

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

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

**«До захисту в ЕК»**  
Директор інституту(декан факультету)  
Наталія ГРЕГІРЧАК  
(ім'я та прізвище)

«\_\_» \_\_ червня \_\_ 2025 \_\_ р.

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

«\_\_» \_\_ червня \_\_ 2025 \_\_ р.

**КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА**  
**НА ЗДОБУТТЯ ОСВІТНЬОГО СТУПЕНЯ БАКАЛАВРА**

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

освітньо-професійної програми Біотехнології: фармацевтична, промислова, харчова, природоохоронна

на тему: Біосинтез ксантану *Xanthomonas campestris*

Виконав: здобувач IV курсу, групи 2

АЛЕКСЄЄВА Діана Олексіївна  
(прізвище, ім'я, по батькові повністю) (підпис)

Керівник КОВШАР Ірина Дмитрівна  
(прізвище, ім'я та по батькові повністю) (підпис)

Консультанти \_\_\_\_\_  
(ім'я та прізвище) (підпис)

\_\_\_\_\_ (ім'я та прізвище) (підпис)

\_\_\_\_\_ (ім'я та прізвище) (підпис)

Рецензент Марія ПАРФЕНЮК  
(ім'я та прізвище) (підпис)

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

Здобувач \_\_\_\_\_  
(підпис)

**Київ – 2025 р.**

# НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ

Інститут (факультет) Біотехнології та екологічного контролю

Кафедра біотехнології і мікробіології

Освітній ступінь бакалавр

Спеціальність 162 «Біотехнології та біоінженерія»

(код і назва)

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

(назва)

**ЗАТВЕРДЖУЮ**

Завідувач кафедри біотехнології і мікробіології

Віктор СТАБНИКОВ

“ 01 ” березня 2025 року

## ЗАВДАННЯ

### НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ ЗДОБУВАЧА

АЛЕКСЄЄВОЇ Діани Олексіївни

(прізвище, ім'я, по батькові)

1. Тема роботи Біосинтез ксантану *Xanthomonas campestris*

керівник роботи КОВШАР Ірина Дмитрівна, асистент,

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

затверджені наказом закладу вищої освіти від 27 березня 2025 року №188-кв

2. Строк подання здобувачем роботи 28 травня 2025 р.

3. Вихідні дані до роботи біологічний агент: *Xanthomonas campestris*, цільовий продукт: ксантан, об'єм ферментера 5,0 м<sup>3</sup>, коефіцієнт заповнення 0,5

4. Зміст пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно розробити)  
РОЗДІЛ 1. Характеристика ксантану. РОЗДІЛ 2. Обґрунтування вибору та характеристика біологічного агента. РОЗДІЛ 3. Техніко-економічне обґрунтування ксантану. РОЗДІЛ 4. Біосинтез цільового продукту. РОЗДІЛ 5. Обґрунтування вибору технологічної схеми виробництва ксантану. РОЗДІЛ 6. Специфікація обладнання виробництва ксантану. РОЗДІЛ 7. Опис технологічної схеми виробництва ксантану. РОЗДІЛ 8. Основні етапи виділення та очищення ксантану РОЗДІЛ 9. Контроль виробництва ксантану.

5. Перелік графічного матеріалу

Технологічна схема виробництва ксантану – 1 аркуш формату А4. Апаратурна схема виробництв ксантану – 1 аркуш формату А1.

## 6. Консультанти розділів роботи

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

7. Дата видачі завдання 01 березня 2025 року

## КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№	Назва етапів виконання кваліфікаційної роботи	Строк виконання етапів роботи	Примітка
1	Характеристика ксантану	01.03.2025- 05.03.2025	
2	Обґрунтування вибору та характеристика біологічного агента	06.03.2025- 12.03.2025	
3	Техніко-економічне обґрунтування ксантану	13.03.2025- 24.03.2025	
4	Біосинтез цільового продукту	25.03.2025- 27.03.2025	
5	Обґрунтування вибору технологічної схеми виробництва ксантану	28.03.2025- 11.04.2025	
6	Специфікація обладнання виробни ксантану	12.04.2025- 19.04.2025	
7	Опис технологічної схеми біосинтезу ксан- тану	20.04.2025- 04.05.2025	
8	Основні етапи виділення та очищення ксантану	05.05.2025- 19.05.2025	
9	Контроль виробництва ксантану	20.05.2025- 24.05.2025	
10	Оформлення пояснювальної записки	25.05.2025- 26.05.2025	
11	Виконання графічної частини проекту	27.05.2025- 28.05.25	

Здобувач

\_\_\_\_\_

(підпис)

Діана АЛЕКСЄВА

\_\_\_\_\_

(ім'я та прізвище)

Керівник роботи

\_\_\_\_\_

(підпис)

Ірина КОВШАР

\_\_\_\_\_

(ім'я та прізвище)

## ABSTRACT

The qualification work is devoted to the development of technological scheme and manufacturing flow chart for xanthan biosynthesis by *Xanthomonas campestris*, at a concentration of 16.44 g/l. Xanthan is a natural polysaccharide used in the food industry (in particular in the production of jelly) as a stabilizer, thickener and emulsifier. The irreplaceability of xanthan in the production of jelly is due to its ability to: 1) prevent the release of liquid and, as a result, maintain the shape of the product for a long time; 2) give the jelly a smooth, uniform texture, regulate the viscosity of the product; 3) be stable to temperatures and pH; 4) be ideally combined with sugars, fruit purees and dyes.

The estimated capacity of biotechnological manufacture is 113 635 kg of xanthan per year. The technological scheme of xanthan biosynthesis includes preparation of sterile aeration air, preparation of HCl solution and sterile NaOH solution for pH control, preparation and sterilization of seed and fermentation media and technological process (three stages of growing seed material (for flask culture, in inoculators) and fermentation in a fermenter 5.0 m<sup>3</sup> with a filling factor of 0.5).

The qualification work consists of an introduction, eight sections, references (54 items), technological scheme (A1format) and manufacturing flow chart (A1format). The total volume of the work is 94 pages, 18 tables, 11 figures.

Keywords: xanthan, *Xanthomonas campestris*, food industry, jelly products, polysaccharides, biosynthesis, technological scheme, manufacturing flow chart.

## РЕФЕРАТ

Кваліфікаційна робота присвячена розробці технологічної та апаратурної схем біосинтезу ксантану з використанням *Xanthomonas campestris*, клітини якого синтезують полісахарид у концентрації 16,44 г/л. Ксантан – це натуральний полісахарид, що використовується у харчовій промисловості (зокрема у виробництві желе), як стабілізатор, загусник та емульгатор. Незамінність ксантану у виробництві желе обумовлене здатністю: 1) запобігати виділенню рідини і як наслідок підтримання форми продукту протягом тривалого часу; 2) надавати желе гладкої, однорідної текстури, регулювати в'язкість продукту; 3) бути стабільним до температур та рН; 4) ідеально поєднуватися із цукрами, фруктовими пюре та барвниками.

Розрахована потужність виробництва становить 113 635 кг (76033,2 л культуральної рідини) желейних виробів за рік. Технологічна схема біосинтезу рибофлавіну включає допоміжні роботи (підготовка аераційного повітря, підготовка титрувальних агентів, приготування та стерилізація поживних середовищ) та технологічний процес (три стадії вирощування посівного матеріалу та біосинтез у ферментері об'ємом 5,0 м<sup>3</sup> з коефіцієнтом заповнення 0,5). Технологія отримання ксантану передбачає використання культивування глибинним періодичним способом.

Кваліфікаційна робота складається зі вступу, дев'яти розділів, списку використаної літератури (97 найменувань), технологічної (формат А1) та апаратурної (формат А1) схем. Загальний обсяг роботи – 94 сторінок, 18 таблиць, 11 рисунків.

**Ключові слова:** ксантан, *Xanthomonas campestris*, харчова промисловість, желейні вироби, полісахариди, біосинтез, технологічна схема, апаратурна схема.

## ЗМІСТ

РЕФЕРАТ .....	4
ЗМІСТ .....	6
ВСТУП.....	8
РОЗДІЛ 1. ХАРАКТЕРИСТИКА КСАНТАНУ .....	10
1.1. Загальна характеристика ксантану.....	10
1.2. Фізико-хімічні властивості ксантану.....	10
1.3. Застосування ксантану в різних галузях промисловості .....	13
РОЗДІЛ 2. ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТА ХАРАКТЕРИСТИКА БІОЛОГІЧНОГО АГЕНТА .....	15
2.1. Обґрунтування вибору біологічного агента та поживного середовища для його культивування .....	15
2.2. Перевірочний розрахунок складу поживного середовища для вирощування штаму <i>Xanthomonas campestris pv. campestris</i> АТСС – продуцента ксантану.....	18
2.3. Морфолого-культуральні та фізіолого-біохімічні ознаки біологічного агента .....	19
2.3.1 Морфолого-культуральні ознаки .....	20
2.4. Таксономічний статус біологічного агента.....	21
РОЗДІЛ 3. ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ.....	22
КСАНТАНУ .....	22
3.1. Потреба у виробництві ксантану.....	22
3.2. Обрахунок загальної потужності виробництва ксантану .....	23
3.3. Розрахунок геометричного об'єму ферментера .....	24
3.4. Розрахунок кількості необхідних етапів для підготовки посівного матеріалу .....	25
РОЗДІЛ 4. БІОСИНТЕЗ ЦІЛЬОВОГО ПРОДУКТУ .....	28
РОЗДІЛ 5. ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ.....	34
5.1. Обґрунтування способу культивування і типу ферментера.....	34
5.2 Обґрунтування вибору стадії підготовки аераційного повітря.....	37
5.3 Вибір мийних та дезінфікуючих засобів .....	38
5.3.1. Обґрунтування вибору мийних та дезінфікуючих засобів.....	38
5.3.2 Розрахунок витрат мийних та дезінфікуючих засобів для виробництва ...	46
5.4 Особливості підготовки та стерилізації поживного середовища.....	54

5.4.1 Особливості підготовки та стерилізації поживного середовища для одержання інокуляту в колбах на качалках .....	54
5.4.2 Особливості підготовки та стерилізації поживного середовища для одержання інокуляту в колбах на качалках .....	55
5.4.3. Особливості підготовки і стерилізації поживного середовища для виробничого біосинтезу в ферментері 5,0 м <sup>3</sup> .....	57
5.5. Обґрунтування вибору розчинів для регуляції рН та піногасника.....	58
РОЗДІЛ 6. СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ.....	60
РОЗДІЛ 7. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ. ....	62
РОЗДІЛ 8. ОСНОВНІ ЕТАПИ ВИДІЛЕННЯ ТА ОЧИЩЕННЯ КСАНТАНУ... ..	68
РОЗДІЛ 9. КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА.....	73
9.1. Мікробіологічний контроль.....	73
9.2 Концентрація біомаси .....	74
9.3 Концентрація джерела вуглецю .....	75
9.4 Концентрація джерела азоту.....	76
9.5 Концентрація ксантану .....	76
Перелік літератури: .....	77
ДОДАТКИ .....	86

## ВСТУП

Ксантан (ксантанова камідь (E 415)) аніонний полісахарид з надзвичайно високою молекулярною масою, добре відомий своєю нетоксичністю, чудовою біосумісністю та внутрішньою здатністю імунологічного агента, який десятиліттями використовується в різних галузях промисловості і виробляється бактеріями роду *Xanthomonas*. Ксантанова камедь була другим екзополісахаридом, який був запущений у комерційне виробництво після декстрану. У 1969 році управління з харчових продуктів і медикаментів США (FDA) схвалило ксантанову камедь для використання в харчовій і фармацевтичній промисловості. Харчова промисловість цінує ксантанову камедь за її виняткові реологічні властивості, які роблять її популярним загусником у багатьох продуктах, в той час як косметична промисловість використовує здатність ксантанової камеді утворювати стійкі емульсії [1, 2].

Процес промислового виробництва ксантанової камеді передбачає ферментацію різних штамів *Xanthomonas* у середовищі, яке містить глюкозу, сахарозу, крохмаль тощо як субстрат та інші необхідні поживні речовини для стимуляції росту і накопичення ксантану. Зокрема, використання штаму *X. campestris* ATCC 29497 дає змогу синтезувати ксантан у кількості 16,44 г/л.

Запропоновано модель біотехнологічного виробництва ксантану у промислових масштабах, а також технологічна і апаратурна схеми. Дана робота доповнює раніше описану технологію описом стадії очистки і дезінфекції процесу виробництва (вибір із доступних миючих і дезінфікуючих засобів найбільш оптимальних засобів, наведення орієнтовних цін, розрахунок об'ємів і площ виробничого обладнання і приміщення, що потребують очистки і дезінфекції), а також способом виділення і очищення ксантану із культуральної рідини *X. campestris*.

В кваліфікаційній роботі запропоновано робочу технологію виділення і

очищення ксантану із культуральної рідини <i>X. campestris</i> . Культуральна рідина, <b>НУХТ БТЕК 04.02.049 КР ПЗ</b>							
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата			
Розроб.		Алексєєва Д. О.					
Консульт.							
Керівник		Ковшар І. Д.					
Н. Контр.							
Зав. каф.		Стабніков В.П.					
<b>ВСТУП</b>					Лім.	Арк.	Акрушів
						8	94
<b>Кафедра БТМ</b>					8		

що містить ксантан (ксантанову камедь), піддається ферментній обробці для солюбілізації мікробних клітин продуцента. У той час як ферментований розчин, який пройшов ферментну обробку, підтримується при температурі 55°C і ксантанова камедь осаджується шляхом додавання до ферментованого розчину гідрофільного органічного розчинника, який не здатний розчинити ксантанову камедь.

Таким чином, **новизною кваліфікаційної роботи** є демонстрація комплексної технології промислового біосинтезу ксантану штамом *X. campestris* ATCC 29497 з метою забезпечення потреби ринку кондитерської продукції на дешеву сировину

# РОЗДІЛ 1. ХАРАКТЕРИСТИКА КСАНТАНУ

## 1.1. Загальна характеристика ксантану

Екзополісахариди (ЕПС) представляють собою групу великих вуглеводних молекул, складених з численних моносахаридних одиниць, які можуть нараховувати десятки, сотні або навіть тисячі елементів. У світі тварин, рослин та інших живих істот, полісахариди служать основним джерелом енергії, що генерується через метаболічні процеси. У мікроорганізмів вони виконують критичні функції, такі як захист, накопичення запасів та живлення[1].

Екзополісахариди мікробного походження мають такі властивості, як здатність до загущення, стабілізації та формування гелів. Унікальність цих полісахаридів полягає у їх багатому на функціональні хімічно активні групи складі, включаючи гідроксильні, карбоксильні, карбонільні, ацетатні та інші групи. Ці групи дозволяють проводити хімічні модифікації молекул для надання їм певних бажаних властивостей. Ксантан, який є позаклітинним полісахаридом, застосовується як стабілізатор у суспензіях, емульсіях та пінних системах [2]. Він виробляється під різними комерційними назвами, такими як Кеторол [3], Ксантанова камідь [4], Ксантан [5] і зазвичай представляє собою безбарвний або сірого кольору порошок без запаху та смаку.

## 1.2. Фізико-хімічні властивості ксантану

Ксантан, відомий також як ксантанова камідь (Е 415), представляє собою комплекс полісахаридів, які утворюються в результаті аеробної ферментації різних цукрів, таких як кукурудзяний сироп, бактерією *Xanthomonas campestris*. Цей гетерополісахарид має молекулярну масу, що коливається від одного до кількох мільйонів дальтон, і складається з трьох типів моносахаридів:  $\beta$ -D-глюкози,  $\alpha$ -D-манози та  $\alpha$ -D глюкуронової кислоти в пропорції 2:2:1. Основою структури ксантану є повторюваний фрагмент, що складається з п'яти моносахаридів[6].

Унікальна структура бічних ланцюгів ксантану робить його стійким до

**НУХТ БТЕК 04.02.49 КР ПЗ**

Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата	Літ.	Арк.	Акрушів
						10	94
Розроб.		Алексєєва Д. О.			<b>РОЗДІЛ 1. ХАРАКТЕРИСТИКА КСАНТАНУ</b> <b>Кафедра БТМ</b> 10		
Консульт.							
Керівник		Ковшар І. Д.					
Н. Контр.							
Зав. каф.		Стабніков В.П.					

хімічного та ферментативного розщеплення. Інтерації між бічними ланцюгами та головним ланцюгом полісахариду призводять до формування більш складних структур ксантану, що визначають його функціональні властивості. Концентрація пірватних груп у полісахариді впливає на в'язкість його водних розчинів, яка може варіювати від 0 до 9%. В харчовій промисловості ксантан часто перетворюють на натрієві, калієві або кальцієві солі шляхом нейтралізації кислотних груп. Точка плавлення ксантану становить приблизно 110°C [7].

Молекулярна структура цього екзополісахариду забезпечує його стабільність при різких змінах температури, роблячи його ефективним загущувачем у широкому діапазоні температур (оптимально від 25 до 30°C) і рН (7,0 - 7,5). Ксантан легко розчиняється у воді та сольових розчинах, не утворюючи осаду [8].

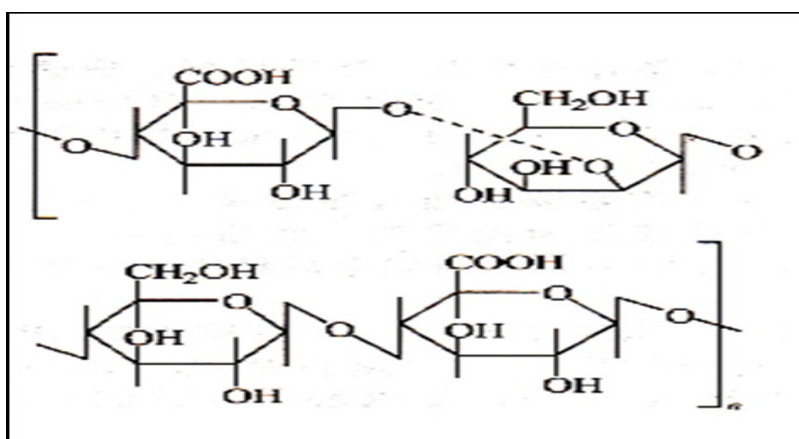


Рис. 1.1 Структурна формула ксантану [6]

Ще одною характерною особливістю ксантану є його поведінка при зміні температури: зі зростанням температури до приблизно 40°C, в'язкість розчинів ксантану спочатку підвищується, досягаючи максимуму, а потім різко знижується. Така зміна в'язкості пов'язана зі зміною структурного устрою розчину при підвищенні температури. Водночас, при високих значеннях рН (більше 12), молекули ксантану втрачають свою стабільність, що веде до значного зниження в'язкості та руйнування структури [9].

У взаємодії з водонабухаючими глинами спостерігається збільшення в'язкості та загального граничного напруження, перевищуючи адитивні

показники. Ксантан сумісний з водними розчинами органічних речовин, але утворює осади з 80% етилового спирту і ізопропанолу [10]. Розчини ксантану стійкі при наявності 30% гліцерину, гліколів, етилового та ізопропілового спирту. Він також сумісний з органічними і мінеральними кислотами, проте соляна кислота руйнує ксантан. Ксантан стійкий до тривалої взаємодії з 10% лимонною кислотою, 20% і 10% оцтовою кислотою, 5% сірчаною кислотою. Розчини зберігають свої реологічні властивості при наявності гідроксиду натрію і силікату натрію [11]. Хімічна структура молекул ксантану надає йому широкий спектр функціонально-технологічних властивостей, включаючи високу розчинність у холодній і гарячій воді, стабільність у розчинах при різних температурах і рН від 1 до 12, стійкість до дії ферментів, а також здатність запобігати синерезису в продуктах [12].

*Таблиця 1.1*

### **Органолептичні показники ксантану**

Найменування показника	Характеристика
Зовнішній вигляд	Ксантан зазвичай представлений у вигляді порошку, який може мати від білого до кремового або світло-сірого кольору. Текстура порошку досить дрібна і однорідна.
Аромат	Ксантан не має вираженого запаху, що робить його підходящим для застосування у продуктах, де не бажано мати додаткові аромати.
Смак	Ксантан має нейтральний смак, тому він не впливає на смакові властивості продукту, у якому використовується.
Розчинність	Ксантан добре розчиняється у воді та інших розчинах, утворюючи в'язкі та стабільні розчини. Він має властивість забезпечувати однорідність та стабільність продуктів.
Текстура	Ксантан надає продуктам гладку та однорідну текстуру. Це особливо важливо для харчових продуктів, де ксантан використовується як стабілізатор.

*Джерело: сформовано автором*

Ксантан відзначається високою ефективністю у загущенні, що дозволяє продовжити термін зберігання продуктів, запобігаючи їх розшаруванню. Він також проявляє синергетичну дію з гуаром і іншими гідроколоїдами, підсилюючи желуючі властивості каррагінанів і гуми з бобів ріжкового дерева

[13]. Часто ксантан комбінують з гумою ріжкового дерева та іншими загущувачами для надання йому властивостей гелеутворювача. Екзополісахаридксантан має високу псевдопластичність, а розчини з ксантановою камеддю не є тиксотропними, швидко відновлюючи початкову в'язкість після припинення впливу напруження [8].

Наразі відсутні дані про токсичний вплив ксантанової камеді на людський організм, і ця харчова добавка класифікована як безпечна, з низьким рівнем алергенності, тому її використання дозволене в дієтичних та дитячих харчових продуктах [14].

Хоча норми споживання ксантанової камеді не встановлені, надмірне її вживання може викликати шлунково-кишкові розлади, такі як здуття живота та діарея, оскільки ця добавка не перетравлюється і не засвоюється у шлунково-кишковому тракті людини [15].

Існують припущення, що вживання продуктів з ксантановою камеддю може сприяти зниженню рівня холестерину та підвищувати відчуття ситості, однак докази позитивного впливу ксантану на здоров'я людини не є остаточно підтвердженими [16].

### **1.3. Застосування ксантану в різних галузях промисловості**

Ксантанова камідь має значну роль у промисловості, оскільки застосовується в багатьох аспектах людської діяльності. Її ключова особливість в промисловому використанні полягає у здатності регулювати реологічні властивості водних розчинів, що робить її ефективним стабілізатором та загущувачем.

У харчовій промисловості ксантанова камідь широко використовується у виробництві таких продуктів, як соуси, молочні продукти, морозиво, десерти, хлібобулочні вироби та напої. Також вона застосовується у виробництві низькокалорійних продуктів як альтернатива жирам, де вона забезпечує потрібну густину та текстуру, які зазвичай зменшуються при зниженні вмісту жирів [17].

У м'ясній промисловості ксантанова камідь використовується при виробництві паштетів та соусів, входячи до складу стабілізуючих сумішей для ковбас [18].

Ксантан як стабілізатор та емульгатор ефективно взаємодіє з іншими компонентами харчових продуктів. Наприклад, у хлібопекарській промисловості він комбінується з пектином, желатином, крохмалем, декстрином тощо. Полісахарид також використовується для покращення смакових характеристик консервованих та заморожених продуктів, приправ та соусів [18].

В медичній галузі ксантан використовується для капсулювання лікарських засобів, загущення гелів та створення різноманітних суспензій [19]. Додавання ксантану до складу протизапальних гелів сприяє зменшенню рубцювання (підвищенню процесу епітелізації) та зменшує запалення. Застосування цих гелів допомагає зволожувати області запалення, поверхневі шари шкіри або слизові оболонки, тим самим захищаючи рану від висихання. Крім того, ксантан формує захисну плівку на поверхні, яка захищає від механічних пошкоджень і сприяє підвищенню еластичності рубців, що допомагає уникнути їхнього розтріскування [20].

У нафтовидобувній галузі ксантан застосовується як реагент для модифікації реологічних характеристик технологічних рідин на водній основі [21]. Водяні розчини ксантану володіють унікальною властивістю: під час механічного впливу, такого як перемішування або перекачування насосом, вони тимчасово знижують свою в'язкість. Однак, коли механічний вплив припиняється, первинна в'язкість швидко відновлюється. Використання деацетильованих форм ксантану в нафтовидобувній промисловості сприяє збільшенню виходу нафти до 25% [20].

## РОЗДІЛ 2. ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТА ХАРАКТЕРИСТИКА БІОЛОГІЧНОГО АГЕНТА

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

Для ефективного вирощування *Xanthomonas campestris pv. campestris* потрібне оптимальне поживне середовище, яке містить не лише основні елементи, але й міnorні складники або додаткові поживні речовини. Багато людей ігнорують цей факт, що призводить до неповного росту або загибелі культури. Тому правильно підібрані умови культивування забезпечують максимальний вихід поверхнево-активних речовин з технічної культури.

У таблиці 2.1 представлені дані про склад та кількість якісних і кількісних компонентів поживного середовища, умови культивування, рівень біомаси та літературні джерела для культивування різних штамів *Xanthomonas campestris pv. campestris*

Таблиця 2.2 містить економічні розрахунки вартості окремих компонентів і загального поживного середовища для досліджуваних штамів бактерій, які є продуцентами екзополісахаридів.

Далі були проведені розрахунки вартості 1 грама екзополісахаридів (таблиця 2.3), на можна порівняти доцільність культивування порівнювальних штамів *Xanthomonas campestris pv. campestris*.

					<b>НУХТ БТЕК 04.02.49 КР ПЗ</b>		
<b>Змн.</b>	<b>Лист</b>	<b>№ докум.</b>	<b>Підпис</b>	<b>Дата</b>			
Розроб.		Алексеева Д. О.			<b>Літ.</b>	<b>Арк.</b>	<b>Акрушів</b>
Консульт.						15	94
Керівник		Ковшар І. Д.			<b>Кафедра БТМ</b> <sup>15</sup>		
Н. Контр.							
Зав. каф.		Стабніков В.П.					
					<b>РОЗДІЛ 2. ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТА ХАРАКТЕРИ- СТИКА БІОЛОГІЧНОГО АГЕНТА</b>		

## Особливості одержання екзополісахаридів

Біологічний агент	Склад поживного середовища	Концентрація екзополісахаридів (далі – ЕПС) г/л	Умови культивування	Список використаних джерел
<i>Xanthomonas campestris pv. campestris</i>	Сахароза – 25 Ацетат натрію – 0.5 Глутамат натрію – 1.5 Дріжджовий екстракт - 5	9.5	27°C, pH 6.0, 72 години	[22]
<i>Xanthomonas campestris CGMCC15155</i>	сахароза -20 пептон - 3 дріжджовий екстракт – 1 екстракту яловичини - 5	22	28°C, pH 7 600 об/хв 30 годин	[23]
<i>Xanthomonas campestris pv. campestris</i> ATCC	Глюкоза – 20 дріжджовий екстракт – 3,0 (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> -1,5 MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O – 0,3.	13,24	48 годин, 30C, pH 7,0	[24]

Таблиця 2.2

## Умовна вартість поживних середовищ

Продуцент	Компонент поживного середовища	Концентрація у ПС, г/л	Ціна компонента, грн/кг	Вартість компонента (грн) на 1 л середовища	Джерело інформації (1, 2, 3)
1	2	3	4	5	6
<i>Xanthomonas campestris pv. campestris</i>	Сахароза	25	27	0,675	[25]
	Ацетат натрію	0.5	90	0.045	[26]
	Глутамат натрію	1.5	180	0.27	[27]
	Дріжджовий екстракт	5	4 019,9	20,0995	[28]
	Вартість 1 л середовища – 21,0895 грн				
<i>Xanthomonas campestris CGMCC15155</i>	Сахароза	20	27	0.54	[25]
	Пептон	3	1232	3.696	[29]
	Дріжджовий екстракт	1	4 019,9	4.0199	[28]
	Екстракт яловичини	5	7 296	36,48	[30]
	Вартість 1 л середовища – 44,7359 грн				

<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i> ATCC	Глюкоза	20	120	2.4	[31]
	Дріжджовий екстракт	3	4 019,9	12,0597	[28]
	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	1.5	250	0.375	[32]
	MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0.3	150	0,045	[33]
	Вартість 1 л середовища – 14,8797 грн				

В таблиці 2.3 був проведений підрахунок вартості орієнтованої концентрації екзополісахаридів як показника процесу.

Таблиця 2.3

**Умовна вартість екзополісахаридів, синтезованої на суміші ростових субстратів**

Біологічний агент	Концентрація ЕПС, г/л	Тривалість культивування, год	Кількість утворених ЕПС за годину,г/л	Вартість 1 л середовища, грн/л	Умовна вартість 1 г ЕПС, грн/л
1	2	3	4	5	6
<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i>	9.5	72	0,132	21,0895	2,22
<i>Xanthomonas campestris</i> CGMCC15155	22	30	0,73	44,7359	2,03
<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i> ATCC	13,24	48	0,275	14,8797	1,123

Отже, таблиця 2.3 допомогла підсумувати данні та підтвердити, що *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* ATCC є найкращим біологічним агентом. На це вказує просте та дешеве поживне середовище (14,8797 грн/л), найнижча умовна вартість цільового продукту (1,123) та великий вихід екзополісахаридів за годину (0,275 г/л).

## 2.2. Перевірочний розрахунок складу поживного середовища для вирощування штаму *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* ATCC – продуцента ксантану

Культивування бактерій має свої специфічні умови: для ефективного накопичення біомаси, середовище повинно містити достатньо азоту та вуглецю. Інші компоненти, такі як фосфор і сірка, зазвичай додають у надлишкових кількостях, залежно від потреб штаму.

При культивуванні конкретного мікроорганізму необхідно враховувати достатність компонентів середовища для нормального зростання, нарощування біомаси та ефективного синтезу цільового продукту. Нижче представлений розрахунок складу середовища для культивування *Xanthomonas campestris* pv. *Ampestris* ATCC

Бактеріальна клітина містить такі елементи (у відсотках від маси сухої речовини): вуглець – 50, кисень – 20, азот – 10-14, водень – 8, фосфор – 3, сірка, калій, натрій - по 1, кальцій, магній, хлор – по 0,5, залізо – 0,2, інші елементи – близько 0,3)

Усього в середовищі буде міститися Карбону:

У 180 грам глюкози міститься 72 грами Карбону

А у 20 грам глюкози міститься x грами Карбону, звідси

$$X = 20 \cdot 72 / 180 = 8 \text{ грам}$$

У дріжджовому екстракті міститься 50% Карбону, тому у 3 грамах буде

міститися:

$$3 \cdot 50\% / 100\% = 1.5 \text{ г}$$

Спочатку визначаємо хімічні формули та молекулярні маси складників ксантану: глюкоза -  $C_6H_{12}O_6$  (180,156 г/моль), маноза -  $C_6H_{12}O_6$  (180,156 г/моль), глюкуронова кислота -  $C_6H_{10}O_7$  (194,139 г/моль). Знаючи співвідношення, визначаємо загальну молекулярну масу, яка буде відповідати 100%, після цього визначаємо загальну молекулярну масу карбону з усієї цієї суміші і тим самим визначаємо відсоток самого карбону в ксантані (доволі усереднено, але це буде більш доцільно).

Отже, в 100% ксантану входить  $180,156 \cdot 2 + 180,156 \cdot 2 + 194,139 = 914,763$  г/моль. Тепер визначаємо кількість карбону:  $6 \cdot 12,011 + 6 \cdot 12,011 + 6 \cdot 12,011 = 216,198$  г/моль. Отже, кількість карбону в ксантані становить:  $216,198 \cdot 100 / 914,763 \approx 23,63\%$ .

Звідси випливає що для синтезу 13.24 грам ксантану потрібно:

$$X = 13.24 \cdot 23,63\% / 100\% = 3.13 \text{ грам Карбону}$$

Для синтезу біомаси необхідно враховувати вміст вуглецю: у біомасі він складає близько 50%, тому в 3 г біомаси буде міститися

$$3 \times 0,5 = 1.5 \text{ грам Карбону}$$

Також 40% Карбону іде на холосте окиснення, звідси

$$1.5 \cdot 100 / 60 = 2.5 \text{ г}$$

У молекулі міститься 10% Нітрогену а у 3 грамах біомаси буде:

$$3 \cdot 10\% / 100 = 0.3 \text{ г Нітрогену}$$

Провівши розрахунки поживного середовища можна зробити висновок що біологічний агент *Xanthomonas campestris* pv. *Ampestris* ATCC може мати вихід екзополісахаридів (Ксантану) 13,24 г/л

### 2.3. Морфолого-культуральні та фізіолого-біохімічні ознаки біологічного агента

*Xanthomonas campestris* CGMCC15155 – найвідоміший представник роду *Xanthomonas*. Клітини забарвлюються за Грамом негативно, мають вигляд паличок з заокругленими кінцями, розташовуються поодинокі або попарно (рис. 2.1). Розміри клітин – 0,4-0,7 мкм в ширину і 0,7-2 мкм в довжину [34, 35].

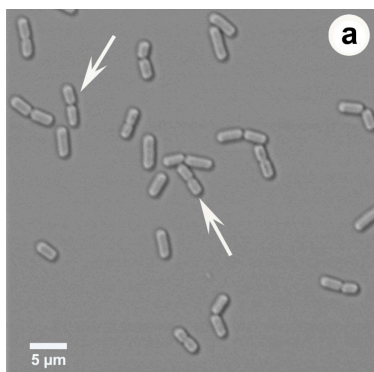


Рис. 2.1. Клітини *X. campestris* під мікроскопом [35]

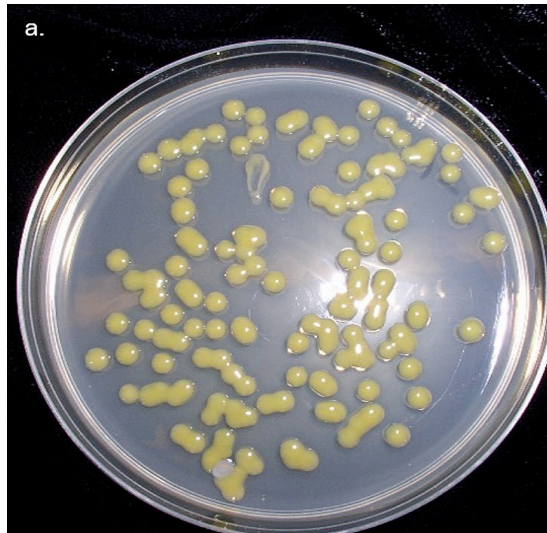


Рис. 2.2. Колонії *X. campestris* на середовищі з сахарозою та глюкозою [36]

При рості на агаризованому середовищі, що містить у своєму складі глюкозу та сахарозу утворює слизисті колонії діаметром 5-8 мм світло-жовтого кольору з прозорою зоною на краях (рис.2.2) [36, 37].

### 2.3.1 Морфолого-культуральні ознаки

*X. campestris* це облигатні аероби з гетеротрофним типом живлення. Мезофіли, здатні рости в діапазоні температур від 4 до 37°C з оптимумом в області 28-30°C. Нейтралофіл, росте в діапазоні рН 5,0-7,5 з оптимумом при рН 6,8-7,0 [34, 37, 38].

В якості джерела вуглецю та енергії бактерії можуть використовувати глюкозу, сахарозу, галактозу, мальтозу, рафінозу. Більшість штамів проявляють каталазну активність, оксидазонегативні, здатні до розрідження желатини, пентозують молоко. Здатні до гідралізації крохмалю, не відновлюють нітрати. Деякі штами здатні утворювати сірководень [34, 37, 38].

Основна корисна властивість *X. campestris* – здатність до продукування промислово-необхідного екзополісахариду ксантану. Дані бактерії також здатні утворювати мембранозв'язувальні пігменти ксантаномонадини, котрі забезпечують жовте забарвлення колоній. Варто також зазначити, що штами *X. campestris* здатні спричиняти захворювання рослин [39, 40].

## 2.4. Таксономічний статус біологічного агента

Філогенетичну класифікацію *X. campestris* CGMCC15155 наведено відповідно до другого видання Керівництва Бергі з систематики бактерій [41]:

Домен – *Bacteria*

Царство – *Bacteria*

Відділ – *Pseudomonadota*

Клас – *Gammaproteobacteria*

Порядок – *Xanthomonadales*

Родина – *Xanthomonadaceae*

Рід – *Xanthomonas*

Вид – *Xanthomonas campestris*

## РОЗДІЛ 3. ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ КСАНТАНУ

### 3.1. Потреба у виробництві ксантану

Ксантан – це натуральний полісахарид, який отримують шляхом ферментації глюкози бактеріями *Xanthomonas campestris*. Ця речовина широко використовується у харчовій промисловості завдяки своїм унікальним властивостям, зокрема, як стабілізатор, загусник та емульгатор. Особливо важливу роль ксантан відіграє у виробництві желейних виробів [42].

Свою незамінність у виробництві желе ксантан пояснює здатністю надання продукту міцної тривимірної структури, що запобігає виділенню рідини та забезпечує збереження форми протягом тривалого часу. Крім того, ксантан надає желе гладкої, однорідної текстури та дозволяє регулювати в'язкість продукту, що дає можливість виробникам створювати желе різної консистенції [43]. Важливою перевагою ксантану є його стабільність до широкого діапазону температур та значень рН, що робить його універсальним інгредієнтом для різних виробничих умов [44]. Крім того, ксантан добре поєднується з іншими харчовими добавками, такими як цукор, фруктові пюре та барвники, що дозволяє створювати різноманітні смаки та кольори желе.

Використання ксантану у виробництві желе має низку переваг. По-перше, він дозволяє покращити якість продукту, надаючи йому привабливого зовнішнього вигляду та приємної текстури. По-друге, ксантан збільшує термін зберігання желе, зменшуючи ризик псування. По-третє, оптимізація рецептури з використанням ксантану може призвести до зниження витрат на інші інгредієнти. І, нарешті, ксантан дозволяє виробникам розширювати асортимент желейних виробів, створюючи нові продукти, що відповідають сучасним споживчим трендам [45, 46].

					<b>НУХТ БТЕК 04.02.49 КР ПЗ</b>			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.	Алексеева Д. О.				<b>РОЗДІЛ 3. ТЕХНІКО-ЕКО- НОМІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ КСАНТАНУ</b>	Літ.	Арк.	Акрушів
Консульт.							22	94
Керівник	Ковшар І. Д.					22		
Н. Контр.						<b>Кафедра БТМ</b>		
Зав. каф.	Стабніков В.П.							

Підсумовуючи, можна сказати, що ксантан є незамінним інгредієнтом для виробництва високоякісних желейних виробів. Його унікальні властивості дозволяють створювати продукти з відмінною текстурою, стабільністю та привабливим зовнішнім виглядом, що відповідає сучасним вимогам споживачів.

Таблиця 3.1.

### Вихідні дані для розрахунку річної потреби в *X. campestris*

Виробництво цукрових кондитерських виробів в Україні за рік	Кількість вироблених желейних виробів за рік (25% від цукрових кондитерських виробів)	Конкурентні компанії, що забезпечують ринок желейною продукцією	20 % від загального виробництва желейних виробів в Україні [47]	Необхідна кількість культуральної рідини
2 272 700 кг	568 175 кг	Roshen АВК Конті Світоч (Nestle)	113 635 кг	76033,2 л

### 3.2. Обрахунок загальної потужності виробництва ксантану

Українська кондитерська промисловість є не лише важливим сектором економіки, а й визначальним фактором для задоволення солодких уподобань мільйонів споживачів. Щорічне виробництво кондитерських виробів, зокрема желейних продуктів, демонструє стійку тенденцію до зростання. Саме желейні вироби, завдяки своїй універсальності та привабливому смаку, займають значну частку ринку.

Виробництво желейних продуктів неможливе без використання спеціальних харчових добавок, таких як ксантан, який надає їм потрібної текстури та консистенції. Враховуючи, що попит на желейні вироби в Україні становить близько 25% [48, 49] від загального обсягу виробництва цукрових кондитерських виробів, потенціал ринку ксантану є значним.

За нашими розрахунками, для задоволення 20% потреби українського ринку в желейних виробах необхідно щорічно виробляти близько 113 635 кг готової продукції. Зважаючи на те, що вміст ксантану становить 10 г на 1 кг желейних виробів [50], а концентрація ксантану в культуральній рідині 16,44 г/л [51]. Можна визначити необхідний об'єм культуральної рідини.

Кількість вироблених желейних виробів за рік

$$2\,272\,700 * 0,25 = 568\,175 \text{ кг}$$

20 % від загального виробництва желейних виробів в Україні

$$568\,175 * 0,2 = 113\,635 \text{ кг}$$

Вміст ксантану на 1 кг готової продукції

$$113\,635 * 0,01 = 1136,35 \text{ кг}$$

Необхідна кількість культуральної рідини

$$1136350 \text{ г} / 16,44 \text{ г/л} \approx 69121,05 \text{ л}$$

Відновлення втрат цільового продукту

$$69121,05 + 6912,105 = 76033,2 \text{ л}$$

Для виробництва 113 635 кг желейних виробів з концентрацією ксантану 1%, за умови, що мікроорганізм виробляє 16,44 г/л ксантану, необхідно близько 76033,2 л культуральної рідини.

### 3.3. Розрахунок геометричного об'єму ферментера

Для забезпечення річної потреби в *X. campestris* необхідний об'єм культуральної рідини становить 76033,2 л. Враховуючи 150 робочих днів на рік, добова потреба в культуральній рідині становить:

$$V_d = V_{гп} / T_{гп} = 76033,2 / 150 = 506,9 \text{ л.}$$

Кількість культуральної рідини за цикл буде становити:

$$V_{цк} = (K_1 * V_d * T_{цф}) / 24 = 1,1 * 506,9 * 104,5 / 24 = 2,427 \text{ м}^3.$$

Один повний цикл роботи ферментера складається з двох основних етапів: безпосереднього виробництва біомаси (96 годин) та підготовчих робіт (8,5 годин). Підготовка ферментера включає в себе комплекс операцій: чищення, дезінфекцію, перевірку на герметичність, нагрівання, стерилізацію, охолодження, завантаження поживного середовища та засів бактеріями.

Щоб забезпечити безперебійний виробничий процес, необхідно передбачити певний запас потужності. Для цього використовується коефіцієнт запасу  $K_1$  (від 1,1 до 1,5), який враховує можливі збої та непередбачені ситуації.

Знаючи загальний час одного циклу і коефіцієнт запасу, ми можемо розрахувати необхідний об'єм культуральної рідини, який виробляється за один цикл. А враховуючи коефіцієнт заповнення ферментера ( $K_3$ ), який показує, яка

частина об'єму ферментера зайнята культуральною рідиною, ми можемо визначити загальний об'єм самого ферментера:

$$V_{\Gamma} = V_{\text{цк}} / K_3 = 2,427 / 0,5 = 4,854 \text{ м}^3.$$

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

Уточнюємо коефіцієнт заповнення:

$$K_3 = 2,427 / 5 = 0,48 \text{ – не перевищує заданого}$$

### **3.4. Розрахунок кількості необхідних етапів для підготовки посівного матеріалу**

Під час кожного виробничого циклу ми отримуємо  $2,427 \text{ м}^3$  культуральної рідини. Однак, під час процесу виробництва, частина цієї рідини втрачається через випаровування та потрапляння дрібних крапельок у систему вентиляції. В середньому, такі втрати становлять від 10% до 15% від загального об'єму.

Щоб компенсувати ці втрати та забезпечити отримання запланованого об'єму кінцевого продукту, необхідно збільшити початковий об'єм поживного середовища та посівного матеріалу. Тобто, перед початком виробничого процесу, ми повинні закласти в ферментер на 10-15% більше рідини, ніж плануємо отримати на виході:

$$V_{\text{роб.1}} = V_{\text{кр}} * (1 + E_{\text{ф}}) = 2,427 * 1,1 = 2,67 \text{ м}^3$$

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

Розрахувавши робочий об'єм ферментера ( $2,67 \text{ м}^3$ ) та врахувавши коефіцієнт заповнення 0,5, отримуємо необхідний геометричний об'єм ферментера  $V_{\text{ф}} = 2,67 / 0,5 = 5,34 \text{ м}^3$ . Оскільки в промисловості використовують стандартизовані ферментери, ми виберемо найближчий за об'ємом стандартний ферментер, який має об'єм  $V_{\text{ст1}} = 5 \text{ м}^3$

Уточнюємо коефіцієнт заповнення:  $K_{31} = 2,67 / 5 = 0,534$ .

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

Для засіву  $V_{\text{роб.1}} = 2,67 \text{ м}^3$  середовища необхідно приготувати

$$V_{\text{пм1}} = V_{\text{роб.1}} * X_{\text{ф}} = 2,67 * 0,1 = 0,267 \text{ м}^3, \text{ посівного матеріалу,}$$

де  $X_f = 0,1$  – доза посівного матеріалу для ферментера.

Тоді об'єм поживного середовища в ферментері буде становити:

$$V_{пс1} = V_{роб.1} - V_{пм1} = 2,67 - 0,267 = 2,4 \text{ м}^3$$

Через краплевиношення під час аерації посівного апарату ми втрачаємо 10% культуральної рідини. Тому, щоб отримати бажаний об'єм інокуляту в 0,267 м<sup>3</sup>, початковий об'єм поживного середовища повинен бути більшим.

$$V_{роб.2} = V_{пм1} * (1 + E_f) = 0,267 * 1,1 = 0,29 \text{ м}^3$$

Об'єм інокуляту 0,29 м<sup>3</sup> за коефіцієнта заповнення 0,5 можна отримати в посівному апараті об'ємом:

$$V_{па2} = 0,29 / 0,5 = 0,58 \text{ м}^3 = 580 \text{ л}$$

Приймаємо найближчий за об'ємом стандартний ферментер  $V_{ст2} = 630 \text{ л}$ .

$$\text{Уточнюємо коефіцієнт заповнення: } K_{з2} = 290/630 = 0,46$$

Посівний матеріал вноситься в посівний апарат у кількості, що дорівнює 10% від об'єму поживного середовища.

$$V_{роб.2} = 290 \text{ л}$$

$$V_{пм2} = V_{роб.2} * X_f = 290 * 0,1 = 29 \text{ л} - \text{ посівного матеріалу}$$

де  $X_f = 0,1$  – доза посівного матеріалу для посівного апарата.

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

$$V_{пс2} = V_{роб.2} - V_{пм2} = 290 - 29 = 261 \text{ л}$$

Через краплевиношення під час аерації інокулятора ми втрачаємо 10% культуральної рідини. Тому, щоб отримати бажаний об'єм посівного матеріалу в 29 л, початковий об'єм поживного середовища повинен бути більшим.

$$V_{роб.3} = V_{пм2} * (1 + E_f) = 29 * 1,1 = 31,9 \text{ л}$$

Об'єм інокуляту 31,9 л за коефіцієнта заповнення 0,5 можна отримати в посівному апараті об'ємом:

$$V_{па2} = 31,9 / 0,5 = 63,8 \text{ л.}$$

Цей об'єм є стандартним, отже обираємо апарат:  $V_{ст3} = 63 \text{ л}$ .

$$\text{Уточнюємо коефіцієнт заповнення: } K_{з.3} = 31,9/63 = 0,5$$

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 31,9 л необхідно:

$$V_{\text{пм3}} = V_{\text{роб.3}} * X_{\text{ф}} = 31,9 * 0,1 = 3,2 \text{ л посівного матеріалу}$$

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

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

$$V_{\text{пс3}} = V_{\text{роб.3}} - V_{\text{пм3}} = 31,9 - 3,2 = 28,7 \text{ л}$$

Врахуємо, що під час одержання 3,2 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:

$$V_{\text{роб.4}} = V_{\text{пм3}} * (1 + E_{\text{ф}}) = 3,2 * 1,1 = 3,52 \text{ л}$$

Об'єм інокуляту 3,52 л за коефіцієнта заповнення 0,5 можна отримати в інокуляторі об'ємом:

$$V_{\text{ін2}} = 3,52 / 0,5 = 7,04 \text{ л.}$$

Приймаємо найближчий за об'ємом стандартний інокулятор:

$$V_{\text{ст4}} = 7 \text{ л.}$$

$$\text{Уточнюємо коефіцієнт заповнення: } K_{\text{з.4}} = 3,52 / 7 = 0,5$$

Уточнений коефіцієнт заповнення перебуває у вибраних межах, отже геометричний об'єм інокулятора обрано правильно. Тоді об'єм поживного середовища в інокуляторі буде становити:

$$V_{\text{пс4}} = V_{\text{роб.4}} - V_{\text{пм4}} = 3,52 - 0,352 = 3,168 \text{ л}$$

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

$$V_{\text{пм4}} = V_{\text{роб.3}} X_{\text{ф}} = 3,52 * 0,1 = 0,352 \text{ л}$$

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

Одержання посівного матеріалу 0,352 л або ж 352 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:

$$N_{\text{колб}} = V_{\text{пм4}} / (V_{\text{колб}} * K_{\text{зк}}) = 352 / (750 * 0,2) = 2,34 \approx 3 \text{ колби}$$

Отже, за результатами розрахунків для біосинтезу бактеріями *X. campestris* необхідно встановити ферментер для біосинтезу об'ємом 5 м<sup>3</sup>, інокулятори об'ємом 630 л, 63 л, 7 л та 3 качалочні колби.

Таблиця 3.2.

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

№ стадії	Об'єм культуральної рідини V <sub>кр</sub> , м <sup>3</sup> (л)	Уточнений об'єм культуральної рідини* V <sub>роб.</sub> , м <sup>3</sup> (л)	Об'єм посівного матеріалу, V <sub>пм</sub> , м <sup>3</sup> (л)	Об'єм поживного середовища, V <sub>пс</sub> , м <sup>3</sup> (л)	Коефіцієнт заповнення, K <sub>зап</sub> , частка	Геометричний об'єм ферментера, V <sub>ст</sub> , м <sup>3</sup> (л)
1	2	3	4	5	6	7
V	2,427 м <sup>3</sup>	2,67 м <sup>3</sup>	0,267 м <sup>3</sup>	2,4 м <sup>3</sup>	0,48	5 м <sup>3</sup>
IV	0,267 м <sup>3</sup>	0,29 м <sup>3</sup>	29 л	261 л	0,46	630 л
III	29 л	31,9 л	3,2 л	28,7 л	0,5	63 л
II	3,2 л	3,52 л	0,352 л	3,168 л	0,5	7 л
I	0,352 л	0,352 л	-	0,352 л	0,2	3 колби

**РОЗДІЛ 4. БІОСИНТЕЗ ЦІЛЬОВОГО ПРОДУКТУ.**

Джерелом вуглецю та енергії для вирощування бактерій *Xanthomonas campestris* ATCC 13951 є глюкоза [51]. Так як у Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes [52] схему катаболізму глюкози у *Xanthomonas campestris* ATCC 13951

Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата	<p>РОЗДІЛ 4. БІОСИНТЕЗ ЦІЛЬОВОГО ПРОДУКТУ</p> <p>Кафедра БТМ<sup>28</sup></p>
Розроб.	Лексєва Д.О.				
Консульт.					
Керівник	Ковшар І. Д.				
Н. Контр.					
Зав. каф.	Стабніков В.П.				

не наведено для побудови шляху метаболізму глюкози об'ємом найбільш

спорідненого організму – *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* ATCC 33913: ХСС0747.

Відповідно до припущення, що основою для створення шляху катаболізму глюкози є гліколіз, представлений у Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes [52], наводимо схему перетворення глюкози.

Глюкоза під дією глюкокінази (КФ 2.7.1.2) перетворюється на глюкозо-6-фосфат, який далі за участі глюкозо-6-фосфатізомерази (КФ 5.3.1.9) утворює фруктозо-6-фосфат. Після цього, каталітична дія 6-фосфофруктокінази (КФ 2.7.1.11) призводить до активації перетворення фруктозо-6-фосфату у фруктозо-1,6-дифосфат. Фруктозодифосфатальдолаза (КФ 4.1.2.13) каталізує утворення дигідроксиацетонфосфату та гліцеральдегід-3-фосфату з фруктозо-1,6-дифосфату. Дигідроксиацетонфосфат у свою чергу під впливом триозофосфатізомерази (КФ 5.3.1.1) утворює гліцеральдегід-3-фосфат, який переходить у 1,3-дифосфогліцерат під дією гліцеральдегід-3-фосфатдегідрогенази (КФ 1.2.1.12). Надалі під дією фосфогліцераткіназа (КФ 2.7.2.3) каталізує перетворення 1,3-дифосфогліцерату на 3-фосфогліцерат. Останній утворює 2-фосфогліцерат під дією 2,3-дифосфогліцерат-залежної фосфогліцератмутази (КФ. 5.4.2.11). Енолаза (КФ 4.2.1.11) є каталізатором утворення фосфоенолпіруват з 2-фосфогліцерату. Остання стадія катаболічного шляху – утворення пірувату з фосфоенолпірувату під дією піруваткінази (КФ 2.7.1.40).

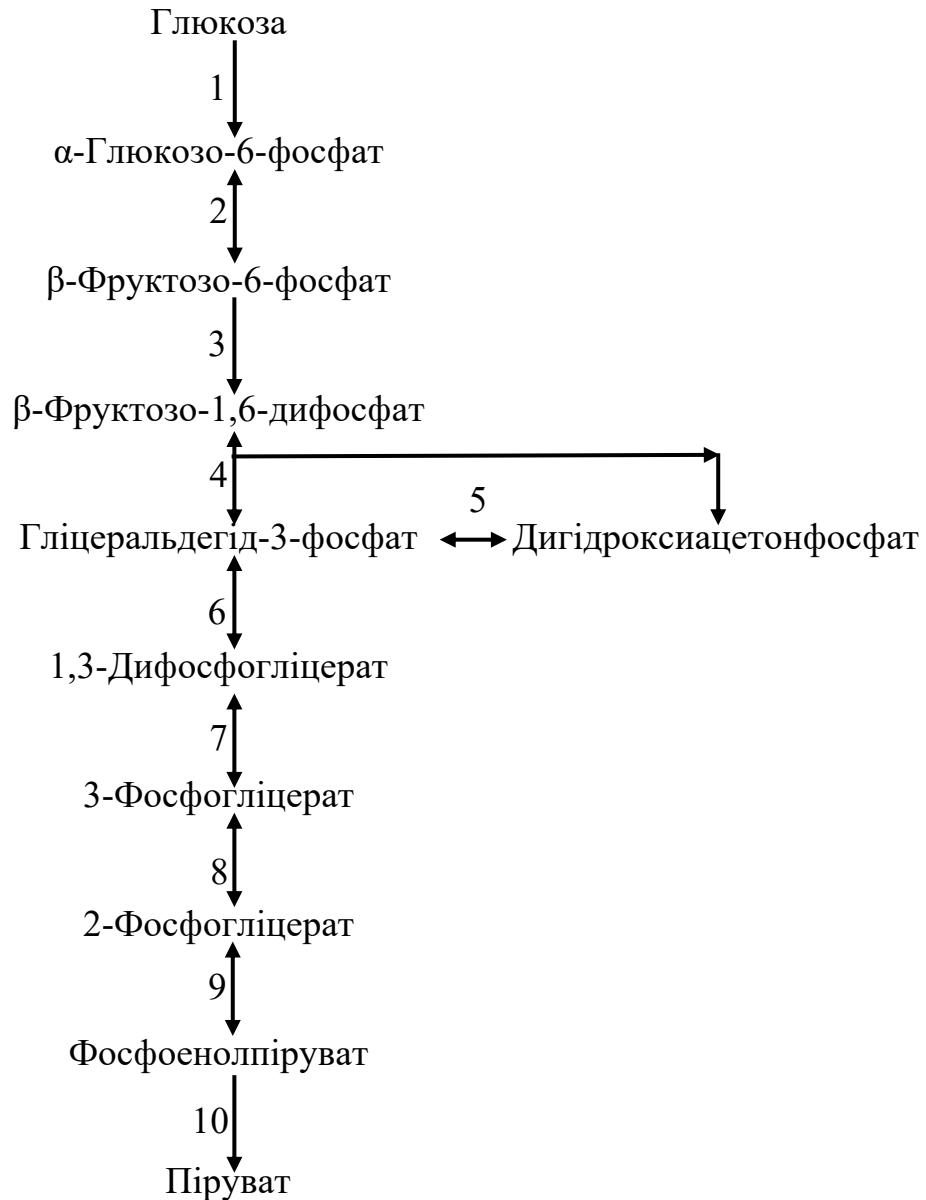


Рис. 4.1. Катаболізм глюкози. Гліколіз

**Ферменти:** 1 – глюкокіназа (КФ 2.7.1.2); 2 – глюкозо-6-фосфатізомераза (КФ 5.3.1.9); 3 – 6-фосфоглюкокіназа (КФ 2.7.1.11); 4 – фруктозо-дифосфатальдолаза (КФ 4.1.2.13); 5 – триозофосфатізомераза (КФ 5.3.1.1); 6 – гліцеральдегід-3-фосфатдегідрогеназа (КФ 1.2.1.12); 7 – фосфогліцераткіназа (КФ 2.7.2.3); 8 – 2,3-дифосфогліцерат-залежна фосфогліцератмутаза (КФ 5.4.2.11); 9 – енолаза (КФ 4.2.1.11); 10 – піруваткіназа (КФ 2.7.1.40)

## Біотрансформація ростового субстрату у цільовий продукт

Екзополісахарид ксантан складається з таких компонентів, як маноза, глюкоза, глюкуронова кислота, О-ацетильні групи та піруват [53]. Зважаючи на те, що у Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes не наведено схему біотрансформації глюкози безпосередньо у ксантан, доцільним є наведення схеми біосинтезу раніше згаданих основних складових ЕПС.

Під час росту *X. campestris* ATCC 13951 з використанням глюкози як джерела вуглецю, внаслідок катаболізму шляхом гліколізу утворюється піруват, який далі перетворюється в ацетил-КоА під дією ферментів піруватдегідрогенази K1 компоненту (КФ 1.2.4.1) та піруватдегідрогенази K2 компоненту (КФ 2.3.1.12). Піруват також є попередником ксантану, який безпосередньо приймає участь у подальшому синтезі ЕПС в клітині, в той час як ацетил-КоА є джерелом утворення О-ацетильних груп, котрі також є присутніми у молекулі ксантану.

Ацетил-КоА далі входить до циклу трикарбонних кислот, де він за каталізу цитратсинтази (КФ 2.3.3.1) перетворюється в цитрат, а той в свою чергу в ізоцитрат за допомогою аконітатгідратази (КФ 4.2.1.3). Ізоцитрат за допомогою ізоцитратдегідрогенази (КФ 1.1.1.41) утворює 2-оксоглутарат, який далі під дією 2-оксоглутаратдегідрогенази K1 компоненту (КФ 1.2.4.2) та 2-оксоглутаратдегідрогенази K2 компоненту (КФ 2.3.1.61) перетворюється в сукциніл-КоА, котрий в подальшому за ферментативної дії альфа-субодиниці сукциніл-КоА синтетази (КФ 6.2.1.5) утворює сукцинат. Фермент сукцинатдегідрогеназа (КФ 1.3.5.1) каталізує утворення з сукцинату fumarату, який далі перетворюється у малат під дією fumarатгідратази класу (КФ 4.2.1.2). Малат під дією ферменту малатдегідрогенази (КФ 1.1.1.37) перетворюється в оксалоацетат.

Анаплеротичними реакціями під час росту *X. campestris* ATCC 13951 на глюкозі є перетворення фосфоенолпірувату на оксалоацетат під дією фосфоенолпіруваткарбоксілази (КФ 4.1.1.31) та перетворення пірувату на малат під дією оксалоацетат-декарбоксілювальна малатдегідрогенази (КФ 1.1.1.40).

Синтез УДФ-глюкози та УДФ-D-глюкуронові кислоти починається з утвореного під час гліколізу глюкозо-6-фосфат, який під дією фосфоглюкомутази

(КФ 5.4.2.2) перетворюється в  $\alpha$ -D-глюкозо-1-фосфат, який у свою чергу утворює УДФ-глюкозу за каталізу УТФ-глюкозо-1-фосфат уридилтрансферази (КФ 2.7.7.9). З УДФ-глюкози також утворюється УДФ-D-глюкуронат за допомогою УДФ-глюкозо-6-дегідрогенази (КФ 1.1.1.22). Як УДФ-глюкоза, так і УДФ-глюкуронат є попередниками ксантану і використовуються клітиною для синтезу даного екзополісахариду.

Утворення іншого попередника ксантану – ГДФ-манози – починається перетворенням фруктозо-6-фосфату, отриманого в процесі гліколізу, під дією манозо-6-фосфатізомерази (КФ 5.3.1.8) на манозо-6-фосфат, який далі при ферментативній дії фосфоманомутази (КФ 5.4.2.8) переходить в манозо-1-фосфат. Останній утворює ГДФ-манозу за допомогою манозо-1-фосфат гуанілілтрансферази (КФ 2.7.7.13).

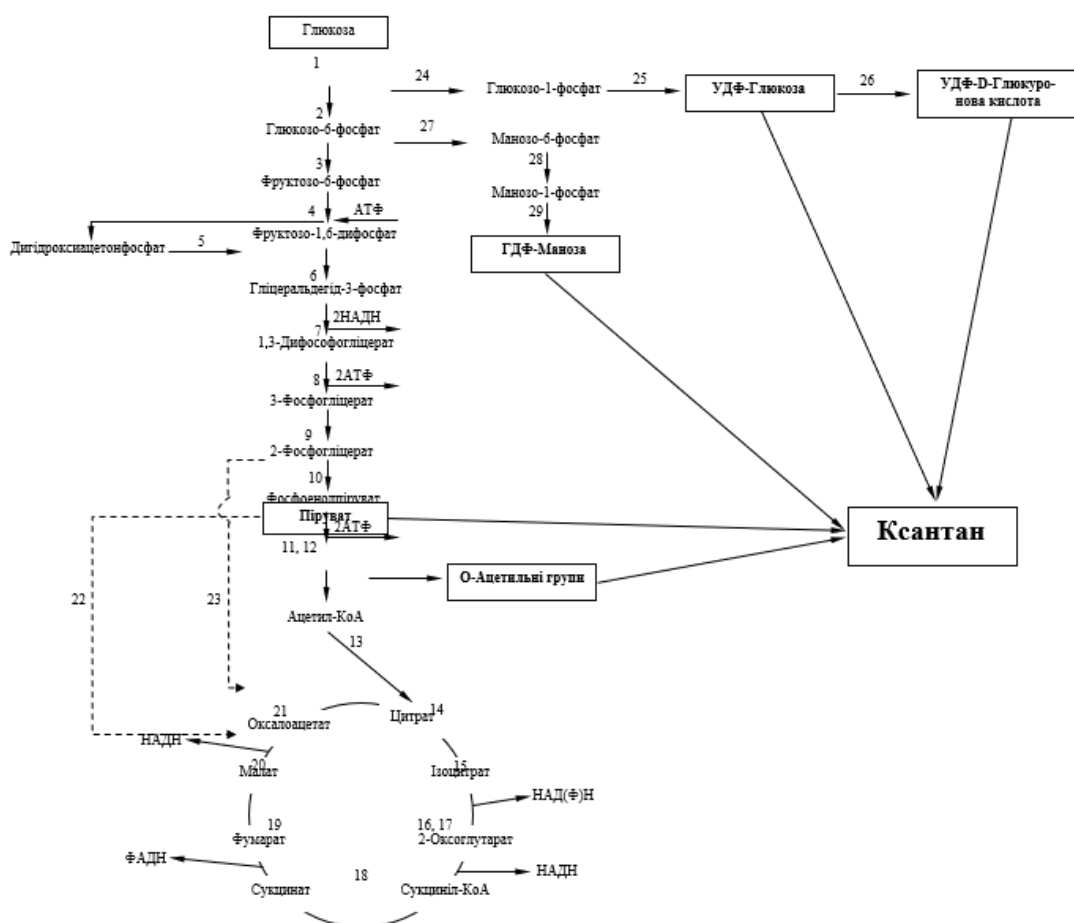


Рис.4.2. Схема біотрансформації глюкози до ксантану

**Умовні позначення:**

- > Основний шлях біосинтезу
- > Анаплеротичні реакції

**Ферменти:** 1 – глюкокіназа (КФ 2.7.1.2); 2 – глюкозо-6-фосфатізомераза (КФ 5.3.1.9); 3 – 6-фосфофруктокіназа (КФ 2.7.1.11); 4 – фруктозо-дифосфатальдолаза (КФ 4.1.2.13); 5 – триозофосфатізомераза (КФ 5.3.1.1); 6 – гліцеральдегід-3-фосфатдегідрогеназа (КФ 1.2.1.12); 7 – фосфогліцераткіназа (КФ 2.7.2.3); 8 – 2,3-дифосфогліцерат-залежна фосфогліцератмутаза (КФ 5.4.2.11); 9 – енолаза (КФ 4.2.1.11); 10 – піруваткіназа (КФ 2.7.1.40); 11 – піруватдегідрогеназа К1 компонент (КФ 1.2.4.1); 12 – піруватдегідрогенази К2 компоненту (КФ 2.3.1.12); 13 – цитратсинтаза (КФ 2.3.3.1); 14 – аконітатгідратаза (КФ 4.2.1.3); 15 – ізоцитратдегідрогеназа (КФ 1.1.1.41); 16 – 2-оксоглутаратдегідрогеназа К1 компонент (КФ 1.2.4.2); 17 – оксоглутаратдегідрогеназа К2 компонент (КФ 2.3.1.61); 18 – сукциніл-КоА синтетеза альфа-субодиниця (КФ 6.2.1.5); 19 – сукцинатдегідрогеназа (КФ 1.3.5.1); 20 – фумаратгідратаза II класу (КФ 4.2.1.2); 21 – малатдегідрогенази (КФ 1.1.1.37); 22 – оксалоацетат-декарбоксилувальна малатдегідрогеназа (КФ 1.1.1.40); 23 – фосфоенолпіруваткарбоксилаза (КФ 4.1.1.31); 24 – фосфоглюкомутаза (КФ 5.4.2.2); 25 – уридилтрансфераза (КФ 2.7.7.9); 26 – УДФ-глюкозо-6-дегідрогеназа (КФ 1.1.1.22); 27 – манозо-6-фосфатізомераза (КФ 5.3.1.8); 28 – фосфоманомутаза (КФ 5.4.2.8); 29 – манозо-1-фосфат гуанілілтрансфераза (КФ 2.7.7.13).

## РОЗДІЛ 5. ОБГРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ

### 5.1. Обґрунтування способу культивування і типу ферментера

*Xanthomonas campestris* — це грамнегативна облігатна аеробна бактерія, тобто культивування можливе лише за присутності нормальної кількості вільного кисню і здійснюють окисне фосфорилування. [54]

Методи культивування мікроорганізмів можуть бути розділені на поверхневий і глибинний. Поверхнєве культивування передбачає вирощування аеробних мікроорганізмів на поверхні рідких або твердих поживних середовищ. У цьому випадку мікроорганізми отримують кисень з повітря. Для забезпечення ефективності поверхневого культивування необхідно максимально збільшити контактну площу середовища з повітрям. На рідких середовищах мікроорганізми ростуть у формі плівок, наприклад, у виробництві лимонної кислоти.

У глибинному методі культивування мікроорганізмів використовують на рідких середовищах, де вони розвиваються по всій масі. Суміш поживного середовища та мікроорганізмів, які вирощуються у ньому, називають культуральною рідиною. Так як мікроорганізми можуть використовувати лише розчинений у воді кисень, а його концентрація в рідині невелика, для забезпечення росту аеробів необхідно постійно додавати кисень. Процес введення кисню у глибину рідкого середовища називається аерацією. Це здійснюється шляхом продування стерильного повітря через культуральну рідину. [55]

Найбільш ефективним методом культивування буде глибинний метод з додатковою аерацією так як бактерія є грамнегативний облігатним аеробом, тобто потрібно аераційне повітря. До способу культивування відноситься не лише глибинне чи поверхнєве культивування, а й підбір оптимальних умов (температура, швидкість обертів і т.д.).

					<b>НУХТ БТЕК 04.02.49 КР ПЗ</b>			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Алексеева Д. О.			<b>РОЗДІЛ 5. ОБГРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ</b>	Літ.	Арк.	Аркушів
Консульт.							34	94
Керівник		Ковшар І. Д.				34		
Н. Контр.						<b>Кафедра БТМ</b>		
Зав. каф.		Стабніков В.П.						

Так як наш мікроорганізм є облигатна аеробною бактерією потрібно забезпечити подачу аераційного повітря. Комфортною температурою культивування є 27°C.

Для підтримки рН 7 потрібно готувати титрувальні агенти. Використаємо для регуляції рН 6%-вий розчин соляної кислоти та аміачну воду (25% розчин аміаку).

*Xanthomonas campestris* є нейтрофілом, тому потрібно підтримувати нейтральне середовище.

Ферментер - прилад, що здійснює перемішування культурального середовища в процесі мікробіологічного синтезу.

Реактори застосовується в біотехнологічній промисловості при виробництві лікарських та ветеринарних препаратів, вакцин, продуктів харчової промисловості (ферменти, харчові добавки), а також при біоконверсії крохмалю та виробництві полісахаридів.

Ферментер має бути спроектований так, щоб уникнути потрапляння забруднюючих мікроорганізмів та забезпечити збереження потрібної мікрофлори. Об'єм культивуємої суміші має залишатися постійним, а рівень розчиненого O<sub>2</sub> повинен перевищувати критичні показники для керування культурою аеробних організмів. Параметри зовнішнього середовища, такі як температура та рН, повинні триматися під постійним контролем. Під час процесу вирощування культура повинна бути ефективно перемішана.

Найкращим способом культивування буде безперервне коли. Переваги безперервного культивування над іншими ,це те що безперервна ферментація відбувається у стабільних умовах, де мікробна популяція та її продукти залишаються найбільш однорідними. Використання безперервних ферментаційних процесів забезпечує можливість ефективного регулювання та керування біосинтезом.

Барботажні ферментери - це апарати, у яких подача повітря здійснюється через спеціальні пристрої, розташовані у нижній частині апарату. Аерація відбувається завдяки стерильному, підігрітому до необхідної температури повітрю, яке подається через спеціальні пристрої - барботери, і за допомогою перемішування культуральної рідини мішалками. Це сприяє кращому розчиненню кисню в середовищі. Наявність відкритих турбінних мішалок та подача повітря через барботери забезпечують потрібний рівень масообміну.

Піногасник у ферментері використовується для контролю над утворенням піни під час процесів бродіння або ферментації. Піна може виникати внаслідок реакцій між компонентами середовища, таких як білки або жири, або через вивільнення газів, наприклад, вуглекислого газу під час бродіння. Піна може заважати ефективному змішуванню реакційної суміші, контролю температури та відбірному збору продукту.

Піногасник працює за принципом знищення піни шляхом додавання спеціальних речовин, які зменшують поверхневий натяг рідини і руйнують пухлини піни. Це дозволяє підтримувати оптимальні умови для процесу ферментації, забезпечуючи його стабільність та ефективність

Існують натуральні або синтетичні піногасники. Серед натуральних переважно використовуються жирові піногасники, такі як кістковий жир, свинячий жир, рослинні олії (соняшникова, оливкова, соєва тощо).

Проте жирові піногасники, як і синтетичні ПАР, не завжди можна застосовувати через їхню несумісність із продуктом.

Механічні піногасники поділяються на обертові і статичні. Обертові піногасники руйнують повітряні бульбашки в піні та сприяють виділенню газу з неї. Найпростіший механічний піногасник - це плоский диск, що обертається з великою швидкістю над поверхнею піни. [56]

## 5.2 Обґрунтування вибору стадії підготовки аераційного повітря

Ефективне культивування *X. campestris*, як облигатного аероба, вимагає створення спеціалізованих умов. Одним з ключових факторів є забезпечення безперервної подачі стерильного повітря, насиченого киснем. Це досягається за допомогою барботера, який розподіляє повітря у вигляді дрібних бульбашок по всьому об'єму культурального середовища, створюючи оптимальні умови для дихання бактерій [57] .

Паралельно з аерацією, критично важливим є підтримання високого рівня стерильності. Для цього використовують ультрафіолетове опромінення. УФ-лампи ефективно знищують мікроорганізми, що можуть потрапити в систему, запобігаючи контамінації культур та забезпечуючи високу чистоту виробництва.

Процес підготовки стерильного повітря для біореакторів включає кілька послідовних етапів.

- Для зменшення початкового рівня забруднення атмосферне повітря забирається з висоти 2-3 метри над землею. Далі, для видалення грубих частинок, повітря проходить через фільтри попередньої очистки. Це дозволяє захистити подальше обладнання та забезпечити більш ефективну роботу системи.
- Для забезпечення необхідного тиску для ефективного диспергування повітря в культуральному середовищі, атмосферне повітря стискається в турбокомпресорі до 0,35-0,5 МПа. Однак, цей процес супроводжується значним адіабатним нагріванням, внаслідок чого температура повітря може досягати 120-250°C. Таке підвищення температури не лише знижує ефективність подальшої фільтрації, але й призводить до збільшення вологонасиченості повітря. Для усунення цих негативних наслідків, стиснене повітря направляється в теплообмінник, де відбувається його охолодження до оптимальної температури. Проходячи через теплообмінник, повітря віддає тепло

охолоджуючій воді, що призводить до конденсації значної частини водяної пари.

- Після охолодження, стиснене повітря направляється в ресивер – ємність, призначену для накопичення та стабілізації параметрів повітряного потоку. У ресивері відбувається остаточне видалення конденсату, який утворився в процесі охолодження. Конденсат, що містить домішки та мікроорганізми, періодично видаляється з ресивера, щоб запобігти його накопиченню та повторному попаданню в систему. Крім того, ресивер слугує буферною ємністю, яка вирівнює коливання тиску в системі, забезпечуючи стабільний потік повітря до наступних етапів очищення.

- Для забезпечення високого ступеня стерильності повітря використовується багатоступенева система фільтрації. Перший етап очищення передбачає проходження повітря через грубі фільтри, які затримують великі частинки пилу, аерозолі та інші механічні домішки. Наступні ступені фільтрації здійснюються за допомогою високоточних фільтрів HEPA (High-Efficiency Particulate Air), які здатні утримувати до 99,999% повітряних частинок розміром 0,3 мікрона і більше, включаючи бактерії, віруси та спори грибів. Така багатоступенева схема дозволяє ефективно очистити повітря від усіх видів забруднень і забезпечити його високу стерильність [58, 59, 60].

Поєднання ефективної аерації та ретельної стерилізації є ключовим для успішного культивування *X. campestris*. Стерильне повітря забезпечує оптимальні умови для росту культури, запобігаючи конкуренції з боку інших мікроорганізмів. В свою чергу, аерація забезпечує необхідний рівень кисню для дихання бактерій та підтримує стабільний рівень рН в культуральному середовищі.

### **5.3 Вибір мийних та дезінфікуючих засобів**

#### **5.3.1. Обґрунтування вибору мийних та дезінфікуючих засобів**

Вибір мийних і дезінфікуючих засобів для біотехнологічного виробництва є не менш важливим етапом, ніж інші стадії технологічного

процесу, а можливо і одним із найкритичнішим, оскільки прямо впливає на життєдіяльність продуцента та якість готового продукту – ксантану. Це пов'язано із рутинністю процедур очистки обладнання і поверхонь приміщення, що покликанні забезпечити встановлено прийнятний рівень санітарно-гігієнічних умов виробництва для отримання стабільно прогнозованого результату. Відмітимо, що *мийний засіб* - це речовини неорганічної або органічної природи або комбінація речовин, що складається із мила та/або поверхнево-активних речовин, які призначені для очищення і прання; *дезінфекція* – це комплекс заходів, спрямованих на знищення і руйнування потенційно патогенних і умовно-патогенних мікроорганізмів, спор та їх токсинів. Тому це процедури мийки і дезінфекції є послідовними і взаємодоповнючими.

Оскільки виробництво ксантану передбачає роботу із культурою мікроорганізму, зокрема *Xanthomonas campestris*, вимагає суворе дотримання нормованих умов чистоти і контролю за стерильністю бактеріальної культури, оскільки це критично впливає на весь біотехнологічний процес. Персонал має максимально мінімізувати будь-які ризики забруднення сторонньою мікрофлорою та унеможливити перехресну контамінацію, що забезпечується регулярним навчанням та рутинним дотриманням процедур по очищенню і дезінфекції. Робочі поверхні постійно контактують із різними хімічними речовинами, залишки яких після проведення технологічного процесу іноді складно видаляються і можуть стати як джерелом забруднення так і основою для розвитку сторонньої мікрофлори. У зв'язку із цим, до мийних і дезінфікуючих засобів є наступні вимоги:

- ефективність до різноманітних видів мікроорганізмів
- не пошкоджувати оброблювані поверхні;
- безпечність для продукту, відсутність впливу на смак, колір і запах;
- простота розчинності у воді для приготування робочих розчинів;
- нетоксичність для здоров'я людини.

Кілька миючих і дезінфікуючих засобів, що можна використати під час виробництва ксантану наведено нижче:

**Засіб миючий і дезінфекційний для рук Стерилін** – засіб для очищення рук від забруднень, знищує мікрорганізми та віруси. Діюча речовина - етанол 70%, допоміжні речовини - гліцерин, екстракт обліпихи, екстракт імбиру, вода [61]. Зареєстрований наказом від 05.05.2020 до 05.05.2025.

**Засіб дезінфекційний для рук Camomile Patron** – антисептик для рук видаляє бруд, знищує віруси та бактерії. Виготовлений з використанням полігексаметиленгуанідин гідрохлориду (ПМГП), що знищує бактерії мікробактерії туберкульозу, легіонельозу, бактерії кишкової палички, стафілококи, стрептококи, сальмонели, ряд вірусів (в тому числі ВІЛ, поліомієліт, грип, герпес та ін.), позбавляє широкого спектру грибків. Спосіб застосування полягає у нанесенні на сухі долоні і втирання до повного висихання. Має пролонгований ефект - залишає на поверхні захисний шар, який буде діяти протягом 3-6 годин або до наступного миття [62]. Зареєстрований наказом від 20.10.2021 №2279 до 20.10.2026.

**Мийний засіб PUR-265** – непінний миючий засіб (на основі гідроксидів натрію та калію) для мийки складних забруднень з поверхонь обладнання. Відмиває жирові забруднення тваринного і рослинного походження, видаляє відкладення за короткий проміжок часу. Ефективний у воді при низьких температурах, не дає змогу утворюватися солей жорсткості. Толерантний до поверхонь із сталі, пластику, гуми. Рекомендований для миття обладнання, ємностей, апаратів, ліній розливу, трубопроводів. Рекомендований до використання у СІР мийках. Робочі концентрації: 0,5-2%. Оптимальна температура: 30-60 °С [63].

**CHEMICID SP 2000 PLUS** – рідкий кислотний миючий засіб на основі ортофосфорної кислоти, що містить спеціальні домішки. Призначений для застосування в системі СІР. Використовується для мийки трубопроводів,

резервуарів, бочок, бідонів, реакторів. Видаляє вапнякові відкладення, накип, а також жирові та білкові забруднення. Спеціальний склад препарату дозволяє ефективно утворювати жирову емульсію та очищати від забруднень. Концентрація робочих розчинів 1,0-2,0 % [64].

**Миючий засіб SUPRA** – ефективно очищує виробниче обладнання, ємності, трубопроводи, накопичувачі, пастеризатори від білкових і жирових забруднень. Склад: гідроксид натрію, вода, гідроксид калію, аніонні ПАР, неіоногенні ПАР, амфотерні ПАР, хлорид натрію, метасилікат натрію, інгібітор корозії KI-1M. Робоча концентрація – 2% [96].

**ДЕЗЕКОН** – концентрований рідкий лужний мийний і дезінфікуючий засіб з посиленою дією для дезінфекції, передстерилізаційного очищення, щоденних і генеральних прибирань та санітарної обробки. Склад: комплекс 4-х четвертинних амонієвих солей (не менше 5,5%) і синергічно діючих допоміжних компонентів. рН  $12,4 \pm 0,5$ . Дезекон добре перемішується з холодною / гарячою водою в будь-якому співвідношенні. Водні розчини майже безбарвні, прозорі - мийні властивості посилюються при підвищенні температури (розчини можна нагрівати до 900 °С і сумісні з паром); не затримується на поверхні, добре змиваються і видаляє органічні забруднення з поверхонь об'єктів обробки, не залишають нальоту. Толерантний до поверхні об'єктів з скла, полімерів, металів, гуми, пластмас; не пошкоджує лакофарбове, гальванічне покриття, не зменшує цілісність тканин і не знебарвлює їх.

Засіб застосовується як водний робочий розчин в концентрації 0,2% - 5,0% залежно від місця застосування, типу забруднення, збудника, об'єктів обробки. 100 мл/м<sup>2</sup> (протирання, зрошення) - рекомендована витрата робочого розчину.

Дезекон – ефективний засіб проти грам + і грам- бактерій (включаючи *Legionella pneumophila*, *Listeria monocytogenes*, *P.aeruginosa* (Antibiotic resistant), збудників туберкульозу, MRSA), вірусів (включаючи віруси

герпесу, грипу, рота- , корона-, хантавіруси, віруси гепатитів В і С, ВІЛ, вірус *Avian influenza* (збудник «пташиного» грипу)), збудників кандидозів і дерматомікозів і цвілевих грибів.

Дезекон ефективний проти наступних мікроорганізмів: *Listeria monocytogenes*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Shigella dysenteriae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas aeruginosa (Antibiotic resistant)*, *Salmonella choleraesuis*, *Salmonella typhi*, *Serratia marcescens*, *Campylobacter jejuni*, *Corynebacterium ammoniagenes*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium (Vancomycin resistant)*, *Shigella flexneri*, *Shigella sonnei*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus aureus (Methicillin resistant)*, *Staphylococcus epidermidis (Antibiotic resistant)*, *Streptococcus pyogenes*, *Xanthomonas axonopodis pv. Citri*, *Trichophyton metagrophytes*, *Candida albicans*, *Aspergillus niger*, *Escherichia coli*, *Escherichia coli (Antibiotic resistant)*, *Escherichia coli 0157: H7*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella pneumoniae (Antibiotic resistant)* [65].

**ДЕЗЕКОНОМ** – прозора рідина синього кольору. Діючі речовини: амінопропилдодецилпропандіамін – 5,0%, дидецилдиметиламоніум хлорид – 9,0%, полігексаметиленбігуанід гідрохлорид – 0,98%, неіоногенна ПАВ, регулятор рН, комплексонат, ароматизатор, барвник, вода.

Засіб відмінно змішується з гарячою та холодною водою в будь-якому співвідношенні. Водні розчини прозорі, мають слабкий запах ароматизатора і здатні до помірного піноутворенням; не затримують забруднення на поверхнях об'єктів обробки, видаляють органічні забруднення, добре змиваються, мийні властивості посилюються при підвищенні температури; не залишають нальоту і плям.

Робочі розчини толерантні до скла, полімерних матеріалів, металів, гуми, лакофарбового, гальванічного покриття, пластмас. Можна використовувати для прання тканин, оскільки не знебарвлює і не знижує міцність.

Дезеконом використовується у вигляді робочих водних розчинів в концентрації 0,02% - 5%. Витрати робочого розчину – 100 мл/м<sup>2</sup>. Можна використовувати під час ручної обробки (протирання), зрошення і механізованої обробки (наприклад в підлогомиїних машинах), під час занурення, замочування, розпилення як аерозолію.

Активний проти збудників туберкульозу, *P.aeruginosa*, *S.aureus*, проти оболонкових / безоболонкових вірусів, таких як гепатитів всіх типів, СНІД, грипу всіх типів, герпесу, коронавірусів, збудників поліомієліту та ін.), проти патогенних грибів-збудників кандидозів, дерматомікозів, аспергільозів. У режимі розчинів із підвищеною температурою антимікробна активність розчину і миюча здатність підвищується [66].

Таким чином, від правильної організації санітарної обробки і вибору миючих і дезінфікуючих засобів залежить правильність перебігу всіх стадій біотехнологічного виробництва і як наслідок, отримання стабільного і прогнозованого результату у вигляді фінішної продукції високої кінцевої якості

**Дезинфікуючий засіб Бланідас Актив ензим** – призначений для проведення дезінфекції та генеральних прибирань. Однорідна прозора концентрована рідина, яка добре розчиняється у воді. Склад: 12 алкілдиметилбензиламонію хлорид, 8-дидецілдиметиламонію хлорид, 2-полігексаметиленгуанідин гідрохлорид (ПГМГ), ферменти (ліпаза, амілаза, протеаза ), ізопропіловий спирт, функціональні компоненти та інгібітори корозії.

Активний по відношенню до збудників внутрішньолікарняних інфекцій, інфекцій бактеріальної етіології (включаючи туберкульоз, небезпечні та особливо небезпечні інфекції: чума, туляремія, черевний тиф, холера, клостридії, легіонельоз; *Listeria monocytogenes*, *P.aeruginosa* (*Antibiotic resistant*), *E.hirae*, *S.aureus* та *S.aureus Methicillin Resistant*, мультирезистентний стафілокок (MRSA), ентерогеморагічна кишкова паличка

(*Escherichia coli*), сальмонели, *Helicobacter pylori*), інфекцій вірусної етіології (включаючи гепатит А, парентеральні вірусні гепатити (В, С), Вірус СНІД (ВІЛ), герпес, грип, парагрип, вірус «пташиного грипу» А(Н5N1), Вірус «свинячого грипу» А(Н1N1), рОта-, поліо-(поліомієліт), корона-, папова-, ентеровіруси, хантавіруси, вакциніявірус, аденовірус, вірус *Avian influenza*, Вірус *Ебола*), інфекцій грибкової етіології (кандидози, дерматомікози, плісняві грибки), має спороцидні властивості (*B.subtilis*, *B.anthracooides*, сибірка) [34]. Порівняльна характеристика мийних і дезінфекційних засобів наведена нижче у таблиці 5.1.

## Порівняльна характеристика мийних і дезінфекційних засобів

Назва засобу	Склад	Антимікробна дія	Характеристика	Сумісність з оброблюваними поверхнями	Спосіб застосування (концентрація робочого розчину)	Відомості про державну реєстрацію	Вартість	Джерело
<i>Засоби для обробки внутрішньої поверхні обладнання</i>								
PUR-265 (виробник: ТОВ СІТІБІЗ)	натрію гідроксид, кальцію гідроксид,	-	Рекомендований для миття обладнання, ємностей, апаратів, ліній розливу, трубопроводів	Не чинять шкідливої дії на матеріали оброблюваних об'єктів, виготовлених з металів, скла, полімерних матеріалів, гуми, не пошкоджує лакофарбове і гальванічне покриття.	Застосовується у вигляді робочих розчинів концентрацією 0,5-2,0%.	Не потребує реєстрації	840 грн за 10 кг	[63]
Chemicid SP 2000 Plus (виробник: Hungaro Chemicals Kft.)	Ортофосфатна кислота	-	Рекомендований для миття обладнання, ємностей, апаратів, ліній розливу, трубопроводів		Застосовується у вигляді робочих розчинів концентрацією 1,0-2,0%.	Не потребує реєстрації	4149 грн за 25 кг	[64]
SUPRA	гідроксид натрію, вода, гідроксид калію, аніонні ПАВ неіоногенні ПАВ, амфотерні ПАВ, хлорид натрію, метасилікат натрію, інгібітор корозії KI-1M	-	виробниче обладнання, ємності, трубопроводи, накопичувачі, пастеризатори від білкових і жирових забруднень		Застосовується у вигляді робочих розчинів концентрацією 1,0-2,0%.	Не потребує реєстрації	256 грн за 1 кг	[96]

ДЕЗЕКОН (виробник: Інтердез)	комплекс 4-х четвертинних амонієвих солей (не менше 5,5%) і синергічно діючих допоміжних компонентів	збудників туберкульозу, MRSA), вірусів (включаючи віруси герпесу, грипу, рота- , корона- хантавіруси, віруси гепатитів В і С, ВІЛ, вірус Avian influenza (збудник «пташиного» грипу)), збудників кандидозів і дерматофітів і цвілевих грибів, <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Proteus</i> <i>mirabilis</i> , <i>Proteus vulgaris</i> , <i>Shigella</i> <i>dysenteriae</i> , <i>Pseudomonas</i> <i>aeruginosa</i> , <i>Pseudomonas</i> <i>aeruginosa (Antibiotic resistant)</i> , <i>Salmonella choleraesuis</i> , <i>Salmonella typhi</i> , <i>Serratia</i> <i>marcescens</i> , <i>Campylobacter jejuni</i> , <i>Corynebacterium ammoniagenes</i> , <i>Enterobacter aerogenes</i> , <i>Enterobacter cloacae</i> , <i>Enterococcus</i> <i>faecalis</i> , <i>Enterococcus faecium</i> ( <i>Vancomycin resistant</i> ) <i>Shigella</i> <i>flexneri</i> , <i>Shigella sonnei</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Staphylococcus aureus (Methicillin</i> <i>resistant)</i> , <i>Staphylococcus</i> <i>epidermidis (Antibiotic resistant)</i> , <i>Streptococcus pyogenes</i> <i>Xanthomonas axonopodis pv. Citri</i> , <i>Trichophyton metagrophytes</i> , <i>Candida albicans</i> , <i>Aspergillus</i> <i>niger</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Escherichia</i> <i>coli (Antibiotic resistant)</i> , <i>Escherichia coli 0157: H7</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Klebsiella</i> <i>pneumoniae (Antibiotic resistant)</i>	концентрований рідкий лужний мийний і дезінфікуючий засіб з поширеною дією для дезінфекції, передстерилізаційного очищення, щоденних і генеральних прибирань та санітарної обробки	Для обробки зовнішніх поверхонь: толерантний до поверхні об'єктів з скла, полімерів, металів, гуми, пластмас; не пошкоджує лакофарбове, гальванічне покриття, не зменшує цілісність тканин і не знебарвлює їх.	Застосовується у вигляді робочих розчинів концентрацією 0,02- 5,0%.	Наказ від 30.06.2022 №23026 до 30.06.2026	390 грн за 1 л	[65]
------------------------------------	---	---	---	--	---	---	-------------------	------

ДЕЗЕКОНОМ (виробник: Інтердез)	Діючі речовини: амінопропилдод ецилпропандіамі н – 5,0%, дидецилдиметил амоніум хлорид – 9,0%, полігексаметиле нбігуанід гідрохлорид – 0,98%, неіоногенна ПАР, регулятор рН, комплексонат, ароматизатор, барвник, вода.	Активний проти збудників туберкульозу, <i>P.aeruginosa</i> , <i>S.aureus</i> , проти оболонкових / безоболонкових вірусів, таких як гепатитів всіх типів, СНІД, грипу всіх типів, герпесу, коронавірусів, збудників поліомієліту та ін.), проти патогенних грибів- збудників кандидозів, дерматомікозів, аспергільозів	Засіб відмінно змішується з гарячою та холодною водою в будь-якому співвідношенні. Водні розчини прозорі, мають слабкий запах ароматизатора і здатні до помірного піноутворенням; не затримують забруднення на поверхнях об'єктів обробки, видаляють органічні забруднення, добре змиваються, мийні властивості посилюються при підвищенні температури; не залишають нальоту і плям.	<i>Для обробки зовнішніх поверхнь:</i> Робочі розчини толерантні до скла, полімерних матеріалів, металів, гуми, лакофарбового, гальванічного покриття, пластмас. Можна використовувати для прання тканин, оскільки не знебарвлює і не знижує міцність.	Застосовується у вигляді робочих розчинів концентрацією 0,2- 5,0%.	Наказ від 30.06.2022 №26734 до 30.06.2026	728 грн за 1 л	[66]
Бланідас Актив ензим ТОВ "БЛАНІДАС" (Україна)	12 алкілдиметилбе нзиламонію хлорид, 8- дидецилдиметил амонію хлорид, 2- полігексаметиле нгуанідин гідрохлорид (ПГМГ), ферменти (ліпаза, амілаза, протеаза ), ізопропіловий спирт, функціональні компоненти та інгібітори корозії		Однорідна прозора концентрована рідина, яка добре розчиняється у воді		Застосовується у вигляді робочих розчинів концентрацією 1,0- 1,5%.	Наказ від 15.07.2020 до 15.07.2025	354 грн за 1 л.	[97]

### 5.3.2 Розрахунок витрат мийних та дезінфікуючих засобів для виробництва

Виробництво ксантану триває 150 днів і передбачає підготовку інокуляторів об'ємом 7 л, 63 л, 630 л і ферментеру 5000 л, реакторів-змішувачів для приготування і стерилізації композицій, установку для перемішування колб, лабораторного боксу та обладнання для виділення (центрифуги і збірника культуральної рідини).

Біотехнологічне виробництво ксантану об'єднує такі чисті приміщення: лабораторія (зберігання робочих культур, бокси для роботи із культурою, контроль якості), приміщення із установкою для вирощування у колбах-качалках, приміщення для вирощування інокуляту, приміщення для промислового біосинтезу і приміщення виділення ксантану. З метою полегшення обслуговування, очистки, обладнання буде розміщуватися на відстані 1,0 м одне від одного та 1,5 м від стін. Розміри і об'єм обладнання представлено наведено у *табл. 5.2*.

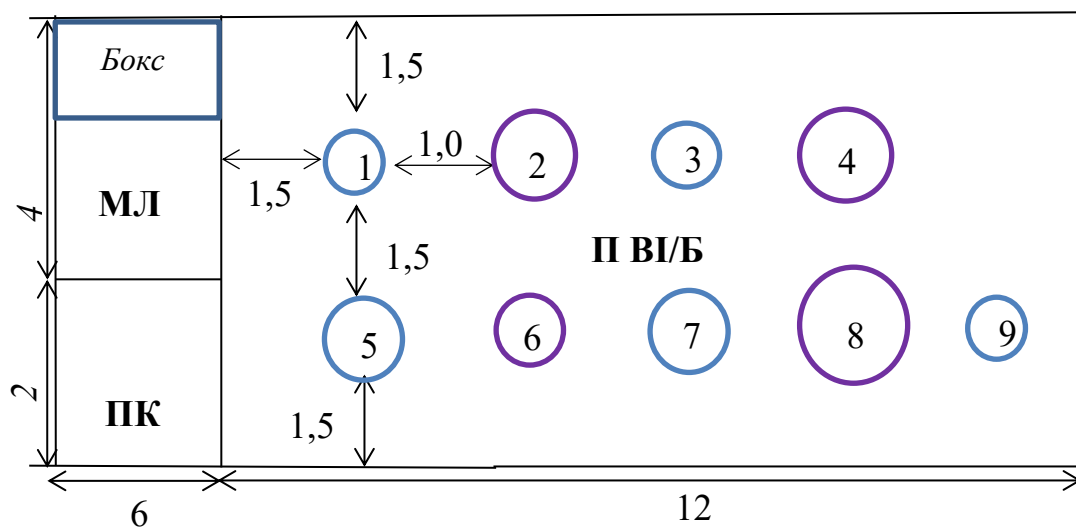
*Таблиця 5.2*

#### Розміри обладнання, що використовується під час виробництва

Обладнання	Геометричний об'єм, л	Діаметр, м	Висота, м
<i>I</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>
Інокулятор	7	1,2	1,6
Інокулятор	63	1,4	1,5
Інокулятор	630	0,77	2,4
Ферментер	5000	1,5	4,5
Реактор змішувач	5	0,62	0,84
Реактор змішувач	5	0,62	0,84
Реактор змішувач	50	0,65	1,1
Реактор змішувач	500	1,0	1,6
Реактор змішувач	500	1,0	1,6
<b>Всього</b>	<b>6760</b>	-	-

Згідно із даними з *табл. 5.2* загальний об'єм виробничого обладнання складає 6 760 л.

Щоб розрахувати необхідну кількість мийних / дезінфікуючих засобів, необхідно оцінити розміри виробничих приміщень. План приміщення для отримання культуральної рідини *X. campestris* представлено на *рис. 5.1*



**Рис. 5.1 Умовне схематичне зображення обладнання та виробничих приміщень**

**П ВІ/Б** – приміщення вирощування інокуляту і виробничого біосинтезу;

**МЛ** – мікробіологічна лабораторія;

**ПК** – приміщення з качалками;

**П ВП** – приміщення виділення продукту;

**1, 9** – реактор на 5 л, **2** – інокулятор 7 л, **3** - реактор на 50 л, **4** – інокулятор 63 л, **5,7** – реактор на 500 л, **6** - інокулятор 630 л, **8** - ферментер 5000 л

Оскільки підлога в приміщеннях мисться щоденно для підтримання чистоти виробничих приміщень, в загальному це 150 разів. Генеральне прибирання виконується зазвичай 2 рази на місяць – тому в загальному це 10 разів. Наступним етапом визначимо кількості миючих засобів для обробки стін та підлоги. Згідно із *рис. 2.1*, враховуючи висоту приміщень 7 м, площа підлоги приміщення вирощування інокуляту і виробничого біосинтезу складає  $72 \text{ м}^2$  ( $12 \text{ м} \times 6 \text{ м}$ ), площа стін –  $((12 \text{ м} \times 7 \text{ м}) \times 2 + (6 \text{ м} \times 7 \text{ м})) \times 2 = 252 \text{ м}^2$ , загальна площа –  $48 \text{ м}^2 + 252 \text{ м}^2 = 300 \text{ м}^2$ . Для мікробіологічної лабораторії площа підлоги складає  $6 \text{ м} \times 4 \text{ м} = 24 \text{ м}^2$ , площа стін –  $((4 \text{ м} \times 7 \text{ м}) \times 2 + (6 \text{ м} \times 7 \text{ м})) \times 2 = 140 \text{ м}^2$ , загальна площа –  $164 \text{ м}^2$ . Для приміщення з качалками площа

підлоги складає  $2 \text{ м} \times 6 \text{ м} = 12 \text{ м}^2$ , площа стін –  $((2 \text{ м} \times 7 \text{ м}) \times 2 + (3 \text{ м} \times 7 \text{ м})) \times 2 = 70 \text{ м}^2$ , загальна площа –  $82 \text{ м}^2$ .

Загальна площа поверхні обробки миючими засобами наведена в *табл. 5.3*.

*Таблиця 5.3*

### Розрахунок загальної площі стін та підлоги виробничих приміщень

Приміщення	Площа підлоги, м <sup>2</sup>	Площа стін, м <sup>2</sup>	Загальна площа, м <sup>2</sup>
Приміщення вирощування інокуляту і виробничого біосинтезу	72	252	324
Мікробіологічна лабораторія	24	140	164
Приміщення з качалками	12	70	82
<b>Разом</b>	<b>108</b>	<b>462</b>	<b>570</b>

Далі розрахуємо періодичність миття обладнання. Оскільки загальний об'єм культуральної рідини становить  $76033,2 \text{ л}$ , а об'єм культуральної рідини за 1 цикл дорівнює  $506,9 \text{ л/цикл}$ , то кількість виробничих циклів (циклів миття) становить:  $115\,443 \text{ л} / 894 \text{ л/цикл} = 150$  циклів. Варто врахувати додаткове миття після останнього циклу і загальна кількість буде становити 151. Тоді загальний об'єм миття:

$$6,76 \times 151 = 1020,76 \text{ м}^3$$

*Таблиця 5.4*

### Розрахунок площ миття / дезінфекції під час виробничого процесу

Об'єкт	Площа / об'єм об'єкту, м <sup>2</sup> / м <sup>3</sup>	Періодичність миття / дезінфекції під час виробничого процесу	Загальна площа / об'єм, м <sup>2</sup> / м <sup>3</sup>
Обладнання	$6,76 \text{ м}^3$	151	$1020,76 \text{ м}^3$
Підлога	$108 \text{ м}^2$	150	$16\,200 \text{ м}^2$
Стіни, двері, вікна	$462 \text{ м}^2$	10	$4620 \text{ м}^2$

Щоб розрахувати об'єми робочих розчинів мийних / дезінфікуючих засобів, необхідно враховувати, що згідно із інструкціями по експлуатації в середньому близько  $100 \text{ мл}$  витрата робочих розчинів на площу в  $1 \text{ м}^2$ . Згідно із розрахунками із *табл. 5.4*, загальний об'єм миття для обладнання складає

2514 м<sup>3</sup>. Щоб скоротити витрати води та мийного засобу і ефективно мити обладнання, мийчі засоби поступають разом із водою крізь СІР-мийки, що дає змогу економити до 50 % мийчих / води від об'єму апарату. Отже, для одного циклу миття знадобиться:  $6760 \text{ л} \times 0,5 = 3380 \text{ л}$  робочого розчину мийного засобу, а на весь період виробничого процесу:  $3380 \text{ л} \times 151 = 510\,380 \text{ л}$ . Виходячи із результатів представлених у *табл. 5.4* загальна площа всіх поверхонь складає  $16\,200 \text{ м}^2 + 4620 \text{ м}^2 = 20\,820 \text{ м}^2$ . В загальному витрата мийного / дезінфікуючого розчину складає:  $20\,820 \text{ м}^2 \times 100 \text{ мл} = 2082,0 \text{ л}$ .

В *табл. 5.5*. представлено результати вартості мийних і дезінфікуючих засобів і витрати під час миття і дезінфекції

## Витрати і вартість мийних та дезінфікуючих засобів під час виробництва ксантану

Назва	Концентрація робочого розчину, %	Об'єкт миття / дезінфекції	Площа /об'єм миття / дезінфекції об'єкту, м <sup>3</sup> /м <sup>2</sup>	Кількість робочого розчину за весь період виробництва, л	Вартість 1 л/кг мийного/ дезінфікуючого засобу, грн	Вартість 1 л робочого розчину, грн	Сумарна вартість миття /дезінфекції під час виробництва, грн
<b>PUR-265</b> <sup>1</sup>	1,25 %	Обладнання	1020,76	510 380	84,0	1,05	<b>535 899</b>
<b>CHEMICID SP 2000 PLUS</b> <sup>2</sup>	1,5 %	Обладнання	1020,76	510 380	166,0	2,49	1 270 846
<b>SUPRA</b> <sup>3</sup>	2,0 %	Обладнання	1020,76	510 380	256,0	5,12	2 613 146
<b>ДЕЗЕКОН</b> <sup>4</sup>	2,5 %	Обладнання / Стіни/підлога/ вікна	20 820	2082,0	390,0	9,75	20 299,5
<b>ДЕЗЕКОНОМ</b> <sup>5</sup>	2,5 %	Обладнання / Стіни/підлога/ вікна	20 820	2082,0	728,0	18,2	37 892,4
<b>БЛАНІДАС</b> <sup>6</sup>	1,5 %	Стіни/підлога/ вікна	20 820	2082,0	354,0	5,31	<b>11055,4</b>

**Примітка.** Вартість засобів наведено станом на квітень 2025 р. 1- <https://prom.ua/ua/p1390783785-moyuschee-stojkih-zagryaznenij.html> 2- <https://klineko.com.ua/product/chemicid-sp-2000-plus/?srsltid=AfmBOopGjOMuuqwVazk1ZZG7NyQqh272UxAGRU1E6l3vtgAl53rhg3HM> 3- [https://primaterra.ua/ua/p1079169070-kontsentrat-antizhir-supra.html?source=merchant\\_center&gad\\_source=1&gad\\_campaignid=22573114971&gbraid=0AAAAADMaSWTP2QKEijrRTo-qzmc0iciEf&gclid=CjwKCAjw3f\\_BBhAPEiwAaA3K5Hrv4wEv0pwm5YZM3WDIHSE780VJBd-2yA2-pof-ZrQFzfZXtBgtFRoCjv4QAvD\\_BwE](https://primaterra.ua/ua/p1079169070-kontsentrat-antizhir-supra.html?source=merchant_center&gad_source=1&gad_campaignid=22573114971&gbraid=0AAAAADMaSWTP2QKEijrRTo-qzmc0iciEf&gclid=CjwKCAjw3f_BBhAPEiwAaA3K5Hrv4wEv0pwm5YZM3WDIHSE780VJBd-2yA2-pof-ZrQFzfZXtBgtFRoCjv4QAvD_BwE) 4- <https://prom.ua/Dezekon.html> 5 - <https://ukranalitika.in.ua/uk/p/955832670-dezinficiruyushchiy-rastvor-dezekonom-1-l/> 6- <https://hlorka.in.ua/ua/p276086009-blanidas-aktiv-enzim.html?srsltid=AfmBOorHp5GB69IFVwES4zlnw3-JDspWfDxTfssg3ESzwB-trTSYilFv>

\* **розрахунок вартості 1 л робочого розчину описано для мийного засобу «PUR-265»:** Ціна 1 л становить 84 грн, концентрація його робочого розчину – 1,25 %, тому в 1000 мл робочого розчину міститься 12,5 мл (0,0125 л) концентрату. Таким чином вартість 1,25 % розчину становить:  $84 \text{ грн} \times 0,0125 \text{ л} = 1,05 \text{ грн/л}$

## 5.4 Особливості підготовки та стерилізації поживного середовища

Як було розраховано в першому розділі, для виробництва ксантану передбачено використання наступного ферментаційного обладнання: основного ферментера об'ємом 5 м<sup>3</sup>, інокулятори об'ємом 630 л, 63 л, 7 л та 3 качалочні колби.

Для отримання посівного матеріалу *X. campestris* використовується середовище такого складу (г/л):

Глюкоза – 10;

Пептон – 5;

Дріжджовий екстракт – 3;

Солодовий екстракт – 3.

Для забезпечення стерильності та оптимального росту культури, всі компоненти поживного середовища підлягають ретельній стерилізації. Концентрацію мікроелементів визначають відповідно до фази культивування. Для ранніх стадій використовують концентрований розчин, який додають у невеликих кількостях, а на пізніших – готові суміші.

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

Зважаючи на невеликий об'єм колб (0,352 л), для стерилізації поживного середовища, призначеного для вирощування посівного матеріалу, будемо використовувати автоклав. З метою оптимізації процесу стерилізації, поживне середовище розділимо на окремі компоненти, кожен з яких стерилізуватимемо за оптимального для нього температурного режиму:

Композиція А: Глюкоза, Пептон, Дріжджовий екстракт, Солодовий екстракт - (режим стерилізації: 120°C, 30 хв, 0,1 МПа).

Розрахунок необхідних кількостей компонентів для приготування середовища для вирощування посівного матеріалу в колбах на качалках наведений у табл. 5.6:

**Композиції стерилізації компонентів для вирощування посівного матеріалу в колбах**

Компонент поживного середовища	Концентрація, г/л	Вміст компонента в 0,352 мл середовища, г	Композиція	Об'єм композиції, мл
Глюкоза	10	3,52 г	А	352
Пептон	5	1,76 г		
Дріжджовий екстракт	3	1,056 г		
Солодовий екстракт	3	1,056 г		
Вода		352 мл		

**5.4.2 Особливості підготовки та стерилізації поживного середовища для одержання інокуляту в колбах на качалках**

Вирощування інокуляту в посівному апараті об'ємом 7 л

На цьому етапі виробництва необхідний об'єм поживного середовища складає 3,168 л. Склад та умови стерилізації цього середовища повністю відповідають описаним у пункті 2.2.2. Композицію А готують у окремому реакторі-змішувачі об'ємом 5 л, після чого піддають стерилізації безпосередньо в інокуляторі.

Кількість кожного компонента, необхідного для приготування поживного середовища для 7 л посівного апарата, детально розрахована та представлена в таблиці 5.7:

**Композиції стерилізації компонентів для вирощування посівного матеріалу в інокуляторі об'ємом 7 л**

Компонент поживного середовища	Концентрація, г/л	Вміст компонента в 3,168 л середовища, г	Композиція	Об'єм композиції, л
Глюкоза	10	31,68 г	А	3,168

Пептон	5	15,84 г		
Дріжджовий екстракт	3	9,504 г		
Солодовий екстракт	3	9,504 г		
Конденсат		0,285 л		
Вода		2,852 л		

Вирощування інокуляту в посівному апараті об'ємом 63 л

На цьому етапі виробництва необхідний об'єм поживного середовища складає 28,7 л. Склад та умови стерилізації цього середовища повністю відповідають описаним у пункті 5.2.2. Композицію А готують у окремому реакторі-змішувачі об'ємом 50 л, після чого піддають стерилізації безпосередньо в інокуляторі. Кількість кожного компонента, необхідного для приготування поживного середовища для 63 л посівного апарата, детально розрахована та представлена в таблиці 5.8:

Таблиця 5.8

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

Компонент поживного середовища	Концентрація, г/л	Вміст компонента в 28,7 л середовища, г	Композиція	Об'єм композиції, л
Глюкоза	10	287 г	А	28,7
Пептон	5	143,5 г		
Дріжджовий екстракт	3	86,1 г		
Солодовий екстракт	3	86,1 г		
Конденсат		2,58		
Вода		25,83 л		

### Вирощування інокуляту в посівному апараті об'ємом 630 л

На цьому етапі виробництва необхідний об'єм поживного середовища складає 261 л. Склад та умови стерилізації цього середовища повністю відповідають описаним у пункті 2.2.2. Композицію А готують у окремому реакторі-змішувачі об'ємом 500 л, після чого піддають стерилізації безпосередньо в інокуляторі. Кількість кожного компонента, необхідного для приготування поживного середовища для 630 л посівного апарата, детально розрахована та представлена в таблиці 5.9:

Таблиця 5.9

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

Компонент поживного середовища	Концентрація, г/л	Вміст компонента в 261 л середовища, кг	Композиція	Об'єм композиції, л
Глюкоза	10	2,61 кг	А	261
Пептон	5	1,305 кг		
Дріжджовий екстракт	3	0,783 кг		
Солодовий екстракт	3	0,783 кг		
Конденсат		23,5 л		
Вода		234,9 л		

#### **5.4.3. Особливості підготовки і стерилізації поживного середовища для виробничого біосинтезу в ферментері 5,0 м<sup>3</sup>**

Для виробничого біосинтезу використовується середовище наступного складу:

Глюкоза – 40,72 г/л;

Пептон – 9,84 г/л;

KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> – 4,976 г/л;

(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> – 3,024 г/л;

FeCl<sub>3</sub>\*6H<sub>2</sub>O – 0,1134 г/л.

Для обробки такого великого об'єму поживного середовища (2,4 м<sup>3</sup>) найефективнішим буде використання установки безперервної стерилізації УБС. Це дозволить значно скоротити витрати та час стерилізації. Кількість кожного компонента, необхідного для приготування поживного середовища для 5 м<sup>3</sup> ферментера, детально розрахована та представлена в таблиці 5.10:

Таблиця 5.10

**Композиції стерилізації компонентів для вирощування посівного матеріалу в інокуляторі об'ємом УБС**

Компонент поживного середовища	Концентрація, г/л	Вміст компонента в 2400 л середовища, кг	Композиція	Об'єм композиції, л
Глюкоза	40,72	97,728 кг	А	2400 л
Пептон	9,84	23,616 кг		
КН <sub>2</sub> РО <sub>4</sub>	4,976	11,942 кг		
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	3,024	7,258 кг		
FeCl <sub>3</sub> *6H <sub>2</sub> O	0,1134	0,272 кг		
Вода		1920 л		
Конденсат		384 л		

**5.5. Обґрунтування вибору розчинів для регуляції рН та піногасника**

Для ефективного культивування бактерії *X. campestris* та синтезу високоякісного полісахариду ксантану необхідно забезпечити строго контрольовані умови зростання. Одним з найважливіших факторів є рівень рН живильного середовища. Хоча оптимальним рН для росту *X. campestris* вважається нейтральне (7), під час бродіння рН зазвичай знижується приблизно до 5,0 через наявність кислотних груп у структурі ксантану. Це явище пов'язане з особливостями метаболізму бактерії та будовою самого полісахариду [67].

Незважаючи на таке зниження рН, підтримання стабільного значення протягом процесу ферментації є критичним. Відхилення від оптимального рН можуть призвести до порушення біосинтезу ксантану, зниження його в'язкості, зміни молекулярної маси та інших небажаних властивостей. Хоча в основній статті не описано постійного контролю рН під час культивування, а

лише доведення його до 7,0 і то, лише для виробничого поживного середовища, ми розглянемо можливість використання 1 N розчину гідроксиду натрію (NaOH) для нейтралізації рН поживного середовища та подальшого підтримання його на оптимальному рівні.

Важливо зазначити, що підбір оптимального рН є індивідуальним для кожного конкретного штамму *X. campestris* та складу живильного середовища. Тому для досягнення максимальної ефективності процесу культивування рекомендується проводити попередні дослідження та підбирати оптимальні умови для кожного конкретного випадку.

Синтез ксантану залежить не лише від рН, але й від ряду інших факторів: температури, аерації, концентрації субстрату та доступності кисню. Аерація, необхідна для забезпечення аеробних умов культивування, часто спричиняє надмірне піноутворення. Для контролю цього явища використовується механічний піногасник, розташований у газовій фазі ферментера, який активується за сигналами сенсорів і руйнує піну. Це сприяє оптимізації процесу культивування та підвищенню його продуктивності [68, 69].

## РОЗДІЛ 6. СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ

Узагальнений перелік обладнання, використовуваного для біосинтезу рибофлавіну наведено у табл. 6.1. Відповідне обладнання представлено у графічній частині (апаратурна схема).

Таблиця 6.1

### Специфікація обладнання

Позиція	Найменування	Кількість	Технічна характеристика (виробник)
1	2	3	4
ПЗ-1	Повітрозбірник	1	Шахта вентиляційна (Техколор). Опис: матеріал пластик поліпропілен, товщина 3мм, висота 1,8 м, фартух 1м * 0,9 м, діаметри 500-900мм. Виробник: Україна, "Техколор" [70]
Ф-2	Фільтр грубої очистки повітря	1	Панельні повітряні фільтри для грубого очищення Опис: фільтруючий матеріал целюлоза, голкопробивні неткані волокна, скло і мікроскловолокно (за запитом), перепад тиску 250 Па, E=90%. Виробник: Україна, "ALTER AIR" [71]
К-3	Компресор	1	Промисловий гвинтовий компресор. Опис: потужністю 7,5 кВт із тиском 7 бар (продуктивність 1,2 м. куб/хв). Виробник: Україна, "ТОВ Пневматик сервіс"
Т-4	Теплообмінник -охолоджувач	1	Кожухотрубний конденсатор. Опис: діаметр 50-80 Ду, поверхня теплообміну 0,5-300 м <sup>2</sup> , матеріал кожуха і труб сталь, перепад тиску 0,6-2,5 МПа, максимальна температура 350 °С. Виробник: Україна, компанія "Опекс" [73]
Р-5	Ресивер	1	Ресивер Повітряний Лідер. Опис: тиск 10 бар, об'єм 900 л, матеріал сталь. Виробник: Україна, ООО "ЗЕО Лідер"[74]
Т-6	Теплообмінник -нагрівач	1	ВЕНТС НКВ 100-2 – водяний нагрівач (ОВК комплект). Опис: розмір патрубків 100 мм, кількість рядів трубок 2, тиск 1,6 МПа, максимальна температура 100°С. Виробник: Україна, "ОВК комплект" [75]
Ф-7	Головний фільтр очистки	1	Фільтр повітряний касетний. Опис: клас фільтрації F9, 592x287x292, площа фільтроматеріалу 18 м.кв, продуктивність 3400 м <sup>3</sup> /година, фільтрувальний матеріал полістер. Виробник: Україна, "Вент-фільтр" [76]

<b>НУХТ БТЕК 04.02.49 КР ПЗ</b>				
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата
Розроб.	Алексеева Д. О.			
Консульт.				
Керівник	Ковшар І. Д.			
Н. Контр.				
Зав. каф.	Стабніков В.П.			
<b>РОЗДІЛ 6. СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ</b>			Літ.	Арк.
				60
			<b>60 Кафедра БТМ</b>	
			Акрушів	94

Продовження табл. 6.1

ІФ-8 ІФ-9 ІФ-10 ІФ-11	Індивідуальний фільтр	4	Процесний фільтр Omega Air PF 005 Тиск: 16 бар ; Температура: до 150С; Продуктивність: 75 М3/год. Виробник: "Omega Air", Словенія [77]
Р-12	Реактор-змішувач для приготування композиції А	1	Реактор РП-5 з робочим об'ємом 5 л («Пром-вирт»); Матеріал: нержавіюча сталь AISI 316 L; До комплектації входить рубашка та мішалка (0-600 об/хв); Максимальна температура – 95С; Габарити, мм: 620x410x840 [78]
Д-13 Д-14 Д-16 Д-20 Д-26	Дозатор об'ємний	4	Дозатор об'ємний (АгроТех). Діапазон вимірювання: 0,01-9999 л; Похибка дозування < 0,5%; [79]
РЗ-28	Реактор-змішувач для приготування 1 N NaOH	1	Реактор РП-5 з робочим об'ємом 5 л («Пром-вирт»); Матеріал: нержавіюча сталь AISI 316 L; До комплектації входить рубашка та мішалка (0-600 об/хв); Максимальна температура – 95С; Габарити, мм: 620x410x840 [80]
І-15	Дозатор об'ємний	4	Дозатор об'ємний (АгроТех). Діапазон вимірювання: 0,01-9999 л; Похибка дозування < 0,5%; [81]
Р-17	Насос	2	Перистальтичний насос 12V 3W (Qubi); Продуктивність: 4,8 л/год; Потужність: 3 Вт; [82]
Н-18 Н-29	Інокулятор об'ємом 7 л	1	Інокулятор LB-11SFM (LaboTronics); Об'єм: 7 л; Матеріал: нержавіюча сталь AISI 316L; Комплектація: мішалка (70-1000 об/хв); Габарити, мм: 1200x700x1600 [83]
І-19	Реактор-змішувач для приготування композиції А	1	Реактор змішувач об'ємом 50 л («Технолог»); Максимальна температура: 90 С; Комплектація: сорочка та мішалка (24-30 об/хв); Габарити, мм: 650x650x1100 [84]
Р-21	Насос	2	Перистальтичний насос МР-3118.6 («DEBEM»); Продуктивність 56 л/год; Тиск – 1 бар [85]
Д-22 Д-27	Інокулятор об'ємом 63 л	1	63 л ферментер («BiolaFitte»); Матеріал: нержавіюча сталь AISI 316 L; Комплектація: сорочка та мішалка (0-600 об/хв); Максимальний тиск: 2 Бар; Максимальна температура: 133 С; Габарити, мм: 1437x856x1580 [86]

## Закінчення табл. 6.1

Н-23 Н-30	Реактор- змішувач для приготування композиції А	1	500 л реактор («Вайс-мастер») Матеріал: нержавіюча сталь AISI 304; Комплектація: сорочка та мішалка (24 об/хв); Габарити, мм: 1060x1679 [87]
I-24	Інокулятор об'ємом 630 л	1	Біореактор 630 л («SYSBIOTECH»); Матеріал: нержавіюча сталь AISI 316 L; Комплектація: сорочка та мішалка (10-750 об/хв); Габарити, мм: 770x700x2400 [88]
УБС-25	Установка безперервної стерилізації	1	Матеріал: нержавіюча сталь AISI 316 L; Потужність: – 5 м <sup>3</sup> /год; Температура стерилізації: 135 С; Тиск пару: 05 МПа; Габарити, мм: 2500x1500x2000 [89]
ФР-31	Ферментер	1	Ферментер 5000L («Ruian Global Machinery Co., Ltd.»); Матеріал: нержавіюча сталь AISI 316 L; Комплектація: сорочка та мішалка (0-400 об/хв); Габарити, мм: 1500x4500 [90]

## РОЗДІЛ 7. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ

### *ДР 1. Підготовка аераційного повітря*

#### *ДР 1.1 Забір атмосферного повітря*

Відбір повітря здійснюється за допомогою вертикальної труби з повітрезабірником ПЗ-1, розташованим на висоті 8-10 метрів.

#### *ДР 1.2 Очищення повітря від пилу та механічних часток.*

Первинну очистку повітря здійснюють за допомогою тканинного фільтра грубого очищення (Ф-2). Цей фільтр ефективно затримує великі частинки пилу, пуху та інших забруднень розміром понад 50 мікрон, забезпечуючи очищення повітря від грубих домішок. Така попередня очистка є важливим етапом у системах вентиляції та кондиціонування, оскільки захищає подальші фільтри від швидкого забруднення та продовжує термін їх служби.

#### *ДР 1.3. Стиснення повітря*

Для забезпечення ефективної аерації та подолання різних опорів у ферментаційному процесі, таких як гідравлічний тиск стовпа рідини, необхідне стиснене повітря. Компресор К-3 забезпечує подачу повітря під тиском 7 бар, однак при цьому повітря нагрівається до значних температур. Це нагрівання є наслідком процесу стиснення і може потребувати додаткового охолодження перед подачею повітря в ферментер, щоб уникнути негативного впливу високих температур на мікроорганізми.

#### *ДР 1.4. Охолодження повітря та видалення вологи*

Повітря, стиснуте компресором і нагріте до високої температури, проходить через теплообмінник Т-4, де воно віддає тепло і охолоджується до температури близько 5-6°C. Далі, в ресивері Р-5, це охоложене повітря піддається додатковому очищенню від вологи. В результаті, вологість повітря знижується до відносної во

					<b>НУХТ БТЕК 04.02.49 КР ПЗ</b>		
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата			
Розроб.		Алексеева Д. О.			Літ.	Арк.	Акрушів
Консульт.						63	94
Керівник		Ковшар І. Д.			63		
Н. Контр.					<b>Кафедра БТМ</b>		
Зав. каф.		Стабніков В.П.					

логості 60-70% і стабілізується на цьому рівні, забезпечуючи оптимальні умови для подальшого використання.

#### *ДР 1.5. Нагрівання повітря*

Повітря, проходячи через теплообмінник Т-6, піддається процесу кондиціювання. Його температура підвищується до комфортного для технологічного процесу діапазону 30-37°C, а відносна вологість стабілізується на рівні близько 50%. Таким чином, створюється оптимальне мікрокліматичне середовище, що забезпечує ефективність виробництва

#### *ДР 1.6. Очищення повітря в головному фільтрі*

Система очищення повітря обладнана двоступеневим фільтром. Перший ступінь, оснащений високоточним синтетичним фільтром ФГ-7 з розміром пор 1 мікрон, ефективно затримує до 95% механічних домішок, таких як дрібний пил, пилок та інші алергени. Цей фільтр забезпечує первинне очищення повітря, видаляючи найдрібніші частинки. Для підтримання оптимальної продуктивності системи рекомендується проводити планову заміну фільтра кожні півроку. При появі ознак зниження ефективності фільтрації (зменшення потоку повітря, поява неприємних запахів, збільшення рівня шуму) необхідно провести позапланову заміну фільтра.

#### *ДР 1.7. Очищення повітря в індивідуальному фільтрі*

Індивідуальні фільтри (ІФ-8, 9, 10, 11) здійснюють остаточне очищення повітря, затримуючи до 99,99% навіть найдрібніших забруднень, таких як пил, алергени та дрібні частинки, забезпечуючи таким чином найвищий рівень чистоти повітря.

### ***ДР 2. Приготування титрувальних агентів***

#### *ДР 2.1. Приготування розчину 1 N NaOH*

*ДР 2.2.1. Приготування та стерилізація розчину 1 N NaOH для виробничого поживного середовища об'ємом 2,4 м<sup>3</sup>*

Для приготування поживного середовища об'ємом 2,4 м<sup>3</sup> необхідно підготувати невелику кількість лужного розчину. Для цього готують 4,8 л 1 N гідроксиду

натрію. Зважують 192 г їдкого натру на технічних вагах і переносять в реактор-змішувач на 5 л (РЗ-28). До зваженого натру додають за допомогою об'ємного дозатору (Д-14) 4,8 л дистильованої води і ретельно перемішують до повного розчинення. Отриманий розчин перемішують і поміщають в автоклав для стерилізації. Стерилізацію проводять при температурі 131 °С (0,15 МПа) протягом 40 хвилин. Після стерилізації готовий розчин гідроксиду натрію вводять УБС-25 для подальшого використання.

### ***ДР 3. Приготування і стерилізація поживного середовища***

#### *ДР 3.1. Приготування і стерилізація поживного середовища для колб*

##### *ДР 3.1.1. Приготування і стерилізація композиції А*

На технічних терезах зважують 3,52 г глюкози, 1,76 г пептону, 1,056 г дріжджовий екстракт і 1,056 г солоду екстракт. Наважки поміщають у колбу об'ємом 500 мл, додають 352 мл питної води, перемішують, закривають ватно-марлевим корком і стерилізують в автоклаві при 120 °С, 0,1 МПа, 30 хв.

#### *ДР 3.2. Приготування та стерилізація поживного середовища для інокулятора 7 л*

На технічних терезах зважують 31,68 г глюкози, 15,84 г пептону, 9,504 г дріжджовий екстракт і 9,504 солоду екстракт. Наважки поміщають у реактор-змішувач об'ємом 5 л (РЗ-12), додають за допомогою дозатора об'ємного (Д-13) 2,852 л питної води, перемішують, і стерилізують при 120 °С, 0,1 МПа, 30 хв.

#### *ДР 3.3. Приготування та стерилізація поживного середовища для інокулятора 63 л*

На технічних терезах зважують 287 г глюкози, 143,5 г пептону, 86,1 г дріжджовий екстракт і 86,1 г солоду екстракт. Наважки поміщають у реактор-змішувач 50 л (РЗ-17), додають 25,83 л питної води, перемішують і стерилізують при 120 °С, 0,1 МПа, 30 хв.

#### *ДР 3.4. Приготування та стерилізація поживного середовища для інокулятора 630 л*

На ваговому дозаторі (Д-22) зважують 2,61 кг глюкози, 1,305 кг пептону, 783 г дріжджовий екстракт і 783 г солоду екстракт. Наважки поміщають у реактор-змішувач об'ємом 300 л (Р-21), додають за допомогою дозатора об'ємного (Д-20) 234,9 л питної води, перемішують і стерилізують в автоклаві при 120 °С, 0,1 МПа, 30 хв.

ДР 3.5. Приготування та стерилізація поживного середовища для виробничого біосинтезу об'ємом 5 м<sup>3</sup>

На ваговому дозаторі (Д-27) зважують 97,728 кг глюкози, 23,616 кг пептону, 11,942 кг КН<sub>2</sub>РО<sub>4</sub>, 7,258 кг (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> і 272 г FeCl<sub>3</sub>\*6H<sub>2</sub>O. Наважки поміщають у УБС-25 в якому вже знаходиться простерилізований титрант 1 N розчин гідроксиду натрію, додають за допомогою дозатора об'ємного (Д-20) 1920 л питної води, перемішують і стерилізують при 120 °С, 0,1 МПа, 30 хв.

**ТП 4. Підготовка посівного матеріалу**

*ТП 4.1. Підтримання колекційної культури*

Колекційну культуру *Xanthomonas campestris* ATCC 29497 зберігають у пробірках зі скошеним м'ясо-пептонним агаром при 4°С. Всі роботи за колекційною культурою проходять строго в стерильних умовах.

*ТП 4.2. Одержання робочої культури з колекційної*

Колекційну культуру, що зберігається в пробірках зі скошеним м'ясо-пептонним агаром, розсівають петлею до ізолюваних колоній на чашки Петрі з м'ясо-пептонним агаром і вирощують при температурі 26°С упродовж 48 год.

*ТП 4.3. Вирощування культури на агаризованих середовищах*

Отримані з ізолюваних колоній (від ТП 3.2) пересівають петлею в пробірки зі скошеним м'ясо-пептонним агаром (одна ізолювана колонія використовується для засівуоднієї пробірки). В пробірки пересівають ізолювані колонії, що знаходяться на відстані не менше 1 см. Тривалість вирощування – 48 год 26°С.

*ТП 4.4. Вирощування культури в колбах*

Композиції А (від ДР 3.1.1) розливають по 150 мл у 3 стерильних колб об'ємом 0,75 л. У пробірку з робочою *Xanthomonas campestris* ATCC 29497,

вирощену на скошеному м'ясо-пептонному агарі, вносять 5 мл фізіологічного розчину, суспендують клітини (змивають культуру), піпеткою відбирають одержану бактеріальну суспензію і вносять у колби з розлитим поживним середовищем. Для засіву однієї колби використовують бактеріальну суспензію, одержану з 1 пробірки.

Після вирощування у шутель апараті, упродовж 48 год при 26°C та 150 об/хв, культуральну рідину з колб переносять у стерильну засівну колбу об'ємом 1 л. Кожні 4 години відбирають проби для проведення мікробіологічного контролю культури мікроскопіюванням. Отриманий посівний матеріал поступає до ТП 4.5.

#### *ТП 4.5 Вирощування інокуляту в посівному апараті 7 л*

Простерилізовані композиції А (від ДР 3.2.) асептично подається насосом (Н-18) в посівний апарат об'ємом 7 л (І-15). Через засівну колбу при горінні факела вносять 0,352 л посівного матеріалу (від ТП 4.4) та здійснюється культивування упродовж 48 год при 26°C та 150 об/хв, рН не контролюється. Кожні 4 години відбирають проби для проведення мікробіологічного контролю культури мікроскопіюванням, аналізу концентрації джерел вуглецю та азоту. Отриманий посівний матеріал поступає до ТП 4.6.

#### *ТП 4.6 Вирощування інокуляторі 63 л*

У попередньо простерилізований інокулятор об'ємом 63 л (І-19) стерильно подається насосом (Н-29) композицію А (від ДР 3.3.), перемішують, після чого від ТП 4.5. в асептичних умовах подають 28,7 л посівного матеріалу. Далі здійснюють культивування упродовж 48 год при 26°C та 150 об/хв, рН не контролюється. Кожні 4 години відбирають проби для проведення мікробіологічного контролю культури мікроскопіюванням, аналізу концентрації джерел вуглецю та азоту. Отриманий посівний матеріал поступає до ТП 4.7.

#### *ТП 4.7 Вирощування в інокулянті 630 л*

У попередньо простерилізований інокулятор об'ємом 630 л (І-24) стерильно подається насосом (Н-23) композицію А (від ДР 3.4), перемішують, після чого від ТП 4.6. в асептичних умовах подають 261 л посівного матеріалу. Далі здійснюють

культивування упродовж 48 год при 26°C та 150 об/хв, рН не контролюється. Кожні 4 години відбирають проби для проведення мікробіологічного контролю культури мікроскопіюванням, аналізу концентрації джерел вуглецю та азоту. Отриманий посівний матеріал поступає до ТП 5.1.

### ***ТП 5. Виробничий біосинтез***

#### ***ТП 5.1. Виробниче культивування у ферментері об'ємом 5 м<sup>3</sup>***

У попередньо простерилізований ферментер об'ємом 5 м<sup>3</sup> (ФР-31) подають насосом (Н-30) композицію УБС-25. Через трубу перетискування перекачують з посівного апарату інокулят від ТП 4.7. Процес культивування *X. campestris* ATCC 29497 триває 120 год при 30°C та 150 об/хв, рН не контролюється, зупиняють його після досягнення концентрації ксантану на рівні 16,44 мг/мл що свідчить про закінчення росту та розмноження клітин. Кожні 4 години відбирають проби для проведення мікробіологічного контролю культури мікроскопіюванням, аналізу концентрації джерел вуглецю та азоту, аналізу концентрації ксантану

## РОЗДІЛ 8. ОСНОВНІ ЕТАПИ ВИДІЛЕННЯ ТА ОЧИЩЕННЯ КСАНТАНУ

Згідно із інформацією, представленою у роботі [51], ксантан або ксантанову камедь виділяють із культуральної рідини після культивування штаму *X. campestris* ATCC 29497. Для цього використовують технологію двостадійної ферментної обробки (лужною протеазою та лізоцимом) і осаднення [91]. Процес можна розділити на такі етапи:

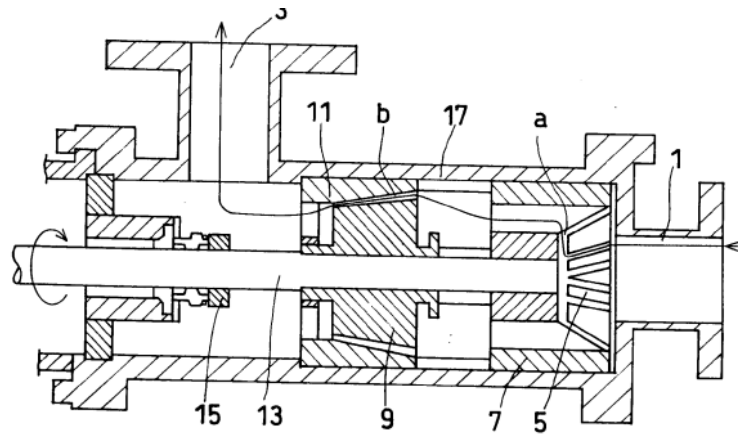
1) на першому етапі початковий рН культуральної рідини доводять до 11 шляхом додавання 20% водного розчину гідроксиду натрію з подальшим нагріванням до 55°C протягом 90 хвилин. Після цього постійно підтримуючи температуру 55°C, рН культуральної рідини доводять до 8,5 шляхом додавання 10% водного розчину сірчаної кислоти;

2) паралельно цьому, водну суспензію, що містить лужну протеазу (наприклад Віорgrase; виробництва Nagase Biochemical Co., Ltd.) у кількості 300 ppm, відфільтровували через мікрофільтр із порами діаметром 0,4 мкм для видалення адсорбенту. Отриманий фільтрат додають до культуральної рідини з відрегульованим рН і проводять обробку лужною протеазою при перемішуванні протягом 2 годин;

3) далі, рН культуральної рідини при температурі 55°C доводять до 6,5 шляхом додавання 10% водного розчину сірчаної кислоти. Потім додають лізоцим (Lysozyme Taiyo; вироблений Taiyo Chemical Co., Ltd.) у кількості 3 ppm і проводять витримку при перемішуванні протягом години;

4) після завершення ферментативної обробки культуральну рідину, температура якої підтримується при 55°C, подають в роторну турбіну (рис 3.1), в який додають 86 % водного розчину ізопропанолу при 20°C у співвідношенні 1:1,1 вазі культуральної рідини. Запускають турбіну, щоб осадити ксантанову камедь у формі дрібно подрібненого волокнистого продукту (суспензії); Продуктивність роторної турбіни становить 1000-1200 л культуральної рідини на годину.

					<b>НУХТ БТЕК 04.02.49 КР ПЗ</b>		
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата			
Розроб.		Алексеева Д. О.			Літ.	Арк.	Акрушів
Консульт.						69	94
Керівник		Ковшар І. Д.			69		
Н. Контр.					<b>Кафедра БТМ</b>		
Зав. каф.		Стабніков В.П.					



*Рис. 8.1 Роторна турбіна для осадження ксантану*

Зображена роторна турбіна складається з приводної секції, секції змішування та секції різання. Привідна секція містить двигун (не показано), який розташований зовні циліндричного корпусу 17, з'єднаний з валом турбіни 13 та ізолюваний від внутрішньої частини циліндричного корпусу 17 за допомогою механічного ущільнення 15. Секція змішування та секція різання розташовані всередині циліндричної секції 17. Циліндричний корпус 17 має вхідний отвір 1 та вихідний отвір 3, а вал турбіни 13 розташований у його центрі. Секція змішування складається з обертової турбіни 5, прикріпленої до валу турбіни 13 поблизу вхідного отвору 1 та статора 7, розташованого в положенні, що відповідає обертовій турбіні 5. Секція різання містить ріжучий інструмент, що складається з обертового різця 9, розташованого між секцією змішування та вихідним отвором 3, та стаціонарного різця 11, що оточує обертовий різець 9 поблизу нього. Ротаційна турбіна 5 та роторний різець 9 мають спіралеподібну форму, нахилену до осі вала турбіни 13, і таким чином виробляють транспортувальну потужність в результаті обертання вала турбіни 13. Між обертовою турбіною 5 та статором 7 передбачено зазор *a*, а між обертовим різцем 9 та нерухомим різцем 11 передбачено зазор *b*. Ці зазори можуть мати розмір близько 1 мм.

У роторній турбіні потоки розділяються через різні частини та зазори між деталями. В результаті суспензія ксантанової камеді транспортується від вхідного

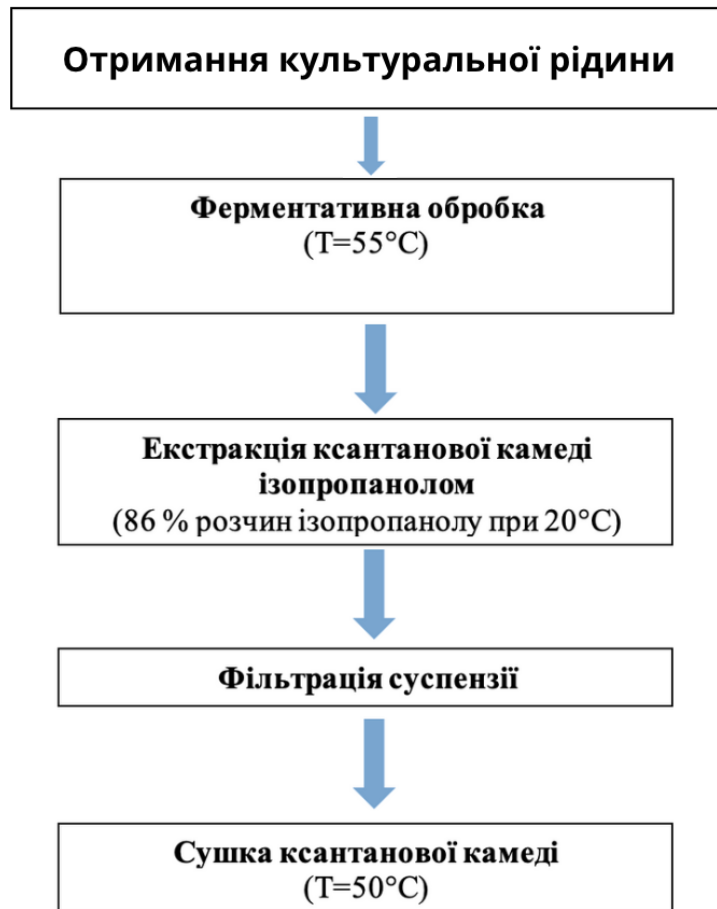
отвору 1 до вихідного отвору 3, наприклад, через шлях потоку, позначений лінією зі стрілкою.

Коли працює двигун, що є приводною секцією змішувального апарату, вал турбіни 13 обертається в напрямку стрілки, що призводить до обертання обертової турбіни 5 та обертового різака 9. Швидкість обертання може становити 1000 об/хв. Якщо органічний розчинник та ферментований розчин, що містить ксантанову камедь, подаються до вхідного отвору 1 одночасно, ці два типи рідин змішуються обертовою турбіною 5. Оскільки суміш стискається в зазорі *a*, вона додатково змішується, що призводить до осадження ксантанової камеді. Волокниста ксантанова камедь, що випадає в осад, яка подається з зазору *a*, проходить через канали потоку та потрапляє в зазор *b* різальної секції, де вона тонко ріжеться різакон, що складається з обертового різака 9 та стаціонарного різака 11. Дрібно подрібнена ксантанова камедь, отримана в зазорі *b*, виводиться з вихідного отвору 3 у вигляді суспензії.

5) осаджену таким чином суспензію ксантанової камеді направляють на фільтрації розчину. Осад має бути волокнистим, волокна мати однакову довжину від 3 до 10 см і не були липкими на дотик;

6) відфільтрована ксантанова камедь сушиться під потоком повітря при температурі близько 50°C;

7) висушений ксантан передається на стадію контролю якості. Зокрема, готують 1 % розчин висушеної ксантанової камеді та вимірюють його в'язкість, світлопроникність та індекс жовтизни.



*Рис. 8.2* Схематичне зображення основних стадій виділення і очищення ксантану

Таким чином, за допомогою цієї технології можна отримати високоочищену ксантанову камедь, яка характеризується тим, що 1 % розчин відновленої ксантанової камеді має в'язкість більше ніж 1000 сП, без зменшення властивої в'язкості ксантанової камеді, пропускання світла більше ніж 80 % та індекс жовтизни менше ніж 10 [91].

## РОЗДІЛ 9. КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА

### 9.1. Мікробіологічний контроль

Відсутність сторонньої мікробіоти контролюють прямим висівом на агаризовані поживні середовища та мікроскопіюванням.

Мікробіологічний контроль чистоти поживного середовища. Наявність мікробних забрудників у простерилізованому поживному середовищі перевіряють шляхом нанесення стерильною піпеткою 0,1 мл середовища на чашку Петрі з агаром Сабура (СА, для виявлення грибів та дріжджів) та 0,1 мл середовища на чашку Петрі з м'ясо-пептонним агаром (МПА, для виявлення бактерій). Далі 5 діб інкубують чашки з МПА за 28-30С, а чашки з СА – за 24-26С. На чашках не повинно бути виявлено жодних колоній мікроорганізмів, у протилежному випадку – середовище вважають нестерильним та не використовують для подальшого культивування [92].

Мікробіологічний контроль чистоти культури (висів на чашки Петрі). На чашки Петрі з МПА та СА розсівають культуральну рідину шляхом нанесення стерильною піпеткою 0,1 мл культуральної рідини. Далі 5 діб інкубують чашки з МПА за 28-30С, а чашки СА – за 24-26С, після чого розглядають їх на предмет сторонньої мікрофлори [92].

При рості на агаризованому середовищі за відсутності контамінації можна спостерігати ріст *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* АТСС, які утворюють слизисті колонії діаметром 5-8 мм світло-жовтого кольору з прозорою зоною на краях (рис.5.1) [34, 35].

					<b>НУХТ БТЕК 04.02.49 КР ПЗ</b>		
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата			
Розроб.		Алексєєва Д. О.			Літ.	Арк.	Акрушів
Консульт.						73	94
Керівник		Ковшар І. Д.			<b>Кафедра БТМ</b> 73		
Н. Контр.							
Зав. каф.		Стабніков В.П.					



Рис. 9.1. Колонії *X. campestris* pv. *campestris* ATCC на агаризованому середовищі TSA [34]

Мікробіологічний контроль чистоти культури (мікроскопіювання).

Мікроскопіювання здійснюють у світловому мікроскопі методом «роздавленої краплі». На предметне скло в умовах асептики стерильною піпеткою наносять невелику краплю культуральної рідини та накривають його предметним скельцем. Надлишок рідини видаляють фільтрувальним папером [92].

У полі зору мікроскопу маємо спостерігати клітини *X. campestris* pv. *campestris* ATCC, які мають вигляд паличок з заокругленими кінцями, розташовуються поодинокі або попарно (рис. 5.2). Розміри клітин – 0,4-0,7 мкм в ширину і 0,7-2 мкм в довжину [35, 36].

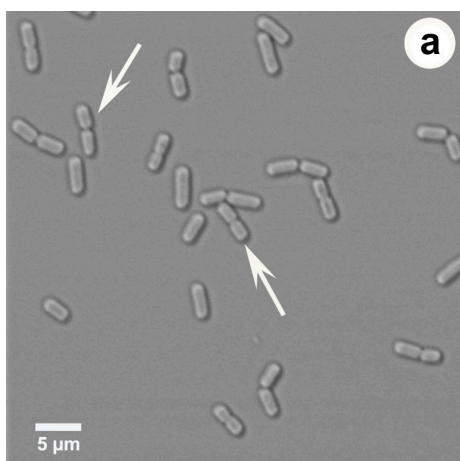


Рис. 9.2. Клітини *X. campestris* pv. *campestris* ATCC під мікроскопом [34]

### 9.2 Концентрація біомаси

Для вимірювання біомаси використовують метод спектрофотометрії. Для цього відбирають пробу культуральної рідини об'ємом 5 мл та розчиняють у 45 мл

деіонізованої води, після чого центрифугують при 36000 g протягом 30 хвилин, щоб відділити клітини від залишків поживного середовища. Клітини ресуспендують в 40 мл фізіологічного розчину, центрифугують при 36000 g протягом 10 хв, а потім тричі промивають деіонізованою водою. Потім клітини відділяють та суспендують в 5 мл деіонізованої води та вимірюють їх оптичну густину при довжині хвилі 600 нм за допомогою спектрофотометра BioDrop DUO (рис. 5.3). Далі за допомогою калібрувального графіка розраховуємо біомасу бактерій [93].



*Рис. 9.3.* Спектрофотометр BioDrop DUO

### **9.3 Концентрація джерела вуглецю**

Концентрацію глюкози визначали за допомогою високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ), використовуючи принцип розділення компонентів суміші на колонці, заповненій сорбентом, на основі їх різної спорідненості до рухомої фази. Зокрема, супернатант, отриманий після центрифугування розведеного бульйону, аналізували на хроматографі AGILENT при температурі 35 °С. Розділення здійснювали на колонці Aminex HPX-87H (Bio-Rad), а виявлення компонентів - за допомогою детектора показника заломлення. Як рухомих фаз використовували розчин сірчаної кислоти (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) з концентрацією 5 ммоль/л, який подавали зі швидкістю потоку 0,6 мл/хв [94].

#### 9.4 Концентрація джерела азоту

Визначення концентрації амінного азоту в пептоні здійснюється методом формального титрування за Серенсенем. Цей метод базується на реакції формальдегіду з аміногрупами, що призводить до вивільнення протонів, які потім титруються лугом. Принцип полягає в тому, що формальдегід реагує з аміногрупами пептону, утворюючи метилен-амінопохідні, що є слабкими кислотами. Вивільнені протони титруються розчином гідроксиду натрію (NaOH) у присутності індикатора фенолфталеїну.

Хід роботи включає підготовку розчину пептону, додавання нейтралізованого формаліну, витримку для завершення реакції, та титрування вивільнених протонів розчином NaOH до появи стійкого рожевого забарвлення. Матеріали та реактиви, необхідні для цього методу, включають: розчин пептону, нейтралізований формалін, розчин гідроксиду натрію (NaOH) відомої концентрації, індикатор фенолфталеїн, бюретку, колбу для титрування та дистильовану воду. Результати титрування використовуються для розрахунку концентрації амінного азоту в пептоні [95].

#### 9.5 Концентрація ксантану

Для визначення концентрації ксантану відбирають 5 мл культуральної рідини та додають до неї 15 мл етанолу, добре перемішують та вистояють впродовж 24 годин. Після цього ксантан осаджують центрифугуванням при 10000 об/хв впродовж 20 хв, супернатант зливають, а осад висушують при 90°C до досягнення постійної маси. Концентрацію ксантану розраховують відповідно до кількості ксантану на літр культуральної рідини після зважування за аналітичних вагів [93].

## Перелік літератури:

1. Garcia - Ochoa F. Nutritional study of *Xanthomonas Campestris* in xanthan gum production by factorial design of experiments / Garcia- Ochoa F, Santos VE, Fritsch AP. // Enzyme Microbiol. Technol. 1992. -14. - P. 991 – 996.
2. Дорохович А. М., Оболкіна В. І., Гавва О. О., Кияниця С. Г. Нові види гідроколоїдів і можливість їх використання у виробництві кондитерської продукції // ВІСНИК ДОНДУЕТ. – 2004, № 1(21). – с. 36-37
3. Кеторол. URL: <https://www.apteka24.ua/uk/ketorol-tabletki-10mg-n20/>
4. Ксантанова камідь. URL: [https://klebrig.com.ua/ua/p2032950092-ksantanovaya-kamed-klebrig.html?source=merchant\\_center&utm\\_source=google&utm\\_medium=cpc&utm\\_campaign=Perf\\_Max-Turboweb&gad\\_source=1&gclid=EAIaIQobChMI9six8fybhAMVJ5hQBh3H3QjDEAQYAiABEgJV3vD\\_BwE](https://klebrig.com.ua/ua/p2032950092-ksantanovaya-kamed-klebrig.html?source=merchant_center&utm_source=google&utm_medium=cpc&utm_campaign=Perf_Max-Turboweb&gad_source=1&gclid=EAIaIQobChMI9six8fybhAMVJ5hQBh3H3QjDEAQYAiABEgJV3vD_BwE)
5. Ксантан. URL: [https://chefs-shop.com/ksantan-150gr?gclid=EAIaIQobChMIpY7Z\\_vybhAMVdZ9oCR0HBQ33EAQYASABEgIVv\\_D\\_BwE](https://chefs-shop.com/ksantan-150gr?gclid=EAIaIQobChMIpY7Z_vybhAMVdZ9oCR0HBQ33EAQYASABEgIVv_D_BwE)
6. Інформація про ксантан. URL: <http://bg.longshinebiotech.com/xanthan-gum>
7. Composition of Xanthan gum produced by *Xanthomonas campestris* using produced water from a carbonated oil field through Raman spectroscopy. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1011134420305029>
8. *Xanthomonas campestris*. URL: <https://www.sciencedirect.com/topics/biochemistry-genetics-and-molecular-biology/xanthomonas-campestris>
9. De Vuyst, L. Two-step fermentation process for improved xanthan production by *Xanthomonas Campestris* NRRL B-1459 / De Vuyst L, Van L. J, Vandamme E.J. // J. Chem. Technol. Biotechnol. 1987. - 39. - P.263 -273.
10. Souw P., Arnold L. Demain. Nutritional Studies on Xanthan production by *Xanthomonas campestris* NRRL B1459 // Appl Environ Microbiol. – 2015. - 37, № 6. – P. 1186-1192
11. Бахмач В. О. Удосконалення технології виробництва майонезів на основі комплексного стабілізатора / Автореф. дис. ... канд. техн. наук. – Харків: 2014. – с. 8
12. Лубан С. В. Підвищення ефективності систем біополімерних безглинистих бурових розчинів / Автореф. дис. ... канд. техн. наук. – Івано-Франківськ: 2016. – с. 29
13. Назарко І. С., Лясота О. М. Технології зберігання, консервування та переробки плодів і овочів // ТНТУ ім. І. Пулюя. - Тернопіль: 2016. – с. 7
14. Макаренко В., Штонда В. Фізико-хімічні властивості м'ясних напівфабрикатів під дією полісахаридів // Вісник НУБІП України: 2016. – с. 2 - 23

15. Peter Souw, Arnold L. Demain. Nutritional Studies on Xanthan production by *Xanthomonas campestris* NRRL B1459/*Appl Environ Microbiol.* – 2015. Vol. 37, No, 6. – p. 1186 1192
16. Ксантанова камедь: як використовувати. URL: <https://www.systopt.com.ua/article-ksantanova-kamed-yak-vykorystovuvaty>
17. Пушка О. С, Корецька І. Л. Особливості використання харчових добавок в оздовлювальних напівфабрикатів. – Київ: НУХТ, 2012. - с. 175
18. Ксантанова камедь. Загусник у харчовій та косметичній технології. URL: <https://klebrig.com.ua/ua/a490803-ksantanova-kamed-zagusnik.html>
19. Тутельян В.А., Суханов Б.П., Австрієвських А.Н., Позняковській В.М. Біологічно активні добавки в харчуванні людини (оцінка якості та безпеки, ефективність, характеристика, застосування в профілактичній та клінічній медицини) – с. 14 – 18.
20. Властивості ксантанової камеді. URL: <https://ua.ingredientfood.com/news/properties-of-xanthan-gum-and-application-in-m-65052867.html>
21. Stravros Kalogiannia, Gesthimani Iakovidou, Maria Liakopulou-Kyriakides Optimization of xanthan gum production by *Xanthomonas campestris* grown in molasses. – *Process biochemistry* 39 (2003). – p. 249 – 256.
22. Cíntia Regina Rodrigues Carignatto, Pedro de Oliva Neto. New Culture Medium to Xanthan Production by *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*. 2011. - doi: 10.1007/s12088-011-0171-9, p 283–288
23. Xiaohui Dai, Construction and application of a *Xanthomonas campestris* CGMCC15155 strain that produces white xanthan gum, 2019. - doi: [10.1002/mbo3.631](https://doi.org/10.1002/mbo3.631), p 631
24. Bojana Ž. Bajić\*, Zorana Z. Rončević, Siniša N. Dodić Glycerol as a carbon source for xanthan production by *Xanthomonas campestris*. 2015 46(46):197-206
25. Silpo. [Електронне джерело]: [https://shop.silpo.ua/product/tsukor-bilyi-povna-chasha-krystalichnyi-490859?gad\\_source=1&gclid=CjwKCAjwrcKxBhBMEiwAIVF8rJunWVhaa6dkCFIQjVh2w-w9\\_70brN2MNEW2iyifmL9kRY4PSq6kaRoC6E4QAvD\\_BwE](https://shop.silpo.ua/product/tsukor-bilyi-povna-chasha-krystalichnyi-490859?gad_source=1&gclid=CjwKCAjwrcKxBhBMEiwAIVF8rJunWVhaa6dkCFIQjVh2w-w9_70brN2MNEW2iyifmL9kRY4PSq6kaRoC6E4QAvD_BwE)
26. Prom. [Електронний ресурс]: [https://prom.ua/ua/p2054894406-atsetat-natriya-natrij.html?token=v2%3All-deYZYVGuQZF0R5FipdPYPFYpIjQZOQrELqccuHeGudzuuRFFqIV-NbhGCD\\_yfVAVJjoSgu4RgwJy5YZTQ2exmTHuUxpmwDLsMnS1uXrzmJRC811siMc\\_aST\\_7KP5L&campaign\\_id=3822438&product\\_id=2054894406&source=prom%3Asearch%3Atag%3Aserp&locale=uk&category\\_ids=81907&from\\_spa=true](https://prom.ua/ua/p2054894406-atsetat-natriya-natrij.html?token=v2%3All-deYZYVGuQZF0R5FipdPYPFYpIjQZOQrELqccuHeGudzuuRFFqIV-NbhGCD_yfVAVJjoSgu4RgwJy5YZTQ2exmTHuUxpmwDLsMnS1uXrzmJRC811siMc_aST_7KP5L&campaign_id=3822438&product_id=2054894406&source=prom%3Asearch%3Atag%3Aserp&locale=uk&category_ids=81907&from_spa=true)
27. Mychem. [Електронний ресурс]: <https://mychem.in.ua/p1599257436-glutamatska-kamed>

natriya-

usilitel.html?source=merchant\_center&gad\_source=1&gclid=CjwKCAjwrcKxBhBMEiwAIVF8rAgrU1LIGr-yJP-IPYO8Ie5nVu7uzTrrg-7uCbrlwHYTgmu4Nf\_3BxoC66AQAvD\_BwE

28. Hlr.[Електронний ресурс]: <https://shop.hlr.ua/ua/drojjevoy-ekstrakt-500-g-conda-144107.html>
29. Hlr.[Електронний ресурс]: <https://shop.hlr.ua/pepton-fermentativnyy-pan-gis-12817.html>
30. Prom.[Електронний ресурс]: [https://prom.ua/ua/p1419360880-glyukoza-pischevaya.html?token=v2%3ABOKxQjyG2-sKKGJ6x9BTeb62haedIa-UlBu7g\\_UeylCm15T8X\\_WNbAh2OKQF5H19GX\\_jQjEcc0wxcDcegek6jExM6Qg\\_nkj4ZEKBQWEWeC\\_NzFk4V5mV-nH4ypvvYyXtJ&campaign\\_id=1245615&product\\_id=1419360880&source=prom%3Asearch%3Atag%3Aserp&locale=uk&category\\_ids=225&from\\_spa=true](https://prom.ua/ua/p1419360880-glyukoza-pischevaya.html?token=v2%3ABOKxQjyG2-sKKGJ6x9BTeb62haedIa-UlBu7g_UeylCm15T8X_WNbAh2OKQF5H19GX_jQjEcc0wxcDcegek6jExM6Qg_nkj4ZEKBQWEWeC_NzFk4V5mV-nH4ypvvYyXtJ&campaign_id=1245615&product_id=1419360880&source=prom%3Asearch%3Atag%3Aserp&locale=uk&category_ids=225&from_spa=true)
31. lab-mir.[Електронний ресурс]: <http://lab-mir.com/index.php/%D0%BA%D0%B0%D1%82%D0%B0%D0%BB%D0%BE%D0%B3/%D0%BF%D0%B8%D1%82%D0%B0%D1%82%D0%B5%D0%BB%D1%8C%D0%BD%D1%8B%D0%B5-%D1%81%D1%80%D0%B5%D0%B4%D1%8B/%D0%BF%D0%B8%D1%82%D0%B0%D1%82%D0%B5%D0%BB%D1%8C%D0%BD%D1%8B%D0%B5-%D1%81%D1%80%D0%B5%D0%B4%D1%8B-%D0%BF%D1%80-%D0%B2%D0%B0-%D0%B8%D0%BD%D0%B4%D0%B8%D1%8F/39448-detail.html>
32. Prom.[Електронний ресурс]: <https://prom.ua/ua/p1049090469-sulfat-ammoniya-ammonij.html>
33. mendelev-shop. [Електронний ресурс]: [https://mendelev-shop.com.ua/p1321736963-magnij-sulfat-magneziya.html?source=merchant\\_center&gad\\_source=1&gclid=CjwKCAjwrcKxBhBMEiwAIVF8rKYEGfM-ZcgzKOHu6Lhkc8phE7Ziej8LHtbkEXA1R8iJTFqH9grqXRoCdIQQAvD\\_BwE](https://mendelev-shop.com.ua/p1321736963-magnij-sulfat-magneziya.html?source=merchant_center&gad_source=1&gclid=CjwKCAjwrcKxBhBMEiwAIVF8rKYEGfM-ZcgzKOHu6Lhkc8phE7Ziej8LHtbkEXA1R8iJTFqH9grqXRoCdIQQAvD_BwE)
34. Naqvi S.F., Inam-ul-Haq M., Khan M.A., Tahir M.I., Ali Z., Rehman H.M. Morphological and biochemical characterization of *Xanthomonas campestris* (PAMMEL) Dawson pv. Sesami and its management by bacterial antagonists. Pakistan Journal of Agricultural Research. 2013, 50(2): 229-235. Режим доступу: [https://www.researchgate.net/profile/Zahid-Ali-7/publication/281654283\\_Morphological\\_and\\_biochemical\\_characterization\\_of\\_Xanthomonas\\_campestris\\_Pammel\\_Dawson\\_Pv\\_sesami\\_and\\_its\\_management\\_by\\_bacterial\\_antagonists/links/5822a18208aeebc4f8917b1e/Morphological-and-](https://www.researchgate.net/profile/Zahid-Ali-7/publication/281654283_Morphological_and_biochemical_characterization_of_Xanthomonas_campestris_Pammel_Dawson_Pv_sesami_and_its_management_by_bacterial_antagonists/links/5822a18208aeebc4f8917b1e/Morphological-and-)

35. Delisle-Houde M., Blais M., Twedell R.J., Rioux D. Antibacterial activity of geraniin from sugar maple leaves: an ultrastructural study with the phytopathogen *Xanthomonas campestris* pv. *vitians*. *Journal of Plant Pathology*. 2021, 103: 461-471. doi: 10.1007/s42161-021-00743-2.
36. Dubrow Z.E., Bogdanowe A.J. Genomic insights advance the fight against black rot of crucifers. *Journal of General Plant Pathology*. 2021, 87: 127-136. doi: 10.1007/s10327-021-00987-x.
37. Huang D., Shao Z.Z., Yu Y., Cai M.M., Zheng L.Y., Li G.Y. et al. Identification, characteristics and mechanism of 1-Deoxy-N-acetylglucosamine from deep-sea *Virgibacillus dokdonensis* MCCC 1A00493. *Marine drugs*. 2018, 16: 52. doi: 10.3390/md16020052.
38. Emitaro W.O., Musyimi D.M., Otiato D.A., Onyango B. Morphological, biochemical and molecular characterization of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* of African nightshades (*Solanum scabrum* Mill.). *International Journal of Biosciences*. 2017, 11(1): 190-197. doi: 10.12692/ijb/11.1.190-197.
39. Alvarez A.M., Benedict A.A., Mizumoto C.Y., Hunter J.E., Gabriel D.W. Serological, pathological and genetic diversity among strains of *Xanthomonas campestris* infecting crucifers. *Phytopathology*. 1994, 84(12): 1449-1457.
40. Dai X., Gao G., Wu M., Wei W., Qu J., Li G. et al. Construction and application of a *Xanthomonas campestris* CGMCC15155 strain that produces white xanthan gum. *MicrobiologyOpen*. 2019. doi: 10.1002/mbo3.631.
41. Пирог Т.П. Загальна мікробіологія: Підруч. – 2-е вид., доп. і перероб. Київ, НУХТ. 2010. С. 327.
42. Універсальний текстури. Навіщо потрібен ксантан? [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://chefs-shop.com/uk/universalnaya-tekstura-ili-dlya-chegonuzhen-ksantan>
43. Belova, N. M., Kutsenkova, V. S., Petrova, O. N., Popova, O. M., Yeganehzad, S., & Nepovinnykh, N. V. (2021, March). New insights into grain hydrogels with reinforced textural properties: design of low-calorie jelly desserts technology. In IOP Conference Series: Earth and Environmental Science (Vol. 723, No. 3, p. 032066). IOP Publishing.
44. Ксантанова камідь [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://plunger.com.ua/ua/p1422223779-ksantanova-kamid-gram.html>
45. Soedirga, L. C., & Marchellin, M. (2021). Physicochemical properties of jelly candy made with pectin from red dragon fruit peel in combination with carrageenan. *Caraka Tani: Journal of Sustainable Agriculture*, 37(1), 1-14.

46. Optimization of Textural Properties of Konjac Gels Formed with  $\kappa$ -Carrageenan or Xanthan and Xylitol as Ingredients in Jelly Drink Processing
47. Аналіз українського ринку цукерок [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://koloro.ua/ua/blog/issledovaniya/Analiz-ukrainskogo-rynka-konfet.html>
48. Ринок кондитерської продукції в Україні: тенденції та перспективи розвитку [Електронний ресурс] Режим доступу: [https://eapk.com.ua/web/uploads/pdf/eapk\\_2018\\_11\\_p\\_29\\_43.pdf](https://eapk.com.ua/web/uploads/pdf/eapk_2018_11_p_29_43.pdf)
49. Дослідження ринку кондитерських виробів України [Електронний ресурс] Режим доступу: [file:///C:/Users/54444/Downloads/4859-%D0%A2%D0%B5%D0%BA%D1%81%D1%82%20%D1%81%D1%82%D0%B0%D1%82%D1%82%D1%96-9757-1-10-20180116%20\(1\).pdf](file:///C:/Users/54444/Downloads/4859-%D0%A2%D0%B5%D0%BA%D1%81%D1%82%20%D1%81%D1%82%D0%B0%D1%82%D1%82%D1%96-9757-1-10-20180116%20(1).pdf)
50. Харчові добавки [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://ir.stu.cn.ua/bitstream/handle/123456789/12369/%D0%A5%D0%B0%D1%80%D1%87%D0%BE%D0%B2%D1%96%20%D0%B4%D0%BE%D0%B1%D0%B0%D0%B2%D0%BA%D0%B8.%D0%A2%D0%B5%D0%BA%D1%81%D1%82%D0%B8%20%D0%BB%D0%B5%D0%BA%D1%86%D1%96%D0%B9.pdf>
51. Velu, S. Optimization of fermentation media for xanthan gum production from *Xanthomonas campestris* using Response Surface Methodology and Artificial Neural Network techniques. *Indian Journal of Chemical Technology (IJCT)*, 2016, 23(5), 353-361.
52. Metabolic pathways - *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* ATCC 33913. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://www.genome.jp/pathway/xcc00010>.
53. Пирог Т.П. Загальна мікробіологія: Підруч. – 2-е вид., доп. і перероб. Київ, НУХТ. 2010. 632 с.
54. Joana G. Vicente. *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (cause of black rot of crucifers) in the genomic era is still a worldwide threat to brassica crops. – 2013. - doi: 10.1111/j.1364-3703.2012.00833.x
55. Fermenters and Bio-reactors [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://rulandec.com/en/process-technology/fermenters-bio-reactors/>
56. Foam Control in Fermentation [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://www.appliedmaterialsolutions.com/foam-control-in-fermentation/#:~:text=The%20primary%20defoamers%20used%20in,fermentation%2C%20they%20offer%20different%20characteristics.>
57. Revin, V. V., Liyas' kina, E. V., Pokidko, B. V., Pimenov, N. V., Mardanov, A. V., & Ravin, N. V. (2021). Characteristics of the New Xanthan-Producing Strain *Xanthomonas campestris* M 28: Study of the Genome, Cultivation Conditions, and Physicochemical and Rheological Properties of the Polysaccharide. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 57(3), 356-365.

58. Етапи біотехнологічного процесу [Електронний ресурс] Режим доступу: [https://moodle.znu.edu.ua/pluginfile.php/1101418/mod\\_resource/content/1/%D0%9B%D0%B5%D0%BA%D1%86%D1%96%D1%8F\\_3\\_%D0%95%D1%82%D0%B0%D0%BF%D0%B8\\_%D0%91%D1%96%D0%BE%D0%BF%D1%80%D0%BE%D1%86%D0%B5%D1%81%D1%83.pdf](https://moodle.znu.edu.ua/pluginfile.php/1101418/mod_resource/content/1/%D0%9B%D0%B5%D0%BA%D1%86%D1%96%D1%8F_3_%D0%95%D1%82%D0%B0%D0%BF%D0%B8_%D0%91%D1%96%D0%BE%D0%BF%D1%80%D0%BE%D1%86%D0%B5%D1%81%D1%83.pdf)
59. Основи біотехнологічних виробництв (доповнено) [Електронний ресурс] Режим доступу: [https://elib.lntu.edu.ua/sites/default/files/elib\\_upload/%D0%90%D0%B2%D0%B3%D1%83%D1%81%D1%82%D0%B8%D0%BD%D0%BE%D0%B2%D0%B8%D1%87/page5.html](https://elib.lntu.edu.ua/sites/default/files/elib_upload/%D0%90%D0%B2%D0%B3%D1%83%D1%81%D1%82%D0%B8%D0%BD%D0%BE%D0%B2%D0%B8%D1%87/page5.html)
60. Sparks, T., & Chase, G. (2016). Air and gas filtration. *Filters and Filtration Handbook*, 117.
61. Лосьон для рук Стерилін. [Електронний ресурс] – режим доступу: <https://liki24.com/uk/p/sredstvo-dlya-gigienichnoi-obrabotki-kozhnykh-pokrovov-loson-dlya-ruk-sterillin-100-ml/>
62. Camomile Patron. [Електронний ресурс] – режим доступу: <https://prote.ua/zasobi-gigiyeni/zasib-dezinfekciyniy-dlya-ruk-camomile-700-ml-patron-f3-037-0-71?srsId=AfmBOoprqMsAFpqSqikB0DHSUOp7KDKqVDGe-hPUPLu-jFvw7oLFY6Q2>
63. Мийний засіб PUR-265 [Електронний ресурс] – режим доступу: <https://coagulant.com.ua/catalog/pur-265/>
64. Chemicid SP 2000 Plus [Електронний ресурс] – режим доступу: <https://klineko.com.ua/kislotnye-sredstva/chemicid-sp-200-plus/>
65. ДЕЗЕКОН [Електронний ресурс] – режим доступу: <https://interdez.com.ua/product/dezekon-unvcpd>
66. ДЕЗЕКОНОМ [Електронний ресурс] – режим доступу: <https://interdez.com.ua/product/interdez-dezekonom>
67. Lopes, B. D. M., Lessa, V. L., Silva, B. M., & La Cerda, L. G.. Xanthan gum: properties, production conditions, quality and economic perspective. *J. Food Nutr. Res*, 2015, 54(3), 185-194.
68. Інжиніринг біопроцесів. Модуль 1. Процеси та апарати біотехнологічних виробництв [Електронний ресурс] [Текст] : конспект лекцій до змістового модуля 5 "Біоінженерні процеси" для здобувачів освіт. ступ. "Бакалавр" спец. 162 освіт.-проф. програми "Біотехнології: фармацевтична, промислова, харчова,

природоохоронна" ден. та заоч. форм навч. / В. Л. Зав'ялов, Т. Г. Мисюра, Ю. В. Карлаш та ін. ; Нац. ун-т харч. технол. — Київ : НУХТ, 2021. — 83 с. — каф. процесів і апаратів харчових виробництв.

69. рН розчину [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://www.interactive.ranok.com.ua/theme/contentview/pdrychniki/hmya-9-klas-pdrychnik-o-v-grigorovich/11-kislotnst-seredovishca-ponyattya-pro-ph-rozchiny/14998-do-11>
70. Шахта вентиляційна [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://euro-detail.com.ua/oborudovanie-dlya-selskohozyajstvennyh-zhivotnyh/ventilyaciya/shahta-ventylyacijna-shv>
71. Фільтр грубої очистки повітря. [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://shop.alterair.ua/product/vozdushnyye-panelnyye-filtry-gruboy-ochistki-g1-g4/>
72. Компресор [Електронний ресурс] Режим доступу: [https://pneumatic.biz/hvyntovi\\_kompresory?utm\\_source=google&utm\\_medium=cpc&utm\\_term=%D0%BA%D0%BE%D0%BC%D0%BF%D1%80%D0%B5%D1%81%D0%BE%D1%80%20%D0%B3%D0%B2%D0%B8%D0%BD%D1%82%D0%BE%D0%B2%D0%B8%D0%B9&utm\\_campaign=search%20http%20Vintovye\\_kompresory\\_Ua&gad\\_source=1&gclid=Cj0KCQiAuou6BhDhARIsAIfgrn7cfU0f4q11KgR2oXoAKVQPhyYWGG0bjYZ4OZv9oWsiGLoFUhB8m5YaAsqAEALw\\_wcB#!/tproduct/707954845-2669261803880](https://pneumatic.biz/hvyntovi_kompresory?utm_source=google&utm_medium=cpc&utm_term=%D0%BA%D0%BE%D0%BC%D0%BF%D1%80%D0%B5%D1%81%D0%BE%D1%80%20%D0%B3%D0%B2%D0%B8%D0%BD%D1%82%D0%BE%D0%B2%D0%B8%D0%B9&utm_campaign=search%20http%20Vintovye_kompresory_Ua&gad_source=1&gclid=Cj0KCQiAuou6BhDhARIsAIfgrn7cfU0f4q11KgR2oXoAKVQPhyYWGG0bjYZ4OZv9oWsiGLoFUhB8m5YaAsqAEALw_wcB#!/tproduct/707954845-2669261803880)
73. Теплообмінник-охолоджувач [Електронний ресурс] Режим доступу: [https://opeks.ua/ua/kozhuxotrubni-kondensatori/?srsIid=AfmBOorFqtOLY8LLUWk\\_u3u8Srgiy54MTYQqPyvUdFuZst](https://opeks.ua/ua/kozhuxotrubni-kondensatori/?srsIid=AfmBOorFqtOLY8LLUWk_u3u8Srgiy54MTYQqPyvUdFuZst)
74. Ресивер [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://tusk.ua/ua/product/resiver-vozdushnyj-lider-10-bar-900-1-rv90081801-dlya-kompressora/>
75. Теплообмінник-нагрівач [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://ovk.ua/ua/shop/product/vents-nkv-100-2-kruglyi>

76. Головний фільтр очистки [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://ventfilter.kiev.ua/goods/filtr-vozdushniy-kassetniy-klass-filtratsii-f9/>
77. Індивідуальний фільтр [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://energo-pro.com.ua/ua/p622972629-protsessnyj-filtr-omega.html>
78. Реактор-змішувач для приготування композиції А [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://promvit.com.ua/laboratoryj-reaktor-rp-5-dlya-mlf-kremy-mazi-geli-5-1/5/>
79. Дозатор об'ємний [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://dosingtech.com.ua/ru/catalog/kronos-inductivity-mode-2/>
80. Реактор-змішувач [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://promvit.com.ua/laboratoryj-reaktor-rp-5-dlya-mlf-kremy-mazi-geli-5-1/5/>
81. Дозатор об'ємний [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://dosingtech.com.ua/ru/catalog/kronos-inductivity-mode-2/>
82. Насос [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://rozetka.com.ua/99451036/p99451036/characteristics/>
83. Інокулятор об'ємом 7 л [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://www.labotronics.com/steel-fermenter/lb-11sfm>
84. Реактор-змішувач [Електронний ресурс] Режим доступу: [https://tehnolog.com.ua/catalog/creamy\\_mixers/mixer-with-heating-and-a-mixer-for-liquid-thick-products/](https://tehnolog.com.ua/catalog/creamy_mixers/mixer-with-heating-and-a-mixer-for-liquid-thick-products/)
85. Насос [Електронний ресурс] Режим доступу: [https://prom-nasos.com.ua/ua/catalog/pumps-by-type/peristaltic\\_pumps/peristaltichniy-nasos-mp-31186/](https://prom-nasos.com.ua/ua/catalog/pumps-by-type/peristaltic_pumps/peristaltichniy-nasos-mp-31186/)
86. Інокулятор об'ємом 63 л [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://www.ebay.com/itm/233470926125>
87. Реактор-змішувач [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://wise-master.com.ua/ua/p948372616-reaktor-himicheskij-500.html>
88. Інокулятор об'ємом 630 л [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://en.sysbiotech.at/stationary-reactor-with-cip-and-sip-630-l/>

89. Установка без-перервної стерилізації [Електронний ресурс] Режим доступу: <http://sdlcentrifuge.com/9-continuous-sterilization-system/192767/>
90. Ферментер [Електронний ресурс] Режим доступу: [https://chinapharmamachine.com/product/stainless\\_steel\\_lab\\_fermenter](https://chinapharmamachine.com/product/stainless_steel_lab_fermenter)
91. Патент EP0690072A2. Process for the recovery and purification of xanthan gum [Електронний ресурс] – режим доступу: <https://patents.google.com/patent/EP0690072A2/en>
92. 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.
93. Dai X., Gao G., Wu M., Wei W., Qu J., Li G., & Ma T. Construction and application of a *Xanthomonas campestris* CGMCC 15155 strain that produces white xanthan gum. *Microbiologyopen*, 2019, 8(2), e00631.
94. Zhang Z., & Chen H.. Fermentation performance and structure characteristics of xanthan produced by *Xanthomonas campestris* with a glucose/xylose mixture. *Applied biochemistry and biotechnology*, 2010, 160, 1653-1663.
95. Chasoy G. R., Chairez I., & Durán-Páramo E. Carbon/nitrogen ratio and initial pH effects on the optimization of lactic acid production by *Lactobacillus casei* subsp *casei* NRRL-441. 2020, *Carbon*, 27(10), 37-59.
96. Миючий засіб SUPRA. Інструкція з експлуатації [Електронний ресурс] – режим доступу: <https://primaterra.ua/ua/p222467489-sredstvo-dlya-mojki.html>

Катаболізм глюкози. Шлях Ембдена-Мейєргофа-Парнаса



Glycolysis / Gluconeogenesis - *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* ATCC 33913

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

ange pathway type

**Option**

Scale:  70%

**Search**

**ID search** +

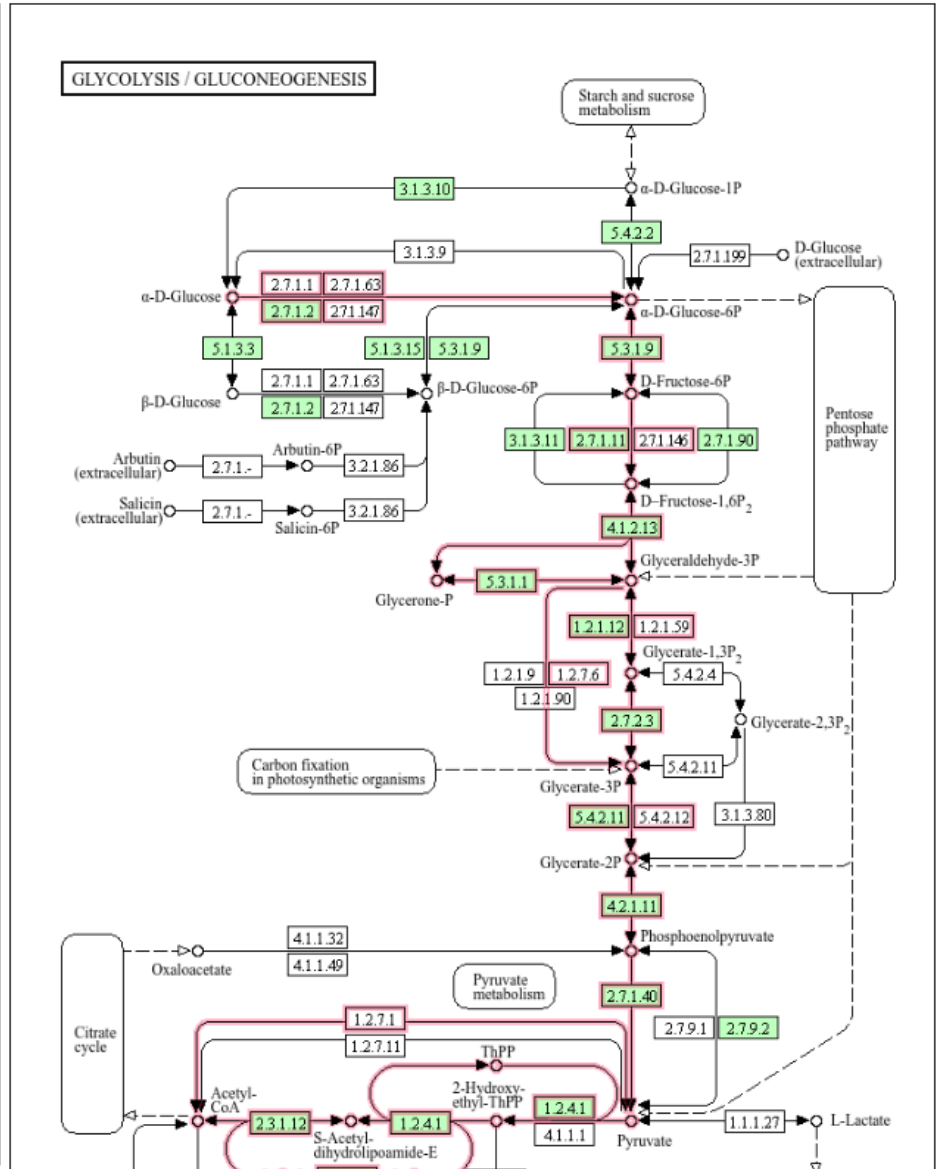
**Color** +

**Module**

complete only ▾

**Pathway modules**

- Carbohydrate metabolism
- Central carbohydrate metab
- M00001 Glycolysis (Embd
- M00002 Glycolysis, core n
- M00307 Pyruvate oxidatio



## Цикл трикарбонових кислот



Citrate cycle (TCA cycle) - *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* ATCC 33913

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

Change pathway type

**Option**

Scale:  90%

**Search**

**ID search**

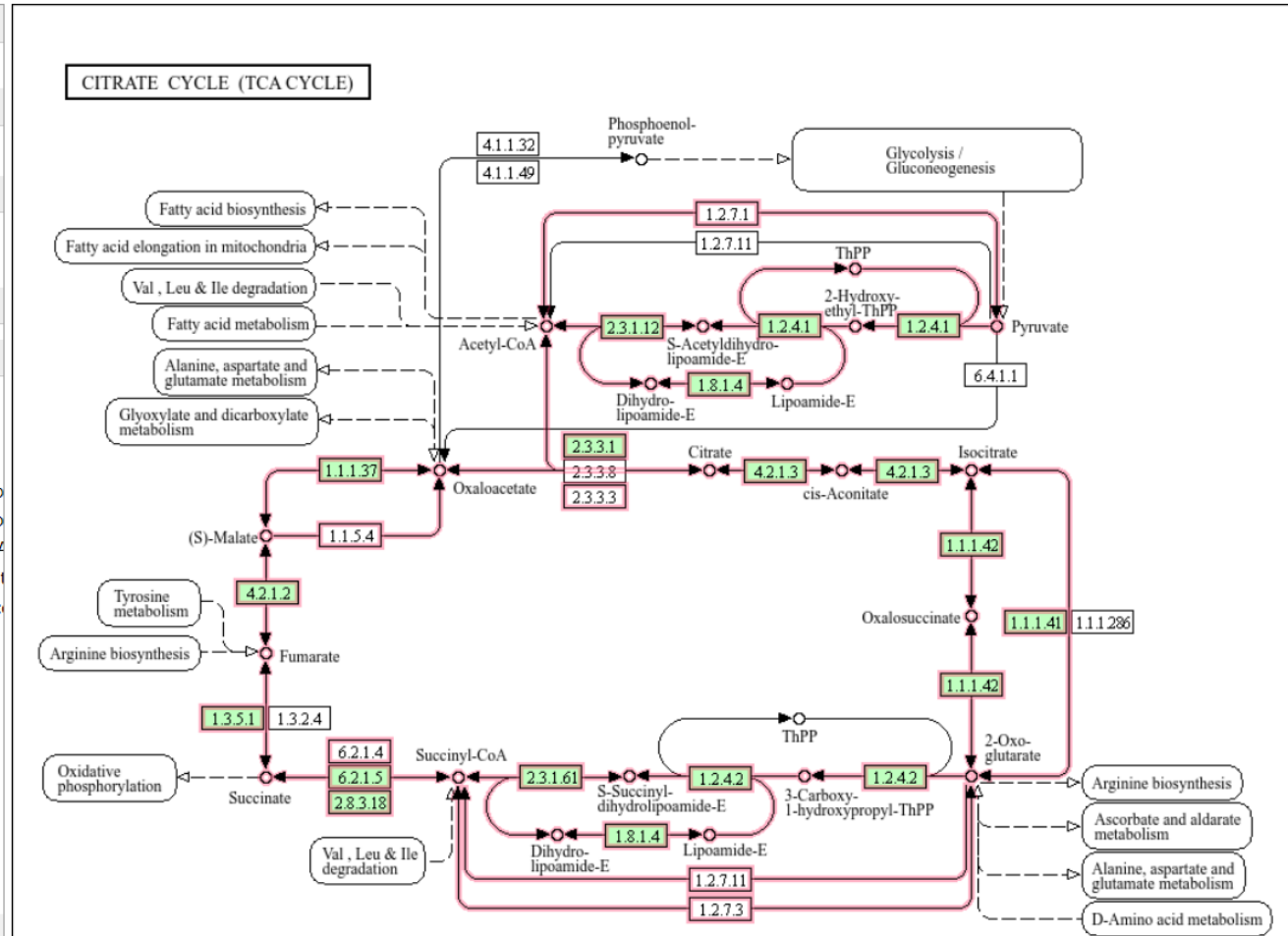
**Color**

**Module**

Complete only

**Pathway modules**

- Carbohydrate metabolism
- Central carbohydrate metabolism
- M00307 Pyruvate oxidation
- M00009 Citrate cycle (TCA cycle)
- M00010 Citrate cycle, first half
- M00011 Citrate cycle, second half







## Поживне середовище для отримання посівного матеріалу

### Experimental Section

#### Microorganism, growth conditions and inoculums preparation

*Xanthomonas campestris* ATCC 29497 (NCIM 5028) was obtained from the National collection of industrial microorganisms, Pune, India. It was cultivated in MGYP medium containing (g/l); glucose 10, peptone 5, yeast extract 3, malt extract 3 and agar 20. The inoculums was prepared in MGYP medium without agar and incubated for 24 h at 30°C. Sub culturing was carried out once in every 2 weeks and culture was stored at 4°C in refrigerator.

## Поживне середовище для виробничого біосинтезу

### Production media and culture conditions

Production medium consist of (g/L); glucose, 40.72, peptone, 9.84,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 4.976,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , 3.024 and  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , 0.1134. The initial pH of the medium was adjusted to 7.0 with 1 N NaOH and incubated for 4 days at 30°C in an orbital shaker.

## Визначення концентрації вуглецю

25% ethanol. The precipitate was filtered and dried at 60 °C for 24 h and then weighed to calculate raw polysaccharide concentration. The xanthan concentration was estimated as the difference-value between the concentration of raw polysaccharide and biomass. Glucose and xylose concentrations were estimated by assaying the two sugars in the supernate by high performance liquid chromatography (HPLC, AGILENT, USA) at 35 °C with a refractive index detector and an Aminex HPX-87H column (Bio-Rad). A  $\text{H}_2\text{SO}_4$  solution (5 mmol  $\text{L}^{-1}$ ) was used as the mobile phase and the flow rate was 0.6 mL  $\text{min}^{-1}$ .

## Визначення концентрації азоту

### 2.6. Organic carbon and total nitrogen determinations

The organic carbon (OC) in each sample (casein peptone, meat extract, yeast extract and lactose) was analyzed in triplicate by Walkley and Black (1933) method with slight modifications, as reported by Gaudette et al. (1974). The percent OC was calculated using Equation 1. The total nitrogen content (N<sub>t</sub>) was analysed by the standard micro-Kjeldahl method and the percentage of N<sub>t</sub> was calculated using Equation 2.

$$\%OC = \frac{W - S}{g * mfc} (N)(0.39) \quad (1)$$

$$\%N_t = \frac{S - W}{g * 10} (N)(MW) \quad (2)$$

Where  $W$  = volume of  $FeSO_4$  or  $HCl$  used to standardization blank titration,  $S$  = volume of  $FeSO_4$  or  $HCl$  used to sample titration,  $N$  = Normality  $FeSO_4$  (0.2 N) or  $HCl$  (0.2N),  $g$  = Dried weight of the sample in grams,  $MW$  = molecular weight and  $mfc$  = moisture correction factor.

## Визначення концентрації біомаси

### 2.5.3 | Determination of biomass

Spectrophotometry was used to measure the biomass. Fermentation broth (5 ml) was diluted with 45 ml of deionized water and then centrifuged at 36,000g for 30 min to collect the cells. The cells were resuspended in 40 ml of 0.9% (w/w) sodium chloride solution, centrifuged at 36,000g for 10 min, and then washed three times. Then, the cells were collected and suspended in 5 ml of deionized water, and their optical density was measured at a wavelength of 600 nm using a spectrophotometer (Biodrop).