється на манозо-6-фосфат, яка ізомеризується у фруктозо-6-фосфат. Фруктозо-6-фосфат при фруктозо-6-фосфаттрансмiназі(КФ 2.6.1.16.) перетворюється на глюкозамін-6-фосфат. Яка у свою чергу під дією глюкозамінкінази(КФ 2.7.1.8.) стає глюкозаміном. Кінцевою стадією перетворення є утворення N-ацетил-D-

глюкозаміну з глюкозаміну під дією глюкозамін N-ацетилтрансфераза (КФ 2.3.1.3.). Утворення N-ацетил-D-глюкозаміну продемонстровано у Додаток 4.

Ферментативна дія ацетил-КоА карбоксилаза (КФ 6.4.1.2.) на ацетил-КоА зумовлює її перетворення на малоніл-КоА, який під дією 3,5-дигідроксифенілацетил-КоА-синтаза (КФ 2.3.1.246.) перетворюється на 3,5-дигідроксифенілацетил-КоА. Далі з 3,5-дигідроксифенілацетил-КоА утворюється 3,5-дигідроксифенілгліоксилат за допомогою (3,5-дигідроксифеніл)ацетил-КоА 1,2-діоксигеназа (КФ 1.13.11.80.). Під дією 3,5-дигідроксифенілгліцин трансаміназа (КФ 2.6.1.103.) з 3,5-дигідроксифенілгліоксилат створюється 3,5-дигідроксифенілгліцин.

Еритрозо-4-фосфат з пентозофосфатного циклу та фосфоенолпіруват з гліколізу за участі 3-дезоксидеокси-7-фосфогептулатсинтаза (КФ 2.5.1.54.) формується 2-дегідроз-3-деокси-арабіногептонат, який з 3-дегідрохінатсинтаза (КФ 4.2.3.4.) перетворюється на 3-дегідрохінат. Далі 3-дегідрохінатгідротаза (КФ 4.2.1.10.) активує перетворення на 3-дегідрохікімат, що у свою чергу перетворюється на шікімат при підтримці шікіматдегідрогенази (КФ 1.1.1.282.). Ферментативна дія хоризматсинтази (КФ 4.3.2.5.) спонукає перетворення хоризмату з шікімату, який за допомоги хоризматмутази утворює префенат. Після чого з префенату утворюється 4-гідроксифенілпіруват при префенатдегідрогеназі (КФ 1.3.1.12.). Під дією 4-гідроксиманделат синтаза (КФ 1.13.11.46.) 4-гідроксифенілпіруват переходить у 4-гідроксиманделат. Потім 4-гідроксиманделат піддається дії 4-гідроксиманделатоксидаза (КФ 1.1.3.46.) і утворюється 4-гідроксибензоїлформат. 3,5-дигідроксифенілгліцин трансаміназа (КФ 2.6.1.103.) активує перетворення 4-гідроксибензоїлформат на 4-гідроксифенілгліцин, який є останнім елементом для утворення аглікону антибіотику тейкопланіну.

Ферменти: 1 – гексокіназа (КФ 2.7.1.1.); 2 - глюкозо-6-фосфат ізомераза (КФ 5.3.1.9); 3 - фосфофруктокіназа (КФ 2.7.1.11); 4 - фруктозодифосфат альдолаза (КФ 4.1.2.13.); 5 - тріозофосфатізомераза (КФ 5.3.1.1); 6 - гліцеральдегід-3-фосфатдегідрогеназа (КФ 1.2.1.12.); 7 - фосфогліцераткіназа (КФ 2.7.2.3.); 8 - фосфогліцерат-фосфомутаза (КФ 5.4.2.11.); 9 - енолаза (КФ 4.2.1.11.); 10 - піруваткіназа (КФ 2.7.1.40.); 11 – піруватдегідрогеназа (КФ 1.2.4.1.); 12 – цитратсинтаза (КФ 2.3.3.1.); 13 – аконітатгідротаза (КФ 4.2.1.3.); 14 – ізоцитратдегідрогеназа (КФ 1.1.1.42.); 15 – оксоглутаратдегідрогеназа (КФ 1.2.4.2.); 16 – сукциніл-КоА синтетаза (КФ 6.2.1.5.); 17 – сукцинат дегідрогеназа (КФ 1.3.5.1.); 18 – фумаратгідротаза (КФ 4.2.1.2.); 19 – малат дегідрогеназа (КФ 1.1.1.37.); 20 - мієлопероксидаза (КФ 1.11.2.2.); 21 – тирозин монооксигеназа (гідроксилаза) (КФ 1.14.14.36.); 22 - 3-дезоксигептулоноатсинтаза (КФ 2.5.1.54.); 23 – 3-дегідрохінатсинтаза (КФ 4.2.3.4.); 24 - 3-дегідрохінатгідротаза (КФ 4.2.1.10.); 25 – хінат/шикіматдегідрогеназа (КФ 1.1.1.282.); 26 – хоризматсинтаза (КФ 4.3.2.5.); 27 – хоризматмутаза (КФ 5.4.99.5.); 28 – префенатдегідрогеназа (КФ 1.3.1.12.); 29 - 4-гідроксиманделат синтаза (КФ 1.13.11.46.); 30 – 4-гідроксиманделатоксидаза (КФ 1.1.3.46.); 31 - 3,5-дигідроксифенілгліцин трансаміназа (КФ 2.6.1.103.); 32 – ксилосо ізомераза (КФ 5.3.1.5.); 33 – маноза ізомераза (КФ 5.3.1.7.); 34 – манокіназа (КФ 2.7.1.7.); 35 – манозо-6-фосфатізомераза (КФ 5.3.1.8.); 36 – фруктозо-6-фосфат трансаміназа (КФ 2.6.1.16.); 37 – глюкозамінкіназа (КФ 2.7.1.8.); 38 – глюкозамін N-ацетилтрансфераза (КФ 2.3.1.3.); 39 – ацетил-КоА карбоксилаза (КФ 6.4.1.2.); 40 - 3,5-дигідроксифенілацетил-КоА-синтаза (КФ 2.3.1.246.); 41 - (3,5-дигідроксифеніл)ацетил-КоА 1,2-діоксигеназа (КФ 1.13.11.80.); 42 - 3,5-дигідроксифенілгліцин трансаміназа (КФ 2.6.1.103.).

РОЗДІЛ 5.

ОБГРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ

Процес біосинтезу антибіотиків відбувається за умов глибинного культивування продуцента у ферментаторах, що оснащені барботерами, через які подається стерильне повітря, а також присутні мішалки (пропелерні, турбінні та ін.). Для біосинтезу антибіотиків використовують апарати об'ємом 50, 100 м³ і більше. Стерилізація відбувається перегрітою парою. Стерилізація повітря виконується за допомогою спеціальних фільтрів, які заповнені скляною ватою або активованим вугіллям. Негативний вплив на синтез антибіотиків має піна, яка утворюється внаслідок продування повітря через ферментатор. Для піногасіння використовують рослинну олію (соеву, соняшникову), мінеральні масла (вазелинове, парафінове), спирти та вищі жирні кислоти. А також існують аеродинамічні і механічні способи піногасіння, а саме: відсмоктування піни через спеціальні труби, руйнування бульбашок піни сильним струменем рідини [21].

5.1. Вибір типу ферментера для культивування продуцента антибіотику тейкопланіну – *Actinoplanes teichomyceticus* S-45

Для антибіотику найбільш розповсюдженим ферментером є класичні ферментери з перемішуючим пристроєм та бартотером.

За поставленою вимогою, потрібен ферментер об'ємом 5 м³, тобто, переводячи у літри, це буде дорівнювати 5000 літрам. Дані ферментери такого типу від 1000 л до 10000 л є досить розповсюдженими промисловими ферментерами, оскільки виробляються майже всіма компаніями, що виготовляють ферментери. За вищенаведеними даними обираємо китайський ферментер фірми “Shanghai Bailun Biotechnology Co., Ltd.” Обраний ферментер має такі характеристики:

Змн.	Арк.	№ документа	Підпис	Дата	НУХТ БТЕК 04.01.4 КР ПЗ			
Розроб.		Золотар О.С.			РОЗДІЛ 5. ОБГРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ	Літера	Аркуш	Аркушів
Перевір.		Пирог Т.П.					47	125
Консультант						Кафедра БТМ		
Н. контр.								
Затверд.		Стабніков В.П.						

Розмір ферментера сягає до 400 кг, співвідношення між діаметром і висотою: 1: 2,5. Матеріал: нержавіюча сталь 316L всередині та оболонка 304L ззовні. Розрахунковий тиск: P (всередині) = 0,3 МПа, P (проміжний шар) = 0,3 МПа, точність полірування: Ra0,4 ~ 0,6 [22].

Наводимо зображення ферментера Рис.1.



Рис.3.1. Зображення ферментера періодичної дії фірми “Shanghai Bailun Biotechnology Co., Ltd.” об’ємом 5000 л [22].

Система перемішування: система механічного ущільнення – потужне перемішувальне весло, протипінне весло; Електрична машина змінного струму: нескінченна зміна швидкості; обертів у ферментері: 50 ~ 1000 об/хв \pm 1%, висоту перемішувального весла можна регулювати [22].

Виявлення та контроль температури: нагрівання за допомогою термостатичного бака для води та циркуляція за допомогою циркуляційного насоса (Grundfos, Данія), автоматичний контроль (охолоджуюча вода +5 °C) до 65 °C \pm 0,1 °C, датчик температури (PT100) [22].

Виявлення та контроль pH: 2,00-12,00 \pm 0,05 pH, автоконтроль шляхом додавання кислоти та основи, датчик pH (Mettler/Hamilton, Швейцарія) та екрануючий свинець (Mettler/Hamilton, Швейцарія), ферментер автоматично керується перистальтичним насосом [22].

Антипінний контроль: перевірено датчиком і додано антипіногасник з перистальтичним насосом, контроль впуску (повітря) з ручним керуванням[22].

Метод стерилізації: автоматична стерилізація системою SIP. Стерилізація SIP (Sterilization-in-Place) - обладнання модульного типу, що виконується з корозійностійкої нержавіючої сталі, яке виконує завдання підготовки, нагріву і циркуляції миючих розчинів всередині технологічного обладнання і трубопроводів, без необхідності їх розбору, з метою автоматизованого видалення забруднень. СІП-мийка - обов'язкова складова сучасного харчового підприємства, яка є найважливішою ланкою в забезпеченні чистоти і якості готового продукту [22,23].

Апарат працює під надлишковим тиском задля попередження контамінації культури. Перемішування в апараті здійснюється за рахунок мішалки, яка повинна забезпечувати однакову температуру у всьому об'ємі апарата і концентрації мікроорганізмів та повітря. До системи перемішування також належать перегородки, які рівномірно розподіляють рідину по всьому об'єму. Барботер виконує функцію подачі газу або пару крізь шар рідини. За допомоги введених через барботер під шар рідини бульбашок газу, які сприяють підйому вгору часток рідини, відбувається інтенсивне перемішування рідини [24].

5.2. Обґрунтування стадії підготовки аераційного повітря

Actinoplanes teichomyceticus є факультативним аеробом, що дозволяє рости даному мікроорганізму як в кисневих, так і без кисневих умовах. Але за аеробних умов актинобактерія є кращим продуцентом тейкопланіну, оскільки синтезує більшу кількість антибіотику. При цьому необхідною умовою вирощування глибинної культури продуцента є асептичність, оскільки повітря, що подається на аерацію, має бути стерильним.

У зв'язку з викладеним вище, культивування аеробних мікроорганізмів потребує аерації з великою кількістю стерильного повітря.

Для стерилізації повітря в промислових умовах використовують в основному метод фільтрування крізь шари насипного, пористого або волокнистого матеріалу. Виходячи з теорії стерилізації повітря для видалення контамінантів використовують волокнисті фільтруючі матеріали з різних мінеральних або органічних речовин, пористі перегородки з кераміки або полімерних матеріалів [25,26].

В якості фільтрувальних матеріалів використовують: перхлорвінілове волокно з термостійкістю 60-70°C (марки ФП, ФП-15-1,5), поліакрилонітрильне волокно з термостійкістю до 180°C (ФПАН-10-3,0) або до 250°C (ФПАР-15-1,5), з товщиною волокон 1,5-21 мкм, та скловолокна (СТВ) або базальтові волокна. Базальтові волокна мають товщину від 0,5 до 1 мкм. Скловолокно є несприятливим середовищем для розмноження мікрофлори, не містить токсичних компонентів, термостійке, має високу механічну міцність, тому обираємо саме скловолокно.

Для попередньої стерилізації використовують глибинні (набивні) фільтри на основі волокнистих матеріалів. Але набивні фільтри мають ряд недоліків, один із яких це гідравлічний опір. Для запобігання цього повітря піддають стисненню у турбокомпресорі до 0,35–0,5 МПа, оскільки при стисненні повітря в компресорі, відбувається підвищення температури до 120–250°C і це призводить до збільшення вологовмісту на одиницю об'єму. Потім повітря охолоджують теплообмінником-охолоджувачем, і після цього повітря подають у ресивер-вологівідділювач [25,26].

З розрахунку того, що висота виробничого ферментеру 6,2 м, а висота одного поверху будівлі 6 м, то кількість поверхів буде 2. Тоді виходить, що висота будівлі становитиме 12 м, разом із косим дахом будівлі – 14 м. Збір атмосферного повітря здійснюють за допомогою турбокомпресора, на висоті 2-3 м від найвищої точки будівлі, тобто для проєктованого виробництва – на висоті 17 м.

Для запобігання потраплянню частинок пилу та інших механічних забруднень, одразу після забірної пристрою повітря розташовують фільтр

попереднього очищення. Перевага віддається фільтрам простої конструкції, які можна регенерувати. Після охолодження, видалення вологи і вирівнювання тиску повітря надходить в головний повітряний фільтр, який використовують для підготовки повітря групи ферментерів [25,26].

Як фільтруючий матеріал для головного фільтру обирають поміж звичайний протипиловий фільтр або вугільний фільтр. Обираємо вугільний фільтр, оскільки він має багат шарову конструкцію, яка складається з шару активованого вугілля та шару скляної вати. Перший шар відповідає за грубе очищення, абсорбцію великих частинок бруду, другий шар скляної вати слугує для усунення можливості провалу та уносу частинок вугілля.

Для остаточного очищення повітря перед кожним ферментером встановлюється індивідуальний повітряний фільтр. В якості індивідуальних фільтрів застосовують тонку скляну вату або рамочні, патронні фільтри з тканиною Петрянова на основі перхлорвінілового волокна. Як фільтруючий матеріал обираємо тканину Петрянова, оскільки під час її використання спостерігається малий опір рухові повітря і висока ефективність стерилізація повітря.

У промисловості найбільш розповсюдженим методом очищення повітря є фільтрування через волокнисті та пористі фільтруючі матеріали. Індивідуальні фільтри забезпечують очищення повітря від пилу та інших забруднюючих часток майже на 100%. Фільтри, які будуть піддаватись використанню, потребують попередньої стерилізації. Найпоширенішим методом є нагрівання вологою парою і витримка протягом визначеного часу при температурі 130°C. Після стерилізації фільтруючий матеріал висушують гарячим повітрям [25,26].

Відвод відпрацьованого повітря відбувається завдяки відкритим трубним закінченням. Так називаються ділянки труб, що з'єднані одним кінцем з ферментером, а іншим сполучені з атмосферою. До них належать вузли ферментера для відводу відпрацьованого повітря. На цих вузлах

розміщені додаткові фільтри, куди подається відпрацьоване повітря, де воно очищається та знешкоджується [25.26].

5.3 Вибір мийних та дезінфікуючих засобів

Дезінфікуючі засоби – це об’ємна категорія хімічної продукції, яка застосовується з метою дезінфекційної обробки. Це спеціальні реактиви, які повсюдно використовуються для миття і чищення – процесів, спрямованих на винищення/запобігання появі збудників різних інфекцій (грибків, вірусів, бактерій) і/або на інактивування/видалення токсинів. Це є обов’язковим атрибутом будь-якого приміщення. Деззасоби – незамінні учасники багатьох дезінфекційних заходів, суть яких полягає в знезараженні будь-яких поверхонь (підлог, стін, стель, меблів...), техніки, інструменту, інвентарю, предметів побуту та догляду за хворими (текстилю, одягу, посуду й іншого), шкіри рук і т.д. Вони підлягають гігієнічній регламентації та державній реєстрації в законодавчо встановленому порядку [27].

У таблиці 5.1 наведено декілька мийних та дезінфікуючих засобів. Вони мають різні спектри антимікробної дії, корозійну активність, дію на організм людини, стабільність.

Таблиця 5.1

Узагальнена характеристика мийних та дезінфікуючих засобів

Назва мийного/ дезінфікуючого засобу	Об’єкт миття, дезінфекції	Концентрація робочого розчину, %	Джерело інформації
Септомакс	Поверхні приміщень та обладнання	0,1 (при експозиції 60) 0,2 (при експозиції 30)	[28]
Бланідас 300	Поверхні приміщень та обладнання	0,015 (при експозиції 60) 0,03 (при експозиції 30) 0,06 (при експозиції 15)	[29]
Дезамін	Поверхні приміщень та обладнання	0,05 (при експозиції 60 хв) 0,1 (при експозиції 30 хв)	[30]
Стерилліум	Руки персоналу	Готовий до застосування (час експозиції 30 сек)	[31]
Дезінфекційний засіб “Вінсепт” (рідина)	Руки персоналу	Готовий до застосування (час експозиції 30 сек)	[32]

Мийні та дезінфікуючі засоби для обробки рук персоналу

Стерилліум

Прозорий розчин блакитного кольору із запахом спирту, густина – приблизно $0,85 \text{ г/см}^3$, в'язкість - біля $3 \text{ мПа}\cdot\text{с}$, рН - нейтральна, коефіцієнт заломлення - приблизно 1,38. Препарат має фунгіцидну, туберкулоцидну та пролонговану бактерицидну дію, у тому числі проти видів наведених бактерій та їх штамів, а також штамів, резистентних до антибіотиків. Стерилліум® має такі властивості: зменшує кількість транзиторної мікрофлори шкіри за 30 секунд у 100000 разів; ефективний також і проти резидентної мікрофлори шкіри; швидкодіючий засіб, що зберігає свою дію протягом 1 години на незахищеній шкірі рук та протягом 3 годин під медичними рукавичками; забезпечує антиперспірантну дію, зменшує кількість вологи під рукавичкою, що перешкоджає виділенню резидентної мікрофлори з глибоких шарів шкіри; не подразнює шкіру; не порушує водно-жирового балансу шкіри.

Вінсепт (рідина)

Дезінфекційний засіб для рук Вінсепт (рідина) – готовий до використання прозорий засіб на спиртовій основі. Воно легко наноситься, ефективно знезаражує шкіру, доглядає її. Даний деззасіб має виражену фунгіцидну та бактерицидну дію. Вінсепт, завдяки своїй ефективності та широкому спектру антимікробної дії, може використовуватися в різних сферах, особливо на підприємствах фармацевтичної та мікробіологічної промисловості, парфумерно-косметичної промисловості. Переваги даного засобу: згубно діє гриби, бактерії, віруси; довгостроково діє (ефект зберігається протягом 3 і більше годин); засіб готовий до застосування, не вимагає змивання; безпечно для застосування у всіх сферах завдяки відсутності шкідливих компонентів у складі; гіпоалергенно, подразнень не виникає навіть при тривалому застосуванні; доглядає шкіру - пом'якшує, зволожує, підтримує еластичність.

Мийні та дезінфікуючі засоби для обробки поверхонь приміщень та обладнання

Септомакс

Багатокомпонентний поліфункціональний дезінфікуючий засіб з миючим ефектом. Основною діючою речовиною є 1,3-дихлор 5,5-диметилгідантоїн. Засіб випускається у вигляді сипучого порошку від білого до світло-жовтого кольору з помірним запахом хлору. Засіб має протимікробні, противірусні та фунгіцидні властивості.

Водні розчини “СЕПТОМАКС” прозорі, безбарвні, мають слабкий запах хлору. Робочі розчини засобу не пошкоджують об’єкти, які виготовлені з металу, скла, гуми, полімерних матеріалів, дерева, кахлю, порцеляни, фаянсу, а також поверхні медичних приладів і устаткування з лакофарбовим, гальванічним та полімерним покриттям, не фіксують білкові забруднення на поверхні виробів медичного призначення, добре змиваються, не залишають нальоту. В складі засобу є речовини, які максимально захищають користувача від шкідливого впливу хлору, не знижуючи ефективності його дії.

Бланідас 300

Універсальний дезінфікуючий хлорвмісний засіб. Особливості: - зареєстрований дезінфікуючий засіб на основі хлору; – засіб з широким спектром протимікробної активності (віруліцидна, бактерицидна, туберкулоцидна, фунгіцидна, спороцидна); – для дезінфекції та одночасного миття поверхонь приміщень (підлога, стіни, двері, підвіконня, віконні рами), меблів, предметів обстановки, санітарно-технічного обладнання, спортивного інвентарю тощо; – економічний: висока ефективність при низьких концентраціях; – знезараження питної води, фруктів, овочів, яєць; – добре змивається, не залишає нальоту на поверхнях; – термін зберігання невикористаного робочого розчину засобу становить 6 діб.

Рекомендації щодо застосування: Дезінфекцію робочим розчином здійснюють методом протирання, зрошення, занурення. Поверхні в приміщеннях (підлога, стіни, двері, віконні рами тощо), предмети обстановки (тверді меблі тощо) зрошують або протирають серветками, які змочені розчином засобу. Норма витрати робочого розчину складає 100 мл/м². Після закінчення дезінфекції приміщення провітрюють.

Дезамін

Дезінфекційний засіб «Дезамін», діючими речовинами якого є N-(3-амінопропіл)-N-додецилпропан-1,3-діамін (12,5-17,5 %); комплекс амонійно-четвертинних сполук у межах 25,0 – 30,0% (алкілдиметилбензиламоній хлорид 10,0-11,25%; октилдецилдиметиламоній хлорид 7,5-8,75 %; дидецилдиметиламоній хлорид 4,5-5,75 %; диоктилдиметиламоній хлорид 3,0-4,25 %) і спирт етиловий (3,75-4,5 %). Використовується у фармацевтичних, мікробіологічних підприємствах для дезінфекції, стерилізації та передстерилізаційного очищення апаратів та обладнання.

Для визначення поверхонь, які мають митись та дезінфікуватись, скористаємось специфікацією обладнання, де вказані габаритні розміри обладнання. Виробничий ферментер є найбільшим за габаритами, тому визначаємо площу приміщення за його розмірами, додаємо по 1,5 м, для того щоб зробити дистанцію між стінами та обладнанням. Тоді загальна площа приміщення, де встановлено дане обладнання становить 6,5 м × 6 м. Враховуючи, що поверхня стін даного приміщення теж підлягає миттю та дезінфекції на висоту 7,5 м, загальна площа обробки складе

$$\begin{aligned} \sum F &= (6,5 \text{ м} \times 6 \text{ м}) + (6,5 \text{ м} + 6,5 \text{ м} + 6 \text{ м} + 6 \text{ м}) \times 7,5 \text{ м} = 39 \text{ м}^2 + 25 \text{ м}^2 \\ &= 64 \text{ м}^2 \end{aligned}$$

**Узагальнена характеристика витрат миючих та дезінфікуючих засобів
для виробництва тейкопланіну**

Назва засобу	Об'єкт миття та/або дезінфекції	Концентрація робочого розчину, %	Вартість 1 л (кг) дез. засобу, Грн/л (кг)	Вартість 1 л робочого розчину мийного або дез.засобу, Грн/л	Витрати роб.розчину, л/м ²	Ефективність використання дез.розчину, E _{дз} , Грн/м ²
Септомакс	Поверхні, стіни, вікна, двері, підлога	0,2	450	0,9	0,1	5,76
Бланідас 300	Поверхні, стіни, вікна, двері, підлога	0,15	319	0,48	0,1	3,07
Дезамін	Поверхні, стіни, вікна, двері, підлога	0,1	684	0,68	0,1	4,35

Вартість 1л робочого розчину:

Септомакс: $(100\% - 450 \text{ грн}) / (0,2\% - X \text{ грн}) = 450 * 0,2 / 100 = 0,9 \text{ грн/л}$

Бланідас 300: $(100\% - 319 \text{ грн}) / (0,15\% - X \text{ грн}) = 319 * 0,15 / 100 = 0,48$

грн/л

Дезамін: $(100\% - 684 \text{ грн}) / (0,1\% - X \text{ грн}) = 684 * 0,1 / 100 = 0,68 \text{ грн/л}$

Ефективність використання дезінфікуючого розчину:

$E_{дз} (\text{Септомакс}) = 64 * 0,9 * 0,1 = 5,76 \text{ грн/м}^2$

$E_{дз} (\text{Бланідас 300}) = 64 * 0,48 * 0,1 = 3,07 \text{ грн/м}^2$

$E_{дз} (\text{Дезамін}) = 64 * 0,68 * 0,1 = 4,35 \text{ грн/м}^2$

З урахуванням результатів розрахунку, які наведені у Таблиці 5.2, обираємо у якості найбільш ефективного дезінфікуючого засобу “Бланідас

300". Слід зауважити, що з часом слід змінювати типи дезінфікуючих засобів, оскільки йде адаптація сторонньої мікробіоти до вибраного дезінфікуючого засобу.

5.4. Обґрунтування способу підготовки та стерилізації поживного середовища

За розрахунками, які було здійснено у розділі 1, виробничий біосинтез антибіотику тейкопланіну проходить у ферментері об'ємом 5 м³, що містить 2,4 м³ поживного середовища. Інокулянт отримують у чотири етапи: у колбах на качалці (з поживним середовищем 0,4 л), в інокуляторах об'ємом 6 л (з поживним середовищем 3,23 л), 63 л (поживне середовище становить 29,7 л), і посівному апараті об'ємом 630 л (поживне середовище становить 260 л).

Поживне середовище для біосинтезу *Actinoplanes teichomyceticus* S-45 антибіотику тейкопланіну використовується такого складу (г/л):

- Кукурудзяне борошно – 40;
- Глюкоза – 20;
- Соєве борошно – 6;
- Пептон – 2;
- Дріжджовий екстракт – 2,5;
- MgSO₄ · 7H₂O – 0,3;
- CaCO₃ – 3;
- Валін – 0,004;
- Аргінін – 0,004;
- Бутанол – 0,004.

У складі поживного середовища наявний кальцій карбонат, який використовується для підлучення (регуляції рН). Стерилізація CaCO₃ завжди відбувається окремо від інших компонентів поживного середовища. Суспензію даної солі переносять у ферментаційне обладнання після

суспендування перемішуванням у колбі або за допомогою мішалки у реакторі; з реактора передається самопливом.

До складу поживного середовища також входять речовини для інтенсифікації: аргінін, валін та бутанол. Бутанол відносять до компонентів поживного середовища, які вносять без попередньої стерилізації [33].

У складі поживного середовища бутанол вказано у г, але оскільки бутанол є спиртом його вносять у середовище у рідкому стані, тому переводять бутанол з 0,004 г у л: $\rho(\text{C}_4\text{H}_9\text{OH}) = 0,81 \text{ г/см}^3$; $\rho = m/V$; $V = m/\rho = V(\text{C}_4\text{H}_9\text{OH}) = 0,004/0,81 = 0,0049 \text{ см}^3 \approx 0,005 \text{ мл}$. Отже, вміст бутанолу у 2500 л середовища буде становити $2500 * 0,005 = 12,5 \text{ мл}$. У статті [15] зазначено, що бутанол додають у середовище під час виробничого біосинтезу на 30 год культивування, а розчин амінокислот аргініну та валіну додають у середовище на 60 год культивування.

Під час виробничого біосинтезу додають валін та аргінін для збільшення концентрації антибіотику тейкопланіну. За результатами дослідження у статті [34] продемонстровано, що амінокислоти слугують як стимулятори для синтезу тейкопланіну.

Оскільки дані амінокислоти слугують виключно як додаткові речовини для стимуляції синтезу антибіотику, їх присутність у складі поживного середовища на етапі вирощування інокуляту не є необхідною. Валін та аргінін вносять у ферментер безпосередньо під час виробничого біосинтезу, тому їх підготовка та стерилізація проводиться окремо від інших компонентів.

5.4.1. Особливості підготовки та стерилізації поживного середовища для одержання інокуляту в колбах на качалках

Стерилізацію середовища для вирощування посівного матеріалу в колбах на качалках будемо здійснювати в автоклаві, оскільки його об'єм невеликий (0,4 л). Проаналізувавши склад поживного середовища, умовно

ділимо його на такі композиції (залежно від режиму стерилізації компонентів):

Композиція А: Кукурудзяне борошно, глюкоза, соєве борошно, пептон, дріжджовий екстракт (режим стерилізації: 112°C, 30 хв тиску 0,05 МПа).

Композиція Б: MgSO₄·7H₂O (режим стерилізації: 131°C, 40 хв, 0,15 МПа).

Композиція В: CaCO₃ (режим стерилізації: 131°C, 40 хв, 0,15 МПа).

Спочатку кукурудзяне борошно, соєве борошно попередньо розварюють. Для цього наважку соєвого борошна та кукурудзяного борошна поміщають в колбу, наливають дистильовану воду та перемішують. Закривають колбу ватно-марлевою пробкою та ставлять на водяну баню при температурі 80°C упродовж 40 хв. Далі з'єднують глюкозу з попередньо завареними соєвим і кукурудзяним борошном та розчиненим дріжджовим екстрактом і перемішують та стерилізують при 112°C, 30 хв, 0,05 МПа.

Сіль композиції Б стерилізують при стандартній для солей температурі.

Наважку CaCO₃ поміщають у колбу і додають дистильовану воду. Колбу закривають ватно-марлевою пробкою і стерилізують в автоклаві при температурі 131°C упродовж 60 хв.

Таблиця 5.3.

Композиції стерилізації компонентів для вирощування посівного матеріалу в колбах на качалці

Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	Кількість для приготування 0,4 (0,396) л середовища, г	Композиції	Об'єм композиції, V, л
Кукурудзяне борошно	40	16	А	0,2
Соєве борошно	6	2,4		
Глюкоза	20	8		
Пептон	2	0,8		
Дріжджовий екстракт	2,5	1		
Вода		0,2 (л)		

MgSO ₄ · 7H ₂ O	0,3	0,12	Б	0,1
Вода		0,1 (л)		
CaCO ₃	3	1,2	В	0,1
Вода		0,1 (л)		
Усього				0,4

5.4.2. Особливості підготовки та стерилізації поживного середовища для вирощування інокуляту в посівних апаратах

Вирощування інокуляту в посівному апараті об'ємом 6 л

Композиція А: Кукурудзяне борошно, глюкоза, соєве борошно, пептон, дріжджовий екстракт (режим стерилізації: 112°C, 30 хв тиску 0,05 МПа).

Композиція Б: MgSO₄ · 7H₂O (режим стерилізації: 131°C, 40 хв, 0,15 МПа).

Композиція В: CaCO₃ (режим стерилізації: 131°C, 40 хв, 0,15 МПа).

Стерилізація та підготовка композиції А відбувається у окремому реакторі, бо у ферментаторі (посівних апаратах, інокуляторах) стерилізують композиції за температури 131°C, а дана композиція потребує стерилізації при 112°C. Спочатку кукурудзяне і соєве борошно попередньо розварюють в окремому реакторі. Перед внесенням в реактор з розвареним борошном глюкозу, пептон та дріжджовий екстракт слід попередньо розчинити. Після розчинення вносять у реактор з попередньо завареними соєвим і кукурудзяним борошном. Після перемішування композицію А стерилізують при 112°C, 30 хв, 0,05 МПа.

Для більш зручної подачі суспензії карбонату кальцію в інокулятор композицію В стерилізують в окремому реакторі. Додають питної води і стерилізують суспензію. Після чого суспензію карбонату кальцію подають в інокулятор при перемішуванні самоплином з реактора, розміщеного над інокулятором.

Розчин сульфату магнію (композиція Б) можна приготувати і стерилізувати безпосередньо в інокуляторі.

Таблиця 5.4.

Композиції стерилізації компонентів для вирощування посівного матеріалу в інокуляторі об'ємом 6 л

Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	Кількість для приготування 3,23 л середовища, г	Композиції	Об'єм композиції, V, л
Кукурудзяне борошно	40	129,2	А	2,2
Соєве борошно	6	19,4		
Глюкоза	20	64,6		
Пептон	2	6,46		
Дріжджовий екстракт	2,5	8,1		
Вода для заварювання борошна		1,8 (л)		
Вода для приготування термолабільних речовин		0,2 (л)		
<i>Конденсат</i>		0,2 л		
MgSO ₄ · 7H ₂ O	0,3	0,96	Б	0,52
Вода		0,47 (л)		
<i>Конденсат</i>		0,047 л		
CaCO ₃	3	9,69	В	0,52
Вода		0,47 (л)		
<i>Конденсат</i>		0,047 л		
Усього				3,23

Вирощування інокуляту в посівному апараті об'ємом 63 л

Композиція А: Кукурудзяне борошно, глюкоза, соєве борошно, пептон, дріжджовий екстракт (режим стерилізації: 112°C, 30 хв тиску 0,05 МПа).

Композиція Б: $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ (режим стерилізації: 131°C, 40 хв, 0,15 МПа).

Композиція В: $CaCO_3$ (режим стерилізації: 131°C, 40 хв, 0,15 МПа).

Для цієї стадії необхідно 29,7 л поживного середовища, склад композицій та умови їх стерилізації аналогічні пункту 5.4.1. Стерилізація та підготовка композиції А відбувається у окремому реакторі. Перед цим у різних реакторах заварюють борошно і розчиняють глюкозу, пептон і дріжджовий екстракт. Композицію В попередньо стерилізують в окремому реакторі. А розчин композиції Б можна приготувати і стерилізувати безпосередньо в інокуляторі.

Таблиця 5.5.

Композиції стерилізації компонентів для вирощування посівного матеріалу в інокуляторі об'ємом 63 л

Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	Кількість для приготування 29,7 л середовища, г	Композиції	Об'єм композиції, V, л
Кукурудзяне борошно	40	1188 (1,18 кг)	А	16,5
Соеве борошно	6	178,2		
Глюкоза	20	594		
Пептон	2	59,4		
Дріжджовий екстракт	2,5	74,25		
Вода для заварювання борошна		13,5 (л)		
Вода для приготування термолабільних речовин		1,5 (л)		
<i>Конденсат</i>		1,5 л	Б	11
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0,3	8,91		
Вода		10 (л)		
<i>Конденсат</i>		1 (л)		

Закінчення таблиці 5.5

CaCO ₃	3	89,1	В	2,2
Вода		2 (л)		
Конденсат		0,2 (л)		
Усього				29,7

Вирощування інокуляту в посівному апараті об'ємом 630 л

Композиція А: Кукурудзяне борошно, глюкоза, соєве борошно, пептон, дріжджовий екстракт (режим стерилізації: 112°C, 30 хв тиску 0,05 МПа).

Композиція Б: MgSO₄ · 7H₂O (режим стерилізації: 131°C, 40 хв, 0,15 МПа).

Композиція В: CaCO₃ (режим стерилізації: 131°C, 40 хв, 0,15 МПа).

Таблиця 5.6.

Композиції стерилізації компонентів для вирощування посівного матеріалу в інокуляторі об'ємом 630 л

Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	Кількість для приготування 260 л середовища, г	Композиції	Об'єм композиції, V, л
Кукурудзяне борошно	40	10400 (10,4 кг)	А	128
Соєве борошно	6	1560 (1,5 кг)		
Глюкоза	20	5200 (5,2 кг)		
Пептон	2	520		
Дріжджовий екстракт	2,5	650		
Вода для заварювання борошна		100 (л)		
Вода для приготування термолабільних речовин		16 (л)		
Конденсат		12 л		

MgSO ₄ · 7H ₂ O	0,3	78	Б	110
Вода		100 (л)		
<i>Конденсат</i>		10 (л)		
CaCO ₃	3	780	В	22
Вода		20 (л)		
<i>Конденсат</i>		2 (л)		
Усього				260

Для цієї стадії необхідно 260 л поживного середовища, склад композицій та умови їх стерилізації аналогічні пункту 5.4.1. Стерилізація та підготовка композиції А відбувається у окремому реакторі. Перед цим у різних реакторах заварюють борошно і розчиняють глюкозу, пептон і дріжджовий екстракт. Композицію В попередньо стерилізують в окремому реакторі. А розчин композиції Б можна приготувати і стерилізувати безпосередньо в інокуляторі.

5.4.3. Особливості підготовки і стерилізації поживного середовища для виробничого біосинтезу

Для ферментерів з геометричним об'ємом 5 м³ і більше стерилізацію поживного середовища доцільно здійснювати в установці безперервної стерилізації (УБС). Це дозволить зменшити витрати води, пари та скоротити час обробки поживного середовища. Обираємо УБС-5 з продуктивністю 5 м³/год.

Перед стерилізацією в установці безперервної стерилізації, деякі компоненти потребують попереднього приготування. Так, спочатку заварюють соєве та кукурудзяне борошно, і після заварювання борошна туди можна внести інші компоненти: глюкозу, пептон, дріжджовий екстракт, MgSO₄·7H₂O. Ця композиція А і буде далі стерилізуватися в УБС.

Приготування і стерилізація карбонату кальцію відбувається в окремому апараті, незважаючи на те, що інші компоненти стерилізуються в УБС.

Для інтенсифікації середовища на 60 год культивування вносять валін та аргінін у концентрації 0,004 г/л кожен, тому розчин амінокислот готується і стерилізується в окремому реакторі на 2 л. Для виробничого біосинтезу необхідно 10 г/л аргініну та 10 г/л валіну ($2500 \cdot 0,004 = 10$ г/л). Стерилізація та підготовка розчину амінокислот відбувається у окремому реакторі об'ємом 2 л, додають 1 л води, перемішують і стерилізують за температури 112°C (0,05 МПа), протягом 30 хв. Бутанол (12,5 мл) вносять через засівну колбу у виробничий ферментатор на 30 год культивування.

Композиція А (стерилізація в УБС): Кукурудзяне борошно, глюкоза, соєве борошно, пептон, дріжджовий екстракт, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$

Композиція Б: $CaCO_3$ (режим стерилізації: 131°C, 40 хв, 0,15 МПа).

Композиція В: аргінін, валін (режим стерилізації: 112°C, 30 хв, 0,05 МПа).

Таблиця 5.7.

Склад композицій для стерилізації поживного середовища для виробничого біосинтезу у ферментері об'ємом 5000 л

Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	Кількість для приготування 2400 л середовища, г	Композиції	Об'єм композиції, V, л
Кукурудзяне борошно	40	96000 (96 кг)	А (стерилізація в УБС)	2100
Соєве борошно	6	14400 (14,4 кг)		
Глюкоза	20	48000 (48 кг)		
Пептон	2	4800 (4,8 кг)		
Дріжджовий екстракт	2,5	6000 (6 кг)		
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0,3	720		
Вода для заварювання борошна		1600 (л)		
Вода для приготування термолабільних речовин і $MgSO_4 \cdot 7H_2O$		150 (л)		
Конденсат		350 (л)		

CaCO ₃	3	7200 (7,2 кг)	Б (приготування і стерилізація в реакторі об'ємом 500л)	302
Вода		275 (л)		
<i>Конденсат</i>		27 (л)		
Усього				2402~2400

Примітка. У табл. 5.7 не наведено композицію В, оскільки її об'єм невеликий (1 л)

5.5. Обґрунтування вибору розчинів для піногасника

До складу поживного середовища входять пептон та соєве борошно, які супроводжуються піноутворенням, тому потрібно підготувати піногасник. Використання технологічного методу піногасіння не є доцільним, оскільки воно передбачає стабілізацію рівня піни за рахунок зниження інтенсивності аерації, або повного припинення подачі повітря. А от синтетичні піногасники у вигляді силікону часто використовують при виробничій ферментації одержання антибіотиків, завдяки їх специфічній властивості пригнічувати піноутворення. Найрозповсюдженішим силіконом є “Диметикон”. Він має поверхнево-активні властивості, і при додаванні в концентрації 0,5% проявляє властивості піногасника. Стерилізують його у невеликих мірниках з внутрішнім змішувачем при 160 °С протягом 2 годин [21,22].

Іншим прикладом є піногасник SILFOAM® SE 9. Даний силіконовий піногасник у вигляді емульсії є нешкідливим для мікроорганізмів, не взаємодіє з продуктами в культуральній рідині, термостабільний для витримки стерилізації, а також не метаболізується мікроорганізмами. Але потребує попереднього перемішування, і має додаватись у систему порційно, або безперервно[35].

Ще один представник силіконової олії – Піногасник – 2775 від німецької компанії "GUSTAV HEES", що має українського представника на ринку

“MH and Gustav Heess Ukraine”. Він контролює виробництво піни, дозволяючи виробничим процесам працювати на повну потужність без ризику переповнення. Коли крохмаль та інші матеріали накопичуються у воді, він стабілізує піну, яка утворюється, що призводить до накопичення, яка може негативно позначитися на виробництві. Також не потребує стерилізації, оскільки автоклавна стерилізація не впливає на ефективність Піногасника-2775, тому обираємо саме цей піногасник [36].

Отже, технологічна схема, окрім стадій підготовки посівного матеріалу, включає такі додаткові стадії:

1) підготовка аераційного повітря та очистка відпрацьованого;

2) заварювання кукурудзяного та соєвого борошна перед стерилізацією: для культивування в колбах на качалках – на водяній бані, на всіх інших стадіях – в окремому реакторі з сорочкою;

3) розчиняють глюкозу, пептон, дріжджовий екстракт перед стерилізацією для культивування в колбах на качалках – на водяній бані, на всіх інших стадіях – в окремому реакторі з сорочкою;

Також варто передбачити такі ємності:

В цеху підготовки посівного матеріалу:

1) реактор об’ємом 5 л для заварювання борошна і стерилізації разом з ним глюкози, пептону та дріжджового екстракту (композиція А середовища для вирощування інокуляту у посівному апараті об’ємом 6 л);

2) реактор на 20 л для заварювання борошна і стерилізації разом з ним глюкози, пептону та дріжджового екстракту (композиція А середовища для вирощування інокуляту у посівному апараті об’ємом 63 л);

3) реактор об’ємом 20 л для розчинення глюкози, пептону та дріжджового екстракту (складова композиції А середовища для вирощування інокуляту у посівному апараті об’ємом 630 л);

4) реактор на 200 л для заварювання борошна і стерилізації разом з ним глюкози, пептону та дріжджового екстракту (композиція А середовища для вирощування інокуляту у посівному апараті об’ємом 630 л);

5) реактор 5 л для приготування і стерилізації CaCO_3 (для вирощування інокуляту у посівному апараті об'ємом 63 л);

б) реактор 50 л для приготування і стерилізації CaCO_3 (для вирощування інокуляту у посівному апараті об'ємом 630 л);

В цеху виробничого біосинтезу:

— реактор на 2 л для стерилізації валіну та аргініну (композиція Г);

— реактор на 2000 л для заварювання борошна, і потім приготування разом з ним глюкози, пептону та дріжджового екстракту, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ та змішування всіх компонентів перед стерилізацією в УБС;

— реактор на 200 л для розчинення глюкози, пептону, дріжджового екстракту і $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ перед змішуванням з борошном і стерилізацією в УБС;

— реактор об'ємом 500 л для приготування суспензії карбонату кальцію.

РОЗДІЛ 6
СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ

Таблиця 6.1

Специфікація обладнання ділянки допоміжних робіт та виробничого біосинтезу тейкопланіну

Позиція	Найменування	Кількість	Технічна характеристика (виробник)
ПЗ-1	Повітрозабірник	1	Повітрозбірник В-5,0-0,8. Температура повітря до 150 °С; тиск до 0,6 МПа. Об'єм 0,5 м ³ [37].
Ф-2	Фільтр грубої очистки повітря	1	Повітряний фільтр ФПВ компанії ВЕНТ-ФІЛЬТР. Фільтрувальний матеріал: поліестер та скловолокно; продуктивність: 2400 м ³ /год; Е=90%; габаритні розміри, мм: 592x592x48 [38].
К-3	Компресор	1	Турбокомпресори ID TURBO COMPRESSOR серії Т2. Продуктивність: 2250 м ³ /год; робочий тиск: 5.5 – 8.8 бар; габаритні розміри, мм: 2450x1640x1900 [39].
Т-4	Теплообмінник-охолоджувач	1	Промисловий осушувач повітря Hankison HND 21. Потужність 0,24 до 5,7 кВт. Продуктивність – від 20 до 1700 м ³ /год. Розмір: 390x344x320 мм [40].

НУХТ БТЕК 04.01.4 КР ПЗ

Змн.	Арк.	№ документа	Підпис	Дата				
Розроб.		<i>Золотар О.С.</i>			РОЗДІЛ 6. СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ	Літера	Аркуш	Аркушів
Перевір.		<i>Пирог Т.П.</i>					69	125
Консультант						Кафедра БТМ		
Н. контр.								
Затверд.		<i>Стабніков В.П.</i>						

Продовження таблиці 6.1.

P-5	Ресивер	1	Ресивер FIAS об'ємом 500 л, максимальний тиск 15 бар, розмір 660 x 2160 мм [41].
T-6	Теплообмінник-нагрівач	1	Водяний теплообмінник SAVE VTR. Максимальна робоча температура 125 °С. Максимальний робочий тиск 0,8 МПа (8 бар). Розміри: 245x140x104 мм [42].
Ф-7	Головний фільтр очистки	1	Фільтр вугільний повітряний MountainAir Filter (0820). Продуктивність 740 м ³ /год. Довжина фільтра: 500 мм [43].
ІФ-8	Індивідуальний фільтр	1	Фільтр ULPA ФяС-U класів U15-U16. Максимальна температура: до 80°С; E=99,999%; фільтрувальний матеріал: скловолокно [44].
P-9	Реактор для стерилізації композиції А	1	Реактор IGR-5 об'ємом 5 л від компанії Innova Bio-meditech. оснащений сорочкою та мішалкою: 50-500 об/хв; потужність двигуна мішалки: 0,2 кВт; габаритні розміри: 591×520×1594 мм [45].
I-10	Інокулятор	1	Інокулятор Minifors об'ємом 6 л (на замовлення) від компанії Infors. Оснащений сорочкою, барботером та мішалкою: 30-300 об/хв; габаритні розміри: 395×370×550 мм [46].

Л-11	Лічильник води для подачі води у реактор Р-12 (13,5 л води)	1	Лічильник води Gross MNK-UA 15/165C. Умовний прохід 15 мм. Мінімальна витрата $Q_{\min} = 0,03 \text{ м}^3/\text{год}$, а максимальна витрата = $3 \text{ м}^3/\text{год}$. Максимальний робочий тиск 16 бар. Максимальний показ лічильника 99999 м^3 [47].
Р-12	Реактор для стерилізації композиції А	1	Реактор об'ємом 20 л. Габаритні розміри: 1085 x 600 x 1150 мм. Потужність: 0,55 кВт. Оснащена сорочкою, з мішалкою до 300 об/хв [48].
Н-13	Насос мембранний для подачі композиції від Р-12 до І-15	1	Мембранний насос для рідин від компанії АгроТех. Потужність: 15 Вт; Продуктивність: 1,5 л/хв; Максимальний тиск: 3,5 бар [49].
Р-14	Реактор для стерилізації композиції В	1	Реактор IGR-5 об'ємом 5 л від компанії Innova Bio-meditech. оснащений сорочкою та мішалкою: 50-500 об/хв; потужність двигуна мішалки: 0,2 кВт; габаритні розміри: 591×520×1594 мм [45].
І-15	Інокулятор	1	Інокулятор об'ємом 63 л (на замовлення, за стандарт беремо ферментер об'ємом 100 л) містить сорочку, барботер,

Продовження таблиці 6.1.

			мішалку з регульованою швидкістю перемішування: 200-400 об/хв; із датчиками вимірювання рН, рО ₂ , температури(при стерилізації до 150°C), манометром; габаритні розміри, мм: 1300×700×1600 [50].
Л-16	Лічильник води для подачі води у реактор Р-17 (16 л води)	1	Лічильник води Gross MNK-UA 15/165С. Умовний прохід 15 мм. Мінімальна витрата Q _{min} = 0,03 м ³ /год, а максимальна витрата = 3 м ³ /год. Максимальний робочий тиск 16 бар. Максимальний показ лічильника 99999 м ³ [47].
Р-17	Реактор для приготування композиції А	1	Реактор об'ємом 20 л. Габаритні розміри: 1085 х 600 х 1150 мм. Потужність: 0,55 кВт. Оснащена сорочкою, з мішалкою до 300 об/хв [48].
Д-18	Ваговий дозатор для внесення борошна у реактор Р-20 (кукуруз борошно 10 кг соєве борошно 1,5 кг)	1	Ваговий дозатор ШД-1у. Межа дозування від 1 до 10 кг. Потужність 0,75 кВт. Напруга 220 В. Габаритні розміри: 1730 х 950 х 1350 [51].

Л-19	Лічильник води для подачі води у реактор Р-20 (100 л води)	1	Лічильник води Gross MNK-UA 40/165С. Мінімальна витрата $Q_{\min} = 0,2 \text{ м}^3/\text{год}$, а максимальна витрата = $20 \text{ м}^3/\text{год}$. Максимальний робочий тиск 16 бар. Максимальний показ лічильника 99999 м^3 [52].
Р-20	Реактор для стерилізації композиції А	1	Реактор об'ємом 200 л від компанії LSL BIOLAFITTE. Матеріал: нержавіюча сталь. Габаритний розмір: 1600 x 900 x 2100 мм [53].
Н-21	Насос мембранний для подачі композиції від Р-20 до І-26	1	Мембранний насос для рідин від компанії АгроТех. Потужність: 60 Вт; Продуктивність: 5 л/хв; Максимальний тиск: 0,9 МПа [54].
Л-22	Лічильник води для подачі води у реактор Р-23 (20 л води)	1	Лічильник води Gross MNK-UA 20/165С. Мінімальна витрата $Q_{\min} = 0,05 \text{ м}^3/\text{год}$, а максимальна витрата = $5 \text{ м}^3/\text{год}$. Максимальний робочий тиск 16 бар. Максимальний показ лічильника 99999 м^3 [55].
Р-23	Реактор для стерилізації композиції В	1	Реактор об'ємом 50 л. Габаритні розміри: 1390 x 700 x 1700 мм. Потужність: 0,2 кВт. Оснащена сорочкою, з мішалкою до 400 об/хв [56].

Продовження таблиці 6.1.

Н-24	Насос мембранний для подачі композиції від Р-23 до І-26	1	Мембранний насос для рідин від компанії АгроТех. Потужність: 15 Вт; Продуктивність: 1,5 л/хв; Максимальний тиск: 3,5 бар [49].
Л-25	Лічильник води для подачі води у інокулятор І-26 (100 л води)	1	Лічильник води Gross MNK-UA 40/165С. Мінімальна витрата $Q_{\min} = 0,2 \text{ м}^3/\text{год}$, а максимальна витрата = $20 \text{ м}^3/\text{год}$. Максимальний робочий тиск 16 бар. Максимальний показ лічильника 99999 м^3 [52].
І-26	Інокулятор	1	Реактор компанії SYSBIOTECH об'ємом 630 л. Швидкість перемішування: 10-750 об/хв; оснащений сорочкою та температурним датчиком; габаритні розміри, мм: 700 x 770 x 2400 [57].
Д-27	Ваговий дозатор для внесення термолабільних речовин у реактор Р-29 (глюкоза 48 кг, пептон 4,8 кг, дріждж. екстракт 6 кг)	1	Ваговий дозатор ВД-4н. Межа дозування від 1 до 50 кг. Потужність 0,6 кВт. Напряга 220 В [58].
Л-28	Лічильник води для подачі води у реактор Р-29 (150 л води)	1	Лічильник води Gross WPK-UA 50. Мінімальна витрата $Q_{\min} = 0,45 \text{ м}^3/\text{год}$, а максимальна витрата = $30 \text{ м}^3/\text{год}$. Максимальний робочий тиск 16 бар. Максимальний показ лічильника 99999 м^3 [59].

P-29	Реактор для приготування композиції А (без стерилізації)	1	Реактор РМ-200 об'ємом 200 л від компанії Промвіт. Матеріал: нержавіюча сталь. Габаритний розмір: 1200 x 822 x 1623 мм [60].
H-30	Насос мембранний для подачі термолабільних речовин від Р-29 до Р-33	1	Мембранний насос для рідин від компанії АгроТех. Потужність: 60 Вт; Продуктивність: 5 л/хв; Максимальний тиск: 0,9 МПа [54].
D-31	Ваговий дозатор для внесення борошна у реактор Р-32 (кук борошно 96 кг, соєве борошно 14 кг)	1	Ваговий дозатор ВД-4н. Межі дозування від 1 до 50 кг. Потужність 0,6 кВт. Напруга 220 В [58].
L-32	Лічильник води для подачі води у реактор Р-32 (1600 л)	1	Лічильник води Gross WPK-UA 150. Мінімальна витрата $Q_{\min} = 4,5 \text{ м}^3/\text{год}$, а максимальна витрата $= 300 \text{ м}^3/\text{год}$. Максимальний робочий тиск 16 бар. Максимальний показ лічильника 99999 м^3 [61].
P-33	Реактор для заварювання борошна	1	Реактор об'ємом 2000 л компанії Промвіт. Розмір 1600×2500×3100 мм. Потужність змішувача: до 7,5 кВт; швидкість перемішування: до 10-40 об/хв; оснащений сорочкою та температурним датчиком [62].

Н-34	Насос відцентровий від Р-33 до УБС-40	1	Насос відцентровий. Продуктивність: до 60 л/хв; Потужність: 1,1 кВт. Максимальний тиск до 8 бар [63].
Л-35	Лічильник води для подачі води у реактор Р-36 (275 л води)	1	Лічильник води Gross WPK-UA 65. Мінімальна витрата $Q_{\min} = 0,75 \text{ м}^3/\text{год}$, а максимальна витрата = $50 \text{ м}^3/\text{год}$. Максимальний робочий тиск 16 бар. Максимальний показ лічильника 99999 м^3 [64].
Р-36	Реактор для стерилізації композиції Б	1	Реактор об'ємом 500 л. Розмір $1500 \times 1135 \times 3122 \text{ мм}$; матеріал нержавіюча сталь; оснащений сорочкою та температурним датчиком, температура при стерилізації 132°C , швидкість обертання роторної мішалки 150-300 об/хв. Максимальний тиск: 2,5 бар [65].
Н-37	Насос мембранний для подачі композиції від Р-36 до Ф-42	1	Насос мембранний. Потужність 180 Вт. Продуктивність 10 л/хв. Тиск 13,5 бар. Номінальна витрата рідини — 10 л/хв [66].
Р-38	Реактор для стерилізації композиції В	1	Реактор IGR-2(CE) об'ємом 2 л від компанії Innova Bio-meditech. оснащений сорочкою та

Продовження таблиці 6.1.

			мішалкою: 40-500 об/хв; потужність двигуна мішалки: 0,2 кВт; габаритні розміри: 480×420×1020 [67].
P-39	Реактор для піногаснику		Реактор об'ємом 5 л. Габаритні розміри: 620 х 410 х 840 мм. Оснащена сорочкою, з мішалкою до 60 об/хв [68].
УБС-40	Установка безперервної стерилізації (УБС-5)	1	Установка безперервної стерилізації, продуктивність 5 м ³ /год, температура стерилізації – 131 °С. Виготовлення на замовлення.
H-41	Насос відцентровий для перекачування композиції А від УБС-40 до Ф-42	1	Насос відцентровий. Продуктивність: до 60 л/хв; Потужність: 1,1 кВт. Максимальний тиск до 8 бар [63].
Ф-42	Ферментер	1	Ферментер ePROD® об'ємом 5000 л. Матеріал: нержавіюча сталь; оснащений барботером, сорочкою, датчиком рН, рО ₂ , температури; пробовідбірником, манометром; турбінною мішалкою; максимальний допустимий тиск: 3 бар; продуктивність мішалки 100-560 об/хв. Габаритні розміри: 5125 х 4455 х 6188 мм [69].
ІФ-43	Індивідуальний фільтр очистки повітря	1	Фільтр Omega Air SF 012. Тиск 16 бар. Температурний діапазон до 150 °С. Матеріал: нержавіюча сталь. Продуктивність: 150 м ³ /год [70].

РОЗДІЛ 7

ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ БІОСИНТЕЗУ ТЕЙКОПЛАНІНУ

Технологічна схема біосинтезу тейкопланіну включає допоміжні роботи (підготовка аераційного повітря, приготування та стерилізація поживних середовищ) та технологічний процес – підготовка посівного матеріалу та виробничий біосинтез тейкопланіну *Actinoplanes teichomyceticus* S-45.

ДР 1. Підготовка аераційного повітря

ДР 1.1. Забір атмосферного повітря

Забір повітря проводиться за допомогою вертикальної трубки з повітрязабірником (ПЗ-1) у найвищій точці Н = 17 м.

ДР 1.2. Очищення від грубих домішок

Здійснюємо попередню очистку повітря від пилу на фільтрі грубого очищення (Ф-2) з ефективністю очистки E=90%.

ДР 1.3. Компресування повітря

Повітря стискають у (К-3) до тиску 0,4 МПа за рахунок нагрівання від 120°C до 220°C, це роблять для того аби подолати гідравлічний тиск стовпа рідини у ферментері.

ДР 1.4. Охолодження повітря та виділення з нього вологи

Стиснене повітря (від ДР 1.3.) охолоджують в теплообміннику-охолоджувачі (Т-4) до температури 25 – 30 °С для того, щоб забрати надлишкову вологу. Охолоджене повітря направляють до ресиверу (Р-5), у якому забирається надлишок вологи, а також зменшуються пульсації руху повітря, які можуть негативно впливати на роботу інших фільтрів очищення. Вологість повітря має бути W=60-70%.

					<i>НУХТ БТЕК 04.01.04 КР ПЗ</i>						
Змн.	Арк.	№ документа	Підпис	Дата	РОЗДІЛ 7. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ БІОСИНТЕЗУ ТЕЙКОПЛАНІНУ			Літера	Аркуш	Аркушів	
Розроб.		<i>Золотар О.С.</i>							78	125	
Перевір.		<i>Пирог Т.П.</i>						Кафедра БТМ			
Консультант											
Н. контр.											
Затверд.		<i>Стабніков В.П.</i>									

ДР 1.5. Нагрівання повітря

Нагрівання повітря, яке надійшло (від ДР 1.4.) відбувається у теплообміннику-нагрівачі (Т-6) до температури 35 – 40 °С. Вологість має бути на рівні 50%.

ДР 1.6. Очищення повітря в головному фільтрі

Підігріте повітря (від ДР 1.5.) потрапляє до головного фільтру (Ф-7), ступінь очистки становить 95%, після чого це повітря передається до індивідуальних фільтрів.

ДР 1.7. Очищення повітря в індивідуальному фільтрі

Направлене повітря (від ДР 1.6.) переходить до індивідуальних фільтрів (ІФ-8, ІФ-41), які встановлюють перед кожним інокулятором, реактором та ферментером, що містить стерильні розчини. Ступінь очищення становить $E = 99,999\%$.

ДР 2. Приготування та стерилізація поживних середовищ

ДР.2.1. Приготування та стерилізація поживного середовища для вирощування інокуляту у колбах на качалках

Для приготування посівного матеріалу на качалочних колбах необхідно приготувати 0,4 л поживного середовища. Вміст компонентів для середовища наведено в розділі 5 табл. 5.3.

ДР 2.1.1. Приготування і стерилізація композиції А

На технічних терезах зважують 16 г кукурудзяного борошна, 2,4 г соєвого борошна, 8 г глюкози, 0,8 г пептону та 1 г дріжджового екстракту. Наважки соєвого та кукурудзяного борошна поміщають у колбу на 0,5 л, додають 0,1 л дистильованої води, закривають колбу та заварюють на водяній бані при температурі 80°С упродовж 40 хв. Наважки глюкози, пептону та дріжджового екстракту поміщають у колбу об'ємом 0,5 л, добавляють 0,1 л дистильованої води, нагрівають на водяній бані до повного розчинення, після чого вносять у колбу об'ємом 0,5 л з завареним борошном.

Далі колбу з композицією А закривають ватно-марлевою пробкою і стерилізують в автоклаві при 112°C (0,05 МПа) протягом 30 хв.

ДР 2.1.2. Приготування і стерилізація композиції Б

На технічних терезах зважують 0,12 г $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ і поміщають у колбу об'ємом 0,5 л, додають 0,1 л дистильованої води, закривають ватно-марлевым корком і стерилізують при температурі 131°C (0,15 МПа), протягом 40 хв.

ДР 2.1.3. Приготування і стерилізація композиції В

На технічних терезах зважують 1,2 г CaCO_3 . Наважку карбонату кальцію поміщають у колбу об'ємом 0,5 л, додають 0,1 л дистильованої води, закривають ватно-марлевым корком і стерилізують при температурі 131°C (0,15 МПа), протягом 40 хв.

ДР 2.2. Приготування і стерилізація поживного середовища для вирощування інокуляту в посівному апараті об'ємом 6 л.

Розрахунок необхідних кількостей компонентів для приготування середовища для вирощування інокуляту в інокуляторі об'ємом 6 л наведений в розділі 5 у табл. 5.4.

ДР 2.2.1. Приготування і стерилізація композиції А

Приготування композиції А включає заварювання обох видів борошна в реакторі (Р-9) на 5 л, приготування розчину глюкози, пептону і дріжджового екстракту у колбі на 0,5 л і стерилізацію композиції в реакторі (Р-9) на 5 л.

ДР 2.2.1.1. Заварювання кукурудзяного та соєвого борошна

На технічних терезах зважують 129,2 г кукурудзяного борошна, 19,4 г соєвого борошна. Наважки з борошном переносять у реактор (Р-9) об'ємом 5 л для попереднього розварювання, потім добавляють 1,8 л питної води, поступово нагрівають суміш до 70-90 °С подачею пари в сорочку апарата, витримують протягом 40 хв при перемішуванні.

ДР 2.2.1.2. Приготування розчину глюкози, пептону та дріжджового екстракту

На технічних терезах зважують 64,6 г глюкози, 6,46 г пептону та 8,1 г дріжджового екстракту. Наважки вносять у колбу об'ємом 0,5 л, додають за допомогою мірного циліндра 0,2 л дистильованої води та розчиняють при нагріванні на водяній бані та перемішуванні.

ДР 2.2.1.3. Стерилізація композиції А

У реактор (Р-9) з борошном (ДР 2.2.1.1) додають розчин термолабільних компонентів (від ДР 2.2.1.2), перемішують та стерилізують при температурі 112°C, протягом 30 хв, за 0,05 МПа.

ДР 2.2.2. Приготування і стерилізація композиції Б

На технічних терезах зважують 0,96 г $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ і вносять в інокулятор (І-10) об'ємом 6 л, добавляють 0,47 л питної води, вмикають перемішуючий пристрій. Для кращого розчинення компонентів у сорочку реактора подають пару до досягнення температури 40°C, розчин стерилізують при температурі 131 °С (0,15 МПа) протягом 40 хв.

ДР 2.2.3. Приготування і стерилізація композиції В

На технічних терезах зважують 9,69 г CaCO_3 , наважку вносять у колбу об'ємом 1 л, добавляють 0,47 л питної води і стерилізують суспензію при температурі 131°C (0,15 МПа) протягом 40 хв.

ДР 2.3. Приготування і стерилізація поживного середовища для вирощування інокуляту в посівному апараті об'ємом 63 л.

Розрахунок необхідних кількостей компонентів для приготування середовища для вирощування інокуляту в інокуляторі об'ємом 63 л наведений у розділі 5 у табл. 5.5.

ДР 2.3.1. Приготування і стерилізація композиції А

Приготування композиції А включає заварювання обох видів борошна в реакторі (Р-12) на 20 л, приготування розчину глюкози, пептону і дріжджового екстракту у колбі на 5 л і стерилізацію композиції в реакторі (Р-12) на 20 л.

ДР 2.3.1.1. Заварювання кукурудзяного та соєвого борошна

На технічних терезах зважують 1,18 кг кукурудзяного і 178,2 г соєвого борошна. Наважки з борошном переносять у реактор (Р-12) об'ємом 20 л. За допомогою лічильника (Л-11) добавляють 13,5 л питної води, поступово нагрівають суміш до 70-90 °С подачею пари в сорочку апарата, витримують протягом 40 хв при перемішуванні.

ДР 2.3.1.2. Приготування розчину глюкози, пептону та дріжджового екстракту

На технічних терезах зважують 594 г глюкози, 59,4 г пептону та 74,25 г дріжджового екстракту. Наважки вносять у колбу об'ємом 5 л, потім додають 1,5 л питної води та розчиняють при нагріванні на водяній бані та перемішуванні.

ДР 2.3.1.3. Стерилізація композиції А

У реактор (Р-12) з борошном (ДР 2.3.1.1) додають розчин термолабільних компонентів (від ДР 2.3.1.2), перемішують та стерилізують при температурі 112°С, протягом 30 хв, за 0,05 МПа.

ДР 2.3.2. Приготування і стерилізація композиції Б

На технічних терезах зважують 8,91 г $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ і вносять в інокулятор (І-15) об'ємом 63 л, добавляють 10 л питної води, вмикають перемішуючий пристрій. Для кращого розчинення компонентів у сорочку реактора подають пару до досягнення температури 40°С, розчин стерилізують при температурі 131 °С (0,15 МПа) протягом 40 хв.

ДР 2.3.3. Приготування і стерилізація композиції В

На технічних терезах зважують 89,1 г CaCO_3 , наважку вносять у реактор (Р-14) об'ємом 5 л, добавляють 2 л питної води і стерилізують при температурі 131°С (0,15 МПа) протягом 40 хв.

ДР 2.4. Приготування і стерилізація поживного середовища для вирощування інокуляту в посівному апараті об'ємом 630 л.

Розрахунок необхідних кількостей компонентів для приготування середовища для вирощування інокуляту в інокуляторі об'ємом 630 л наведений в розділі 5 у табл. 5.6.

ДР 2.4.1. Приготування і стерилізація композиції А

Приготування композиції А включає заварювання обох видів борошна в реакторі (Р-20) на 200 л, приготування розчину глюкози, пептону і дріжджового екстракту у реакторі (Р-17) на 20 л і стерилізацію композиції в реакторі (Р-20) на 200 л.

ДР 2.4.1.1. Заварювання кукурудзяного та соєвого борошна

Через ваговий дозатор (Д-18) у реактор (Р-20) об'ємом 200 л вносять 10,4 кг кукурудзяного і 1,5 кг соєвого борошна. За допомогою лічильника (Л-19) добавляють 100 л питної води, поступово нагрівають суміш до 70-90 °С подачею пари в сорочку апарата, витримують протягом 40 хв при перемішуванні.

ДР 2.4.1.2. Приготування розчину глюкози, пептону та дріжджового екстракту

У реактор (Р-17) об'ємом 20 л вносять 5,2 кг глюкози, 520 г пептону та 650 г дріжджового екстракту, за допомогою лічильника (Л-16) подають 16 л питної води, вмикають перемішуючий пристрій. Для кращого розчинення компонентів у сорочку реактора подають пару до досягнення температури 40°С.

ДР 2.4.1.3. Стерилізація композиції А

У реактор (Р-20) з борошном (ДР 2.4.1.1) додають розчин термолабільних компонентів (від ДР 2.4.1.2), перемішують та стерилізують при температурі 112°С, протягом 30 хв, за 0,05 МПа.

ДР 2.4.2. Приготування і стерилізація композиції Б

На технічних терезах зважують 78 г $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ і вносять в інокулятор (І-26) об'ємом 630 л, добавляють за допомогою лічильника (Л-25) 100 л питної води, вмикають перемішуючий пристрій. Для кращого розчинення компонентів у сорочку реактора подають пару до досягнення температури

40°C, розчин стерилізують при температурі 131 °С (0,15 МПа) протягом 40 хв.

ДР 2.4.3. Приготування і стерилізація композиції В

На технічних терезах зважують 780 г CaCO₃, наважку вносять у реактор (Р-23) об'ємом 50 л, за допомогою лічильника (Л-22) добавляють 20 л питної води і стерилізують при температурі 131°C (0,15 МПа) протягом 40 хв.

ДР 2.5. Приготування і стерилізація поживного середовища для виробничого біосинтезу у ферментері об'ємом 5000 л.

Розрахунок необхідних кількостей компонентів для приготування середовища для вирощування інокуляту в інокуляторі об'ємом 5000 л наведений в розділі 5 у табл. 5.7.

ДР 2.5.1. Приготування і стерилізація композиції А

Приготування композиції А включає заварювання обох видів борошна в реакторі (Р-33) на 2000 л, приготування розчину глюкози, пептону, MgSO₄ · 7H₂O і дріжджового екстракту у реакторі (Р-29) на 200 л і стерилізацію композиції в установці безперервної стерилізації (УБС-40).

ДР 2.5.1.1. Заварювання кукурудзяного та соєвого борошна

Через ваговий дозатор (Д-31) у реактор (Р-33) об'ємом 2000 л вносять 96 кг кукурудзяного і 14,4 кг соєвого борошна. За допомогою лічильника (Л-32) добавляють 1600 л питної води, поступово нагрівають суміш до 70-90 °С подачею пари в сорочку апарата, витримують протягом 40 хв при перемішуванні.

ДР 2.5.1.2. Приготування розчину глюкози, пептону та дріжджового екстракту і MgSO₄ · 7H₂O

У реактор (Р-29) об'ємом 200 л за допомогою вагового дозатора (Д-27) вносять 48 кг глюкози, 4,8 кг пептону, 6 кг дріжджового екстракту та 720 г MgSO₄ · 7H₂O, за допомогою лічильника (Л-28) подають 150 л питної води, вмикають перемішуючий пристрій. Для кращого розчинення компонентів у сорочку реактора подають пару до досягнення температури 40°C.

ДР 2.5.1.3. Змішування компонентів композиції А

У реактор (Р-33) з борошном (ДР 2.5.1.1.) подають насосом (Н-30) розчин термолабільних речовин (від ДР 2.5.1.2), включають перемішуючий пристрій (100 об/хв) для повного змішування компонентів середовища.

ДР 2.5.1.4. Стерилізація композиції А в УБС

Поживне середовище з реактора (Р-33) подають насосом (Н-34) в УБС (УБС-40), де відбувається стерилізація гострою парою за температури 131 °С упродовж 5-7 хвилин.

ДР 2.5.2. Приготування і стерилізація композиції Б

На технічних терезах зважують 7,2 кг CaCO₃, наважку вносять у реактор (Р-36) об'ємом 500 л, за допомогою лічильнику (Л-35) добавляють 275 л питної води і стерилізують при температурі 131°С (0,15 МПа) протягом 40 хв.

ДР 3. Приготування та стерилізація розчинів амінокислот для інтенсифікації синтезу тейкопланіну на етапі виробничого біосинтезу

ДР 3.1. Приготування та стерилізація розчинів аргініну та валіну

На технічних терезах зважують 10 г аргініну та 10 г валіну, наважку вносять у реактор (Р-38) об'ємом 2 л, додають 1 л питної води і стерилізують при температурі 112°С (0,05 МПа) протягом 30 хв.

ТП 4. Підготовка посівного матеріалу

ТП 4.1. Підтримання колекційної культури

Колекційну культуру *Actinoplanes teichomyceticus* S-45 зберігають у пробірці на скошеному манітол-соевому агаризованому середовищі при температурі 4°С. Кожні 2-3 місяці здійснюють пересіви. Всі роботи з колекційною культурою проводять строго в асептичних умовах.

ТП 4.2. Одержання робочої культури

Колекційну культуру методом виснажувального штриха пересівають на чашку Петрі з манітол-соєвим середовищем для одержання ізолюваних колоній. Культивують в термостаті при температурі 30 ± 2 °С протягом 48 год.

ТП 4.3. Вирощування інокуляту на агаризованих поживних середовищах

Отримані ізолювані колонії з чашки Петрі (від ТП 4.2.) пересівають петлею в пробірки зі скошеним манітол-соєвим агаризованим середовищем (одна ізолювана колонія використовується для засіву однієї пробірки). В пробірки пересівають ізолювані колонії, що знаходяться на відстані не менше 1 см. Культивують в термостаті при температурі 30 ± 2 °С (24 год).

ТП 4.4. Вирощування інокуляту в колбах на качалках

У колбу об'ємом 0,5 л з композицією А (від ДР 2.1.1.) вносять композицію Б (від ДР 2.1.2.), перемішують і розливають по 100 мл стерильним циліндром на 200 мл у 3 стерильні качалочні колби об'ємом 750 мл. Далі у кожену колбу стерильною піпеткою вносять по 33 мл композиції В (від ДР 2.1.3.). Перед внесенням композиції у колбу її перемішують. Для внесення посівного матеріалу у колби з композиціями до пробірки з робочою культурою *A. teichomyceticus* S-45 (від ТП 4.3.) додають 5 мл фізіологічного розчину, суспендують клітини (змивають культуру), потім піпеткою відбирають одержану бактеріальну суспензію і вносять у качалочні колби з поживним середовищем. Для засіву кожену колбу використовують бактеріальну суспензію, одержану з однієї пробірки. Культивують на качалках (220 об/хв) при температурі 30 ± 2 °С протягом 60 год, після чого здійснюють мікробіологічний контроль та визначають концентрацію біомаси, яка становить 2,5 г/л.

ТП 4.5. Вирощування інокуляту в інокуляторі об'ємом 6 л

В інокулятор (І-6) об'ємом 6 л з композицією Б (від ДР 2.2.2.) самоплином подають композицію А (від ДР 2.2.1.3.) та композицію В (від ДР 2.2.3.) і перемішують. Через засівну колбу вносять посівний матеріал від ТП 4.4, через барботер подають стерильне аераційне повітря (1 м³ повітря на 1 м³ середовища за 1 хв). Культивують при температурі 30 ± 2 °С з частотою

обертів перемішуючого пристрою 220 об/хв протягом 60 год. Кожні 4 год відбирають проби культуральної рідини і здійснюють мікробіологічний контроль посівного матеріалу та визначають концентрацію біомаси, яка становить 2,5 г/л .

ТП 4.6. Вирощування інокуляту в інокуляторі об'ємом 63 л

В інокулятор (I-15) об'ємом 63 л з композицією Б (від ДР 2.3.2.) насосом (Н-13) подають композицію А (від ДР 2.3.1.3.) та самоплином подають композицію В (від ДР 2.3.3.) і перемішують. Через трубу перетискування з інокулятора (I-6) перекачують посівний матеріал від ТП 4.5, через барботер подають стерильне аераційне повітря (1 м³ повітря на 1 м³ середовища за 1 хв). Культивують при температурі 30±2 °С з частотою обертів перемішуючого пристрою 220 об/хв протягом 60 год. Кожні 4 год відбирають проби культуральної рідини і здійснюють мікробіологічний контроль посівного матеріалу та визначають концентрацію біомаси, яка становить 2,5 г/л .

ТП 4.7. Вирощування інокуляту в інокуляторі об'ємом 630 л

В інокулятор (I-26) об'ємом 630 л з композицією Б (від ДР 2.4.2.) насосом (Н-21) подають композицію А (від ДР 2.4.1.3.) та насосом (Н-24) подають композицію В (від ДР 2.4.3.) і перемішують. Через трубу перетискування перекачують з інокулятора (I-15) інокулят від ТП 4.6, через барботер подають стерильне аераційне повітря (1 м³ повітря на 1 м³ середовища за 1 хв). Культивують при температурі 30±2 °С з частотою обертів перемішуючого пристрою 220 об/хв протягом 60 год. Кожні 4 год відбирають проби культуральної рідини і здійснюють мікробіологічний контроль посівного матеріалу та визначають концентрацію біомаси, яка становить 2,5 г/л .

ТП 5. Біосинтез

ТП 5.1. Виробниче культивування

Виробничий біосинтез цільового продукту відбувається у ферментері (Ф-41) об'ємом 5 м³. У ферментер (Ф-42) подається насосом (Н-37) композиція Б (від ДР 2.5.2.), насосом (Н-41) композиція А (від ДР 2.5.1.3.), та самоплином від реактора (Р-39) подається піногасник. Через трубу перетискування вносять інокулят (від ТП 4.7), через барботер подають стерильне аераційне повітря (1 м³ повітря на 1 м³ середовища за 1 хв). Для інтенсифікації синтезу антибіотика на 60 год культивування самоплином від реактора (Р-38) вносять валін та аргінін (від ДР 3.1.). Тривалість культивування складає 120 год при 30±2 °С з частотою обертів перемішуючого пристрою 600 об/хв. Кожні 4 год відбирають проби культуральної рідини і здійснюють мікробіологічний контроль посівного матеріалу та визначають концентрацію біомаси і антибіотику, яка повинна становити 5,0 і 5,4 г/л відповідно.

РОЗДІЛ 8

КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА

Мікробіологічний контроль проводять для забезпечення і підтримання необхідних умов для нормальної життєдіяльності мікроорганізмів, для контролю виробничого процесу і готової продукції, а також заради своєчасного виявлення контамінації та встановлення причин її появи.

Для промислового виробництва антибіотику тейкопланіну виконують періодичні відбори проб для мікробіологічного контролю поживних середовищ, посівного матеріалу, культуральної рідини під час біосинтезу, а також для контролю показників росту і біосинтезу: концентрації біомаси, концентрації тейкопланіну. Під час проведення мікробіологічного контролю необхідно дотримуватись асептичних умов відбору проб з апаратів для уникнення контамінації культуральної рідини сторонньою мікробіотою [71].

8.1. Мікробіологічний контроль стерильності поживних середовищ

Для проведення мікробіологічного контролю проводиться посів проби простерилізованого поживного середовища на чашки Петрі з м'ясо-пептонним агаром (МПА) – для виявлення бактерій, з сусло-агаром (СА) – для виявлення грибів і дріжджів. Відбирають пробу з простерилізованим поживним середовищем і здійснюють висів на відповідні агаризовані середовища. Потім відкривають кришку чашки Петрі і рівномірно, обертальними рухами за допомогою стерильної петлі розмазують суспензію по поверхні середовища. Далі чашки з посівами розміщують у термостаті при температурі 30 °С. Аналіз починають проводити після 6 годин інкубування. У результаті візуально визначають відсутність росту мікроорганізмів на поверхні поживних середовищ [71].

					<i>НУХТ БТЕК 04.01.04 КР ПЗ</i>			
Змн.	Арк.	№ документа	Підпис	Дата	РОЗДІЛ 8. КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА	Літера	Аркуш	Аркушів
Розроб.		<i>Золотар О.С.</i>					89	125
Перевір.		<i>Пирог Т.П.</i>						
Консультант								
Н. контр.								
Затверд.		<i>Стабніков В.П.</i>			Кафедра БТМ			

8.2. Мікробіологічний контроль чистоти культури

Мікробіологічний контроль відбувається двома шляхами: мікроскопіюванням та висівом на агаризовані поживні середовища.

Прямий висів виконують розсіюванням проби культуральної рідини на чашки Петрі з відповідним агаризованим поживним середовищем до ізольованих колоній. Для виявлення бактерій роблять висів на чашки Петрі з м'ясо-пептонним агаром (МПА), а для виявлення грибів і дріжджів роблять висів на чашки Петрі з сусло-агаром (СА) [71]. Для росту біологічного агенту використовують манітол-соєве середовище.

Висів на агаризоване середовище проводять методом виснажувального штриха розсіюванням культуральної рідини та посівного матеріалу до утворення ізольованих колоній. Зворотню частину чашки розділяють на сектори. Петлею з культурою роблять висів на першому секторі. Після чого петлю стерилізують на вогні і охолоджують впродовж 15 с. Далі петлею проводять по поверхні середовища в першому секторі і обережно, зигзагоподібними рухами розносять у інші сектори. Потім чашки інкубують в термостаті вверх дном.

Розміри колоній, утворених на манітол-соєвому агаризованому середовищі становлять 3-4 мм у діаметрі. Форма колоній *A. teichomyceticus* – чітко виражені правильні контури, наявний центральний куполоподібний виступ блідо-оранжевого кольору (рис. 8.1.)



Рис.8.1. Колонії *Actinoplanes teichomyceticus* на манітол-соєвому агаризованому середовищі [72].

Мікроскопіювання проводять таким чином: дотримуючись асептичних умов, на знежирене предметне скло бактеріологічною петлею наносять краплю культуральної рідини. Суспензію рівномірно розподіляють петлею, щоб отримати тоненький шар площею 1-2 см². Висушувати препарат слід за кімнатної температури на повітрі. Якщо мазок висихає повільно, препарат можна трохи нагріти в струмені теплого повітря високо над полум'ям пальника, тримаючи скло мазком догори. Цю операцію слід проводити дуже ретельно, оскільки не можна перегрівати мазок, інакше клітини мікроорганізмів деформуються. Далі обережно додають краплю імерсійного масла. Після чого мікроскопіюють з імерсійною системою на $\times 90$ [73].

Якщо у зразку відсутня стороння мікробіота, то можна побачити клітини *Actinoplanes teichomyceticus* (рис. 8.2). Клітини мають форму від сферичних до овальних, діаметром 1,5-2 мкм. Розташовані поодинокі, попарно або ланцюжками [74].



Рис. 8.2. Чорно-білий знімок клітин *Actinoplanes* у світловому мікроскопі [75].

8.3. Визначення концентрації біомаси

Певний об'єм (10-20 мл) культуральної рідини фільтрують через мембранні фільтри Dugarone (0,45 мкм), промивають біомасу на фільтрах дистильованою водою, висушують в мікрохвильовій печі протягом 12 хв і зважують після досягнення постійної ваги. Біомасу визначають як різницю між масою фільтра з біомасою і масою порожнього фільтра [76].

8.4. Визначення концентрації цільового продукту

Культуральну рідину підлужнюють до рН 10,0-11,5 і перемішують протягом 2 год при кімнатній температурі. Отриманий розчин фільтрують на мембранних фільтрах та розбавляють до відповідної концентрації для аналізу

високоєфективною рідинною хроматографією (ВЕРХ). Для визначення концентрації тейкопланіну використовують рідинний хроматограф фірми «Lab-Alliance» (США). Колонка Comatech C18, 5 мкм; Розмір: 250 × 4,6 мм, підключають до захисної колони C18; Рухома фаза: А 0,02% ацетат амонію/ацетонітрил = 95/5, В 0,02% ацетат амонію/ацетонітрил = 25/75; Початковими умовами були 32% елюенту В з лінійним градієнтом до 50% за 10 хв при швидкості потоку 1 мл/хв; Довжина хвилі УФ-детектора: 277 нм [81].

Обладнання для проведення аналізу:



Рис 8.3. Система ВЕРХ Agilent 1200 Series HPLC Systems [77].

Модульна та компактна конструкція системи ВЕРХ серії Agilent 1200 дозволяє користувачам налаштовувати її відповідно до своїх потреб, займаючи при цьому мінімальну кількість робочого місця. Ця система ВЕРХ має потужне поєднання швидкості, роздільної здатності та чутливості з високою пропускнуою здатністю та покращеною якістю результатів. В приладі Agilent серії HPLC 1200 використовується конструкція з подвійною лампою та контроль температури за допомогою діодних детекторів, що забезпечує виняткову чутливість. Це також поєднується з бінарним або четвертинним насосом високого тиску для гнучкої подачі розчинника та дегазатором для стабільної швидкості потоку. Термостатний автоматичний пробовідбірник цієї високоєфективної машини для рідинної хроматографії

має температурний діапазон від 4 до 40°C, а також високоефективний автоматичний пробовідбірник із діапазоном ін'єкції від 0,1 до 100 мкл [77].

Ці детектори пропонують такі функції та переваги [78]:

- Висока частота дискретизації до 160 Гц для швидкої роздільної здатності та надшвидкої ВЕРХ;
- Дейтерієва лампа для найвищої інтенсивності та найнижчої межі виявлення в діапазоні довжин хвиль від 190 до 600 нм;
- Додаткові картриджі з проточною кюветою, такі як стандартні (10 мм довжина шляху/14 мкл об'єм), високого тиску (10 мм/14 мкл), мікро (3 мм/2 мкл) і напівмікро (6 мм/5 мкл) доступні та можуть бути розгорнуті відповідно до потреб програми;
- Легкий передній доступ до проточної кювети та лампи для швидкої заміни;
- Проточна кювета та лампа з міткою RFID для безпечної ідентифікації кількості запалювань, загального часу горіння;
- Вбудований електронний контроль температури (ЕТС) для покращеної базової стабільності;
- Вбудований фільтр з оксиду гольмію для швидкої перевірки точності довжини хвилі.

8.5. Визначення концентрації джерела вуглецевого живлення (глюкози)

У складі поживного середовища для вирощування продуцента тейкопланіну джерелом вуглецевого живлення є глюкоза.

Глюкозу визначають за допомогою високоефективної рідинної хроматографії з використанням рідинного хроматографа Hewlett Packard 1050. Культуральну рідину центрифугують (5000 g, 10 хв), супернатант фільтрують через мембранні фільтри (0,2 мкм) і відфільтровану пробу вводять в колонку Aminex HPLC-87H (Bio-Rad, Hercules, CA), елюючи

ацетонітрилом 0,5 мл при 30°C зі швидкістю потоку 1 мл/хв. Детектування проводять детектором показника заломлення Кнауер К-2300 [79]

8.6. Визначення концентрації джерела азотного живлення (амінного азоту)

У складі поживного середовища джерелом азотного живлення є дріжджовий екстракт та пептон.

Вміст амінного азоту в пептоні та дріжджовому екстракті визначають методом формольного титрування Соренсона, який полягає в наступному: до аліквоти 20 мл супернатанту культури, взятого в чисту конічну ємність, додають 5 мл НСНО і витримують 2 хв. Потім додають кілька крапель індикатора фенолфталеїну та титрують NaOH до появи постійного блідо-рожевого кольору [80].

8.7 Карта постадійного контролю

ДР 1. Підготовка аераційного повітря

ДР 1.1. Забір атмосферного повітря

ДР 1.2. Очищення від грубих домішок

ДР 1.3. Компресування повітря

ДР 1.4. Охолодження повітря та виділення з нього вологи

ДР 1.5. Нагрівання повітря

ДР 1.6. Очищення повітря в головному фільтрі

ДР 1.7. Очищення повітря в індивідуальному фільтрі

ДР 2. Приготування та стерилізація поживних середовищ

ДР.2.1. Приготування та стерилізація поживного середовища для вирощування інокуляту у колбах на качалках

ДР 2.1.1. Приготування і стерилізація композиції А

ДР 2.1.2. Приготування і стерилізація композиції Б

ДР 2.1.3. Приготування і стерилізація композиції В

ДР 2.2. Приготування і стерилізація поживного середовища для вирощування інокуляту в посівному апараті об'ємом 6 л.

ДР 2.2.1. Приготування і стерилізація композиції А

ДР 2.2.1.1. Заварювання кукурудзяного та соєвого борошна

ДР 2.2.1.2. Приготування розчину глюкози, пептону та дріжджового екстракту

ДР 2.2.1.3. Стерилізація композиції А

ДР 2.2.2. Приготування і стерилізація композиції Б

ДР 2.2.3. Приготування і стерилізація композиції В

ДР 2.3. Приготування і стерилізація поживного середовища для вирощування інокуляту в посівному апараті об'ємом 63 л.

ДР 2.3.1. Приготування і стерилізація композиції А

ДР 2.3.1.1. Заварювання кукурудзяного та соєвого борошна

ДР 2.3.1.2. Приготування розчину глюкози, пептону та дріжджового екстракту

ДР 2.3.1.3. Стерилізація композиції А

ДР 2.3.2. Приготування і стерилізація композиції Б

ДР 2.3.3. Приготування і стерилізація композиції В

ДР 2.4. Приготування і стерилізація поживного середовища для вирощування інокуляту в посівному апараті об'ємом 630 л.

ДР 2.4.1. Приготування і стерилізація композиції А

ДР 2.4.1.1. Заварювання кукурудзяного та соєвого борошна

ДР 2.4.1.2. Приготування розчину глюкози, пептону та дріжджового екстракту

ДР 2.4.1.3. Стерилізація композиції А

ДР 2.4.2. Приготування і стерилізація композиції Б

ДР 2.4.3. Приготування і стерилізація композиції В

ДР 2.5. Приготування і стерилізація поживного середовища для виробничого біосинтезу у ферментері об'ємом 5000 л.

ДР 2.5.1. Приготування і стерилізація композиції А

ДР 2.5.1.1. Заварювання кукурудзяного та соєвого борошна

ДР 2.5.1.2. Приготування розчину глюкози, пептону та дріжджового екстракту і $MgSO_4 \cdot 7H_2O$

ДР 2.5.1.3. Змішування компонентів композиції А

ДР 2.5.1.4. Стерилізація композиції А в УБС

ДР 2.5.2. Приготування і стерилізація композиції Б

ДР 3. Приготування та стерилізація розчинів амінокислот для інтенсифікації синтезу тейкопланіну на етапі виробничого біосинтезу

ДР 3.1. Приготування та стерилізація розчинів аргініну та валіну

ТП 4. Підготовка посівного матеріалу

ТП 4.1. Підтримання колекційної культури

ТП 4.2. Одержання робочої культури

ТП 4.3. Вирощування інокуляту на агаризованих поживних середовищах

ТП 4.4. Вирощування інокуляту в колбах на качалках

ТП 4.5. Вирощування інокуляту в інокуляторі об'ємом 6 л

ТП 4.6. Вирощування інокуляту в інокуляторі об'ємом 63 л

ТП 4.7. Вирощування інокуляту в інокуляторі об'ємом 630 л

ТП 5. Біосинтез

ТП 5.1. Виробниче культивування

Карта постадійного контролю біосинтезу тейкопланіну

Номер контрольної точки та назва стадії	Об'єкт контролю і показник, що визначається	Засоби та методи контролю	Періодичність перевірки та порядок відбору проб	Нормативна характеристика показника, що визначається
1	2	3	4	5
<i>Кт 1.1 Забір атмосферного повітря</i>	Рівень забору повітря	-	Весь цикл виробництва	Найвища точка відділення підготовки повітря, Н=17 м
<i>Кт 1.2 Попереднє очищення від грубих домішок</i>	Повітря після проходження фільтра грубого очищення, тиск, ступінь очищення	Манометр, перевірка ступеня очищення повітря згідно паспорту фільтра	Після проходження фільтра грубого очищення	Е = 90%, Тиск згідно паспорту
<i>Кт 1.3 Компресування повітря</i>	Стиснене повітря, тиск, температура	Манометр технічний, термометр	Після компресування повітря	Р = 0,4 МПа t = 120-220°C
<i>Кт 1.4 Охолодження повітря та видалення вологи</i>	Охоложене повітря, температура, вологість	Термометр, психрометр	Повітря після охолодження та видалення вологи	t = 25-30 °С, W = 60-70%
<i>Кт 1.5 Нагрівання повітря</i>	Нагріте повітря, температура	Термометр	Повітря після нагріву	t = 35-40 °С
<i>Кт 1.6 Очищення повітря в головному фільтрі</i>	Повітря після проходження головного фільтра, ступінь очищення	Згідно з паспортом фільтра	Повітря після проходження через головний фільтр	Е=95%
<i>Кт 1.7 Очищення повітря в індивідуальному фільтрі</i>	Повітря після проходження індивідуального фільтра, ступінь очищення, мікробіологічна чистота	Згідно з паспортом фільтра, мікробіологічний контроль	Повітря після проходження через індивідуальний фільтр	Е=99,999%, КУО - 0

Продовження таблиці 8.1

<i>Км 2.2.1.1, 2.3.1.1, 2.4.1.1, 2.5.1.1</i> <i>Заварювання кукурудзяного та соєвого борошна</i>	Кукурудзяне та соєве борошно, температура, час приготування	Годинник, термометр	Під час приготування	t = 70-90 °С, T = 40 хв
<i>Км 2.2.1.2, 2.3.1.2, 2.4.1.2</i> <i>Приготування розчину глюкози, пептону та дріжджового екстракту</i>	Термолабільні речовини, температура та час приготування	Годинник, термометр	Під час приготування	t = 40 °С, T = 30 хв
<i>Км 2.5.1.2</i> <i>Приготування розчину глюкози, пептону та дріжджового екстракту і MgSO₄ · 7H₂O</i>	Термолабільні речовини, MgSO ₄ · 7H ₂ O, температура та час приготування	Годинник, термометр	Під час приготування	t = 40 °С, T = 30 хв
<i>Км, Км 2.1.1</i> <i>Приготування та стерилізація композиції А</i>	Композиція А Температура, тиск, час, стерильність	Годинник, манометр, мікробіологічний контроль	Тиск контролюють весь час під час стерилізації, мікробіологічний контроль після стерилізації	t = 112°С, T=30 хв, p=0,05 МПа, відсутність мікробіоти
<i>Км, Км 2.2.1.3, 2.3.1.3, 2.4.1.3</i> <i>Стерилізація композиції А</i>	Композиція А Температура, тиск, час, стерильність	Годинник, термометр, мікробіологічний контроль	Температуру контролюють весь час під час стерилізації, мікробіологічний контроль після стерилізації	t = 112°С, T=30 хв, p=0,05 МПа, відсутність мікробіоти
<i>Км, Км 2.5.1.3</i> <i>Стерилізація композиції А в УБС</i>	Композиція А Температура, тиск, час, стерильність	Годинник, термометр, мікробіологічний контроль	Температуру контролюють весь час під час	t = 131°С, T=5-7 хв, p=0,05 МПа,

Продовження таблиці 8.1

			стерилізації, мікробіологічний контроль після стерилізації	відсутність мікробіоти
<i>Кт, Км 2.1.2, 2.2.2, 2.3.2, 2.4.2</i> <i>Приготування та стерилізація композиції Б</i>	Композиція Б ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$) Температура, тиск, час, стерильність	Годинник, термометр, мікробіологічний контроль	Температуру контролюють весь час під час стерилізації, мікробіологічний контроль після стерилізації	$t = 131^\circ C$, $T = 40$ хв, $p = 0,15$ МПа, відсутність мікробіоти
<i>Кт, Км 2.1.3, 2.2.3, 2.3.3, 2.4.3</i> <i>Приготування та стерилізація композиції В</i>	Композиція В ($CaCO_3$) Температура, тиск, час, стерильність	Годинник, термометр, мікробіологічний контроль	Температуру контролюють весь час під час стерилізації, мікробіологічний контроль після стерилізації	$t = 131^\circ C$, $T = 40$ хв, $p = 0,15$ МПа, відсутність мікробіоти
<i>Кт, Км 2.5.2</i> <i>Приготування та стерилізація композиції Б</i>	Композиція Б ($CaCO_3$) Температура, тиск, час, стерильність	Годинник, термометр, мікробіологічний контроль	Температуру контролюють весь час під час стерилізації, мікробіологічний контроль після стерилізації	$t = 131^\circ C$, $T = 40$ хв, $p = 0,15$ МПа, відсутність мікробіоти
<i>Кт, Км 3.1</i> <i>Приготування та стерилізація розчинів аргініну та валіну</i>	Розчин аргініну та валіну Температура, тиск, час, стерильність	Годинник, термометр, мікробіологічний контроль	Температуру контролюють весь час під час стерилізації, мікробіологічний контроль після стерилізації	$t = 112^\circ C$, $T = 30$ хв, $p = 0,05$ МПа, відсутність мікробіоти
<i>Кт, Км 4.1</i> <i>Підтримання колекційної культури</i>	Колекційна культура <i>Actinoplanes teichomyceticus</i> S-45, температура, мікробіологічна чистота	Датчик температури, мікробіологічний контроль	Мікробіологічний контроль здійснюється кожні 2- 3 місяці	$t = 4^\circ C$ відсутність сторонньої мікробіоти

Продовження таблиці 8.1

<i>Кт, Км 4.2</i> <i>Одержання робочої культури</i>	Робоча культура <i>Actinoplanes teichomyceticus</i> S-45, мікробіологічна чистота	Термометр, годинник, мікробіологічний контроль	Мікробіологічний контроль після вирощування культури	t = 30 ± 2 °С, Т = 48 год, відсутність сторонньої мікробіоти
<i>Кт, Км 4.3</i> <i>Вирощування культури на агаризованих поживних середовищах</i>	Робоча культура <i>Actinoplanes teichomyceticus</i> S-45, температура, тривалість вирощування, мікробіологічна чистота	Термометр, годинник, мікробіологічний контроль	Мікробіологічний контроль після вирощування культури	t = 30 ± 2 °С, Т = 24 год, відсутність сторонньої мікробіоти
<i>Кт, Км 4.4</i> <i>Вирощування культури в колбах на качалках</i>	Посівний матеріал Температура, тривалість вирощування, обертова частота качалки	Годинник, технічний тахометр та термометр, мембранні фільтри Dugaroge, електронні ваги, мікробіологічний контроль	Температура контролюються під час культивування, мікробіологічний контроль та концентрація біомаси визначаються після культивування	t = 30±2 °С, Т = 60 хв, n=220 об/хв, X=2,5 г/л відсутність сторонньої мікробіоти
<i>Кт, Км 4.5</i> <i>Вирощування інокуляту в інокуляторі об'ємом 6 л</i>	Посівний матеріал Температура, тривалість вирощування, частота обертів мішалки, витрати повітря, мікробіологічна чистота, концентрація біомаси	Датчик температури, годинник, тахометр, ротаметр, мембранні фільтри Dugaroge, електронні ваги мікробіологічний контроль	Температура контролюються під час культивування, мікробіологічний контроль та концентрацію біомаси визначають кожні 4 години	t = 30±2 °С, Т = 60 хв, n=220 об/хв, X=2,5 г/л відсутність сторонньої мікробіоти
<i>Кт, Км 4.6</i> <i>Вирощування інокуляту в інокуляторі об'ємом 63 л</i>	Посівний матеріал Температура, тривалість вирощування, частота обертів мішалки, витрати повітря, мікробіологічна чистота, концентрація біомаси	Датчик температури, годинник, тахометр, ротаметр, мембранні фільтри Dugaroge, електронні ваги, мікробіологічний контроль	Температура контролюються під час культивування, мікробіологічний контроль та концентрацію біомаси визначають кожні 4 години	t = 30±2 °С, Т = 60 хв, n=220 об/хв, X=2,5 г/л відсутність сторонньої мікробіоти

Закінчення таблиці 8.1

<p><i>Кт, Км 4.7</i> <i>Вирощування інокуляту в інокуляторі об'ємом 630 л</i></p>	<p>Посівний матеріал Температура, тривалість вирощування, частота обертів мішалки, витрати повітря, мікробіологічна чистота, концентрація біомаси</p>	<p>Датчик температури, годинник, тахометр, ротаметр, мембранні фільтри Dugaroge, електронні ваги, мікробіологічний контроль</p>	<p>Температура контролюються під час культивування, мікробіологічний контроль та концентрацію біомаси визначають кожні 4 години</p>	<p>$t = 30 \pm 2 \text{ } ^\circ\text{C}$, $T = 60 \text{ хв}$, $n = 220 \text{ об/хв}$, $X = 2,5 \text{ г/л}$ відсутність сторонньої мікробіоти</p>
<p><i>Кт, Км, Кх 5.1</i> <i>Виробниче культивування у ферментері об'ємом 5 м³</i></p>	<p>Культуральна рідина Температура, тривалість вирощування, частота обертів мішалки, витрати повітря, мікробіологічна чистота, концентрація біомаси та тейкопланіну</p>	<p>Датчик температури, годинник, тахометр, ротаметр, мембранні фільтри Dugaroge, система високоефективної рідинної хроматографії Agilent 1200, електронні ваги, мікробіологічний контроль</p>	<p>Температура, вимірюються та підтримуються автоматично під час культивування, мікробіологічний контроль та концентрації біомаси та тейкопланіну визначаються кожні 4 години та після культивування</p>	<p>$t = 30 \pm 2 \text{ } ^\circ\text{C}$, $T = 120 \text{ хв}$, $n = 600 \text{ об/хв}$, $X = 5 \text{ г/л}$ $P = 5,4 \text{ г/л}$ відсутність сторонньої мікробіоти</p>

РОЗДІЛ 9

ОХОРОНА ДОВКІЛЛЯ

Упровадження біотехнологій дає можливість випускати екологічно безпечну продукцію за рахунок знешкодження різних забруднювачів, перетворюючи їх на менш агресивні для довкілля компоненти. Тому важливим є дотримання екологічної політики для покращення екологічного стану навколишнього середовища.

9.1 Аналіз технологічної схеми проектованого біотехнологічного виробництва

Технологічний процес одержання тейкопланіну складається з допоміжних (санітарна підготовка виробництва, підготовка аераційного повітря, приготування та стерилізація поживного середовища) та основних робіт (вирощування інокуляту в колбах на качалках, інокуляторі та посівному апараті, виробничого біосинтезу).

1. Санітарна підготовка виробництва

Цей етап включає щоденне та генеральне прибирання приміщень. А саме обробка усіх поверхонь (стіни, двері, вікна, підлога), інвентарю, а також мийка обладнання (за допомогою СІР-станцій). Для підготовки виробництва використовуємо досить значні об'єми мийно-дезінфікуючого засобу – “Бланідас 300”. Вода разом з відпрацьованими дезінфікуючими розчинами, після обробки обладнання та приміщення, надходить до каналізації, а потім має піддатися очистці та вийти за межі заводу.

Підсумовуючи, можна сказати, що даний етап виступає місцем емісії великої кількості рідких відходів.

<i>НУХТ БТЕК 04.01.04 КР ПЗ</i>				
Змн.	Арк.	№ документа	Підпис	Дата
Розроб.		<i>Золотар О.С.</i>		
Перевір.		<i>Пирог Т.П.</i>		
Консультант				
Н. контр.				
Затверд.		<i>Стабніков В.П.</i>		
РОЗДІЛ 9. ОХОРОНА ДОВКІЛЛЯ				
Літера		Аркуш	Аркушів	
		103	125	
Кафедра БТМ				

2. Підготовка аераційного повітря

Оскільки *Actinoplanes teichomyceticus* S-45 є аеробом, для кращого біосинтезу йому необхідне забезпечення розчиненим киснем. Тому процес культивування буде супроводжуватися утворення великого об'єму відпрацьованого повітря.

Можна зробити висновок, що даний етап виступає місцем емісії великої кількості газоподібних відходів.

3. Приготування розчинів для інтенсифікації на етапі виробничого культивування

Розчини для інтенсифікації на етапі виробничого біосинтезу представлені розчинами валіну та аргініну. Відходи можуть утворитися лише в тому випадку, коли на підприємстві знаходяться розчини, які втратили свої фізико-хімічні властивості у зв'язку з невідповідними умовами зберігання, але утворення некондиції на даному етапі можна й уникнути шляхом забезпечення відповідних умов зберігання.

З цього можна підсумувати, що на даному етапі не передбачається утворення відходів, тому цей етап відноситься до місць емісії незначної кількості рідких відходів.

4. Підготовка та стерилізація поживних середовищ

Поживне середовище, приготоване на даному етапі, передається на вирощування інокуляту та виробниче культивування. Утворення відходів можливе лише у тому випадку, якщо використовувані компоненти не відповідають показникам якості. Таку сировину списують як браковану. Також, варто зазначити, що присутні тверді відходи у вигляді пакувальних матеріалів сировини (мішки, тара), які надходять на склад підприємства.

Тоді, у випадку, якщо сировина не відповідає нормам, та за наявності пакувальних матеріалів, цей етап можна віднести до місцем емісії твердих відходів. Також, якщо наявні рідкі компоненти, то даний етап виступає місцем емісії незначної кількості рідких відходів.

5. Підготовка посівного матеріалу

Даний етап передбачає вирощування посівного матеріалу в колбах, збірниках та реакторах, з подальшим засівом в ферментер, відповідно для виробничого культивування.

Тому, можна зробити висновок, що відходи посівного матеріалу не зараховуємо до загальних рідких відходів.

б. Виробничий біосинтез

На даному етапі відбувається накопичення цільового продукту продуцента, тобто самої біомаси в культуральній рідині, яка далі надходить у збірник. Рідкі відходи на даному етапі не утворюються, але утворюються газоподібні відходи, які є наслідком виходом з ферментера відпрацьованого повітря.

Тому, передбачаємо, що на даний етап виступає місцем емісії газоподібних відходів.

9.2 Перспективи впровадження системи екологізації виробництва

Сучасний стан довкілля потребує конкретних дій від людства та світової наукової спільноти. Основним інструментом запобігання та вирішення екологічних проблем має стати екологізація країни, в аспекті стратегічного її розвитку, що в подальшому буде серед пріоритетних завдань на регіональному та локальному рівнях. Саме це стимулюватиме бізнес та населення розвивати напрями екологізації у своїй діяльності.

Теоретичний зміст екологізації не обмежується лише впливом на екологічну складову, а має досить багатовекторний спектр, зокрема формування свідомості та відповідальності суспільства, різноманітність соціально-економічної діяльності та зв'язок між техніко-технологічною та економічною складовими безпеки бізнесу. Це створює підґрунтя для практичного його змісту, що підтверджується основними перевагами, які отримає бізнес від впровадження заходів екологізації у свою діяльність, зокрема зменшення відходів та обсягів забруднення, розвиток інклюзивних

економічних та соціальних інститутів та покращення фінансової, екологічної та кадрово-інтелектуальної підсистем безпеки бізнесу.

Переваги впровадження екологізації на підприємстві:

Економічні переваги: – зменшення витрат;

- збільшення прибутку;
- розширення клієнтської бази;
- освоєння нових ринків збуту;

Екологічні переваги: – покращення стану навколишнього середовища;

- зменшення відходів та обсягів забруднення;
- орієнтація на «зелені ринки»;
- покращення якості продукції;

Соціальні переваги: – створення соціальної інфраструктури;

- формування концепції «свідомого користування» у споживачів;
- забезпечення сталого розвитку;
- розвиток інклюзивних економічних та соціальних інститутів;

9.3 Розрахунок об'ємів стічних вод

До рідких відходів під час виробництва антибіотику тейкопланіну відносяться:

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

Розрахуємо залишки мийних та дезінфікуючих залишків. Миття обладнання будемо здійснювати за рахунок циркуляційної СІР-мийки, для цього готуються робочі розчини миючих засобів з розрахунком 20-30% від об'єму ємкісного обладнання.

Зі специфікації обладнання необхідно виписати реактори, які будуть піддаватися миттю та стерилізації:

- Реактор (Р-9) на 5 л для приготування та стерилізації композиції А;
- Інокулятор (І-10) об'ємом 6 л для вирощування інокуляту в посівному апараті об'ємом 6 л;

- Реактор (P-12) на 20 л для приготування та стерилізації композиції А;
- Реактор (P-14) на 5 л для приготування та стерилізації композиції В;
- Інокулятор (I-15) об'ємом 63 л для вирощування інокуляту в посівному апараті об'ємом 63 л;
- Реактор (P-20) на 200 л для приготування та стерилізації композиції А;
- Реактор (P-17) на 20 л для приготування термолабільних компонентів композиції А;
- Реактор (P-23) на 50 л для приготування та стерилізації композиції В;
- Інокулятор (I-26) об'ємом 630 л для вирощування інокуляту в посівному апараті об'ємом 630 л;
- Реактор (P-29) на 200 л для приготування термолабільних компонентів композиції А;
- Реактор (P-33) на 2000 л для приготування та стерилізації композиції А;
- Реактор (P-36) на 500 л для приготування та стерилізації композиції В;
- Реактор (P-38) на 2 л для приготування та стерилізація розчинів аргініну та валіну для інтенсифікації під час виробничого біосинтезу;
- Ферментер (Ф-41) об'ємом 5000 л для виробничого біосинтезу.

Таким чином, загальний об'єм ємностей становить: $V_{\text{ємностей}} = V_{P-9} + V_{I-10} + V_{P-12} + V_{P-14} + V_{I-15} + V_{P-17} + V_{P-20} + V_{P-23} + V_{I-26} + V_{P-29} + V_{P-33} + V_{P-36} + V_{P-38} + V_{\text{Ф-41}} = 0,005 + 0,006 + 0,02 + 0,005 + 0,063 + 0,2 + 0,02 + 0,05 + 0,63 + 0,2 + 2 + 0,5 + 0,002 + 5 = 8,701 \text{ м}^3$ або 8701 л.

Звідси об'єм засобів для миття та/або дезінфекції становить:

$$V_{\text{засобів}} = V_{\text{ємностей}} \times 0,2 = 8701 \text{ л} \times 0,2 = 1740,2 \text{ л, або}$$

$$V_{\text{засобів}} = V_{\text{ємностей}} \times 0,3 = 8701 \text{ л} \times 0,3 = 2610,3 \text{ л}$$

Прийmemo об'єм відпрацьованих залишків дезінфікуючих засобів рівному об'єму цих засобів: 1740,2 л – 2610,3 л.

Розрахуємо об'єм відпрацьованої води після ополіскування обладнання. Об'єм води, яка йде на ополіскування обладнання також складає 20-30% від

об'єму ємнісного обладнання. Тому ця кількість води складає 1740,2 л – 2610,3 л.

Тепер можемо розрахувати сумарну кількість стічних вод за один цикл:
 $2610,3 \text{ л} + 2610,3 \text{ л} = 5220,6 \text{ л}$ або $5,22 \text{ м}^3$.

Згідно з ТЕО річна потужність підприємства становить 3089 кг тейкопланіну, а кількість трудоднів 330 днів. Далі знаходимо кількість одиниць продукту що виробляється за день:

$$3089 \text{ кг} / 330 = 9,36 \text{ кг/добу}$$
 або $0,00936 \text{ т/добу}$.

Визначимо середні витрати виробничих стічних вод за зміну (Q_v):

$$Q_v = q_v \times n,$$

де q_v - норма водовідведення в м^3 на одиницю продукції, яку випускає підприємство (показник становить $2500 \text{ м}^3/\text{т}$);

n - кількість одиниць продукції, що виробляється за зміну (розраховується у масових одиницях випуску готової продукції на добу).

$$Q_v = 2500 \times 0,00936 = 23,4 \text{ м}^3/\text{добу}.$$

Середні за зміну витрати побутових стічних вод (Q_n):

$$Q_n = q_n \times N,$$

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

N - кількість робітників, що працюють у зміну. Припустимо, що $N = 8$ (майстер зміни, мікробіолог, технолог, 2 апаратчики, 2 прибиральники, оператор).

$$Q_n = 0,025 \times 8 \text{ людей} = 0,2 \text{ м}^3/\text{зм}.$$

Перерахунок даного показника на добу:

$$(0,2 \times 3 \times 24) / 8 = 1,8 \text{ м}^3/\text{добу},$$

де 3 - кількість змін на добу;

24 - кількість годин у добі;

8 - тривалість однієї зміни, год.

Загальна витрата стічних вод, що утворюються на підприємстві (Q_a).

Орієнтовно можна прийняти у об'ємах у 5-30 разів меншому за витрати побутових стічних вод:

$$Q_a = Q_{\text{п}} / 5 = 0,2 / 5 = 0,04 \text{ м}^3/\text{добу}.$$

Загальні витрати стічних вод, що утворюються на підприємстві ($Q_{\text{доб заг}}$):

$$Q_{\text{доб заг}} = Q_{\text{в}} + Q_{\text{п}} + Q_a = 23,4 \text{ м}^3/\text{добу} + 1,8 \text{ м}^3/\text{добу} + 0,04 \text{ м}^3/\text{добу} = 25,24 \text{ м}^3/\text{добу},$$

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

Визначаємо загальні годинні витрати:

$$Q_{\text{год заг}} = Q_{\text{доб заг}} / 24 = 25,24 / 24 = 1,05 \text{ м}^3/\text{год}.$$

Визначаємо загальні секундні витрати:

$$Q_{\text{сек заг}} = Q_{\text{год заг}} / 3600 = 1,05 / 3600 = 0,00029 \text{ м}^3/\text{сек}.$$

Розраховуємо максимальні і мінімальні витрати стічної води, що надходять на малі очищувальні споруди:

$$Q_{\text{доб max}} = K_{\text{max}} \times Q_{\text{доб заг}} = 1,45 \times 25,24 = 36,598 \text{ м}^3/\text{добу}.$$

де $K_{\text{max}} = 1,45$ – коефіцієнт максимальної добової нерівномірності притоку стічної води на малі очищувальні споруди, який залежить від середніх витрат побутових стічних вод.

Визначаємо максимальні годинні витрати стічної води:

$$Q_{\text{год max}} = Q_{\text{доб max}} / 24 = 36,598 / 24 = 1,525 \text{ м}^3/\text{год}.$$

Визначаємо максимальні секундні витрати стічної води:

$$Q_{\text{сек max}} = Q_{\text{год max}} / 3600 = 1,525 / 3600 = 0,000424 \text{ м}^3/\text{сек}.$$

Визначаємо мінімальні добові витрати стічної води:

$$Q_{\text{доб min}} = K_{\text{min}} \times Q_{\text{доб заг}} = 0,5 \times 25,24 = 12,62 \text{ м}^3/\text{добу}.$$

Де $K_{\text{min}} = 0,5$ – коефіцієнт мінімальної добової нерівномірності притоку стічних вод на малі очищувальні споруди.

Визначаємо мінімальні годинні витрати стічної води:

$$Q_{\text{год min}} = Q_{\text{доб min}} / 24 = 12,62 / 24 = 0,526 \text{ м}^3/\text{год}.$$

Визначаємо мінімальні секундні витрати стічної води:

$$Q_{\text{сек min}} = Q_{\text{год min}} / 3600 = 0,526 / 3600 = 0,000146 \text{ м}^3/\text{сек.}$$

9.4 Система очищення стічних вод

Згідно розрахунків було обраховано, що за добу утворюється 25,24 м³/добу стічних вод. Тому для очищення стічних вод можемо використати установку СПБО-40 (Рис 9.4.1), виробником якої є українська компанія «Промтехвод», вона призначена для очищення стічних вод об'ємом до 40 м³/добу. Модульна станція «СПБО-40» призначена для біологічного очищення господарсько-побутових і попередньо очищених виробничих стічних вод. Дана установка виконана в заводських умовах згідно ТУ У 16458959-005-99 і являє собою металеву ємність зі спеціальним захисним покриттям. Модульна станція «СПБО-40» розділена на технологічні зони, у верхній частині обладнана кришками для монтажу обладнання та його технічного обслуговування. Вид кліматичного виконання модульної станції УХЛ4, для роботи при температурі навколишнього повітря 12-35 °С і відносній вологості до 80 %. Габаритні розміри установки: 3,1 x 1,5 x 1,5 м; встановлена потужність – 1,8 кВт; споживча потужність – 3,5 кВт [82].



Рис 9.4.1 Установка біологічної очистки стічних вод СПБО-40 [82].

Переваги даної установки [82]:

- Аерація та перемішування суміші стічних вод з активним мулом здійснюється занурювальним електромеханічним аератором, який дозволяє підтримувати високу концентрацію активного мулу в зоні аерації та не потребує влаштування систем подачі та розподілу повітря;

- Висока концентрація активного мулу в зоні аерації забезпечує стійкий буферний ефект при залповому надходженні стічних вод, особливо з високими значеннями БПКп;
- Наявність двох ступенів освітлення для кожного блоку очищення забезпечує додаткове підвищення якості очищеної води та виключає необхідність пристрою вторинних відстійників.;
- Знижене споживання електроенергії, в порівнянні з традиційної технологічної схеми очищення стічних вод.

Опис технологічного процесу очищення стічних вод установки СПБО-40:

В установках СПБО реалізовано 7 етапна технологія глибокої біологічної очистки та знезаражування стічних вод.

1. Подача стічних вод на блок «СПБО»

Стічні води подаються безпосередньо в блок «СПБО» прямо на вузол механічного очищення.

При нерівномірній подачі стічні води надходять в накопичувальну ємність яка служить насосною станцією. З накопичувальної ємності за допомогою фекального насоса стічні води направляються в блок повного біологічного очищення «СПБО» [39].

2. Механічне очищення

Стічні води подаються в блок механічного очищення (I-крок) де видаляються великі забруднення.

3. Аерація й перемішування

Після блоку механічного очищення стічні води самопливом надходять у зону аерації (II крок), де здійснюється їхнє безперервне перемішування з активним мулом і насичення киснем повітря за допомогою заглибленого електромеханічного аератора [83].

4. Освітління стічних вод

Освітління стічних вод передбачене у двох камерах відстоювання (III та IV крок), які становлять єдине ціле із зоною аерації. Стічна рідина протікає

через обидві секції відстоювання самопливом, при цьому осаджений мул з першої секції відстоювання повертається в зону аерації безперервно під дією гідродинамічних сил. Активний мул із другої камери відстоювання всмоктується в зону аерації безпосередньо аератором [83].

5. Знезаражування й доочищення стічних вод

Освітлені стічні води із другої камери відстоювання самопливом надходять у вузол знезаражування (V крок). Після вузла знезаражування вод направляється на зернистий фільтр, що самопромивається, доочистки (VI крок) и поступає в контактну камеру (VII крок) [83].

6. Мулове господарство

Осад із блоку «СПБО» самопливом надходить в муловий колодязь або на установку зневоднювання осаду. Щодобовий обсяг, осідання орієнтовно приймається в кількості 1% від кількості поступаючих стічних вод, і уточнюється в процесі експлуатації. З мулового колодязя осад періодично, один раз у кілька тижнів (місяців) видаляється й вивозиться асенізаційним автомобілем. Кількість і періодичність видалення осаду з мулового колодязя уточнюється в період пусконаладжувальних робіт [83].

9.5 Розрахунок об'ємів газоподібних відходів

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

- Отримання посівного матеріалу *Actinoplanes teichomyceticus* S-45 в інокуляторі об'ємом 6 л;
- Отримання посівного матеріалу *A. teichomyceticus* S-45 в інокуляторі об'ємом 63 л;
- Отримання посівного матеріалу *A. teichomyceticus* S-45 в інокуляторі об'ємом 630 л;
- Виробничий біосинтез антибіотику у ферментері об'ємом 5000 л (5 м³).

1) В інокуляторі об'ємом 6 л: робочий об'єм становить 3,23 л, отже аераційного повітря потрібно 6,46 л/хв, тобто 387,6 л/год. Процес отримання посівного матеріалу *A. teichomyceticus* S-45 триває 60 годин, для цього необхідно відповідно 23256 л аераційного повітря на виробничий цикл.

2) В інокуляторі об'ємом 63 л: робочий об'єм становить 29,7 л, отже аераційного повітря потрібно 59,4 л/хв, тобто 3564 л/год. Процес отримання посівного матеріалу *A. teichomyceticus* S-45 триває 60 годин, для цього необхідно відповідно 213840 л аераційного повітря на виробничий цикл.

3) В інокуляторі об'ємом 630 л: робочий об'єм становить 260 л, отже аераційного повітря потрібно 520 л/хв, тобто 31200 л/год. Процес отримання посівного матеріалу *A. teichomyceticus* S-45 триває 60 годин, для цього необхідно відповідно 1872000 л аераційного повітря на виробничий цикл.

4) В ферментері об'ємом 5000 л: робочий об'єм становить 2400 л, отже аераційного повітря потрібно 4800 л/хв, тобто 288000 л/год. Процес отримання посівного матеріалу *A. teichomyceticus* S-45 триває 60 годин, для цього необхідно відповідно 17280000 л аераційного повітря на виробничий цикл.

У сумі $23,2 \text{ м}^3 + 213,8 \text{ м}^3 + 1872 \text{ м}^3 + 17280 \text{ м}^3 = 19389 \text{ м}^3$ відпрацьованого повітря за цикл. Для очищення та знешкодження повітря встановлюємо біоскрубер.

Біоскрубери для очищення відпрацьованих газів характеризуються фізичним розділенням абсорбції летких сполук у воду та подальшим біологічним очищенням води в двох блоках. Відпрацьований газ очищається в абсорбері, газорідинному контакторі, в якому забруднюючі речовини переносяться з газової фази у водну. Переважним для цієї мети газорідинним контактором є абсорбційна колона з насадковим шаром і протиточним потоком газу та води. Вода, що виходить з абсорбера, насичена розчиненими забруднювачами, регенерується шляхом біологічного очищення в біореакторі. Загалом цей біореактор являє собою резервуар, аерований бульбашками повітря та містить зважений активний мул, значно більшого

об'єму, ніж абсорбер. Очищена вода знову повертається у верхню частину абсорбера. На малюнку 9.5.1 можна знайти креслення біоскруббера з задіяними операціями агрегату. Щоб гарантувати активність мікробного біодеградації, живильний розчин слід додати до водної фази. Крім того, можна додавати титранти (кислоту або луг) для контролю рН водної фази, що може бути необхідним для оптимальної біологічної активності та/або оптимального процесу поглинання. Оскільки суспендована біомаса та розчинені сполуки можуть накопичуватися у водній фазі, необхідно створити потік стічних вод. Для поповнення втраченої та випарованої води регулярно або постійно додається свіжа вода. Крім летючих сполук у водній фазі поглинаються також пил і аерозолі. Якщо у водній фазі очікуються занадто високі концентрації часток, через цей процес поглинання твердих часток, частинки в газовій фазі можуть бути видалені фільтром або окремим скруббером перед біоскруббером [84].

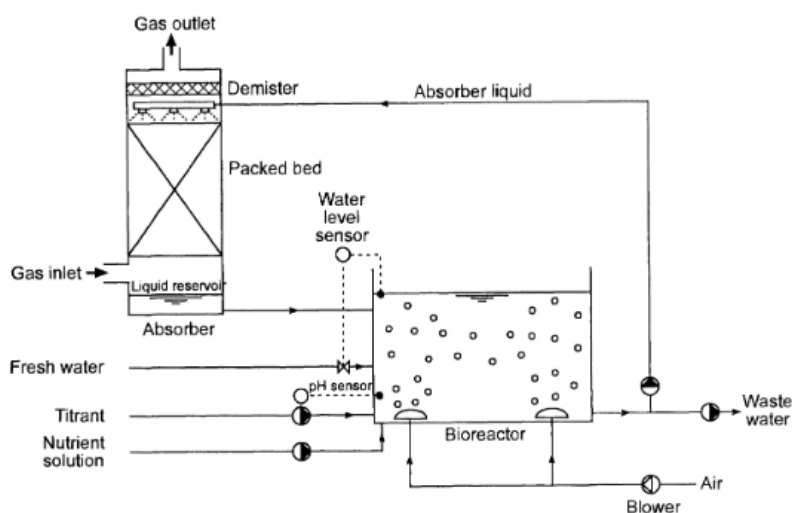


Рис 9.4.1 Конструкція роботи біоскруббера [84].

9.6 Розрахунок об'ємів твердих відходів

Тверді відходи на підприємстві:

- Біомаса *A. teichomyceticus* S-45 після виробничого біосинтезу
- Бруд на фільтрах
- Непридатні хімічні реактиви (агаризовані середовища з чашок Петрі після мікробіологічного контролю)
- Пакувальні матеріали
- Скло
- Використані ганчірки, засобі індивідуального захисту

Біомаса. За один виробничий цикл утвориться 10200 г вологої біомаси. Таку невелику кількість можна інактивувати в убойному автоклаві, потім передати іншим підприємствам для виготовлення добрив.

Тверді відходи на фільтрах. На фільтрах залишаються клітини продуценту і індуктору. Тому використані фільтри також піддаємо термічній обробці в убойному автоклаві, потім передати організаціям, які приймають їх на утилізацію.

Непридатні хімічні реактиви. Агаризовані середовища інактивуємо в убойному автоклаві та передаємо спеціальним організаціям на утилювання.

Використані засоби індивідуального захисту. Необхідно викидати окремо маски та рукавички, адже вони зроблені з різних матеріалів. Одяг, який вже пройшов певну кількість циклів прання та підлягає утилізації, викидаємо в спеціальні контейнери та передаємо на пункти переробки одягу.

Скло. Встановити спеціальні контейнери, куди буде викидатися лише скло, яке потім можна відправити на пункти переробки.

Інші відходи. Складаємо в контейнери з кришкою та передаємо на переробку до пунктів прийому вторсировини.

9.7 Система екологізації підприємства та методи щодо зменшення кількості відходів

Аналізуючи відходи, які утворюються на різних етапах синтезу тейкопланіну, можна зробити висновок, що всі викиди відносяться до категорій III (помірно небезпечні речовини) і IV (низьконебезпечні

речовини). Продуцент антибіотику тейкопланіну *Actinoplanes teichomyceticus* S-45 також не є патогенним мікроорганізмом і тому не становить небезпеки для оточуючих.

З метою зменшення викидів газоподібних і рідких відходів на підприємстві встановлено ефективне обладнання для очищення стічних вод і газів, а очищена вода і газ без домішок потрапляють у навколишнє середовище. Крім того, для зменшення кількості рідких відходів від мийних та дезінфікуючих засобів підприємство обладнано мийкою CIR, яка використовується багаторазово. Для зменшення утворення твердих побутових відходів на території закладу встановлюються сміттесортувальні контейнери, які потім передаються закладам, які мають угоду на належну утилізацію та утилізацію відходів.

Отже, можна зробити висновок, що дане підприємство дотримується положень екологічної політики та забезпечує покращення навколишнього середовища.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

- 1) Ковінько О. М., Стахова А. І. Фармацевтичний ринок України як рушійний важіль розвитку економіки. *Науковий вісник Ужгородського національного університету*. [Електронний ресурс] Режим доступу: http://www.visnyk-econom.uzhnu.uz.ua/archive/11_2017ua/14.pdf
- 2) Machowska A., Stalsby-Lundborg C. Drivers of irrational use of antibiotics in Europe. *Int. J. Environ. Res. Public Health*. 2019, 16(1):27. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijerph16010027>
- 3) Reynolds P.E. Structure, biochemistry and mechanism of action of glycopeptide antibiotics. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 1989, 8(11):943–950. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF01967563>
- 4) Vimberg V. Teicoplanin - a new use for an old drug in the COVID-19 era? *Pharmaceuticals*. 2021, 14(12):1227. DOI: <https://doi.org/10.3390/ph14121227>
- 5) Kato-Hayashi H., Niwa T., Ohata K. Comparative efficacy and safety of vancomycin versus teicoplanin in febrile neutropenic patients receiving hematopoietic stem cell transplantation. *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics*. 2019, 00:1–7. DOI: <https://doi.org/10.1111/jcpt.13011>
- 6) Bochud-Gabellon I., Regamey C.. Teicoplanin, a new antibiotic effective against gram-positive bacterial infections of the skin and soft tissues. *Dermatologica*. 1988, 176(1):29-38. DOI: [10.1159/000248666](https://doi.org/10.1159/000248666)
- 7) Parenti F., Schito G.C., Courvalin P. Teicoplanin chemistry and microbiology. *Journal of Chemotherapy*. 2000, 12(5):5–14. 2016. DOI: <https://doi.org/10.1080/1120009X.2000.11782312>
- 8) Scholar E. xPharm: the comprehensive pharmacology reference. Teicoplanin. Elsevier, Inc. 2007, P. 1-5. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-008055232->

3.62718-7					<i>НУХТ БТЕК 04.01.04 КР ПЗ</i>					
Змн.	Арк.	№ документа	Підпис	Дата	СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ					
Розроб.		<i>Золотар О.С.</i>						Літера	Арквш	Арквшів
Перевір.		<i>Пирог Т.П.</i>							117	125
Консультант								Кафедра БТМ		
Н. контр.										
Затверд.		<i>Стабніков В.П.</i>								

9) Heydorn A., Petersen B.O., Duus J.Ø., Bergmann S. Biosynthetic studies of the glycopeptide teicoplanin by H and C NMR. *Journal of Biological Chemistry*. 2000, 275(9): 6201–6206. doi:10.1074/jbc.275.9.6201

10) Park H-R., Lee J-C., Hwang J-H., Park D-J., Kim C-J. Glycerol affects the acyl moieties of teicoplanin components produced by *Actinoplanes teichomyceticus* MS12210. *Microbiological Research*. 2009, 164(5): 588–592. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.micres.2007.05.007>

11) Parenti F. Structure and mechanism of action of teicoplanin. *Journal of Hospital Infection*. 1986, 7(1): 79–83. DOI: [https://doi.org/10.1016/0195-6701\(86\)90011-3](https://doi.org/10.1016/0195-6701(86)90011-3)

12) Wilson A.P.R., Grüneberg R.N. Use of teicoplanin in community medicine. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 1994, 13(9):701-10. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF02276052>

13) Schaison G., Graninger W., Bouza E. Teicoplanin in the treatment of serious infection. *Journal of Chemotherapy*. 2000, 12(5):26-33. DOI: <https://doi.org/10.1080/1120009X.2000.11782315>

14) Тейкопланін-Тева. Ліки контроль. [Електронний ресурс] Режим доступу: [https://likicontrol.com.ua/%D1%96%D0%BD%D1%81%D1%82%D1%80%D1%83%D0%BA%D1%86%D1%96%D1%8F/?\[4764\]](https://likicontrol.com.ua/%D1%96%D0%BD%D1%81%D1%82%D1%80%D1%83%D0%BA%D1%86%D1%96%D1%8F/?[4764])

15) Teicoplanin. Medicover Hospitals. [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://www.medicoverhospitals.in/medicine/teicoplanin>

16) Тейкопланін-Фармекс. Лікі Контроль. [Електронний ресурс] Режим доступу: [https://likicontrol.com.ua/%D1%96%D0%BD%D1%81%D1%82%D1%80%D1%83%D0%BA%D1%86%D1%96%D1%8F/?\[34270\]](https://likicontrol.com.ua/%D1%96%D0%BD%D1%81%D1%82%D1%80%D1%83%D0%BA%D1%86%D1%96%D1%8F/?[34270])

17) Тейкопланін-Фармекс. Аптека “Доброго Дня”. [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://www.add.ua/ua/tejkoplanin-farmeks-liof-por-d-in-400mg-fl-1-r-l-3-2ml.html>

18) Звіт про мережу та діяльність медичних закладів за 2022 рік. ДУ «Центр громадського здоров'я МОЗ України». [Електронний ресурс] Режим

доступу:

https://dostup.pravda.com.ua/request/110788/response/376910/attach/5/272%201.pdf?cookie_passthrough=1

19) Населення України. [Електронний ресурс] Режим доступу: https://uk.wikipedia.org/wiki/%D0%9D%D0%B0%D1%81%D0%B5%D0%BB%D0%B5%D0%BD%D0%BD%D1%8F_%D0%A3%D0%BA%D1%80%D0%B0%D1%97%D0%BD%D0%B8

20) Тейкопланін. "Державний реєстр лікарських засобів України" [Електронний ресурс] Режим доступу: <http://www.drlz.com.ua/ibp/ddsite.nsf/all/shlist?opendocument&query=%F2%E5%E9%EA%EE%EF%EB%E0%ED%B3%ED>

21) Пирог Т. П., Ігнатова О. А. Загальна біотехнологія: Підручник. — К.: НУХТ, 2009. — 336 с.

22) Antibiotic fermentation/bioreactor biology microbial fermentation bioreactor Bailun. "Shanghai Bailun Biotechnology Co., Ltd.". [Електронний ресурс] Режим доступу: https://www.alibaba.com/product-detail/Antibiotic-fermentation-Bioreactor-biology-microbial-fermentation_60413633556.html

23) СІР-станція. MilkSystem LLC. [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://milk-system.com/produksiia/cip-stantsiia#opys>

24) Патент №118856. Апарат з перемішуючим пристроєм / Новікова Ю. П., Зубрій О. Г. Опубл. 28.08.2017.

25) Карлаш Ю.В., Красінько В.О. Основи проектування біотехнологічних виробництв [Електронний ресурс]: Навч.посібник. — К.:НУХТ, 2022. — 373 с.

26) Карлаш Ю.В. Основи проектування біотехнологічних виробництв. [Електронний ресурс]: конспект лекцій для для здобувачів освітнього ступеня «бакалавр» спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія» освітньо-професійної програми «Біотехнологія» денної та заочної форм навчання /Ю.В. Карлаш, Є.О. Омельчук - К: НУХТ, 2019. — 252 с.

27) Сучасні засоби для дезінфекції та гігієни. Система Оптимум. [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://www.systopt.com.ua/article-sovremennye-sredstva-dlya-dezynfekcyi-y-gygyeny>

28) Методичні вказівки щодо застосування засобу “Септомакс” з метою дезінфекції. [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://dezmed.com.ua/instruktsiia/item/instruktsiya-po-primeneniyu-dezinfitsiruyushchego-sredstva-septomaks/>

29) Інструкція щодо використання засобу дезінфікуючого “Бланідас 300” з метою дезінфекції об’єктів. [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://lysoform.shop/wp-content/uploads/2020/07/instruktsiya-blanidas-300-blanidas-300-1.pdf>

30) Методичні вказівки щодо застосування засобу “Дезамін” з метою дезінфекції. [Електронний ресурс] Режим доступу: <file:///D:/%D0%97%D0%B0%D0%B3%D1%80%D1%83%D0%B7%D0%BA%D0%B8/%D0%9C%D0%B5%D1%82%D0%BE%D0%B4%D0%B8%D1%87%D0%BA%D0%B0%20%D0%94%D0%B5%D0%B7%D0%B0%D0%BC%D0%B8%D0%BD.pdf>

31) Методичні вказівки щодо застосування засобу “Стерилліум” з метою дезінфекції. [Електронний ресурс] Режим доступу: http://www.антисептика.com.ua/upl/admin_upload/anios/sterillium_klassic.pdf

32) Методичні вказівки щодо застосування дезінфекційного засобу “Вінсепт” (рідина). [Електронний ресурс] Режим доступу: http://www.антисептика.com.ua/upl/admin_upload/schit/vinsept-gidkost.pdf

33) Пирог Т.П., Красінько В.О., Старовойтова С.О.. Нормативне забезпечення біотехнологічних виробництв: метод. рекомендації до викон. курсової роботи для здобувачів освіт. ступ. “бакалавр” спец. 162 “Біотехнології та біоінженерія” осв.-проф. прог. “Біотехнології: фармацевтична, промислова, харчова, природоохоронна” ден. форми навч. / — К.: НУХТ. 2022. – 56 с.

- 34) Song J-M., Park J-T., Lee H-S. Production of teicoplanin from *Actinoplanes teichomyceticus* ID9303 by adding proline. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. 2008, 72(6): 1635-1637, doi: 10.1271/bbb.80143
- 35) SILFOAM® SE 9. [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://prom.ua/p220790247-silfoam.html>
- 36) Піногасник – 2775. [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://gustavheess.com.ua/penogasytel-2775/>
- 37) Повітрозбірник В-5. [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://prom.ua/ua/p1318718203-vozduhosbornik-obem-mkub.html>
- 38) Фільтр повітряний волокнистий (ФПВ). [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://ventfilter.kiev.ua/goods/filtr-vozdushniy-voloknistiy-fvv/>
- 39) Турбокомпресори ID TURBO COMPRESSOR серії T2. [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://dalgakiran.ua/uk/products/centrobizhni-kompresory-ih-i-dalgakiran-seriyi-t2/>
- 40) Промислові осушувачі повітря Hankison. [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://dalgakiran.ua/uk/products/promyslovi-osushuvachi-povitrya-hankison-refryzheratornogo-typu/>
- 41) Ресивер. [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://tehno-parts.com.ua/resiver-500-litrov-15-bar-ce>
- 42) Водяний теплообмінник SAVE VTR. [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://www.systemair.com/uk-ua/produktsia/pobutovi-ventilyacijni-sistemi/aksesuari/akesesuari-dlya-pobutovih-ventagregativ/nagriv-oholodzhennya/vodyanij-teploobminnik-save-vtr#tech-specs-ecom-dimension-data>
- 43) Фільтр вугільний повітряний MountainAir Filter (0820). [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://hydroponics.in.ua/ua/filtr-ugolnyj-vozdushnyj-mountainair-filter-0820-200500-740m3>
- 44) Фільтри ФяС-У. [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://folter.com.ua/catalog/fyasu15u16>

- 45) Реактор IGR-5. [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://www.innovabiomed.com/benchtop-glass-reactor.html>
- 46) Інокулятор Minifors. [Електронний ресурс] Режим доступу: <http://ukrmedspilka.com.ua/uk/component/k2/item/1830-fermenter-minifors/1830-fermenter-minifors>
- 47) Лічильник води Gross MNK-UA 15/165С. [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://boiler.ua/ua/schetchik-kholodnoy-vody-gross-mnk-ua-15-165s-mokrokhod-du-15/>
- 48) Реактор IGRL-20. [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://www.innovabiomed.com/lifting-glass-reactor.html>
- 49) Мембранний насос для рідин АгроТех. [електронний ресурс] Режим доступу: <https://agro-teh.com.ua/ua/p860452263-membrannyj-nasos-dlya.html>
- 50) Інокулятор. [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://promvit.com.ua/reaktor-dlya-proizvodstva-sredstv-zashhity-rabochim-obemom-100-l/>
- 51) Ваговий дозатор ШД-1у. [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://abctech.com.ua/ua/p1179108390-vesovoj-dozator-dlya.html>
- 52) Лічильник води Gross MNK-UA 40/165С. [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://boiler.ua/ua/schetchik-kholodnoy-vody-gross-mnk-ua-15-165s-mokrokhod-du-15/>
- 53) Реактор LSL BIOLAFITTE. [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://comquima.com/en/products/reactors/0-999-l/used-stainless-steel-200-litres-lsl-biolafitte-skid-jacketed-bioreactor--c6491>
- 54) Мембранний насос для рідин АгроТех. [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://agro-teh.com.ua/ua/p413482776-membrannyj-nasos-lmin.html>
- 55) Лічильник води Gross MNK-UA 20/165С. [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://boiler.ua/ua/schetchik-kholodnoy-vody-gross-mnk-ua-15-165s-mokrokhod-du-15/>
- 56) Реактор 50 л. [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://promvit.com.ua/12487-2/>

- 57) Реактор SYSBIOTECH. [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://en.sysbiotech.at/stationary-reactor-with-cip-and-sip-630-l/>
- 58) Ваговий дозатор ВД-4н. [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://abctech.com.ua/ua/p1435795602-vesovoj-dozator-dlya.html>
- 59) Лічильник води Gross WPK-UA 50. [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://akvateh.dp.ua/ua/p19200766-schetchik-holodnoj-vody.html>
- 60) Реактор РМ-200. [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://promvit.com.ua/reaktor-mobilnyj-rm-200-dlya-peremeshivaniya-i-transportirovki-mlf/>
- 61) Лічильник води Gross WPK-UA 150. [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://akvateh.dp.ua/ua/p19200766-schetchik-holodnoj-vody.html>
- 62) Реактор об'ємом 2000 л Промвіт. [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://promvit.com.ua/reaktor-2000-l-dlya-prigotovleniya-sgushhennogo-moloka/>
- 63) Насос відцентровий. [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://giga.in.ua/ua/nasosnoe-oborudovanie/poverhnostniy-nasos/775371.html>
- 64) Лічильник води Gross WPK-UA 65. [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://akvateh.dp.ua/ua/p19200766-schetchik-holodnoj-vody.html>
- 65) Реактор об'ємом 500 л Промвіт. [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://promvit.com.ua/fermenter-500/>
- 66) Насос мембранний 180 Вт. [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://agro-teh.com.ua/ua/p570771963-membrannyj-nasos-lmin.html>
- 67) Реактор IGR-2(CE). [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://www.innovabiomed.com/benchtop-glass-reactor.html>
- 68) Реактор об'ємом 5 л Промвіт. [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://promvit.com.ua/laboratoryj-reaktor-rp-5-dlya-mlf-kremy-mazi-geli-5-l/>
- 69) Ферментер ePROD®. [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://www.tecnic.eu/eprod-stirred-tank-bioreactor/>
- 70) Фільтр Omega Air SF 012. [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://energo-pro.com.ua/ua/p635829438-sterilnyj-filtr-omega.html>

71) 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.

72) *Actinoplanes teichomyceticus* AB 8327 is an aerobe, spore-forming, mesophilic bacterium that produces antibiotic compounds and was isolated from soil. [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://bacdive.dsmz.de/strain/7818>

73) Голодок Л.П., Черевач Н.В., Дрегваль О.А. Методичні вказівки до виконання лабораторних робіт із курсу «Мікроскопічні методи вивчення структури мікроорганізмів». [Електронний ресурс] Режим доступу: <http://repository.dnu.dp.ua:1100/upload/0be429948720fac86410eca6fb2ff94emicr oscopic-methods.pdf>

74) Yushchuk O., Horbal L., Datsyuk Ju. Peculiarities of *Actinoplanes teichomyceticus* NRRL-B16726 morphology and life cycle. Series Biology. 2016, P. 126–136.

75) Vobis G. The genus *Actinoplanes* and related genera. *Prokaryotes*. 2006, 3:623–653. DOI: 10.1007/0-387-30743-5_24

76) Vara A., Nielsen J. Production of teicoplanin by *Actinoplanes teichomyceticus* in continuous fermentation. *Biotechnology and Bioengineering*. 2002, 77(5):589-98. doi: 10.1002/bit.10137

77) Agilent 1200 series HPLC systems. SpectraLab Scientific Incorporation. [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://www.spectralabsci.com/equipment/agilent-1200-series-hplc-systems-2/>

78) Performance characteristics of the agilent 1200 series variable wavelength detectors. [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://www.agilent.com/Library/technicaloverviews/Public/5989-9721EN.pdf>

79) Mojtaba A., Mohd S.M., Rosfarizan M., Raha A.R. Improvement of medium composition for heterotrophic cultivation of green microalgae, *Tetraselmis*

suecica, using response surface methodology. *Biochemical Engineering Journal*. 2011, 53(2): 187–195. doi:10.1016/j.bej.2010.10.010

80) Prabakaran G., Hoti S.L. Influence of amino nitrogen in the culture medium enhances the production of δ -endotoxin and biomass of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* for the large-scale production of the mosquito control agent. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*. 2008, 35(9): 961–965. doi:10.1007/s10295-008-0370-5

81) Wang H., Yang L., Wu K. Rational selection and engineering of exogenous principal sigma factor (σ^{HrdB}) to increase teicoplanin production in an industrial strain of *Actinoplanes teichomyceticus*. *Microbial Cell Factories*. 2014, 13(1):10. doi:10.1186/1475-2859-13-10

82) Установка повної біологічної очистки стічних вод СПБО-40. [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://promtehvod.kiev.ua/ua/p639974433-ustanovka-polnoj-biologicheskoy.html>

83) Технологія очистки стічних вод ГК "Промтехвод". [Електронний ресурс] Режим доступу: <http://www.ekvent.com.ua/uk/%D1%82%D0%B5%D1%85%D0%BD%D0%BE%D0%BB%D0%BE%D0%B3%D1%96%D1%97/%D0%BE%D1%87%D0%B8%D1%81%D1%82%D0%BA%D0%B0-%D1%81%D1%82%D1%96%D1%87%D0%BD%D0%B8%D1%85-%D0%B2%D0%BE%D0%B4-%D0%B3%D0%BA-%D0%BF%D1%80%D0%BE%D0%BC%D1%82%D0%B5%D1%85%D0%B2%D0%BE%D0%B4>

84) Kennes C., Veiga M. C. Bioreactors for waste gas treatment. *Environmental Pollution (EPOL, volume 4)*, 2001. <https://doi.org/10.1007/978-94-017-0930-9>