

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

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

«До захисту в ЕК»
Декан факультету
_____ Наталія ГРЕГІРЧАК
(підпис) (ім'я та прізвище)

«___» _____ червня _____ 2025 р.

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

«___» _____ червня _____ 2025 р.

**КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА
НА ЗДОБУТТЯ ОСВІТНЬОГО СТУПЕНЯ БАКАЛАВРА**

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

освітньо-професійної програми _____ «Біотехнології: фармацевтична, _____
промислова, харчова, природоохоронна»

на тему: Культивування *Klebsiella pneumoniae* для одержання 2,3-бутандіолу

Виконала: здобувачка IV курсу, групи II

_____ КОВАЛЮК Олеся Русланівна _____
(прізвище, ім'я, по батькові повністю) (підпис)

Керівник _____ ВОРОНЦОВ Олександр Олександрович _____
(прізвище, ім'я та по батькові повністю) (підпис)

Консультанти _____ (ім'я та прізвище) _____ (підпис)

_____ (ім'я та прізвище) _____ (підпис)

Рецензент _____ Марія СІНЧУК _____
(ім'я та прізвище) (підпис)

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

Здобувач _____
(підпис)

Київ – 2025 р.

НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ

Інститут (факультет) Біотехнології та екологічного контролю

Кафедра біотехнології і мікробіології

Освітній ступінь бакалавр

Спеціальність 162 «Біотехнології та біоінженерія»

(код і назва)

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

(назва)

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри біотехнології і
мікробіології

Віктор СТАБНИКОВ

“ 01 ” березня 2025 року

З А В Д А Н Н Я

НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ ЗДОБУВАЧА

КОВАЛЮК Олесі Русланівни

(прізвище, ім'я, по батькові)

1. Тема роботи Культивування *Klebsiella pneumoniae* для одержання 2,3-бутандіолу

керівник роботи ВОРОНЦОВ Олександр Олександрович, доцент, к.т.н.

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

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

2.Строк подання здобувачем роботи 28 травня 2025 р.

3.Вихідні дані до роботи: біологічний агент - *Klebsiella pneumoniae*; цільовий

продукт – 2,3-бутандіол; геометричний об'єм ферментера – 4000 л; коефіцієнт заповнення – 0,6.

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

Характеристика цільового продукту; обґрунтування вибору та характеристика

біологічного агента; техніко-економічне обґрунтування; біосинтез цільового

продукту; обґрунтування вибору технологічної схеми; специфікація обладнання;

опис технологічної схеми; виділення та очищення цільового продукту; контроль

виробництва.

5. Перелік графічного матеріалу

Апаратурна схема біосинтезу 2,3-бутандіолу – 2 аркуші формату А2;

Технологічна схема біосинтезу 2,3-бутандіолу – 1 аркуш формату А2.

6. Консультанти розділів роботи

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

7. Дата видачі завдання 01.03.2025 р.

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№	Назва етапів виконання кваліфікаційної роботи	Строк виконання етапів роботи	Примітка
1.	Характеристика цільового продукту	01.03.25 – 09.03.25	
2.	Обґрунтування вибору та характеристика біологічного агента	10.03.25 – 22.03.25	
3.	Техніко-економічне обґрунтування	24.03.25 – 04.04.25	
4.	Біосинтез цільового продукту	05.04.25 – 11.04.25	
5.	Обґрунтування вибору технологічної схеми виробництва	12.04.25 – 26.04.25	
6.	Специфікація обладнання	27.04.25 – 04.05.25	
7.	Опис технологічної схеми	05.05.25 – 17.05.25	
8.	Виділення та очищення цільового продукту	05.05.25 – 17.05.25	
9.	Контроль виробництва	18.25.25 – 21.04.25	
10.	Оформлення кваліфікаційної роботи	21.05.25 - 28.05.25	
11.	Оформлення графічної частини	21.05.25- 28.05.25	

Здобувач _____
(підпис)

Олеся КОВАЛЮК
(ім'я та прізвище)

Керівник роботи _____
(підпис)

Олександр ВОРОНЦОВ
(ім'я та прізвище)

ABSTRACT

The qualification work is focused on the development of technological and equipment schemes for the biosynthesis of 2,3-butanediol by the producer *Klebsiella pneumoniae* HD79-02 (concentration of the target product 46.21 g/l). In the course of the work, 2,3-butanediol is proposed to be used in the cosmetic industry as a component of facial skin care creams. As part of such products, it exhibits anti-inflammatory and antioxidant properties.

The technology for the biosynthesis of 2,3-butanediol includes the following auxiliary stages: preparation of aeration air, preparation of a stock solution, preparation of titration solutions of HCl and NaOH, preparation of a nutrient solution, as well as preparation and sterilization of the nutrient medium. The main technological process includes three stages of growing the inoculum and cultivating in a fermenter with a volume of 4000 l with a filling factor of 0.6.

After the biosynthesis stage, 2,3-butanediol is isolated and purified, since a high-purity product is required for use in the cosmetic industry.

The qualification work consists of an introduction, nine chapters, a list of references, appendices, a technological scheme (A2 format, 1 sheet) and an apparatus scheme (A2 format, 2 sheets). The total volume of the work is 100 pages, 79 references to literature.

Keywords: 2,3-butanediol, *Klebsiella pneumoniae* HD79-02, cultivation, biosynthesis, 2,3-butylene glycol, antioxidant, cosmetic industry, secondary metabolite.

РЕФЕРАТ

Кваліфікаційна робота спрямована на розробку технологічної та апаратурної схем біосинтезу 2,3-бутандіолу продуцентом *Klebsiella pneumoniae* HD79-02 (концентрація цільового продукту 46,21 г/л). В ході роботи 2,3-бутандіол пропонується використовувати в косметичній промисловості, як компонент складу кремів для догляду за шкірою обличчя. У складі таких засобів він проявляє протизапальні та антиоксидантні властивості.

Технологія біосинтезу 2,3-бутандіолу включає такі допоміжні етапи: підготовка аераційного повітря, приготування запасного розчину, приготування титрувальних розчинів HCl та NaOH, підготовка підживлюючого розчину, а також підготовка та стерилізація поживного середовища. Основний технологічний процес охоплює три стадії вирощування інокуляту та культивування у ферментері об'ємом 4000 л з коефіцієнтом заповнення 0,6.

Після етапу біосинтезу здійснюється виділення та очищення 2,3-бутандіолу, оскільки для використання в косметичній сфері необхідний продукт високої чистоти.

Кваліфікаційна робота складається зі вступу, дев'яти розділів, списку використаних джерел, додатків, технологічної схеми (формат А2, 1 аркуш) та апаратурної схеми (формат А2, 2 аркуші). Загальний обсяг роботи – 122 сторінки, 81 посилання на літературу.

Ключові слова: 2,3-бутандіол, *Klebsiella pneumoniae* HD79-02, культивування, біосинтез, 2,3-бутиленгліколь, антиоксидант, косметична промисловість, вторинний метаболіт.

ЗМІСТ

ВСТУП.....	8
РОЗДІЛ 1. ХАРАКТЕРИСТИКА ЦІЛЬОВОГО ПРОДУКТУ.....	10
1.1 Загальна характеристика.....	10
1.2 Виробництво 2,3-бутандіолу.....	11
1.3 Сфери застосування.....	12
1.3.1 Косметична промисловість.....	12
1.3.2 Виробництво біопалива.....	12
1.3.3 Сільське господарство.....	13
1.3.4 Харчова промисловість.....	13
РОЗДІЛ 2. ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТА ХАРАКТЕРИСТИКА БІОЛОГІЧНОГО АГЕНТА.....	14
2.1. Обґрунтування вибору біологічного агента та поживного середовища для його культивування.....	14
2.2. Перевірочний розрахунок складу поживного середовища для вирощування штаму <i>Klebsiella pneumoniae</i> HD79-02 – продуцента 2,3-бутандіолу.....	19
2.3. Морфолого-культуральні та фізіолого-біохімічні ознаки біологічного агента.....	20
2.4. Таксономічний статус біологічного агента.....	22
РОЗДІЛ 3. ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ.....	23
3.1. Актуальність використання 2,3-бутандіолу у косметичі.....	23
3.2. Розрахунок потужності виробництва.....	25
3.3. Розрахунок геометричного об'єму ферментера.....	27
3.4. Розрахунок кількості стадій отримання посівного матеріалу для ферментера 4000 л.....	28
РОЗДІЛ 4. БІОСИНТЕЗ ЦІЛЬОВОГО ПРОДУКТУ.....	31
4.1. Шляхи катаболізму ростового субстрату у біологічного агента.....	31
4.2. Біотрансформація ростового субстрату у цільовий продукт.....	32
РОЗДІЛ 5. ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ.....	36
5.1. Обґрунтування способу культивування і типу ферментера.....	36
5.2. Обґрунтування вибору стадії підготовки аераційного повітря.....	37
5.3. Вибір мийних та дезінфікуючих засобів.....	38
5.3.1. Обґрунтування вибору мийних та дезінфікуючих засобів.....	38
5.3.2. Розрахунок витрат мийних та дезінфікуючих засобів.....	45
5.4. Особливості підготовки та стерилізації поживного середовища.....	52
5.4.1 Приготування підживлювального розчину.....	53
5.4.2 Особливості підготовки і стерилізації поживного середовища для одержання інокуляту в колбах на качалках.....	53
5.4.3 Особливості підготовки і стерилізації поживного середовища для вирощування інокуляту в посівних апаратах 40 л та 400 л.....	54
5.5.4. Особливості підготовки і стерилізації поживного середовища для виробничого біосинтезу.....	56
РОЗДІЛ 6. СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ.....	58
РОЗДІЛ 7. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ.....	62

РОЗДІЛ 8. ВИДІЛЕННЯ ТА ОЧИЩЕННЯ 2,3-БУТАНДІОЛУ.....	71
8.1. Відділення біомаси.....	71
8.2. Обґрунтування стадії виділення та очищення 2,3-бутандіолу.....	72
8.3. Фасування, маркування, пакування.....	75
РОЗДІЛ 9. КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА.....	77
9.1. Мікробіологічний контроль.....	77
9.2. Визначення концентрації біомаси бактерій.....	78
9.3. Показники росту і синтезу цільового продукту.....	79
9.3.1. Визначення концентрації 2,3-бутандіолу.....	79
9.3.2 Визначення концентрації джерела вуглецю.....	79
9.3.3 Визначення концентрації джерела азоту.....	79
9.4. Карта контрольних точок виробництва 2,3-бутандіолу.....	81
СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ.....	86
ДОДАТКИ.....	96

ВСТУП

У сучасному світі, де зростає потреба у стабільних та екологічно безпечних хімічних продуктах, 2,3-бутандіол (2,3-BD) набуває все більшого значення як багатofункціональна сполука з широким спектром застосування. Цей діол є важливою сировиною для хімічної, фармацевтичної, паливної та косметичної промисловості, а його виробництво за допомогою біотехнологічних методів відкриває нові можливості для розвитку біоекономіки.

Косметична галузь є однією із найбільших динамічно розвиваючих секторів сучасної індустрії, яка реагує на постійно зростаючі запити споживачів щодо інноваційних, ефективних та екологічно безпечних продуктів. В останні десятиліття спостерігається тенденція до використання природних компонентів, зокрема біологічно активних речовин, які отримують із відновлюваних джерел. Ця тенденція обумовлена як зростаючою екологічною свідомістю суспільства, так і прагненням виробників досягати високої якості продукції, що відповідає вимогам безпечності та ефективності.

2,3-бутандіол – це органічна речовина, яка має широкий спектр властивостей, таких як зволожувальна, емульгуюча та антиоксидантна активність. Завдяки цим характеристикам, він знайшов своє застосування в косметичній індустрії, де використовується як компонент зволожувальних кремів, засобів для догляду за волоссям та декоративної косметики.

Виробництво 2,3-бутандіолу є важливим напрямком сучасної біотехнології, що поєднує в собі екологічні переваги з високим комерційним потенціалом. Подолання технологічних бар'єрів, таких як підвищення ефективності біосинтезу та зниження собівартості, дозволить перетворити цю сполуку на ключовий компонент "зеленої" хімії майбутнього.

					НУХТ БТЕК 04.02.39 КР ПЗ		
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата			
Розроб.		Ковалюк О. Р.			Літ.	Арк..	Аркушів
Перевір.		Воронцов О. О.				8	122
Реценз.					ВСТУП Кафедра БТМ		
Н.Контр.							
Затверд.		Стабніков В. П.					

На сьогоднішній день 2,3-бутандіол виробляють хімічним та біотехнологічними способами. Хімічний спосіб практикується дуже рідко, адже він є дуже дорогим у використанні та складним за своєю методикою. Біотехнологічне виробництво 2,3-бутандіолу відбувається за допомогою мікробіологічної ферментації. Важливою перевагою використання мікроорганізмів для синтезу 2,3-бутандіолу є те, що більшість мікроорганізмів можуть використовувати як субстрати безліч різноманітних речовин, включно з відходами та CO. Це дає змогу не лише синтезувати цінні продукти, а й переробляти відходи інших виробництв і покращувати навколишню екологію[1]. Наразі дуже багато мікроорганізмів здатні синтезувати 2,3-бутандіолу, але до найбільш поширених продуцентів належать *Klebsiella Pneumonia*, *Serratia marcescens*, *Enterobacter ludwigii* та *Paenibacillus polytuxa*.

Робота є актуальною, оскільки поєднання мікробного синтезу із сучасними потребами ринку косметичних продуктів сприяє розробці екологічно чистих технологій і створенню продуктів нового покоління.

Новизна роботи: використання високопродуктивного штаму *Klebsiella pneumoniae* HD79, що синтезує цільовий продукт – 2,3-бутандіол у концентрації 46,21 г/л та потенційне застосування 2,3-бутандіолу у косметичній промисловості.

РОЗДІЛ 1. ХАРАКТЕРИСТИКА ЦІЛЬОВОГО ПРОДУКТУ

1.1 Загальна характеристика

2,3-Бутандіол (бутиленгліколь, 2,3-BDO) – є безбарвною кристалічною твердою або рідкою речовиною. Не має запаху та солодкий на смак. Хімічна формула: $C_4H_{10}O_2$. Молекулярна маса: 90,12 г/моль[2].

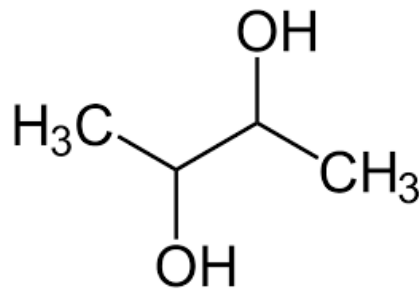


Рис. 1.1. Структурна формула 2,3-бутандіолу

2,3-бутандіол існує у 3 ізомерних формах: (2R,3R)- і (2S,3S)- є оптично активними, тоді як *meso*-форма оптично неактивна[10]. У будь-якому конкретному процесі оптичний ізомер і кількість утвореного 2,3-бутандіолу залежать від конкретного використовуваного мікроорганізму (рис. 1.1.). Наприклад, під час бродіння глюкози більшістю видів *Klebsiella* утворювалися лише (2S,3S)-2,3-бутандіолу і *meso*-2,3-бутандіолу, тоді як *Bacillus subtilis* виробляв (2R,3R)-2, 3-BD і *meso*-2,3-BD[11].

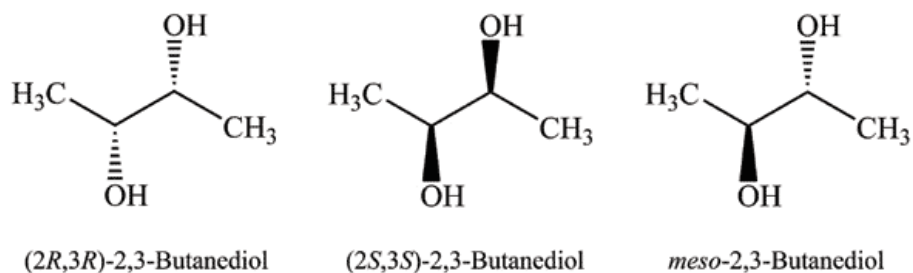


Рис.1.2. Стереїзомери 2,3-бутандіолу

					НУХТ БТЕК 04.02.39 КР ПЗ		
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата			
Розроб.		Ковалюк О. Р.			Літ.	Арк..	Аркушів
Перевір.		Воронцов О. О.				10	122
Реценз.					10		
Н.Контр.					Кафедра БТМ		
Затверд.		Стабніков В. П.					

Властивості[2,3]:

Температура кипіння 182 °С при 1 атм (760,00 мм рт.ст)

Температура плавлення 25 °С

Густина 1,002 г/мл при 20 °С

Температура самозаймання 756 °F (402 °С)

В'язкість 0,121 кв. м/с при 25 °С

pH: 7 (H₂O, 20 °С) Водний розчин

Коефіцієнт розподілу: -0,92 при 25 °С

Межі вибуховості: 3,1-11,4 %

Теплота згоряння: -2461 кДж/моль при 20 °С

Показник заломлення: 1,438 при 20 °С

Константи кислотної дисоціації: pK_a = 14,9 при 25 °С; K_b = 0,33 при 25 °С

Дана речовина добре розчиняється у низькомолекулярних кетонах, спиртах та ефірах, а також легко змішується з водою у будь-яких пропорціях. При нагріванні до температури розкладу виділяє токсичні пари та їдкий дим. Проявляє хімічну несумісність з сильними окисниками, ангідридами кислот, хлорангідридами, хлорформіатами та активними відновниками, що вимагає особливої обережності під час її використання та зберігання. [2].

1.2. Виробництво 2,3-бутандіолу

2,3-Бутандіол можна отримати за допомогою хімічних або біотехнологічних методів.

Хімічний синтез полягає у дегідруванні бутану для отримання бутілену, який далі окиснюють з використанням окисників (наприклад, перекису водню або органічних перекисів) і каталізаторів. Кінцевим етапом є гідратація утворених епоксидів, даний процес найкраще проходить у кислому середовищі.[8]

Оскільки хімічний синтез 2,3-бутандіолу є дорогавартісним, тому зазвичай віддають перевагу біотехнологічним методам (мікробний синтез)[9]

Мікроорганізми здатні використовувати широкий спектр речовин у вигляді субстрату, у тому числі відходи та вуглекислий газ. Тому це є значною перевагою їх використання. Це не тільки сприяє виробництву цінних продуктів, але й дозволяє

переробляти побічні продукти інших галузей промисловості, сприяючи тим самим поліпшенню екологічної ситуації.[7]

1.3. Сфери застосування

1.3.1. Косметична промисловість

У косметичній індустрії 2,3-бутандіол є цінним інгредієнтом завдяки своїм зволожувальним властивостям, які допомагають підтримувати водний баланс шкіри, також він ефективно розчиняє, диспергує та стабілізує інші складові косметичних засобів, виступаючи вдалою альтернативою бутиленгліколю. [4] В складі емульсій він рівномірно розподіляє на шкірі активні речовини (вітамін С, кераміди), що забезпечує отримання споживачем потрібної кількості корисних компонентів для шкіри при щоразовому використанні.[4]

В складі косметичних засобів концентрація даної речовини становить 1-10%, залежно від призначення та функції продукту. Але навіть найменша концентрація забезпечує стабілізацію інших компонентів та відмінно виконує свою функцію на шкірі. [4] Варто зазначити, що 2,3-бутандіол виступає також антиоксидантом та УФ-абсорбером.[5] Позитивними властивостями нашого цільового продукту є відсутність токсичного та подразнюючого впливу на шкіру. [5]

1.3.2. Виробництво біопалива

Перспективним компонентом для виробництва біопалив та паливних добавок є 2,3-бутандіол (2,3-BDO), який володіє високою теплотою згоряння. Ця властивість робить його привабливим для змішування з традиційними паливами - бензином або дизелем. Важливою перевагою 2,3-BDO є здатність значно збільшувати октанове число за рахунок високих антидетонаційних властивостей. Похідною речовиною 2,3-бутандіолу є метилетилкетон (МЕК).[5]

Технологія виробництва біопалива з 2,3-бутандіолу (2,3-BDO) може здійснюватись двома шляхами. Дегідратація до 1,3-бутадієну – сировини для авіапалива (C8-C16) або конверсія в МЕК з подальшою олігомеризацією та гідруванням у високооктанові добавки. [5]

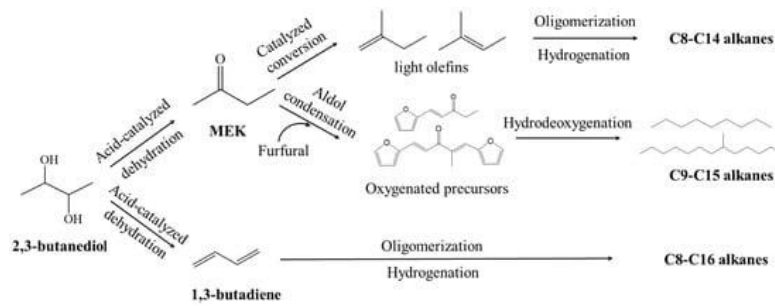


Рис. 1.3. Шляхи переробки 2,3-бутандіолу в паливо

Незважаючи на потенціал, застосування 2,3-BDO у виробництві біопалив стикається з технологічними та економічними викликами. Оскільки процес виділення та очищення 2,3-BDO з ферментаційного бульйону та необхідність великої кількості водню для гідрування знижуються його комерційну популярність. Попри це, все рівно триває пошук зниження собівартості та розширення масштабів його виробництва (наприклад, інтеграція біотехнологічних і хімічних методів, використання відходів біодизелю та розробка каталітичних процесів). [5]

1.3.3. Сільське господарство

2,3-бутандіол знайшов своє застосування також в сільському господарстві, оскільки він виявляє антимікробні властивості та підтримує ріст рослин. Наукові дослідження, показали, що він захищає та підвищує стійкість від грибкових збудників захворювань. Його дія в складі фунгіцидів значно покращує боротьбу проти різноманітних грибків, що значно зменшує обсяги потреби у використанні пестицидів. Ізомерна форма 2,3-бутандіолу (мезо-2,3-бутандіол) активує імунітет рослин та захищає від бактеріального в'янення томатів. [5]

1.3.4. Харчова промисловість

У харчовій промисловості 2,3-бутандіол використовується для підвищення якості та зберігання продуктів. Цей хімічний реагент застосовується для збереження свіжості фруктів та овочів, а також у виготовленні різноманітних спецій та приправ. Цікавим є той факт, що 2,3-бутандіол здатен покращувати смакові якості вин, роблячи його більш м'яким та приємним на смак. [5,6]

РОЗДІЛ 2. ОБГРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТА ХАРАКТЕРИСТИКА БІОЛОГІЧНОГО АГЕНТА

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

2,3-Бутандіол — це діол, що складається з чотирьох атомів вуглецю, який який синтезується шляхом біологічного ферментативного бродіння.[8] Ця універсальна сполука набула особливого значення в промисловості завдяки своїй багатогранності застосувань. Вона активно використовується як ключовий компонент у різних галузях – від виробництва полімерів і косметики до фармацевтики та харчової промисловості. Крім того, 2,3-БД виступає ефективним антифризом (температура кристалізації $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$) і перспективною паливною добавкою: його теплота згоряння (27,2 кДж/г) перевищує показник метанолу (22,1 кДж/г) і наближається до етанолу (29,1 кДж/г), що робить його конкурентоспроможним у сфері рідких палив. [8,9].

У більшості досліджень для виробництва 2,3-бутандіолу використовували такі бактерії, як *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Enterobacter aerogenes* та *Raenibacillus polymyxa* [9,10].

Узагальненні дані щодо отримання 2,3-бутандіолу (2,3-БД) наведено у таблиці 2.1. Так, найбільшу кількість 2,3-БД (46,21 г/л) продукує штам *K. pneumoniae* HD79-02 [11]. Меншу концентрацію 2,3-БД – 25,88 г/л та 24,48 г/л – *Raenibacillus polymyxa* ZJ-9 і *K. pneumoniae* KG1, відповідно [12,13]. Тривалість культивування для цих 3-х продуцентів становить 72, 60, 24 год.

					НУХТ БТЕК 04.02.39 КР ПЗ			
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Ковалюк О. Р.			РОЗДІЛ 2. Обґрунтування вибору та характеристика біологічного агента	Літ.	Арк..	Аркушів
Перевір.		Воронцов О. О.					14	122
Реценз.						14		
Н.Контр.						Кафедра БТМ		
Затверд.		Стабніков В. П.						

Таблиця 2.1

Особливості одержання 2,3-бутандіолу різними продуцентами

Біологічний агент	Склад поживного середовища:		Тривалість культивування, год	Концентрація 2,3-бутандіолу, г/л	Особливості процесу біосинтезу	Використана література
	компонент	концентрація, г/л				
1	2	3	4	5	6	7
<i>Klebsiella pneumoniae</i> HD79-02	Глюкоза Дріжджовий екстракт ZnSO ₄ ×7H ₂ O MnSO ₄ ×H ₂ O CaCl ₂ ×2H ₂ O MgSO ₄ ×7H ₂ O (NH ₄) ₂ SO ₄ K ₂ HPO ₄ KH ₂ PO ₄	150 5 0,001 0,001 0,001 0,25 6,6 8,7 6,8	72	46,21	pH-6,8, t° = 30°C, частота обертання мішалки 150 об/хв	Ge, J., Wang, J., Ye, G., Sun, S., Guo, R., Song, G., & Ping, W. (2020). Disruption of the lactate dehydrogenase and acetate kinase genes in <i>Klebsiella pneumoniae</i> HD79 to enhance 2, 3-butanediol production, and related transcriptomics analysis. <i>Biotechnology Letters</i> , 42, 537-549.
<i>Paenibacillus polymyxa</i> ZJ-9	Інулін Глюкоза Пептон Дріжджовий екстракт MgSO ₄ ·7H ₂ O K ₂ HPO ₄ MnSO ₄ ·H ₂ O NH ₄ Cl FeSO ₄ ·7H ₂ O ZnSO ₄ ·7H ₂ O	75 15 2 6 0,5 3,09 0,001 0,93 0,04 0,001	60	25,88	t° = 30°C, pH 6	Zhang, L., Cao, C., Jiang, R., Xu, H., Xue, F., Huang, W., ... & Gao, J. (2018). Production of R, R-2, 3-butanediol of ultra-high optical purity from <i>Paenibacillus polymyxa</i> ZJ-9 using homologous recombination. <i>Bioresource Technology</i> , 261, 272-278.

Продовження таблиці 2.1

<i>Klebsiella pneumoniae</i> KG1	Глюкоза	80	24	24,48	t° = 35°C, частота обертання мішалки 150 об/хв	Guo X.-W., Zhang Y.-H., Cao Ch.-H., Shen T., Wu M.-Y, Chen Y.-F., C.- Zhang Y., Xiao D.-G. Enhanced production of 2,3-butanediol by overexpressing acetolactate synthase and acetoin reductase in <i>Klebsiella pneumoniae</i> . <i>Biotechnology and Applied Biochemistry</i> 2014 6:707-15. doi: 10.1002/bab.1217
	Дріжд. екстракт	10				
	KH ₂ PO ₄	7,2				
	K ₂ HPO ₄	2				
	(NH ₄) ₂ SO ₄	4				
	CH ₃ COONa					
	P-н мікр. 1 мл	3				
	ЕДТА	0,09				
	CaCl ₂ ·2H ₂ O	0,9				
	ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0,6				
	FeSO ₄ ·7H ₂ O	0,2				
	H ₃ BO ₃	0,156				
	MgCl ₂ ·2H ₂ O	0,08				
	Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0,06				
	CoCl ₂ ·2H ₂ O	0,06				
CuSO ₄ ·5H ₂ O	0,02					
KI						

Таблиця 2.2

Вартість поживних середовищ для культивування продуцентів 2,3-БД

Продуцент	Компонент поживного середовища	Концентрація у ПС, г/л	Ціна компонента, грн/кг	Вартість компонента (грн) на 1 л середовища	Джерело інформації (1, 2, 3)*
1	2	3	4	5	6
<i>Klebsiella pneumoniae</i> HD79-02	Глюкоза	150	90,00	13,5	1
	Дріжджовий екстракт	5	1800,00	9	2
	ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0,001	95,00	0,000095	3
	MnSO ₄ ·H ₂ O	0,001	95,00	0,000095	4
	CaCl ₂ ·2H ₂ O	0,001	60,00	0,00006	5
	MgSO ₄ ·7H ₂ O	0,25	120,00	0,03	6
	(NH ₄) ₂ SO ₄	6,6	80,00	0,528	7
	K ₂ HPO ₄	8,7	187,00	1,6269	8
	KH ₂ PO ₄	6,8	150,00	1,02	9
Вартість 1 л середовища – 25,7 грн					
<i>Paenibacillus polymyxa</i> ZJ-9	Інулін	75,00	571,00	42,825	10
	Глюкоза	15,00	90,00	1,35	1
	Пептон	2	1320,00	2,64	11
	Дріжджовий екстракт	6,00	1800,00	10,8	2
	MgSO ₄ ·7H ₂ O	0,5	120,00	0,06	6
	K ₂ HPO ₄	3,09	187,00	0,57783	8
	MnSO ₄ ·H ₂ O	0,001	95,00	0,000095	4
	NH ₄ Cl	0,93	95,00	0,08835	12
	FeSO ₄ ·7H ₂ O	0,04	65,00	0,0026	13
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0,001	95,00	0,000095	3	
Вартість 1 л середовища – 58,34 грн					
<i>Klebsiella pneumoniae</i> KG1	Глюкоза	80	90,00	8	1
	Дріжджовий екстракт	10	1800,00	18	2
	KH ₂ PO ₄	10	150,00	2	9
	K ₂ HPO ₄	7,2	187,00	0,6912	8
	(NH ₄) ₂ SO ₄	2	80,00	0,202	7
	CH ₃ COONa	4	140,00	0,56	14
	ЕДТА	3	259,00	0,687	15
	CaCl ₂ ·2H ₂ O	0,09	60,00	0,0054	5
	ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0,9	95,00	0,072	3
	FeSO ₄ ·7H ₂ O	0,6	65,00	0,048	13
	H ₃ BO ₃	0,2	115,00	0,023	16
	MgCl ₂ ·2H ₂ O	0,156	75,00	0,0117	17
	Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0,08	1600,0	0,128	18
	CoCl ₂ ·2H ₂ O	0,06	2850,0	0,171	19
	CuSO ₄ ·5H ₂ O	0,06	184,00	0,011	20
KI	0,02	4500,00	0,07	21	
Вартість 1 л середовища – 30,6 грн					

Примітка. * – Ціни наведено станом на травень 2025 року

- 1– <https://chefs-shop.com/uk/glyukoza-1kg>,
- 2– <https://prom.ua/ua/p1086437845-ekstrakt-drozhzhej.html>,
- 3-https://mychem.in.ua/ua/p1830467432-sulfat-tsinka-vodnyj.html?srsId=AfmBOoqOAP7_J7tV9pWMYcSWxgOGhsj1sb6Ui7vIOI9kUakBT0XOTJB
- 4 – <https://prom.ua/ua/p1091474067-marganets-ternokislyj-sulfat.html>
- 5 – <https://prom.ua/ua/p2298227859-kaltsij-hloristyj-vodnyj.html>,
- 6 – <https://himreagent.com.ua/ua/p1091469729-magnij-ternokislyj-vodnyj.html>,
- 7 - <https://himreagent.com.ua/ua/p1192757855-ammonij-ternokislyj-sulfat.html>,
- 8-<https://harkiv-torg.com.ua/ua/p825624658-kalij-fosfornokislyj-zameschennyj.html?srsId=AfmBOoIPtNOVt8F3y0zuFOoMBBPexJMVlgEzLbmi7UdnX0wo7EQwHhX>
- 9-<https://himreagent.com.ua/ua/p1091383043-kalij-fosfornokislyj-zameschennyj.html>,
- 10-https://ecoprod.in.ua/ua/p1282254223-inulin-1kg.html?srsId=AfmBOorCOhXM5s9NW0Ph740iR-BxJC5R6wC4ixUTWyJnHJsn_bn0Amq,
- 11-<https://www.systopt.com.ua/item-pepton-fermentatyvnyj?srsId=AfmBOopjKeaLgDHOq4LuWgssKwHM3kCHSL7X4qN5pK643U5QFvVXeql>,
- 12 - <https://himreagent.com.ua/ua/p1090663782-ammonij-hloristyj-tehnicheskij.html>,
- 13- <https://himreagent.com.ua/ua/p1090561770-zhelezo-ternokisloe-vodnoe.html>,
- 14 - <https://himreagent.com.ua/ua/p2385884384-natrij-uksusnokislyj-bezvodnij.html>,
- 15 - <https://prom.ua/ua/p1116337844-trilon-dinatryevaya-sol.html>,
- 16 - <https://himreagent.com.ua/ua/p1087748756-bornaya-kislota-turtsiya.html>,
- 17 - <https://prom.ua/ua/p1089918018-magnij-hloristyj-vodnyj.html>,
- 18 - <https://prom.ua/ua/p18391031-natrij-molibdenovokislyj-vod.html>
- 19 - <https://tov-srp.com/product/hloryd-kobaltu/>,
- 20 - <https://prom.ua/ua/p1884861271-sulfat-medi-med.html>,
- 21-<https://reaplust.com.ua/kalj-jodistyj-ki-vd-1-kg?srsId=AfmBOoqDBqZgbCOKgL60fVGZO1X-K53vqW3RLNZEomL9XR04J6EcFqmE>

Таблиця 2.3

Умовна вартість 1 г 2,3-бутандіолу, синтезованого на різних поживних середовищах

Біологічний агент	Концентрація 2,3-бутандіолу, г/л	Тривалість культивування, год	Кількість утвореного 2,3-бутандіолу за годину, г/год	Вартість 1 л середовища, грн/л	Умовна вартість 1 г цільового продукту, грн/г
1	2	3	4	5	6
<i>Klebsiella pneumoniae</i> HD79-02	46,21	72	0,642	25,7	0,56
<i>Raenibacillus polymyxa</i> ZJ-9	25,88	60	0,431	58,34	2,25
<i>Klebsiella pneumoniae</i> KG1	24,48	24	1,02	30,6	1,25

При виборі біологічного агента було розраховано вартість поживних середовищ для культивування обраних продуцентів 2,3-бутандіолу (табл. 2.2).

Як видно із даних, наведених у табл. 2.2 для 3 штамів продуцентів, найбільш дешево поживне середовище (25,7 грн) для культивування *Klebsiella pneumoniae* HD79-02, а найдорожче – для *Raenibacillus polymyxa* ZJ-9 (58,34 грн).

Для кінцевого вибору найефективнішого біологічного агента виконали розрахунок умовної вартості 1 г цільового продукту (табл. 2.3). Дані, наведені у

табл. 2.3, засвідчують, що кількість утвореного 2,3-БД за 1 год є найвищою у *Klebsiella pneumoniae* KG1 (1,02 г/год) і найнижчою (0,431 г/год) у *Paenibacillus polymyxa* ZJ-9. Найвища умовна вартість цільового продукту 2,25 грн/г була отримана для *Paenibacillus polymyxa* ZJ-9, що у 4 рази вище за мінімальну вартість цільового продукту – 0,56 грн/г для *K. pneumoniae* HD79-02.

Враховуючи це, а також вище наведені цифри, найбільш оптимальним продуцентом 2,3-БД є *K. pneumoniae* HD79-02.

2.2. Перевірочний розрахунок складу поживного середовища для вирощування штаму *Klebsiella pneumoniae* HD79-02– продуцента 2,3-бутандіолу

Тривалість культивування 72 год, концентрація 2,3-БД в культуральній рідині становить 46,21 г/л. [11]

Розрахунок вмісту в середовищі джерела азотного живлення

Потреби для синтезу біомаси.

Продукт	Вміст N ₂ , %	Вміст N ₂ , г/л
Дріжд.екстракт	10	0,5
(NH ₄) ₂ SO ₄		1,4
Σ		1,9

Основним джерелом азоту виступає (NH₄)₂SO₄, його вміст в середовищі становить 6,6 г/л, де концентрація азоту становить 1,4 г/л. Крім дріжджового екстракту Нітроген міститься також, в 5 г/л дріжджового екстракту. Сумарна кількість азоту становить 1,9 г/л.

Припустимо, що у біомасі міститься 10 % Нітрогену. Таким чином, 1,9 г/л азоту (за елементом N) становить $(1,9 \times 100)/10=19$ г/л біомаси.

Наявної кількості азоту в середовищі теоретично достатньо для синтезу 19 г/л біомаси.

Розрахунок вмісту в середовищі джерела вуглецевого живлення

Потреби для синтезу 2,3-БД. Як джерело вуглецю для одержання 2,3-БД використовується глюкоза. Розрахуємо, скільки вуглецю (за елементом С) міститься в 46,21 г 2,3-БД. Молекулярна маса 2,3-БД становить 90 г/моль. Отже, у

90 г 2,3-БД ($C_4H_{10}O_2$) міститься 48 г Карбону, а в 46,21 г 2,3-БД ($46,21 \times 48,0$) / 90 = 24,65 г/л Карбону.

Потреби для синтезу біомаси. В біомасі (19 г/л) вміст карбону становить 50%, тобто $19 \times 0,5 = 9,5$ г/л. Ця кількість Карбону міститься у $(9,5 \times 100)/40 = 23,75$ г вуглеводів. Під час вирощування продуцента на глюкозі близько 50% субстрату використовується на «холосте окислення», тобто $(23,75 \times 0,5) + 23,75 = 35,6$ г/л Карбону. Сумарна кількість глюкози, яку необхідно внести в середовище становить: $\Sigma C = 24,65 + 9,5 + 35,6 \approx 69,75$ г/л.

Наявна концентрація глюкози в середовищі (150 г/л) більша за розраховану потребу ($\approx 69,75$ г/л), отже, вуглецевого джерела також достатньо для синтезу 46,21 г/л 2,3-бутандіолу та 19 г/л біомаси.

Розрахунок Фосфору в середовищі

В біомасі вміст фосфору становить 3%, то для синтезу 19 г/л біомаси нам необхідно 0,57 г/л фосфору. У поживному середовищі фосфор міститься в 8,7 г/л K_2HPO_4 та 6,8 г/л KH_2PO_4 . Відповідно кількість фосфору у даних сполуках становить 1,549 г/л та 1,55 г/л, що сумарно становить 3,099 г/л. Отже, фосфор міститься у середовищі у надлишку.

Інші компоненти середовища

Джерелами життєво необхідних для росту бактерій елементів – кальцію, хлору, магнію та сірки – є такі сполуки, як хлорид кальцію ($CaCl_2 \times 6H_2O$), сульфат магнію ($MgSO_4 \times 7H_2O$), сульфат заліза ($FeSO_4 \times 7H_2O$), сульфат цинку ($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$) та сульфат марганцю ($MnSO_4 \cdot H_2O$).

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

Морфолого-культуральні ознаки

Бактерії *Klebsiella pneumoniae* HD79-02 - відносяться до грамнегативних мікроорганізмів. Вони є нерухомими та не утворюють спор, мають паличкоподібну форму. Розмір клітин становить близько $1-2 \times 0,5-0,8$ мкм. Їхня здатність до утворення капсули захищає їх від впливу імунної систему організму. Розміщуються ланцюжками, парами та поодинокі [14,15].

Культивування бактерій даного штаму проводять на живильних середовищах таких як, МПА та МПБ. При культивуванні на агаризованих середовищах утворюються сіро-білі слизисті круглі колонії, а в МПБ спостерігається помутніння середовища з утворенням плівки та тягучого слизистого осаду [15]. На середовищі Мак-Конкі бактерії *K. pneumoniae* формують насичено-червоні колонії з блискучою поверхнею, що пов'язано з їхньою здатністю розщеплювати лактозу [17].



Рис.3.1 *K. pneumoniae* на агарі Мак-Конкі

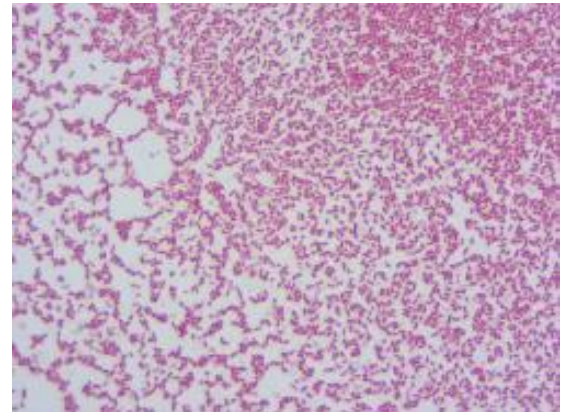


Рис. 3.2 Клітини *K. pneumoniae* Фарбування за Грамом

Фізіолого-біохімічні ознаки

Штам *Klebsiella pneumoniae* HD79-02 належить до факультативних анаеробів. За типом живлення – хемоорганогетеротрофи, тому джерелом вуглецю та енергії є органічні сполуки. Ріст бактерій відбувається за умов оптимального рН у межах 6,5–7,5, що свідчить про їхню нейтрофільність. Температурний оптимум становить 35–37 °С, тому бактерії класифікуються як мезофіли. Не утворюють індолу[14,15].

Дані мікроорганізми характеризуються каталазопозитивністю та відсутністю оксидазної активності. Вони ефективно ферментують широкий спектр вуглеводів, включаючи глюкозу (з утворенням кислоти та газу), а також арабінозу, інозит, ксилозу та інші цукри, що супроводжується кислототворенням. Бактерії здатні гідролізувати сечовину і ескулін, проте не проявляють желютиназної активності та не здатні до ферментації дульциту. [16] Штами чутливі до карбапенемів (імпіпенему, меропенему) та аміноглікозидів (амікацину, нетилміцину), проте виявляють резистентність до гентаміцину, фторхінолонів (ципрофлоксацину) та цефалоспоринів третього покоління (цефтриаксону). [16]

Бактерії колонізуються на слизових оболонках верхніх дихальних шляхів і шлунково-кишкового тракту людини. Потрапивши до організму, вони здатні проявляти високий рівень патогенності та антибіотикорезистентності [19].

3.3. Таксономічний статус біологічного агента

Філогенетичну класифікацію для *Klebsiella pneumonia* наведено відповідно даних UniProt [18]:

Домен: *Бактерії (Bacteria)*

Тип: *Proteobacteria*

Клас: *Gamma Proteobacteria*

Ряд: *Enterobacteriales*

Родина: *Enterobacteriaceae*

Рід: *Klebsiella*

Вид: *Klebsiella pneumonia*

РОЗДІЛ 3. ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБГРУНТУВАННЯ

3.1. Актуальність використання 2,3-бутандіолу у косметиці

2,3-Бутандіол є перспективною речовиною для різних галузей промисловості, зокрема хімічної, косметичної, аграрної та фармацевтичної. Дослідження показали, що його біосинтез за допомогою мікроорганізмів є економічно вигіднішим у порівнянні з класичними хімічними методами виробництва.[20]

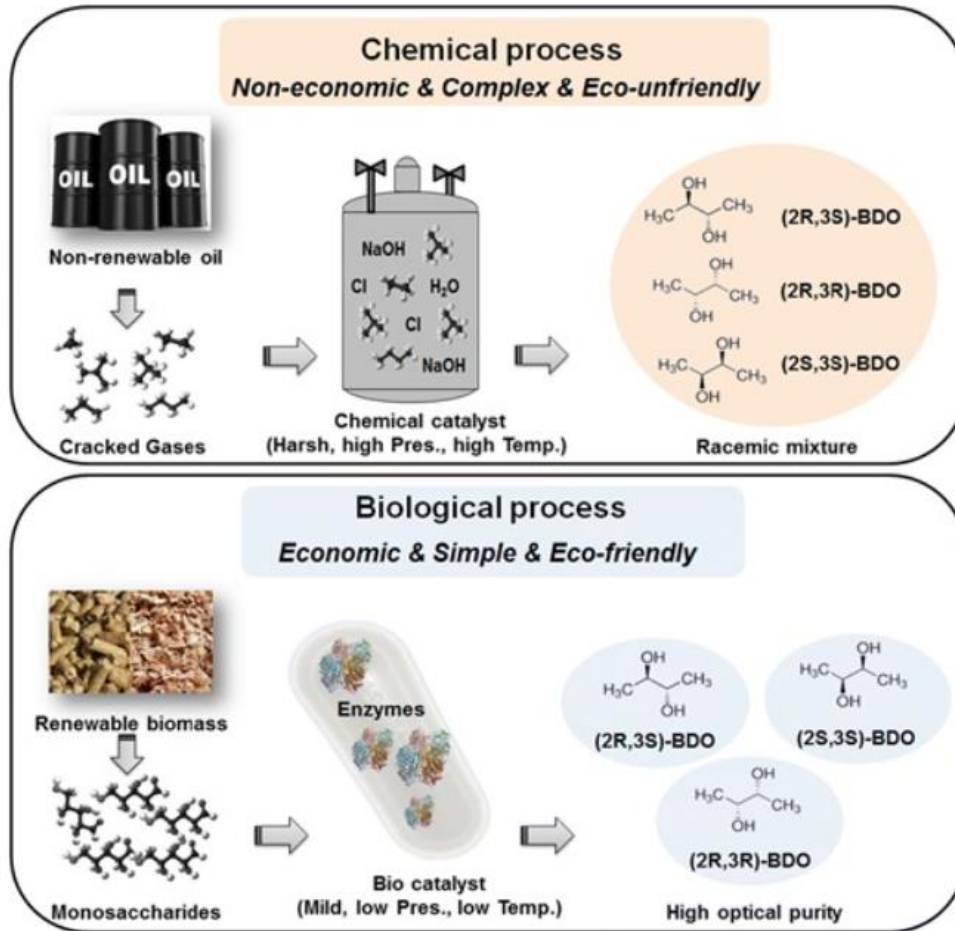


Рис. 3.1. Шляхи синтезу 2,3-бутандіолу. Хімічний (з крекінг-газів, дає суміш ізомерів) та біологічний (з цукрів за допомогою бактерій або дріжджів, дає чисті ізомери). [20]

					НУХТ БТЕК 04.02.39 КР ПЗ			
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Ковалюк О. Р.			РОЗДІЛ 3. Техніко- економічне обґрунтування	Літ.	Арк..	Аркушів
Перевір.		Воронцов О. О.					23	122
Реценз.						23		
Н.Контр.						Кафедра БТМ		
Затверд.		Стабніков В. П.						

В косметичній промисловості 2,3-бутандіол має широке застосування, оскільки цінується антиоксидантними властивостями та здатністю поглинати ультрафіолетове випромінювання [21]. Поліамідні похідні 2,3-бутандіолу активно використовуються у складі косметичних засобів завдяки їхній нетоксичності та безпечності для шкіри. Завдяки цим корисним характеристикам 2,3-бутандіол набув широкого застосування в косметичній індустрії і був внесений до Міжнародної номенклатури косметичних інгредієнтів [21].

Патент [22] повідомляє, що 2,3-бутандіол може бути використаний як активний інгредієнт фармацевтичної або косметичної композиції. Дія 2,3-бутандіолу в складі косметичного засобу обумовлена його протизапальною, антиоксидантною активністю та здатністю сприяти зменшенню зморшок. 2,3-бутандіол функціонує як протизапальний активний інгредієнт, проявляючи ефект профілактики або лікування запальних захворювань шкіри.

Активні форми кисню утворюються під впливом зовнішніх факторів, таких як забруднення довкілля або УФ-випромінювання, що призводить до подразнення шкіри. Надлишкова генерація цих речовин у фібробластах дерми стимулює вироблення матрикс-металопротеїназ (ММП), які руйнують колаген, еластин, глікозаміноглікани та гіалуронову кислоту. В результаті це спричиняє появу зморшок і прискорює процеси старіння шкіри.

Активні форми кисню можуть бути причиною утворення або загострення акне, atopічних захворювань та псоріазу, а старіння шкіри та рак можуть утворюватись внаслідок запальних процесів і алергічних реакцій.

Згідно інформації з патенту [22], 2,3-бутандіол класифікується як активний інгредієнт, оскільки видаляє активні форми кисню завдяки антиоксидантній дії. Ефект видалення активного кисню можна дослідити методом поглинання радикалів (DPPH-тест) або методом поглинання вільних радикалів (ABTS). Наведено, що 2,3-бутандіол демонструє потенціал у профілактиці та комплексному лікуванні дерматологічних патологій (меланома, atopічний дерматит, псоріаз, акне) завдяки своїй здатності нейтралізувати вільні радикали.

Як було згадано вище, зморшки можуть виникати через зменшення кількості колагену в шкірі, спричинене пошкодженням білків матриксу, таких як колаген і еластичні волокна. У такому випадку зменшення зморшок можна досягти шляхом прискорення вироблення колагену, уповільнення руйнування еластину, зменшення активності ферментів, що розщеплюють колаген, а також активації фібробластів.

Наприклад, при пошкодженні матричних білків шкіри, такі як колагенові та еластичні волокна, шкірний бар'єр порушується, що є ризиком виникнення різних шкірних захворювань - псоріаз, себореї та атопічний дерматит. Тому згідно з науковими відомостями про властивості 2,3-бутандіолу, косметичну композицію з включенням цієї речовини можна використовувати як засіб для зменшення зморшок [22].

Наукові дослідження підтверджують, що багато косметичних продуктів містять компоненти з потенційно шкідливим впливом на здоров'я. Зокрема, парабени, які широко використовуються як консерванти, пов'язують із підвищеним ризиком онкологічних захворювань, порушенням фертильності та гормональним дисбалансом. Крім того, доведено, що тривале застосування такої косметики може прискорювати процеси старіння шкіри. Окрему загрозу становлять такі компоненти, як пропіленгліколь та етиленгліколь – їхня присутність у складі може спровокувати алергічні реакції (наприклад, кропив'янку) або навіть розвиток екземи. Враховуючи це, критично важливо ретельно вивчати склад косметичних засобів, щоб уникнути вживання потенційно небезпечних речовин. [23].

Сьогодні особливо зростає попит на безпечну та ефективну доглядову косметику. Біотехнології відіграють тут ключову роль, оскільки їхні продукти нетоксичні, безпечні та екологічно чисті, що відповідає вимогам сучасного ринку

3.2. Розрахунок потужності виробництва

Враховуючи факт, що здебільшого доглядовою косметикою користується жіноча половина людства приймемо, що будемо забезпечувати жінок України кремом для обличчя з 2,3-бутандіолом.

Оскільки асортимент доглядових кремів для обличчя є край різноманітним, для розрахунків приймемо, що будемо забезпечувати жінок з двох областей

України, а саме Полтавської та Хмельницької. Дані Державної статистики України засвідчують, що на 1 січня 2022 року чисельність жінок у Полтавській області склала 722656 осіб та у Хмельницькій області - 655 503 осіб [24]. Спираючись на дані гендерного профілю областей оберемо як цільову групу жінок 15–64 років, що налічувала 481 317 жінок в Полтавській області[25] та 400 822 жінок в Хмельницькій області[27]. Загальна чисельність жінок вікової групи 15-64 років у двох вибраних регіонах складає 882 139 осіб. Прийmemo, що будемо забезпечувати нашим кремом лише 30% цих жінок.

$$882\ 139 - 100\%$$

$$X\ \text{кг} - 35\%$$

$$X = \frac{882\ 139 \times 35}{100} = 308\ 749\ \text{осіб}$$

Виробники кремів запевняють, що однієї-двох горошин крему досить, щоб за одне застосування рівномірно розподілити засіб по всій поверхні шкіри обличчя. Орієнтовно це близько 1 г крему [26].

Для розрахунків прийmemo, що за 1 застосування крему одна жінка витрачає 1 г крему.

Прийmemo термін користування кремом 60 днів для об'єктивної оцінки впливу даного косметичного засобу на шкіру.

За умови використання крему для обличчя зранку та ввечері добова витрата складе 2 г. Тоді за 60 днів використання 1 жінка витрачає крему:

$$2 \times 60 = 120\ \text{г}$$

Далі слід розрахувати обсяг крему для 508 856 жінок Полтавської, Хмельницької та Запорізької областей на курс використання крему 60 днів:

$$120 \times 308\ 749 = 37\ 049\ 880\ \text{г} = 37\ 049,88\ \text{кг}$$

Рівні введення 2,3-бутандіолу до складу косметичних засобів коливаються від 1–10% залежно від цілей формули. [28]

Для розрахунків прийmemo в середньому відсоток введення 2,3-бутандіолу 5%. Враховуючи це розрахуємо скільки 2,3-бутандіолу потрібно для приготування 37 049,88 кг крему:

$$37\ 049,88\ \text{кг} - 100\%$$

$$X \text{ кг} - 5\%$$

$$X = \frac{37\,049,88 \times 5}{100} = 1\,852,5 \text{ кг}$$

Отже, розрахунки підтверджують, що для забезпечення річної потреби у кремні з 2,3-бутандіолом для жінок Полтавської та Хмельницької областей на курс використання такого косметичного засобу 60 днів необхідно одержати 1 852,5 кг 2,3-бутандіолу.

3.3. Розрахунок геометричного об'єму ферментера

Виявлено, що найбільш вигідним та кращим продуцентом є *Klebsiella pneumoniae* HD79-02 - концентрація 2,3-бутандіолу складає 46,21 г/л за 72 годин вирощування [11].

Якщо 1 л культуральної рідини містить 46,21 г 2,3-бутандіолу, то для одержання 1 852,5 кг цього метаболіту слід напрацювати такий об'єм культуральної рідини:

$$1 \text{ л} - 46,21 \text{ г}$$

$$X \text{ л} - 1\,852\,500 \text{ г}$$

$$X = \frac{1\,852\,500}{46,21} = 40\,088,7 \text{ л}$$

Врахуємо 30% втрат 2,3-бутандіолу на стадіях культивування та післяферментаційного виділення та очищення, тоді загалом необхідно культуральної рідини:

$$40\,088,7 \times 1,3 = 52\,115,3 \text{ л}$$

Далі розрахуємо, скільки культуральної рідини слід одержати за цикл ферментації, щоб розрахувати кількість стадій приготування посівного матеріалу [29]. Прийmemo, що одержання річної кількості 2,3-бутандіолу буде проходити упродовж 90 трудоднів. В такому разі об'єм культуральної рідини за добу становитиме:

$$V_d = V_{\text{гп}} / T_{\text{тр}} = 52\,115,3 / 90 \approx 579,1 \text{ л}$$

Кількість продукту за цикл буде становити:

$$V_{\text{цк}} = (K_1 \times V_d \times T_{\text{цф}}) / 24 = (1,1 \times 579,1 \times 82) / 24 = 2\,176,5 \text{ л /цикл},$$

де $T_{\text{цф}}$ – цикл роботи ферментера, який включає тривалість виробничого біосинтезу (72 год) та час підготовки ферментера до роботи (10 год). K_1 – коефіцієнт запасу, що враховує можливість нестерильних операцій ($K_1 = 1,1 - 1,5$) [29].

Визначивши об'єм КР за один цикл і врахувавши коефіцієнт заповнення $K_3=0,5$, визначимо геометричний об'єм ферментера:

$$V_{\Gamma} = V_{\text{крц}}/K_{\text{зап}} = 2\,176,5/0,5 = 4\,353 \text{ л}$$

Приймаємо найближчий за об'ємом стандартний ферментер $V_{\text{ст1}} = 4000$ л.

Уточнюємо коефіцієнт заповнення:

$$K_3 = 2\,176,5/4000 = 0,54$$

3.4. Розрахунок кількості стадій отримання посівного матеріалу для ферментера 4000 л

За один виробничий цикл отримують 2 176,5 л культуральної рідини (згідно пункту 1.3). Втрати культуральної рідини під час біосинтезу (краплинний винос) становлять 10%.

Отже, робочий об'єм ферментера дорівнює 2 176,5 л поживного середовища + посівний матеріал (10%), тобто $2\,176,5 + 218 = 2395$ л.

Уточнюємо коефіцієнт заповнення: $K_{31} = 2395/4000 = 0,6$. Уточнений коефіцієнт заповнення перебуває у вибраних межах для аеробних процесів, отже геометричний об'єм ферментера обрано правильно.

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

Для засіву $V_{\text{роб.1}} = 2176,5$ л середовища необхідно приготувати

$$V_{\text{пм1}} = V_{\text{роб.1}} \times X_{\text{ф}} = 2176,5 \times 0,1 = 218 \text{ л посівного матеріалу,}$$

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

Врахуємо, що при одержанні 218 л інокуляту в посівному апараті 10% води буде втрачено внаслідок краплевиносу через колектор відпрацьованого повітря. З урахуванням цього, об'єм поживного середовища та посівного матеріалу в посівному апараті становитиме:

$$V_{\text{роб.2}} = V_{\text{пм1}} \times (1+E_{\text{ф}}) = 218 \times 1,1 = 240 \text{ л}$$

Уточнюємо коефіцієнт заповнення $240/400=0,6$. Приймаємо посівний апарат об'ємом - $V_{ст2}= 400$ л.

Кількість посівного матеріалу для посівного апарата становить 10 % від об'єму поживного середовища. Отже, для отримання 218 л слід передбачити:

$$V_{пм2} = V_{п.м.1} \times X_{ф} = 218 \times 0,1 = 21,8 \text{ л посівного матеріалу}$$

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

Тоді об'єм поживного середовища в інокуляторі буде становити 21,8 л, а $V_{роб.ін}$:

$$V_{роб.ін} = V_{пс.ін} + V_{пм.колб} = 21,8 + 2,18 = 24 \text{ л}$$

Врахуємо, що при одержанні інокуляту 10% води буде втрачено внаслідок краплиносу. З урахуванням цього об'єм поживного середовища та посівного матеріалу в посівному апараті становитиме:

Уточнюємо коефіцієнт заповнення $24/40 = 0,6$. Приймаємо інокулятор об'ємом 40 л.

Кількість посівного матеріалу для посівного апарата становить 10 % від об'єму поживного середовища. Отже, для засіву $V_{п.м.ін} = 21,8$ л слід передбачити:

$$V_{пм.колб} = V_{п.м.ін} \times X_{ф} = 21,8 \times 0,1 = 2,18 \text{ л посівного матеріалу}$$

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

Вирощування інокуляту $V_{пм.колб} = 2,18$ л для засіву посівного апарата 40 л можна провести у колбах на качалці. $V_{колб} = 750$ мл, $K_{зк} = 0,2$.

Тоді передбачають приготування та стерилізацію необхідної кількості качалочних колб:

$$N_{колб} = V_{пм.колб} / (V_{колб} * K_{зк}) = 2180 \text{ мл} / (750 * 0,2) = 15 \text{ шт.}$$

Отже, для здійснення виробничого культивування *Klebsiella pneumoniae* HD79-02 з метою отримання 2,3-бутандіолу обрано ферментер $V = 4000$ л, а для засіву використати інокулятори об'ємом 400 та 40 л відповідно, та 15 качалочних колб.

Розрахунки кількостей середовища, посівного матеріалу та відповідного ферментаційного обладнання наведено у таблиці 3.1.

Розрахунки середовища, інокуляту та обладнання для синтезу 2,3-бутандіолу

№ стадії	Тип апарата	Геометричний об'єм апарата V_r , л	Коефіцієнт заповнення, K_3 , частка	Робочий об'єм апарата $V_{роб}$, л	Об'єм поживного середовища, $V_{пс}$, л	Об'єм посівного матеріалу, $V_{пм}$, л	Найближчий об'єм апарата, л
1	2	3	4	5	6	7	8
1.	Колби, шт	16×0,75	0,2	-	2,18	-	-
2.	Інокулятор 40 л	40	0,6	24	21,8	2,18	40
3.	Посівний апарат 400 л	400	0,6	240	218	21,8	400
4.	Ферментер	4000	0,6	2395	2176,5	218	4000

РОЗДІЛ 4. БІОСИНТЕЗ ЦІЛЬОВОГО ПРОДУКТУ

4.1. Шлях катаболізму глюкози у *Klebsiella pneumoniae* HD79-02

Ростовим субстратом у поживному середовищі для біосинтезу 2,3-бутандіолу є глюкоза. Згідно KEGG [30], катаболізм глюкози відбувається за шляхом Ембдена-Мейергофа-Парнаса (гліколіз).

Глюкоза під дією ферменту глюкокінази (КФ: 2.7.1.2) перетворюється на глюкозо-6-фосфат. Глюкозо-6-фосфатна ізомераза (КФ 5.3.1.9) каталізує перетворення глюкозо-6-фосфату до фруктозо-6-фосфату. Потім 6-фосфотриозофруктокіназа 2 (КФ 2.7.1.11) активує перетворення фруктозо-6-фосфату на фруктозо-1,6-дифосфат частина якого за допомогою фруктозо-1,6-біфосфатази I (КФ 3.1.3.11) зворотно перетворюється на фруктозо-6-фосфат. На наступному етапі фермент фруктозодифосфатальдолаза, клас II (КФ 4.1.2.13) розщеплює фруктозо-1,6-дифосфату на дві сполуки: гліцеральдегід-3-фосфат та діоксіацетонфосфат. В свою чергу фермент тріозофосфатізомерази (КФ 5.3.1.1) здійснює зворотне перетворення діоксіацетонфосфату на гліцеральдегід-3-фосфат. Далі фермент гліцеральдегід-3-фосфатдегідрогеназа (КФ 1.2.1.12) залучається до перетворення гліцеральдегід-3-фосфату на 1,3-дифосфогліцерат, який під дією фосфогліцераткінази (КФ 2.7.2.3) перетворюється на 3-фосфогліцерат. Фермент фосфогліцератмутаза каталізує перетворення 3-фосфогліцерату до 2-фосфогліцерату, який за допомогою енолази (КФ 4.2.1.11) перетворюється на фосфоенолпіруват. Кінцевим продуктом гліколізу є піруват, який утворюється з фосфоенолпірувату під дією ферменту піруваткінази (КФ.2.7.1.40).

					НУХТ БТЕК 04.02.39 КР ПЗ		
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата			
Розроб.		Ковалюк О. Р.			Літ.	Арк.	Аркушів
Перевір.		Воронцов О. О.				31	122
Реценз.					31		
Н.Контр.					Кафедра БТМ		
Затверд.		Стабніков В. П.					

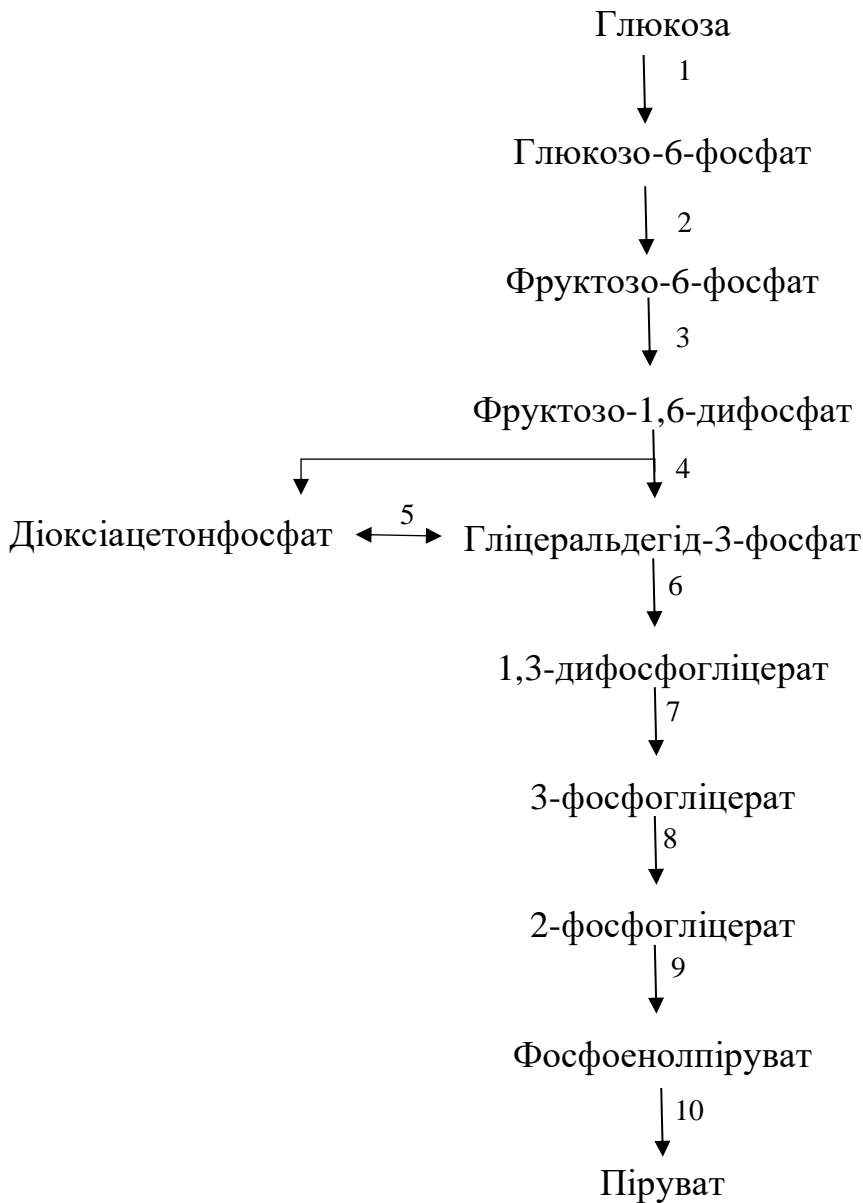


Рис 1. Шлях катаболізму глюкози в *Klebsiella pneumoniae* HD79-02 згідно KEGG [30]

Ферменти: 1 - Глюкокіназа (КФ: 2.7.1.2); 2 – глюкозо-6-фосфатна ізомераза (КФ 5.3.1.9); 3 – 6-фосфоглюкокіназа (КФ 2.7.1.11); 4 – фруктозодифосфатальдолаза (КФ 4.1.2.13); 5 – тріозофосфатізомерази (КФ 5.3.1.1); 6 – гліцеральдегідфосфатдегідрогеназа (КФ 1.2.1.12); 7 – фосфогліцераткіназа (КФ 2.7.2.3); 8 – фосфогліцератмутаза (КФ 5.4.2.11); 9 – енолаза (КФ 4.2.1.11); 10 – піруваткіназа (КФ 2.7.1.40).

4.2. Біосинтез 2,3-бутандіолу *Klebsiella pneumoniae* HD79-02 з глюкози

Під час росту *Klebsiella pneumoniae* HD79-02 джерелом вуглецю в поживному середовищі слугує глюкоза. Вона метаболізується шляхом гліколізу з утворенням

пірувату. Подальше перетворення пірувату за участі ферменту ферредоксиноксидоредуктази (КФ 1.2.7.1) призводить до утворення ацетил-КоА, який надходить до циклу трикарбонових кислот (ЦТК), забезпечуючи клітину енергією та проміжними метаболітами. Анаплеротичні реакції, зокрема карбоксилювання фосфоенолпірувату та пірувату, компенсують втрати інтермедіатів ЦТК шляхом утворення оксалоацетату.

Під дією ацетолактатсинтази I/II/III (КФ 2.2.1.6) з двох молекул пірувату утворюється (S)-2-ацетолактат, який згодом декарбоксилюється ацетолактатдекарбоксилазою (КФ 4.1.1.5) до (R)-2-ацетоїну. Цей продукт відновлюється до *meso*-2,3-бутандіолу за допомогою (S,S)-бутандіолдегідрогенази (КФ 1.1.1.76). Інший шлях передбачає утворення діацетилу з (S)-2-ацетолактату, який далі перетворюється у (S)-2-ацетоїн під дією діацетилредуктази (КФ 1.1.1.304), а вже з нього формується (S)-2,3-бутандіол завдяки дії (S)-ацетоїнредуктази (КФ 1.1.1.76).

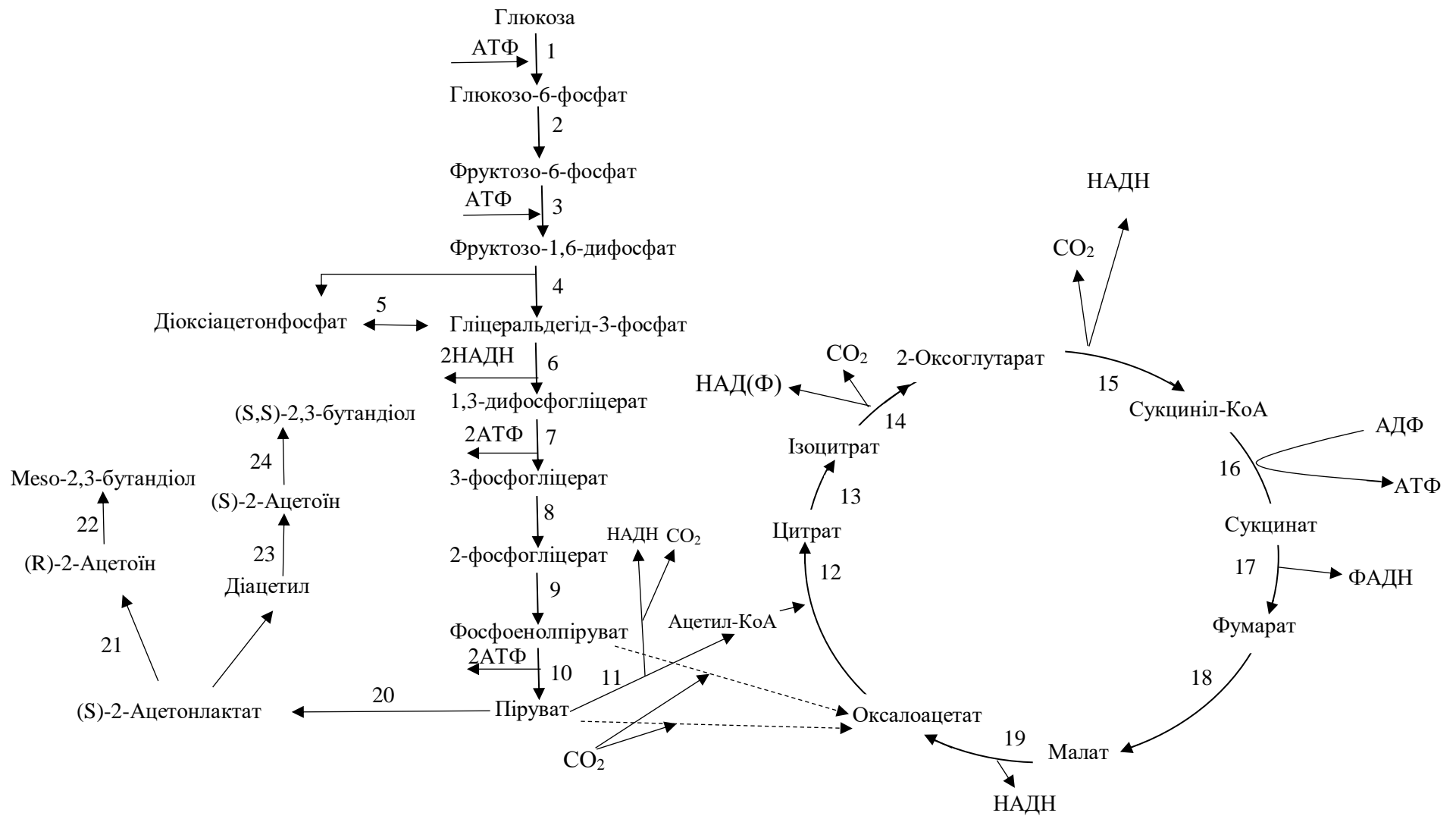


Рис 4.2. Схема біотрансформації глюкози в 2,3-бутандіол

Умовні позначення: ----▶ - анаплеротичні реакції;

————▶ - основний шлях біосинтезу.

Ферменти: 1 - Глюкокіназа (КФ: 2.7.1.2); 2 – глюкозо-6-фосфатна ізомераза (КФ 5.3.1.9); 3 – 6-фосфофруктокіназа 2 (КФ 2.7.1.11); 4 – фруктозодифосфатальдолаза (КФ 4.1.2.13); 5 – тріозофосфатізомерази (КФ 5.3.1.1); 6 – гліцеральдегідфосфатдегідрогеназа (КФ 1.2.1.12); 7 – фосфогліцераткіназа (КФ 2.7.2.3); 8 – фосфогліцератмутаза (КФ 5.4.2.11); 9 – енолаза (КФ 4.2.1.11); 10 – піруваткіназа (КФ 2.7.1.40). 11- ферредоксиноксидоредуктаза (КФ 1.2.7.1); 12 – цитратсинтаза (КФ 2.3.3.1); 13 – аконітатгідратаза (КФ 4.2.1.3); 14 – ізоцитратдегідрогеназа (КФ 1.1.1.42); 15 – 2-оксоглутаратдегідрогеназа (КФ 2.3.1.61); 16 – сукциніл-КоА-синтетаза (КФ 6.2.1.5); 17 – сукцинатдегідрогеназа (КФ 1.3.5.1); 18 – фумаратгідратаза (КФ 4.2.1.2); 19 – малатдегідрогеназа (КФ 1.1.1.37); 20 – велика субодиниця ацетолактатсинтази I/II/III (КФ.2.2.1.6); 21 – ацетолактатдекарбоксилаза (КФ 4.1.1.5); 22 – (S,S)-бутандіолдегідрогеназа (КФ 1.1.1.76); 23 – діацетилредуктаза (КФ 1.1.1.304); 24 – (S)-ацетоїнредуктаза (КФ 1.1.1.76).

РОЗДІЛ 5. ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ

5.1. Обґрунтування способу культивування і типу ферментера

Промислове культивування, як і вирощування посівного матеріалу проводиться в температурному режимі 30°C та за значення рН 6,8 [11]. Такі умови культивування є ризиком забруднення нейтрофільними та мезофільними мікроорганізмами. Для уникнення ризику контамінації, вирощування та біосинтез має протікати у максимально стерильних умовах (комунікації, обладнання, повітря, поживні середовища і розчини солей мають бути стерильними).

Промисловий біосинтез 2,3-БД можна здійснювати двома способами: періодичним та безперервним. Безперервний процес спиртового бродіння характеризується низькою тривалістю та максимальним виходом кінцевого продукту. Попри це існує загроза погіршення якості отриманого продукту та накопичення побічних продуктів (наприклад, ацетон, етанол). Тому для культивування обираємо періодичний спосіб.

Під час вирощування *Klebsiella pneumoniae* HD79-02 глибинний спосіб культивування буде найкращим вибором, оскільки компоненти поживного середовища у разі вибору такого типу проведення виробничого процесу споживаються майже повністю.

У процесі одержання посівного матеріалу, починаючи із культивування в колбах і закінчуючи культивуванням в 4 м³ ферментері, концентрація глюкози у середовищі складає 150,0 г/л (згідно зі статті [11]). Культивування ведеться із підживленням.

Підсумовуючи дані, вирощування і біосинтез 2,3-БД здійснюється в анаеробних умовах періодично із підживленням глибинним способом із дотриманням стерильності виробничого процесу.

					НУХТ БТЕК 04.02.39 КР ПЗ		
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата			
Розроб.		Ковалок О. Р.			Літ.	Арк.	Аркушів
Перевір.		Воронцов О. О.				36	122
Реценз.					36		
Н.Контр.					Кафедра БТМ		
Затверд.		Стабніков В. П.					

Оптимізація процесу ферментації потребує ретельного підбору обладнання. Ферменер повинен бути технічно оснащений для забезпечення високого виходу продукту.

Вимоги до обладнання ферментера:

1. Продуцент 2,3-БД є факультативним анаеробом, тому ферменер має бути обладнаний барботером для регуляції подачі кисню та газоаналізатором для моніторингу рівня CO₂.

2. Ферментація протікає за нейтрального рН 6,8, тому має бути обов'язково датчик для контролю рН.

3. Для інтенсивності протікання процесу будемо використовувати турбінну мішалку і регулювати швидкість обертання (150 об/хв).

4. Стабільна температура культивування становить 30 °С, тому для її регуляції ферменер має бути обладнаний сорочкою і датчиком температури (наприклад, термометр).

Отже, ферменер обираємо обладнаний датчиками контролю температури, швидкості роботи мішалки, тиску, рН, рівнів CO₂ та O₂.

5.2. Обґрунтування вибору стадії підготовки аераційного повітря

Klebsiella pneumoniae HD-79-02 є факультативним анаеробом, тому підготовка аераційного повітря є вкрай необхідною. Вкрай важливою вимогою для аераційного повітря є строга стерильність. Стерилізацію повітря здійснюють такими методами: знищення мікрофлори за допомогою нагрівання або УФ-випромінювання та вилучення методом фільтрування.[31] В нашому випадку ми будемо використовувати метод фільтрування, адже він зазвичай використовується в промислових умовах.

Підготовка аераційного повітря складається з таких стадій:

- Атмосферне повітря забирають за допомогою вертикальної труби, повітрязабірник якої розташований на висоті приблизно 15,5 м. Висота ферментера становить 4,5 м, висота одного поверху – 6 м, разом зі скошеним дахом будівлі (+3 м) – 13,5 м. Забір повітря здійснюється на 2-3 метри вище найвищої точки будівлі, де знаходиться обладнання для стиснення та очищення повітря.

- Для очищення повітря від пилу та зайвих домішок встановлюють фільтри попереднього очищення (наприклад, фільтри Рекка або фільтри з насадкою кілець Рашига, а також стружки, які просочені мінеральним маслом).[31]

- Повітря стискають за допомогою турбокомпресорів, але до тиску 0,35-0,5 МПа, внаслідок цього підвищується температура повітря (120-250°C) та вологість.

- Стиснене повітря для охолодження надходить у теплообмінник-холодильник, при цьому волога виділяється у вигляді конденсату. Далі повітря надходить до ресивера для остаточної стабілізації його параметрів та виведення виділеного конденсату з апарату.

- Наступним етапом є нагрівання повітря в теплообміннику до температури, близької до температури ферментаційного процесу, що супроводжується видаленням залишків вологи.

- Для попередньої стерилізації використовують головні фільтри. Як фільтрувальні матеріали використовують перхлорвінілове волокно з термостійкістю 60-70°C, скловолокна або базальтові волокна.[31]

Остаточне очищення повітря здійснюють через індивідуальні фільтри, які встановлюють на ферментері. Ступінь очищення сягає 99,99%. В якості індивідуальних фільтрів будемо використовувати рамні або патронні фільтри з тканиною Петрянова на основі перхлорвінілового волокна.[31]

5.3. Вибір мийних та дезінфікуючих засобів

5.3.1. Обґрунтування вибору мийних та дезінфікуючих розчинів

Обов'язковим етапом на біотехнологічних підприємствах є проведення санітарно-гігієнічних підготовчих робіт. Основне завдання цих заходів полягає у суттєвому зниженні рівня контамінації на всіх етапах виробничого циклу - від поживних середовищ до технологічного повітря та робочих зон, де дотримання асептичних умов безпосередньо визначає якість кінцевої продукції.

Дотримання санітарних норм не лише забезпечує стабільну якість виробництва, але й створює безпечні умови праці та сприяє охороні здоров'я

персоналу. Цей процес включає регулярне щоденне та генеральне прибирання приміщень і централізовану підготовку обладнання. [32].

Санітарна підготовка виробництва передбачає комплексний підхід до підтримки необхідного гігієнічного рівня. Основні напрямки робіт включають: підготовку персоналу (проводяться навчання з та контроль знань з питань дотримання норм санітарної безпеки), підготовка приміщень (миття та дезінфекція), підготовка обладнання (миття, дезінфекція, ополіскування, стерилізація та перевірка на геметичність і якість стерилізації), підготовка комунікацій (миття та стерилізація).

У біотехнологічній практиці для дезінфекції застосовують перевірені засоби, зокрема розчини хлораміну, їдкого натру (каустичної соди), а також інші дезінфектанти та детергенти. На сьогодні термічна стерилізація насиченою водяною парою залишається єдиним загальновизнаним методом знезараження обладнання й комунікацій.

Сучасні підприємства все частіше використовують автоматизовані системи миття обладнання. Зокрема, система безрозбірного миття (CIP) була розроблена спеціально для очищення резервуарів за допомогою вбудованих форсунок чи головок, що дозволяє уникнути розбирання апаратури. [32].

Виробництво 2,3-бутандіолу за допомогою бактерій *Klebsiella pneumoniae* HD79-02 вимагає високого рівня чистоти, адже навіть незначна контамінація може знизити ефективність ферментації або зіпсувати кінцевий продукт.

Для очищення та дезінфекції на підприємствах дозволяється використовувати лише зареєстровані в Україні мийні, дезінфекційні, мийно-дезінфекційні засоби та антисептики, які офіційно дозволені до застосування. Забороняється використання органічних розчинників як для миття, так і для приготування робочих розчинів.

Для підвищення ефективності процесу очищення рекомендується поєднувати миття та дезінфекцію в одній операції, уникаючи окремого використання мийних розчинів. Щоб запобігти розвитку стійких мікроорганізмів, дезінфекційні та антисептичні засоби слід чергувати кожні 1-3 місяці [33].

Для очищення поверхонь обладнання, комунікацій, інвентарю та тари, забруднених органічними речовинами (білки, амінокислоти, антибіотики тощо), доцільно використовувати мийні засоби з протеолітичними ферментами, які ефективно розщеплюють білки та видаляють білково-жирові плівки.

Усі мийні й дезінфікуючі розчини використовуються одноразово та утилізуються згідно з екологічними вимогами. Їхній злив у водні об'єкти господарсько-питного або рекреаційного призначення суворо заборонено.

Мийні засоби для хіміко-фармацевтичного виробництва повинні бути ефективними на поверхнях з різних матеріалів, не шкодити обладнанню, змочувати поверхню, видаляти механічні, білкові та жирові забруднення, нейтралізувати кислоти та омилювати жири — особливо у випадку лужних засобів.[33]

Узагальнена характеристика витрат мийних та дезінфікуючих засобів

Таблиця 2.1

Назва мийного/ дезінфікуючого засобу	Діюча речовина	Характеристика	Об'єкт миття та/або дезінфекції	Концентрація робочого розчину, %	Відомості про державну реєстрацію	Вартість	Джерело інформації
АНИОЗИМ XL3 (ANIOSYME XL3) (виробник "Laboratoires ANIOS", Франція)	N,N-дидецил-N,N-диметиламоній карбонат - 1,06-1,44 %; комплекс ферментів (протеаза, амілаза, манназа) - 0,06-0,07 %)	Прозорий розчин оранжево-червоного кольору. Високі антимікробні властивості (бактерицидні, фунгіцидні, віруліцидні), низька токсичність.	Поверхні приміщень та обладнання	0,5	Засіб внесено 30.03.2020 року до Державного реєстру дезінфекційних засобів. Термін дії до: 30.03.2025 року	5 л 4220 грн	[34]
Біонол (виробник ТОВ «Ордема», Україна)	Алкілбензолсульфонат натрію у межах 4,5-10,0 %	Порошок дрібнокристалічної структури, від білого до світло-жовтого кольору, містить пофарбовані гранули протеази та добре розчиняється у воді. Не рекомендується використовувати разом із катіонними ПАВ. Водні розчини «Біонолу» прозорі, не мають кольору та не викликають корозії.	Поверхні приміщень та обладнання	0,5	Засіб внесено 01.04.2020 року до Державного реєстру дезінфекційних засобів. Термін дії до: 01.04.2025 року	850 г 330 грн	[35]
«Терразім (Terrazim)» (заявник ТОВ «ДЕЗПЛАНЕТ», Україна)	Перкарбонат натрію – 15,10%, тетраацетилетилендіамін – 9,90%, протеаза – 0,20%, ліпаза – 0,20%, амілаза – 0,20%, целюлаза – 0,03%)	Білий порошок з блакитними гранулами, майже без запаху. Його розчини (2%) мають слабкий оцтовий запах, а при розведенні до 0,5% запах практично відсутній. Засіб володіє високою змочувальною, мийною (ефективність ≥85%), емульгуючою, знежируючою та дезодоруючою дією, а також ефективно розчиняє складні забруднення.	Обладнання	0,5	Засіб внесено 07.04.2020 року до Державного реєстру дезінфекційних засобів. Термін дії до: 07.04.2025 року	1,5 кг 2070 грн	[36]
Даноксин (виробник: ТОВ «ДАНА МЕДКАЛ», Україна)	Перкарбонат натрію 50%-55%, тетраацетилетилендіамін (ТАЕД) – 18-25%)	Порошок (мілкодисперсні гранули) білий або білий з блакитними вкрапленнями майже без запаху, 2% робочі розчини (за препаратом) мають слабкий запах сировини. Засіб не має окислювальних властивостей. рН 1,0% робочого розчину 8,0-10,0.	Обладнання	0,5	Засіб внесено 19.08.2020 року до Державного реєстру дезінфекційних засобів. Термін дії до: 19.08.2025 року	5 кг 3525 грн	[37]

<p>SURE™ Antibac Hand Wash Free (виробник: Diversey)</p>	<p>молочна кислота 1,0-3,0%</p>	<p>Антисептичне рідке мило для рук. Засіб не містить ароматизаторів, барвників, парабенів чи триклозану, що робить його ідеальним для використання людям із чутливою шкірою. Завдяки своїм антимікробним властивостям ефективно усуває бактерії, дріжджі та деякі віруси, зберігаючи при цьому м'яку дію на шкіру. Немає запаху. рН 2,4</p>	<p>Обробка рук персоналу</p>	<p>Готовий до застосування</p>	<p>Засіб внесено 13.01.2022 року до Державного реєстру дезінфекційних засобів. Термін дії до: 13.01.2027 року</p>	<p>0,8 л 661 грн</p>	<p>[80]</p>
<p>Лягосепт А (виробник: ТОВ «Лягос груп», Україна)</p>	<p>Срібла нітрат у межах 0,05-0,20 %</p>	<p>Гелеподібна рідина. Засіб характеризується бактерицидною, фунгіцидною, вірулецидною, туберкулоцидною активністю, а також відзначається високими миючими, емульгуючими та дезодоруючими властивостями.</p>	<p>Обробка рук персоналу</p>	<p>Готовий до застосування</p>	<p>Засіб внесено 29.01.2022 року до Державного реєстру дезінфекційних засобів. Термін дії до: 29.01.2027 року</p>	<p>5 л 480 грн</p>	<p>[81]</p>

Характеристика засобів для поверхонь приміщень

Для забезпечення чистоти виробництва 2,3-бутандіолу не потрібні дезінфікуючі засоби високого ступеня дезінфекції. Підібрані засоби мають володіти хорошими миючими властивостями, повинні розчиняти та змивати органічні і неорганічні забруднення.

➤ АНІОЗИМ XL3 (ANIOSYME XL3)

Призначений для миття та стерилізації приміщень, поверхонь. [34]. Фірма-виробник – «Laboratoires ANIOS» (Франція).

Склад засобу: N,N-дидецил- N,N-диметиламоній карбонат (1,06-1,44 %); протеаза, амілаза, манназа (0,06-0,07%); детергенти, стабілізатори, хелатоутворюючий агент, ароматизатор, барвник, вода (до 100,0%).

Прозорий розчин з червоним відтінком, що має неприємний запах ароматизатора. Густина при температурі розчину 20 °C становить 1,15-1,20 г/см³. Показник рН концентрованого розчину при 20 °C на рівні 7,0-9,5.

Виявляє такі антимікробні властивості: бактерицидні (*Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Enterococcus hirae*, *Enterococcus faecium*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, *Acinetobacter baumannii*), туберкулоцидні (*Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium terrae*), фунгіцидні (*Candida*) та віруліцидні (вірусних гепатитів А, В та С, ВІЛ-інфекції, поліовірусу типу 1, вірусу Ебола, вірусу герпесу типу 1, вакциніявірусу, вірусів грипу, кору, епідемічного паротиту) [34].

Засіб належить до 3 класу помірно небезпечних речовин (при потраплянні в шлунок та до класу малонебезпечних речовин (при потраплянні на шкіру). Також при потраплянні на слизові оболонки очей та шкіру викликає подразнення. Робочі розчини (0,5 %) є повністю безпечними для людей та середовища. [34]

Для приготування робочих розчинів концентрат розводять у холодній воді. Тара для приготування та зберігання робочого розчину має бути маркована, скляна або пластмасова та обов'язково закриватись кришкою. Прибирання приміщень здійснюють методом протирання. [34]

➤ Біонол

Фірма-виробник: ТОВ «ОРДЕМА» (Україна).

Склад засобу: алкілбензолсульфонат натрію (4,5-10,0 %); активуюча мийна добавка (20,0–35,0%); диспергатор (30,0–50,0%); лужна протеаза (0,5–1,5%); наповнювач (до 100,0%).

Засіб у вигляді дрібного порошку білого кольору, в якому наявні пофарбовані гранули протеази. Робочий розчин прозорого кольору та не викликає корозії поверхонь. Значення рН робочого (1%) розчину 8,5–11,5. Виявляє мийні, емульгуючі та змочувальні властивості, не залишає нальоту, активно бореться з складними забрудненнями (білковими, жировими, залишками ЛЗ).

Спектр антимікробної дії: бактерицидна (включаючи *E.coli*, *S.aureus* та *P.aeruginosa*), вірулецидна (збудників гепатитів В і С, ВІЛ, коронавірусу), фунгіцидна (*Candida*, дерматофіти та цвілеві гриби)[35].

Характеристика засобів для обладнання

Дезінфекція ємнісного обладнання, реакторів, інокуляторів, ферментерів буде проходити при його стерилізації шляхом подачі пари. Тому засоби для миття обладнання повинні володіти високою миючою здатністю – такого ефекту можна досягнути при використанні миючих засобів на основі поверхнево-активних речовин (ПАР) та кислот.

➤ «Даноксин».

Фірма виробник – «ДАНА МЕДІКАЛ» (Україна),

«Даноксин» — дезінфікуючий засіб у вигляді білого порошку з блакитними краплями, що при розчиненні у воді утворює активний кисень. До складу входять перкарбонат натрію (50–55%), ТАЕД (18–25%), а також інгібітори корозії, стабілізатори, мийно-очисні речовини та інші функціональні компоненти. Робочі розчини мають рН 8,0–10,0, низьке піноутворення, гарні знежирюючі, емульгуючі та дезодоруючі властивості, ефективно очищують поверхні від різноманітних органічних та неорганічних забруднень, зокрема біоплівки, крові, слизу тощо.[37]

Засіб не ушкоджує матеріали з нержавіючої сталі, скла, пластику, гуми, кераміки та дерева, але не рекомендований для латуні, міді та пошкоджених хромованих чи нікельованих поверхонь.

Безпечність: відноситься до 3 класу небезпеки при ковтанні та 4 класу при шкірному контакті. Пил може подразнювати дихальні шляхи, концентрат — очі. Робочі розчини не викликають подразнення, не мають мутагенних, канцерогенних чи інших віддалених ефектів. Засіб повністю біодеградує. [37]

Будемо використовувати його для СІР мийки у концентрації 0,5%.

➤ «Терразім (Terrazym)»

Склад: перкарбонат натрію (15,1%), тетраацетилетилендіамин (9,9%), протеаза (0,2%), ліпаза (0,1%), амілаза (0,1%), целюлаза (0,03%), інгібітори корозії, лимонна кислота, карбонат натрію, сульфат натрію, похідні ЕДТА, неіоноген [36].

«Терразім» — це білий порошок з блакитними гранулами, що немає запаху. Засіб володіє високою змочувальною, миючою (ефективність $\geq 85\%$), емульгуючою, знежирюючою та дезодоруючою дією, а також ефективно розчиняє складні забруднення, включаючи кров, слиз, білки, жири та залишки ліків. Він не пошкоджує нержавіючу сталь, скло, полімери, гуму, кераміку та інші матеріали, а також має відбілюючу дію на тканини.

Для приготування робочого розчину «Терразім» потрібно розчинити необхідну кількість засобу у воді з температурою 20–30°C, ретельно перемішуючи протягом 15 хвилин. Готовий розчин можна використовувати відразу після приготування. Найкраще готувати його в закритих пластикових, скляних, емальованих (без сколів) або сталевих ємностях. [36]

5.3.2 Розрахунок витрат мийних та дезінфікуючих засобів для виробництва 2,3-бутандіолу

Для здійснення виробничого культивування *Klebsiella pneumoniae* HD79-02 з метою отримання 2,3-бутандіолу обрано ферментер 4000 л, а для засіву використовують інокулятори об'ємом 400 та 40 л відповідно та 15 качалочних колб. Також необхідні додаткові реактори. Обладнання, яке використовується зазначено в таблиці 5.2.

Виробничий біосинтез 2,3-бутандіолу буде відбуватись у таких виробничих приміщеннях: цех виробничого культивування, лабораторне приміщення для проведення додаткових операцій, що містить автоклави, лабораторний бокс,

холодильники, термостати, різноманітні апарати для контролю критичних показників виробництва.

При проектуванні плану виробничого приміщення беруть до уваги розміри апаратів для культивування, допоміжних реакторів, враховуючи відстань між обладнанням в 1 метр та від стін у 1,5 метра.

На *рис. 5.1.* наведено схематичний план приміщення для здійснення виробничого культивування *K. pneumoniae* HD79-02 з метою отримання 2,3-бутандіолу.

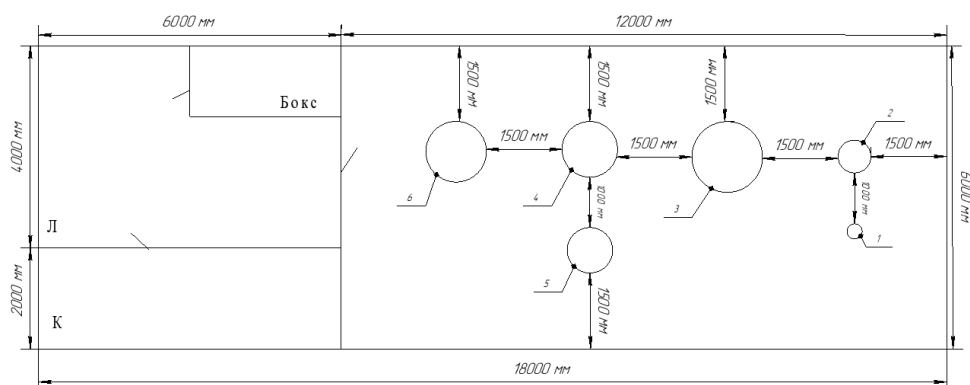


Рис. 5.1. План приміщення для виробничого культивування *K. pneumoniae* HD79-02 з метою отримання 2,3-бутандіолу. Ц - цех виробничого біосинтезу та вирощування інокуляту: 1 – інокулятор 40 л (ІН-21); 2 – інокулятор 400 л (ІН-23); 3 – ферментер 4 м³ (ФР-34); 4 – реактор 1000 л (ЗЗ-25); 5 – реактор 650 л (РЗ-31); 6 - реактор 1500 л (РЗ-28); Л – мікробіологічна лабораторія; К – приміщення з качалками.

**Габаритні розміри ферментаційних та додаткових апаратів для
виробництва 2,3-бутандіолу**

Обладнання	Геометричний об'єм, л	Діаметр, м	Висота, м
Реактор для 6% HCl	5	0,119	0,45
Реактор для 6% NaOH	5	0,119	0,45
Реактор для підживлювального розчину глюкози	650	0,9	1,02
Реактор для підготовки композиції А	10	0,17	0,45
Реактор для підготовки композиції А	100	0,5	0,51
Реактор для підготовки композиції А	1000	1,1	1,05
Реактор для підготовки композиції Б	20	0,215	0,55
Реактор для підготовки композиції Б	150	0,5	0,76
Реактор для підготовки композиції Б	1500	1,2	1,33
Інокулятор	40	0,3	0,56
Інокулятор	400	0,8	0,8
Ферментер	4000 л	1,4	2,6
Всього	7 880		

Згідно даних *табл. 5.2*, загальний об'єм допоміжних реакторів, інокуляторів і ферментера складає 7880 л.

Одержання річної кількості 2,3-бутандіолу буде проходити упродовж 90 трудоднів. Оскільки для забезпечення належних умов якості виробництва миття підлоги проводиться кожного дня, тобто 90 разів. Один раз на місяць організовують генеральне прибирання, що включає обробку стін, підлоги, вікон тощо, тому кратність обробки складає 4 рази на 90 днів. Для розрахунку кількості мийних засобів необхідно розрахувати приблизну площу оброблення мийними та дезінфікуючими засобами, враховуючи площу підлоги виробничого приміщення та площу стін на висоту. При проектуванні ділянки аераційного повітря було розраховано, що висота поверху має становити 6 м, зважаючи на габарити ферментера.

Однак стіни миють на висоту 2 м, оскільки це практично можливо [38], тому для наступних розрахунків приймаємо миття стін на висоту 2 м.

Оскільки подача окремих компонентів поживного середовища до інокуляторів здійснюється самопливом, важливо враховувати, що частина

обладнання розміщена вище рівня інокуляторів на майданчику обслуговування обладнання. Як видно з апаратурної схеми, на висоті 3,6 метра над інокуляторами встановлено такі апарати: збірник-змішувач (ЗЗ-12) для приготування композиції А, реактор-змішувач (РЗ-14) — для приготування композиції Б, збірник-змішувач (ЗЗ-16) — для композиції А, реактор-змішувач (РЗ-18) — для композиції Б, реактор-змішувач (РЗ-10) — для приготування та стерилізації 6% розчину натрію гідроксиду, а також збірник-змішувач (ЗЗ-8) — для приготування 6% розчину соляної кислоти.

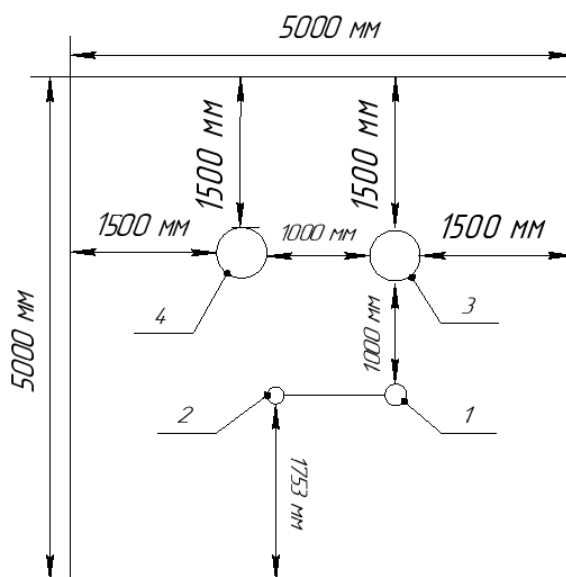


Рис. 5.2. План обслуговуючого майданчика для деякого обладнання. 1 – реактор 20 л (РЗ-14); 2 – реактор 10 л (ЗЗ-12); 3 – реактор 150 л (ЗЗ-18); 4 – реактор 100 л (ЗЗ-16).

Примітка: Оскільки реактори (ЗЗ-8) та (ЗЗ-10) мають невеликий об’єм — по 5 л — і зазвичай встановлюються на столі, потреби у передбаченні відстані між ними немає, тому їх не було відображено на схемі.

Площа підлоги обслуговуючого майданчика становить 25 м². Якщо обслуговуючий майданчик виготовлений із суцільного матеріалу, його потрібно регулярно мити із застосуванням певної кількості мийного засобу.

В такому разі загальна площа миття та/або дезінфекції об’єкту за весь період виробництва буде становити $25 \times 90 = 2\,250$ м² та потребувати 225 л робочого розчину мийного засобу.

У випадку решітчастої конструкції, яка дозволяє рідинам вільно стікати й не затримує забруднення, додаткове миття зазвичай не потрібне.

Площа підлоги цеху виробничого біосинтезу складає 72 м^2 ($12 \times 6 \text{ м}$), площа стін становить $[(12 \times 2) + (6 \times 2)] \times 2 = (24 + 12) \times 2 = 72 \text{ м}^2$, загальна площа $72 + 72 = 144 \text{ м}^2$. Загальну площу поверхні, що підлягає обробці, узагальнено в табл. 5.3.

Таблиця 5.3

Розрахунки площі стін та підлоги приміщень для виробництва 2,3-бутандіолу

Приміщення	Площа підлоги, м^2	Площа стін, м^2	Загальна площа, м^2
Цех виробничого біосинтезу та вирошування інокуляту	72	72	144
Мікробіологічна лабораторія	24	40	64
Приміщення з качалками	12	32	44
Загальна площа	108	144	252

Знаючи загальну необхідну кількість культуральної рідини та кількість продукту за цикл можна встановити кількість виробничих циклів:

$$52 \ 115,3 / 2 \ 176,5 = 24 \text{ цикли.}$$

Якщо підготовку обладнання здійснюють перед кожним циклом, кількість процесів миття за весь період виробництва буде 25, тому що проводять додаткове миття після останнього циклу. Тоді загальний об'єм для миття буде: $7,88 \times 25 = 197 \text{ м}^3$

Підсумовані дані розрахунків площ миття та/або дезінфекції за весь період виробництва зображує таблиця 5.4.

Таблиця 5.4

Розрахунок загальної площі миття оброблюваного об'єкту за весь період виробництва 2,3-бутандіолу

Об'єкт миття та/або дезінфекції	Площа (об'єм) оброблюваного об'єкту, м^2 (м^3)	Кількість процесів миття та/або дезінфекції за весь період виробництва	Загальна площа (об'єм) миття та/або дезінфекції об'єкту за весь період виробництва, м^2 (м^3)
Обладнання	7,88	25	197
Підлога	108	90	9720
Стіни, двері, вікна	144	4	576

Для миття виробничого обладнання будемо використовувати СІР-мийку. Витрати робочого розчину становлять 20% від об'єму обладнання що миється. Отже, для миття та дезінфекції 197 м³ обладнання необхідно витратити:

$$197 \times 0,2 = 39,4 \text{ м}^3 \text{ засобу в рік}$$

Підсумовані дані по підбору миючих та дезінфікуючих засобів наведено у *таблиці 5.5*. При виборі мийних та дезінфікуючих засобів слід враховувати ефективність і вартість, так само як і витрати для обробки потрібної площі/об'єму. Під час розрахунків було враховано, що для обробки 1 м² поверхні витрата робочого розчину засобу складає 100 мл.

Таким чином, для дезінфекції та миття підлоги та стін за показниками вартості підходить засіб Біонол. Слід зауважити, що його концентрація є аналогічною засобу АНІОЗИМ XL3, що свідчить про їх однакову ефективність у аналогічній концентрації. Щоб запобігти розвитку стійких мікроорганізмів, дезінфекційні та антисептичні засоби слід чергувати кожні 1-3 місяці. Тому будемо використовувати обидва засоби для обробки всіх поверхонь.

Щодо миючих засобів для миття обладнання, засіб «Даноксин» є більш економічно вигідним порівняно із засобом «Терразім» (Terrazym), оскільки вартість останнього є вдвічі вищою. Концентрація робочого розчину наведених засобів становить 0,5%.

Отже, для миття обладнання будемо використовувати засіб «Даноксин». Подальша дезінфекція обладнання буде здійснюватись його стерилізацією шляхом подачі пари.

Таблиця 5.5

Узагальнені розрахунки миючих та дезінфікуючих засобів для виробництва 2,3-бутандіолу

Назва мийного/ дезінфікувального засобу	Об'єкт миття та/або дезінфекції	Концентрація робочого розчину, %	Загальна площа (об'єм) миття та/або дезінфекції об'єкту за весь період виробництва, м ²	Кількість робочого розчину за весь період виробництва, л	Вартість 1 л/кг мийного або дезінфікувального засобу, грн	Вартість 1 л робочого розчину, грн	Загальна вартість миття та/або дезінфекції за весь період виробництва, грн
АНІОЗИМ XL3 ¹	Поверхні приміщень (підлога, стіни)	0,5	10 296	1029,6	1112	5,56	5 724,6
Біонол ²	Поверхні приміщень (підлога, стіни)	0,5	10 296	1029,6	397	1,985	2043,8
Даноксин ³	Обладнання	0,5	197 000	39 400	705	3,5	137 900
«Терразім (Terrazym)» ⁴	Обладнання	0,5	197 000	39 400	1260	6,3	248 220

- https://chila.ua/product/aniozim-xl3-zasib-dlya-dezinfekciyi-i-sterilizaciyi11?utm_source=google&utm_medium=cpc&utm_campaign=IW / PMax / Kyiv / feed / all item&utm_content=&utm_term=&gad_source=1&gclid=Cj0KCQjwhr6_BhD4ARIsAH1YdjCgzpn1NcOj3P_gX1BwBOK9Zm8fT85W_wIBBTJT0a8cbOaOE6-SPgkaAmlHEALw_wcB
- <https://prom.ua/ua/p590669850-sredstvo-dezinfitsiruyuschee-moyuschimi.html>
- <https://hlorka.in.ua/ua/p1798536631-danoksin.html?srsltid=AfmBOopkjad6G2XRofl8aqqjPwtFHaE-lAPG4oyPUg4I36UyCQTCE-HZ>
- <https://dml.center/product/dezinficirujushhee-sredstvo-terrazim-1-5-kg-vedro-s-mernoj-lozhko>

5.4. Особливості підготовки та стерилізації поживного середовища

Для промислового біосинтезу 2,3-бутандіолу *Klebsiella pneumoniae* HD79-02

використовується середовище такого складу (г/л)[11]:

- Глюкоза – 150;
- Дріжджовий екстракт - 5;
- $ZnSO_4 \times 7H_2O$ - 0,001;
- $MnSO_4 \times H_2O$ – 0,001;
- $CaCl_2 \times 2H_2O$ – 0,001,
- $MgSO_4 \times 7H_2O$ – 0,25,
- $(NH_4)_2SO_4$ – 6,6;
- K_2HPO_4 – 8,7;
- KH_2PO_4 – 6,8.

Виробничий біосинтез будемо здійснювати у ферментері об'ємом 4000 л. Посівний матеріал готується у три етапи (в колбах на качалці, у інокуляторах 40 л та 400 л).

Для стерилізації поживного середовища в колбах на качалках будемо використовувати автоклав. Для інокуляторів та виробничого біосинтезу стерилізація проводиться безпосередньо в апаратах при рН 4-4,5. Також необхідно передбачити приготування 6% розчинів соляної кислоти та гідроксиду натрію. У технологічній схемі також необхідно врахувати підготовку відповідних допоміжних розчинів (6%-го розчину HCl і 6%-го розчину NaOH).

Нижче наведено розрахунок необхідно кількості розчинів титрування, підготовка та умови стерилізації середовища для вирощування інокуляту (три етапи) та виробничого біосинтезу.

Розрахунок вмісту та особливості приготування титрувальних розчинів

Об'єм середовища, л	HCl (6%)		NaOH (6%)	
	Об'єм, мл	Особливість приготування	Об'єм, мл	Особливість приготування
2,18	–	–	–	–
21,8	43,6	у колбі на 50 мл	43,6	у колбі на 100 мл
218	436	у колбі на 500 мл	436	у колбі на 1 л
2176,5	4353	у реакторі на 5 л	4353	у реакторі на 5 л

5.4.1 Приготування підживлювального розчину

Кількість глюкози у поживному середовищі становить 150 г/л. Оскільки нам відомо, що на початковому етапі в поживне середовище можна внести 40-60 г/л субстрату, а в даному ПС вміст глюкози перевищує норму, то в процесі біосинтезу вона буде подаватись дробним підживленням. В якості підживлювального розчину необхідно внести $150 - 40 = 110$ г/л глюкози.

Кількість глюкози, яку вносимо у вигляді розчину підживлення, якщо об'єм поживного середовища на етапі біосинтезу становить 2176,5 л:

$$110 \text{ г} - 1 \text{ л}$$

$$X - 2176,5 \text{ л}$$

$$X = (110 \times 2176,5) / 1 = 214 \text{ 650 г} = 239,42 \text{ кг глюкози.}$$

У поживне середовище глюкоза вноситься у вигляді 40%-го розчину, тому розрахуємо кількість 40% підживлювального розчину глюкози.

$$V = (239,42 \times 0,1) / 40 = 599 \text{ л розчину.}$$

Тривалість культивування становить 72 год. Припустимо, що розчин підживлення вносимо кожні 24 год, тому у нас буде 3 порції. З кожною порцією підживлення, нам необхідно внести $599 / 3 = 199,7$ л глюкози.

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

Склад ПС для синтезу 2,3-БД *Klebsiella pneumoniae* HD79-02 ділимо на композиції в залежності температури стерилізації:

Композиція А: $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (режим стерилізації: 131 °С, 40 хв).

Композиція Б: K_2HPO_4 , KH_2PO_4 (режим стерилізації: 131 °С, 40 хв).

Композиція В: Глюкоза, дріжджовий екстракт (режим стерилізації: 112 °С, 20-30 хв)

Солі композиції А стерилізують при стандартній для солей температурі. Дріжджовий екстракт та глюкозу стерилізують окремо від солей, оскільки температурний режим у них нижчий. Фосфати стерилізуємо окремо задля унеможливлення випадку осаду. Стерилізацію композицій А, Б і В здійснюють в автоклаві.

Окремо від композицій готують запасний розчин солей $ZnSO_4 \times 7H_2O$, $MnSO_4 \times H_2O$, $CaCl_2 \times 2H_2O$, оскільки вони мають низьку концентрацію в середовищі та стерилізують в автоклаві при 131 °С упродовж 40 хв. Запасний розчин буде подаватись на стадії підготовки посівного матеріалу в колбах на качалках, інокуляторах 40 та 400 л. Для виробничого біосинтезу немає потреби готувати запасний розчин, ми його додамо до складу композиції А.

Таблиця 5.7

Композиції стерилізації компонентів для вирощування посівного матеріалу в колбах на качалці

Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	Кількість для приготування 2,18 л середовища, г	Композиції	Об'єм композиції V, л
$MgSO_4 \times 7H_2O$	0,25	0,55	А	0,48
$(NH_4)_2SO_4$	6,6	14,39		
Вода	0,48 л			
K_2HPO_4	8,7	18,96	Б	0,7
KH_2PO_4	6,8	14,8		
Вода	0,7			
Глюкоза	40,0	87,2	В	1,0
Дріжджовий екстракт	5,0	10,9		
Вода	1,0 л			
Усього				1,29

5.4.3. Особливості підготовки і стерилізації поживного середовища для вирощування інокуляту в посівних апаратах 40 л та 400 л

Стерилізація 21,8 та 218 л поживного середовища, необхідних для цих стадій, здійснюється у відповідних посівних апаратах, що потребує перескладання композицій поживного середовища:

Композиція А: $MgSO_4 \times 7H_2O$, $(NH_4)_2SO_4$, K_2HPO_4 , KH_2PO_4 (режим стерилізації: 131 °С, 40 хв).

Композиція Б: Глюкоза, дріжджовий екстракт (режим стерилізації: 112 °С, 20-30 хв)

Таблиця 5.8

Композиції стерилізації компонентів для вирощування посівного матеріалу в інокуляторі об'ємом 40 л (Кз = 0,6)

Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	Кількість для приготування 21,8 л середовища, г	Композиції	Об'єм композиції V, л
$MgSO_4 \times 7H_2O$	0,25	5,45	А	8,0
$(NH_4)_2SO_4$	6,6	143,9		
K_2HPO_4	8,7	189,7		
KH_2PO_4	6,8	148,24		
Вода	6,7 л			
Конденсат	0,8 л			
Глюкоза	40,0	872	Б	13,8
Дріжджовий екстракт	5,0	109		
Вода	11,44 л			
Конденсат	1,38 л			
Усього		21,8		21,8

Таблиця 5.9

Композиції стерилізації компонентів для вирощування посівного матеріалу в інокуляторі об'ємом 400 л (Кз = 0,6)

Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	Кількість для приготування 218 л середовища, г	Композиції	Об'єм композиції V, л
$MgSO_4 \times 7H_2O$	0,25	54,5	А	80,0
$(NH_4)_2SO_4$	6,6	1438,8		
K_2HPO_4	8,7	1896,6		
KH_2PO_4	6,8	1482,4		
Вода	67,13 л			
Конденсат	8,0 л			
Глюкоза	40,0	8720	Б	138,0
Дріжджовий екстракт	5,0	1090		
Вода	114,4 л			
Конденсат	13,8 л			
Усього		218,0		218,0

5.5.4. Особливості підготовки і стерилізації поживного середовища для виробничого біосинтезу

Для біосинтезу у ферментері об'ємом 4000 л кількість поживного середовища становить 2176,5 л. Розділяємо компоненти ПС на композиції залежно від умов стерилізації:

Композиція А: $MgSO_4 \times 7H_2O$, $(NH_4)_2SO_4$, K_2HPO_4 , KH_2PO_4 (режим стерилізації: 131 °С, 40 хв).

Композиція Б: Глюкоза, дріжджовий екстракт (режим стерилізації: 112 °С, 20-30 хв)

Таблиця 5.10

Композиції стерилізації компонентів для вирощування посівного матеріалу в інокуляторі об'ємом 4000 л

Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	Кількість для приготування 2176,5 л середовища, г	Композиції	Об'єм композиції V, л
$MgSO_4 \times 7H_2O$	0,25	544,13	А	800,0
$(NH_4)_2SO_4$	6,6	14365,0		
K_2HPO_4	8,7	18936,0		
KH_2PO_4	6,8	14800,2		
$ZnSO_4 \times 7H_2O$	0,001	2,1765		
$MnSO_4 \times H_2O$	0,001	2,1765		
$CaCl_2 \times 2H_2O$	0,001	2,1765		
Вода		671,35 л		
Конденсат		80,0 л		
Глюкоза	40,0	87060		
Дріжджовий екстракт	5,0	10882,5		
Вода		1140,91 л		
Конденсат		137,65 л		
Усього		2176,5		2176,5

Обґрунтування вибору розчинів для регуляції рН та піногасника

Для культивування *Klebsiella pneumoniae* HD79-02 оптимальним значенням рН є 6,8. Для підтримання необхідного рівня рН в поживне середовище додають 6% HCl та 6% NaOH. Для підкислення живильного середовища, що містить фосфатні солі, перед стерилізацією додають 6% соляну кислоту, щоб запобігти утворенню нерозчинних сполук під час процесу стерилізації. Після охолодження

середовища та перед початком біосинтезу рН доводять до оптимального рівня за допомогою 6% розчину гідроксиду натрію.

Оскільки поживне середовище не містить компонентів, які сприяють піноутворенню, тому використовувати піногасник нам не потрібно.

Необхідні додаткові стадії:

- Підготовка та стерилізація аераційного повітря;
- приготування 6% розчину HCl для підкислення середовища при стерилізації його в посівному апараті об'ємом 40 та 400 л;
- приготування та стерилізація 6% розчину NaOH для стабілізації рН середовища перед початком культивування в посівному апараті об'ємом 40 та 400 л.
- приготування та стерилізація запасного розчину $ZnSO_4 \times 7H_2O$, $MnSO_4 \times H_2O$, $CaCl_2 \times 2H_2O$ для підготовки посівного матеріалу в колбах на качалках, інокуляторі 40 та 400 л.

Необхідні реактори:

- для приготування композицій А і Б з метою одержання посівного матеріалу;
- для приготування композиції А та Б для проведення виробничого біосинтезу (4000л).

РОЗДІЛ 6. СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ

Таблиця 6.1

Позиція	Найменування	Кількість	Технічна характеристика (виробник)
1	2	3	4
ПЗ-1	Пристрій для забору повітря	1	Повітрозбірник Матеріал: оцинкована сталь, максимальна температура до 250°C. Виробник: DARCO (Польща) [39]
ФГО-2	Фільтр попередньої грубої очистки повітря	1	Касетний повітряний фільтр Турбовент КФ 125 Затримує частинки пилу розміром від 5 мкм. Компанія – «ОВК КОМПЛЕКТ», Україна. Фільтруючий матеріал G4. Е=90% Габаритні розміри: 200×219×210мм [40]
К-3	Компресор	1	Компресор. тиск 10 бар; продуктивність - 2100 л/хв; потужність – 15 кВт; габаритні розміри: 1380x850x1160 мм Виробник: «KESHIDI» (КНР) [41]
ТО-4	Теплообмінник-охолоджувач	1	Рефрижераторний осушувач стисненого повітря з водяним охолодженням CW-18W, продуктивність: 18 м ³ /хв, Габаритні розміри Д*Ш*В, мм: 1560*1118*1340. Виробник: «CROWNWELL», Україна.[42]
Р-5	Ресивер	1	Ресивер Повітряний. Об'єм 2700 л; максимальний робочий тиск-10 бар; Робоча температура +5...+40 °С; матеріал: сталь Виробник-ООО "ЗЕО Лідер" (Україна) [43]
ТН-6	Теплообмінник-нагрівач	1	Кожухотрубний теплообмінник WTK SCE 33 C4P Тиск – 30 бар, витрати води – 12,5 м ³ /год, холодопродуктивність – 30 кВт, габаритні розміри – 1430x298x245 мм. Виробник – WTK (Італія) [44]

НУХТ БТЕК 04.02.39 КР ПЗ				
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата
Розроб.		Ковалюк О. Р.		
Перевір.		Воронцов О. О.		
Реценз.				
Н.Контр.				
Затверд.		Стабніков В. П.		

РОЗДІЛ 6. Специфікація обладнання

Літ.	Арк..	Аркушів
	58	1258

Кафедра БТМ

Ф-7	Головний фільтр очистки	1	Комірниковий фільтр APF Габаритні розміри: 600*300*150 мм, кількість комірок: 6; початковий перепад тиску–40 Па, кінцевий перепад тиску – 450 Па, максимальна температура - 80°C, фільтруючий матеріал – поліпропілен, ступінь очищення – 95%. Виробник - ТОВ "АФФ+"[45]
ЗЗ-8	Збірник-змішувач для приготування 6% розчину соляної кислоти	1	Збірник-змішувач об'ємом 5 л, матеріал – скло GG-17, діапазон температур - 80-250°C; потужність приводу мішалки – 40 Вт, швидкість перемішування-0~800 об/хв, ступінь вакууму 0,098 МПа; напруга – 220 В; габаритні розміри: 350x410x1250. Виробник: ПРОМВИТ[48]
ОВД-9 ОВД-11 ОВД-13 ОВД-15 ОВД-17 ОВД-19 ОВД-24 ОВД -27 ОВД -30	Об'ємно-ваговий дозатор	9	Дозатор NPF-5000S Hualian, Діапазон зважування - 10-5000 г, точність зважування-+-2 г, тип- ваговий, потужність 0,2 кВт (Китай) [47]
РЗ-10	Реактор-змішувач для приготування та стерилізації 6% розчину натрію гідроксиду	1	Реактор-змішувач об'ємом 5 л, матеріал-нержавіюча сталь SUS316, потужність двигуна -120W 1/3, швидкість перемішування-0~600 об/хв, Робочий тиск-1 МПа ~ 0,7 МПа, Виробник: «ACHIEVE CHEM» (Україна) [49]
РЗ-31	Реактор-змішувач для приготування та стерилізації розчину підживлення	1	Реактор-змішувач об'ємом 650 л, напруга - 380 В/50 Гц, діапазон швидкості перемішування: 0-30 (об/хв), матеріал – нержавіюча сталь SUS304, розмір: 3600 мм x 1600 мм x 3800 мм, виробник: Guangdong, Китай. [50]

33-12	Збірник-змішувач для приготування композиції А	1	Збірник-змішувач об'ємом 10 л, Потужність двигуна: 0,75-5,5 кВт, матеріал: SS304/SS316L, виробник: «Jiangsu Prettech Machinery & Technology» [51]
P3-14	Реактор-змішувач для приготування та стерилізації композиції Б	1	Реактор-змішувач об'ємом 20 л, матеріал: сталь AISI 304, Потужність приводу мішалки – 50 Вт, Габаритні розміри, мм: 1085x600x1150, Потужність реактора – 6 кВт, Частота обертання якорної мішалки, об/хв: 0-70. Виробник: «STS Group» [52]
33-16	Збірник-змішувач для приготування композиції А	1	Збірник-змішувач об'ємом 100 л, Тип змішувача – гомогенізатор, потужність - 7,5 кВт, швидкість перемішування: 0 - 2800 об/хв, макс. ємність завантаження - 20000 кг, матеріал – нержавіюча сталь SUS316, Виробник: KOSUN FLUID (Китай)[53]
P3-18	Реактор-змішувач для приготування композиції Б	1	Реактор-змішувач об'ємом 150 л, матеріал-нержавіюча сталь SUS316, потужність двигуна -120W 1/3, швидкість перемішування-0~600 об/хв, Робочий тиск- 1 МПа ~ 0,7 МПа, Виробник: «ACHIEVE CHEM» (Україна) [49]
33-25	Збірник-змішувач для приготування композиції А для біосинтезу	1	Збірник-змішувач об'ємом 1000 л, Тип змішувача – гомогенізатор, потужність - 7,5 кВт, швидкість перемішування: 0 - 2800 об/хв, макс. ємність завантаження - 20000 кг, матеріал – нержавіюча сталь SUS316, Виробник: KOSUN FLUID (Китай) [53]
P3-28	Реактор-змішувач для приготування та стерилізації композиції Б для біосинтезу	1	Реактор-змішувач об'ємом 1500 л, матеріал – нержавіюча сталь AISI 304, потужність – 18,5 кВт, швидкість обертання – 0-320 об/хв, максимальний тиск сорочки 3 бар при максимальній температурі 143°C, Виробник: Чехія [54]
ІН-21	Інокулятор 40 л	1	Об'єм інокулятора – 40л, матеріал-нержавіюча сталь SS316, Швидкість перемішування: 50~1000 об/хв, озрахунковий тиск резервуара 0,3 МПа, розрахунковий тиск сорочки 0,35 МПа; осначений сорочкою, датчиком рН, датчиками для вимірювання температури та тиску, габаритні розміри: 60,00см*90,00см*160,00см. Виробник: Bailun Biotechnology Co., Ltd (Китай) [55]

Ф-20	Індивідуальний фільтр	1	НЕРА-фільтр Н14. Матеріал: скловолокно; видалення забруднюючих частинок частинок до 0,1-0,3 мкм; ступінь очищення 99,995%; Виробник: «TROTEC» [46]
ІН-23	Інокулятор 400 л	1	Об'єм інокулятора – 400 л, матеріал-нержавіюча сталь AISI 304, габаритні розміри: 960х2050 мм, робочий тиск: 0,15 МПа, обладнаний сорочкою, виробник: «KegLand» Австралія.[56]
Ф-22	Індивідуальний фільтр	1	НЕРА-фільтр Н14. Матеріал: скловолокно; видалення забруднених частинок до 0,1-0,3 мкм; ступінь очищення 99,995%; Виробник: «TROTEC» [46]
ФР-34	Ферментер	1	Геометричний об'єм ферментера – 4000л; матеріал: нержавіюча сталь AISI 304; обладнаний сорочкою, СІР мийкою, габаритні розміри: висота-5091 мм, діаметр – 1400 мм. максимальний тиск 3 бар. Виробник: Чехія [57]
Ф-33	Індивідуальний фільтр	1	НЕРА-фільтр Н14. Матеріал: скловолокно; видалення забруднюючих частинок до 0,1-0,3 мкм; ступінь очищення 99,995%; Виробник: «TROTEC» [46]
НВ-26 НВ-29 НВ-32 НВ-35	Відцентровий насос	4	Відцентрові насоси Раско серії FP; макс. продуктивність 15 м ³ /год; Макс. напір – 120 м. Виробник: «Dalgakiran» (Україна) [58]

РОЗДІЛ 7. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ БІОСИНТЕЗУ

Технологічний процес біосинтезу 2,3-бутандіолу *Klebsiella pneumoniae* HD79-02 складається із допоміжних та основних робіт. До стадій допоміжних робіт (ДР) належать: підготовка аераційного повітря приготування титрувальних розчинів HCl та NaOH, приготування та стерилізація розчину підживлення, приготування запасного розчину, підготовка і стерилізація поживного середовища. До стадій основного технологічного процесу (ТП) відносять: приготування посівного матеріалу та промисловий біосинтез.

ДР 1. Підготовка аераційного повітря

ДР 1.1. Забір аераційного повітря

Атмосферне повітря забирають через повітрозабірник (ПЗ-1). Максимальна точка забору повітря 20-30 м.

ДР 1.2. Попереднє грубе очищення

Очищають повітря від механічних часточок та пилу (розмір $\delta > 50 \mu\text{м}$) з ефективністю $E=90\%$ використовуючи фільтри попереднього грубого очищення (ФГО-2).

ДР 1.3. Стиснення повітря.

Повітря, що подається в компресор (К-3), піддається стисканню до тиску 0,35-0,5 МПа, при цьому його температура зростає до 120-250°C, а вологість підвищується.

ДР 1.4. Охолодження повітря і видалення вологи.

Стиснене повітря для охолодження надходить у теплообмінник-холодильник (Т-4), при цьому волога виділяється у вигляді конденсату. Далі повітря надходить до ресивера (Р-5) для остаточної стабілізації його параметрів та виведення виділеного конденсату з апарату.

ДР 1.5. Нагрівання повітря.

В теплообміннику-нагрівачі (ТН-6) охолоджене повітря піддають нагріванню до 35°C для запобігання утворенню конденсату на фільтрах.

					НУХТ БТЕК 04.02.39 КР ПЗ		
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата			
Розроб.		Ковалюк О. Р.			Літ.	Арк..	Аркушів
Перевір.		Воронцов О. О.				62	122
Реценз.					62		
Н.Контр.					Кафедра БТМ		
Затверд.		Стабніков В. П.					

ДР 1.6. Очищення повітря у головному фільтрі.

У головних фільтрах (Ф-7) здійснюють очищення з ефективністю чистоти $E=95\%$

ДР 1.7. Очищення повітря у індивідуальному фільтрі.

Повітря, яке пройшло очистку в головному фільтрі (Ф-7) подається в індивідуальні (Ф-20) (Ф-22) (Ф-33), які розташовані безпосередньо перед кожним ферментером. Індивідуальні фільтри (Ф-20) (Ф-22) (Ф-33) забезпечують високий ступінь очищення повітря (99,9999%).

ДР 2. Приготування, зберігання та стерилізація титрувальних агентів

ДР 2.1. Приготування 6%-го розчину HCl

Готують 6% розчин хлоридної кислоти за допомогою розведення 36% розчину цієї кислоти.

ДР 2.1.1. Приготування 6%-го розчину HCl для стабілізації рН перед культивуванням в інокуляторі 40 л

Для приготування 43,6 мл 6%-го розчину HCl у колбу на 50 мл поміщають за допомогою мірного циліндра на 100 мл 36,3 мл питної води та 7,3 мл 36%-ого розчину HCl. Перемішують та закривають ватно-марлевою пробкою.

ДР 2.1.2. Приготування 6%-го розчину HCl для стабілізації рН перед культивуванням в інокуляторі 400 л

Для приготування 436 мл 6%-го розчину HCl у колбу на 500 мл поміщають за допомогою мірного циліндра на 500 мл 363,3 мл питної води та 72,7 мл 36%-ого розчину HCl. Перемішують та закривають ватно-марлевою пробкою.

ДР 2.1.3. Приготування 6%-го розчину HCl для стабілізації рН перед культивуванням в ферментері 4000 л

Для приготування 4353 мл 6%-го розчину HCl лічильником подають в збірник-змішувач об'ємом 5 л (33-8) 3627,5 мл питної води та за допомогою об'ємно-вагового дозатору (ОВД-9) поміщають 725,5 мл 36%-ого розчину HCl. Перемішують. Подають у збірник (33-25).

ДР 2.2. Приготування і стерилізація 6%-го розчину NaOH

ДР 2.2.1. Приготування і стерилізація 6%-го розчину NaOH для підлужнення поживного середовища у посівному апараті об'ємом 40 л.

Для приготування 43,6 мл 6%-го розчину NaOH на технічних вагах зважують 2,62 г кристалічного їдкого натру. Наважку поміщають у колбу на 100 мл і за допомогою мірного циліндра на 50 мл додають 40,98 мл питної води, перемішують до повного розчинення, закривають ватно-марлевою пробкою. Стерилізують в автоклаві при 131 °С (0,15 МПа) протягом 40 хв.

ДР 2.2.2. Приготування і стерилізація 6%-го розчину NaOH для підлужнення поживного середовища у посівному апараті об'ємом 400 л.

Для приготування 436 мл 6%-го розчину NaOH на технічних вагах зважують 26,2 г кристалічного їдкого натру. Наважку поміщають у колбу на 1 л і за допомогою мірного циліндра на 500 мл додають 409,8 мл питної води, перемішують до повного розчинення, закривають ватно-марлевою пробкою. Стерилізують в автоклаві при 131 °С (0,15 МПа) протягом 40 хв.

ДР 2.2.3. Приготування і стерилізація 6%-го розчину NaOH для підлужнення поживного середовища у ферментері об'ємом 4000 л.

Для приготування 4353,0 мл 6%-го розчину NaOH за допомогою об'ємно-вагового дозатору (ОВД-11) поміщають в реактор-змішувач об'ємом 5 л (РЗ-10) 261,18 г кристалічного їдкого натру. За допомогою лічильника додають 4091,8 мл питної води, перемішують до повного розчинення та стерилізують в цьому ж реакторі при 131 °С (0,15 МПа) протягом 40 хв. Подають до ферментера (ФР-34).

ДР 3. Приготування і стерилізація запасних розчинів

ДР 3.1 Приготування і стерилізація запасного розчину $ZnSO_4 \times 7H_2O$

Застосовуючи технічні ваги отримують наважку 1 г $ZnSO_4 \times 7H_2O$, яку поміщують у колбу на 250 мл. Згодом за використання мірного циліндра додають 99 мл дистильованої води, перемішують, закривають ватно-марлевою пробкою і стерилізують в автоклаві при 131 С (0,15 МПа) протягом 40 хв.

ДР 3.2 Приготування і стерилізація запасного розчину $MnSO_4 \times H_2O$

Застосовуючи технічні ваги отримують наважку 1 г $MnSO_4 \times H_2O$, яку поміщують у колбу на 250 мл. Згодом за використання мірного циліндра додають

99 мл дистильованої води, перемішують, закривають ватно-марлевою пробкою і стерилізують в автоклаві при 131 °С (0,15 МПа) протягом 40 хв.

ДР 3.3 Приготування і стерилізація запасного розчину $\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$

Застосовуючи технічні ваги отримують наважку 1 г $\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$, яку поміщують у колбу на 250 мл. Згодом за використання мірного циліндра додають 99 мл дистильованої води, перемішують, закривають ватно-марлевою пробкою і стерилізують в автоклаві при 131 °С (0,15 МПа) протягом 40 хв.

ДР 4. Приготування підживлювального розчину

ДР 4.1 Приготування та стерилізація підживлювального розчину глюкози

Для приготування 599 л 40% розчину глюкози використовуючи об'ємно-ваговий дозатор (ОВД-30) у реактор-змішувач (РЗ-31) об'ємом 650 л додають 239,42 кг глюкози, через лічильник подають 359,6 л води та перемішують. Для кращого розчинення компонентів у сорочку реактора подають пару, щоб досягти температури у збірнику на рівні 40 °С. Стерилізують при 112° С 20-30 хв та потім стерильний розчин насосом (НВ-32) подають на етапі біосинтезу у ферментер (ФР-34)

ДР 5. Приготування і стерилізація поживних середовищ

ДР 5.1 Приготування і стерилізація поживного середовища для вирощування інокуляту в колбах на качалках.

ДР 5.1.1. Приготування і стерилізація композиції А

На технічних вагах зважують 0,55 г $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ та 14,39 г $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. Наважки поміщають у колбу об'ємом 1 л, додають за допомогою мірного циліндра об'ємом 500 мл дистильовану воду (480 мл), перемішують, закривають ватно-марлевым корком і стерилізують в автоклаві при 131 °С (0,15 МПа) протягом 40 хв.

ДР 5.1.2. Приготування і стерилізація композиції Б

На технічних вагах зважують 18,96 г K_2HPO_4 та 14,8 г KH_2PO_4 . Наважку поміщають у колбу об'ємом 2 л, додають за допомогою мірного циліндра об'ємом 500 мл дистильовану воду (700 мл), перемішують, закривають ватно-марлевым корком і стерилізують в автоклаві при 131 °С (0,15 МПа) протягом 40 хв.

ДР 5.1.3. Приготування і стерилізація композиції В

На технічних вагах зважують 87,2 г глюкози та 10,9 г дріжджового екстракту. Наважки поміщають в колбу об'ємом 2 л, додають за допомогою мірного циліндра об'ємом 500 мл дистильовану воду (1000 мл), перемішують, закривають ватно-марлевим корком і стерилізують в автоклаві при 112 °С, 20-30 хв.

ДР 5.2. Приготування і стерилізація поживного середовища для інокулятора об'ємом 40 л

ДР 5.2.1. Приготування і стерилізація композиції А

За допомогою об'ємно-вагового дозатора (ОВД-13) зважують 5,45 г $MgSO_4 \times 7H_2O$, 143,9 г $(NH_4)_2SO_4$, 189,7 г K_2HPO_4 , 148,24 г KH_2PO_4 та переносять у збірник-змішувач (ЗЗ-12) на 10 л, автоматизованим лічильником подають 6,7 л води питної та перемішують. З метою гомогенізації компонентів їх підігрівають парою до температури 40°C. Після цього розчин перекачують у попередньо простерилізований інокулятор (ІН-21) ємністю 40 л, подають 6 %-ий розчин HCl (від ДР 2.1.1) до досягнення рН 4,0-4,5 і стерилізують при 131 °С (0,15 МПа) протягом 40 хв. Для підтвердження ефективності стерилізації проводять мікробіологічний аналіз.

ДР 5.2.2. Приготування і стерилізація композиції Б

За допомогою об'ємно-вагового дозатора (ОВД-15) зважують 872,0 г глюкози, 109 г дріжджового екстракту та переносять у реактор (РЗ-14) на 20 л, автоматизованим лічильником подають 11,44 л води питної та перемішують. З метою гомогенізації компонентів їх підігрівають парою до температури 40°C. Після повного розчинення компонентів у цьому ж реакторі проводимо стерилізацію при 112 °С, 20-30 хв. Після цього стерильний розчин перекачують у попередньо простерилізований інокулятор (ІН-21) ємністю 40 л. Для підтвердження ефективності стерилізації проводять мікробіологічний аналіз.

ДР 5.3. Приготування і стерилізація поживного середовища для інокулятора об'ємом 400 л

ДР 5.3.1. Приготування і стерилізація композиції А

За допомогою об'ємно-вагового дозатора (ОВД-17) зважують 54,5 г $MgSO_4 \times 7H_2O$, 1438,8 г $(NH_4)_2SO_4$, 1896,6 г K_2HPO_4 , 1482,4 г KH_2PO_4 та подають у

збірник-змішувач (ЗЗ-16) на 100 л, автоматизованим лічильником подають 67,13 л води питної та перемішують. З метою гомогенізації компонентів їх підігрівують парою до температури 40°C. Після цього розчин перекачують у попередньо простерилізований інокулятор (ІН-23) ємністю 400 л, подають 6 %-ий розчин HCl (від ДР 2.1.2) до досягнення рН 4,0-4,5 і стерилізують при 131 °С (0,15 МПа) протягом 40 хв. Для підтвердження ефективності стерилізації проводять мікробіологічний аналіз.

ДР 5.3.2. Приготування і стерилізація композиції Б

За допомогою об'ємно-вагового дозатора (ОВД-19) зважують 8720 г глюкози та 1090 г дріжджового екстракту. Наважки переносять у реактор (РЗ-18) на 150 л, автоматизованим лічильником подають 114,4 л води питної та перемішують. Для гомогенізації компонентів їх підігрівують парою до температури 40°C. Після повного розчинення компонентів у цьому ж реакторі проводимо стерилізацію при 112 °С, 20-30 хв. Після цього стерильний розчин перекачують у попередньо простерилізований інокулятор (ІН-23) ємністю 400 л. Для підтвердження ефективності стерилізації проводять мікробіологічний аналіз.

ДР 5.4. Приготування і стерилізація поживного середовища для виробничого культивування у ферментері об'ємом 4000 л.

Для проведення виробничого культивування у ферментері об'ємом 4000 л необхідно підготувати 2176,5 л поживного середовища.

ДР 5.4.1. Приготування і стерилізація композиції А

Через ваговий дозатор (ОВД-24) у збірник-змішувач (ЗЗ-25) об'ємом 1000 л вносять 544,13 г $MgSO_4 \times 7H_2O$, 14,365 кг $(NH_4)_2SO_4$, 18,936 кг K_2HPO_4 , 14,8 кг KH_2PO_4 , 2,18 кг $ZnSO_4 \times 7H_2O$, 2,18 кг $MnSO_4 \times H_2O$ та 2,18 кг $CaCl_2 \times 2H_2O$. До солей автоматизованим лічильником подають 671,35 л питної води. Приготований розчин насосом (НВ-26) подають у ферментер (ФР-34) об'ємом 4000 л, додають 6% розчин HCl за допомогою штуцера (від ДР 2.1.3). Стерилізацію проводять подачею гострої пари у ферментер і у сорочку при 131 °С і рН 4,0 упродовж 40 хв.

ДР 5.4.2. Приготування і стерилізація композиції Б

Через ваговий дозатор (ОВД-27) у реактор (РЗ-28) об'ємом 1500 л вносять 87060 г глюкози та 10882,5 г дріжджового екстракту, автоматизованим лічильником подають 1140,91 л води питної та перемішують. Стерилізують подачею гострої пари у реактор і у сорочку при 112 °С упродовж 20 хв. Для підтвердження ефективності стерилізації проводять мікробіологічний аналіз. Стерильний розчин композиції насосом (НВ-29) подають у ферментер (ФР-34) ємністю 4000 л.

ТП 6. Підготовка посівного матеріалу

ТП 6.1. Підтримання колекційної культури

Отриману колекційну культуру *Klebsiella pneumoniae* HD79-02 зберігають у пробірках зі агаризованим середовищем Лурія Бертані (LB) за температури 2-4 °С з пересівом 1 раз у 2 місяці на свіже поживне середовище. Усі роботи із колекційною культурою проводять із дотриманням правил асептики.

ТП 6.2. Одержання робочої культури

Колекційну культуру *Klebsiella pneumoniae* HD79-02 розсівають на чашки Петрі із агаризованим середовищем Лурія Бертані (LB) для одержання ізольованих колоній. Вирощують у термостаті при температурі 30 С (24 год).

ТП 6.3. Вирощування інокуляту у пробірках на агаризованих середовищах

Отримані ізольовані колонії *Klebsiella pneumoniae* HD79-02 із чашок Петрі (від ТП 6.2) пересівають петлею у пробірки з агаризованим LB (кожна пробірка засівається однією окремою колонією, які розташовані на відстані мінімум 1 см). Тривалість вирощування - 24 години, температура 30 С. Для мікробіологічного аналізу проби відбирають кожні 4 години. Такий процес здійснюють, аби перевірити відсутність сторонньої мікробіоти.

ТП 6.4. Вирощування інокуляту в колбах на качалках

В асептичних умовах у колбу об'ємом 3 л вносять композицію А (від ДР5.1.1), композицію Б (від ДР5.1.2) та композицію В (від ДР5.1.3). Перемішують і розливають по 100 мл у 15 стерильних качалочних колб об'ємом 750 мл.

У пробірку з робочою культурою *Klebsiella pneumoniae* HD79-02 (від ТП6.3) вносять 5 мл фізіологічного розчину, суспендують клітини, стерильною піпеткою

відбирають отриману суспензію бактерій і вносять у качалочні колби із поживним середовищем. Для засіву 1 колби використовують бактеріальну суспензію, одержану з 1 пробірки.

Культивують на качалках (150 об/хв) при температурі 30° С упродовж 24 год і здійснюють мікробіологічний контроль. Такий процес здійснюють, аби перевірити відсутність сторонньої мікробіоти. Після проведення мікробіологічного контролю культуральну рідину зливають у засівну колбу об'ємом 1 л.

ТП 6.5. Вирощування в інокуляторі об'ємом 40 л

У посівний апарат із композицією А (від ДР 5.2.1) додають композицію Б (від ДР 5.2.2), вносять запасний розчин солей (від ДР 3), вмикають перемішувачий пристрій і доводять 6%-им розчином NaOH (від ДР 2.2.1) рН середовища за показником датчика рН до 6,8. Через засівну колбу вносять посівний матеріал (від ТП 6.4). Культивують при температурі 30 С упродовж 24 год з підтримкою аераційного повітря.

Кожні 4 год з інокулятора відбирають проби культуральної рідини для проведення мікробіологічного контролю, аби пересвідчитися у відсутності сторонньої мікробіоти.

ТП 6.6. Вирощування в інокуляторі об'ємом 400 л

У посівний апарат із композицією А (від ДР 5.3.1), додають композицію Б (від ДР 5.3.2), перемішують і доводять 6%-им розчином NaOH (від ДР 2.2.2) рН середовища за показником датчика рН до 6,8. Посівний матеріал з інокулятора до ферментера подають через трубу перетичкування (від ТП 6.5). Культивують при температурі 30 С упродовж 24 год з підтримкою аераційного повітря.

Кожні 4 год з інокулятора відбирають проби культуральної рідини для проведення мікробіологічного контролю для перевірки відсутності сторонньої мікробіоти.

ТП 7. Виробничий біосинтез

ТП 7.1. Виробничий біосинтез (отримання культуральної рідини)

У виробничий ферментер (ФР-34) об'ємом 4000 л з композицією А (від ДР 5.4.1), подають композицію Б (від ДР 5.4.2) та стерильний розчин глюкози від ДР

4.1. Глюкозу для підживлення потрібно вносити порційно (3 порції) по 181,4 л кожні 24 год. Вмикають перемішуючий пристрій. Через трубу перетискування подають з інокулятора посівний матеріал (від ТП 6.6). Культивують при температурі 30 С упродовж 72 год з підтримкою аераційного повітря. Кожні 12 год із ферментера відбирають проби культуральної рідини для проведення мікробіологічного контролю для засвідчення відсутності сторонньої мікробіоти та визначення концентрації 2,3-бутандіолу (46,21 г/л).

РОЗДІЛ 8. ВИДІЛЕННЯ ТА ОЧИЩЕННЯ 2,3-БУТАНДІОЛУ

У даній роботі запропоновано використання 2,3-бутандіолу як активної речовини косметичного крему для жінок, що володіє антиоксидантною та протизапальною дією. Для оптимізації процесу виробництва крему його компоненти мають володіти хорошою розчинністю, щоб забезпечити та проявляти максимальну активність. Тому 2,3-бутандіол *Klebsiella pneumoniae* HD79-02 будемо одержувати в рідкій формі. Процес одержання 2,3-бутандіолу після проведення культивування включає відділення біомаси, екстракцію, декандацію та дистиляцію.

8.1. Відділення біомаси

2,3-бутандіол є екзометаболітом, тому після відділення біомаси від буде міститись в надосадовій рідині.

У виробництві часто доводиться відділяти рідини від газів або дрібні частинки від рідин. Спосіб поділу залежить від того, наскільки частинки великі та наскільки відрізняється їхня густина від основного середовища. Для такого розділення найбільш популярними методами є центрифугування, фільтрування, сепарування та осадження. [59]

Фільтрування – розділення твердої фази від рідкої за допомогою фільтра (пориста перегородка затримує тверді частинки). Недоліком процесу є складність вибору фільтрувального матеріалу.

Центрифугування – розділення суспензій і емульсій за рахунок відцентрових сил. Під час центрифугування осад необхідно ущільнювати, а під час фільтрації – ущільнювати та сушити. [59]

У більшості випадків для відділення біомаси від культуральної рідини (в якій міститься потрібний метаболіт) використовують процес фільтрації.[60] Але попри це процес центрифугування має кращі властивості, оскільки забезпечує кращу продуктивність та компактність обладнання та забезпечує швидший процес розділення.

					НУХТ БТЕК 04.02.39 КР ПЗ		
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата	РОЗДІЛ 8. Виділення та очищення 2,3-бутандіолу		
Розроб.		Ковалюк О. Р.			Літ.	Арк..	Аркушів
Перевір.		Воронцов О. О.				71	122
Реценз.					71		
Н.Контр.					Кафедра БТМ		
Затверд.		Стабніков В. П.					

Центрифуги використовують, коли необхідно забезпечити безперервність процесу та високу стерильність, для важкофільтрувальних суспензій та отримання чистої біомаси [60].

Тому для відокремлення біомаси *Klebsiella pneumoniae* HD79-02 будемо використовувати метод центрифугування.

У статтях [61-63] запропоновано режим центрифугування 5-10 хвилин при швидкості обертання 3000 об/хв, але є ризик, що біомаса бактерій не осяде при такій низькій швидкості. Тому оберемо режим центрифугування культуральної рідини при швидкості обертання 10 000 об/хв протягом 10 хв[11]. Отриманий супернатант використовують для подальшої екстракції.

8.2. Обґрунтування стадії виділення та очищення 2,3-бутандіолу

Для виділення 2,3-бутандіолу використовуються різні методи, такі як рідинно-рідинна екстракція, первапорація, екстракція висолюванням, двофазна водна екстракція, реактивна екстракція та дистиляція. Кожен із цих методів має свої переваги та недоліки.

Наприклад, дистиляція є універсальним та ефективним способом, який забезпечує високу чистоту продукту, селективність і масштабованість. Однак вона вимагає значних енерговитрат через високу температуру кипіння 2,3-бутандіолу, а також є дорогою через низьку концентрацію цільової сполуки (<10 мас.%). Первапорація, у свою чергу, енергоефективна та дозволяє ефективне розділення, але стикається з проблемами, пов'язаними зі зносом мембран, масштабуванням та високими початковими витратами. [70]

Реактивна екстракція відрізняється меншою витратою розчинника, підвищеною розчинністю та можливістю інтеграції з іншими методами, проте є складним і ресурсомістким процесом. Двофазна водна екстракція забезпечує високу ступінь вилучення та швидкість, але потребує подальших досліджень для оптимізації екологічного впливу. Метод висолювання є економічно вигідним і має низьку токсичність, але вибір солі та попередня обробка можуть ускладнювати процес. [70]

Рідинно-рідинна екстракція або екстракція розчинником (поділ сполук за рахунок розчинності у різних рідинах, що не змішуються між собою) виступає оптимальним рішенням для виділення 2,3-бутандіолу завдяки своїй унікальній здатності ефективно відокремлювати цільову сполуку. Суть методу полягає у переведенні продукту в органічну фазу з подальшим очищенням через дистиляцію, що суттєво знижує енергетичні витрати порівняно з іншими методами. Важливою перевагою технології є можливість багаторазового використання розчинника у замкнутому циклі, що робить процес не лише ефективним, але й економічно вигідним [64].

Сучасні наукові дослідження свідчать, що комбінація рідинно-рідинної екстракції з дистиляцією, яку зазвичай називають гібридною екстракцією-дистиляцією (ГЕД), може забезпечити високий вихід 2,3-бутандіолу з одночасним відновленням та рециркуляцією розчинника.

Підбір відповідного екстрагенту є ключовим етапом у процесі рідинно-рідинної екстракції. У низці наукових досліджень як розчинники застосовували етиловий ацетат [71], бутиловий ацетат [70], ізобутанол [72] та 2-етил-1-гексанол [73]. Однак кожен із них має певні обмеження, що ускладнюють їхнє використання в промислових умовах. Зокрема, етиловий ацетат хоча й характеризується низькою температурою кипіння (77,1 °C), демонструє вкрай низький коефіцієнт розподілу (0,06–0,23), що знижує ефективність вилучення. Ізобутанол забезпечує вищу екстракційну здатність, проте значна розчинність води ($K_D \text{H}_2\text{O} = 0,5\text{--}0,7$) ускладнює процес дистиляції та збільшує енергозатрати. 2-Етил-1-гексанол, попри високу селективність, має температуру кипіння (184,6 °C), близьку до температури кипіння 2,3-бутандіолу (180,7 °C), що створює труднощі при регенерації. На цьому тлі бутилацетат вирізняється оптимальним поєднанням селективності, низької розчинності води та зручної регенерації, що робить його найкращим варіантом для ефективного і стабільного промислового застосування. Також він є доступним, нетоксичним та має низьку вартість. Отже, в якості розчинника оберемо **бутилацетат**.

Співвідношення розчинника до супернатанту визначає ефективність виділення цільової речовини. Наприклад, у дослідженні [70] використовували співвідношення 1,5:1 (об'єм розчинника до об'єму супернатанту). Екстракція буде проходити в рідинному екстракторі одноступінчасто.

Під час рідинно-рідинної екстракції 2,3-бутандіол переходить з водної фази до органічної внаслідок контакту з розчинником у екстракторі. В результаті утворюється дві фази: органічна, збагачена 2,3-бутандіолом, та водна. Після фази розділення органічну фазу направляють до дистиляційної колони, де здійснюється поділ: 2,3-бутандіол відводиться зверху як основний продукт, а розчинник після конденсації повертається назад в екстрактор для повторного використання [65]. Процес екстракції проводиться за температури 27 °C і триває близько 5 годин. Водну фазу, яка утворюється після екстракції, відокремлюють шляхом декантації.[70]

Декантація — це метод фізичного розділення фаз, що ґрунтується на різниці густини рідин. Після відстоювання більш щільна водна фаза осідає, а легша органічна — спливає. Після чого фази легко розділяються без потреби в складному обладнанні.

Переваги декантації:

- простота й економічність процесу;
- відсутність потреби в мембранах чи центрифугуванні;
- мінімальне механічне втручання;
- придатність для безперервних і періодичних процесів.

Таким чином, поєднання екстракції з подальшою декантацією та дистиляцією дозволяє ефективно виділяти 2,3-бутандіол і забезпечує сталість процесу за умови рециркуляції розчинника.

Після завершення декантації органічну фазу направляли на дистиляцію з метою відокремлення розчинника від 2,3-бутандіолу. Цей процес дозволяв отримати очищену цільову сполуку, а розчинник — повернути в обіг для повторного використання, що підвищує економічну ефективність технології. Під час дистиляції бутилацетат випаровувався, за рахунок різниці температури кипіння

2,3-бутандіолу та бутилацетату, а очищений 2,3-бутандіолу надходив на подальшу стадію фасування.

Дистиляцію проводили в атмосферному режимі при тиску 760 мм рт. ст. Для охолодження використовували холодильник з температурою 20 °С. Нагрівання системи здійснювалося з інтенсивністю 45 % від максимальної потужності нагрівача.[70] Вихід 2,3-бутандіолу становив 91,39% з чистотою 99%. Бутилацетат регенерувався з втратами лише 4% та чистотою 98,38%, що дозволяло повторно використовувати його у процесі.[70]

8.3. Фасування, маркування, пакування

Пакування 2,3-бутандіолу залежить від сфери використання, умов та вимог зберігання [67].

Види пакування:

- Флакони для лабораторій (об'ємом близько 250 мл): Використовуються переважно для дослідницьких і аналітичних цілей у наукових установах.

- Бочки на 200 кг: Типова тара для промислового використання.

Виготовляються з металу чи пластику, забезпечуються щільними кришками і, за потреби, клапанами для зручного наливу.

- 20-тонні ISO-контейнери: Призначені для перевезення великих обсягів рідин. Вони гарантують безпечне транспортування і ефективне зберігання при великомасштабних поставках. [67].

Отже, оберемо фасування 2,3-бутандіолу у бочки по 200 кг, що виготовлені з пластику, закупорені герметичними кришками та оснащені клапанами для зручності відбору продукту.

На поверхню бочки обов'язково наносять промарковану етикетку, згідно вимог. На етикетці вказується хімічна назва речовини, синоніми, CAS номер, специфічні знаки, як от піктограми небезпеки (знак оклику для попередження про подразнюючу дію на шкіру/очі, знак екотоксичності, що свідчить про вплив на водні організми при зливі у воду), сигнальні слова («Увага»), попереджувальні фрази (користуватись засобами індивідуального захисту, при потраплянні в очі ретельно промити їх водою). Також вказуються контактні дані виробника та назва

компанії. Зазначається маса нетто/брутто, дата виготовлення продукції і номер партії, умови зберігання, країна походження, метод утилізації [69].

Готовий продукт потрібно зберігати в щільно закритій тарі (без доступу повітря), в прохолодному та сухому приміщенні. Приміщення повинно регулярно провітрюватись. Необхідно продукт зберігати як надалі від джерел тепла та відкритого вогню.

Загальна схема виробництва 2,3-бутандіолу представлена на *рис. 3.1*.

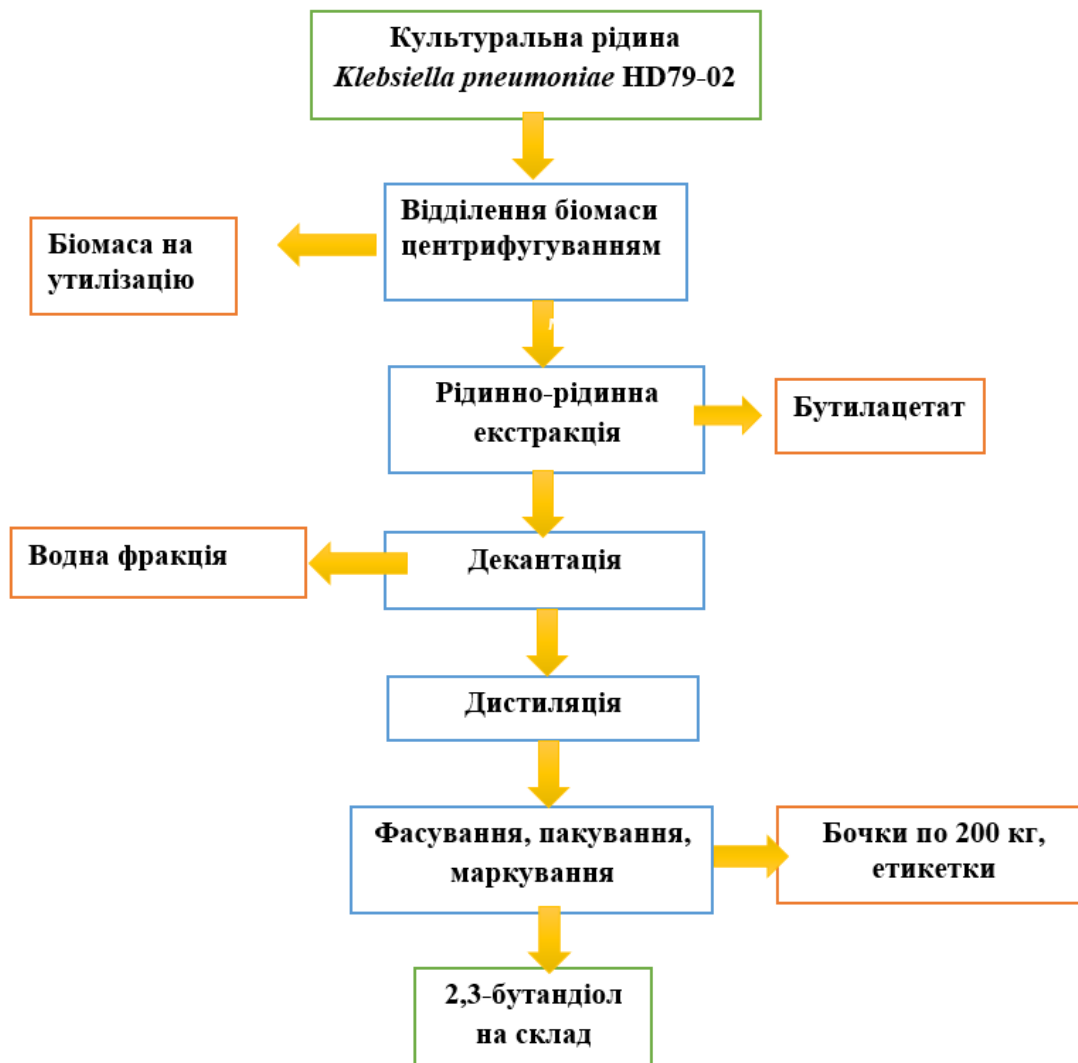


Рис. 8.1. Схема виробництва 2,3-бутандіолу.

РОЗДІЛ 9. КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА

Протягом процесу культивування періодично (кожні 4 год) відбирають проби поживних середовищ, посівного матеріалу, культуральної рідини для мікробіологічного контролю, а також для контролю показників росту і біосинтезу: концентрації 2,3-бутандіолу та біомаси бактерій, контролю рівня джерела азоту (амоній сульфату та дріжджевого екстракту) та джерела вуглецю (глюкози) у середовищі.

9.1. Мікробіологічний контроль

Мікробіологічний контроль здійснюють для оцінки стерильності поживних середовищ та виявлення контамінації у посівному матеріалі та культуральній рідині. Проби середовища висівають на СА/ГКА (для дріжджів і грибів) та МПА (для бактерій).

Для посіву використовують стерильну піпетку, відбираючи 0,1 мл проби, яку потім наносять на поверхню відповідного агаризованого середовища. Рівномірний розподіл суспензії забезпечують за допомогою стерильної бактеріологічної петлі або шпателя Дригальського. Після посіву чашки поміщають у термостат для інкубації: на МПА – при 28–30 °С на 1–2 доби (для виявлення бактерій) та СА/ГКА – при 24–26 °С на 3–5 діб (для вирощування дріжджів та грибів). [76]

Після інкубації здійснюють перевірку на наявність сторонньої мікрофлори візуальним методом. На чашках повинні вирости лише колонії *Klebsiella pneumoniae* HD79-02 і повинна бути 100% відсутність сторонніх колоній (рис. 5.1). На агаризованих ПС бактерії даного штаму утворюють круглі слизуваті сірувато-білі колонії. [15]

					НУХТ БТЕК 04.02.39 КР ПЗ		
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата			
Розроб.		Ковалюк О. Р.			Літ.	Арк..	Аркушів
Перевір.		Воронцов О. О.				77	122
Реценз.					77		
Н.Контр.					Кафедра БТМ		
Затверд.		Стабніков В. П.					

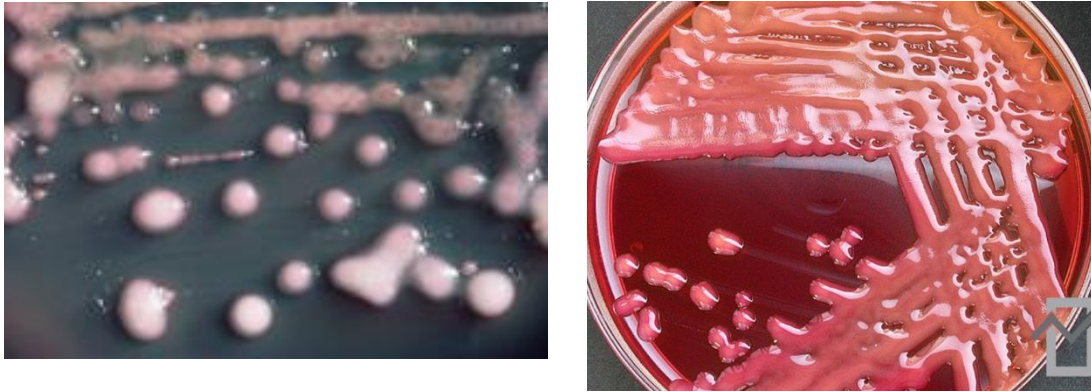


Рис. 9.1. Колонії *K. pneumoniae* HD79-02 на агарі Мак-Конкі

Процес мікроскопіювання *K. pneumoniae* HD79-02 здійснюють в світловому мікроскопі. Препарат готують наступним чином: стерильною петлею наносять 10 мкл культуральної рідини на предметне скло та розподіляють по склу за допомогою бактеріальної петлі (мазком близько 1 см). Мазок висушують до повної відсутності вологи та мікроскопіюють.

Під час мікроскопіювання можна побачити клітини *K. pneumoniae* HD79-02 (рис 9.2). Бактерії є нерухомими, грамнегативними, мають паличкоподібну форму, спор не утворюють розмір клітин складає 0.3-1.0 x 0.6-6.0 мкм.

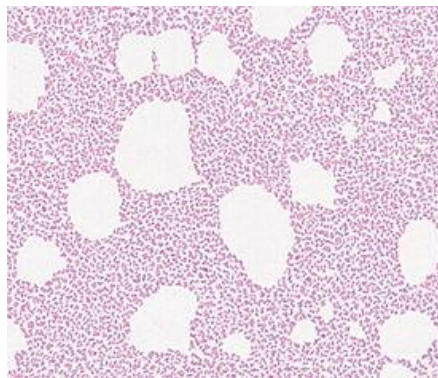


Рис. 9.2. Зображення клітин *K. pneumoniae* HD79-02 у світловому мікроскопі [77]

9.2. Визначення концентрації біомаси бактерій

Концентрацію біомаси визначали шляхом аналізу сухої маси клітин. Для цього клітини збирали за допомогою центрифугування (9000 об/хв, 10 хв, 4 °С) на центрифугі Hettich Universal 320-R (Німеччина), після чого двічі промивали їх дистильованою водою. Отриманий осад висушували при 105 °С протягом 24 годин, а потім охолоджували в ексікаторі до стабільної маси. [78].

9.3. Показники росту і синтезу цільового продукту

9.3.1. Визначення концентрації 2,3-бутандіолу

Визначення концентрації 2,3-бутандіолу здійснювали методом високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ). Аналіз проводили за допомогою системи ВЕРХ (Shimadzu, Шанхай, Китай) Shimadzu LC20A, яка включає насос LC-10ATvp, диференціальний детектор RID-10A, колонку НРХ-87Н. Об'єм впорскування становив 20 мкл, рухомою фазою слугувала 0,005 моль/л сірчана кислота, швидкість потоку – 0,8 мл/хв, температура диференціального детектора – 40 °С, температура колонки – 65 °С, час аналізу складу продукту бродіння – 20 хв. Визначення концентрації 2,3-бутандіолу здійснювали шляхом порівняння площ пік отриманих хроматограм із стандартною кривою, побудованою на основі стандартних зразків 2,3-ВД.

Зразки перед аналізом центрифугували при 10 000 об/хв протягом 10 хв для видалення твердих частинок. Одержаний супернатант фільтрували через мембранний фільтр (0,22 мкм) для очищення від залишкових домішок. Підготовлені проби зберігали при температурі +4 °С до моменту аналізу. [11]

9.3.2 Визначення концентрації джерела вуглецю

Джерелом вуглецевого живлення у поживному середовищі є глюкоза. Кількість джерела вуглецю, що входить до складу поживного середовища визначають за допомогою високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ), на хроматографі фірми SHIMADZU UFLC XR оснащена колонкою Phenomenex Rezex ROA розміром 300 мм × 7,8 мм, з'єднаною з диференціальним рефрактометром. 10 мМ розчину H₂SO₄ використовували як рухому фазу зі швидкістю потоку 0,6 мл/хв і температурою колонки 65°C [78].

9.3.3 Визначення концентрації джерела азоту

У поживному середовищі органічний азот міститься у амінній (дріжджовий екстракт) та амонійній (амоній сульфат) формах.

Концентрацію амінного азоту можна визначити за допомогою модифікованого методу титрування за Серенсенем. Реакція титрування формаліну на білок полягає в тому, що альдегідна група у складі формаліну реагує з

аміногрупою білка, підвищуючи кислотність білка. В результаті такої реакції утворюється метиленамінокислота. При титруванні білка формальдегідом кількість карбоксильних груп, що титруються, буде відповідати кількості амінних груп, які зв'язалися з формальдегідом. Реакція зображена на *рис 9.3*:

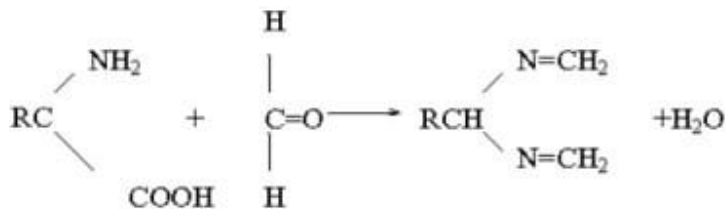


Рис. 9.3. Схема реакції формальдегіду з аміногрупою [75]

Хід визначення: після центрифугування зразку культуральної рідини при 5000 об/хв протягом 15 хв, одержують супернатант, із рН 7,0. При необхідності розчин нейтралізують шляхом додаванням 0,1 М NaOH / 0,1 М HCl. Після закінчення нейтралізації до зразка об'ємом 50 мл додають 20 мл розчину формальдегіду, перемішують і титрують 1 М NaOH до значення рН 8,5, що залишається сталим на протязі м 2 хв, або до появи слабо рожевого забарвлення (індикатор 1% розчин фенолфталеїну).

Для точності результатів готують контрольний дослід, титруючи дистильовану воду. З об'єму 0,1 моль/л NaOH, необхідного для досягнення рН 8,5 при титруванні. Для визначення концентрації дріжджового екстракту у мг/л потрібно отриманий об'єм NaOH помножити на поправочний коефіцієнт із значенням 28.[74]

Для визначення концентрації амонійного азоту з солей використовують колориметричний метод з додаванням реактиву Несслера. Суть методу полягає в тому, що у лужному середовищі аміак реагує з реактивом Несслера і утворюється осад жовто-коричневого кольору, який в подальшому піддається колориметричному визначенню. [79]

9.4. Карта контрольних точок виробництва 2,3-бутандіолу

Таблиця 9.1

Номер контрольної точки та назва стадії	Об'єкт контролю та показник, що визначається	Засоби та методи контролю	Періодичність перевірки та відбору проб	Нормативні значення показника
1	2	3	4	5
Кт 1.1 Забір атмосферного повітря	Повітрязбірник Висота забору повітря	-	Під час забору повітря	H=20-30 м
Кт 1.2 Попереднє грубе очищення	Очищене повітря Ступінь очистки, перепад тисків	Ступінь очистки перевіряється відповідно до паспорту, манометр	Після проходження повітря через фільтр	E=90 %
Кт 1.3. Стиснення повітря	Компресійоване повітря Тиск, температура	Термометр, манометр	Після компресіювання повітря	P = 0,35-0,5 МПа, t = 120-250°C
Кт 1.4. Охолодження повітря і видалення вологи	Охоложене повітря Температура, вологість	Термометр, психрометр	Після охолодження повітря	t = 25-40°C W=50-70°
Кт 1.5. Нагрівання повітря	Нагріте повітря Температура, вологість	Термометр, психрометр	Після нагрівання повітря	t= 60° C; W = <40%
Кт 1.6. Очищення повітря у головному фільтрі	Очищене повітря Перепад тисків, ступінь очистки	Ступінь очистки перевіряється відповідно до паспорту, манометр	Після очистки повітря у головному фільтрі	E = 95 %;
Кт Км 1.7. Очищення повітря у індивідуальному фільтрі	Очищене повітря Ступінь очистки, мікробіологічна чистота	Ступінь очистки перевіряється відповідно до паспорту, мікробіологічний контроль	Після очистки повітря у індивідуальному фільтрі	E = 99,99 %
Кх , 2.1 Приготування 6% розчину HCl	6% розчин HCl Концентрація	Хімічний метод	Концентрацію визначають після приготування розчину.	C=6%
Кт, Км 2.2.1 2.2.2 2.2.3 Приготування та стерилізація 6% розчину NaOH	6% розчин гідроксиду натрію Температура, час, концентрація, відсутність мікробіоти	Термометр, годинник, мікробіологічний контроль	Концентрацію визначають після приготування розчину.	C=6%, t=131°C, τ=40 хв. Відсутність мікробіоти
Кх, Кт, Км 3.1 3.2 3.3 Приготування і стерилізація запасних розчинів	Запасні розчини (сульфат заліза, сульфат марганцю, кальцію хлорид) Тиск, температура, час, відсутність мікробіоти	Манометр, термометр, годинник, мікробіологічний контроль	Температура та тиск визначається безперервно під час стерилізації, мікробіологічний контроль після стерилізації	t =131°C, P=0,15МПа τ=40 хв відсутність мікробіоти
Кх Кт Км 4.1 Приготування розчину підживлення	Глюкоза Температура, час. Відсутність мікробіоти	Термометр, годинник, мікробіологічний контроль	Температура визначається безперервно під час стерилізації, мікробіологічний контроль після стерилізації	t =112 °C, τ=20-30 хв відсутність мікробіоти

Продовження таблиці 9.1

<p>Приготування і стерилізація поживного середовища для вирощування інокуляту в колбах на качалках</p> <p>Кт, Км 5.1.1 Приготування і стерилізація композиції А</p>	<p>Композиція А Температура, час, відсутність мікробіоти</p>	<p>Термометр, годинник, мікробіологічний контроль</p>	<p>Температура визначається безперервно під час стерилізації, мікробіологічний контроль після стерилізації</p>	<p>t =131 °С, τ=40 хв відсутність мікробіоти</p>
<p>Приготування і стерилізація поживного середовища для вирощування інокуляту в колбах на качалках</p> <p>Кт Км, 5.1.2 Приготування і стерилізація композиції Б</p>	<p>Композиція Б Температура, час, відсутність мікробіоти</p>	<p>Термометр, годинник, мікробіологічний контроль</p>	<p>Температура визначається безперервно під час стерилізації, мікробіологічний контроль після стерилізації</p>	<p>t =131 °С, τ=40 хв відсутність мікробіоти</p>
<p>Приготування і стерилізація поживного середовища для вирощування інокуляту в колбах на качалках</p> <p>Кт Км, 5.1.3 Приготування і стерилізація композиції В</p>	<p>Композиція В Температура, час, відсутність мікробіоти</p>	<p>Термометр, годинник, мікробіологічний контроль</p>	<p>Температура визначається безперервно під час стерилізації, мікробіологічний контроль після стерилізації</p>	<p>t =112 °С, τ=20-30 хв відсутність мікробіоти</p>
<p>Приготування і стерилізація поживного середовища для інокулятора об'ємом 40 л</p> <p>Кт, Км, 5.2.1 Приготування і стерилізація композиції А</p>	<p>Композиція А Тиск, температура, час, відсутність мікробіоти</p>	<p>Манометр, термометр, годинник, мікробіологічний контроль</p>	<p>Температура та тиск визначається безперервно під час стерилізації, мікробіологічний контроль після стерилізації</p>	<p>t =131 °С, P=0,15МПа τ=40 хв відсутність мікробіоти</p>

Продовження таблиці 9.1

<p>Приготування і стерилізація поживного середовища для інокулятора об'ємом 40 л</p> <p>Кт, Км, 5.2.2</p> <p>Приготування і стерилізація композиції Б</p>	<p>Композиція Б Температура, час, відсутність мікробіоти</p>	<p>Термометр, годинник, мікробіологічний контроль</p>	<p>Температура визначається безперервно під час стерилізації, мікробіологічний контроль після стерилізації</p>	<p>t =112 °С, τ=20-30 хв відсутність мікробіоти</p>
<p>Приготування і стерилізація поживного середовища для інокулятора об'ємом 400 л</p> <p>Кт, Км, 5.3.1</p> <p>Приготування і стерилізація композиції А</p>	<p>Композиція А Тиск, температура, час, відсутність мікробіоти</p>	<p>Манометр, термометр, годинник, мікробіологічний контроль</p>	<p>Температура та тиск визначається безперервно під час стерилізації, мікробіологічний контроль після стерилізації</p>	<p>t =131 °С, P=0,15МПа τ=40 хв відсутність мікробіоти</p>
<p>Приготування і стерилізація поживного середовища для інокулятора об'ємом 400 л</p> <p>Кт, Км, 5.3.2</p> <p>Приготування і стерилізація композиції Б</p>	<p>Композиція Б Температура, час, відсутність мікробіоти</p>	<p>Термометр, годинник, мікробіологічний контроль</p>	<p>Температура визначається безперервно під час стерилізації, мікробіологічний контроль після стерилізації</p>	<p>t =112 °С, τ=20-30 хв відсутність мікробіоти</p>
<p>Приготування і стерилізація поживного середовища для виробничого культивування у ферментері об'ємом 4000 л</p> <p>Кт, Км, 5.4.1</p> <p>Приготування і стерилізація композиції А</p>	<p>Композиція А Температура, час, відсутність мікробіоти</p>	<p>Термометр, годинник, мікробіологічний контроль</p>	<p>Температура визначається безперервно під час стерилізації, мікробіологічний контроль після стерилізації</p>	<p>t =131 °С, τ=40 хв відсутність мікробіоти</p>

Продовження таблиці 9.1

Приготування і стерилізація поживного середовища для вирощування у ферментері об'ємом 4000 л Кт, Км, 5.4.2 Приготування і стерилізація композиції Б	Композиція Б Температура, час, відсутність мікробіоти	Термометр, годинник, мікробіологічний контроль	Температура визначається безперервно під час стерилізації, мікробіологічний контроль після стерилізації	t = 112 °С, τ=20-30 хв відсутність мікробіоти
Кт, Км 6.1 Підтримання колекційної культури	Колекційна культура <i>Klebsiella pneumoniae</i> HD79-02 Морфологічна однорідність, відсутність сторонньої мікробіоти, відсутність неконтрольованих мутацій	Термометр, годинник, мікробіологічний контроль	Пересів культури один раз на 1-2 місяці. Мікробіологічний контроль проводять кожні 1-2 місяці	t = 2-4 °С, τ=1-2 місяці, відсутність сторонньої мікробіоти
Кт, Км 6.2 Одержання робочої культури	Колекційна культура <i>Klebsiella pneumoniae</i> HD79-02 Морфологічна однорідність, відсутність сторонньої мікробіоти, відсутність неконтрольованих мутацій	Термометр, годинник, мікробіологічний контроль	Мікробіологічний контроль проводять кожні 4 години	t = 30±1 °С, τ=24 год, відсутність сторонньої мікробіоти
Кт, Км 6.3 Вирощування інокуляту на агаризованих поживних середовищах	Колекційна культура <i>Klebsiella pneumoniae</i> HD79-02 Морфологічна однорідність, відсутність сторонньої мікробіоти, відсутність неконтрольованих мутацій	Термометр, годинник, мікробіологічний контроль	Мікробіологічний контроль проводять кожні 4 години	t = 30±1 °С, τ=24 год, відсутність сторонньої мікробіоти
Кт, Км 6.4 Вирощування культури в колбах на качалках	Посівний матеріал Температура, тривалість вирощування, частота обертів качалки, мікробіологічна чистота культури	Годинник, термометр технічний, технічний тахометр, мікроскоп, мікробіологічний контроль	Температура і швидкість обертання контролюються і підтримуються автоматично протягом всього часу вирощування, мікроскопіювання – кожні 4 години	t = 30±1 °С, τ=24 год, W=150 об/хв, відсутність сторонньої мікробіоти
Кт, Км Кх 6.5 Вирощування інокуляту в інокуляторі об'ємом 40 л	Посівний матеріал, швидкість перемішування, тривалість культивування, рН, температура, мікробіологічна чистота	Годинник, термометр технічний, технічний тахометр, мікроскоп, мікробіологічний контроль	Температура, рН і швидкість обертання контролюються і підтримуються автоматично весь час вирощування, мікроскопіювання – кожні 4 години	t = 30±1 °С, τ=24 год, рН=6,8±0,5 W=150 об/хв, відсутність сторонньої мікробіоти

Продовження таблиці 9.1

<p>Кт, Км Кх 6.6 Вирощування інокуляту в інокуляторі об'ємом 400 л</p>	<p>Посівний матеріал, швидкість перемішування, тривалість культивування, рН, температура, мікробіологічна чистота</p>	<p>Годинник, термометр технічний, технічний тахометр, мікроскоп, мікробіологічний контроль</p>	<p>Температура і швидкість обертання контролюються і підтримуються автоматично протягом всього часу вирощування, мікроскопіювання – кожні 4 години</p>	<p>$t = 30 \pm 1 \text{ } ^\circ\text{C}$, $\tau = 24 \text{ год}$, $\text{pH} = 6,8 \pm 0,5$ $W = 150 \text{ об/хв}$, відсутність сторонньої мікробіоти</p>
<p>Кт, Кх, Км 7.1. Виробний біосинтез у ферментері об'ємом 4000 л</p>	<p>Культуральна рідина Температура, тривалість культивування, частота обертів мішалки, рівень рН, мікробіологічна чистота культури, концентрація 2,3-бутандіолу</p>	<p>Годинник, термометр технічний, технічний тахометр, датчик рН, мікроскоп</p>	<p>Температура, швидкість обертання мішалки, рівень рН контролюються і підтримуються автоматично весь час культивування; мікроскопіювання – кожні 4 години</p>	<p>$t = 30 \pm 1 \text{ } ^\circ\text{C}$, $\tau = 72 \text{ год}$[10], $\text{pH} = 6,8 \pm 0,5$, $W = 150 \text{ об/хв}$, $\text{Кбд} = 46,21 \text{ г/л}$ відсутність сторонньої мікробіоти</p>

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Song, C. W., Park, J. M., Chung, S. C., Lee, S. Y., & Song, H. (2019). Microbial production of 2,3-butanediol for industrial applications. *Journal of industrial microbiology & biotechnology*, 46(11), 1583–1601. <https://doi.org/10.1007/s10295-019-02231-0>.
2. Compound summary. 2,3-Butanediol. National Center for Biotechnology Information. 2021. [Електронний ресурс] Режим доступу: https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/2_3-Butanediol
3. Chemical book. (2017) БУТАНДИОЛ-2,3 [Електронний ресурс] Режим доступу: https://www.chemicalbook.com/chemicalproductproperty_ru_cb4853718.htm
4. Safety Makeup. (2022-2023) 2,3-BUTANEDIOL [Електронний ресурс] Режим доступу: https://safetymakeup.com.ua/ingredients/2_3_butanediol
5. Bai, Y., Feng, H., Liu, N., & Zhao, X. (2023). Biomass-Derived 2, 3-Butanediol and Its Application in Biofuels Production. *Energies*, 16(15), 5802.
6. Виноградарство та виноробство. (2008-2022) 2,3-БУТИЛЕНГЛІКОЛЬ [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://sortov.net/veschestva-vino/23-butylenglikol.html>
7. Song, C. W., Park, J. M., Chung, S. C., Lee, S. Y., & Song, H. (2019). Microbial production of 2, 3-butanediol for industrial applications. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 46(11), 1583-1601.
8. Guo X., Wang Y., Guo J., Wang Q., Zhang Y., Chen Y., Zhang C., Xiao D. Efficient production of 2, 3-butanediol from cheese whey powder (CWP) solution by *Klebsiella pneumoniae* through integrating pulsed fed-batch fermentation with a two-stage pH control strategy. *Fuel*, 2017, 203:469-477,
9. Białkowska A. M., Gromek E., Krysiak J., Sikora B., Kalinowska H., Jędrzejczak-Krzepkowska M., Kubik C., Lang S. , Schütt F. , Turkiewicz M. Application of enzymatic apple pomace hydrolysate to production of 2, 3-butanediol by alkaliphilic *Bacillus licheniformis* NCIMB 8059. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 2015, 42(12), 1609-1621. doi: 10.1007/s10295-015-1697-3.

10. Kim S.-J., Seo S.-O., Jin Y.-S., Seo J.-H.. Production of 2, 3-butanediol by engineered *Saccharomyces cerevisiae*. *Bioresource technology*, 2013, 146, 274-281, DOI: 10.1016/j.biortech.2013.07.081
11. Ge, J., Wang, J., Ye, G., Sun, S., Guo, R., Song, G., & Ping, W. (2020). Disruption of the lactate dehydrogenase and acetate kinase genes in *Klebsiella pneumoniae* HD79 to enhance 2, 3-butanediol production, and related transcriptomics analysis. *Biotechnology Letters*, 42, 537-549.
12. Zhang, L., Cao, C., Jiang, R., Xu, H., Xue, F., Huang, W., ... & Gao, J. (2018). Production of R, R-2, 3-butanediol of ultra-high optical purity from *Paenibacillus polymyxa* ZJ-9 using homologous recombination. *Bioresource Technology*, 261, 272-278.
13. Guo X.-W., Zhang Y.-H., Cao Ch.-H., Shen T., Wu M.-Y, Chen Y.-F., C.-Zhang Y., Xiao D.-G. Enhanced production of 2,3-butanediol by overexpressing acetolactate synthase and acetoin reductase in *Klebsiella pneumoniae*. *Biotechnology and Applied Biochemistry* 2014 6:707-15. doi: 10.1002/bab.1217
14. Ma, C., Wang, A., Qin, J., Li, L., Ai, X., Jiang, T., ... & Xu, P. (2009). Enhanced 2, 3-butanediol production by *Klebsiella pneumoniae* SDM. *Applied microbiology and biotechnology*, 82, 49-57.
15. *Klebsiella pneumoniae* [Електронний ресурс]. – Режим доступу: https://uk.wikipedia.org/wiki/Klebsiella_pneumoniae
16. Skripra, M., Saulin, P., Panikar, I., & Machuskyu, O. (2016). Морфологічні, культуральні та біохімічні властивості ізолятів бактерій, виділених з органів черепахи червоновухої. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 18(3 (70)), 210-213.
17. Genus *Klebsiella*. ABIS Encyclopedia. [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <https://tgw1916.net/Enterobacteria/Klebsiella.html>
18. Таксоному – *Klebsiella pneumonia* [Електронний ресурс]. – Режим доступу: https://www.uniprot.org/uniprotkb/A6TGM4/entry#names_and_taxonomy

19. John V. Ashurst; Adam Dawson. (2023). *Klebsiella Pneumonia*. National Center for Biotechnology Information. [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK519004/>
20. Song, C. W., Park, J. M., Chung, S. C., Lee, S. Y., & Song, H. (2019). Microbial production of 2,3-butanediol for industrial applications. *Journal of industrial microbiology & biotechnology*, 46(11), 1583–1601. <https://doi.org/10.1007/s10295-019-02231-0>.
21. Bai, Yuchen & Feng, Huiya & Liu, Nan & Zhao, Xuebing. (2023). Biomass-Derived 2,3-Butanediol and Its Application in Biofuels Production. *Energies*. 16. 5802. [10.3390/en16155802](https://doi.org/10.3390/en16155802).
22. Composition comprising 2,3-butanediol as active ingredient: pat. CN111787914A China: 201980015930.5; заявл. 27.02.2019; опубл. 16.10.2020. 11 с. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://patents.google.com/patent/CN111787914A/en>
23. Рацук, Є.М., Юрова, Т.А., Колношенко, Є.Є., Яценко, Д.А. (2024). Порівняльне дослідження емульсійних кремів для обличчя. *Технологія легкої та харчової промисловості. Вісник ХНТУ № 1*, 180-185.
24. Населення України 2021 Population of Ukraine. Демографічний щорічник/Demographic yearbook. Держстат України/Statistics Ukraine [Електронний ресурс]. Режим доступу: https://www.ukrstat.gov.ua/druk/publicat/kat_u/2022/zb/10/zb_nasel%20_2021.pdf .
25. Гендерний профіль Полтавської області 19 березня 2021 [Електронний ресурс]. Режим доступу: http://plsz.gov.ua/pubdoc_scr/gender1.pdf
26. Як користуватися кремом для обличчя [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://kimito.com.ua/uk/blog/yak-koristuvatisya-kremom-dlya-oblichchya?srsId=AfmBOop8qgeIDo-Zm1ZJQpmFsRbfuOaELrz7XXbhyXqTUXpJXsJFqPIE>
27. Гендерний профіль Хмельницької області [Електронний ресурс]. Режим доступу: https://www.adm-km.gov.ua/wp-content/uploads/2024/11/Gender_Profile_Khmelnyskyu_She_Rises.pdf

28. 2,3-Butanediol [Електронний ресурс]. Режим доступу:
https://www.paulaschoice.com/ingredient-dictionary/ingredient-2-3-butanediol.html?srsId=AfmBOoqrVL1iPtm4gY2ptJm_iYgy5-Pi9a6OaKeYmhqtIWUPzGJVjcyi
29. Основи проектування біотехнологічних виробництв [Електронний ресурс]: метод. рекомендації до викон. курс. проєкту для здобувачів вищої освіти освіт. ступ. «бакалавр» спец.162 ««Біотехнології та біоінженерія» осв.-проф. прогр. «Біотехнології: фармацевтична, промислова, харчова, природоохоронна» ден. форми навч./ уклад. Т.П. Пирог, Ю.В. Карлаш, В.О. Красінько. – К.: НУХТ, 2022. – 79 с.
30. Glycolysis / Gluconeogenesis - *Klebsiella pneumoniae* КСТС 2242 [Електронний ресурс]. – Режим доступу:
<https://www.genome.jp/pathway/kpo00010>
31. Основи проектування фармацевтичних виробництв [Текст] : Конспект лекцій для студ. спец. 6.092900 "Промислова біотехнологія" та 6.092902 "Біотехнологія біологічно активних речовин" напряму 0929 "Біотехнологія" ден. та заоч. форм навч. / В. М. Поводзинський. — К. : НУХТ, 2006. — 210 с. — каф. біотехнології мікробного синтезу. З 2011 р. каф. біотехнології і мікробіології.
32. КАРЛАШ Ю.В. Основи проектування біотехнологічних виробництв. [Електронний ресурс]: конспект лекцій для здобувачів освітнього ступеня «бакалавр» спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія» освітньо-професійної програми «Біотехнологія» денної та заочної форм навчання /Ю.В. Карлаш, Є.О. Омельчук - К: НУХТ, 2019. – 252 с.
33. Наказ № 502 від 14.12.2001 Про затвердження методичних рекомендацій щодо виконання санітарно-гігієнічних вимог та проведення мікробіологічного контролю у виробництві нестерильних лікарських засобів. [Електронний ресурс]. Режим доступу:
https://zakononline.com.ua/documents/show/41907___487517
34. ІНСТРУКЦІЯ щодо застосування засобу АНІОЗИМ XL3 (ANIOSYME XL3) [Електронний ресурс]. Режим доступу:

https://www.google.com/url?sa=i&url=https%3A%2F%2Fstorage.ua.prom.st%2F2572809_nstruktsiya_anozim_xl3.pdf&psig=AOvVaw1B1Pggn0r9gSOwkt2Qa540&ust=1743684793675000&source=images&cd=vfe&opi=89978449&ved=0CAQQn5wMahcKEwj46ZqXsrmMAxUAAAAAHQAAAAAQBA

35. Методичні вказівки (інструкція) щодо застосування засобу «Біонол» з метою дезінфекції, достерилізаційного очищення та миття [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://med-line.com.ua/ua/bionol-instr>

36. Дезінфікуючий засіб Терразим 1,5 кг (відро із мірною ложкою) [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://dlm.center/product/dezinficirujushheesredstvo-terrazim-1-5-kg-vedro-s-mernoj-lozhkoj/>

37. ІНСТРУКЦІЯ щодо застосування засобу дезінфікуючого «Даноксин» з метою дезінфекції, дезінфекції високого рівня (ДВР), передстерилізаційного очищення та стерилізації [Електронний ресурс]. Режим доступу: file:///C:/Users/%D0%9E%D0%9B%D0%95%D0%A1%D0%AF/Downloads/instruktsiya_danoksin_vpr.pdf

38. Стандартна операційна процедура «Організація генерального та заключного прибирання» [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://special.expertus.com.ua/interactive/PCIg4L2SfR73kNT8A0vpHrUeDMwYlahZ/CS4RlioMPZ5kIbjLsWKwaqf62pye7gGO.pdf>

39. Повітрязабірник. [Електронний ресурс] – режим доступу: <https://eurokamin.com.ua/uk/shop/product/vozduhozabornyk-kruglyj-o-125>

40. Фільтр касетний Турбовент КФ 125 [Електронний ресурс] – режим доступу: https://ovk.ua/ua/shop/product/turbovent-kf-125?srsltid=AfmBOopwLr0JpLDZ_hG3lxMZk4geCZ6ZI7rtAwui9iYD4VfDssoloSLw

41. Гвинтовий компресор 15 кВт. 10 бар | KESHIDI KSD-20A-PM [Електронний ресурс] – режим доступу: https://pneumatic-service.com.ua/vintovye-kompressory_catalog/vintovye-kompressory-standartnye/vintovoy-promyshlennyy-kompressor-keshidi-ksd-20a/?sku=893

42. Рефрижераторний осушувач стисненого повітря CW-6F [Електронний ресурс] – режим доступу: <https://www.crownwell->

compressor.com.ua/ru/refryzheratornyy-osushuvach-cw-6f.html?gad_source=1&gclid=Cj0KCOjw7Py4BhCbARIsAMMx-_IgcRb7JhU_XaZ8cXOTYjV-4d79fWa0FYpk1EerS6E7KN_2XF-xn_IaAtzsEALw_wcB

43. Ресивер Повітряний Лідер 10 бар 2700 л. PB2700.1200.01 для компресора (020936) [Електронний ресурс] – режим доступу: <https://tusk.ua/ua/product/resiver-vozdushnyij-lider-10-bar-2700-l-rv2700120001-dlya-kompressora/>

44. Кожухотрубний теплообмінник WTK SCE 73 C4P [Електронний ресурс] – режим доступу: <https://profportal.com.ua/teploobminnyky/kozuhotrubbyj-teploobminnyky/kozuhotrubbyj-teploobminnyk-wtk-sce-73-c4p>

45. Кішеньковий фільтр APF 600*300*150 6k F9 [Електронний ресурс] – режим доступу: https://aff.com.ua/karmannyi-filtr-apf-600300150-6k-f9?gad_source=1&gclid=Cj0KCOjw7Py4BhCbARIsAMMx-_K-KX-f7Qu-t6v8fjYI9--q5_RMeBi0-3XQKjrKrcCfP0CDXdC8ZlQaAv3XEALw_wcB

46. HEPA-фільтр H14 (99,995% продуктивності фільтра) для AirgoClean® ONE [Електронний ресурс] – режим доступу: <https://ua.trotec.com/shop/hepa-h14-99-995-airgoclean-one.html?srsltid=AfmBOor43Zvam1sAVgSMSeeZ04vwkFIOFgC82UujkEjX8VIReeg7N>

47. Дозатор для сипучих продуктів NPF-5000S Hualian [Електронний ресурс] – режим доступу: <https://cicada.in.ua/dozator-dlya-sipuchih-produktiv-npf-5000s-hualian>

48. Скляний реактор із сорочкою Nanbei NB-5L [Електронний ресурс] – режим доступу: <https://hydrolider.com.ua/ua/p2151988635-steklyannyj-reaktor-rubashkoj.html>

49. Реактор з нержавіючої сталі [Електронний ресурс] – режим доступу: <https://ua.achievechem.com/chemical-equipment/stainless-steel-reactor.html>

50. 70% off Price 650L Multifunctional Double Planetary Vacuum Mixer SUS304 Liquid Mixing Machine in Stock! [Електронний ресурс] – режим доступу:

https://www.alibaba.com/product-detail/70-off-Price-650L-Multifunctional-Double_10000024939622.html?spm=a2700.7724857.0.0.68049e28DxtUue

51. Industrial Customized 10L 500L 5000L 100000L Chemical Storage Mixing Tank [Електронний ресурс] – режим доступу:

<https://www.prettechtank.com/showroom/industrial-customized-10l-500l-5000l-100000l-chemical-storage-mixing-tank.html>

52. Реактор лабораторний 20 літрів з нержавіючої сталі з мішалкою та сорочкою. [Електронний ресурс] – режим доступу:

<https://stprom.com.ua/ua/p1723663252-reaktor-laboratornyj-litrov.html?srsId=AfmBOor3NjSfwz3cka5LuiiXhsZAEF3k2quJy2QX-DpS4TP1AIW3BR5c>

53. Stainless steel small mixer mixing tank 100L 150L 200L 250L 300L 500L 1000L [Електронний ресурс] – режим доступу: https://www.alibaba.com/product-detail/Stainless-steel-small-mixer-mixing-tank_1601013290175.html?spm=a2700.7724857.0.0.74d01dc20rKPqG

54. 1500 літрів, 1 бар внутрішній, 3 бари кожух, технологічний корпус реактора з нержавіючої сталі [Електронний ресурс] – режим доступу:

<https://perryvidex.eu/en/product/1500-ltr-1-bar-int-3-bar-jkt-agit-hg62020>

55. 40 Liter Stainless Bioreactor Fermenter for Scientific Research [Електронний ресурс] – режим доступу: <https://bailunbio.en.made-in-china.com/product/fOuTzknvOyUQ/China-40-Liter-Stainless-Bioreactor-Fermenter-for-Scientific-Research.html>

56. Конічний ферментер об'ємом 400 л (під тиском, з кожухом) [Електронний ресурс] – режим доступу: <https://kegland.com.au/products/400l-conical-fermenter-with-dimple-jacket-and-insulation-unitank?srsId=AfmBOoo2Aym4EN1wTqd7N3zUtHfM5r9u7pwVptirmOC61entNKmpkRJh#pdp-description-section>

57. CCT-SHP3-4000DE: Циліндрично-конічний універсальний ферментер 4000/5500 літрів 3.0 бар (неізолюваний / ізолюваний) [Електронний ресурс] – режим доступу: <https://eshop.czechminibreweries.com/uk/product/cct-shp3-4000de/>

58. Відцентрові насоси для харчової і фармацевтичної промисловості [Електронний ресурс] – режим доступу:
<https://dalgakiran.ua/uk/products/vidcentrovi-nasosy-dlya-harchovoyi-i-farmacevtychnoyi-promyslovosti/>

59. Хімічна технологія та обладнання підприємств. Навчальний посібник для студентів спеціальності 133 – «Галузеве машинобудування» денної та заочної форм навчання / О.Д. Клименко, Е.Л.Селезньов. – Луцьк: Луцький НТУ, 2018. – 136 с.

60. Карлаш Ю.В., Красінько В.О. Основи проєктування біотехнологічних виробництв. Електронний ресурс: Навч. посібник. – К.: НУХТ, 2022. – 373 с.

61. Huang, J. M., Sung, K. C., Lin, W. C., Lai, H. Y., & Wang, Y. J. (2023). Enhancement of capsular hypermucoviscosity in *Klebsiella pneumoniae* by *Acanthamoeba*. *PLoS neglected tropical diseases*, 17(8), e0011541.
<https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0011541>.

62. Cruz Córdova, Ariadna & Esteban-Kenel, Verónica & Espinosa-Mazariego, Karina & Ochoa, Sara & Moreno Espinosa, Sarbelio & Garza, Alicia & Rendón, Elizabeth & Villegas, Edgar & Xicohtencatl-Cortes, Juan. (2014). Pathogenic determinants of clinical *Klebsiella pneumoniae* strains associated with their persistence in the hospital environment. *Boletín médico del Hospital Infantil de México*. 71. 15-24.

63. Hirche, T. O., Gaut, J. P., Heinecke, J. W., & Belaouaj, A. (2005). Myeloperoxidase plays critical roles in killing *Klebsiella pneumoniae* and inactivating neutrophil elastase: effects on host defense. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 174(3), 1557–1565. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.174.3.1557>.

64. Su, Y., Xia, S., Wang, R., & Xiao, L. (2017). Phytohormonal quantification based on biological principles. *Hormone Metabolism and Signaling in Plants*, 431–470. doi:10.1016/b978-0-12-811562-6.00013-x.

65. Harvianto, G. R., Haider, J., Hong, J., Van Duc Long, N., Shim, J. J., Cho, M. H., Kim, W. K., & Lee, M. (2018). Purification of 2,3-butanediol from fermentation broth: process development and techno-economic analysis. *Biotechnology for biofuels*, 11, 18. <https://doi.org/10.1186/s13068-018-1013-3>.

66. Jeon, S., Kim, D. K., Song, H., Lee, H. J., Park, S., Seung, D., & Chang, Y. K. (2014). 2,3-Butanediol recovery from fermentation broth by alcohol precipitation and vacuum distillation. *Journal of bioscience and bioengineering*, 117(4), 464–470. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2013.09.007>.
67. CAS 513-85-9|2,3-Бутандіол [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://ua.alfa-industry.com/material-chemicals/cosmetic-chemicals/cas-513-85-9-2-3-butanediol-factory.html>
68. 2,3-Бутандіол 98% Thermo Fisher Scientific 250 мл [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://shop.hlr.ua/ua/23-butandiol-98-thermo-fisher-scientific-250-ml-240343.html>
69. Закон України від 01.12.2022 № 2804-IX “Про забезпечення хімічної безпеки та управління хімічною продукцією” [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/2804-20#Text>
70. Gawal, P. M., Mudgil, D., & Subudhi, S. (2023). Hybrid extraction distillation for downstream purification of 2, 3-butanediol, and ethanol from fermentation broth. *Bioresource Technology Reports*, 24, 101649.
71. Wu, Y. Y., Zhu, J. W., Chen, K., Wu, B., & Shen, Y. L. (2008). Liquid–liquid equilibria of water+ 2, 3-butanediol+ ethyl acetate at several temperatures. *Fluid phase equilibria*, 266(1-2), 42-46.
72. Wu, Y. Y., Pan, D. T., Zhu, J. W., Chen, K., Wu, B., & Ji, L. J. (2012). Liquid–liquid equilibria of water+ 2, 3-butanediol+ isobutanol at several temperatures. *Fluid phase equilibria*, 325, 100-104.
73. Gilani, H. G., Khiati, G., & Haghi, A. K. (2006). Liquid–liquid equilibria of (water+ 2, 3-butanediol+ 2-ethyl-1-hexanol) at several temperatures. *Fluid phase equilibria*, 247(1-2), 199-204.
74. Schnierda T., Bauer F. F., Divol B., Rensburg E., Görgens J. F. Optimization of carbon and nitrogen medium components for biomass production using non-Saccharomyces wine yeasts. *Letters in Applied Microbiology*. 2014, 58(5): 478–485. doi: 10.1111/lam.12217.

75. Різак Г. В. Курс лекцій з фармацевтичної хімії : для студентів мед. факультету спец. "Фармація". Кн. 2 / Г. В. Різак. - Ужгород: ФОП Сабов А. М., 2022.- 284 с.

76. Красінько В.О. Методи контролю біотехнологічних, фармацевтичних і харчових виробництв [Електронний ресурс]: конспект лекцій для здобув. освіт. ступ. «бакалавр» спец. 162 «Біотехнології та біоінженерія» освіт.-проф. програми «Біотехнологія» ден. і заоч. форм навч. / В.О. Красінько. – К.: НУХТ, 2019. – 252 с.

77. Klebsiella pneumonia. [Електронний ресурс] – режим доступу: <https://www.gmbank.org/product-page/gmb0952>

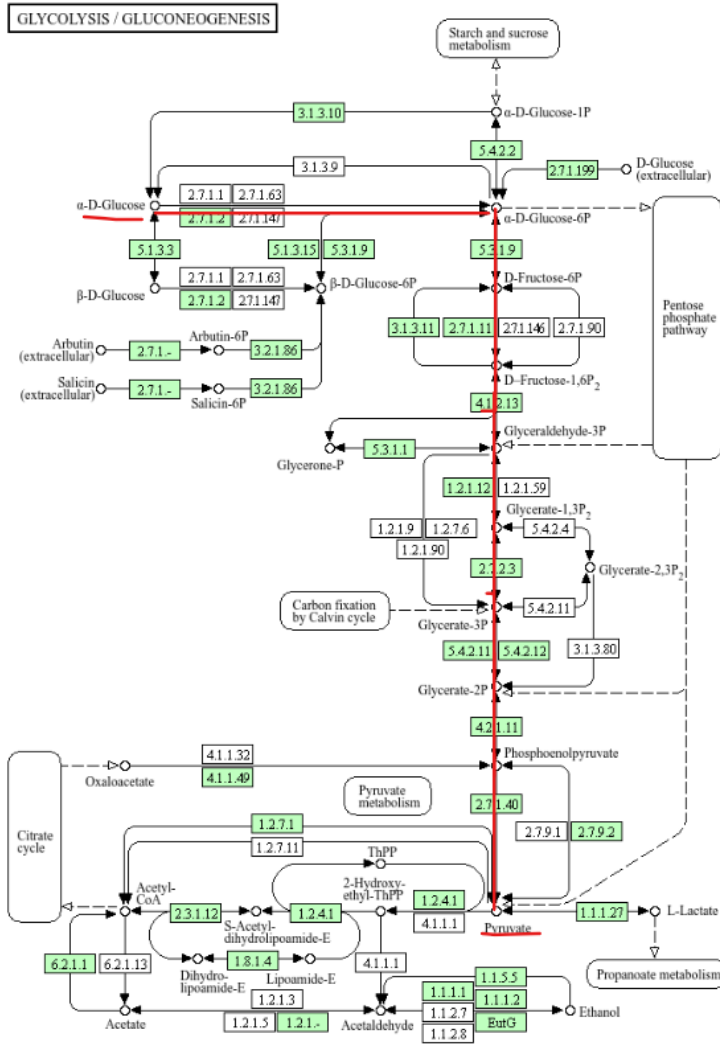
78. Maina S., Stylianou E., Vogiatzi E., Vlysidis A., Mallouchos A. , Nychas G.-J. E, de Castro A. M. , E. D. , Koutinas A. Improvement on bioprocess economics for 2,3-butanediol production from very high polarity cane sugar via optimization of bioreactor operation. Bioresour Technol. 2019, 274:343-352. doi: 10.1016/j.biortech.2018.11.001.

79. Танащук, Л. І. (2005). Основи загальної екології. Лабораторний практикум.

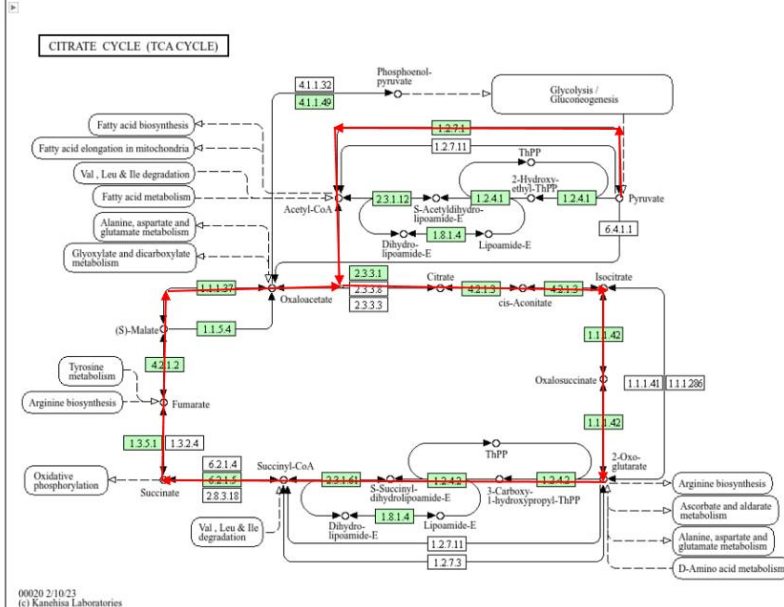
80. Засіб для миття рук Diversey Sure Antibac Hand Wash Free, 0,8 л. [Електронний ресурс] – режим доступу: https://ukrchoice.in.ua/ua/p2149700982-sredstvo-dlya-mytya.html?srsltid=AfmBOoqhhN-YqMWrIV18_Ckyhhyea_0NMqqIlgRRdI-wJA7mJvYblnDP8

81. Лагосепт А 5 л. [Електронний ресурс] – режим доступу: https://mydez.com.ua/p1192672873-lagosept.html?source=merchant_center&gad_source=1&gad_campaignid=17942135655&gbraid=0AAAAABzHqAicTdwe9NPh8PyF4u2C3WN_E&gclid=Cj0KCQjwxdXBBhDEARIsAAUkP6himxFk8bCcn0BYvk1WaMJcFlfzb0N0ihN6OnPVhVWlyASRpHt6-acaAo0CEALw_wcB

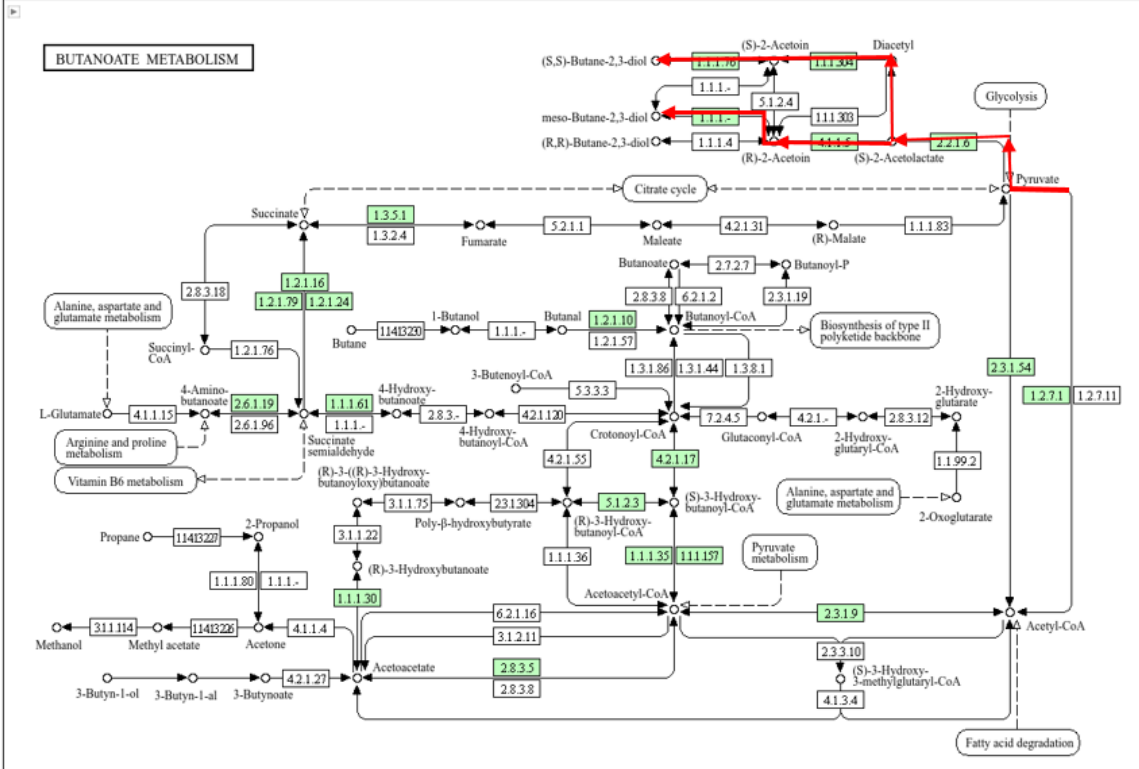
Гліколіз



Цикл трикарбонних кислот



Біосинтез 2,3-бутандіолу





ІНСТРУКЦІЯ
щодо застосування засобу АНІОЗИМ XL3 (ANIOSYME XL3)
з метою дезінфекції, очищення, у т.ч. достерилізаційного очищення та
дезінфекції високого рівня

1. ЗАГАЛЬНІ ПОЛОЖЕННЯ

1.1. Повна назва засобу – засіб для дезінфекції, очищення, у т.ч. достерилізаційного очищення АНІОЗИМ XL3 (ANIOSYME XL3).

1.2. Фірма-виробник – «Laboratoires ANIOS» (Франція).

1.3. Склад засобу, вміст діючих та допоміжних речовин, мас. %:

діючі речовини:

N,N-дидецил- N,N-диметиламоній карбонат – 1,06-1,44;

комплекс ферментів (протеаза, амілаза, манназа) – 0,06-0,07;

допоміжні речовини: детергенти, стабілізатори, хелатоутворюючий агент, ароматизатор, барвник, вода – до 100,0.

1.4. Форма випуску та фізико-хімічні властивості засобу.

Засіб АНІОЗИМ XL3 – прозорий розчин від оранжево-червоного до червоного кольору з незначним приємним запахом ароматизатора. Густина (20 °C) – 1,15-1,20 г/см³; показник заломлення (20 °C) – 1,40-1,43; значення рН концентрату (20 °C) – 7,0-9,5. Засіб добре змішується з водою.

Робочі розчини засобу завдяки синергічній дії детергентів та комплексу ферментів, який включає протеазу, амілазу та манназу, мають досконалі миючі властивості, ефективно та швидко видаляють органічні забруднення. Водні розчини прозорі, практично без запаху. Робочі розчини особливо рекомендовані для зон, чутливих до запахів (наприклад, неонатальні відділення, блоки інтенсивної терапії, а також при виробництві чутливої продукції у косметичній, фармацевтичній промисловості). Робочі розчини видаляють забруднення будь-якого походження (включаючи білкові, жирові, залишки крові тощо) із зовнішніх поверхонь, внутрішніх каналів виробів медичного призначення (ВМП), гомогенізують біологічні виділення.

Робочі розчини засобу не містять окислювачів, не викликають корозії виробів та поверхонь виготовлених з алюмінію, нержавіючої сталі, міді, латуні, не пошкоджують вироби з тефлону, полімерних та штучних матеріалів, силікону, каучуку, гуми, неопрену, акрилонітрилбутадієн стиролу, поліпропілену, полікарбонату, полісульфону, поліфенілсульфону, скла. Робочі розчини не ушкоджують вироби та інструменти, які потребують обережного ставлення, що дає змогу використовувати їх для обробки мікрохірургічних інструментів,

ендоскопічного обладнання та виробів з оптикою. Розчини добре змиваються з поверхонь, не залишають нальоту, не фіксують органічні забруднення. Робочі розчини не знебарвлюють та не зменшують міцність тканин.

Робочі розчини засобу використовують для миття та дезінфекції інструментів в ультразвукових ваннах та автоматичних мийних машинах. Концентрат засобу стабільний при температурі від +5 °С до +35 °С. Засіб не відноситься до категорії горючих та вибухонебезпечних. Засіб біологічно розпадається.

1.5. Призначення засобу. Засіб АНІОЗИМ XL3 застосовується:

- для дезінфекції, попереднього та достерилізаційного очищення, суміщених процесів дезінфекції та достерилізаційного очищення виробів медичного призначення, виготовлених з різних матеріалів, включаючи оглядові, хірургічні (у т.ч. мікрохірургічні), офтальмологічні, стоматологічні (у т.ч. ендодонтичні, а також обертові) інструменти, тощо; жорстких і гнучких ендоскопів та інструментів до них при інфекціях бактеріальної, вірусної та грибкової етіології;
- для дезінфекції високого рівня гнучких ендоскопів;
- для проведення поточної, заключної та профілактичної дезінфекції:
 - у закладах охорони здоров'я (хірургічні, реанімаційні, терапевтичні, акушерські, гінекологічні, неонатологічні, офтальмологічні, дитячі, фізіотерапевтичні, патологоанатомічні та інші відділення лікувально-профілактичних закладів; стоматологічні клініки, амбулаторії, поліклініки, реабілітаційні, перинатальні, репродуктивні центри, центри паліативної медицини, клінічні, біохімічні, серологічні, бактеріологічні, вірусологічні, імунологічні та інші профільні діагностичні лабораторії; станції швидкої та невідкладної медичної допомоги; донорські пункти, пункти та центри переливання крові, хоспіси, харчоблоки, пункти роздачі їжі тощо);
 - в медико-санітарних частинах, фельдшерсько-акушерських та медичних пунктах);
 - у лабораторіях різних підпорядкувань;
 - в аптеках, аптечних кіосках, аптечних пунктах, аптечних складах;
 - в санаторно-профілактичних закладах; оздоровчих закладах (санаторії, профілакторії, будинки відпочинку тощо);
 - у дитячих дошкільних закладах, учбових закладах різних рівнів акредитації;
 - на підприємствах парфумерно-косметичної, фармацевтичної, мікробіологічної та біотехнологічної промисловості;
 - на підприємствах харчопереробної промисловості (кондитерської, м'ясопереробної, виготовлення безалкогольних напоїв та ін.), ресторанного господарства і торгівлі, ринках;
 - на всіх видах транспорту (громадський, залізничний, морський, річковий, автомобільний, повітряний, метрополітен), вокзалах, аеропортах тощо;
 - в банківських установах, закладах зв'язку, закладах соціального захисту;
 - на об'єктах водопостачання та каналізування;
 - в спортивно-оздоровчих закладах (спорткомплекси, стадіони, басейни, а також місця проведення тренувань, змагань, навчально-тренувальних зборів);

- на об'єктах комунально-побутового обслуговування (готелі, кемпінги, гуртожитки, перукарні, хімчистки, косметологічні клініки та салони, солярії, SPA-центри, пральні, лазні та сауни, аквапарки тощо);
- в установах пенітенціарної системи;
- у військових частинах, підрозділах МО, МВС, ДСУНС, СБУ;
- на промислових підприємствах, складах та сховищах, включаючи паперові архіви, сховища продуктів харчування, предметів гігієни тощо;
- у зонах надзвичайних ситуацій; вогнищах інфекційних хвороб;
- різноманітних об'єктів навколишнього середовища при надзвичайних ситуаціях техногенного, військового і природного характеру;
- інших епідемічно значимих об'єктах, діяльність яких вимагає проведення дезінфекційних робіт у відповідності до діючих санітарно-гігієнічних та протиепідемічних норм і правил, нормативно-методичних документів;
- у побуті.

1.6. Спектр антимікробної дії. Засіб АНІОЗИМ XL3 має:

бактерицидні властивості, у т. ч. по відношенню до *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Enterococcus hirae*, *Enterococcus faecium*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, *Acinetobacter baumannii*, штамів резистентних до антибіотиків, включаючи *MRSA/EHEC* та ін. (атестований згідно з Європейськими стандартами EN 1040, EN 13727, EN 14561). У відповідності зі стандартом ISO TS 15883-5:2005 засіб також проявляє активність по відношенню до бактеріальних біоплівки (*Pseudomonas aeruginosa* та ін.), а саме не допускає утворення та знищує біоплівки за наявності.

туберкулоцидні властивості, у т. ч. по відношенню до *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium terrae* (атестований згідно з Європейськими стандартами EN 14348, NF EN 14563);

фунгіцидні властивості по відношенню до грибів роду *Candida* та ін. (атестований згідно з Європейськими стандартами EN1275, EN13624, EN 14562);

віруліцидні властивості, у т. ч. по відношенню до збудників інфекцій вірусних гепатитів А, В та С, ВІЛ-інфекції, поліовірусу типу 1, вірусу Ебола, вірусу герпесу типу 1, вакциніявірусу, вірусів грипу, кору, епідемічного паротиту та ін. (атестований згідно з Європейським стандартом EN 14476).

1.7. Токсичність та безпечність засобу.

Засіб АНІОЗИМ XL3 за параметрами гострої токсичності згідно з ГОСТ 12.1.007-76 при введенні в шлунок належить до 3 класу помірно небезпечних речовин, при нанесенні на шкіру – до малонебезпечних речовин (4 клас небезпеки). Засіб у вигляді концентрату спричиняє місцево-подразнюючу дію на шкіру та слизові оболонки очей, при інгаляційному надходженні може викликати подразнення дихальних шляхів. Складові речовини засобу не викликають сенсibilізації, не кумулюють, не виявляють канцерогенних, мутагенних, тератогенних та гонадотропних властивостей.

Робочі розчини засобу АНІОЗИМ XL3 з концентрацією 0,5 % класифікується як безпечний для здоров'я людей та навколишнього середовища згідно з Регламентом (ЄС) № 1272/2008 про класифікацію, маркування та пакування речовин та сумішей.

2. ПРИГОТУВАННЯ РОБОЧИХ РОЗЧИНІВ

2.1. Методика та умови приготування робочих розчинів. Робочі розчини засобу АНІОЗИМ XL3 готують шляхом розведення концентрату у холодній воді при перемішуванні. Розчини готують у промаркованій емальованій (без пошкоджень), скляній, пластмасовій тарі, яка закривається кришкою.

2.2. Розрахунки для приготування робочих розчинів. Робочі розчини засобу готують, виходячи із розрахунку, наведеного в Таблиці 1.

Таблиця 1. Розрахунки для приготування робочих розчинів засобу АНІОЗИМ XL3.

Об'єм розчину, л	Концентрація робочого розчину (за препаратом):									
	0,1 %		0,25 %		0,5 %		1,0 %		2,0 %	
	Кількість концентрату, мл	Кількість води, мл	Кількість концентрату, мл	Кількість води, мл	Кількість концентрату, мл	Кількість води, мл	Кількість концентрату, мл	Кількість води, мл	Кількість концентрату, мл	Кількість води, мл
1,0	1,0	999,0	2,5	997,5	5,0	995,0	10,0	990,0	20,0	980,0
2,0	2,0	1998,0	5,0	1995,0	10,0	1990,0	20,0	1980,0	40,0	1960,0
3,0	3,0	2997,0	7,5	2992,5	15,0	2985,0	30,0	2970,0	60,0	2940,0
4,0	4,0	3996,0	10,0	3990,0	20,0	3980,0	40,0	3960,0	80,0	3920,0
5,0	5,0	4995,0	12,5	4987,5	25,0	4975,0	50,0	4950,0	100,0	4900,0
6,0	6,0	5994,0	15,0	5985,0	30,0	5970,0	60,0	5940,0	120,0	5880,0
7,0	7,0	6993,0	17,5	6982,5	35,0	6965,0	70,0	6930,0	140,0	6860,0
8,0	8,0	7992,0	20,0	7980,0	40,0	7960,0	80,0	7920,0	160,0	7840,0
9,0	9,0	8991,0	22,5	8977,5	45,0	8955,0	90,0	8910,0	180,0	8820,0
10,0	10,0	9990,0	25,0	9975,0	50,0	9950,0	100,0	9900,0	200,0	9800,0

Для зручності приготування робочих розчинів можуть використовуватися:

- мірні ємності для відбору засобу з канистри;
- дозуючі пристрої на 25 мл у флаконах ємністю 1 л;

2.3. Термін та умови зберігання робочого розчину.

Термін придатності робочих розчинів – 7 діб за умови зберігання у щільно закритій промаркованій тарі при кімнатній температурі (розчини концентрацією 0,1% (за препаратом) – 24 години). Допускається багаторазове використання робочих розчинів для дезінфекції, достерилізаційного очищення, суміщених процесів дезінфекції та достерилізаційного очищення протягом терміну придатності робочих розчинів, якщо їх зовнішній вигляд не змінився. При перших ознаках зміни зовнішнього вигляду (зміна кольору, поява осаду, помутніння), зміна запаху розчин необхідно замінити.

3. СПОСОБИ ЗАСТОСУВАННЯ ЗАСОБУ

3.1. Об'єкти застосування. Робочі розчини застосовуються:

- для дезінфекції, попереднього та достерилізаційного очищення, суміщених процесів дезінфекції та достерилізаційного очищення:
 - виробів медичного призначення виготовлених з різних матеріалів, включаючи хірургічні (у т.ч. мікрохірургічні), офтальмологічні, стоматологічні (у т.ч. ендодонтичні, а також обертові) інструменти, слиновідсмоктуючі системи, тощо;
 - гнучких і жорстких ендоскопів та інструментів до них;

- стоматологічних відтисків з альгінату, силікону, поліефірної смоли, зубопротезних заготовок з металів, кераміки, пластмаси та інших матеріалів, артикуляторів, ложок для відбитків та ін.;
- виробів медичного призначення, що застосовуються при анестезії (шланги до апаратів штучної вентиляції легенів, маски, інтубаційні трубки тощо);
- тонометрів для вимірювання внутрішнього очного тиску;
- лабораторного посуду в лікувально-профілактичних закладах, клініко-діагностичних, бактеріологічних, вірусологічних, серологічних та інших лабораторіях;
- інструментів на підприємствах фармацевтичної, парфумерно-косметичної та мікробіологічної промисловості тощо;
- перукарського, косметичного, манікюрного, педикюрного інструментарію;
- для дезінфекції та миття:
 - поверхонь приміщень (підлоги, стелі, стіни, двері, підвіконня, тверді меблі тощо);
 - поверхонь обладнання та устаткування (медичних та інших приладів, апаратів з лакофарбовим, гальванічним, полімерним покриттям та виготовлених зі скла, гуми та інших нестійких та стійких до корозії матеріалів) в усіх галузях призначення (див. пункт 1.5);
 - поверхонь особливо чутливих апаратів (у т. ч. кувезів, датчиків до апаратів ультразвукового обстеження, рентгенологічних систем, радіологічного і цифрового обладнання для діагностики, обладнання для ультразвукового обстеження, комп'ютерної томографії, магніторезонансної томографії тощо);
 - систем вентиляції та кондиціонування повітря;
 - предметів догляду за хворими (підкладних суден, міхурів для льоду, грілок тощо);
 - санітарно-технічного обладнання;
 - іграшок, м'яких меблів, оббивних тканин, килимового покриття для підлоги, гумових килимків;
 - взуття, білизни;
 - біологічних виділень (слини, крові, мокрот, сечі тощо);
 - перед утилізацією виробів медичного призначення одноразового використання, медичних відходів, перев'язувального матеріалу, ватних тампонів, серветок тощо;
 - контейнерів для сміття, сміттєпроводів, камер для тимчасового зберігання сміття;
 - обладнання в харчовій, фармацевтичній, мікробіологічній та парфумерно-косметичній промисловості;
 - кухонного, столового посуду, у т. ч. одноразового;
 - прибирального інвентарю;
 - ванн, басейнів.

3.2. Методи знезараження окремих об'єктів засобом. Дезінфекцію здійснюють методами протирання, зрошення, занурення та замочування за режимами, наведеними в Таблиці 2. Для очищення, у т. ч. достерилізаційного очищення, суміщених процесів дезінфекції та достерилізаційного очищення об'єктів, використовують метод замочування або механізований спосіб в мийних машинах, у т. ч. в ультразвукових установках за режимами Таблиць 3-4.

3.2.1. Дезінфекція.

3.2.1.1. Дезінфекцію виробів медичного призначення здійснюють методом занурення їх у робочий розчин. Знезараження здійснюють у промаркованій емальованій (без пошкоджень), скляній, пластмасовій тарі, яка щільно закривається кришкою.

Вироби медичного призначення замочують у робочому розчині засобу відразу після їх використання (не допускаючи підсушування). Роз'ємні вироби дезінфікують у розібраному вигляді. Канали повністю заповнюють робочим розчином за допомогою шприців або інших пристроїв. Вироби, що мають замкові частини, занурюють розкритими, попередньо зробивши ними у розчині кілька робочих рухів з метою кращого проникнення розчину у важкодоступні частини виробів, зокрема у замкові частини. Товщина шару розчину над інструментами повинна становити не менше 1 см. По закінченні дезінфекційної експозиції вироби медичного призначення промивають проточною питною водою, звертаючи особливу увагу на промивання каналів.

3.2.1.2. Вироби лікувального протезування із синтетичних полімерних матеріалів (стоматологічні відтиски з альгілату, силікону, поліефірної смоли, зубопротезні заготовки, артикулятори тощо) дезінфікують методом занурення у робочий розчин засобу на встановлену експозицію з наступним промиванням проточною водою протягом 3 хвилин.

3.2.1.3. Комплектуючі частини наркозно-дихальної апаратури (дихальні шланги, маски, ендотрахеальні трубки, фільтри, корпуси зволожувача, збірники конденсату) після використання занурюють у робочий розчин дезінфектанту. Після знезараження вироби промивають проточною водою. Всі комплектуючі (за винятком ендотрахеальних трубок та фільтрів) промивають дистильованою водою, просушують у чистих умовах. Ендотрахеальні трубки та фільтри після дезінфекції відправляють на утилізацію.

3.2.1.4. Дезінфекцію поверхонь приміщень, медичних приладів, обладнання, апаратури та інших об'єктів проводять методом протирання із застосуванням тканих чи нетканих серветок або методом зрошення з наступним дотриманням дезінфекційної експозиції. Норма витрат засобу при протиранні – (50-100) мл/м², при зрошенні – (50-150) мл/м². Після дезінфекції об'єктів методом зрошення залишки робочого розчину видаляють шляхом протирання поверхонь серветкою. Після закінчення експозиції поверхні медичних приладів, обладнання та апаратури протирають чистими серветками, змоченими в чистій питній воді. Обробку поверхонь у приміщеннях методом протирання можна проводити у присутності людей. Роботи методом зрошення потрібно виконувати за відсутності людей та з дотриманням заходів особистої безпеки, які забезпечують захист органів дихання, шкіри та очей.

Для зручності проведення дезінфекції можна використовувати серветки Н-Вайпс (N-Wipes), Польща, які зберігаються в універсальному контейнері для серветок – Н-Вайпс диспенсер (N-Wipes dispenser), Польща. Серветки згорнуті в рулон, який містить 90 окремо відривних серветок білого кольору, виготовлених з високоякісного, нетканого безворсового матеріалу, розміром 17,5 x 36 см.

Таблиця 2. Режими дезінфекції об'єктів розчинями АНЮЗИМ XL3 при інфекціях різної етіології.

Об'єкт дезінфекції	Концентрація робочого розчину, % (за препаратом)	Експозиція, хв.						Активність по відношенню до вірусів		Метод дезінфекції								
		3	4	5	6	7	8	оболонкових **, у т. ч. гепатитів В та С, герпесу типу 1, ваїкнінвірусу та інші	геоломонкових , у т. ч. поліовірусу типу 1, гепатиту А та інші									
1	2	3	4	5	6	7	8	9										
Об'єкт дезінфекції	0,1	60	Активність по відношенню до бактеріальних біоплівок (<i>Pseudomonas aeruginosa</i> та ін.)	Туберкулоцидін* активність (<i>Mycobacterium tuberculosis</i>)	Фунгіцидн (актошочні <i>Candida albicans</i>) активність	оболонкових **, у т. ч. гепатитів В та С, герпесу типу 1, ваїкнінвірусу та інші	геоломонкових , у т. ч. поліовірусу типу 1, гепатиту А та інші	60	Занурення									
										0,25	30	30	30	30	30	30	30	
										0,5	5	5	5	5	5	5	5	30
										0,25	30	30	30	30	30	30	30	Занурення
										0,5	5	5	5	5	5	5	5	30
										0,1	60	60	60	60	60	60	60	Занурення
										0,25	30	30	30	30	30	30	30	Протирання або зрошення
										0,5	5	5	5	5	5	5	5	30

Таблиця 4. Режими достерилізаційного очищення та режими дезінфекції суміщеної з достерилізаційним очищенням виробів медичного призначення (включаючи інструменти до ендоскопів), офтальмологічних, стоматологічних інструментів (включаючи обертові) і матеріалів розчином засобу АНІОЗИМ XL3 в ультразвукових установках.

Етапи обробки	Режими обробки		
	Концентрація робочого розчину (за препаратом), %	Температура робочого розчину, °С	Час експозиції/ обробки, хв.
Режими достерилізаційного очищення та дезінфекції суміщеної з достерилізаційним очищенням			
Ультразвукова обробка* при повному зануренні виробів в робочий розчин і заповненні ним каналів.	0,5	Не менше 18	5
Обполіскування проточною питною водою за межами установки.	Не нормується		5

*Примітка: на етапі ультразвукової обробки виробів в робочому розчині забезпечується їх дезінфекція при вірусних, бактеріальних (включаючи туберкульоз) і грибкових інфекціях.

Таблиця 5. Режими дезінфекції високого рівня гнучких ендоскопів та інструментів до них розчинами засобу АНІОЗИМ XL3 .

Об'єкт дезінфекції	Концентрація робочого розчину (за препаратом), %	Експозиція, хв.	Метод дезінфекції
Гнучкі ендоскопи та інструменти до них	0,5	30	Занурення
	2,0	15	

4. ЗАСТЕРЕЖНІ ЗАХОДИ ПРИ РОБОТІ ІЗ ЗАСОБОМ

4.1. Загальні застереження при роботі із засобом. До роботи із засобом не допускаються особи молодші за 18 років та з алергічними захворюваннями. При роботі із засобом слід дотримуватись правил гігієни, забороняється палити, пити, вживати їжу. При проведенні робіт з дезінфекції слід уникати розбризкування та попадання засобу в очі та на шкіру. Після закінчення роботи руки слід вмити водою з милом. Забруднений одяг зняти та випрати.

4.2. Застережні заходи при приготуванні робочих розчинів. Роботи з приготування робочих розчинів слід проводити у спецодязі, захищаючи шкіру рук гумовими рукавичками (рекомендовано нітриловими, латексними або вініловими), очі – захисними окулярами уникаючи попадання засобу в очі та на шкіру.

4.3. Застережні заходи в умовах застосування засобу для обробки окремих об'єктів. До роботи із засобом тимчасово не допускаються особи, що мають ушкодження шкіри у вигляді подряпин, ран та подразнення на відкритих ділянках тіла, які доступні для проникнення засобу або робочих розчинів. Ємності із зануреними виробами під час дезінфекції повинні бути щільно закриті кришками. Дезінфекцію методом занурення, замочування та обробку поверхонь методом протирання можна проводити в присутності осіб, що безпосередньо не зайняті роботами з проведення дезінфекції.

4.4. Методи утилізації засобу. Некондиційні партії засобу та партії з терміном придатності, що закінчився, підлягають поверненню постачальнику для подальшої утилізації. Відпрацьовані робочі розчини засобу зливають у каналізацію. При проливанні робочих розчинів засобу необхідно зібрати їх та злити в каналізацію або адсорбувати речовиною, що утримує рідину (пісок, земля, діатоміт, вермикуліт). При проливанні концентрату засобу необхідно адсорбувати його речовиною, що утримує рідину (пісок, земля, діатоміт, вермикуліт). Залишки засобу змити великою кількістю води та насухо протерти. Роботи з прибирання засобу необхідно виконувати з дотриманням вимог особистої безпеки, які забезпечують захист органів дихання, шкіри та очей. Не допускати попадання нерозбавленого засобу в навколишнє середовище, стічні поверхневі та підземні води і в каналізацію!

5. ОЗНАКИ ГОСТРОГО ОТРУЄННЯ. ЗАХОДИ ПЕРШОЇ ДОПОМОГИ ПРИ ОТРУЄННІ

5.1. Ознаки гострого отруєння. При недотриманні застережних заходів при роботі із засобом можливі місцеві подразнювальні реакції.

5.2. Заходи першої допомоги при гострому (респіраторному) отруєнні засобом. При випадковому ураженні дихальних шляхів (першіння в горлі, кашель, утруднене дихання) потерпілого потрібно вивести на свіже повітря, чи у добре провітрене приміщення. За необхідністю звернутися до лікаря.

5.3. Заходи першої допомоги при попаданні засобу в очі. При випадковому попаданні засобу в очі необхідно промити їх проточною питною водою протягом 15 хвилин, тримаючи очі відкритими, попередньо знявши контактні лінзи, якщо потерпілий ними користується. За необхідністю звернутись до лікаря.

5.4. Заходи першої допомоги при попаданні засобу на шкіру. При випадковому попаданні засобу на шкіру необхідно промити уражену ділянку шкіри проточною питною водою. При попаданні засобу на робочий одяг необхідно зняти його, а ділянку шкіри під одягом ретельно промити проточною питною водою, забруднений одяг випрати перед повторним застосуванням.

5.5. Заходи першої допомоги при попаданні засобу в шлунок. При випадковому попаданні засобу в шлунок потерпілому необхідно прополоскати рот і не дозволяти ковтати воду для полоскання.

Бльовоту не викликати! Заспокоїти потерпілого, негайно звернутися до лікаря. Показати лікарю етикетку.

5.6. Якщо можливо вказати специфічні антидоти засобу.
Специфічних антидотів немає.

6. ПАКУВАННЯ. ТРАНСПОРТУВАННЯ. ЗБЕРІГАННЯ

6.1. Пакування засобу.

АНІОЗИМ XL3 випускають у пластикових флаконах по 1 л з дозуючим пристроєм на 25 мл, пластикових каністрах по 5 л, діжках по 200 л. Додатково можливе комплектування дозаторами для відбору засобу з флакону або

каністри. За домовленістю із замовником асортимент пакування може бути змінений або доповнений.

6.2. Умови транспортування засобу. Транспортування засобу здійснюють усіма видами транспорту згідно з правилами перевезення вантажів відповідної категорії.

6.3. Термін та умови зберігання засобу.

Термін придатності засобу – 2 роки з дати виготовлення. Після відкриття упаковки, засіб не втрачає своїх властивостей до кінця терміну зберігання за умови ретельного закриття після кожного використання.

Зберігати в оригінальній упаковці при температурі від +5 °С до +35 °С в сухому, добре провітрюваному приміщенні, в недоступних для дітей місцях. Забороняється використання засобу після закінчення терміну придатності.

7. МЕТОДИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ ЗАСОБУ

7.1. У відповідності до специфікації засіб контролюють за показниками, що зазначені в Таблиці 6.

Таблиця 6. Фізико-хімічні показники контролю якості засобу.

№	Найменування показника	Вимоги
1	Зовнішній вигляд і колір	Прозорий розчин від оранжево-червоного до червоного кольору
2	Запах	Незначний приємний запах ароматизатора
3	Густина за температури 20 °С, г/см ³	1,15-1,20
4	pH, од.	7,0-9,5
5	Показник заломлення за температури 20 °С	1,40-1,43
6	Масова частка N, N - дидецил - N,N-диметиламонію карбонат, %	1,06-1,44

7.2. Визначення опису. Біля 10 мл засобу за допомогою піпетки поміщають у чисту пробірку діаметром 14 мм із прозорого нейтрального скла і розглядають при кімнатній температурі на білому фоні при розсіяному денному (штучному) освітленні. Прозорість розчину визначають, розглядаючи його по горизонталі та по вертикалі на чорному фоні. Забарвлення розчину визначають, розглядаючи його на білому фоні, нехтуючи незначними відмінностями у відтінках.

Приблизно 5 мл засобу наносять на горизонтальну скляну поверхню та визначають його запах органолептично.

7.3. Визначення густини проводять при температурі 20 °С за допомогою електронного денсиметра.

7.4. Визначення рН проводять при температурі 20 °С за допомогою рН-метра з використанням комбінованого скляного рН-електроду з інтегрованим температурним зондом.

7.5. Визначення показника заломлення проводять за температури 20 °С за допомогою рефрактометра.

ЗАТВЕРДЖЕНО



Директор ТОВ «Ордема»

Бондар С.А.

квітня 2020 р.

**ІНСТРУКЦІЯ
ЩОДО ВИКОРИСТАННЯ ЗАСОБУ «БІОНОЛ»
З МЕТОЮ ДЕЗІНФЕКЦІЇ, ДОСТЕРИЛІЗАЦІЙНОГО
ОЧИЩЕННЯ ТА МИТТЯ**

І ЗАГАЛЬНІ ПОЛОЖЕННЯ

1.1 Назва засобу: Засіб дезінфікуючий з мийними властивостями «Біонол» за ТУ У 24.2-32304923-002:2008.

1.2 Фірма виробник: ТОВ «ОРДЕМА» (Україна).

1.3 Склад засобу, вміст діючих та допоміжних речовин, мас. %:
алкілбензолсульфонат натрію 4,5-10,0 (діюча речовина); активуюча мийна добавка 20,0-35,0; диспергатор 30,0-50,0; лужна протеаза 0,5-1,5; наповнювач до 100,0.

1.4 Форма випуску і фізико-хімічні властивості засобу.
Дрібнокристалічний порошок від білого до світло жовтого кольору із включенням забарвлених гранул протеази, добре розчиняється у воді. Не сумісний з катіонними поверхнево-активними речовинами. Водні розчини засобу «Біонол» прозорі, безбарвні, не кородують вироби медичного призначення із металу, скла, полімерних матеріалів та гуми. 1%-ий водний розчин засобу має значення рН 8,5-11,5.

1.5 Призначення засобу: для профілактичної дезінфекції та одночасного миття поверхонь у приміщеннях, санітарно-технічного устаткування, проведення генеральних прибирань, достерилізаційного очищення виробів медичного призначення, а також прання у поєднанні з дезінфекцією (заклади охорони здоров'я, аптеки, соціального захисту, санаторно-курортні, спортивно-оздоровчі, освітні, навчально-виховні заклади усіх типів, незалежно від їх підпорядкування, форм власності і акредитації; пенітенціарної системи, ресторанного та готельного господарства, перукарні, косметологічні клініки і салони (краси, татуажу), підприємства фармацевтичної, мікробіологічної, парфумерно-косметичної, харчової і переробної промисловості, торгівлі, зв'язку, комунально-побутового обслуговування, рухомий склад та об'єкти забезпечення всіх видів транспорту (громадського, залізничного, метрополітену, морського, автомобільного, повітряного), банківські установи, об'єкти та підрозділи міністерств внутрішніх справ та оборони), а саме:

- для дезінфекції поверхонь в приміщеннях, твердих меблів, медичної апаратури і устаткування, лабораторного і столового посуду, виробів медичного призначення, санітарно-технічного обладнання, предметів догляду за хворими,

3

прибирального інвентарю при інфекціях бактеріальної (крім туберкульозу), вірусної (включаючи гепатити і ВІЛ- інфекцію) та грибової (кандидози, дерматомікози) етіології у вогнищах інфекційних захворювань, в лікувально-профілактичних закладах (включаючи біохімічні, імунологічні, вірусологічні та бактеріологічні лабораторії, донорські пункти і пункти переливання крові, патолого-анатомічні відділення тощо);

- для достерилізаційного очищення виробів медичного призначення, що виготовлені із металу, скла, гуми і полімерних матеріалів, включаючи жорсткі та гнучкі ендоскопи, медичні інструменти до гнучких ендоскопів, стоматологічні та хірургічні інструменти;

- для очищення, миття та дезінфекції (у т.ч. поєднаних в одному етапі) предметів догляду за хворими, лабораторного посуду в лікувально-профілактичних закладах, санаторіях та інших установах, зокрема, з використанням ультразвукового та циркуляційного мийного обладнання;

- для профілактичної дезінфекції та проведення генеральних прибирань у закладах охорони здоров'я (хірургічні, терапевтичні, акушерські, дитячі, патологоанатомічні, відділення інтенсивної терапії та реанімації та інші відділення; клінічні, біохімічні, бактеріологічні та інші лабораторії, станції швидкої та невідкладної допомоги, станції та пункти переливання крові тощо); у лабораторіях різних підпорядкувань; на підприємствах фармацевтичної, мікробіологічної, парфюмерно-косметичної, харчопереробної промисловості, закладах громадського харчування та торгівлі; на всіх видах транспорту; у закладах та установах соціального захисту, пенітенціарних установах; на комунальних об'єктах (готелі, перукарні, косметологічні клініки та салони тощо); санітарно-профілактичних, аптечних, навчальних, оздоровчих та спортивних закладах;

- для поєднаних процесів дезінфекції та миття поверхонь в приміщеннях лікувально-профілактичних, дитячих та навчальних закладів;

- для прання у поєднанні з дезінфекцією текстильних виробів;

- для застосування на об'єктах інших галузей, діяльність яких вимагає проведення дезінфекції, санітарної обробки, генерального прибирання, миття та чищення у відповідності до діючих санітарно-гігієнічних та протиепідемічних норм і правил, нормативно-методичних документів.

1.6 Спектр антимікробної дії: засіб «Біонол» володіє бактерицидною (у т.ч. у відношенні *E.coli*, *S.aureus*, *P.aeruginosa*), віруліцидною (включаючи парентеральні вірусні гепатити В, С, СНІД, рота-, коро-, поліома-, адено- каліцівірусні інфекції, у т.ч. всі штами коронавірусу, збудників різних видів грипу, у т.ч. грип А(Н5N1) «пташиний грип», А(Н1N1) «свинячий грип») та фунгіцидною (у відношенні грибів роду *Candida*, дерматофітів і цвілевих грибів *A.niger*) дією.

Виявляє змочувальні, мийні, емульгуючі властивості, видаляє білкові, жирові забруднення, біологічні виділення (кров, сироватка, ліквор, мокротиння, фекалії тощо), залишки лікарських та дезінфекційних засобів із зовнішніх поверхонь і поверхонь внутрішніх каналів виробів медичного призначення, легко змивається з оброблених виробів, не залишає нальоту.

1.7 Токсичність та безпечність засобу: засіб «Біонол» належить до мало небезпечних речовин при введенні в шлунок та нанесенні на шкіру (4 клас небезпеки згідно з ГОСТ 12.1.007). Не виявляє кумулятивних, шкірно-подразнювальних та сенсibiliзуючих властивостей. У рекомендованих до

застосування концентраціях не подразнює слизову оболонку очей та верхніх дихальних шляхів.

2 ПРИГОТУВАННЯ РОБОЧИХ РОЗЧИНІВ

2.1 Методика та умови приготування робочих розчинів: Робочі розчини засобу «Біонол» готують у промаркованій тарі, що виготовлена із будь-яких матеріалів, шляхом розчинення у воді. Для приготування робочих розчинів засобу використовують воду питну, що відповідає вимогам ДСанПіН 2.2.4-171-10.

2.2 Розрахунки для приготування робочих розчинів: Для приготування робочих розчинів засобу «Біонол» відповідної концентрації (за препаратом) виходять із розрахунків, які наведено в табл. 1.

Таблиця 1. Приготування робочих розчинів засобу «Біонол»

Концентрація, % (за препаратом)	1 дм ³ розчину (1 л)		10 дм ³ розчину (10 л)	
	Кількість засобу, г	Кількість води, г	Кількість засобу, г	Кількість води, г
0,15	1,5	998,5	15,0	9985,0
0,3	3,0	997,0	30,0	9970,0
0,5	5,0	995,0	50,0	9950,0
1,0	10,0	990,0	100,0	9900,0
2,0	20,0	980,0	200,0	9800,0
3,0	30,0	970,0	300,0	9700,0

2.3 Термін та умови зберігання робочого розчину: Робочий розчин засобу «Біонол» використовують протягом доби після виготовлення за умов зберігання його кольору. Допускається зберігати невикористаний робочий розчин протягом 14 діб за умов зберігання у тарі зі щільно закритою кришкою.

3 СПОСОБИ ЗАСТОСУВАННЯ ЗАСОБУ «БІОНОЛЬ»

3.1 Об'єкти застосування: вироби медичного призначення, що виготовлені із металу, скла, гуми і полімерних матеріалів, включаючи жорсткі та гнучкі ендоскопи, медичні інструменти до гнучких ендоскопів, стоматологічні та хірургічні інструменти; поверхні приміщень (підлога, стіни, двері, віконні рами), предмети обстановки (тверді меблі), санітарно-технічне обладнання (ванни, унітази, раковини), предмети догляду за хворими (підкладні судна, клейонки, гумові грілки, термометри та ін.), предмети інтер'єру; посуд столовий, аптечний і лабораторний (в т.ч. одноразового використання); спецодяг та білизна, предмети для миття посуду (губки, щітки, серветки), медичні відходи з текстильних виробів (в т.ч. перев'язувальний матеріал, ватні кульки, тампони) тощо.

3.2 Способи дезінфекції окремих об'єктів засобом

3.2.1 Дезінфекцію проводять методами протирання, зрошення, замочування, занурення і заповнення, а також з використанням мийних машин у відповідності з режимами, вказаними в таблицях 2-6.

Засіб «Біонол» можливо використовувати в підлогомиїних і посудомийних машинах, ультразвуковому і циркуляційному мийному устаткуванні.

Вироби медичного призначення дезінфікують способом занурення їх у робочий розчин засобу «Біонол» відповідної концентрації одразу після використання, не допускаючи підсихання. Товщина шару робочого розчину над виробами повинна бути не менше ніж 1 см. Роз'ємні вироби, що мають порожнини та канали (шприци тощо), дезінфікують у розібраному стані. Канали та порожнини повністю заповнюють робочим розчином за допомогою шприців безперервного типу дії або електровідсмоктувача. Ємність із замоченими у робочому розчині виробами медичного призначення щільно закривають кришкою. Вироби, що мають замкові частини, занурюють у робочий розчин засобу «Біонол» та кілька разів закривають та відкривають замкові частини для доступу розчину у важкодоступні ділянки замкової частини, а потім повністю занурюють у робочий розчин засобу «Біонол».

Для виробів медичного призначення та їхніх частин, які безпосередньо не контактують із хворим, допускається спосіб двократного протирання з інтервалом 15 хв. та наступною витримкою відповідно до експозиції.

Після дезінфекції вироби медичного призначення, що не мають внутрішніх каналів, промивають проточною питною водою протягом 3 хв. Вироби медичного призначення, що мають внутрішні канали, промивають питною водою протягом 5 хв. шляхом прокачування крізь них питної води за допомогою шприців безперервного типу дії або електровідсмоктувача.

Медичні апарати, прилади, устаткування протирають серветками, які змочені робочим розчином засобу «Біонол» з наступним дотриманням відповідної експозиції.

3.2.2 Предмети догляду хворих (підкладна клейонка, галантерейні вироби для догляду за волоссям тощо) дезінфікують способом занурення у робочий розчин засобу «Біонол» відповідної концентрації одразу після їх використання. Товщина шару робочого розчину над предметами догляду хворих повинна бути не менше ніж 1 см. Роз'ємні предмети догляду хворих, які мають порожнини та канали, дезінфікують у розібраному стані. Канали та порожнини повністю заповнюють робочим розчином за допомогою шприців безперервного типу дії або електровідсмоктувача. Ємність із замоченими в робочому розчині предметами догляду хворих щільно закривають кришкою.

Допускається виконувати дезінфекцію предметів догляду хворих великих розмірів (грілки, підкладні кола тощо) способами протирання тканинними серветками, змоченими робочим розчином засобу «Біонол» та способом зрошення робочим розчином засобу.

Після дезінфекції предмети догляду хворих, що не мають внутрішніх каналів (гребні, шпильки, ножиці тощо), промивають проточною питною водою протягом 3 хв. Предмети догляду хворих, які мають внутрішні канали, після дезінфекції промивають проточною питною водою протягом 5 хв способом прокачування крізь

них питної води за допомогою шприців безперервного типу дії або електровідсмоктувача.

Перукарське, манікюрне, педикюрне та косметологічне приладдя дезінфікують за режимами та методами, встановленими для виробів медичного призначення.

3.2.3 Посуд столовий звільняють від залишків їжі та повністю занурюють у робочий розчин засобу із розрахунку 2 л на 1 комплект (глибока та мілка тарілки, чашка, блюдце, чайна та столова ложки, виделка, ніж) за режимами відповідної інфекції. По закінченні дезінфекції посуд промивають проточною питною водою протягом 3 хвилини.

Предмети для миття посуду занурюють у робочий розчин засобу «Біонол». Після закінчення дезінфекції їх ополіскують проточною водою та висушують.

3.2.4 Поверхні приміщення (підлога, стіни, двері, віконні рами тощо) та предмети обстановки (тверді меблі) зрошують із розрахунку 100 см³/м² поверхні або ретельно протирають тканинною серветкою, змоченою робочим розчином засобу «Біонол». Після дезінфекції приміщення провітрюють протягом 30 хв.

3.2.5 Поверхні санітарно-технічного обладнання (ванни, унітази, раковини тощо) зрошують робочим розчином засобу «Біонол» або протирають ганчір'ям, яке змочують робочим розчином засобу (норма витрат 150-200 см³/м² поверхні). Після дезінфекції санітарно-технічне обладнання промивають водою.

Чашу басейну протирають ганчір'ям (губками, щітками), змоченими в робочому розчині засобу «Біонол» або зрошують з використанням гідропульту, автомаксу або іншого розпилюючого обладнання. Після закінчення дезінфекції чашу басейну ополіскують водою зі шланга. Норма витрати робочого розчину становить 100 см³/м².

3.2.6 Гумові або полімерні капці, взуття для лазні дезінфікують занурюючи їх у розчин засобу «Біонол» або протирають ганчір'ям, змоченим у розчині засобу. Після закінчення експозиції промивають водою і висушують.

Гумові килимки протирають ганчір'ям, змоченим в розчині засобу «Біонол» або повністю занурюють в розчин засобу, або зрошують з використанням гідропульту, автомакса чи іншого розпилюючого обладнання, домагаючись рівномірного зрошування.

3.2.7 З метою ручного прання білизни (постільної та натільної) та миття предметів догляду за хворими дозволяється використовувати засіб «Біонол», в тому числі при забрудненні їх біологічними виділеннями (кров, сироватка, ліквор, мокротиння, фекалії тощо) при нормі витрат засобу 50-100 г на 1 кг білизни в залежності від ступеню забрудненості, типу матеріалу та жорсткості води.

3.2.8 З метою автоматичного прання та миття для підвищення мийної здатності використовують засіб «Біонол» у поєднанні з синтетичними миючими засобами (СМЗ), призначеними тільки для машинного прання. Засіб «Біонол» додають у пральні та посудомийні машини будь-якого типу, в тому числі тунельних та бар'єрних у співвідношенні засобу «Біонол» та СМЗ 1:3 при сумарній нормі витрат миючих засобів 50-100 г на 1 кг білизни в залежності від ступеню забрудненості, типу матеріалу та жорсткості води.

3.2.9 Засіб «Біонол» використовують для дезінфекції текстильних виробів перед основним пранням методом замочування у 2,0 % робочому розчині засобу та експозиції 30 хв.



ІНСТРУКЦІЯ

щодо застосування засобу дезінфікуючого «Даноксин» з метою дезінфекції, дезінфекції високого рівня (ДВР), передстерилізаційного очищення та стерилізації

1. ЗАГАЛЬНІ ПОЛОЖЕННЯ

1.1. Повна назва засобу – Засіб дезінфікуючий «Даноксин», що виготовляється у відповідності із ТУ У 20.2-40220141-004:2017.

1.2. Фірма виробник – «ДАНА МЕДКАЛ» (Україна).

1.3. Склад засобу, вміст діючих та допоміжних речовин, мас. %: перкарбонат натрію – 50%-55%, тетраацетилетилендіамін 18%-25%; інгібітор корозії, хелатний комплекси, стабілізатори, мийно-очищуюча композиція (в т.ч. може включати катіоактивні тензиди чи ензими), інші необхідні функціональні складові. При розчиненні у воді виділяється активний кисень.

1.4. Форма випуску і фізико-хімічні властивості засобу. порошок (мілкодисперсні гранули) білий або білий з блакитними вкрапленнями майже без запаху, 2% робочі розчини (за препаратом) мають слабкий запах сировини. Засіб не має окислювальних властивостей. рН 1,0% робочого розчину 8,0-10,0.

Робочі розчини мають гарні змочувальні, очищуючі, мийні, емульгуючі, знежирюючі та дезодоруючі властивості, низьке піноутворення, не фіксують органічні забруднення, ефективні для видалення біоплівки. Видаляють забруднення органічного і неорганічного характеру, в т.ч. застарілі, включаючи кров, сироватку, слиз, залишки лікарських препаратів, рентгенконтрастних речовин, змазок, і т.п. з поверхонь, внутрішніх каналів, порожнин та інших важкодоступних місць; добре змиваються, не залишають нальоту і плям на поверхнях об'єктів, що піддаються обробці; гомогенізують мокротиння, інші біорідини, виділення.

Засіб в робочих концентраціях не ушкоджує матеріали, поверхні із неіржавіючої сталі, алюмінію і його сплави, вироби зі скла, гуми, каучуків, полімерних матеріалів, штучної шкіри, кахлю, порцеляни, фаянсу, дерева та інших матеріалів; поверхні медичних приладів і устаткування з лакофарбовим, гальванічним і полімерним покриттям; мають помірну корозійну дію у відношенні низьковуглецевих сталей; відбілюють текстиль без зменшення міцності тканин, видаляють плями (у т.ч. крові та інших біологічних рідин). Усуває неприємні запахи, в т.ч. пов'язані із ураженням об'єктів цвільлю.

Засіб не придатний для інструментів із латуні та міді, а також, хромованих і нікельованих інструментів з механічними пошкодженнями.

При застосуванні засобу слід уникати змішування з альдегідутримуючими сполуками. Засіб і його розчини не містять аніоактивних ПАВ, не сумісні з ними.

Залишкові кількості активно-діючої речовини водних розчинів засобу – розкладаються до нетоксичних речовин.

1.5. Призначення засобу.

Засіб «Даноксин» призначений для:

- поточної та заключної дезінфекції у закладах охорони здоров'я, вогнищах інфекційних захворювань при інфекціях бактеріальної (включаючи туберкульоз), вірусної (в т.ч. вірусних гепатитів, ВІЛ-інфекції, грипу (всіх видів), парагрипу, коронавірусної,

- миття та очищення (у т.ч. передстерилізаційного очищення) лабораторного та іншого посуду, ємностей тощо;
- для дезінфекції та очищення кувезів у відділеннях неонатології;
- попереднього замочування текстильних виробів (одягу, білизни тощо) з метою знезараження, видалення забруднень і плям що важко видаляються (білкові та інші секрети, кров, жири, та інші забруднення) в т.ч. з метою дезінфекції під час прання зазначених виробів;
- миття поверхонь приміщень, обладнання, апаратури, устаткування, предметів догляду за хворими тощо;
- для дезінфекції та одночасного миття, дезодорування поверхонь приміщень (підлога, стіни, двері тощо), меблів, обладнання, медичних приладів, апаратів і устаткування (у т.ч. особливо-чутливих приладів та апаратів наркозно-дихальної апаратури, хірургічно-реанімаційних моніторів), обладнання та наркозно-дихальної апаратури, датчиків ультразвукової апаратури, рентгенодіагностичного, радіологічного обладнання, апаратури та обладнання для комп'ютерної, магнітно-резонансної томографії, ангиографічних комплексів та інших видів обладнання); посуду, білизни, предметів догляду хворих, санітарно-технічного обладнання (зокрема, бальнеологічного, у т.ч. акрилових гідромасажних та інших ванн), прибирального інвентарю тощо);
- для дезінфекції, стерилізації, суміщення процесів дезінфекції і передстерилізаційного очищення, перед стерилізаційного очищення перукарського, манікюрного, педикюрного, косметичного інструментарію та приладдя, дезінфекції та миття на підприємствах сфери обслуговування (готелі, кемпінги, гуртожитки, пральні, хімчистки, салони краси, перукарні, SPA-центри, косметологічні клініки, манікюрні, педикюрні кабінети, солярії, лазні, сауни тощо);
- дезінфекції і очищення гідравлічних контурів аспіраційних систем стоматологічних установок;
- для знезараження перед утилізацією використаних виробів медичного призначення одноразового використання, медичних відходів з текстильних матеріалів (в тому числі перев'язувальний матеріал, ватяні тампони, серветки, одноразовий одяг, у т.ч. костюми для захисту від зараження СНІДу, ОНІ, протичумні костюми, постільна білизна, посуд з-під виділень; предмети для догляду за хворими, посуд для їжі тощо), біологічних рідин (кров, сироватка, мокротиння тощо),
- для знезараження систем вентиляції і кондиціонування повітря (побутові кондиціонери, спліт-системи, мультизональні спліт-системи та ін.),
- для дезінфекції повітря способом розпилення на різних об'єктах;
- для дезінфекції і миття сміттєпроводів, контейнерів та інших ємностей для сміття, сміттєперевізних машин, громадських туалетів, біоу туалетів;
- для дезінфекції на інших епідемічно-значимих об'єктах, діяльність яких вимагає проведення дезінфекційних робіт у відповідності до діючих санітарно-гігієнічних та протиепідемічних норм і правил.

«Даноксин» рекомендований для застосування в ультразвукових установках для передстерилізаційного очищення і дезінфекції медичних виробів

Якщо засіб не використовується постійно, рекомендується періодично проводити обробку інструментів засобом «Даноксин» для їх очищення від забруднень, що фіксовані на поверхні медичних виробів та важко видаляються.

1.6.Спектр антимікробної дії. Засіб «Даноксин» має: бактерицидні властивості по відношенню до грампозитивних та грамнегативних бактерій у т. ч. щодо бактерій групи кишкової палички (включаючи ентерогеморагічну), інших ентеробактерій, в т.ч. стійких до гентаміцину і/або до цефалоспоринових), стафілококів (у т. ч. стійких до метациліну/оксациліну чи ванкомицину, стійкі штами *S.pyogenes*, *S. maltophilia*), *Streptococcus pneumoniae*, ентерококів (у т. ч. стійких до ванкомицину), неферментуючих бактерій із стійкістю до цефалоспоринових антибіотиків, *Pseudomonas aeruginosa* (в т.ч.

antibiotic resistant), *H. influenzae*, *Helicobacter pylori*, *Acinetobacter* spp. (у тому числі *A. baumannii* та *A. Iwoffii*), *Citrobacter* spp., *Enterobacter* spp., *Enterobacter agglomerans*, *Klebsiella pneumoniae*, сальмонел, легіонел, лістерій, ієрсиніозів, чуми, туляремії, бруцельозу, холери, *Clostridium difficile*, інших збудників небезпечних та особливо-небезпечних, у т.ч. зоонозних інфекцій, анаеробних інфекцій тощо), туберкулоцидні (щодо збудників туберкульозу, *M. Terrae*) і спороцидні властивості (в т.ч. щодо *Bacillus subtilis*, *Bacillus anthracis*); віруліцидні властивості (специфічна активність засобу перевірена на вірусі групи поліомієліту, що забезпечує знищення усіх інших видів і груп збудників вірусних інфекцій, в т.ч. збудників парентеральних та ентеральних вірусних гепатитів (А, В, С), вірусу СНІДу (ВІЛ), рота-, корона-, філовірусів, хантавірусів, ентеровірусів, вірусів грипу всіх видів (у т.ч. А(H5N1) «пташиний грип», А(H1N1) «свинячий грип» ін., парагрипу тощо), вірусу поліомієліту, герпесу та ін.; фунгіцидні властивості (включаючи збудників кандидозів, дерматомікозів, а також пліснявих грибів, в т.ч. у споровій формі тощо) та овоцидні і ларвіцидні властивості.

Засіб активний при наявності забруднень органічного та неорганічного характеру. Ефективно видаляє біологічні плівки та попереджає їхнє утворення. Активний проти мікроорганізмів в біологічних плівках Міюча здатність робочих розчинів для виробів медичного призначення – 100%.

1.7. Токсичність та безпечність засобу. «Даноксин» відповідно до вимог ГОСТ 12.1.007-76, належить до 3 класу помірно небезпечних речовин при введенні в шлунок та парентеральному введенні, до мало небезпечних речовин при нанесенні на шкіру (4 клас небезпеки). Пил засобу викликає подразнення верхніх дихальних шляхів. Засіб у препаративній формі у відкритому вигляді відноситься до 4 класу небезпеки (мало небезпечні речовини) при інгаляційному впливі через відсутність легких компонентів. Концентрат засобу (порошок) небезпечний при ковтанні, викликає подразнення верхніх дихальних шляхів. При попаданні на слизові оболонки очей може спричинити пошкодження очей. Робочі розчини засобу при одноразовому та багаторазовому нанесенні на шкіру не викликають місцево-подразнювальної шкірно-резорбтивної та сенсibiliзуючої дії. У рекомендованих для дезінфекції концентраціях не подразнює слизові оболонки очей та верхніх дихальних шляхів. Не виявляє сенсibiliзуючих, гонадотропних, канцерогенних, кумулюючих, мутагенних, тератогенних властивостей інших віддалених ефектів. Засіб повністю біодеградує.

2. ПРИГОТУВАННЯ РОБОЧИХ РОЗЧИНІВ

2.1. Методика та умови приготування робочих розчинів. Робочі розчини дезінфекційного засобу «Даноксин» готують шляхом розчинення необхідної кількості засобу у воді при температурі 18-40°C протягом 15 хвилин (за цей термін активується робочий розчин – при розчиненні у воді концентрату засобу виділяється надоктова кислота з подальшим розпадом і виділенням активного кисню); протягом цього часу, для пришвидшення розчинення порошку (гранул), розчин декілька разів перемішують. Розчин готується у пластмасових, емальованих (без ушкоджень емалі), скляних або із нержавіючої сталі ємностях з кришкою, спочатку в ємність вносять порошок (гранули) і потім поступово, перемішуючи, додають воду. Невеликий нерозчинений осад, який може залишатися у розчині, не знижує його активності, є буферним, що забезпечує його стабільність протягом дозволеного для використання терміну. При застосуванні засобу слід уникати змішування з іншими дезінфікуючими та засобами.

2.2. Розрахунки для приготування робочих розчинів. Для приготування робочих розчинів засобу «Даноксин» відповідної концентрації виходять із наступних розрахунків, наведених у таблиці 1.

Таблиця 1. Розрахунки для приготування робочих розчинів засобу «Даноксин»

Концентрація розчину, (за препаратом), %	Кількість компонентів (мл) для приготування:			
	1,0 л		5,0 л	
	Кількість концентрату, г	Кількість води, мл	Кількість концентрату, г	Кількість води, мл
0,05	0,5	999,5	2,5	4997,5
0,1	1,0	999,0	5,0	4995,0
0,25	2,5	997,5	12,5	4987,5
0,5	5,0	995,0	25,0	4975,0
2,0	20,0	980,0	100,0	4900,0

2.3. Термін та умови зберігання робочого розчину. Термін придатності робочих розчинів засобу «Даноксин» становить 36 години з моменту приготування за умови їх зберігання у закритих ємностях із кришкою, що щільно прилягає.

3. СПОСОБИ ЗАСТОСУВАННЯ ЗАСОБУ З МЕТОЮ ДЕЗІНФЕКЦІЇ

3.1. Об'єкти застосування. Робочі розчини засобу «Даноксин» використовують в усіх галузях застосування засобу вказаних у п. 1.5:

- з метою дезінфекції, передстерилізаційного очищення, а також для поєднаних процесів дезінфекції та передстерилізаційного очищення (ручним і механізованим способом, в установках ультразвукового очищення) виробів медичного одноразового і багаторазового використання, включаючи гнучкі і жорсткі ендоскопи та інструменти до них, хірургічні, стоматологічні інструменти (у тому числі ендодонтичні, обертові, слиновідсмоктуючі установки, пловальниці, ортопедичні інструменти, відтиски ложки, обертові інструменти та стоматологічні бори; відтиски з альгінату і силікону, зубопротезні заготовки, зліпки, мости, коронки, артикулятори, гідравлічні контури для стоматологічних вузлів), зонди та катетери усіх видів, інтраопераційні та ехокардіографічні датчики, головки ультразвукових діагностичних апаратів, маски, трубки, шланги та інші термочутливі матеріали до наркозно-дихальної апаратури, хірургічно-реанімаційних моніторів; перукарського, манікюрного, педикюрного та косметологічного інструментарію, приладдя та обладнання на підприємствах сфери обслуговування; для дезінфекції високого рівня та стерилізації виробів медичного призначення, включаючи гнучкі та жорсткі ендоскопи тощо;
- для поєднання дезінфекції і одночасного очищення: різноманітних поверхонь приміщень (підлога, стіни, стеля, двері, віконні рами, меблі тощо); медичних приладів та апаратури і в усіх галузях застосування засобу; поверхонь особливо-чутливої апаратури (у т.ч. наркозно-дихальної, датчиків до ультразвукових діагностичних апаратів та самих апаратів, гумові деталі, у т.ч. присоски), рентгенологічної та томографічної апаратури (у т.ч. рентгенодіагностичних комплексів, радіологічного і цифрового обладнання, обладнання для комп'ютерної, магнітно-резонансної томографії, ангиографічних систем, тощо); обладнання для фізіотерапевтичних процедур, небулайзерів; предметів догляду за хворими (підкладні судна, сечеприймальники, грілки, клейонки тощо); кувезів у відділеннях неонатології; дитячих іграшок та виробів для дітей; технологічного обладнання в харчовій, фармацевтичній, мікробіологічній та парфумерно-косметичній промисловості; лабораторного, аптечного, столового та кухонного посуду, у т.ч. одноразового використання; іграшок, білизни, візків для складання і транспортування білизни, тари, стелажів для зберігання білизни, іграшок, спецодягу у т.ч. одноразового використання; для знезараження перед утилізацією медичних відходів, використаних виробів медичного призначення одноразового використання, у т.ч. забруднених кров'ю або іншими біологічними рідинами, (тампони, серветки, перев'язувальний матеріал, одяг одноразового застосування), тканин, органів, частин тіла, плаценти, ембріонів тощо, харчових відходів, у т.ч. з інфекційних відділень, мікробіологічні культури та штами збудників хвороб, живі вакцини, лабораторні чашки, залишки живильних середовищ, інфіковані експериментальні тварини та біологічні

4.4. Методи утилізації засобу. Відпрацьовані робочі розчини підлягають скиданню до каналізаційної системи. Партії засобу «Даноксин» з вичерпаним терміном придатності або некондиційні внаслідок порушення умов зберігання підлягають поверненню на підприємство-виробник для переробки.

5. ЗАХОДИ ПЕРШОЇ ДОПОМОГИ ПРИ ОТРУСННІ

5.1. Заходи першої допомоги при попаданні засобу в очі. При попаданні засобу в очі їх промивають проточною водою протягом 10-15 хв. Звернутись до лікаря.

5.4. Заходи першої допомоги при попаданні засобу на шкіру. При попаданні засобу на шкіру промивають уражену ділянку шкіри проточною водою.

5.5. Заходи першої допомоги при попаданні засобу в шлунок. Необхідно очистити ротovu порожнину від залишків засобу та ретельно прополоскати. Напоїти потерпілого водою, чаєм кімнатної температури, дати активоване вугілля та сольове проносне. В разі проявлення клінічних симптомів отруєння: слабкість, нудота, блювота, запаморочення, біль в епігастрії - необхідно звернутися до лікаря.

6. ПАКУВАННЯ. ТРАНСПОРТУВАННЯ. ЗБЕРІГАННЯ

6.1 Пакування засобу. Засіб «Даноксин» упаковують у сашетки по 10-50г, пластикові флакони/відра об'ємом від 0,1 до 2,0кг, пластикові каністри/відра 3,0, 5,0 та 10,0кг. За домовленістю з виробником асортимент пакування може бути змінений або доповнений.

6.2. Умови транспортування засобу. «Даноксин» транспортують у пакуванні виробника автомобільним чи залізничним транспортом згідно з правилами перевезення відповідної категорії вантажів автомобільним та залізничним транспортом.

6.3. Терміни та умови зберігання. Засіб «Даноксин» зберігають у пакуванні виробника у критих складських приміщеннях, окремо від харчових продуктів та лікарських засобів. Не допускати попадання прямих сонячних променів на упаковку. Засіб гігроскопічний, потребує зберігання в сухому місці.

Гарантійний термін зберігання - 3 роки з дати виробництва в оригінальній упаковці виробника, 2 роки після відкупорювання упаковки (за умови ретельного закривання упаковки після кожного застосування).

7. МЕТОДИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ ЗАСОБУ*

7.1. Перелік показників, які підлягають визначенню: зовнішній вигляд; запах; значення рН; вміст активного кисню. За показниками якості засіб «Даноксин» повинен відповідати вимогам і нормам, зазначеним у таблиці 14

Таблиця 14 Показники, які підлягають вивченню при проведенні контролю якості засобу «Даноксин»

№з/п	Найменування показника	Норма
1.	Зовнішній вигляд (при 20±2°C)	порошок (мілкі гранули) білий або із голубими вкрапленнями
2.	Запах	специфічний
3.	Водневий показник (рН) 1% водного розчину за температури 20 °С, в межах	8,0 -10,0
4.	Масова доля активного кисню, %	7,0-10

*Допускається заміна функціональних складових, на еквівалентні: комплекс ферментів чи катіонактивні тензиди, введення в склад додаткових функціональних складових (комплекс для зниження піноутворення, тощо), що не позначається на специфічній активності дезінфекційного засобу «Даноксин», його токсикологічних властивостях та екологічних характеристиках, способах і методах застосування робочих розчинів.

7.2.1 Визначення зовнішнього вигляду та кольору

Зовнішній вигляд та колір визначають візуально.

7.2.2 Визначення запаху



**Методичні вказівки
щодо застосування засобу дезінфекційного «Терразім (Terrazym)»
з метою дезінфекції, достерилізаційного очищення, дезінфекції високого
рівня та стерилізації**

1. ЗАГАЛЬНІ ПОЛОЖЕННЯ

1.1. Повна назва засобу – дезінфекційний засіб «Терразім (Terrazym)».

1.2. Фірма виробник – «Prisma GmbH», Німеччина.

1.3. Склад засобу, вміст діючих та допоміжних речовин, мас. %:

Склад засобу у вигляді порошку: перкарбонат натрію - 15,1%, тетраацетилетилендіамин - 9,9%, протеаза - 0,2%, ліпаза - 0,1%, амілаза - 0,1%, целюлаза - 0,03% (діючі речовини); інгібітори корозії, лимонна кислота, карбонат натрію, сульфат натрію, похідні ЕДТА, неіоногенні сурфактанти, комплексоутворювач, інші допоміжні речовини до 100,0.

Склад робочих розчинів: надоцтова кислота, протеаза, ліпаза, амілаза, целюлоза, залишки перкарбонату натрію та тетраацетилетилендіаміну (діючі речовини); інгібітори корозії, лимонна кислота, карбонат натрію, сульфат натрію, похідні ЕДТА, неіоногенні сурфактанти, комплексоутворювач, інші допоміжні речовини до 100,0.

1.4. Форма випуску і фізико-хімічні властивості засобу: «Терразім (Terrazym)» - це порошок білого кольору з блакитними гранулами майже без запаху, 2% робочі розчини (за препаратом) мають слабкий запах оцту, розчини в концентрації 0,5% (за препаратом) і менше – практично без запаху. Мають високі змочувальні, очищувальні, миючі (миюча здатність не менше 85%), емульгуючі, знежирюючі та дезодоруючі властивості, низьке піноутворення, не фіксують органічні забруднення, ефективні для видалення біоплівки. Завдяки спільній дії ензимного комплексу та поверхнево-активних речовин самостійно розчинюються навіть ті забруднення, що важко видаляються, у т.ч. застарілі, прифіксовані (прикипілі) до поверхонь матеріалів (кров, слиз, сироватка, білкові, жирові та вуглеводні виділення та забруднення, хімічні речовини та реагенти, лікарські препарати, залишки рентгенконтрастних речовин та ін.) або які вже підсохли.

Наявність ефективного інгібітора корозії дозволяє попереджати корозію низьковуглецевих сталей у робочих розчинах, не ушкоджуються неіржавіюча сталь, не пошкоджують вироби зі скла, термостабільних і термолабільних матеріалів, гуми, каучуків, полімерних матеріалів, штучної шкіри, кахлю, порцеляни, фаянсу, дерева та інших матеріалів; поверхні медичних приладів і

устаткування з лакофарбовим, гальванічним і полімерним покриттям, мають відбілюючу дію на текстиль без зменшення міцності тканин, видаляють плями (у т.ч. крові та інших біологічних рідин); ефективно розчиняють та видаляють органічні та неорганічні забруднення (у т.ч. залишки крові, ліків, білкові, жирові, механічні та ін. види забруднень) з поверхонь, із внутрішніх каналів, порожнин та інших важкодоступних місць; добре змиваються, не залишають нальоту і плям на поверхнях об'єктів, що піддаються обробці; гомогенізують мокротиння та інші виділення.

Залишкові кількості активно-діючої речовини водних розчинів засобу – надоцтової кислоти – розкладаються до нетоксичних речовин – води, кисню і оцтової кислоти.

Засіб не придатний для інструментів із латуні та міді, а також, хромованих та нікельованих інструментів з механічними пошкодженнями.

1.5. Призначення засобу. Засіб «Терразім (Terrazym)» призначений для

- проведення поточної, заключної та профілактичної дезінфекції, генеральних прибирань, застосування у вогнищах інфекційних захворювань при інфекціях бактеріальної (у т.ч. при туберкульозі, при інфекціях, викликаних споровими формами бактерій), вірусної та грибкової етіології на різних об'єктах:

- у закладах охорони здоров'я будь-якого профілю (хірургічні, терапевтичні, акушерські, гінекологічні, стоматологічні, дитячі, фізіотерапевтичні, офтальмологічні, фізіотерапевтичні, патологоанатомічні та інші відділення, відділення неонатології, реанімації та інтенсивної терапії для новонароджених та інших хворих, операційні блоки, пологові будинки, центри з трансплантації органів, перинатальні центри, медичні профільні центри, стоматологічні, наркологічні, косметологічні клініки, амбулаторії, поліклініки, диспансери, станції швидкої та невідкладної медичної допомоги, донорські пункти та відділення переливання крові, медико-санітарні частини, фельдшерсько-акушерські та медичні пункти, санаторії, профілакторії, реабілітаційні центри, хоспіси, санпропускники, тощо);

- лабораторіях різного профілю (клінічні, біохімічні, бактеріологічні, вірусологічні, імунологічні, мікологічні, клінічні та інші лабораторії різних підпорядкувань);

- аптеках та аптечних закладах; оздоровчих закладах, учбових закладах різних рівнів акредитації, дитячих дошкільних закладах;

- підприємствах парфумерно-косметичної, фармацевтичної, біотехнологічної, мікробіологічної промисловості; промислових підприємствах, підприємствах харчової промисловості (молочної, м'ясо-, птахо-, рибопереробної, кондитерської, хлібо-булочної, консервної, плодоовочевої, виноробної, олійно-жирової, виготовлення соків, напоїв, безалкогольних напоїв, фасованої мінеральної та питної води, напівфабрикатів, дитячого харчування, дріжджів, цукру, солоду, кондитерських виробів та інших виробництвах агропромислового комплексу та харчопереробної промисловості; на заводах, фабриках, складах, сховищах, включаючи приміщення для зберігання зерна, продуктів харчування, лікарських засобів, предметів гігієни, сільськогосподарських об'єктах тощо;

числі мікрохірургічні, для малоінвазивної і судинної хірургії, анестезіології), стоматологічні інструменти (включаючи ендодонтичні, обертові інструменти та стоматологічні бори з різних матеріалів; зонди усіх видів, катетери, інтраопераційні та ехокардіографічні датчики, термочутливі матеріали для анестезії, в т.ч. маски, трубки, і інші елементи наркозно-дихальної апаратури, стоматологічного обладнання, гідравлічних контурів для стоматологічних вузлів та стоматологічних відливок. слиновідсмоктуючі установки, плювальниці, ортопедичні інструменти, відтискні ложки), стоматологічні матеріали (відтиски з альгінату і силікону, поліефірні смоли, зубопротезні заготовки з металів, кераміки, пластмас і інших матеріалів, зліпки, мости, коронки, артикулятори з матеріалів, стійких до корозії) тощо у лікувально-профілактичних закладах усіх типів;

- для дезінфекції високого рівня ендоскопів;

- для достерилізаційного очищення усіх видів виробів медичного призначення з різних матеріалів та медичного інструментарію, включаючи гнучкі та жорсткі ендоскопи та інструменти до них;

- для попереднього очищення ендоскопів і медичних інструментів до них, а також наркозно-дихальної апаратури і її елементів ручним способом;

- заключного очищення ендоскопів ручним способом перед дезінфекцією високого рівня та стерилізацією;

- очищення інструментів, у т.ч. ендоскопів, після обробки їх хімічними речовинами, що можуть фіксувати органічні та інші забруднення на поверхні виробів;

- видалення з поверхні медичних виробів, каналів, порожнин тощо забруднень, що важко видаляються методами миття та очищення;

- миття та очищення (у т.ч. достерилізаційного очищення) лабораторного та іншого посуду, ємностей тощо;

- для дезінфекції та очищення кувезів у відділеннях неонатології;

- для дезінфекції і очищення (у т.ч. достерилізаційного очищення) лабораторного посуду, різноманітних ємностей, ємностей для дезінфекції ;

- попереднього замочування текстильних виробів (одягу, білизни тощо) з метою знезараження, видалення забруднень і плям що важко видаляються (білкові та інші секрети, кров, жири, та інші забруднення)

; дезінфекції під час прання зазначених виробів;

- миття поверхонь приміщень, обладнання, апаратури, устаткування, предметів догляду за хворими тощо;

- для дезінфекції та одночасного миття, дезодорування поверхонь приміщень (підлога, стіни, двері тощо), меблів, обладнання, медичних приладів, апаратів і устаткування (у т.ч. особливо-чутливих приладів та апаратів наркозно-дихальної апаратури, хірургічно-реанімаційних моніторів), обладнання та наркозно-дихальної апаратури, датчиків ультразвукової апаратури, рентгенодіагностичного, радіологічного обладнання, апаратури та обладнання для комп'ютерної, магнітно-резонансної томографії, ангиографічних комплексів та інших видів обладнання); посуду, білизни, предметів догляду хворих, санітарно-технічного обладнання (зокрема, бальнеологічного, у т.ч. акрилових гідромасажних та інших ванн), прибирального інвентарю тощо;

- для дезінфекції на інших епідемічно-значимих об'єктах, діяльність яких вимагає проведення дезінфекційних робіт у відповідності до діючих санітарно-гігієнічних та протиепідемічних норм і правил.

«Терразім (Terrazym)» рекомендований для застосування в ультразвукових установках для достерилізаційного очищення і дезінфекції виробів медичного призначення.

Якщо засіб не використовується постійно, рекомендується періодично проводити обробку інструментів засобом «Терразім (Terrazym)» для їх очищення від забруднень, що фіксовані на поверхні медичних виробів та важко видаляються. Така процедура подовжує термін експлуатації виробів медичного призначення, у т.ч. ендоскопів та інструментів до них.

1.6. Спектр антимікробної дії: «Терразім (Terrazym)» має антимікробні властивості щодо бактерій (включаючи збудників туберкульозу - *M. terrae*, кишкових і крапельних інфекцій бактеріальної етіології, у т.ч. резистентні штами внутрішньолікарняних інфекцій, зокрема, мультирезистентний золотистий стафілокок (MRSA), *Helicobacter pylori*, ешерихії (*Enterohaemorrhagic E. coli* 0157 (EHEC), *Enterococcus faecalis*, *E. faecium*, *Klebsiella* spp. (у тому числі *K. pneumoniae*), *Enterobacter* spp., *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Helicobacter pylori*, *Ps. aeruginosa*, *Acinetobacter* spp., ванкомицин-резистентний ентерококк (VRE), шигели, клостридії, сальмонели, клебсієли, легіонели, лептоспіри, ієрсинії, коринібактерії, стрептококи, стафілококи, менінгококи, особливо-небезпечні інфекції: чума, туляремія, черевний тиф, холера та інші види бактерій), вірусів (в т.ч. збудників гепатитів А, В, С, ВІЛ-інфекції, герпес-, рота-, корона-, каліці-, параміксо-, ханта-, вакцинія-, рота-, папова-, ентеро- (в т.ч. поліовірусні),

респіраторно-синцигіальні, рино-, аденовірусні інфекції, SARS, лихоманка Ебола, збудників різних видів грипу та парагрипу, зокрема: А(H5N1) «пташиний грип», А(H1N1) «свинячий грип»), фунгіцидні (включаючи кандидози, дерматомікози (у т.ч. трихофітії), плісняві гриби, (у т.ч. аспергільози)) та спороцидні властивості (*B. subtilis*, *B. anthracoides*, *C. Difficile*, сибірка); засіб має овицидні властивості проти збудників паразитарних хвороб (цист, ооцист найпростіших, яєць і личинок гельмінтів, гостриків)

Протестований у відповідності до стандартів EN 13727, EN 13697, EN 13624, EN 14348, EN 14563, EN 14476, EN 13704.

1.7. Токсичність та безпечність засобу: «Терразім (Terrazym)» відповідно до вимог ГОСТ 12.1.007-76, належить до 3 класу помірно небезпечних речовин при введенні в шлунок та парентеральному введенні, до мало небезпечних речовин при нанесенні на шкіру (4 клас безпеки). Пил засобу викликає подразнення верхніх дихальних шляхів. Засіб у препаративній формі у відкритому вигляді відноситься до 4 класу безпеки (мало небезпечні речовини) при інгаляційному впливі через відсутність летких компонентів. Робочі розчини засобу при одноразовому та багаторазовому нанесенні на шкіру не викликають місцево-пдрознявальної шкірно-резорбтивної та сенсibiliзуючої дії. У рекомендованих для дезінфекції концентраціях не подразнює слизові оболонки очей та верхніх дихальних шляхів. Не виявляє сенсibiliзуючих, гонадотропних, канцерогенних, кумулюючих, мутагенних і тератогенних властивостей.

2. ПРИГОТУВАННЯ РОБОЧИХ РОЗЧИНІВ

2.1. Методика та умови приготування робочих розчинів. Робочі розчини дезінфекційного засобу «Терразім (Terrazym)» готують шляхом розчинення необхідної кількості засобу у воді при температурі 20-30°C протягом 15 хвилин; протягом цього часу необхідно декілька разів перемішати розчин, після чого він готовий до використання. Розчин готується у пластмасових, емальованих (без ушкоджень емалі), скляних або з нержавіючої сталі ємностях з кришкою. Невеликий нерозчинений осад, який може залишатися у розчині не знижує його активності, а навпаки забезпечує його стабільність, утворюючи буфер. Не дозволяється підвищувати температуру вище 30°C. При застосуванні засобу слід уникати змішування з іншими дезінфікуючими та миючими засобами.

2.2. Розрахунки для приготування робочих розчинів. Для приготування робочих розчинів засобу «Терразім (Terrazym)» відповідної концентрації виходять із наступних розрахунків, наведених у таблиці 1.

Таблиця 1. Розрахунки для приготування робочих розчинів засобу «Терразім (Terrazym)»

Концентрація розчину, (за препаратом), %	Кількість компонентів (мл) для приготування:			
	1,0 л		5,0 л	
	Кількість концентрату, г	Кількість води, мл	Кількість концентрату, г	Кількість води, мл
0,05	0,5	999,5	2,5	4997,5
0,1	1,0	999,0	5,0	4995,0
0,25	2,5	997,5	12,5	4987,5
0,5	5,0	995,0	25,0	4975,0
2,0	20,0	980,0	100,0	4900,0
4,0	40,0	960,0	200,0	4800,0

2.3. Термін та умови зберігання робочого розчину. Термін придатності робочих розчинів засобу «Терразім (Terrazym)» становить 24 години за умови їх зберігання у закритих ємностях.

Розчин використовується багаторазово протягом робочої зміни. При перших ознаках зміни зовнішнього вигляду та інших його властивостей (зміна кольору, помутніння розчину, випадання осадку, тощо) розчин слід замінити.

Для перевірки активності розчину можна користуватись тестовими смужками, призначеними для визначення вмісту надощової кислоти .

3. СПОСОБИ ЗАСТОСУВАННЯ ЗАСОБУ.

3.1. Об'єкти застосування. Робочі розчини засобу «Терразім (Terrazym)» використовують: - з метою дезінфекції, достерилізаційного очищення, а також для поєднаних процесів дезінфекції та достерилізаційного очищення (ручним і механізованим способом, в установках ультразвукового очищення) виробів медичного призначення з різних матеріалів одноразового і багаторазового призначення, включаючи гнучкі і жорсткі ендоскопи та інструменти до них, хірургічні, стоматологічні інструменти (у тому числі ендодонтичні, обертові, слиновідсмоктуючі установки, пловальниці, ортопедичні інструменти, відтискні ложки, обертові інструменти та стоматологічні бори з різних матеріалів; відтиски з альгінату і силікону, зубопротезні заготовки, зліпки, мости, коронки, артикулятори, гідравлічні контури для стоматологічних вузлів), зонди та катетери усіх видів, інтраопераційні та ехокардіографічні датчики, головки ультразвукових діагностичних апаратів, маски, трубки, шланги та інші термочутливі матеріали до наркозно-дихальної апаратури, хірургічно-реанімаційних моніторів; перукарського, манікюрного, педикюрного та косметологічного інструментарію, приладдя та обладнання на підприємствах сфери обслуговування; для дезінфекції високого рівня та стерилізації виробів медичного призначення, включаючи гнучкі та жорсткі ендоскопи тощо; - для поєднання дезінфекції і одночасного очищення: різноманітних поверхонь приміщень (підлога, стіни, стеля, двері, віконні рами, меблі тощо); медичних приладів та апаратури і устаткування (з лакофарбовим, гальванічним та полімерним покриттям, виготовлених з корозійностійких та корозійнонестійких матеріалів) в усіх галузях застосування засобу; поверхонь особливо-чутливої апаратури (у т.ч. наркозно-дихальної, датчиків до ультразвукових діагностичних апаратів та самих апаратів, гумові деталі, у т.ч. присоски), рентгенологічної та томографічної апаратури (у т.ч. рентгендіагностичних комплексів, радіологічного і цифрового обладнання, обладнання для комп'ютерної, магнітно-резонансної томографії, ангіографічних систем, тощо); обладнання для фізіотерапевтичних процедур, небулайзерів; предметів догляду за хворими (підкладні судна, сечеприймальники, грілки, клейонки тощо); кувезів у відділеннях неонатології; дитячих іграшок та виробів для дітей; технологічного обладнання в харчовій, фармацевтичній, мікробіологічній та парфумерно-косметичній промисловості; лабораторного, аптечного, столового та кухонного посуду, у т.ч. одноразового використання; іграшок, білизни, візків для складання і транспортування білизни, тари, стелажів для зберігання білизни, іграшок, спецодягу у т.ч. одноразового