

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 «Біотехнологія»

(назва)

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри біотехнології і мікробіології

Пирог Т.П.

“ 01 ” квітня 2021 року

ЗАВДАННЯ НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ ЗДОБУВАЧА

Ракса Мирослава

(прізвище, ім'я, по батькові)

1. Тема роботи Культивування *Pseudomonas fluorescens* для одержання Планризу

керівник роботи Слободян Ольга Петрівна, доцент, к.т.н

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

затверджені наказом закладу вищої освіти від 30 березня 2021 року № 228-кв

2. Строк подання здобувачем роботи _____

3. Вихідні дані до роботи: біологічний агент: *Pseudomonas fluorescens*, цільовий продукт: Планриз

4. Зміст пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно розробити): РОЗДІЛ 1. Характеристика цільового продукту. РОЗДІЛ 2. Обґрунтування вибору біологічного агенту. РОЗДІЛ 3. Техніко-економічне обґрунтування. РОЗДІЛ 4. Біосинтез цільового продукту. РОЗДІЛ 5. Обґрунтування вибору технологічної схеми. РОЗДІЛ 6. Специфікація обладнання. РОЗДІЛ 7. Опис технологічної схеми. РОЗДІЛ 8. Контроль виробництва. РОЗДІЛ 9. Автоматизація ділянки виробництва Планризу. РОЗДІЛ 10. Охорона довкілля

5. Перелік графічного матеріалу:

Технологічна схема виробництва Планризу – 1 аркуш формату А1. Апаратурна схема виробництва Планризу – 1 аркуш формату А1 та 1 аркуш формату А2

6. Консультанти розділів роботи

Розділ	Прізвище, ініціали та посада консультанта	Підпис, дата	
		завдання видав	завдання прийняв
РОЗДІЛ 8. Автоматизація ділянки виробництва Планризу	Клименко О. М., доцент, к.т.н., кафедра автоматизації та комп'ютерних технологій систем управління		

7. Дата видачі завдання _____ 01 квітня 2021 року _____

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№	Назва етапів виконання кваліфікаційної роботи	Строк виконання етапів роботи	Примітка
1	Характеристика цільового продукту	01.04.21-04.04.21	
2	Обґрунтування вибору та характеристика біологічного агента	05.04.21-10.04.21	
3	Техніко-економічне обґрунтування	10.04.21-15.04.21	
4		15.04.21-20.04.21	
5	Обґрунтування вибору технологічної схеми	20.04.21-25.04.21	
6	Специфікація обладнання	25.04.21-30.04.21	
7	Опис технологічної схеми	01.05.21-05.05.21	
8	Контроль виробництва	05.05.21-10.05.21	
9	Автоматизація ділянки виробництва	10.05.21-15.05.21	
10		15.05.21-20.05.21	
11	Оформлення пояснювальної записки	20.05.21-25.05.21	
12	Виконання графічної частини проекту	25.05.21-28.05.21	

Здобувач

(підпис)

Ракс М.

(прізвище та ініціали)

Керівник роботи

(підпис)

Слободян О. П.

(прізвище та ініціали)

РЕФЕРАТ

Кваліфікаційна робота присвячена розробленню методики культивування та технологічної схеми біосинтезу бактеріального добрива та біофунгіциду (препарату «Планриз») на основі бактерій *Pseudomonas fluorescens*.

При проведенні аналізу та порівнянні потенційних продуцентів даного препарату, складу поживних середовищ для їх культивування був обраний штам *Pseudomonas fluorescens* AP-33, який порівняно з іншими характеризується найвищим виходом біомаси за 1 годину (1 г/л), а також має найнижчу умовну вартість 1 г біомаси (0,11 грн).

У роботі наведений розрахунок потужності виробництва (з розрахунком кількості циклів та необхідного об'єму ферментера), представлений повний опис технологічної схеми виробництва по стадіям. Також було обґрунтовано вибір післяферментаційних стадій виділення та очищення Планризу, наведено методики контролю виробництва.

Кваліфікаційна робота складається з вступу, 10 розділів, графічних матеріалів та списку використаної літератури з 73 найменувань. Загальний обсяг роботи – 93 сторінки, 4 рисунки, 20 таблиць. Також, в кінці роботи наведені додатки, в яких наведені: схема катаболізму ростового субстрату у біологічного агенту та скріншоти трьох джерел з яких брались дані біосинтезу біомаси щодо порівнюваних потенційних біологічних агентів та умов їх культивування.

Ключові слова: *Pseudomonas fluorescens* AP-33, Планриз, посівний матеріал, культуральна рідина, сільсько-господарське добриво, біосинтез, виділення, відділення біомаси, осаджувальна центрифуга, захисне середовище, сублімаційна сушка.

ЗМІСТ

ВСТУП.....	6
РОЗДІЛ 1. ХАРАКТЕРИСТИКА ЦІЛЬОВОГО ПРОДУКТУ.....	8
РОЗДІЛ 2. ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТА ХАРАКТЕРИСТИКА БІОЛОГІЧНОГО АГЕНТУ.....	12
2.1. Обґрунтування вибору біологічного агенту та середовища для його культивування.....	12
2.2. Морфолого-культуральні та фізіолого-біохімічні ознаки <i>Pseudomonas fluorescens</i> AP-33.....	17
2.2.1. Фізіолого-біохімічні властивості.....	17
2.2.2. Морфолого-культуральні ознаки.....	18
2.2.3. Таксономічний статус біологічного агента.....	18
РОЗДІЛ 3. ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ.....	19
3.1. Потреба у цільовому продукті.....	19
3.2. Розрахунок потужності виробництва.....	20
3.3. Розрахунок кількості виробничих циклів для отримання річної потреби в цільовому продукті та геометричного об'єму ферментера.....	21
3.4. Розрахунок кількості стадій підготовки посівного матеріалу.....	22
РОЗДІЛ 4. БІОСИНТЕЗ ЦІЛЬОВОГО ПРОДУКТУ.....	24
4.1. Шляхи катаболізму ростового субстрату у біологічного агента.....	24
4.2. Біотрансформація ростового субстрату у цільовий продукт.....	24
РОЗДІЛ 5. ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ.....	26
5.1. Обґрунтування доферментаційних процесів та виробничого біосинтезу.....	26
5.1.1. Обґрунтування способу культивування і типу ферментера.....	26
5.1.2. Обґрунтування вибору стадії підготовки повітря.....	26
5.1.3. Вибір мийних та дезінфекційних засобів.....	27
5.1.4. Особливості підготовки та стерилізації поживного середовища.....	29
5.2. Обґрунтування стадій виділення та очищення цільового продукту.....	37
5.2.1. Обґрунтування способу відділення біомаси з культуральної рідини.....	38
5.2.2. Обґрунтування способу сушіння біомаси.....	41

5.2.3. Підбір технологічного обладнання для стадій виділення та очищення з врахуванням матеріальних потоків по стадіях.....	43
РОЗДІЛ 6. СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ.....	45
РОЗДІЛ 7. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ.....	48
РОЗДІЛ 8. КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА.....	61
8.1. Мікробіологічний контроль.....	61
8.2. Визначення концентрації цільового продукту.....	61
8.3. Визначення концентрації джерел вуглецю і азоту.....	62
8.3.1. Визначення концентрації джерела вуглецю.....	62
8.3.2. Визначення концентрації джерела азоту	64
8.4. Карта постадійного контролю виробництва препарату Планриз.....	65
РОЗДІЛ 9. АВТОМАТИЗАЦІЯ ВИРОБНИЦТВА.....	72
9.1. Опис апаратурно-технологічної схеми автоматизації.....	73
9.2. Завдання на розробку схеми автоматизації.....	74
9.3. Опис функціональної схеми автоматизації.....	76
9.4. Специфікація на прилади та засоби автоматизації.....	78
РОЗДІЛ 10. ОХОРОНА ДОВКІЛЛЯ.....	81
10.1. Аналіз технологічної схеми виробництва цільового продукту на місця емісії твердих, рідких та газоподібних відходів.....	82
10.2. Перспективи впровадження системи екологізації виробництва.....	83
10.2.1. Система знешкодження та утилізації рідких відходів.....	82
10.2.2. Система знешкодження та утилізації твердих відходів.....	84
ЛІТЕРАТУРА.....	87
ДОДАТКИ.....	94

ВСТУП

Біотехнологія охоплює широке коло завдань, одним з яких є пошук нових штамів мікроорганізмів і навіть їх отримання методами генної інженерії, які могли б допомогти в сільському господарстві у вирощуванні продовольчих і кормових рослин.

Біотехнологія, яка включає промислову мікробіологію, базується на використанні знань і методів біохімії, мікробіології, генетики і хімічної технології, що дає змогу діставати користь у технологічних процесах із властивостей мікроорганізмів та клітинних культур. Що стосується більш сучасних біотехнологічних процесів, то вони базуються на методах рекомбінантних ДНК, а також на використанні іммобілізованих ферментів, клітин і клітинних органел.

В наш час модернізація промисловості і науки в Україні є актуальною проблемою, в вирішенні якої значне місце відводиться біотехнології.

Останнім часом біосфера Землі відчуває на собі постійний зростаючий антропогенний вплив. Прискорені темпи науково-технічного прогресу і удосконалення сільськогосподарського виробництва розширюють ступінь впливу людини на біосферу в цілому і особливо на агробіоценози [1].

Виникає потреба заміни токсичних і шкідливих для навколишнього середовища засобів таких, як інсектициди, пестициди і т. п., на менш шкідливі для навколишнього середовища засоби захисту рослин від шкідників та стимулятори їх росту. Такими засобами можуть бути мікроорганізми.

В даному проекті розглянуто сучасний широко відомий в Україні препарат Планриз та запропоновано нову схему його біосинтезу для одержання препарату в сухій формі.

					НУХТ БТЕК 04.02.23 КР ПЗ			
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Ракс М.			ВСТУП	Літ.	Арк.	Акрушіє
Перевір.		Слободян О.П.					6	93
Реценз.						Кафедра БТМ		
Н. Контр.								
Затверд.		Пирог Т.П.						

Препарати на бактеріальній основі є дуже актуальними в теперішній час. Це пов'язано з тим, що бактерії є екологічно не шкідливими, як аналогічні їм за антифітопатогенними властивостями хімічні препарати. Більше того, такі препарати також володіють ростостимулюючими властивостями.

Метою моєї кваліфікаційної роботи є запровадження нової схеми біосинтезу для сухої форми відомого препарату «Планриз», а також підбір найвигіднішого біологічного агенту та складу поживного середовища для отримання препарату.

Новизною даної роботи є запровадження нової – сухої форми препарату Планриз. Також у роботі в ході аналізу було обрано новий штам *Pseudomonas fluorescens* AP-33 з більш дешевим поживним середовищем (ціна 1 л – 2,65 грн) для вирощування (ціна 1 л – 2,65 грн) та швидшим ростом і виходом біомаси порівняно з іншими потенційними продуцентами (дає 1 г/л біомаси за годину).

РОЗДІЛ 1. ХАРАКТЕРИСТИКА ЦІЛЬОВОГО ПРОДУКТУ

Біопрепарат «Планриз» містить у своєму складі бактерії *Pseudomonas fluorescens*, а також біологічно активні речовини, які продукуються у процесі виробничого культивування.

Принцип дії. Бактерії *Pseudomonas fluorescens*, потрапляючи у ґрунт разом з обробленим насінням, активно заселяють ризосферу (кореневу систему) рослин і, харчуючись кореневими виділеннями, продукують ферменти та антибіотики, які подавляють розвиток корневих гнилей [2]. При обробці вегетуючих рослин мають активність проти дріжджів, грибів, граммпозитивних та грамнегативних бактерій.

Бактерії *Pseudomonas fluorescens* є продуцентами комплексу необхідних рослинам амінокислот, цитохромів та вітамінів, живуть симбіотрофно на поверхні коріння, стимулюючи ріст і розвиток рослин, забезпечуючи прискорення проходження фаз розвитку рослин, збільшення біомаси рослин (у тому числі площу поверхні листя), збільшення виходу продукції, подавляють розвиток збудників грибних та бактеріальних хвороб і захищають рослини від зараження при нанесенні на насіння перед посівом, внесенні у ґрунт та при обприскуванні по листовій поверхні.

Мають здатність до фіксації атмосферного азоту. В холодних кліматичних умовах у ризосфері рослин азотфіксуючі псевдомонади домінують над представниками інших таксономічних груп азотфіксаторів. Перевага псевдомонад виражається у їх холодостійкості, оскільки оптимальна температура для азотфіксації 14-20°C. У той же час для процесу азотфіксації інших асоціативних діазототрофів оптимальною є температура 25°C.

Бактерії *Pseudomonas fluorescens* можуть відігравати суттєву роль як в асоціативних, так і в симбіотичних азотфіксуючих спільнотах, покращуючи, наприклад, утворення бульбочок у бобових при спільному використанні з

					НУХТ БТЕК 04.02.23 КР ПЗ			
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Ракс М.			РОЗДІЛ 1. Характеристика цільового продукту	Літ.	Арк.	Акрушіє
Перевір.		Слободян О.П.					8	93
Реценз.						Кафедра БТМ		
Н. Контр.								
Затверд.		Пирог Т.П.						

деякими штаммами *Rhizobium* та *Bradyrhizobium*.

Також бактерії *Pseudomonas fluorescens* здатні до ефективного розчинення фосфорних сполук за рахунок гідролізу органічних фосфатів під дією фосфатаз та розчинення мінеральних фосфатів за рахунок продукції кислот. Ці властивості мікроорганізмів можна використовувати для поліпшення фосфорного живлення рослин, так як із загальної кількості фосфорних сполук, які знаходяться у ґрунті тільки 5% доступні рослинам.

На зернових, овочевих, ягідних, квіткових культурах біопрепарат «Планриз-біо» ефективний від кореневих гнилей, хвороб листового апарату та стебел рослин (борошниста роса, пероноспороз, септоріоз, іржа, фітофтороз, альтернаріоз, церкоспороз, парша, моніліоз, сіра гниль та інших хвороб).



Рис. 1.1. Товарні форми біопрепарату Планриз [3]

Спосіб застосування та дози. Обробіток насіння препаратом Планриз необхідно проводити за 1-2 дні до посіву, або в день посіву. Насіння зернових обробляють за стандартною технологією напівсухого протруювання з використанням ПС-10, ПСШ-3, "Мобітоксу".

Обприскування рослин овочевих культур, ріпака починають з фази 3-4 справжніх листків, наступні обробітки проводять з інтервалом 7-10 днів. При появі пероноспорозу огірків цей інтервал скорочують до 5-7 днів. Обприскування картоплі проти фітофторозу проводять з інтервалом 7-10 днів.

На інших культурах рекомендовано профілактичне обприскування при появі перших ознак захворювання.

Норми використання. На один гектар виливати не менше 300 л робочого розчину. Обробітки проводити після 18-ої години, у вечірній та нічний час або у похмуру погоду протягом дня, профілактично перед захворюванням або на початку захворювання. Повторні обробітки через 7-10 днів. Сумісний із стимуляторами росту, мікроелементами та деяким пестицидами. Перед використанням обов'язково струсити до однорідної маси.

Переваги:

- Екологічно безпечний для людей, тварин та навколишнього середовища
- Ефективно пригнічує розвиток корневих гнилей та інших фітопатогенів
- Сприяє підвищенню імунітету вегетуючих культур
- Підвищує врожайність
- Стимулятор росту
- Не накопичується у рослинах

Табл 1.1

Спектр дії, норми та способи використання [4]

Культура	Об'єкт дії	Назва хвороби	Норми використання	
			Промислове виробництво	Приватний сектор
Зернові, зернобобові	Насіння	Фузаріозні, гелмінтоспоріозні кореневі гнилі	Обробка насіння 2-3 л/т	20-30 мл/ кг на 100 мл води
Зернові, зернобобові буряки, соняшники	Вегетуючі рослини	Фузаріозні, гелмінтоспоріозні кореневі гнилі, борошниста роса, бура іржа, листкова плямистість, церкоспороз, сіра гниль	Обприскування 2-4 л/га на початку захворювання. Повторно через 7-10 днів	250 мл препарату на 10 л води на 2 сотки
Картопля	Бульби картоплі	Ризоктоніоз, парша, фітофтороз	Передпосадкова обробка бульб	250 мл препарату

			2л/т	на 100 кг бульб картоплі
Картопля, капуста, помідори	Веgetуючі рослини	Ризоктоніоз, фітофтороз, парша	2-4 л/га Повторно через 7-10 днів	250 мл препарату на 10 л води на 2 сотки
Виноград	Веgetуючі рослини	Хвороби: мільдю, оїдіум, сіра гниль	Обприскування 5 л/га, 400 л робочого розчину	500 мл препарату на 10 л води на 2 сотки
Суниця	Веgetуючі рослини	Сіра гниль	Обприскування 4 л/га, 300 л робочого розчину	500 мл препарату на 10 л води на 2 сотки
Огірки (відкритий, закритий грунт)	Веgetуючі рослини	Фузаріозне в'янення, справжня і несправжня борошниста роса	Обприскування 3-5 л/га. Періодично через 7-10 днів	250-500 мл препарату на 10 л води на 2 сотки
Яблуня, груша, кісточкові	Веgetуючі рослини	Моніліоз, парша, гнилі	Обприскування 5 л/га, 400 л робочого розчину	350 мл препарату на 10 л води

Форма випуску. Випускається в рідкому вигляді, фасується в герметичні бутилки об'ємом від 1 до 5 л або в герметичні каністри об'ємом 5, 10, 1000 л.

Заходи безпеки. Біопрепарат не шкідливий для людей, тварин, риб, не накопичується в рослинах та не забруднює навколишнє середовище. При застосуванні необхідно дотримуватись загальноприйнятих заходів безпеки.

Умови та термін зберігання. Препарат зберігають в герметичній тарі в сухому темному місці при температурі +4 °С..+6 °С. Термін зберігання до 3-х місяців з дати виготовлення. Планриз можна поєднувати з корневими та позакорневими підживленнями мікроелементами.

РОЗДІЛ 2. ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТА ХАРАКТЕРИСТИКА БІОЛОГІЧНОГО АГЕНТА

2.1. Обґрунтування вибору біологічного агента та середовища для його культивування

Препарат Планриз, який широко використовується на території країн членів СНД, виробляється на основі бактерій *Pseudomonas fluorescens*. Проте, відомі і інші бактерії роду *Pseudomonas*, які мають схожі антифітопатогенні та ростостимулюючі властивості.

То ж доцільно порівняти використовуваний для одержання препарату Планриз мікроорганізм (*Pseudomonas fluorescens*) з іншими схожими по властивостям мікроорганізмами.

Порівняння буде здійснюватись на основі таких факторів як: ціна поживних середовищ для культивування, концентрація біомаси та тривалість культивування.

					НУХТ БТЕК 04.02.23 КР ПЗ			
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Ракс М.			РОЗДІЛ 2. Обґрунтування вибору та характеристика біологічного агента	Літ.	Арк.	Акрушіє
Перевір.		Слободян О.П.					12	93
Реценз.						Кафедра БТМ		
Н. Контр.								
Затверд.		Пирог Т.П.						

**Порівняльна характеристика бактерій роду *Pseudomonas*, які мають
антифітопатогенні властивості**

Біологічний агент	Склад поживного середовища, г/л	Біомаса, г/л	Тривалість процесу, год	Особливості технологічного процесу	Література
<i>Pseudomonas fluorescens</i> AP-33	М'яса – 15 Калій фосфорнокислий двозаміщений триводний – 0,5 Сульфат магнію семиводний – 0,2 Горох шліфований, оброблений у автоклаві – 250 Бурштинова кислота – 0,05 Лапрол – 5 Дистильована вода – 1 л.	24	20-24	t °C = 28 ± 2 pH ≈ 7,5-7,6 аерація зі швидкістю 250 об/хв	[5]
<i>Pseudomonas sp.</i> B-6798	Середовище М9: Триптон – 10 Дріжджовий екстракт – 5 Na ₂ HPO ₄ – 6 KH ₂ PO ₄ – 3 NH ₄ Cl – 1 NaCl – 0,5 1M MgSO ₄ – 2	45	72	t °C = 28 ± 2 pH ≈ 6.2-7	[6] 15

	1М CaCl ₂ – 0,1 мл 20%-ий р-н глюкози – 10 мл				
<i>Pseudomonas fluorescens</i> 142 NF	Середовище Ф ₁ : Кислотний гідролізат казеїну – 10 Дріжджовий автолізат – 70 Глюкоза – 20 (NH ₄) ₂ SO ₄ – 6 K ₂ HPO ₄ – 12 MgSO ₄ – 0,3 MnSO ₄ – 0,05 Піногасник (СОФЭКСИЛ) – 0,8 мл/л	26	15	T= 28 °C pH=6,8±0,2 аерація – 3 л/хв від 1 до 4 години росту; 6 л/хв до закінчення культивуван ня (15 година)	[7]

Як видно з табл. 2.1 найбільший вихід біомаси маємо при культивуванні *Pseudomonas sp.* В-6798. Проте, необхідно розуміти, що даний вихід біомаси спостерігається при культивуванні організму протягом 72 годин. Очевидно, що в даному випадку ріст *Pseudomonas sp.* В-6798 найповільніший порівняно із двома іншими мікроорганізмами.

Таблиця 2.1.2

**Вартість компонентів поживного середовища для культивування
порівнюваних мікроорганізмів**

Біологічний агент	Концентрація компонентів поживного середовища, г/л	Ціна компонентів поживного середовища, (грн/кг)	Вартість компонента на 1 л середовища, грн	Джерело
<i>Pseudomonas</i>	М'яса – 15	35	0,525	8

<i>fluorescens</i> AP-33	Калій фосфорнокислий двозаміщений триводний – 0,5	99.60	0,05	9
	Сульфат магнію семиводний – 0,2	10	0,002	10
	Горох шліфований, оброблений у автоклаві – 250	7	1,75	11
	Бурштинова кислота – 0,05	210	0,0105	12
	Лапрол – 5	62	0,31	13
	Вартість 1 л середовища – 2,65 грн			
	<i>Pseudomonas</i> <i>sp. B-6798</i>	Триптон – 10	312	3,12
Дріжджовий екстракт – 5		75	0,375	15
Na ₂ HPO ₄ – 6		75	0,45	16
KH ₂ PO ₄ – 3		25	0,075	17
NH ₄ Cl – 1		16,25	0,01625	18
NaCl – 0,5		1,2	0,0006	19
1M MgSO ₄ – 2		1,25	0,0025	20
1M CaCl ₂ – 0,1 мл		3,9	0,0004	21
20%-ий р-н глюкози – 10 мл		125	1,25	22
Вартість 1 л середовища – 5,28 грн				
<i>Pseudomonas</i> <i>fluorescens</i>	Кислотний гідролізат казеїну – 10	200	2	23

142 NF	Дріжджовий автолізат – 70	20	1,4	24
	Глюкоза – 20	25	0,5	25
	(NH ₄) ₂ SO ₄ – 6	2,25	0,0135	26
	K ₂ HPO ₄ – 12	20	0,24	27
	MgSO ₄ – 0,3	6,8	0,002	28
	MnSO ₄ – 0,05	5	0,00025	29
	Піногасник – 0,8 мл/л	260	0,208	30
	Вартість 1 л середовища – 4,36 грн			

В табл. 2.1.2 проведено аналіз цін на компоненти поживного середовища (грн/кг), аналіз вартості компонента на 1 л середовища та вартості одного літра поживного середовища для вирощування порівнюваних біологічних агентів. За результатами аналізу найдешевшим є середовище для вирощування штаму *Pseudomonas fluorescens* AP-33 (2,65 грн). Вартість середовищ для вирощування *Pseudomonas sp.* B-6798 та *Pseudomonas fluorescens* 142 NF – 5,28 і 4,36 грн відповідно.

Таблиця 2.1.3

Умовна вартість 1 л цільового продукту

Біологічний агент	Вартість 1л середовища, грн	Умовна вартість 1 г біомаси, грн	Концентрація біомаси, г/л	Тривалість культивування, год	Вихід біомаси за годину, г/л
<i>Pseudomonas fluorescens</i> AP-33	2,65	0,11	24	24	1
<i>Pseudomonas sp.</i> B-6798	5,38	0,12	45	72	0,625
<i>Pseudomonas fluorescens</i> 142 NF	4,36	0,16	26	29	0,9

Висновок

Зважаючи на те, що умовна вартість 1г біомаси *Pseudomonas fluorescens* AP-33 (0,11 грн) нижча за умовну вартість 1 г біомаси *Pseudomonas sp.* B-6798 та *Pseudomonas fluorescens* 142 NF в 1,1 та в 1,45 рази відповідно, а вихід біомаси *Pseudomonas fluorescens* AP-33 за 1 годину (1 г/л) є найвищим, для подальших розрахунків та досліджень обираємо саме *Pseudomonas fluorescens* AP-33.

2.2. Морфолого-культуральні та фізіолого-біохімічні ознаки *Pseudomonas fluorescens* AP-33

2.2.1. Фізіолого-біохімічні властивості

У представників виду надзвичайно гнучкий метаболізм. Вони можуть жити у воді та ґрунті. Є облігатними аеробами, але деякі штами здатні використовувати нітрати замість кисню в якості кінцевого акцептора в процесі клітинного дихання. Оптимальна температура для росту *P. fluorescens* становить 25-30 °С. Дає позитивні результати в тесті на оксидазу. Також є несахаролітичною бактерією.

Бактерією *P. fluorescens* і іншими подібними псевдомонадами виробляються термостабільні ліпази і протеази. Ці ферменти викликають псування молока, надають йому гіркоту, розкладаючи казеїни і Надалі зумовлюють появу в ньому ниток полісахаридів за рахунок вироблення слизу і коагуляції білків.

P. fluorescens виробляє флороглюцин, флороглюцинкарбонову кислоту і диацетилфлороглюцинол.

У *P. fluorescens* виявлений фермент 4-гідроксиацетофенон-монооксигеназа, який перетворює Piceol в 4-гідроксифенілоцтову кислоту.

Мікроорганізми даного штаму захищають культуру від фітопатогенів і стимулюють ріст рослин. Серед антибіотиків, що продукуються псевдомонадами, виявлені феназин-1-карбонова кислота і похідні флороглюцину (пірролітрін і ін.).

Препарат Планриз на основі живих клітин бактерій *Pseudomonas fluorescens*, штаму AP-33 - це суспензія світло-жовто-коричневого кольору з титром 2 млрд бактеріальних клітин в 1 см³.

Препарат захищає всі органи рослини і, маючи системну дію, діє як стимулятор росту. Встановлено, що він проявляє фунгістатичний ефект, що в основному полягає в придушенні розвитку захворювань на стадії росту міцелію і спороутворення. Тривалість дії - 3-4 тижні. Всі прояви дії біофунгіцидів спостерігаються тільки в певних концентраціях, збільшення їх призводить до різкого зниження ефективності.

Механізм дії. Архідонова кислота і еліситори, що містяться в метаболітах бактеріальних культур біофунгіцидів, підсилюють ростові процеси в рослинах, продуктивність і стійкість до різних несприятливих факторів середовища. Ростостимулюючу дія препарат Планриз на основі живих клітин бактерій *Pseudomonas fluorescens* штаму AP-33 має особливий характер і проявляється в первинному уповільненні зростання площі листової поверхні і подальшому різкому його посиленні. Це свідчить про складну біохімічну взаємодію діючих речовин препарату з природними ауксинами.

2.2.2. Морфолого-культуральні ознаки

Pseudomonas fluorescens - вид грамнегативних рухливих паличкоподібних бактерій з декількома (від 2 до 4) джгутиками [31,32]. Належить до роду псевдомонад. Дослідження нуклеотидної послідовності 16S-рРНК відносять *P. fluorescens* до внутрірідової групи *fluorescens*.

2.2.3. Таксономічний статус біологічного агента

Таблиця 2.2.3.1

Царство:	Бактерії
Тип:	Протеобактерії
Клас:	Гамма-протеобактерії
Порядок:	<i>Pseudomonadales</i>
Родина:	<i>Pseudomonadaceae</i>
Рід:	<i>Pseudomonas</i>
Вид:	<i>Pseudomonas fluorescens</i>

РОЗДІЛ 3. ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ

3.1. Потреба у цільовому продукті

На сьогоднішній день є велика потреба у добривах і засобах боротьби з фітопатогенами промислових культур рослин, які б не шкодили навколишньому середовищу і людям. Такими засобами можуть бути препарати на основі бактеріальної біомаси. Одним із таких препаратів є Планриз на основі штаму бактерій *Pseudomonasfluorescens* AP-33.

Обробка препаратом проводиться перед посадкою або посівом, а також в будь-яку іншу фазу росту рослини. Повторна обробка проводиться через 7-10 днів. Крім антифітопатогенної дії, має також і ростостимулюючі властивості. Preparat не викликає резистентності у фітопатогенів, що дозволяє проводити обробку декілька разів, до отримання позитивного результату. Планриз безпечний для людини і навколишнього середовища та може застосовуватись разом з більшістю хімічних препаратів, крім тих, які містять ртуть [33].

Таблиця 3.1.1

Вихідні дані для розрахунку річної потреби у препараті Планриз для Київської області

Сільсько-господарська культура	Площі посівів, тис. га	Кількість препарату для однієї обробки 1 га поля, л/га	Кількість обробок на рік, шт.	Сумарна кількість препарату для 1 га поля, л/га	Необхідний об'єм препарату для річної обробки поля, тис. л
Пшениця	183,5	3	2	6	1101
Картопля	90,3	2	2	4	361,2

					НУТХТ БТЕК 04.02.23 КР ПЗ			
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Ракс М.			РОЗДІЛ 3. Техніко-економічне обґрунтування	Літ.	Арк.	Акрушів
Перевір.		Слободян О.П.					19	93
Реценз.						Кафедра БТМ		
Н. Контр.								
Затверд.		Пирог Т.П.						

Продовження Табл. 3.1.1

Соняшник	189,8	4	2	8	1518,4
Буряк цукровий	20	3	2	6	120
Загальний об'єм препарату необхідний для річної обробки поля, тис. л			3100,6		

Дані щодо посівних площ на сезон 2020 року в Україні наведено згідно Державної служби статистики <http://ukrstat.org/uk> [34].

3.2. Розрахунок потужності виробництва

Підрахунок будемо проводити лише для певної сільсько-господарської культури та певної агрофірми, яка займається її вирощуванням. Отже, будемо виготовляти препарат на замовлення корпорації «Сварог Вест Груп», яка займається вирощуванням цукрових буряків. На цукрові буряки у корпорації відведено 7,8 тис. га посівних площ [35].

Тож для остаточного підрахунку кількості добрива на рік наведемо таблицю.

Таблиця 3.2.1

Вихідні дані для розрахунку потреби у препараті Планриз для корпорації «Сварог Вест Груп»

Сільсько-господарська культура	Площі посівів, тис. га	Кількість препарату для однієї обробки 1 га поля, л/га	Кількість обробок на рік, шт.	Сумарна кількість препарату для 1 га поля, л/га	Необхідний об'єм препарату для річної обробки поля, м ³
Цукровий буряк	7,8	3	2	6	46,8

Отже, для забезпечення Планризом корпорації «Сварог Вест Груп» потрібно 46,8 м³ препарату на сезон.

На даний момент виробництво препарату Планриз в Україні здійснюється декількома підприємствами, серед яких найбільш відомі – науково-виробничий центр “Черкасибіозахист” (випускається під назвою “Планриз-Біо”), центр

“Біотехніка”, ТОВ “Біотехніка”, ІТІ УААН (випускається під назвою “Планриз-БТ”) та ТОВ «Біо центр» (випускається під назвою Планриз-М). Проте існують й інші препарати до складу яких входять бактерії виду *Pseudomonas fluorescens*. Це такі препарати, як: «Метавайт», «Різофослік», «Біонорма-Pseudomonas», «Філазоніт регенеруючий» і т.д [36].

Розглянемо 4 таких препарати у таблиці 1.1.3.

Таблиця 3.2.2

Порівняльна таблиця бактеріальних добрив з використанням *Pseudomonas fluorescens* AP-33 на ринку України

Назва препарату	Форма	Вміст КУО на дозу	Ціна за 1 л*, грн	Виробник	Література
Планриз-Біо	рідина	$3 \cdot 10^9$ КУО/см ³	84	ТОВ НВЦ «Черкасибіозахист»	[37]
Планриз-М	рідина	$4 \cdot 10^9$ КУО/см ³	58	ТОВ «Біотехніка»	[38]
Планриз-БТ	рідина	$4 \cdot 10^9$ КУО/см ³	70	ТОВ «Біотехніка»	[39]

*Примітка: Ціни на препарати взяті з українських промислових інтернет магазинів, станом на 2020 рік.

Як видно з таблиці 1.1.3 найвигіднішим є препарат Планриз-М ТОВ “Біотехніка”, оскільки його ціна 58 грн/л, а вміст КУО не поступається іншим препаратам ($4 \cdot 10^9$ КУО/см³)

3.3. Розрахунок кількості виробничих циклів для отримання річної потреби в цільовому продукті та геометричного об’єму ферментера

Згідно з ТЕО потреба корпорації «Сварог Вест Груп» в рідкому препараті «Планриз» складає $V_{гп} = 46,8 \text{ м}^3$. Препарат використовують у період вегетації, 2 рази на рік. Термін зберігання препарату - 3 місяці (90 діб). Отже кількість трудоднів буде складати $T_{рд} = 60$ днів.

Кількість препарату за виробничий цикл

$$V_{\text{цк}} = 46,8 \cdot 34 / 24 \cdot 60 = 1,105 \text{ м}^3/\text{цикл}$$

Кількість виробничих циклів для отримання $46,8 \text{ м}^3$ препарату

$$N_{\text{ц}} = 46,8 / 1,105 = 42,35 \approx 43 \text{ цикли}$$

Кількість культуральної рідини за цикл з врахуванням втрат при виділенні готового продукту (втрати при розливі) та можливих нестерильних операцій (К1) :

$$V_{\text{кр}} = K_1 V_{\text{цк}} / (1 - E_{\text{св}}) = 1,1 \cdot 1,105 / (1 - 0,02) = 1,24 \text{ м}^3/\text{цикл}$$

Об'єм ферментера $V_{\text{ф}} = V_{\text{кр}} / K_{\text{эф}} = 1,24 / 0,62 = 2,0 \text{ м}^3$. Такий ферментер з об'ємом $V_{\text{ф}} = 2 \text{ м}^3$ є серед стандартних ферментерів.

$$\text{Уточнений коефіцієнт заповнення } K_{\text{уф}} = 1,24 / 2,0 = 0,62$$

$K_{\text{уф}}$ перебуває в межах від 0,5 по 0,65, отже ферментер обрано вірно.

3.4. Розрахунок кількості стадій підготовки посівного матеріалу

За виробничий цикл отримують $V_{\text{кр}} = 1,24 \text{ м}^3$ культуральної рідини.

Кількість поживного середовища (ПС) та посівного матеріалу (ПМ) в ферментері до культивування становить:

$$V_{\text{ф}} = V_{\text{кр}} / (1 - E_{\text{ф}}) = 1,24 / (1 - 0,02) = 1,265 \text{ м}^3.$$

Кількість поживного середовища в ферментері складе: $V_{\text{пс}} = V_{\text{ф}} / (1 + X_{\text{ф}}) = 1,265 / (1 + 0,1) = 1,15 \text{ м}^3$.

Необхідна кількість посівного матеріалу для засіву ферментера:

$$V_{\text{пмф}} = V_{\text{ф}} - V_{\text{пс}} = 1,265 - 1,15 = 0,115 \text{ м}^3.$$

Визначаємо кількість стадій вирощування посівного матеріалу

Оскільки кількість посівного матеріалу становить $X_{\text{ф}} = X_i = X_{\text{колб}} = 0,1\%$ від кількості поживного середовища визначаємо кількість посівного матеріалу для інших стадій. Приблизна кількість посівного матеріалу для інших стадій становитиме:

$$V_{\text{пмф}} = 115 \text{ л}$$

$$1) V_{\text{ін}} = V_{\text{пмф}} / K_3 = 115 / 0,62 = 185,5 \text{ л} = 0,1855 \text{ м}^3$$

$$V_{\text{пс}} = 185,5 / 1,1 = 168,63 \approx 170 \text{ л}$$

За Додатком 4 обираємо інокулятор геометричним об'ємом $0,25 \text{ м}^3$

$$2) V_{\text{пін1}} = V_{\text{пмф}} X_{\text{ін}} = 115 \cdot 0,1 = 11,5 \text{ л}$$

$$V_{\text{пс1}} = 11,5/1,1 = 10,45 \text{ л}$$

За Додатком 4 обираємо інокулятор геометричним об'ємом $0,02 \text{ м}^3$

$$3) V_{\text{пмк}} = V_{\text{пін1}} X_{\text{ін}} = 11,5 \cdot 0,1 = 1,15 \text{ л}$$

$$V_{\text{пс2}} = 1,15/1,1 = 1,045 \text{ л}$$

Таку кількість інокуляту вирощуємо в колбах на качалках.

$$\text{Об'єм колб } (V_{\text{колб}}) = 750 \text{ мл.}$$

$$\text{Всього колб } (N_{\text{колб}}) = V_{\text{пмк}}/V_{\text{колб}} \cdot K_{\text{Зколб}} = 1,15/(0,75 \cdot 0,2) = 8 \text{ колб.}$$

Отже, підготовка посівного матеріалу включатиме 3 стадії: 1- культивування в колбах на качалках; 2 - вирощування в інокуляторі об'ємом $0,02 \text{ м}^3$; 3 - вирощування в інокуляторі об'ємом $0,25 \text{ м}^3$.

РОЗДІЛ 4. БІОСИНТЕЗ ЦІЛЬОВОГО ПРОДУКТУ

4.1. Шляхи катаболізму ростового субстрату у біологічного агента

Основним джерелом енергії та джерелом вуглецю для *Pseudomonas fluorescens* AP-33 є вуглеводи. У використовуваному поживному середовищі їх джерелом є м'яса, яка містить сахарозу. *Pseudomonas fluorescens* AP-33 гідролізує сахарозу до глюкози за допомогою індукцибельної альфа-глюкозидази. Далі катаболізм глюкози йде гліколітичним шляхом (шлях Ембдена-Мєєргофа-Парнаса).

У процесі гліколізу утворюється глюкозо-6-фосфат, який залучається до пентозофосфатного циклу. Також, тут утворюється такі важливі для подальшого метаболізму сполуки, як 3-фосфогліцерат, фосфоенолпіруват, піруват та ацетил-КоА.

Для *P. fluorescens* AP-33 характерний повний цикл трикарбонових кислот. Піруват окиснюється до ацетил-КоА завдяки ферменту піруватдегідрогеназа. Потім відбувається ряд перетворень з перенесенням відновлювальних еквівалентів на НАД, НАДФ і ФАД, та перетворення сукциніл-КоА на сукцинат ферментом сукцинаттіокіназою, яке супроводжується виділенням молекули АТФ.

4.2. Біотрансформація ростового субстрату у цільовий продукт

Оскільки цільовим продуктом біосинтезу є біомаса, то можна сказати, що катаболізм ростового субстрату та синтез із нього основних компонентів клітини біологічного агента і є біотрансформацією ростового субстрату у цільовий продукт.

					НУХТ БТЕК 04.02.23 КР ПЗ			
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Ракс М.			РОЗДІЛ 4. Біосинтез цільового продукту	Літ.	Арк.	Акрушіє
Перевір.		Слободян О.П.					24	93
Реценз.						Кафедра БТМ		
Н. Контр.								
Затверд.		Пирог Т.П.						



Рис 4.2.1. Гліколіз (шлях Ембдена-Меєргофа-Парнаса)

РОЗДІЛ 5. ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ

5.1. Обґрунтування доферментаційних процесів та виробничого біосинтезу

5.1.1. Обґрунтування способу культивування і типу ферментера

Оскільки оптимальною температурою для культивування аеробного штаму *P. fluorescens* AP-33 є 28 °С [41], а оптимальне рН – 7,5 ± 0,1, то є ризик контамінації сторонніми мезофільними і нейтрофільними мікроорганізмами. Це зумовлює необхідність забезпечення асептичних умов під час біосинтезу, чого неможливо досягти при поверхневому (твердо-фазному) культивуванні. Асептичні умови забезпечуються стерилізацією обладнання і комунікацій, поживного середовища, аераційного повітря, піногасників. Для запобігання контамінації в ферментері створюється надлишковий тиск.

У зв'язку з викладеним вище, культивування *P. fluorescens* AP-33 для накопичення біомаси здійснюється глибинним способом.

Досліджуваний організм є облигатним аеробом, тому культивування повинне проводитися з постійною аерацією. Оптимальним режимом аерації на початку культивування (1-4 години) є 3 л/хв. У кінці культивування доцільно збільшити аерацію до 6 л/хв (до 15-ої години).

Об'єм ферментера при культивуванні мікроорганізму для одержання бактеріальних добрив та засобів для захисту рослин – 2 м³.

5.1.2. Обґрунтування вибору стадії підготовки повітря

Оскільки бактерії *Pseudomonas fluorescens* є облигатними аеробами для їх культивування необхідно підготувати стерильне аераційне повітря.

Для стерилізації повітря в боксах та лабораторіях, де працюють з посівною культурою та інокулятом, використовують УФ-лампи (опромінення ультрафіолетовими променями).

					НУХТ БТЕК 04.02.23 КР ПЗ			
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Ракс М.			РОЗДІЛ 5. Обґрунтування вибоу технологічної схеми	Літ.	Арк.	Акрушіє
Перевір.		Слободян О.П.					26	93
Реценз.						Кафедра БТМ		
Н. Контр.								
Затверд.		Пирог Т.П.						

Для стерилізації повітря в боксах та лабораторіях, де працюють з посівною культурою та інокулятом, використовують УФ-лампи (опромінення ультрафіолетовими променями).

Повітря для вирощування посівного матеріалу та виробничого культивування стерилізують за допомогою фільтрів грубої очистки (головні фільтри) та індивідуальних фільтрів (фільтрів високої ефективності). Індивідуальні фільтри встановлюються безпосередньо перед кожним ферментером. Головні фільтри заповнюються набивним волокном і встановлюються в цеху ферментації на головному повітряному колекторі стиснутого аераційного повітря. На цих фільтрах видаляється близько 98 % мікроорганізмів-контамінантів. Використання ж індивідуальних фільтрів, які заповнюються надтонкими мембранами чи волокнами, дає змогу отримати повітря зі ступенем очистки 99,9999% [43].

Забір атмосферного повітря здійснюється турбокомпресором через забірну шахту на висоті двох метрів над рівнем даху будівлі.

5.1.3. Вибір мийних та дезінфекційних засобів

При культивуванні *Pseudomonas fluorescens* залишки поживного середовища та культуральної рідини обов'язково залишаються на стінках обладнання. Тому, для видалення забруднень необхідно використовувати мийні засоби.

Приготовані мийні та дезінфекційні розчини потрібно зберігати у попередньо очищеній тарі та суворо дотримуватись строків зберігання. Дезінфекційні розчини мають відповідати таким вимогам:

- бактерицидна дія;
- хімічна стійкість;
- не повинні завдавати шкоди поверхням обладнання.

Мийні та дезінфекційні засоби, що використовуються в зонах класів А та В перед використанням мають бути стерильними.

Мийні засоби повинні бути дешевими та ефективними, це головні критерії за якими обирають мийні речовини.

Для підготовки обладнання, а саме для миття фільтрів, комунікацій та біореакторів різного типу і ємностей доцільно застосовувати розчин каустичної соди. Він є дешевим та ефективно відмиває забруднення різного типу. Також, каустична сода легко розчиняється у різних пропорціях [44].

На ринку України ціна каустичної соди коливається в діапазоні від 5 до 7 грн/кг. Це робить її однією з найдешевших миючих засобів.

Проте, вона є токсичною і при потраплянні на шкіру у персоналу можуть з'явитися опіки та подразнення. Тому при роботі використовують захисні засоби: захисні окуляри, гумові рукавички, прорезинений хімічностійкий одяг [44].

Також задля дотримання санітарно-гігієнічного стану виробництва необхідно проводити генеральне та щоденне прибирання. Для щоденного та генерального прибирань необхідно застосовувати універсальний мийний засіб який дозволить обробляти і мити різні поверхні на підприємстві з високою ефективністю. На ринку України представлений широкий вибір мийних засобів для таких цілей.

Найпоширенішими засобами для щоденного та генерального прибирання біотехнологічних, хімічних та харчових підприємств в Україні є розчин перекису водню (3%, 6%) та розчин «Гембар» (5%).

Отже, для миття обладнання та виробничих приміщень застосовують розчин каустичної соди, через низьку вартість та ефективність миття. Для щоденного та генерального прибирань використовують розчин перекису водню та розчин мийного засобу “Гембар”. Вибір миючих та дезінфікуючих засобів заснований на порівнянні цін та ефективності речовин.

5.1.4. Особливості підготовки та стерилізації поживного середовища

Максимальна концентрація клітин (1.0×10^{11} КУО/см³ за 24 год) *Pseudomonas fluorescens* AP-33 досягається при рості продуцента на середовищі наступного складу (г/л):

- Меляса - 15
- Калій фосфорнокислий двузаміщений трьохводний ($K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$) - 0,5
- Сульфат магнію семиводний ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$) - 0,2
- Горох шліфований, оброблений у автоклаві - 250
- Янтарна кислота ($C_4H_6O_4$) - 0,05
- Лапрол – 5

Культивування відбувається протягом 24 годин при $t = 28$ °С та $pH = 7,6$.

Оскільки у середовищі для культивування *Pseudomonas fluorescens* AP-33 присутня меляса, є необхідною стадія підготовки та стерилізація піногасника. Проте піногасник (в даному випадку - лапрол) буде готуватись і стерилізуватись як компонент поживного середовища, разом із іншими компонентами.

Згідно розрахунків, виробничий біосинтез здійснюється у ферментері об'ємом 2 м³, що містить 1,15 м³ поживного середовища. Одержання інокуляту відбувається у 3 стадії: 1- культивування в колбах на качалках; 2 - вирощування в інокуляторі об'ємом 0,02 м³; 3 - вирощування в інокуляторі об'ємом 0,25 м³.

1. Приготування та стерилізація поживного середовища для виробничого культивування в інокуляторі геометричним об'ємом 2 м³

За виробничий цикл отримують $V_{кр} = 1,24$ м³ культуральної рідини.

Кількість поживного середовища (ПС) та посівного матеріалу (ПМ) в ферментері до культивування становить:

$$V_{ф} = V_{кр} / (1 - E_{ф}) = 1,24 / (1 - 0,02) = 1,265 \text{ м}^3.$$

Кількість поживного середовища в ферментері складе:

$$V_{пс} = V_{ф} / (1 + X_{ф}) = 1,265 / (1 + 0,1) = 1,15 \text{ м}^3.$$

Необхідна кількість посівного матеріалу для засіву ферментера:

$$V_{\text{пмф}} = V_{\text{ф}} - V_{\text{пс}} = 1,265 - 1,15 = 0,115 \text{ м}^3.$$

Згідно з прийнятим складом загальні витрати компонентів на визначений об'єм поживного середовища $V_{\text{псін}}$ становлять, кг:

$$G_{\text{заг}} = V_{\text{псін}} C_{\Sigma} = 1,15 \cdot 270,75 = 311,36 \text{ кг, в тому числі:}$$

$$\text{Меляса: } G_1 = G_{\text{заг}} (C_1/C_{\Sigma}) = 311,36 (15/270,75) = 17,25$$

$$\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O: } G_2 = G_{\text{заг}} (C_1/C_{\Sigma}) = 311,36 (0,5/270,75) = 0,575$$

$$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O: } G_3 = G_{\text{заг}} (C_1/C_{\Sigma}) = 311,36 (0,2/270,75) = 0,23$$

$$\text{Горох шліфований: } G_4 = G_{\text{заг}} (C_1/C_{\Sigma}) = 311,36 (250/270,75) = 287,5$$

$$\text{Янтарна к-та: } G_5 = G_{\text{заг}} (C_1/C_{\Sigma}) = 311,36 (0,05/270,75) = 0,0575$$

$$\text{Лапрол: } G_6 = G_{\text{заг}} (C_1/C_{\Sigma}) = 311,36 (5/270,75) = 5,75$$

Розрахунок кількості води для приготування поживного середовища для виробничого біосинтезу.

Кількість води визначають за такою формулою $V_{\text{в}} = V_{\text{пс}} - G_{\text{заг}} \cdot (V_{\text{пс}}/K_{\text{кон}})$, де $K_{\text{кон}}$ – частка конденсату у загальній кількості води, що йде на приготування середовища, а $V_{\text{пс}}/K_{\text{кон}}$ – загальна кількість утвореного конденсату.

$$K_{\text{кон}} = 0,1$$

$$V_{\text{в}} = 1150 - 311,36 - (1150 \cdot 0,1) = 723,64 \text{ л.}$$

Для спрощення розрахунків прийmemo, що густина компонентів приблизно дорівнює густині води, тобто 1 л = 1 кг. Розраховуємо кількість води для розчинення покомпонентно, л.

$$\text{Меляса} - V_{1\text{в}} = V_{\text{в}} (C_1/C_{\Sigma}) = 723,64 (15/270,75) = 40$$

$$\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O} - V_{2\text{в}} = V_{\text{в}} (C_1/C_{\Sigma}) = 723,64 (0,5/270,75) = 1,34$$

$$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} - V_{3\text{в}} = V_{\text{в}} (C_1/C_{\Sigma}) = 723,64 (0,2/270,75) = 0,535$$

$$\text{Горох шліфований} - V_{4\text{в}} = V_{\text{в}} (C_1/C_{\Sigma}) = 723,64 (250/270,75) = 668,18$$

$$\text{Янтарна к-та} - V_{5\text{в}} = V_{\text{в}} (C_1/C_{\Sigma}) = 723,64 (0,05/270,75) = 0,134$$

$$\text{Лапрол} - V_{6\text{в}} = V_{\text{в}} (C_1/C_{\Sigma}) = 723,64 (5/270,75) = 13,4$$

Формування композицій:

Таблиця 5.1.4.1

Склад композицій і розрахунки компонентів для поживного середовища для виробничого культивування в ферментері геометричним об'ємом 2 м³

Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	Кількість для приготування 1,15 м ³ поживного середовища, кг (л)	Композиція	Об'єм композиції, V, л
Меяса	15	17,25	А	1012,93
Горох шліфований	250	287,5		
Вода		708,18		
K ₂ HPO ₄ ·3H ₂ O	0,5	0,575	Б	21,065
Лапрол	5	5,75		
Вода		14,74		
MgSO ₄ ·3H ₂ O	0,2	0,23	В	1,475
Янтарна к-та	0,05	0,0575		
Вода		0,67		
Конденсат		114,53		114,53
Разом		1150		1150

*Стерилізація композицій поживного середовища для композицій А і Б буде проходити у реакторах змішувачах об'ємами 1300 л та 35 л відповідно [45]. Стерилізація композиції В буде проходити в автоклаві зважаючи на невеликий об'єм.

2. Приготування та стерилізація поживного середовища для вирощування посівного матеріалу в інокуляторі геометричним об'ємом 0,25 м³

Кількість поживного середовища та посівного матеріалу в інокуляторі становить:

$$V_{ін} = V_{пмф}/K_3 = 115/0,62 = 185,5 \text{ л} = 0,1855 \text{ м}^3.$$

Кількість поживного середовища в посівному апараті становить:

$$V_{пс} = 185,5/1,1 = 168,63 \approx 170 \text{ л}$$

Необхідна кількість посівного матеріалу для засіву посівного апарата:

$$V_{пмін} = V_{ін} - V_{псін} = 185,5 - 170 = 15,5 \text{ л.}$$

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

$$G_{\text{заг}} = V_{\text{псін}} C_{\Sigma} = 0,17 \cdot 270,75 = 46,028 \text{ кг, в тому числі:}$$

$$\text{М'яса} - G_1 = G_{\text{заг}} (C_1/C_{\Sigma}) = 46,028 (15/270,75) = 2,55$$

$$\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O} - G_2 = G_{\text{заг}} (C_1/C_{\Sigma}) = 46,028 (0,5/270,75) = 0,085$$

$$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} - G_3 = G_{\text{заг}} (C_1/C_{\Sigma}) = 46,028 (0,2/270,75) = 0,034$$

$$\text{Горох шліфований} - G_4 = G_{\text{заг}} (C_1/C_{\Sigma}) = 46,028 (250/270,75) = 42,5$$

$$\text{Янтарна к-та} - G_5 = G_{\text{заг}} (C_1/C_{\Sigma}) = 46,028 (0,05/270,75) = 0,0085$$

$$\text{Лапрол} - G_6 = G_{\text{заг}} (C_1/C_{\Sigma}) = 46,028 (5/270,75) = 0,85$$

Стерилізація компонентів в композиції А буде здійснюватись в реакторі змішувачі об'ємом 250 л, приймаємо $K_{\text{кон}} = 0,1$, тоді кількість конденсату становитиме при стерилізації композиції А:

$$V_{\text{пак}} = V_{\text{комп.А}} \cdot K_{\text{кон}} = 45 \cdot 0,1 = 4,5 \text{ л.}$$

Загальна кількість води, необхідної для розбавлення компонентів поживного середовища, буде становити: $V_{\text{в}} = V_{\text{псп}} - V_{\text{пак}} - G_{\text{заг}} = 170 - 4,5 - 46,028 = 120 \text{ л.}$

Розраховуємо кількість води для розчинення покомпонентно, л.

$$\text{М'яса} - V_{1\text{в}} = V_{\text{в}} (C_1/C_{\Sigma}) = 120 (15/270,75) = 6,64$$

$$\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O} - V_{2\text{в}} = V_{\text{в}} (C_1/C_{\Sigma}) = 120 (0,5/270,75) = 0,22$$

$$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} - V_{3\text{в}} = V_{\text{в}} (C_1/C_{\Sigma}) = 120 (0,2/270,75) = 0,09$$

$$\text{Горох шліфований} - V_{4\text{в}} = V_{\text{в}} (C_1/C_{\Sigma}) = 120 (250/270,75) = 111$$

$$\text{Янтарна к-та} - V_{5\text{в}} = V_{\text{в}} (C_1/C_{\Sigma}) = 120 (0,05/270,75) = 0,022$$

$$\text{Лапрол} - V_{6\text{в}} = V_{\text{в}} (C_1/C_{\Sigma}) = 120 (5/270,75) = 2,2$$

Формування композицій:

Таблиця 5.1.4.2

Склад композицій і розрахунки компонентів для поживного середовища для вирощування посівного матеріалу в інокуляторі геометричним об'ємом 0,25 м³

Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	Кількість для приготування 170 л	Композиція	Об'єм композиції, V, л

		ПОЖИВНОГО середовища, кг (л)		
Меляса	15	2,55	А	162,7
Горох шліфований	250	42,5		
Вода		117,64		
$K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$	0,5	0,085	Б	3,355
Лапрол	5	0,85		
Вода		2,42		
$MgSO_4 \cdot 3H_2O$	0,2	0,034	В	0,1545
Янтарна к-та	0,05	0,0085		
Вода		0,112		
Конденсат		17		4,5
Разом		170		170

*Стерилізація композиції А буде проходити у реакторі-змішувачі об'ємом 250 л.

Зважаючи на невеликі об'єми композицій Б і В їх стерилізація буде проходити в автоклаві.

3. Приготування та стерилізація поживного середовища для вирощування посівного матеріалу в інокуляторі геометричним об'ємом 0,02 м³

Кількість поживного середовища та посівного матеріалу в інокуляторі становить:

$$V_{пін1} = V_{пмф} \cdot X_{ін} = 115 \cdot 0,1 = 11,5 \text{ л.}$$

Кількість поживного середовища в посівному апараті становить:

$$V_{пс1} = 11,5 / 1,1 = 10,45 \text{ л.}$$

Необхідна кількість посівного матеріалу для засіву посівного апарата:

$$V_{пмін} = V_{ін} - V_{псін} = 11,5 - 10,45 = 1,05 \text{ л.}$$

Згідно з прийнятим складом загальні витрати компонентів на визначений об'єм поживного середовища $V_{псін}$ становлять:

$$G_{заг} = V_{псін} \cdot C_{\Sigma} = 10,45 \cdot 270,75 = 2830 \text{ г, в тому числі:}$$

$$\text{Меляса} - G1 = G_{\text{заг}} (C1/C_{\Sigma}) = 2830 (15/270,75) = 156,78$$

$$\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O} - G2 = G_{\text{заг}} (C1/C_{\Sigma}) = 2830 (0,5/270,75) = 5$$

$$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} - G3 = G_{\text{заг}} (C1/C_{\Sigma}) = 2830 (0,2/270,75) = 2$$

$$\text{Горох шліфований} - G4 = G_{\text{заг}} (C1/C_{\Sigma}) = 2830 (250/270,75) = 2614$$

$$\text{Янтарна к-та} - G5 = G_{\text{заг}} (C1/C_{\Sigma}) = 2830 (0,05/270,75) = 0,5$$

$$\text{Лапрол} - G6 = G_{\text{заг}} (C1/C_{\Sigma}) = 2830 (5/270,75) = 52$$

Загальна кількість води, необхідної для розбавлення компонентів поживного середовища, буде становити: $V_{\text{в}} = V_{\text{псп}} - G_{\text{заг}} = 10,45 - 2,83 = 7,62$ л.

Розраховуємо кількість води для розчинення покомпонентно, л:

$$\text{Меляса} - V1_{\text{в}} = V_{\text{в}} (C1/C_{\Sigma}) = 7,62 (15/270,75) = 0,422 = 422 \text{ мл}$$

$$\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O} - V2_{\text{в}} = V_{\text{в}} (C1/C_{\Sigma}) = 7,62 (0,5/270,75) = 0,014 = 14 \text{ мл}$$

$$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} - V3_{\text{в}} = V_{\text{в}} (C1/C_{\Sigma}) = 7,62 (0,2/270,75) = 0,006 = 6 \text{ мл}$$

$$\text{Горох шліфований} - V4_{\text{в}} = V_{\text{в}} (C1/C_{\Sigma}) = 7,62 (250/270,75) = 7 = 7000 \text{ мл}$$

$$\text{Янтарна к-та} - V5_{\text{в}} = V_{\text{в}} (C1/C_{\Sigma}) = 7,62 (0,05/270,75) = 0,002 = 2 \text{ мл}$$

$$\text{Лапрол} - V6_{\text{в}} = V_{\text{в}} (C1/C_{\Sigma}) = 7,62 (5/270,75) = 0,14 = 140 \text{ мл.}$$

Формування композицій:

Таблиця 5.1.4.3

Склад композицій і розрахунки компонентів для поживного середовища для вирощування посівного матеріалу в інокуляторі геометричним об'ємом 0,02 м³

Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	Кількість для приготування 10,45 л поживного середовища, г (мл)	Композиція	Об'єм композиції, V, л
Меляса	15	156,78	А	10,2
Горох шліфований	250	2614		
Вода		7422		
K ₂ HPO ₄ ·3H ₂ O	0,5	5	Б	0,211

Лапрол	5	52		
Вода		154		
MgSO ₄ ·3H ₂ O	0,2	2	В	0,0105
Янтарна к-та	0,05	0,5		
Вода		8		
Разом		10,45		10,45

*Стерилізація композиції А буде проходити у реакторі-змішувачі об'ємом 20 л.

Композиції Б і В стерилізуються в автоклаві.

4. Приготування та стерилізація поживного середовища для вирощування в колбах на качалці

Кількість поживного середовища та посівного матеріалу в колбах становить:

$$V_{\text{пмк}} = V_{\text{пін1}} \cdot X_{\text{ін}} = 11,5 \cdot 0,1 = 1,15 \text{ л.}$$

Кількість поживного середовища в колбах становить:

$$V_{\text{пс2}} = 1,15/1,1 = 1,045 \text{ л.}$$

Необхідна кількість посівного матеріалу для засіву колб, л:

$$V_{\text{пмк}} = V_{\text{псм}} - V_{\text{пск}} = 1,15 - 1,045 = 0,105 \text{ л} = 105 \text{ мл.}$$

Згідно з прийнятим складом загальні витрати компонентів на визначений об'єм поживного середовища $V_{\text{пс}}$ становлять:

$$G_{\text{заг}} = V_{\text{псін}} \cdot C_{\Sigma} = 1,045 \cdot 270,75 = 283 \text{ г в тому числі:}$$

$$\text{Меяса} - G_1 = G_{\text{заг}} \cdot (C_1/C_{\Sigma}) = 283 \cdot (15/270,75) = 15,68$$

$$\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O} - G_2 = G_{\text{заг}} \cdot (C_1/C_{\Sigma}) = 283 \cdot (0,5/270,75) = 0,5$$

$$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} - G_3 = G_{\text{заг}} \cdot (C_1/C_{\Sigma}) = 283 \cdot (0,2/270,75) = 0,2$$

$$\text{Горох шліфований} - G_4 = G_{\text{заг}} \cdot (C_1/C_{\Sigma}) = 283 \cdot (250/270,75) = 262$$

$$\text{Янтарна к-та} - G_5 = G_{\text{заг}} \cdot (C_1/C_{\Sigma}) = 283 \cdot (0,05/270,75) = 0,05$$

$$\text{Лапрол} - G_6 = G_{\text{заг}} \cdot (C_1/C_{\Sigma}) = 283 \cdot (5/270,75) = 5,2$$

Враховуючи малу кількість компонентів, їх стерилізація проводиться в колбах в автоклаві, при цьому конденсат не утворюється.

Загальна кількість води, необхідної для розбавлення компонентів поживного середовища, буде: $V_B = V_{\text{пск-Гзаг}} = 1045 - 283 = 762$ мл

Розрахуємо кількість води для розчинення покомпонентно, мл:

$$\text{Меляса} - V_{1B} = V_B (C_1/C_{\Sigma}) = 762 (15/270,75) = 42,2$$

$$\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O} - V_{2B} = V_B (C_1/C_{\Sigma}) = 762 (0,5/270,75) = 1,4$$

$$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} - V_{3B} = V_B (C_1/C_{\Sigma}) = 762 (0,2/270,75) = 0,56$$

$$\text{Горох шліфований} - V_{4B} = V_B (C_1/C_{\Sigma}) = 762 (250/270,75) = 703,6$$

$$\text{Янтарна к-та} - V_{5B} = V_B (C_1/C_{\Sigma}) = 762 (0,05/270,75) = 0,14$$

$$\text{Лапрол} - V_{6B} = V_B (C_1/C_{\Sigma}) = 762 (5/270,75) = 14$$

Формування композицій:

Таблиця 5.1.4.4

Склад композицій і розрахунки компонентів для поживного середовища для культивування інокуляту в колбах на качалці

Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	Кількість для приготування 1,045 л поживного середовища, г (мл)	Композиція	Об'єм композиції, V, мл
Меляса	15	15,68	А	1023,48
Горох шліфований	250	262		
Вода		745,8		
K ₂ HPO ₄ ·3H ₂ O	0,5	0,5	Б	21,1
Лапрол	5	5,2		
Вода		15,4		
MgSO ₄ ·3H ₂ O	0,2	0,2	В	0,95
Янтарна к-та	0,05	0,05		
Вода		0,7		
Разом		1045		1045

*Усі компоненти композиції стерилізуються у лабораторному посуді, в атоклаві з вертикальним завантаженням Panasonic (SANYO) MLS-3781L, об'ємом 10 л [46]

5.2. Обґрунтування стадій виділення та очищення цільового продукту

Цільовим продуктом виробництва препарату Планриз є біомаса бактерій *Pseudomonas fluorescens* AP-33. Виділення і очищення цільового продукту включає такі етапи:

- 1) Відділення біомаси;
- 2) Змішування біомаси із захисним середовищем;
- 3) Ліофільне сушіння біомаси.

Процес виділення цільового продукту, отриманого в результаті життєдіяльності біооб'єкту – це складний і багатостадійний процес [47].

Найбільш складно виділення продукту, що накопичується в клітинах продуцента. Для цього клітини необхідно відокремити від культуральної рідини, зруйнувати (дезінтеграція) і далі цільовий продукт очистити від маси компонентів зруйнованих клітин. Виділення цільового продукту полегшується, в тому випадку, якщо він знаходиться в культуральній рідині. Тому в даний час прагнуть отримати методами генної інженерії промислові штами мікроорганізмів, які секретують цільовий продукт в культуральну рідину.

Після ферментації культуральна рідина являється гетерогенним середовищем. Вона містить: тверду фазу (біомасу продуцента, тверді нерозчинні залишки субстрату), рідку фазу (вода, розчинне живильне середовище, піногасники, кінцевий продукт) і газову фазу, яка може бути розчинною і нерозчинною (кисень, азот, вуглекислий газ, NH_3 , SO_2).

Водна фаза культуральної рідини включає велику кількість органічних і неорганічних речовин, колоїдних фракцій білків, сухий залишок культуральної рідини – до 17% і більше; вміст біомаси в культуральній рідині досягає 8-10%. Концентрація цільового продукту найчастіше не перевищує 1,5%, що становить менше 10% сухого залишку.

При виборі метода виділення і очистки цільового продукту необхідно враховувати наступні фактори [48]:

- 1) Властивості культуральної рідини (в'язкість, густина, рН)
- 2) Властивості продукту, що виділяється (термолабільність, реакційна здатність)
- 3) Вимоги до кінцевої форми продуктів (концентрація, ступінь чистоти)
- 4) Техніко-економічні показники (ціна) Для відділення зважених біологічних частинок від культуральної рідини використовуються різні фізико-хімічні властивості:

- ✓ щільність часток;
- ✓ розмір часток;
- ✓ поверхневі властивості частинок.

Для відомості: розміри мікроорганізмів наступні: віруси - трохи більше 10 нм, бактерії – 0,3-1,0 мкм (т.е.300-1000 нм), дріжджі – 3-5 мкм, міцелій грибів і еритроцити – до 10 мкм.

5.2.1. Обґрунтування способу відділення біомаси з культуральної рідини

Першим етапом на шляху виділення і очищення цільового продукту є розділення вмісту біореактора на культуральну рідину і біомасу клітин. Даний процес носить назву сепарація. Для більш ефективного відділення біомаси клітин і стабілізації продуктів метаболізму біооб'єкту сепарації передуює спеціальна обробка вмісту біореактора – зміна значення рН, нагрівання, додавання коагулянтів або флокулянтів. До методів сепарації відносять седиментацію, фільтрування, центрифугування і флотацію [49].

Осадження (седиментація) – поділ під дією гравітаційних сил або за рахунок агрегації, тобто збирання в більші частки. Седиментацію використовують як методу розділення, якщо діаметр осадження частинок більше трьох мікрометрів, продукти досить стабільні (тривалість процесу не робить істотного впливу на інактивацію). Швидкість осадження частинок дуже незначна (10^{-6} і 10^{-7} м/с). Для прискорення процесу додають спеціальні речовини коагулянти (казеїн, желатин), що сприяють

агрегації і осадження частинок. Продуктивність процесу осадження (y) м³ /с залежить від швидкості і площі.

Флотація – захоплення біомаси мікроорганізмів бульбашками піни і виділення її з пінної фракції. Поверхневі властивості частинок використовуються в процесі флотації. За основу в цьому методі приймається не розмір, а здатність клітин утримуватися бульбашками повітря; орієнтовний діапазон розмірів частинок, що флотуються, варіює від 1 до 200 мкм.

Флотатори різних конструкцій зціджують, відкачують або зіскрібають піну, що складається з бульбашок газу з прилиплими до них клітинами. Підвищення ефективності відбору біомаси у вигляді концентрованої суспензії досягається спінуванням рідини з наступним відділенням її верхнього шару. До переваг методу відносяться економічність, висока продуктивність, можливість застосування в умовах безперервного процесу.

Сепарування, центрифугування – поділ під дією відцентрових сил. Найбільш часто використовується для відділення дріжджів або бактерій у виробництві кормової біомаси. Центрифугування застосовується при щільності часток від 400 до 900 нм; ультрацентрифугування – від 10 нм до 1 мкм. Центрифугування використовують для виділення вірусів, клітинних органел, високомолекулярних сполук.

Даний спосіб вимагає більш дорогого устаткування, ніж фільтрування, тому він застосовується, якщо:

суспензія фільтрується занадто повільно;

виникає необхідність максимального звільнення культуральної рідини від частинок, що в ній містяться;

потрібно забезпечити безперервний процес сепарації, коли фільтри розраховані на періодичне дію.

Фільтрація – пропускання суспензії через фільтруючий матеріал, під дією різниці тисків рідина проходить через пори і збирається у вигляді фільтрату, а тверді частинки – біомаса, на фільтруючій мембрані. Такий спосіб застосовують у виробництві антибіотиків, особливо в тих випадках, коли мікроорганізм-продуцент

має міцеліальних характер. Фільтрація через тканинні фільтри проводиться для частинок розміром від 10 мкм до 1 мм.

Мікрофільтрація, ультрафільтрація – пропускання суспензії через мембрани з дуже малим розміром пор, що забезпечує утримання клітин мікроорганізмів на мембрані та отримання розчину, вільного від зважених клітин. Ультрафільтрація затримує вже не тільки клітини, а й великі молекули розчинених речовин. Мікрофільтрація – для частинок розміром від 200 нм до 10 мкм; ультрафільтрація дозволяє відокремлювати частинки розміром від 10 нм до 5 мкм.

Недоліком фільтрування є налипання клітин на фільтри, шар яких знижує швидкість потоку рідини в процесі фільтрування.

Для фільтрів безперервної дії передбачаються системи автоматичного очищення від біомаси, що забиває пори. Вона може здуватися з поверхні фільтрів стисненим повітрям або віддалятися спеціальними "ножами".

Існують також фільтри для багаторазового або одноразового періодичного використання. Наприклад, мембранні (зокрема, тефлонові) фільтри, що дозволяють фільтрувати дуже розбавлені клітинні суспензії. Однак проблемою їх використання є швидка закупорка пір клітинами, білками і іншими колоїдними частинками.

В нашому випадку кінцевим продуктом є біомаса бактерій *Pseudomonas fluorescens* AP-33. Якби кінцевим продуктом була біомаса дріжджів або грибів доцільно було б використовувати флотацію, проте у нашому випадку краще обрати метод центрифугування.

Центрифугування – процес зневоднення і розділення суспензій на рідку і тверду фази під дією відцентрових сил. Машини для здійснення таких операцій називаються центрифугами, які підрозділяються на фільтруючі, осаджувальні і комбіновані (осаджувально-фільтруючі).

В промислових установках розділення під дією відцентрових сил застосовують для розділення часточок розміром від 0,5 мкм до 25 мм. При розділенні суспензії у фільтруючих центрифугах в роторі під дією відцентрових сил відбувається фільтрація рідини через фільтрувальну тканину або через металеву сітку з одночасним затриманням твердої фази; рідка фаза проходить через сито і потім

через отвори в роторі викидається в кожух центрифуги, а осад відвантажується або під час обертання ротору, або після його зупинки.

Переваги:

- менші втрати біомаси порівняно з фільтруванням та флотацією;
- можливість автоматизувати процес;
- високий фактор розділення;
- розвинена поверхня осадження;
- високий ступінь розділення високодисперсних систем.

5.2.2. Обґрунтування способу сушіння біомаси

Сублімаційне сушіння. У промисловості широкого розповсюдження для отримання сухих мікробних біомас та БАДів отримали сублімаційні сушарки. При сублімаційному сушінні зневоднення продукту відбувається в процесі його заморозки в умовах розрядженої атмосфери. При цьому видалення вологи із замороженого продукту відбувається при низьких температурах [50].

Такий спосіб зневоднення має **ряд переваг:**

- сушка термолабільних препаратів;
- утворення розвиненої поверхні сухого продукту.

і ряд недоліків:

- втрата значної кількості тепла;
- висока собівартість отримання одиниці продукту;
- ймовірне псування продукту при розморожуванні;
- дороге устаткування для проведення процесу.

Розпилювальна сушка. Альтернативним методом зневоднення є розпилювальна сушка, що проводиться в струмі гарячого сушильного агента, в результаті тонкого диспергування утворюється розвинена поверхня контакту, що сприяє короткочасному знаходженні продукту в контакті з гарячим повітрям. Розпилювальну сушку не використовують як спосіб зневоднення речовин, що містять живі мікроорганізми.

Переваги розпилювальної сушки:

- можливість висушування безпосередньо з розчину;
- розвинена поверхня диспергування крапель;
- інтенсивний тепло- і масобмін;
- короткочасність сушки в закрученому потоці теплоагентом;
- максимальна температура частинок в зоні високих температур не перевищує температури мокрого термометра;
- можливість сушіння термолабільних продуктів.

Недоліки розпилювальної сушки:

- зниження життєздатності бактерій;
- велику питому витрату сушильного агента.



Рис. 5.2.2.1. Розпилювальна сушарка APV ANHYDRO H3795

Оскільки для виробництва сільсько-господарського добрива втрати в біомасі в розпилювальній сушарці є припустимими, а сублімаційна сушарка – досить дороге устаткування, для сушіння біомаси було обрано саме розпилювальну сушарку.

5.2.3. Підбір технологічного обладнання для стадій виділення та очищення з врахуванням матеріальних потоків по стадіях

Таблиця 4.2.3.1

№ п/п	Назва стадії (операції)	Матеріальні потоки на стадії	Кількість по стадіях			Необхідне обладнання
			Надійшло	Втрати	Вийшло	
ТП 6. Зберігання культуральної рідини						
1	ТП 6.1 Зберігання культуральної рідини	КР	1,24 м ³ (1240 л)	-	1,24 м ³ (1240 л)	Збірник КР 2 м ³
ТП 7. Відділення біомаси						
2	ТП 7.1 Центрифугування культуральної рідини	Біомаса	29,76 кг (1,24×24)- АСБ, з урахуванням 90% вологості 297,6 кг	5 % 14,88	282,72 кг	Центрифуга продуктивністю 1 т/год (розрахунок приблизно на 17 хв роботи)
		Фугат	942,4 л	-	942,4 л	Збірник фугату об'ємом 1 м ³
ТП 8. Сушіння біомаси у розпилювальній сушарці						

4	ТП 8.1 Сушка біомаси у розпилювальній сушарці	Біомаса	282,72 кг	5 % 14,136	268,6 кг	Розпилювальна сушарка APV ANHYDRO H3795, Потужність по випаровуванню вологи – 9,3 кг/год
ПМВ 9. Пакування, маркування, відвантаження						
5	ПМВ 9.1 Фасування, пакування, маркування висушеної біомаси у пакети по 5 кг	Висушена біомаса клітин	268,6 кг	1 % 2,686 кг	266 кг	Пакувальна машина Модель ТН-РМ-Р-5

РОЗДІЛ 6. СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ

Таблиця 6.1

Специфікація обладнання процесу виробництва препарату Планриз

Позиція	Найменування	Кількість	Технічна характеристика (виробник)
ПЗ-1	Повітрозабірник	1	Обладнаний металевією сіткою для видалення механічних забруднень
Ф-2	Фільтр грубої очистки повітря	1	Фільтр Alter Air G1-G4 [51]
К-3	Компресор	1	Компресор GX 7 фірми Atlas Copco (Швеція), потужність 14 л/с, робочий тиск 1 МПа [52]
Т-4	Теплообмінник-охолоджувач	1	Фреоновий охолоджувач фірми "Vents" [53]
Р-5	Ресивер	1	Ресивер LV 240 (Atlas Copco) об'єм 240 л, робочий тиск 4 МПа [54]
Т-6	Теплообмінник-нагрівач	1	Електричний нагрівач Вентс НК-100-1,6-1 [55]
Ф-7	Головний фільтр	1	Е = 95 % D _{пор} = 1 мкм

					НУХТ БТЕК 04.02.23 КР ПЗ			
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Ракс М,			РОЗДІЛ 6. Специфікація обладнання	Літ.	Арк.	Акрушіє
Перевір.		Слободян О.П.					45	93
Реценз.						Кафедра БТМ		
Н. Контр.								
Затверд.		Пирог Т.П.						

Ф-8	Фільтр тонкої очистки	1	Фільтруючий матеріал – фторопласт, E = 99,996 %, швидкість фільтрування 0,01 м/с [56]
А-9	Автоклав	8	Panasonic (SANYO) MLS-3781L, об'єм – 10 л. [57]
Р-10	Реактор-змішувач для стерилізації композиції А, для 2-ої стадії вирощування інокуляту у ферментері геометричним об'ємом 0,02 м ³	1	Об'єм – 20 л.
Р-11	Реактор-змішувач для стерилізації композиції А, для 3-ої стадії вирощування інокуляту у ферментері геометричним об'ємом 0,25 м ³	1	Об'єм – 250 л.
Р-12	Реактор-змішувач для приготування композиції Б для виробничого культивування	1	Об'єм – 35 л.
Р-13	Реактор-змішувач для приготування композиції А для виробничого культивування	1	Об'єм – 1,3 м ³
Н-14	Насос перистальтичний	5	Перистальтичний насос ВНЗ-V

			Продуктивність – 100 л/год [58]
ІН-15	Інокулятор для II-ої стадії підготовки інокуляту	1	Об'єм 0,02 м ³
ІН-16	Інокулятор для III-ої стадії підготовки інокуляту	1	Об'єм 0,25 м ³
ФР-17	Ферментер для виробничого культивування	1	Об'єм - 2 м ³
З-18	Збірник	1	2 м ³
Н-19	Відцентровий насос	3	СТІ АА Продуктивність - 12 м ³ /год [59]
Ц-20	Центрифуга	1	“Sedicanter Flottweg” [60] Продуктивність - 1 т/год
С-21	Розпилювальна сушарка	6	Сушарка APV ANHYDRO H3795, Потужність по випаровуванню вологи – 9,3 кг/год [61]
ПМ-22	Пакувальна машина	1	Пакувальна машина продуктивністю 2-3 т/год [62]

РОЗДІЛ 7. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ

Технологічна схема біосинтезу препарату Планриз на основі біомаси *Pseudomonas fluorescens* AP-33 включає допоміжні роботи (підготовка повітря, санітарна підготовка виробництва, підготовка і стерилізація поживних середовищ), та технологічний процес (підготовка посівного матеріалу, виробничий біосинтез, відділення біомаси центрифугуванням і ліофільне сушіння біомаси в сублимаційній сушарці), а також стадії пакування та маркування готової продукції.

ДР 1. Підготовка стерильного стисненого аераційного повітря

У процесі культивування в посівному апараті і ферментері зростаюча культура аерується стерильним повітрям під надлишковим тиском 0,01 – 0,03 МПа для задоволення біологічної потреби мікроорганізмів.

ДР 1.1. Забір атмосферного повітря

При визначенні місця забору атмосферного повітря необхідно враховувати існуючі та можливі джерела газоподібних забруднень (димарі, автотранспорт, газоподібні промислові викиди та інші).

Особливо багато мікроорганізмів над поверхнею землі, з висотою концентрація їх зменшується і стає постійною на рівні близько 30 м над землею, тому забір атмосферного повітря відбувається на висоті близько 15–20 м. Забір повітря здійснюється повітрозбірником (ПЗ-1).

ДР 1.2. Грубе очищення повітря

На цій стадії на фільтрі з повітря видаляється основна маса великих фракцій механічних та пилу. Для цього використовують фільтри попереднього очищення (Ф-2).

					НУХТ БТЕК 04.02.23 КР ПЗ			
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата	РОЗДІЛ 7. Опис технологічної схеми	Лім.	Арк.	Акрушів
Розроб.		Ракс М.					48	93
Перевір.		Слободян О.П.				Кафедра БТМ		
Реценз.								
Н. Контр.								
Затверд.		Пирог Т.П.						

ДР 1.3. Стиснення повітря

За допомогою турбокомпресора (К-3) повітря стискають до 0,35 МПа, при температурі 200 °С. Тиск повітря у компресорі забезпечують відповідно із розрахунку тиску на подолання опору в системі підготовки повітря.

ДР 1.4. Охолодження повітря та видалення вологи

Після компресора повітря охолоджується в теплообміннику (Т-4) до температури 25 °С. Далі у ресивері (Р-5) відбувається стабілізація вологості повітря $W = 60 \%$.

ДР 1.5. Підігрів повітря

Підігрів повітря відбувається в теплообміннику (Т-6) до температури, вищої від температури культивування на 5 – 10 °С, тобто до 40 °С, його вологість становить $W = 40 \%$.

ДР 1.6. Очищення повітря в головному фільтрі

Подальше очищення повітря відбувається у фільтрі (Ф-7) з діаметром пор 1 мкм, як фільтрувальний матеріал використовують синтетичні волокна. Ступінь очистки такого повітря становить $E = 95 \%$. Заміну фільтрувального матеріалу проводять 2 рази на рік. Але у разі передчасного забруднення, або зволоження чи інфікування фільтруючого матеріалу проводять позачергову заміну.

ДР 1.7. Очищення повітря в індивідуальному фільтрі

Остання операція даної стадії – очищення повітря в індивідуальному фільтрі Ultra (Ф-8), клас U16, ступінь чистоти 99,995%.

ДР 2. Санітарна підготовка виробництва

Всі мийні, дезінфікуючі розчини і суміші готує блок стерилізації, або співробітник, призначений начальником цеху, ділянки, підрозділу за наказом.

В реактори через вимірювач об'єму (дозатор), який встановлено на трубопроводі, надходить потрібна кількість дезінфекційного або мийного розчину

(каустична сода) та змішується з водою, яка дозується через датчик об'єму. Після 10 хв перемішування отримуємо розчини для миття і дезінфекції обладнання та комунікацій .

ДР 2.1. Підготовка розчину каустичної соди

Для миття та дезінфекції обладнання використовується 2% розчин каустичної соди. Для прикотування 1 л розчину беруть приблизно 20 г сухої каустичної соди і додають близько 980 мл води. Приготований розчин зберігають у герметично закритому скляному посуді в прохолодному місці.

ДР 2.2. Приготування дезінфікуючого розчину перекису водню (3%, 6%)

Для обробки приміщень використовують розчини перекису водню. Розчин перекису водню з концентрацією 1 – 6 % має бактерицидні властивості та не токсичний для людей. Він не має неприємного запаху, не викликає корозії металів, не псує оброблювані предмети. Бактерицидна активність робочих розчинів підвищується з підвищенням їхньої температури.

Робочий розчин перекису водню повинен готувати майстер зміни або під його спостереженням виділений для цього робочий.

Розчин готується в чистій ємності (скляній або емальованій) шляхом розведення перекису водню водою. Термін збереження робочого розчину 5 – 6 днів.

ДР 2.3. Приготування розчину «Гембар»

Гембар (25 % концентрат, який розводять водою до потрібної концентрації (0,1-0,5 %) закупається та зберігається на складі. Використовують для дезінфекції поверхонь, посуду, санітарно-технічного і медичного обладнання.

ДР 3. Підготовка та стерилізація поживного середовища

ДР 3.1. Підготовка та стерилізація поживного середовища для культивування продуценту в колбах на качалці

Для культивування *Pseudomonas fluorescens* AP-33 використовується середовище наступного складу, г/л:

Меляса - 15

Калій фосфорнокислий двузаміщений трьохводний ($K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$) - 0,5

Сульфат магнію семиводний ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$) - 0,2

Горох шліфований, оброблений у автоклаві - 250

Янтарна кислота ($C_4H_6O_4$) - 0,05

Лапрол - 5

Оскільки, в середовищі присутні термолабільні компоненти, а саме меляса та горох шліфований, а також наявні сіль магнію та фосфорна сіль, для стерилізації середовище буде розділене на 3 окремі композиції:

Композиція А: розчин меляси + горох шліфований ($t = 112 \text{ }^\circ\text{C}$, 30 хв);

Композиція Б: $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$ + лапрол ($t = 131 \text{ }^\circ\text{C}$, 40 хв);

Композиція В: $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ + $C_4H_6O_4$ ($t = 131 \text{ }^\circ\text{C}$, 40 хв).

На першому етапі для вирощування посівного матеріалу в колбах потрібно 1,045 л поживного середовища.

Таблиця 7.1

Склад композицій і розрахунки компонентів для поживного середовища для культивування інокуляту в колбах на качалці

Компонент поживного середовища	Вміст т, г/л	Кількість для приготування 1,045 л поживного середовища, г (мл)	Композиція	Об'єм композиції, V, мл
Меляса	15	16	А	1023,48
Горох шліфований	250	262		
Вода		745,8		
$K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$	0,5	0,5	Б	21,1
Лапрол	5	5,2		

Вода		15,4		
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0,2	0,2	В	0,95
Янтарна к-та	0,05	0,05		
Вода		0,7		
Разом		1045		1045

ДР 3.1.1. Приготування та стерилізація композиції А.

Мелясу (16 г) та горох шліфований (262 г) зважують на технічних вагах, мірним циліндром доливають в колбу 746 мл води, перемішують. Стерилізацію здійснюють в автоклаві (А-9) за температури 112 °С протягом 30 хв. Не допускається виявлення мікрофлори.

ДР 3.1.2. Приготування та стерилізація композиції Б

Калій фосфорнокислий двузаміщений трьохводний (0,5 г) та лапрол (5,2 г) зважують на технічних терезах, пересипають в колбу. Мірним циліндром доливають 16 мл води, перемішують. Стерилізацію здійснюють в автоклаві (А-9) за температури 131 °С протягом 40 хв. Не допускається виявлення мікрофлори.

ДР 3.1.3. Приготування та стерилізація композиції В

Сульфат магнію семиводний (0,2 г) та янтарну кислоту (0,05 г) зважують на технічних терезах, засипають в колбу. Далі доливають 0,7 мл води, перемішують. Стерилізацію здійснюють в автоклаві (А-9) за температури 131 °С протягом 40 хв. Не допускається виявлення мікрофлори.

ДР 3.2. Підготовка та стерилізація поживного середовища для культивування інокуляту в інокуляторі об'ємом 0,02 м³

Таблиця 7.2

Склад композицій і розрахунки компонентів для поживного середовища для вирощування посівного матеріалу в інокуляторі геометричним об'ємом 0,02 м³

Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	Кількість для приготування 10,45 л поживного середовища, г (мл)	Композиція	Об'єм композиції, V, л
Меляса	15	157	А	10,2
Горох шліфований	250	2614		
Вода		7422		
$K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$	0,5	5	Б	0,211
Лапрол	5	52		
Вода		154		
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0,2	2	В	0,0105
Янтарна к-та	0,05	0,5		
Вода		8		
Разом		10,45		10,45

ДР 3.2.1. Приготування та стерилізація композиції А

Мелясу (157 г) та горох (2,614 кг) зважують на технічних вагах. Вносимо 7,422 л водопровідної води. Всі компоненти перекачуються перестильчатим насосом (Н-14) в реактор змішувач. Стерилізацію здійснюють в реакторі змішувачі (Р-10) об'ємом 20 л за температури 112 °С протягом 30 хв. Не допускається виявлення мікрофлори.

ДР 3.2.2. Приготування та стерилізація композиції Б

Калій фосфорнокислий двозаміщений трьохводний (5 г) та лапрол (52 г) зважуємо на технічних вагах, переносимо в колбу, змішуємо з 154 мл води дистильованої.

Стерилізацію здійснюють в автоклаві (А-9) за температури 131 °С протягом 40 хв. Не допускається виявлення мікрофлори.

ДР 3.2.3. Приготування та стерилізація композиції В

Сульфат магнію семиводний (2 г), янтарну кислоту (0,5 г) зважуємо на вагах, переносимо у колбу, воду відміряємо мірним циліндром (8 мл), змішуємо. Стерилізацію здійснюють в автоклаві (А-9) за температури 131 °С протягом 40 хв. Не допускається виявлення мікрофлори.

ДР 3.3. Підготовка та стерилізація поживного середовища для культивування інокуляту в інокуляторі об'ємом 0,25 м³

Таблиця 7.3

Склад композицій і розрахунки компонентів для поживного середовища для вирощування посівного матеріалу в інокуляторі геометричним об'ємом 0,25 м³

Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	Кількість для приготування 170 л поживного середовища, кг (л)	Композиція	Об'єм композиції, V, л
Меляса	15	2,55	А	162,7
Горох шліфований	250	42,5		
Вода		117,64		
K ₂ HPO ₄ ·3H ₂ O	0,5	0,085	Б	3,355
Лапрол	5	0,85		
Вода		2,42		
MgSO ₄ ·3H ₂ O	0,2	0,034	В	0,1545

Янтарна к-та	0,05	0,009		
Вода		0,112		
Конденсат		17		4,5
Разом		170		170

ДР 3.3.1. Приготування та стерилізація композиції А

Мелясу (2,55 кг) й горох (42,5 кг) зважуємо на вагах, змішуємо з 118 л води водопровідної, переносимо за допомогою перестильчатого насосу (Н-14) до реактору-змішувача. Стерилізацію здійснюють в реакторі змішувачі (Р-11) об'ємом 250 л за температури 112 °С протягом 30 хв. Не допускається виявлення мікрофлори.

ДР 3.3.2. Приготування та стерилізація композиції Б

Калій фосфорнокислий двозаміщений трьохводний (85 г) та лапрол (850 г) зважуємо на технічних вагах, переносимо в колби, доливаємо 2,42 л води водопровідної та змішуємо. Стерилізацію здійснюють в автоклаві (А-9) за температури 131 °С протягом 40 хв. Не допускається виявлення мікрофлори.

ДР 3.3.3. Приготування та стерилізація композиції В

Сульфат магнію семиводний (34 г) та янтарну кислоту (9 г) зважуємо на вагах, переносимо у колбу, доливаємо 112 мл води та змішуємо. Стерилізацію здійснюють в автоклаві (А-9) за температури 131 °С протягом 40 хв. Не допускається виявлення мікрофлори.

ДР 3.4. Підготовка та стерилізація поживного середовища для виробничого культивування в ферментері об'ємом 2 м³

Таблиця 7.4

Склад композицій і розрахунки компонентів для поживного середовища для виробничого культивування в ферментері геометричним об'ємом 2 м³

Компонент	Вміс	Кількість для		Об'єм
-----------	------	---------------	--	-------

поживного середовища	т, г/л	приготування 1,15 м ³ поживного середовища, кг (л)	Композиція	композиції, V, л
Меляса	15	17,25	А	1013
Горох шліфований	250	287,5		
Вода		708		
K ₂ HPO ₄ ·3H ₂ O	0,5	0,575	Б	21
Лапрол	5	5,75		
Вода		14,74		
MgSO ₄ ·3H ₂ O	0,2	0,23	В	1
Янтарна к-та	0,05	0,0575		
Вода		0,67		
Конденсат		115		115
Разом		1150		1150

ДР 3.4.1. Приготування та стерилізація композиції А

Мелясу (17,25 кг), горох шліфований (287,5 кг) зважуємо на вагах, переносимо в реактор змішувач (Р-12) доливаючи 708 л води водопровідної. Стерилізацію здійснюють в реакторі змішувачі (Р-12) об'ємом 1,3 м³ за температури 112 °С протягом 30 хв. Не допускається виявлення мікрофлори.

ДР 3.4.2. Приготування та стерилізація композиції Б

Калій фосфорнокислий двозаміщений трьохводний (575 г), лапрол (5,75 кг) зважуємо на технічних вагах, переносимо в реактор змішувач, доливаючи 15 л води водопровідної. Стерилізацію здійснюють в реакторі змішувачі (Р-13) об'ємом 35 л за температури 131 °С протягом 40 хв. Не допускається виявлення мікрофлори.

ДР 3.4.3. Приготування та стерилізація композиції В

Сульфат магнію семиводний (230 г) та янтарну кислоту (58 г) зважуємо на вагах, переносимо у колбу на 1 л, доливаємо 670 мл води дистильованої та змішуємо. Стерилізацію здійснюють в автоклаві (А-9) за температури 131 °С протягом 40 хв. Не допускається виявлення мікрофлори.

ТП 4. Підготовка посівного матеріалу

ТП 4.1. Одержання посівного матеріалу I генерації

Для одержання культури I генерації використовують колекційну культуру із ліофілізованим штамом *Pseudomonas fluorescens*, робочої посівної серії. Флакони розкривають і градуйованою піпеткою в асептичних умовах вносять 1 мл стерильного ізотонічного розчину хлориду натрію. Вміст флаконів струшують і за допомогою петлі пересівають у колби, місткістю 750 мл з приготованим раніше поживним середовищем, закривають ватно-марелевими пробками.

Колби поміщають на качалку, підтримують температуру 28 ± 2 °С упродовж 20-24 год. Посів витримують при зазначеній температурі протягом 48 годин.

ТП 4.2 Одержання посівного матеріалу II генерації

Для одержання культури II генерації вміст колб з I генерації (1,15 л інокуляту) переносять у інокулятор (Ін-15) об'ємом 0,02 м³. Культивування проводиться протягом 20-24 годин, за $t=28 \pm 2$ °С, рН=7,5. Культивування проводиться за примусової аерації.

Піногасник вносимо тільки за необхідності, спостерігаючи за протіканням технологічного процесу. Піногасник (ДР 3.2) вноситься в розрахунку 0,01 піногасника від загального об'єму поживного середовища.

ТП 4.3 Одержання посівного матеріалу III генерації

Для одержання культури III генерації вміст інокулятора з II стадії вирощування інокуляту (11,5 л інокуляту) переносять у інокулятор (Ін-16) об'ємом 0,25 м³.

Культивування проводиться протягом 20-24 годин, за $t=28\pm 2$ °С, рН=7,5. Культивування проводиться за примусової аерації.

Піногасник вносимо тільки за необхідності, спостерігаючи за протіканням технологічного процесу. Піногасник (ДР 3.2) вноситься в розрахунку 0,01 піногасника від загального об'єму поживного середовища.

ТП 5. Виробничий біосинтез

Посівний матеріал вноситься у стерильних умовах через посівний бачок.

Вирощування бактерій проводять в ферментері (ФР-17) об'ємом 2 м³. Об'єм поживного середовища становить 1,15 м³. Засів поживного середовища здійснюється при температурі 28 ± 2 °С, культурою 3-ої генерації об'ємом 115 л.

ТП 5.1 Вирощування у ферментері

Основний біосинтез здійснюють у ферментері (ФР-17) на поживному середовищі за таких параметрів культивування: температура - 28 ± 2 °С; рН=7,5; тривалість культивування 20-24 год. Упродовж культивування проводиться примусова аерація зі швидкістю обертів 250 об/хв.

ТП 6. Зберігання культуральної рідини

ТП 6.1 Перекачка культуральної рідини до збірника

Культуральна рідина (1,24 м³) після виробничого культивування перекачується з ферментера до збірника (З-18) об'ємом 2 м³, за допомогою відцентрового насоса (Н-19) продуктивністю 12 м³/год.

ТП 7. Відділення біомаси

ТП 7.1 Центрифугування культуральної рідини

Зі збірника культуральна рідина (1,24 м³), за допомогою відцентрового насоса (Н-19), надходить у центрифугу "Sedicanter Flottweg" (Ц-20), що має продуктивність 1 т/год. Відділений фугат (942,4 л) відкачується на переробку. Відділену біомасу

(282,72 кг) відвантажують до реактора змішувача об'ємом 3 м³, з раніше приготованим і стерилізованим у ньому захисним середовищем (2545 л).

Центрифугування – процес зневоднення і розділення суспензій на рідку і тверду фази під дією відцентрових сил. Машини для здійснення таких операцій називаються центрифугами, які підрозділяються на фільтруючі, осаджувальні і комбіновані (осаджувально-фільтруючі).

Суспензія поступає у внутрішню порожнину ротора через донний штуцер. При обертанні ротора відбувається осадження твердих частинок, що містяться в суспензії, на його внутрішніх стінках, а освітлена рідина викидається через верхню частину ротора і збирається. Швидкість осадження частинок суспензії залежить від співвідношення між відцентровою силою, що діє на тверду частинку, і силою опору середовища [63].

Швидкість осадження частинок твердої фази зростає із збільшенням частоти обертання ротора центрифуги, радіусу обертання частинок, їх розміру, а також із зростанням різниці щільності твердої і рідкої фаз. Ефективність процесу центрифугування знижується із збільшенням в'язкості середовища.

В промислових установках розділення під дією відцентрових сил застосовують для розділення часточок розміром від 0,5 мкм до 25 мм. При розділенні суспензії у фільтруючих центрифугах в роторі під дією відцентрових сил відбувається фільтрація рідини через фільтрувальну тканину або через металеву сітку з одночасним затриманням твердої фази; рідка фаза проходить через сито і потім через отвори в роторі викидається в кожух центрифуги, а осад відвантажують або під час обертання ротору, або після його зупинки [63].

ТП 8. Сушіння біомаси клітин

ТП 8.1 Сушка у розпилювальній сушарці

З ТП 7.1 отримують центрифуговану біомасу клітин. Сушку проводять на розпилювальній сушарці С-21. У розпилювальних сушарках тонкодиспергований продукт потрапляє в потік гарячого повітря (120 — 180 °С) і майже миттєво висушується.

Вологість продукту контролюється лабораторним методом.

ПМВ 9. Пакування, маркування, відвантаження

ПМВ 9.1. Фасування, пакування, маркування сухої біомаси у поліетиленові пакети.

Висушену біомасу 2660 кг переносять на лінію пакування, де пакувальна машина (ПМ-23) запаковує її в герметичні пакети по 5 кг. Далі препарат відвантажують на склад і він є готовим до подальшого відправлення на місця продажу.

РОЗДІЛ 8. КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА

8.1. Мікробіологічний контроль

Визначення стерильності готового поживного середовища проводять візуально шляхом огляду 3-5% кожної партії після інкубації в термостаті за температури 37 °С протягом 2-14 діб. в залежності від типу середовища.

Виявлення після інкубації помутніння рідкого (напіврідкого) середовища або поява на чашках (пробірках) більше 2-4 колоній свідчить про нестерильність середовища і свідчить про те, що середовище підлягає повторному контролю на подвійній кількості зразків. При повторному підтвердженні результату середовище підлягає знищенню [65].

Чистоту культур мікроорганізмів на всіх стадіях культивування (включаючи виробниче культивування) обов'язково потрібно контролювати шляхом мікроскопії клітин. Для цього готують препарат фіксованих забарвлених клітин, який мікроскопіюють на імерсійному мікроскопі. Клітини чистих культур мікроорганізмів, як правило, однорідні за розміром і забарвленням по Граму.

Чистоту культури клітин перевіряють також і шляхом повторного висіву на селективні середовища, що забезпечують вибіркове зростання тих чи інших мікроорганізмів. Критерієм чистоти в цьому випадку є однорідність формуючихся при цьому колоній [66].

8.2. Визначення концентрації цільового продукту

Визначення концентрації біомаси *Pseudomonas fluorescens* AP-33 проходить ваговим методом [67]. Щоб визначити масу сухих клітин, центрифужну пробірку або фільтр із осадом клітин мікроорганізмів розміщують у сушильну шафу,

					НУХТ БТЕК 04.02.23 КР ПЗ			
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Ракс М.			РОЗДІЛ 8. Контроль виробництва	Літ.	Арк.	Акрушіє
Перевір.		Слободян О.П.					61	93
Реценз.						Кафедра БТМ		
Н. Контр.								
Затверд.		Пирог Т.П.						

висушують і зважують. Режим висушування й зважування той же, що використовується й при визначенні маси пробірок або фільтрів. Суху біомасу визначають за формулою:

$$M = \frac{(A-B)1000}{V},$$

де М - суха біомаса в г/л; А - маса центрифужної пробірки (фільтра) без осаду в г; В - маса центрифужної пробірки (фільтра) без осаду в г; V - обсяг культуральної рідини, узятий для центрифугування (фільтрування) у мл.

Точність методу визначається повнотою відмивання клітин від компонентів середовища й ретельного зважування.

Хід визначення:

1. Довести масу центрифужних пробірок та фільтрів до постійної.
2. З поверхні щільного живильного середовища чашок Петрі провести змив культури мікроорганізмів великою кількістю дистильованої води. Далі провести фільтрування через паперовий фільтр. Далі фільтр розміщують до сушильної шафи і доводять його масу до постійної. Масу культури визначають за формулою.
3. Із колби в центрифужну пробірку наливають точно вимірний обсяг ретельно перемішаної рідкої культури в обсязі 5 мл. Проводять центрифугування при 3000 об/хв. Протягом 25 хв. Далі надосадову рідину зливають. Осад промивають підкисленою водою і пробірки знову ставлять на центрифугування. Потім масу пробірки доводять до постійної. Масу культури визначають за формулою наведеною вище.

8.3. Визначення концентрації джерел вуглецю і азоту

8.3.1. Визначення концентрації джерела вуглецю

Джерелом вуглецю в середовищі виступає, насамперед, сахароза. Масову частку сахарози в розчинах можна визначати масовим та об'ємним методами. При масовому поляриметричному методі визначення сахарози беруть нормальну наважку 26 г (одну або дві, рідше половину, чверть наважки або довільну наважку),

переводять у мірну колбу місткістю 100 см³, у разі потреби освітлюють одним із відомих освітлювачів, термостатують при t = 20 °С протягом 20 хв та доводять дистильованою водою до мітки. Якщо використали освітлювач, то розчин фільтрують, потім поляризують. Якщо аналізують розчин чистої сахарози, то поляризують безпосередньо після доведення розчину в колбі до мітки 100 см³, термостатування при t = 20 °С і ретельного перемішування.

Масову частку сахарози, %, при нормальній наважці обчислюють за формулою

$$C_x = \frac{0,26 \cdot \Pi_{200} \cdot 100}{26} = \Pi \%,$$

де 0,26 – ціна поділки поляриметра, г; Π_{200} – покази шкали поляриметра в поляриметричній трубці на 200 мм; 26 – нормальна наважка продукту.

Масову частку сахарози, %, при довільній наважці обчислюють за формулою

$$C_x = \frac{0,26 \cdot \Pi_{200} \cdot 100}{H} \%,$$

де 0,26 – ціна поділки поляриметра, г; Π_{200} – покази шкали поляриметра в поляриметричній трубці на 200 мм; H – наважка продукту, г.

Об'ємний метод ґрунтується на тому, що в мірну колбу з двома мітками (100/110 або 50/55 см³) наливають до першої мітки досліджуваній розчин, потім додають освітлювач, доводять об'єм розчину в колбі дистильованою водою до другої мітки. Вміст колби перемішують, фільтрують через один паперовий фільтр, а фільтрат заливають у поляриметричну кювету і визначають за допомогою поляриметра величину поляризації.

Масову частку сахарози, %, в досліджуваному розчині знаходять за формулою

$$C_x = \frac{0,26 \cdot \Pi_{200} \cdot 1,1 \cdot 100}{100 \cdot d} = \frac{0,26 \cdot \Pi_{200} \cdot 1,1}{d} \%,$$

де 1,1 – коефіцієнт, який враховує розбавлення розчину в колбі 100/110 см³ або 50/55 см³; 100 – об'єм нормальної колби, см³; d – густина розчину, г/см³.

Під час аналізу чистих цукрових розчинів об'ємним методом освітлення не потрібне. У цьому разі використовують колбу з міткою 100/110 см³ і масову частку сахарози, %, розраховують за формулою

$$C_x = \frac{0,26 \cdot \Pi_{200} \cdot 100}{100 \cdot d} \cdot 1,1 \%.$$

Слід зазначити, що об'ємний метод менш точний, ніж масовий. Тому в контролі виробництва переважно використовують масовий поляриметричний метод.

8.3.2. Визначення концентрації джерела азоту

1) **Метод Несслера** базується на утворенні забарвленої важкорозчинної сполуки при взаємодії реактиву Несслера (K_2HgI_4) з аміаком в нейтральних або лужних розчинах: $2HgI_4 + NH_3 + OH = NH_2Hg_2I_3 + 5I + H_2O$ [69].

Великого надлишку луку слід уникати, оскільки може відбутися розкладання $NH_2Hg_2I_3$ з утворенням оксиду ртуті. Забарвлена сполука $NH_2Hg_2I_3$ схильна до утворення негативно заряджених колоїдних частинок. Для отримання рівномірної і стійкої суспензії в розчин вводять захисний колоїд – желатин, полівініловий спирт. При малих концентраціях аміаку колоїдні розчини мають жовте забарвлення, при збільшенні концентрації з'являється бурий відтінок. Отримання в ході аналізу колоїдних розчинів, здатних до коагуляції, знижує відтворюваність результатів аналізу, одержуваних методом Несслера.

Для визначення аміаку до 1 мл супернатанту культуральної рідини додають 1 мл реактиву Несслера. Коефіцієнт екстинції вимірюють при довжині хвилі 400–425 нм. Концентрацію аміаку визначають за калібрувальним графіком. Фотометричному визначенню азоту методом Несслера заважають іони, що випадають в осад у лужному середовищі і утворюють нерозчинні сполуки з йодид - іонами та іонами ртуті (магній, марганець, залізо, титан, сульфід-іони та ін.) [70].

2) **Індофеноловий метод** більш зручний, оскільки сполука синього кольору, яка використовується для фотометричного визначення аміаку, утворює істинний розчин і максимум світлопоглинання цієї сполуки знаходиться у видимій області спектра. Суть методу в тому, що аміак з гіпохлоритом і фенолом за присутності нітропрусида натрію здатен утворювати індофенол, який забарвлює розчин в синій колір, по інтенсивності забарвлення якого визначають кількість аміаку. Визначенню заважають ароматичні аміни і формальдегід. . Визначення проводять при довжині хвилі 625 нм. [69].

8.4. Карта постадійного контролю виробництва препарату Планриз

Таблиця 8.4.1

Номер контрольної точки та назва стадії	Об'єкт контролю і показник, що визначається	Метод контролю	Періодичність перевірки та порядок відбору проб	Нормативна характеристика показника, що визначається
Кт 1.1 Забір повітря з атмосфери	Атмосферне повітря	-	Під час забору повітря	H = 15 м
Кт 1.2 Попереднє очищення повітря	Повітря на виході з фільтра грубого очищення, ступінь очищення, перепад тисків	Манометр, перевірка ступеня очищення згідно паспорту фільтра	Після очистки повітря у фільтрі грубого очищення	E = 80 %, тиск згідно паспорту
Кт 1.3 Стиснення повітря	Стиснене повітря, температура, тиск	Манометр технічний, термометр	Після компресування повітря	P=0,35–0,5 МПа t=250 °C
Кт 1.4 Охолодження повітря в теплообміннику	Охоложене повітря, температура	Термометр технічний	Після охолодження повітря	t = 15-25 °C

Кт 1.5 Видалення вологи	Повітря після видалення зайвої вологи	Психрометричний метод	Після видалення зайвої вологи	W=40 %
Кт 1.6 Нагрівання повітря в теплообміннику	Нагріте повітря, температура	Термометр технічний	Після нагрівання повітря	t = 27 °C
Кт 1.7 Очищення повітря в головних фільтрах	Очищене повітря, ступінь очищення, перепад тисків	Манометр, перевірка ступеня очищення згідно паспорту фільтра	Після очистки повітря в фільтрі тонкого очищення	E = 99,5 %
Кт 1.8 Очищення повітря в індивідуальних фільтрах	Очищене повітря, ступінь очищення	Перевірка ступеня очищення згідно паспорту фільтра	Під час очистки повітря на індивідуальному фільтрі	E = 99,9999 %
Кт, Км, Кх 2.1.1 Приготування та стерилізація композиції А	Композиція А, температура, рН, тиск, час, стерильність	Манометр технічний, термометр, годинник, мікробіологічний контроль	Тиск визначається безперервно під час стерилізації, мікробіологічний контроль після стерилізації	t = 112 °C рН=7,5 P = 0,05 МПа τ = 30 хв, відсутність мікробіоти

Кт, Км, Кх 2.1.2 Приготування та стерилізація композиції Б	Композиція Б, температура, рН, тиск, час, стерильність	Манометр технічний, термометр, годинник, рН-метр, мікробіологічний контроль	Тиск визначається безперервно під час стерилізації, мікробіологічний контроль після стерилізації	t = 131 °С рН=7,5 P = 0,05 МПа τ = 40 хв, відсутність мікробіоти
Кт, Км, Кх 2.1.3 Приготування та стерилізація композиції В	Композиція В, температура, рН, тиск, час, стерильність	Манометр технічний, термометр, годинник, рН-метр, мікробіологічний контроль	Тиск визначається безперервно під час стерилізації, мікробіологічний контроль після стерилізації	t = 131 °С рН=7,5 P = 0,05 МПа τ = 40 хв, відсутність мікробіоти
Кт, Км, Кх 2.2.1 Приготування та стерилізація композиції А	Композиція А, температура, рН, тиск, час, стерильність	Манометр технічний, термометр, годинник, мікробіологічний контроль	Тиск визначається безперервно під час стерилізації, мікробіологічний контроль після стерилізації	t = 112 °С рН=7,5 P = 0,05 МПа τ = 30 хв, відсутність мікробіоти
Кт, Км, Кх 2.2.2 Приготування та стерилізація композиції Б	Композиція Б, температура, рН, тиск, час, стерильність	Манометр технічний, термометр, годинник, рН-метр, мікробіологічний контроль	Тиск визначається безперервно під час стерилізації, мікробіологічний контроль після стерилізації	t = 131 °С рН=7,5 P = 0,05 МПа τ = 40 хв, відсутність мікробіоти

Кт, Км, Кх 2.2.3 Приготування та стерилізація композиції В	Композиція В, температура, рН, тиск, час, стерильність	Манометр технічний, термометр, годинник, рН-метр, мікробіологічний контроль	Тиск визначається безперервно під час стерилізації, мікробіологічний контроль після стерилізації	t = 131 °С рН=7,5 P = 0,05 МПа τ = 40 хв, відсутність мікробіоти
Кт, Км, Кх 2.3.1 Приготування та стерилізація композиції А	Композиція А, температура, рН, тиск, час, стерильність	Манометр технічний, термометр, годинник, мікробіологічний контроль	Тиск визначається безперервно під час стерилізації, мікробіологічний контроль після стерилізації	t = 112 °С рН=7,5 P = 0,05 МПа τ = 30 хв, відсутність мікробіоти
Кт, Км, Кх 2.3.2 Приготування та стерилізація композиції Б	Композиція Б, температура, рН, тиск, час, стерильність	Манометр технічний, термометр, годинник, рН-метр, мікробіологічний контроль	Тиск визначається безперервно під час стерилізації, мікробіологічний контроль після стерилізації	t = 131 °С рН=7,5 P = 0,05 МПа τ = 40 хв, відсутність мікробіоти
Кт, Км, Кх 2.3.3 Приготування та стерилізація композиції В	Композиція В, температура, рН, тиск, час, стерильність	Манометр технічний, термометр, годинник, рН-метр, мікробіологічний контроль	Тиск визначається безперервно під час стерилізації, мікробіологічний контроль після стерилізації	t = 131 °С рН=7,5 P = 0,05 МПа τ = 40 хв, відсутність мікробіоти

Кт, Км, Кх 2.4.1 Приготування та стерилізація композиції А	Композиція А, температура, рН, тиск, час, стерильність	Манометр технічний, термометр, годинник, мікробіологічний контроль	Тиск визначається безперервно під час стерилізації, мікробіологічний контроль після стерилізації	t = 112 °C рН=7,5 P = 0,05 МПа τ = 30 хв, відсутність мікробіоти
Кт, Км, Кх 2.4.2 Приготування та стерилізація композиції Б	Композиція Б, температура, рН, тиск, час, стерильність	Манометр технічний, термометр, годинник, рН-метр, мікробіологічний контроль	Тиск визначається безперервно під час стерилізації, мікробіологічний контроль після стерилізації	t = 131 °C рН=7,5 P = 0,05 МПа τ = 40 хв, відсутність мікробіоти
Кт, Км, Кх 2.4.3 Приготування та стерилізація композиції В	Композиція В, температура, рН, тиск, час, стерильність	Манометр технічний, термометр, годинник, рН-метр, мікробіологічний контроль	Тиск визначається безперервно під час стерилізації, мікробіологічний контроль після стерилізації	t = 131 °C рН=7,5 P = 0,05 МПа τ = 40 хв, відсутність мікробіоти
Кт, Км, Кх 3.1 Приготування інокуляту в колбах на качалках	Посівний матеріал, тривалість вирощування, температура, швидкість перемішування,	Термометр технічний, годинник, тахометр, рН метр, мікробіологічний контроль	Температура, рН середовища, швидкість перемішування контролюються безпосередньо під час	t = 28 °C, рН = 7,5, w = 250 об/хв, τ = 24 години, відсутність сторонньої мікробіоти

	мікробіологічна чистота культури		процесу, а мікробіологічна чистота після вирощування культури	
Кт, Км, Кх 3.2 Приготування інокуляту в інокуляторі об'ємом 20 л	Посівний матеріал, тривалість вирощування, температура, швидкість перемішування, мікробіологічна чистота культури	Термометр технічний, годинник, тахометр, рН метр, мікробіологічний контроль	Температура, рН середовища, швидкість перемішування контролюються безпосередньо під час процесу, а мікробіологічна чистота після вирощування культури	t = 28 °С, рН = 7,5, w = 250 об/хв, τ = 24 години, відсутність сторонньої мікробіоти
Кт, Км, Кх 3.3 Приготування інокуляту в інокуляторі об'ємом 0,25 м ³	Посівний матеріал, тривалість вирощування, температура, швидкість перемішування, мікробіологічна чистота культури	Термометр технічний, годинник, тахометр, рН метр, мікробіологічний контроль	Температура, рН середовища, швидкість перемішування контролюються безпосередньо під час процесу, а мікробіологічна чистота після вирощування культури	t = 28 °С, рН = 7,5, w = 250 об/хв, τ = 24 години, відсутність сторонньої мікробіоти

<p>Кт, Км, Кх 4.1 Виробничий біосинтез</p>	<p>Тривалість культивування, температура, рН середовища, швидкість перемішування, мікробіологічна чистота культури, концентрація біомаси</p>	<p>Годинник, термометр, рН метр, тахометр, ваговий метод визначення біомаси</p>	<p>Температура, рН середовища та швидкість перемішування визначаються під час культивування, мікробіологічна чистота та концентрація біомаси після проведення культивування</p>	<p>$t = 28\text{ }^{\circ}\text{C}$, $\text{pH} = 7,5$, $w =$ 250 об/хв, $\tau = 24$ години, відсутність сторонньої мікробіоти, концентрація біомаси 24 г/л.</p>
--	--	---	---	--

РОЗДІЛ 9. АВТОМАТИЗАЦІЯ ВИРОБНИЦТВА

9.1. Опис апаратурно-технологічної схеми автоматизації

Після стерилізації поживного середовища у реакторах воно подається у виробничий ферментер 3, готується розчин луку в збірнику 2 та передається самопливом у ферментер для подальшого підтримання рН середовища у виробничому ферментері 3.

Культивування продуцента починається з моменту засівання охолодженого до певної температури стерильного поживного середовища посівним матеріалом.

Ферментер - апарат для глибинного вирощування (культивування) мікроорганізмів в живильному середовищі в умовах стерильності, інтенсивного перемішування, безперервного продування стерильним повітрям і постійної температури. Ферментер є герметичною циліндровою посудиною – корпусом, забезпеченим барботером для подачі стерильного повітря і мішалкою з електроприводом. Усередині ферментера уздовж його корпусу і перпендикулярно до нього закріплюють вузькі металеві смуги – відбійники для підвищення ефективності перемішування. Ферментер великих розмірів виготовляється з неіржавіючої сталі (вони мають парову сорочку для стерилізації і підтримка температури). Ферментер як правило, обладнаний пристроями для виміру і регулювання температури, кількості повітря, що продувається, і тиску усередині. У разі потреби ферментер додатково забезпечується пристроями для виміру і регулювання рН середовища, концентрації розчиненого кисню в культуральній рідині, вуглекислого газу в повітрі, що виходить, сигналізатором рівня піни і пристосуваннями для механічного або хімічного піногасіння.

Розробка ПЛК привела в останні роки до створення систем управління, привабливих і за ціною, і за ефективністю регулювання.

					НУХТ БТЕК 04.02.23 КР ПЗ			
<i>Змн.</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>				
<i>Розроб.</i>		<i>Ракс М.</i>			РОЗДІЛ 9. Автоматизація виробництва	<i>Літ.</i>	<i>Арк.</i>	<i>Акрушів</i>
<i>Перевір.</i>		<i>Слободян О.П.</i>					72	93
<i>Реценз.</i>						Кафедра БТМ		
<i>Н. Контр.</i>								
<i>Затверд.</i>		<i>Пирог Т.П.</i>						

ПЛК має багато переваг і при застосуванні в традиційних, порівняно простих системах управління, що складаються з окремих регуляторів, кожен з яких підтримує задане значення певного параметра безвідносно до інших параметрів, що може сильно вплинути на підтримку заданих значень. Це означає, що кваліфікація оператора менше позначається на роботі установки і, отже, якість продукції, що дозволяє точніше дотримуватися технічні умови. ПЛК також є ідеальним засобом пуску і зупинки всієї установки. Це виключає непродуктивну трату часу. Крім того, ПЛК управляє роботою клапанів і насосів в циклах безрозбірного миття установки. ПЛК значно полегшує реєстрацію даних.

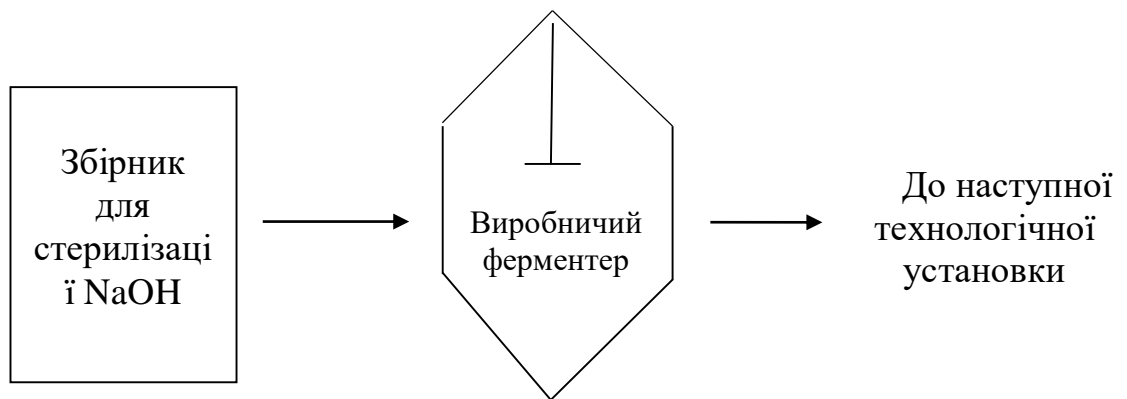


Рис. 9.1.1. Машинно-апаратна схема процесу виробничого біосинтезу

9.2. Завдання на розробку схеми автоматизації

Таблиця 9.2.1

№	Машина, агрегат, установка	Параметр	Значення параметру	Вид автоматизації	Характер контролю та управління	Засіб управління та контролю, реалізації
1	Ємність для лугу(гідроксид натрію)	Рівень рідини в апараті	80% ± 3%	Контроль	Сигналізація	АРМ оператора
		Температура	131°C±2°C	Контроль	Відображення, реєстрація	АРМ оператора
				Регулювання	Стабілізація	Вплив на витрату пари
2	Виробничий ферментер	Рівень рідини в апараті	80% ± 3%	Контроль	Сигналізація	АРМ оператора
		Час культивування	24 год	Контроль	Відображення, реєстрація	АРМ оператора
				Регулювання	Стабілізація	Вплив на витрату кислоти і лугу
		Рівень рН середовища	7,5 од. рН	Контроль	Відображення, реєстрація	АРМ оператора
				Регулювання	Стабілізація	Вплив на витрату
		Температура середовища	28±2°C	Контроль	Відображення, реєстрація	АРМ оператора
Регулювання	Стабілізація			Вплив на витрату		

					пари
	Концентрація розчиненого кисню	0,01м ³ /м ³ ·хв	Контроль	Відображення, реєстрація	АРМ оператора
			Регулювання	Стабілізація	Вплив на витрату пари
	Інтенсивність перемішування	250 об/хв	Контроль	Відображення,реєстрація	АРМ оператора
			Управління	Пуск/стоп,зміна частоти	Частотний перетворювач
	Надлишковий тиск в апараті	0,5 МПа	Контроль	Відображення,реєстрація	АРМ оператора

9.3. Опис функціональної схеми автоматизації

Так у відповідності з завданням, сформованим у таблиці 2.1 опишемо схему автоматизації.

У **першому контурі** автоматичного контролю і управління, в збірнику для NaOH необхідно контролювати рівень лугу і температуру для серілізації, яка має регламентоване значення $131 \pm 2^\circ\text{C}$. Рівень суміші контролюється датчиком рівня LE 1a. Принцип дії датчика рівня полягає в тому, що при русі суміші знизу догори при досягненні датчика він автоматично замикається та посилає сигнал на контролер.

Спостереження за зміною температури передбачається на АРМі оператора-технолога зі збереженням (реєстрацією) цих змін у його архіві. Для регулювання температури передбачається її стабілізація на заданому значенні за рахунок подачі гарячої пари.

Температура вимірюється датчиком термоперетворювачем опору (1a). Сигнал від датчика подається на контролер і в залежності від температури здійснюється управління подачею пари регулюючим органом – пневматичним регулюючим клапаном (1в), що приводиться в дію за допомогою перетворювача електропневматичного (1б). Лінії зв'язку позначені цифрами 3,4.

У **другому контурі** автоматичного контролю і управління, в ферментері необхідно контролювати і регулювати температуру для ферментації, яка має регламентоване значення $28 \pm 2^\circ\text{C}$.

Спостереження за зміною температури передбачається на АРМі оператора-технолога зі збереженням (реєстрацією) цих змін у його архіві. Для регулювання температури передбачається її стабілізація на заданому значенні за рахунок подачі гарячої пари.

Температура вимірюється датчиком термоперетворювачем опору (2a). Сигнал від датчика подається на контролер і в залежності від температури здійснюється управління подачею повітря регулюючим органом – пневматичним регулюючим клапаном (2в), що приводиться в дію за допомогою перетворювача електропневматичного (42). Лінії зв'язку позначені цифрами 7,8.

У **третьому контурі** автоматичного контролю, в ферментері необхідно контролювати і регулювати рН для ферментації, яке має регламентоване значення 7,5 од. рН.

Рівень рН вимірюється датчиком (3а). Сигнал від датчика подається на контролер і в залежності від рН здійснюється управління подачею кислоти або луку регулюючим органом – пневматичним регулюючим клапаном (3в, 3д), що приводиться в дію за допомогою перетворювача електропневматичного (3б, 3г). Лінії зв'язку позначені цифрами 10,11.

У **четвертому контурі** автоматичного контролю, в ферментері необхідно контролювати тиск для ферментації, який має регламентоване значення 0,5 МПа.

Тиск вимірюється датчиком (4а).

У **п'ятому контурі** автоматичного контролю і управління, в ферментері необхідно контролювати і регулювати повітря для ферментації, яке має регламентоване значення $0,01\text{м}^3/\text{м}^3\cdot\text{хв}$.

Повітря вимірюється датчиком розчиненого повітря (5а). Сигнал від датчика подається на контролер і в залежності від концентрації повітря здійснюється управління подачею повітря регулюючим органом - пневматичним регулюючим клапаном (5б).

У **шостому контурі** автоматичного контролю і управління, необхідно контролювати і регулювати частоту обертання мішалки, яка має регламентоване значення 250 об/хв.

Спостереження за зміною частоти обертання передбачається на АРМі оператора-технолога зі збереженням (реєстрацією) цих змін у його архіві. Для управління частотою обертання ротора передбачається її зміна за допомогою частотного перетворювача (6а). Для забезпечення безаварійної роботи необхідно використати елементи управління (кнопки «Пуск» та «Стоп») в «ручному режимі» а безпосередньо біля насосів («по місцю») SB1.

У **сьомому контурі** автоматичного контролю, в ферментері необхідно контролювати рівень даного продукту, який має становити $80\%\pm 3\%$. Концентрат, який поступає в апараті контролюється рівень суміші датчиком рівня LE 7а.

Принцип дії датчика рівня полягає в тому, що при русі суміші знизу догори при досягненні датчика він автоматично замикається та посилає сигнал на контролер.

9.4. Специфікація на прилади та засоби автоматизації

Таблиця 9.4.1

№	№ позиції	Найменування і технічна характеристика засобу	Тип, модель	Виробник
1	2	3	4	5
1	1а	Ємнісний датчик рівня, матеріал: нержавіюча сталь; діапазон вимірювань 265-4000мм, максимальна допустима температура +125 °С, максимальний допустимий тиск 10бар, під'єднання G5/4, аналоговий вхід, точність 2мм	NMC	Kobold.
1	2а	Біметалевий термометр, діапазон вимірювань: 0...+250 °С, максимальний допустимий тиск 25бар, під'єднання G1/2, клас точності 1,0, довжина штуцера 100мм.	ТБ	ПАО „Склоприбор”, Україна
2	2б	Перетворювач електропневматичний, вхідний сигнал 4...20 мА, вихідний сигнал 20–100 кПа, номінальний тиск 140 кПа. клас точності 1,0, аналоговий вихід	ЭП-1324	ЧП "КОМП" (Україна)
3	2в	Клапан регулюючий пневматичний, управляючий сигнал 20-100 кПа, допустима максимальна температура 550 °С .	GV2	Doruk Endustri (Туреччина)
4	2д	Електромагнітний клапан з котушкою, матеріал виготовлення: латунь, напруга	316294	JAKSA

		живлення котушки ~230В, =24В, під'єднання: G1/8...G2		
5	3а	Ємнісний датчик рівня, матеріал: нержавіюча сталь; діапазон вимірювань 265-4000мм, максимальна допустима температура +125 °С, максимальний допустимий тиск 10бар, під'єднання G5/4, аналоговий вхід, точність 2мм	NMC	Kobold.
6	4а	Датчик температури - термоперетворювач опору, вихідний сигнал 4...20 мА, клас точності – 0,25 %, діапазон вимірювань: - 50...200 °С . Матеріал виготовлення – нержавіюча сталь, аналоговий вхід	50M	«ТЕРА» (Україна)
7	4б	Перетворювач електропневматичний, вхідний сигнал 4...20 мА, вихідний сигнал 20–100 кПа, номінальний тиск 140 кПа. клас точності 1,0, аналоговий вихід	ЭП- 1324	ЧП "КОМП" (Україна)
8	4в	Клапан регулюючий пневматичний, управляючий сигнал 20-100 кПа, допустима максимальна температура 550 °С .	GV2	Doruk Endustri (Туреччина)
9	4д	Електромагнітний клапан з котушкою, матеріал виготовлення: латунь, напруга живлення котушки ~230В, =24В, під'єднання: G1/8...G2	316294	JAKSA
10	5а	pH електроди, матеріал скло, пластик, діапазон вимірювань pH 1...12, максимальна температура до 80 °С, максимальний допустимий тиск 6 бар	APS	Kobold

11	56	Перетворювач вимірювання рН і окисно-відновного потенціалу, аналоговий вихід	APM-Z	Kobold
12	6a	Диференційний перетворювач тиску, матеріал виготовлення – нержавіюча сталь, під'єднання 1/2 NPT, кластичності 0,075, вихідний сигнал аналоговий	PAD	Kobold
13	SB1	Двоклавішна кнопка станція «Пуск»-«Стоп» 1НО+1НЗ,	8LP2T B7113	Lovato

РОЗДІЛ 10. ОХОРОНА ДОВКІЛЛЯ

10.1. Аналіз технологічної схеми виробництва цільового продукту на місця емісії твердих, рідких та газоподібних відходів

Технологія одержання біомаси *Pseudomonas fluorescens* AP-33, як основи препарату Планриз включає доферментаційні допоміжні роботи (санітарна підготовка виробництва, приготування і стерилізація поживного середовища для одержання посівного матеріалу, приготування і стерилізація поживного середовища для виробничого біосинтезу), основні технологічні процеси (одержання посівного матеріалу, виробничий біосинтез) та післяферментаційні технологічні процеси (центрифугування, висушування у розпилювальній сушарці, пакування продукції в пакети по 5 кг).

1. Санітарна підготовка виробництва. Даний етап включає щоденне і генеральне прибирання приміщення із застосуванням мийних засобів (каустичної соди, перекису водню та розчину «Гембар»). Після обробки відпрацьований мийні розчини надходить до каналізації. Миття резервуарів обладнання здійснюють за допомогою СІР-мийки із застосуванням каустичної соди. Після обробки, відпрацьований розчин виливається у каналізацію. *Передбачаємо, що даний етап є місцем емісії невеликих об'ємів рідких відходів.*

2. Приготування і стерилізація поживного середовища для отримання посівного матеріалу і виробничого біосинтезу. На даному етапі існує можливість виявлення невідповідності сировини заявленим нормам із наступним її відбраковуванням. Тверді відходи на даному етапі представлені пакувальними матеріалами від сировини для приготування поживного середовища. *Передбачаємо, що даний етап є місцем емісії твердих відходів.*

3. Підготовка посівного матеріалу. Етап передбачає отримання і масштабування посівного матеріалу в інокуляторах.

					НУХТ БТЕК 04.02.23 КР ПЗ			
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Ракс М.			РОЗДІЛ 10. Охорона довілля	Літ.	Арк.	Акрушіє
Перевір.		Слободян О.П.					81	93
Реценз.						Кафедра БТМ		
Н. Контр.								
Затверд.		Пирог Т.П.						

Зважаючи на те, що посівний матеріал використовується для засіву ферментера і, як наслідок, виробничого біосинтезу, відходи від посівного матеріалу не враховуємо до рідких відходів.

Варто зауважити, що для культивування *Pseudomonas fluorescens* AP-33 необхідно забезпечити достатній рівень аерації, оскільки вирощуваний організм є облигатним аеробом. Відповідно, у процесі культивування виходить великий об'єм відпрацьованого повітря, який може містити клітини вирощуваного організму. Тому, *передбачається вихід газоповітряних відходів.*

4. Виробничий біосинтез. Даний етап передбачає отримання культуральної рідини, містить в собі цільовий продукт – біомасу клітин. Біомаса клітин не відділяється на даному етапі, тому рідкі відходи на даному етапі не враховуємо. На даному етапі також виходить великий об'єм відпрацьованого повітря.

Отже, на даному етапі передбачається вихід газоповітряних відходів.

5. Відділення біомаси центрифугуванням. На даному етапі культуральна рідина розділяється на вологу біомасу (містить цільовий продукт) та фугат. Фугат іде на подальшу переробку.

Отже, дана стадія є місцем емісії рідких відходів.

6. Сушіння біомаси клітин у розпилювальній сушарці. У розпилювальній сушарці теплоносієм є гаряче повітря.

Тому, дана стадія є місцем емісії газоповітряних відходів.

7. Пакування, маркування та відвантаження продукції. На даній стадії виділення відходів немає.

10.2. Перспективи впровадження системи екологізації виробництва

10.2.1. Система знешкодження та утилізації рідких відходів

Біохімічне очищення стічних вод виробництва здійснюють в аеротенках.

Аеротенками називають залізобетонні аеровані резервуари відкритого типу. Процес очищення в аеротенку йде в міру протікання через нього аерованої суміші стічної води й активного мулу (рис. 10.2.1.1). Аерація необхідна для насичення води киснем і підтримки мулу в зваженому стані [71].

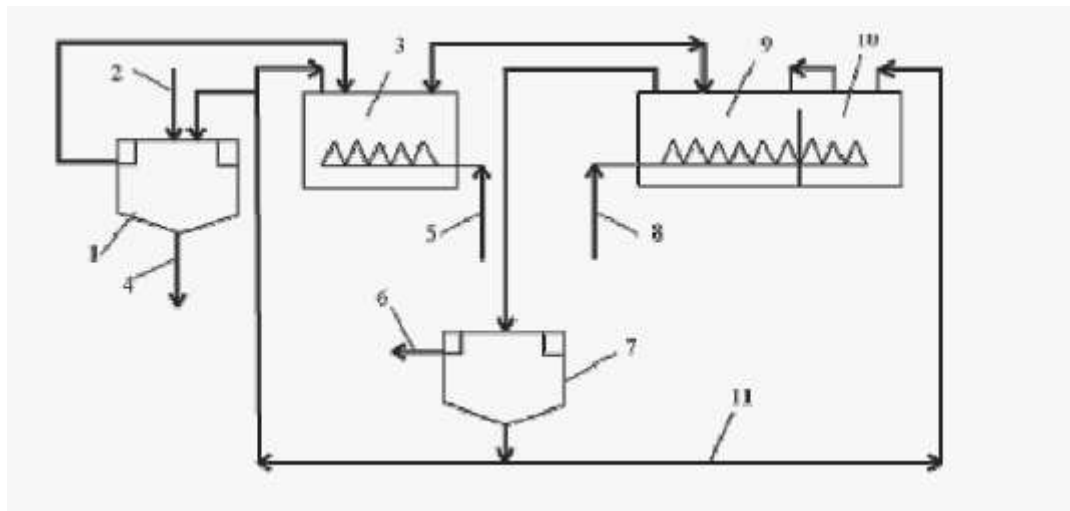


Рис. 10.2.1.1. Схема установки для біологічного очищення стічних вод: 1 - первинний відстійник; 2 - вхідні стічні води на очищення; 3 - преаератор; 4 - осад; 5, 8 - повітря; 6 - очищені стічні води; 7 - вторинний відстійник; 9 - аеротенк; 10 - регенератор; 11 – активний мул.

Стічну воду направляють у відстійник, куди для поліпшення осадження зважених часток можна подавати частину надлишкового мулу. Потім прояснена вода надходить у преаератор-усереднювач, у який направляють мул із вторинного відстійника. Тут стічні води попередньо аеруються повітрям протягом і 5-20 хв. У разі потреби в преаератор можуть бути введені нейтралізуючі добавки і живильні речовини. З усереднювача стічну воду подають в аеротенк, через який циркулює й активний мул. Біохімічні процеси, що протікають в аеротенку, можуть бути розділені на два етапи:

- адсорбція поверхнею активного мулу органічних речовин і мінералізація легко окислюваних речовин при інтенсивному споживанні кисню;
- доокислення органічних речовин, які повільно окисляються, регенерація активного мулу.

На цьому етапі кисень витрачається повільніше. Як правило, аеротенк розділений на дві частини: регенератор (25% від загального обсягу) і власне аеротенк, у якому йде основний процес очищення. Наявність регенератора дає можливість очищати більш концентровані стічні води і збільшити продуктивність агрегату. Перед

аеротенком стічна рідина повинна містити не більш 150 мг/л зважених часток і не більш 25 мг/л нафтопродуктів. Температура вод, що очищаються, не повинна бути нижче 6 °С и вище 30 °С , а рН – у межах 6,5...9. Після контактування стічна вода з мулом надходить у вторинний відстійник, де відбувається відділення мулу від води. Більшу частину мулу повертають в аеротенк, а його надлишок направляють у преаератор. Аеротенк являє собою відкритий басейн, обладнаний пристроями для примусової аерації. Вони бувають двох-, трьох-, і чотирьохкоридорні. Глибина аеротенків від 2 до 5 метрів.

10.2.2. Система знешкодження та утилізації твердих відходів

Тверді відходи виробництва представлені пакувальною тарою від мийних та дезінфекційних засобів, а також пакувальною тарою для компонентів поживного середовища. Тара від мийних засобів та компонентів поживного середовища може бути вторинно перероблена, оскільки складається з поліетилену високої щільності. Проте, деякі компоненти поживного середовища поставляються в упаковці з полівінілхлориду, який погано піддається вторинній переробці, а отже, його необхідно утилізувати окремо від інших видів пластику.

Оскільки, для приготування робочих розчинів мийних засобів використовується мала кількість останніх, то об'єми відходів малі адже однієї упаковки засобу вистачає досить на довго, а виробництво триває короткий час (60 трудоднів). Також варто зазначити, що об'єми виробництва досить невеликі, отже відходів від тар з поживним середовищем утворюється також небагато.

Зважаючи на невеликі обсяги твердих відходів на даному виробництві, необхідності зменшення їхніх обсягів немає.

Для утилізації тари від мийних засобів і компонентів поживного середовища їх попередньо сортують і відправляють до пунктів прийому вторинної сировини.

10.2.3. Система знешкодження газоповітряних викидів

Газоподібні відходи утворюються на етапі отримання посівного матеріалу, виробничого біосинтезу, а також при сушінні у розпилювальній сушарці. У складі газоподібних відходів наявний вуглекислий газ і бактеріальні клітини.

Тривалість процесу отримання посівного матеріалу складає 72 год, а виробничого біосинтезу – 24 год. Для аерації середовища використовують стерильне повітря зі швидкістю аерації – 1 л/хв. У виробничому приміщенні встановлюють 4 ферментаційні апарати. Таким чином, приблизний об'єм відпрацьованого повітря буде становити: $3 \times (60 \times 72) + 1 \times (60 \times 24) = 14000$ л (14 м^3).

Pseudomonas fluorescens має IV клас небезпеки [72], отже відпрацьоване повітря також має відповідний клас небезпеки.

Вуглекислий газ при потраплянні в атмосферу негативно впливає на довкілля, оскільки це сприяє збільшенню парникового ефекту. Для запобігання виходу його в атмосферу вуглекислий газ, що утворюється пропонують вловлювати у циклонах і переробляти на вуглекислоту, яка буде побічним продуктом виробництва.

З відпрацьованим повітрям в атмосферу потрапляють органічні сполуки: аміни, альдегіди, жирні кислоти, кетони, спирти, ефіри тощо. Відносна вологість повітря, що виходить із ферментера, наближається до 100 %. Крім того, воно містить культуральну рідину у вигляді дрібних крапель, а вміст клітин продуцента становить приблизно від $1 \cdot 10^3$ до $1 \cdot 10^5$ клітин у 1 м^3 [73].

На сьогодні для очищення відпрацьованого повітря використовують кілька методів, що принципово відрізняються від методів очищення повітря. Метод каталітичного допалювання належить до енергоємних. Суть його полягає у прокачуванні відпрацьованого повітря при температурі 320-350 °C через комбінований каталізатор, що складається із шарів піролюзиту та паладієвого каталізатора. Ступінь знешкодження повітря досягає 87-98,5 %.

Менш енергоємним є метод рідкофазного окиснення із застосуванням як окисників перманганату калію або гіпохлориту натрію. Відпрацьоване повітря під час проходження скрубера зрошується розчином гіпохлориту натрію, 20 %-им розчином їдкого натру, водою і викидається в атмосферу. Зрошувальні розчини

обертаються в замкненому циклі. Відпрацьовані розчини змінюються один раз на тиждень. Ефективність очищення складає 90-95 %. Недоліком методу є накопичення невеликої кількості стічних вод, які потрібно утилізувати.

Відомий також метод із застосуванням сітчастих фільтрів. Фільтр складається з циліндричного корпусу з кришкою і днищем, усередині вміщено фільтрувальний елемент, виготовлений із металевих сіток трикотажного плетіння з дроту діаметром 0,28 мм із нержавіючої сталі. Повітря, проходячи через фільтр, звільнюється від крапель культуральної рідини з мікроорганізмами. Для підвищення ефективності очищення на ряді заводів функціонує схема, що складається з циклону і сітчастого фільтра “Ц-ФС”. Ефективність цієї системи становить 99,97 %.

10.2.4. Заходи щодо зменшення об’ємів відходів

Для зменшення об’ємів газоповітряних відходів, що містить вуглекислий газ та інші складові (спори, частки ПС і т. п.), можливо використовувати його в якості субстрату при вирощуванні деяких мікроорганізмів або водоростей, після попереднього його фільтрування. Для зменшення обсягів газоподібних відходів при процесі сушіння потрібно використовувати сушарки з економною витратою сушильних агентів.

Для зменшення об’єму рідких відходів на виробництві потрібно насамперед точно рахувати необхідну кількість розчинів для миття поверхонь та обладнання, не витрачаючи їх більше необхідної кількості.

ЛІТЕРАТУРА

1. Токовенко І. П. Використання молекутами неуглеводних субстратів / І. П. Токовенко, Л. П. Малиновська. // Магістеріум. Вип. 16. Природничі науки / Національний університет "Києво-Могилянська академія". - 2004. - С. 41-44. // Режим доступу: <http://udobreniya.pro/planriz-instrukciya-po-primeneniyu-preparata-otzyvy-svoystva-kak-razvesti-dejstvuyushhee-veshhestvo/>
2. [Електронний ресурс] // Режим доступу: <https://cherkasybiozakhyst.com/planriz-bio/p98>
3. [Електронний ресурс] // Режим доступу: https://sezon.com.ua/product/planriz-1-1-biofungitsid-kontaktno-sistemnogo-deystviya-biotekhnika/?gclid=EAIaIQobChMIVInh46Ху6AIVxI2yCh22RAXREAQYASABEGl58fD_BwE
4. [Електронний ресурс] // Режим доступу: <http://www.pesticity.ru/pesticide/planriz>
5. Пат. № 2678133 РФ. Питательная среда для культивирования *pseudomonas fluorescens* ар-33 / Яценко Е. С., Бойко С. С., Евдокимов И. Ю., и др. – Оpubл. 25.01.2019.
6. Акимова Е.Е. Бактерии *Pseudomonas* sp. В-6798 как антагонисты роста фитопатогенных грибов и стимуляторы роста растений / Минаева О.М., Акимова Е.Е., Гущина Ю.А., Евдокимов Е.В. // Проблемы экологической безопасности и природопользования в Западной Сибири. Труды ТГУ, серия биологическая. – Т. 266 – Томск: 2004. – С. 55–59.
7. Власова Е. П. Салицилатгидроксилаза *Pseudomonas fluorescens* 142NF(pNF142): Свойства и роль в гидроксировании феназинов // автореферат диссертации на соискание научной степени кандидата химических наук. – Москва, 2011. – 27 с.
8. [Електронний ресурс] // Режим доступу: <https://megasvit.ua/melassa-v-harkove-patoka-cena/melassa-800ml/>
9. [Електронний ресурс] // Режим доступу: <https://www.systopt.com.ua/kalij-fosfornokyslyj-kaliyu-fosfat-2-zamishhenyj/>

10. [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://prom.ua/ua/p905232086-sulfat-magniya-polsha.html>
11. [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://hmelnickiy.flagma.ua/uk/prodam-goroh-kolotiy-zhovtiy-o2851791.html>
12. [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://fermercenter.com/ua/yantarnaya-kislota-1-kg-fasovka-fermer-centr->
13. [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://cherkassy.flagma.ua/uk/laprol-402-2-100-polipropilenglikol-o2311109.html>
14. [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://russian.alibaba.com/product-detail/supply-100-natural-tryptone-62109064827.html?spm=a2700.8699010.normalList.5.4e86426du2QhsD>
15. [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://russian.alibaba.com/product-detail/Bulk-yeast-extract-industrial-fermentation-yeast-60723937613.html?spm=a2700.8699010.normalList.2.5f9974bdK59rqF&s=p>
16. [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://russian.alibaba.com/product-detail/food-grade-99-disodium-hydrogen-phosphate-dsp-na2hpo4-62324863361.html?spm=a2700.galleryofferlist.0.0.484b52f1j3fuzk&s=p>
17. [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://russian.alibaba.com/product-detail/98-food-grade-monopotassium-phosphate-kh2po4-62417815770.html?spm=a2700.galleryofferlist.0.0.7ce13c212IJ65g&s=p>
18. [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://russian.alibaba.com/product-detail/plant-price-ammonium-chloride-pharma-grade-medical-industry-salt-nh4cl-60697792661.html?spm=a2700.galleryofferlist.0.0.3a7378188Fb0nK>
19. [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://russian.alibaba.com/product-detail/pure-nacl-60306894453.html?spm=a2700.galleryofferlist.0.0.53777c454YIark&s=p>
20. [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://russian.alibaba.com/product-detail/magnesium-sulfate-mgso4-price-60801262700.html?spm=a2700.galleryofferlist.0.0.68a83302PgovqQ>

21. [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://russian.alibaba.com/product-detail/prompt-delivery-lower-price-best-quality-cacl2-calcium-chloride-granular-60451018936.html?spm=a2700.galleryofferlist.0.0.ce66593bMeLw2q&s=p>
22. [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://russian.alibaba.com/product-detail/food-and-injection-grade-organic-dextrose-d-glucose-anhydrous-d-glucose-50-99-7-glucose-62454158979.html?spm=a2700.galleryofferlist.0.0.64cc370csdyzGA&s=p>
23. [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://zaporozhe.flagma.ua/kazein-tehnicheskij-kislotny-o3661129.html>
24. [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://russian.alibaba.com/product-detail/yeast-autolysate-60415865320.html?spm=a2700.8699010.normalList.8.6a7e37f82otU8F>
25. [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://russian.alibaba.com/product-detail/food-grade-organic-dextrose-d-glucose-anhydrous-d-glucose-50-99-7-glucose-62205722736.html?spm=a2700.galleryofferlist.0.0.67ea370cCjnqTe>
26. [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://russian.alibaba.com/product-detail/ammonium-sulphate-price-industry-grade-agricultural-grade-n-21-nitrate-fertilizer-nh4-2so4--60704662847.html?spm=a2700.galleryofferlist.0.0.15c642eeHogrUw&s=p>
27. [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://russian.alibaba.com/product-detail/food-grade-powder-k2hpo4-price-dipotassium-62021690558.html?spm=a2700.8699010.normalList.2.346d3827CuBozd&s=p>
28. [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://prom.ua/ua/p1130593562-sernokislyj-magnij-epsomskaya;wholesale.html>
29. [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://prom.ua/ua/p274731750-sulfat-margantsa-marganets.html>
30. [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://prom.ua/ua/p1097619205-pinogasnik-antifoam-penogasitel.html>
31. [Электронный ресурс] // Режим доступа: https://ru.wikipedia.org/wiki/Pseudomonas_fluorescens#%D0%9E%D1%81%D0%BD%D0%BE%D0%B2%D0%BD%D1%8B%D0%B5_%D0%B1%D0%B0%D0%BA%D1%82%D0%B5%D1%80%D0%B8%D0%BE%D0%BB%D0%BE%D0%B3%D0%B8%D1%8

[87%D0%B5%D1%81%D0%BA%D0%B8%D0%B5_%D1%85%D0%B0%D1%80%D0%B0%D0%BA%D1%82%D0%B5%D1%80%D0%B8%D1%81%D1%82%D0%B8%D0%BA%D0%B8](https://www.pesticidy.ru/active_substance/pseudomonas_fluorescens)

32. [Електронний ресурс] // Режим доступу:

https://www.pesticidy.ru/active_substance/pseudomonas_fluorescens

33. Питательная среда для культивирования *Pseudomonas fluorescens* AP-33: RU 2678133 С1: МПК С12N 1/20 (2006.01), С12Q 1/04 (2006.01), С12R 1/38 (2006.01) / Е. С. Яценко, М. В. Ширманов, И. Ю. Евдокимов [и др.]; патентообладатель Алтайский государственный университет. - № 2018100387; заявл. 09.01.2018; опубл. 23.01.2019, Бюл. № 3. - 8 с.

34. [Електронний ресурс]//Компанія «Черкасибіозахист»; Режим доступу:

<https://cherkasybiozakhyst.com/planriz-bio/p98>

35. [Електронний ресурс]// Державна служба статистики; Режим доступу:

<http://ukrstat.org/uk>

36. [Електронний ресурс]// Онлайн асистент фермера “Куркуль”; Режим доступу:

<https://kurkul.com/blog/459-agroekspeditsiya-tsukroviy-buryak-2017-ternopilaska-ta-hmelnitska-oblasti-medobori-i-svarog-vest-grup>

37. [Електронний ресурс]// Інформаційно-аналітична система “Аграрії разом”;

Режим доступу: <https://agrarii-razom.com.ua/active-ingredients/pseudomonas-fluorescens>

38. [Електронний ресурс]: Науково-виробничий центр “Черкасибіозахист”; Режим доступу: https://bio.ck.ua/index.php?route=product/product&product_id=56

39. [Електронний ресурс]// ТОВ “Біо Центр”; Режим доступу:

<https://centrbio.com.ua/p636405954-planriz-bio-tsentr.html>

40. [Електронний ресурс]// ТОВ “Біо Центр”; Режим доступу:

<https://agronabor.com.ua/p545633654-planriz-biofungitsid-biotehnika.html>

41. Є. П. Власова, К. В. Петриков, І. Ф. Пунтус, і т.д. Середовища і умови культивування *Pseudomonas* sp. 142NF для отримання біомаси з максимальною активністю фермента саліцилатгідроксилази // Известия Тульского

государственного университета. Серия Естественные науки. – 2008. – № 1. – С. 197-203.

42. Власова Є. П. Саліцилатгідроксилаза *Pseudomonas fluorescens* 142 NF(pNF142): Властивості і роль в гідроксилюванні феназінів. / Власова Є. П. // - автореферат дисертації на здобуття вченого ступеню кандидату хімічних наук. – Москва: ТНУ, 2011. – 27 с.

43. Конспект лекцій з дисципліни “Загальна біотехнологія” для для здобувачів першого (бакалаврського) рівня вищої освіти за освітньопрофесійною програмою «Біотехнології та біоінженерія» зі спеціальності 162 Біотехнології та біоінженерія/ Укл.: старший викладач Філімоненко О.Ю. – Кам'янське, ДДТУ, 2019.– 158 с.

44. [Електронний ресурс] // Режим доступу:

<https://studfile.net/preview/5194311/page:3/>

45. [Електронний ресурс]// Інтернет-магазин “Prom.ua”; Режим доступу:

<https://khimmix.ua/smesiteli-dlya-zhidkостей/>

46. [Електронний ресурс]// Інструкція по експлуатації лабораторного автоклава моделі MLS-3751/3751L; Режим доступу:

<https://www.awt.ru/upload/iblock/c84/c847adee897442a12548732454804c0a.pdf>

47. Ю.І. Сидоров, Р.Й. Вязло, В.П. Новиков, Проектування мікробіологічної промисловості. Підручник. Львів, Л.П., 2005.

48. Загальна (промислова) біотехнологія: навчальний посібник/ М.Д. Мельничук, О.Л.Кляченко, В.В.Бородай, Ю.В.Коломієць. – Київ: ФОП Корзун Д.Ю., 2014. - 252 с.

49. Методичні вказівки до практичних занять з дисципліни «Основи проектування» для здобувачів першого (бакалаврського) рівня вищої освіти зі спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія»/ Укладач: Гуляєв В.М. -

Кам'янське: ДДТУ, 2019 р. – 71 с.

50. Технологія отримання сухих бактеріальних заквасок [Електронний ресурс]// Режим доступу: <http://propionix.ru/tehnologiya-polucheniya-suhih-zakvasok>

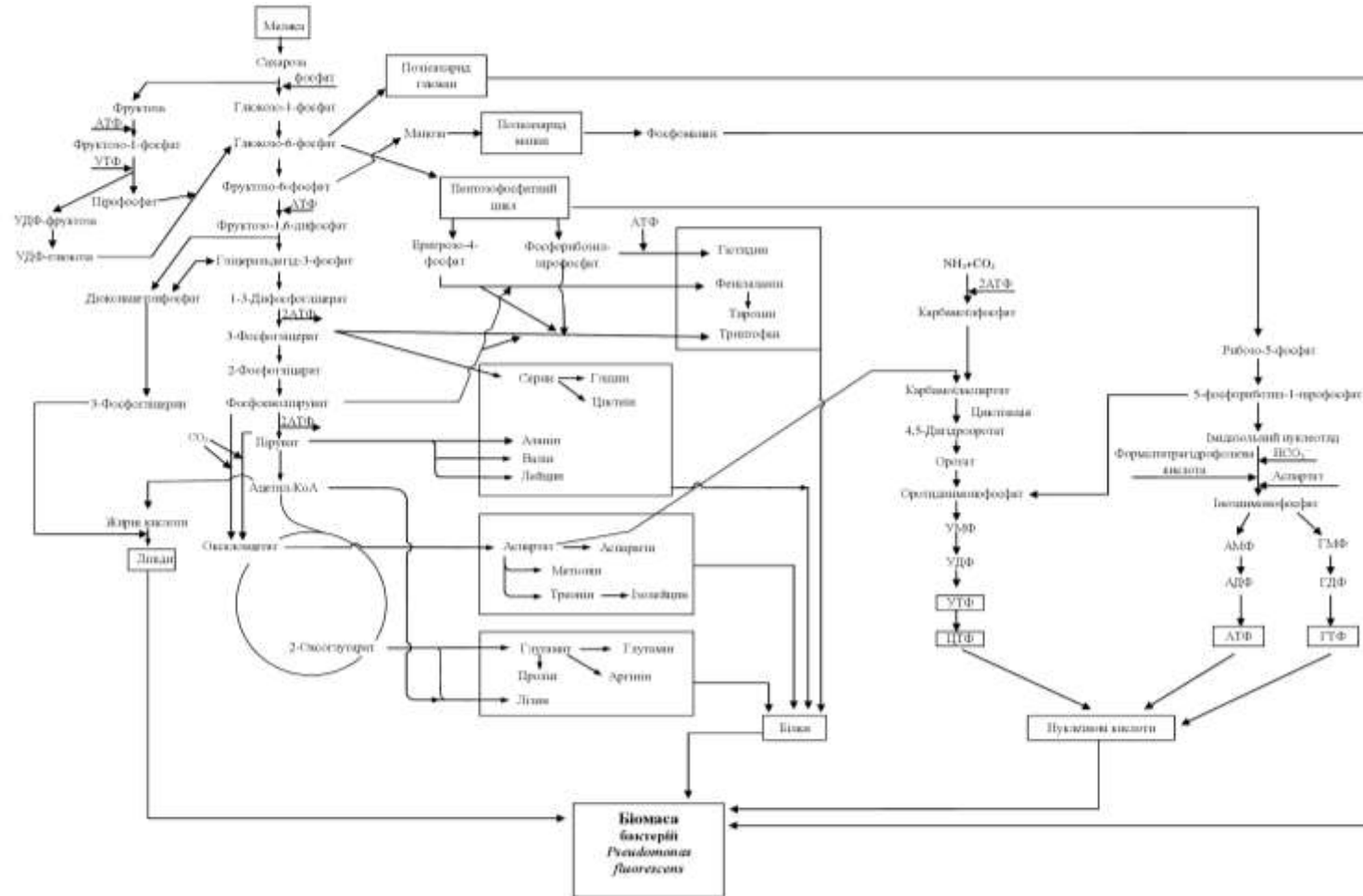
51. [Електронний ресурс]// Інженерні системи “Alter Air”; Режим доступу:

<https://alterair.ua/product/vozdushnyye-panelnyye-filtry-gruboy-ochistki-g1-g4/>

52. [Электронный ресурс]// Компания ООО "Торговый Дом АЭРО"; Режим доступа:
https://aerocompressors.ru/katalog_produkcii/kompressori/vintovye_elektricheskie_kompressory/kompressory_atlas_copco/vintovye_kompressory_atlas_copco_serii_gx/vintovoj_kompressor_atlas_copco_gx7_10ff400v_3f_50gc_bez_nce_tm_2001/
53. [Электронный ресурс]// Группа компаний "Ventbazar Plus"; Режим доступа:
<https://ventbazar.ua/okhladitel-freonovi-vents-okf-400kh200-3.html>
54. [Электронный ресурс]// ООО "ПГ Векпром"; Режим доступа:
<https://www.stroyka.tools/shop/vozdushnyj-resiver-lv-240-230l/>
55. [Электронный ресурс]// Компания "МойСрой"; Режим доступа:
https://moystroy.com.ua/elektricheskij-nagrevatel-vents-100-1-6-1?gclid=Cj0KCQiA7qP9BRCLARIsABDaZzja3fGl83GT03MO8woyFRVtIGbOtofGIOJx9o9LermQLhF3lghrgn0aAnzgEALw_wcB
56. [Электронный ресурс]// ООО «Торговый Дом «СКБ Технофильтр»; Режим доступа:
<https://tehnofilter.ub.ua/ru/goods/view/6364274/all/filtr-tonkoy-ochistki-vozduha-ftov-hepa-hepa/>
57. [Электронный ресурс]// Компания ТОВ "Етатрон-Україна"; Режим доступа:
https://www.etatron.com.ua/pumps/peristaltic_pumps/bh3-v/
58. [Электронный ресурс]// Электронный фонд правовой і нормативно-технічної документації; Режим доступа:
<http://docs.cntd.ru/document/1200067870>
59. <https://tapflo.ua/products/centrifugal/centrifugal-industrial-pumps/cti-cth-pumps>
60. Sedicanter Flottweg [Электронный ресурс]// Режим доступа:
<https://www.flottweg.com/ru/product-lines/sedicanter/>
61. Розпилювальна сушарка APV ANHYDRO H3795 [Электронный ресурс]// Режим доступа:
<https://perryvidex.all.biz/raspylitelnaya-sushilka-apv-anhydro-h3795-g13458392>
62. Пакувальна машина для порошоків 5 кг [Электронный ресурс]// Режим доступа:
<http://m.ua.mixerjx.com/packing-machine/powder-packing-machin/powder-packaging-machine-5kg.html>

63. Ю.В. Карлаш. Основи проектування біотехнологічних виробництв: Конспект лекцій для студентів напряму 6.051401 «Біотехнологія» денної та заочної форм навчання / Уклад.: Ю.В.Карлаш - К: НУХТ, 2013. – 143 с.
64. Як працює ліофільна сушка [Електронний ресурс]// Режим доступу: <https://ten24.com.ua/blog/kak-rabotaet-liofilnaya-sushka/>
65. Мікробіологія: культивування і ріст бактерій. Практичне керівництво для студ. біологіч. спец. вузів / І. І. Концевая; М-во освіти РБ, Гомельський держ. ун-т ім. Ф. Скоріни. –Чернігів: Десна Поліграф, 2017. – 44 с.
66. Юрченко О.І., Дрозд А.В., Бугаєвський О.А. Аналітична хімія. Загальні положення. Якісний аналіз. – Харків: ХНУ, 2002. – 123 с.
67. Загальна (промислова) біотехнологія навчальний посібник/ М.Д. Мельничук, О.Л.Кляченко, В.В.Бородай, Ю.В.Коломієць. – Київ: ФОП Корзун Д.Ю., 2014.-252 с.
68. Фотометрические методы определения аммиака [Електронний ресурс] // Режим доступу: <http://c-carbon.info/?p=745>.
69. Chaykin, S. (1969) Assay of nicotinamide deamidase. Determination of ammonia by the indophenol reaction. Anal. Biochem. 31,375-382.
70. P.S. Cabral, J. (1994). Comparison of methods to assay ammonia in bacterial suspensions. Journal of Microbiological Methods, 19(3), 207–213. doi:10.1016/0167-7012(94)90071-x/
71. Екологічні біотехнології: теорія і практика.: Навчальний посібник. – Вінниця, ТОВ «Нілан-ЛТД», 2015. – 254 с.
72. [Електронний ресурс]//Пестециды.ru; Режим доступу: https://www.pesticidy.ru/active_substance/pseudomonas_fluorescens_AP-33#:~:text=Классы%20опасности.,4%20классу%20опасности%20для%20пчел.
73. Пирог Т. П., Ігнатова О. А. Загальна біотехнологія: Підручник. – К.: НУХТ, 2009. – 336 с.

Схема катаболізму субстрату у *Pseudomonas fluorescens* AP-33



Джерело, звідки бралися умови культивування для *Pseudomonas fluorescens* AP-33

Технологія приготування поживної середовища. Для використання гороха шліфованного вимагається його попередня обробка. Горох шліфований, в кількості 250 г/л промити водопровідною водою, помістити в флакон ємністю 1 літр, і довести до літра дистильованою водою. Закрити флакон пробкою герметично. Далі автоклавувати впродовж 1 години при 2 Ваг. Після автоклавування охолодити до кімнатної температури і двічі процідити через два шари марлі. Отриманий після обробки горох поєднати з іншими компонентами середовища і довести до 1 л дистильованою водою. Значення рН повинно відповідати 7,5-7,6 од. рН. Далі стерилізувати в автоклаві 40 хвилин при 1,2-1,4 Ваг. Отримане середовище має світло-жовтий колір, «чистий» запах і незначительний осадок. Культивування мікроорганізмів проводиться впродовж 20-24 годин, температура - $28 \pm 2^\circ\text{C}$, примусова аерація зі швидкістю обертання 250 об/хв. Для збереження посівного матеріалу на твердій поживній середовищі інкубація проводиться впродовж 24-48 годин, температура - $28 \pm 2^\circ\text{C}$ в термостаті. Далі зберігання посівного матеріалу *Pseudomonas fluorescens* AP-33 впродовж 6 місяців при

Таблиця 1. Состав жидкой питательной среды для культивирования

Pseudomonas fluorescens AP-33 (рН 7.6).

Компонент среды	Концентрация (г/л)
Меласса	15.0
Калий фосфорнокислый двузамещенный трехводный	0.5
Сульфат магния семиводный	0.2
Горох шлифованный, предварительно обработанный автоклавированием	250.0
Янтарная кислота	0.05
Лапрол	5.0
Дистиллированная вода	до 1 л

Предлагаемая жидкая питательная среда для культивирования бактерий позволяет получить количество микроорганизмов *Pseudomonas fluorescens* AP-33 1.0×10^{11} КОЕ/см³, которая сохраняется в течение 45 дней, при хранении в жидкой среде.

**Джерело, звідки бралися умови культивування
для *Pseudomonas* sp. В-6798**

Питательные среды и культивирование Культивирование бактерий *Pseudomonas* sp В-6798 осуществлялось на минимальной среде М9 (Миллер, 1976) с формальдегидом (4 г/л) путем каскадного пересева культуры. В процессе роста культуры происходило закисление среды до pH=4.5-5.0, поэтому в среду добавлялся аммиак. Контроль численности клеток осуществляли согласно общепринятой методике (Руководство к практическим занятиям по микробиологии, 1995). Бактерии *P. fluorescens* AP-33 (биопрепарат «Планриз») в 2002 г культивировали на ферментационной установке, в 2004 г были предоставлены ФГУ «Томская станция защиты растений». Для выращивания фитопатогенных грибов использовался 20 % сусло-агар, крепостью 4-6 ° по Баллингу.

Изучение влияния сред различного состава В ходе экспериментов семена пшеницы замачивались на 30 мин в суспензии бактерий *Pseudomonas* sp В-6798 выращенных на различных средах в концентрации 10^6 - 10^7 клеток/мл минеральной среде М9 с глюкозой, среде М9 с формальдегидом (4 г/л), богатой питательной среде, содержащей пептон, глицерин, свекловичную мелассу и кукурузный экстракт. В качестве контроля использовалась дистиллированная вода. Эксперимент проводился в пяти повторностях, по 100 семян на каждый вариант. Влияние сред на активность бактериальной культуры оценивали с помощью фитопатологического анализа одновременно с замером длины молодого растения.

**Джерело, звідки бралися умови культивування
для *Pseudomonas* NF 142**

проводилось в колбах при температурі 26°C , при перемішуванні.

Выращивание микроорганизмов в ферментере АНКУМ-2М об'ємом 10 л с коэффициентом заполнения 0,6-0,7 проводили в следующих условиях.

Среда : кислотный гидролизат казеина (КГК) – 10 г/л; дрожжевой автолизат (ДА) – 70 г/л; $(\text{NH}_4)\text{SO}_4$ – 6 г/л; K_2HPO_4 – 12 г/л; глюкоза – 20 г/л; MgSO_4 – 0,3 г/л; MnSO_4 – 0,05 г/л; СОФЭКСИЛ – 0,8 мл/л; воды до 6 л. Стерилизовали при 0,8 атм, 116°C , 40 мин.

Режим культивирования: температура – 28°C ; $\text{pH} = 6,8 \pm 0,2$; аэрация 3 л/мин от 0 до 4 часов роста; 6,0 л/мин до окончания культивирования (15 часов роста для ферментации с индукцией салицилатом и 25 часов роста для ферментации с индукцией дизельным топливом). В качестве добавок использовали в 1-ой ферментации – салицилат 0,2 г/л, во 2-ой ферментации – дизельное топливо 0,4 мл/л. Добавки вносили однократно в конце логарифмической фазы роста культуры.

Как видно из данных рис. 1, удельная активность салицилатгидроксилазы сравнима при выращивании на среде Эванса с нафталином ($0,050 \pm 0,004$ U/мг белка), салицилатом ($0,033 \pm 0,003$) и в ферментере с богатой средой, но