

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ

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

«До захисту в ЕК»
Директор інституту (декан факультету)
_____ Грегірчак Н.М.
(підпис) (прізвище та ініціали)
« ____ » _____ 2020 р.

«До захисту допущено»
Завідувач кафедри
_____ Пирог Т.П.
(підпис) (прізвище та ініціали)
« ____ » _____ 2020 р.

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА
НА ЗДОБУТТЯ ОСВІТНЬОГО СТУПЕНЯ БАКАЛАВРА

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

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

на тему: Культивування *Cephalosporium acremonium* для одержання цефалоспоринолу

Виконав: здобувач IV курсу, групи 3

Волков Олексій Андрійович
(прізвище, ім'я, по батькові повністю) _____ (підпис)

Керівник Удимович Віктор Миколайович
(прізвище, ім'я та по батькові повністю) _____ (підпис)

Консультанти Клименко О.М.
(прізвище та ініціали) _____ (підпис)

_____ (прізвище та ініціали) _____ (підпис)

Рецензент _____ (підпис)
_____ (прізвище та ініціали) _____ (підпис)

Засвідчую, що в цій кваліфікаційній
роботі немає запозичень із праць
інших авторів без відповідних
посилань.

Здобувач _____
(підпис)

Київ – 2020 р.

НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ

Інститут (факультет) біотехнології та екологічного контролю

Кафедра біотехнології і мікробіології

Освітній ступінь бакалавр

Спеціальність 162 «Біотехнології та біоінженерія»
(шифр і назва)

Освітньо-професійна програма «Біотехнологія: фармацевтична, промислова, харчова, природоохоронна»
(назва)

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри біотехнології і мікробіології

Пирог Т.П.

«17» березня 2020 року

З А В Д А Н Н Я

НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ ЗДОБУВАЧА

Волкова Олексія Андрійовича

(прізвище, ім'я, по батькові)

1. Тема роботи Культивування *Cephalosporium acremonium* для одержання цефалоспорину

керівник роботи Удимович Віктор Миколайович доцент,
(прізвище, ім'я, по батькові, науковий ступінь, вчене звання)

затверджені наказом вищого навчального закладу від «16» березня 2020 року № 227-кв

2. Строк подання здобувачем роботи 01 червня 2020 року

3. Вихідні дані до роботи Біологічний агент *Cephalosporium acremonium* цільовий продукт: Цефалоспорин

4. Зміст розрахунково-пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно розробити) РОЗДІЛ 1. Характеристика цільового продукту. РОЗДІЛ 2.

Обґрунтування вибору та характеристика біологічного агента. РОЗДІЛ 3. Техніко-економічне обґрунтування. РОЗДІЛ 4. Обґрунтування вибору технологічної схеми. РОЗДІЛ 5. Матеріальний баланс і розрахунок обладнання. РОЗДІЛ 6. Специфікація обладнання. РОЗДІЛ 7. Опис технологічної схеми. РОЗДІЛ 8. Контроль виробництва. РОЗДІЛ 9. Автоматизація ділянки виробництва.

5. Перелік графічного матеріалу

Технологічна схема виробництва цефалоспорину – 2 аркуші формату А1. Апаратурна схема виробництва – 2 аркуші формату А1. Схема автоматизації – 1 аркуш формату А1

6. Консультанти розділів роботи

| Розділ | Прізвище, ініціали та посада консультанта | Підпис, дата | |
|----------|---|-------------------|-------------------|
| | | завдання видав | завдання прийняв |
| 9 | Клименко Олег Миколайович доцент, к.т.н., кафедра автоматизації та комп'ютерних технологій систем управління | 23.03.2020 | 24.04.2020 |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |

7. Дата видачі завдання «17» березня 2020 року

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

| № з/п | Назва етапів виконання кваліфікаційної роботи | Строк виконання етапів роботи | Примітка |
|-------|---|-------------------------------|----------|
| 1 | Вступ | 06.03.20-09.03.20 | |
| 2 | Характеристика цефалоспорину | 06.03.20-09.03.20 | |
| 3 | Характеристика <i>Cephalosporium Acremonium</i> | 10.03.20-20.03.20 | |
| 4 | Техніко-економічне обґрунтування | 15.03.20-30.03.20 | |
| 5 | Обґрунтування вибору технологічної схеми виробництва цефалоспорину | 20.03.20-30.03.20 | |
| 6 | Матеріальний баланс і розрахунок обладнання виробництва цефалоспорину | 30.03.20-10.04.20 | |
| 7 | Специфікація обладнання | 08.04.20-15.04.20 | |
| 8 | Опис технологічної схеми виробництва цефалоспорину | 10.04.20-20.04.20 | |
| 9 | Контроль виробництва цефалоспорину | 20.04.20-10.05.20 | |
| 10 | Автоматизація ділянки виробництва цефалоспорину | 20.04.20-10.05.20 | |
| 11 | Оформлення пояснювальної записки | 15.05.20-25.05.20 | |
| 12 | Виконання графічної частини роботи | 10.04.20-20.05.20 | |
| | | | |
| | | | |

Здобувач _____

(підпис)

(прізвище та ініціали)

Керівник роботи _____

(підпис)

(прізвище та ініціали)

РЕФЕРАТ

Представлено проект присвячено розробленню технологічної та апаратурної схем біосинтезу цефаласпорина С штамом *Acremonium chrysogenum* ВКМ F-4081D, який здатний на середовищі соєвої олії та глюкози утворювати 37 г/л цільового продукту. Розрахована потужність виробництва для використання інозину для лікування ішемічної хвороби серця становить 1548,5 на рік. Технологічний процес біосинтезу включає допоміжні роботи (Виготовлення мийних засобів для генерального прибирання, для щоденного прибирання, для миття обладнання, підготовка аераційного повітря, Виготовлення в колбах 6 % сумішів NaOH та HCL для керування рН середовища під час стерилізації, Приготування та стерилізація поживних середовищ для вирощування посівного матеріалу в інокуляторах об'ємом 40 л та 400 л та виробничого культивування в ферментері об'ємом 4 м³) та технологічний процес (виробничий біосинтез, підготовка посівного матеріалу в колбах на качалці та інокуляторах). Методом виділення було вибрано коагуляцію культуральної маси, а саме її обробка флокулянтами Після відділення міцелію в фільтраті міститься 3 – 6% сухих речовин, із яких 30 – 40 % складають мінеральні речовини, а 15 – 30 % цефаласпорин. Коагульований міцелій відділяють сепарацією або фільтрацією (частіш за все у вакуум-фільтрах циліндричного типу). Використовую висушування із застосуванням розпилювальної сушарки – прогресивний метод при роботі з великими кількостями антибіотика.

Дипломний проект викладений на 109 стор. друкованого тексту, містить 16 таблиць, 10 рисунків і складається з вступу, девяти розділів, списку використаної літератури (71 джерел) та графічної частини (креслень формату А1).

Ключові слова: цефалоспорин, антибіотик, активна дія, штам-продуцент, *Acremonium chrysogenum* ВКМ F-4081D, біосинтез, виділення, біомаса

РЕФЕРАТ

ВСТУП

РОЗДІЛ 1. Характеристика цільового продукту

РОЗДІЛ 2. Обґрунтування вибору та характеристика біологічного агента

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

2.2. Розрахунок складу поживного середовища

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

2.3. Таксономічний статус біологічного агента

РОЗДІЛ 3. Техніко-економічне обґрунтування

3.1. Потреба у цільовому продукті

3.2. Розрахунок потужності виробництва

3.3. Розрахунок об'єму ферментера та кількості виробничих циклів

3.4. Розрахунок кількості стадій підготовки посівного матеріалу

РОЗДІЛ 4. Обґрунтування вибору технологічної схеми

4.1. Обґрунтування доферментаційних процесів та виробничого біосинтезу

4.1.1. Обґрунтування способу культивування і типу ферментера

4.1.2. Обґрунтування вибору стадії підготовки повітря

4.1.3. Вибір мийних та дезінфікуючих засобів

4.1.4. Особливості підготовки та стерилізації поживного середовища

4.2. Обґрунтування стадій виділення і очищення цільового продукту

4.3. Обґрунтування допоміжних робіт для стадії виділення та очищення цільового продукту

РОЗДІЛ 5. Матеріальний баланс і розрахунок обладнання.

РОЗДІЛ 6. Специфікація обладнання

РОЗДІЛ 7. Опис технологічної схеми.

РОЗДІЛ 8. Контроль виробництва

8.1. Карта постадійного контролю

8.2. Мікробіологічний контроль

8.3. Показники росту і синтезу цільового продукту

8.3.1. Концентрація біомаси

8.3.2. Концентрація цільового продукту

8.3.3. Концентрація джерела вуглецю і азоту

РОЗДІЛ 9. Автоматизація ділянки виробництва

ЛІТЕРАТУРА

Вступ

На сьогоднішній день біотехнологія вважається однією з найперспективніших галузей економіки у всьому світі. Так, біотехнологічний сектор світового ринку наразі оцінюється в майже в \$163 млрд, з яких \$45 млрд складають продукти для харчової промисловості і сільського господарства, \$26,8 млрд — фармацевтична продукція і \$21 млрд — ферменти і препарати для виробництва мийних засобів. Порівняно з іншими країнами світу, обсяг ринку біотехнологічної продукції України стабільно залишається невисоким і складає приблизно \$20 млн. Причиною цьому є низка проблем для розвитку біотехнологічного сектора в Україні.

По-перше, впровадження і підтримання сучасних технологій вимагає великих капіталовкладень. По-друге, біотехнологічний напрям передбачає необхідність проведення довготривалих складних досліджень та клінічних випробувань для апробації нової продукції. По-третє, процедури ліцензування й отримання дозволів для реалізації біотехнологічної продукції є дороговартісними, що унеможливорює вихід вітчизняної біотехнологічної продукції на більш перспективні ринки (країни Європи, США). Так, через брак фінансування для побудови нових великотоннажних заводів в Україні рівень виробництва імуно біотехнологічних препаратів є дуже низьким (лише 9%), а сектор промислової біотехнології (ферменти промислового призначення, засоби захисту рослин, кормові білки і амінокислоти тощо) все ще залишається майже незаповненим. Таким чином, сукупність наведених причин гальмують розвиток комерційної біотехнології в Україні. Для покращення стану вітчизняної біотехнологічної галузі Україна потребує залучення іноземних інвестиційних фондів. Так, наразі Україна співпрацює у галузях інформаційних технологій, біології клітин та біотехнології, захисту довкілля та раціонального природокористування, а також розвиває Національний Інформаційний Центр зі співпраці з ЄС у сфері науки і технології. 4 Зважаючи на незадовільний стан біотехнологічної галузі в Україні, зокрема біофармацевтика, видається цілком недивним той факт, що з 418 обов'язкових імуно біотехнологічних препаратів в Україні виробляються лише 40 (9%), а із 62 препаратів мікробного походження — першочергових лікарських засобів, виробляються тільки 10—12 найменувань (19%). Саме тому, наразі на українському ринку лікарських засобів переважає частка імпортованих препаратів, яка складає близько 70 % фармацевтичного ринку.

Новизна теми полягає в тому що при дотриманні нескладних умов культивування і недорогого поживного середовища можливо досягти високого виходу антибіотика 37 г/л. Паралельно також треба відмітити що новизна полягає в використанні обладнання нового покоління та використанні техніки двостадійного процесу культивування а також для Отримання цефаласпорину в промислових масштабах, що зумовлено здатністю штаму до забезпечення високої концентрації цільового продукту

Актуальність ґрунтується в використанні антибіотиків нового покоління так як до старого покоління антибіотиків більшість штамів резистентні. На сьогоднішній день антибіотики належать до числа основних продуктів сучасної біотехнології та активно застосовуються в медицині та ветеринарії.

РОЗДІЛ 1. Характеристика цільового продукту

Пліснявий гриб *Cephalosporium acremonium* - перше джерело цефаласпоринів - був виділений професором бактеріології Університету м Кальярі на Сардинії Джузеппе Бротцу в 1945 р в процесі вивчення мікробної екології (самоочищення) морської води затоки в місці викиду стічних вод. Надалі Д. Бротцу встановив, що цей мікроорганізм продукує речовина, що пригнічує ріст і розмноження різних грампозитивних і грамнегативних бактерій. Більш того, ін'єкції цієї речовини хворим з тифозною лихоманкою приводили до швидкого поліпшення їх стану.

У 1953 р було виділено речовину, названу цефаласпорином С. При подальшому вивченні встановлено, що саме ця сполука має широкий спектр активності, причому поряд з грампозитивними коками також придушувалися деякі грамнегативні бактерії. Крім того, цефаласпорин С. зберігав активність в присутності стафілокової пеніцилінази.

Однак рівень антимікробної активності цефаласпорина С. був незначним, тому, за аналогією з пеніцилінами, потрібне створення нових напівсинтетичних сполук.

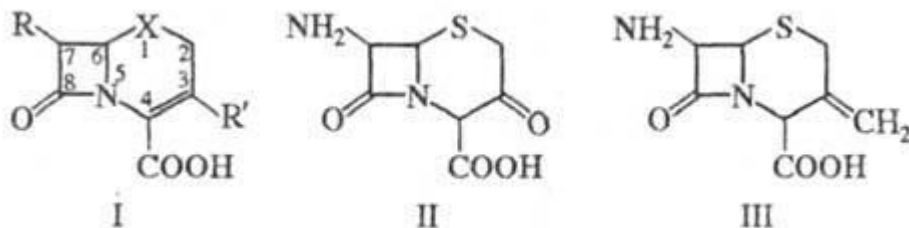
У 1962 р в клінічну практику був введений перший антибіотик класу цефаласпоринів - цефалоридин. В даний час налічується більше 50 цефаласпоринів.

Незважаючи на різні лікарські форми цефаласпоринів і поділ препаратів за їхніми, усі вони мають загальні властивості:

- 1) потужну бактерицидну дію;
- 2) низьку токсичність;
- 3) широкий терапевтичний діапазон;
- 4) відсутність дії на ентерококи, лістерії, метіциліноустойчивіе штами *Staphylococcus aureus* (MRSA1).

| | | | | | НУХТ БТЕК | | | |
|-----------|------|---------------|--------|------|-----------|-------------|------|--------|
| Змн. | Лист | № докум. | Підпис | Дата | | | | |
| Розроб. | | Волков О.А. | | | Розділ 1. | Літ | Арк. | Акруші |
| Консульт. | | | | | | | | |
| Керівн. | | Удимович В.М. | | | | Кафедра БТМ | | |
| Н. Контр. | | | | | | | | |
| Зав. каф. | | Пирог Т.П. | | | | | | |

Хімічна структура цефаласпоринів. Цефаласпорини представляють собою біциклічні сполуки, що складаються з β -лактамних і дігідротіазінового кілець. Обидва кільця і становлять 7-АЦК - загальне ядро молекули цефаласпоринів.



Механізм дії цефаласпоринів. Антибактеріальна активність цефаласпоринів, як і інших β -лактамних антибіотиків, принаймні частково, обумовлена гальмуванням синтезу пептидоглікану - структурної основи мікробної стінки. Пептидоглікану представляють собою довгі полісахаридні ланцюги, які вбудовуються в існуючу пептидоглікану мережу (в процесі росту і ділення клітини) за участю різних ензимів. Вони і є місцем реалізації антибактеріальної активності (мішенями) β -лактамних антибіотиків, в тому числі цефаласпоринів; вони отримали назву «пеніцилінозв'язуючі білки». В результаті утворення «тривалої» ковалентного зв'язку β -лактами і РВР інактивуються. Бактерицидний ефект цефаласпоринів реалізується тільки в процесі росту і розмноження мікроорганізмів, тоді як «покояться» клітини невразливими для дії антибіотиків.

Механізми формування резистентності до цефаласпоринів. Стійкість мікроорганізмів до дії цефаласпоринів може бути пов'язана з Одним із наступних механізмів:

а) видозміною (модифікацією) РВР зі зниженням афінності (спорідненості) до них цефаласпоринів;

б) гідролізою інактивацією антибіотика (β -лактамазами);

Грамположитивні мікроорганізми вивільняють β -лактамази безпосередньо в навколишній їх позаклітинний простір. При цьому відомо, що більшість цефаласпоринів (за винятком, мабуть, цефалоридина) досить стійкі до гідролізу дії стафілококової β -лактамази. У зв'язку з цим антистафілококова активність цефаласпоринів залежить головним чином від їх спорідненості до есенціальним стафілококовим РВР. Так, наприклад, цефаміцини і цефтазидим, будучи досить β -лактамазостабільними, демонструють низьку антистафілококову активність внаслідок низької спорідненості

до РВР *S. aureus*. Лактамазна резистентність грамнегативних бактерій до цефаласпоринів має більш складний характер. У цих мікроорганізмів β -лактамази «укладені» в Периплазмі. Високий рівень продукції TEM-1 або SHV-13, двох найбільш часто зустрічаються плазмідасоціюваних β -лактамаз бактерій сімейства *Enterobacteriaceae* (*Escherichia coli*, *Salmonella spp.*, *Shigella spp.*, *Klebsiella spp.*, *Enterobacter spp.* та ін.), Асоціюється з формуванням резистентності не тільки до пеніцилінів - інгібіторів β -лактамаз, але і до цефалотину, цефамандолу, цефоперазону

в) порушенням проникності зовнішніх структур мікробної клітини для антибіотика і утрудненням його зв'язування з «мішенню» - РВР. Цефаласпорини «проходять» крізь зовнішню мембрану мікробної клітини через так звані порінові канали. У зв'язку з цим, зменшення проникності порінових каналів може призвести до формування антибіотикорезистентності. Стійкість цефаласпоринів IV покоління до дії β -лактамаз ще належить оцінити.

Таким чином, цефаласпорини, потенційно активні щодо грамнегативних мікроорганізмів, повинні спочатку пройти крізь зовнішню стінку, уникнути гідролізного деградації в Периплазма під впливом β -лактамаз і далі зв'язатися з РВР на внутрішній мембрані мікробної клітини.

Фармакологія цефаласпоринів. Ряд препаратів (цефалексин, цефуроксим і ін.) Здатний абсорбуватися в травному тракті. Цефаласпорини для парентерального введення можуть бути призначені як внутрішньовенно, так і внутрішньом'язово (цефалотин показаний тільки для внутрішньовенного введення). При цьому Треба зазначити, що внутрішньом'язове введення більшості цефаласпоринів дуже хворобливе, в зв'язку з чим в якості сумішника рекомендують використовувати анестетик (лідокаїн).

Цефаласпорини легко проникають в різні тканини і середовища організму, включаючи легені, органи малого тазу, перикард, очеревину, плевру, синовіальні оболонки. З терапевтичних позицій велике значення має здатність ряду цефаласпоринів (цефтріаксон, цефуроксим, цефтазидим, цефотаксим) проникати в ліквор.

Більшість цефаласпоринів виводиться нирками; при цьому в сечі створюються концентрації цих препаратів, у багато разів перевищують мінімально інгібуючі для більшості актуальних збудників інфекцій сечових шляхів. Внаслідок цього в лікуванні останніх можна з успіхом використовувати цефаласпорини в середнетерапевтичних дозах, але при зниженні клубочкової фільтрації Потребна відповідна корекція дози, що

вводиться антибактеріального препарату. Винятком з цього правила є цефтриаксон і цефоперазон, екскретує переважно з жовчю. Ці препарати не видаляються при гемодіалізі, тому при проведенні даної процедури не потрібно додаткового підвищення дози антибіотика.

При захворюваннях печінки, навіть при відсутності асцити і його впливу на розподіл антибіотика суттєво порушується фармакокінетика більшості цефалоспоринів.

На відміну від фторхінолонів і аміноглікозидів, цефалоспоринів не роблять дозозависимого бактерицидного дії. При прийомі препаратів швидко досягається максимальна концентрація їх у сироватці крові з подальшим зниженням її нижче мінімальної інгібуючої: період напіввиведення більшості цефалоспоринів становить 0,5-2 год і лише у цефтриаксону досягає 8 ч. У зв'язку з цим, а також з непостійним і нетривалим постантибіотичний ефектом Треба суворо дотримуватися рекомендацій щодо кратності введення цефалоспоринів.

Особливості клінічного застосування цефалоспоринів. Алергія. Перехресна до всіх цефалоспоринів. У 10% пацієнтів з алергією до пеніцилінів може відзначатися алергія і до цефалоспоринів I покоління. Перехресна алергія до пеніцилінів і цефалоспоринів II-III покоління спостерігається значно рідше (1-3%). Якщо в анамнезі є відомості про алергічні реакції негайного типу (наприклад, кропив'янка, анафілактичний шок) на пеніциліни, то цефалоспорини I покоління слід застосовувати з обережністю. Цефалоспорини інших поколінь більш безпечні.

Період вагітності. Цефалоспорини використовують в період вагітності без будь-яких обмежень, хоча адекватних контрольованих досліджень їх безпеки для вагітних і плода не проводилося.

Період годування груддю. Цефалоспорини в низьких концентраціях проникають в грудне молоко. При використанні в період годування грудьми можливі зміна кишкової мікрофлори, сенсibiliзація дитини, шкірний висип, кандидоз, тому препарати слід застосовувати з обережністю. Не слід призначати цефіксим і цефтибутен через відсутність відповідних клінічних досліджень.

Педіатрія. У новонароджених можливо збільшення періоду напіввиведення цефалоспоринів в зв'язку з уповільненою ниркової екскрецією. Цефтриаксон, що має високий ступінь зв'язування з білками плазми крові, може витіснити із зв'язку з білками

білірубін, тому його слід з обережністю застосовувати у новонароджених з гіпербілірубінемією, особливо у недоношених.

Геріатрія. У зв'язку зі змінами функції нирок у людей похилого віку можливе уповільнення екскреції цефаласпоринів, що може зажадати корекції режиму дозування.

Порушення функції нирок. З огляду на, що більшість цефаласпоринів виводиться з організму нирками переважно в активному стані, режими дозування цих протимікробних препаратів (крім цефтриаксона і цефоперазону) при нирковій недостатності підлягають корекції. При використанні цефаласпоринів в високих дозах, особливо при поєднанні з аміноглікозидами або петльовими діуретиками, можливий нефротоксичний ефект.

Порушення функції печінки. Значна частина цефоперазону виводиться з жовчю, тому при важких захворюваннях печінки його дозу слід знижувати. У пацієнтів з патологією печінки відзначається підвищений ризик гіпопротромбінемії і кровотеч при використанні цефоперазону; для профілактики рекомендується приймати вітамін К.

Стоматологія. При тривалому застосуванні цефаласпоринів можливий розвиток кандидозу порожнини рота.

Таким чином, цефаласпоринові антибіотики є високоефективними і безпечними препаратами при лікуванні різних бактеріальних інфекцій. Незважаючи на тривале застосування і зниження до них чутливості деяких мікроорганізмів, цефаласпорини, особливо III і IV поколінь, зберігають в даний час важливе значення в терапії більшості позалікарняних і нозокоміальних інфекцій.

Розділ 2. ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ БІОЛОГІЧНОГО АГЕНТА ТА ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА ДЛЯ ЙОГО КУЛЬТИВУВАННЯ.

Основні групи цефаласпоринів. Залежно від спектра антимікробної активності цефаласпорини прийнято розділяти на чотири покоління. Обраний спосіб отримання антибіотика цефаласпорина С. Використовують новий штам-продуцент антибіотика *Acremonium chrysogenum* ВКМ F-4081D. *Acremonium chrysogenum* ВКМ F-4081D культивують на ферментаційних поживних середовищах, що містить джерела вуглеводів - глюкозу, Кукурудзяний крохмаль, декстрин, джерела азоту - кукурудзяний екстракт, Фармамедиа, сульфат аммонія, а також неорганічні солі - фосфорнокислий калій, сірчаноокислий калій, крейда, сірчаноокисла мідь, сірчаноокислий цинк, сірчаноокислий марганець, сірчаноокисле залізо, а в якості рослинного жиру - рапсове масло і допоміжно фосфатидилхолін і/або сітостерин. Продуцент сприяє збільшенню рівня антибіотикоутворення в 2 рази, скорочення часу ферментації на 20%. Процес мікробіологічного утворення цефаласпорина С завдяки гриба-продуцента з роду *Acremonium* широко вивченим і задокументовано. Відома здатність різних штамів *Acremonium chrysogenum* к біосинтезу цефаласпорина С. Одним із близьких є штам *Acremonium chrysogenum* 12/9.

| | | | | | | | |
|-----------------|------|---------------|--------|------|-------------|------|--------|
| | | | | | НУХТ БТЕК | | |
| Змн. | Лист | № докум. | Підпис | Дата | | | |
| Розроб. | | Волков О.А. | | | | | |
| Консульт. | | | | | | | |
| Керівн. | | Удимович В.М. | | | | | |
| Н. Контр. | | | | | | | |
| Зав. каф. | | Пирог Т.П. | | | | | |
| Розділ 2 | | | | | Літ | Арк. | Акруші |
| | | | | | | | |
| | | | | | Кафедра БТМ | | |

Особливості Отримання цефаласпорину завдяки штамів *Acremonium chrysogenum* ВКМ F-4081D, *Acremonium chrysogenum* DSM 6473, *Acremonium chrysogenum* 12/9

Таблиця 1.1

| Біологічний агент | Склад поживного середовища, г/л | Тривалість культивування, год | Концентрація цільового продукту, г/л | Особливості процесу біосинтезу | Література |
|---|---|-------------------------------|--------------------------------------|--|------------|
| <i>Acremonium chrysogenum</i> ВКМ F-4081D | Кукурудзяний крохмал-35, Декстрін-70, Рідкий кукурудзяний екстракт-50, D, L-метіонін-6, Сечовина-3, CaCO ₃ -10, (NH ₄) ₂ SO ₄ -13 КН ₂ РО ₃ -9, Соева олія-50, Амілаза- (20000 од/мл) | 190 | 37 | Протягом перших 50 год температура підтримується на 28 С, а рН - 6,2. Температура знижується до 25 °С, а рН до 5,60±0,05 шляхом автоматичного додавання розведеного сумішу HCL | [6] |
| <i>Acremonium chrysogenum</i> DSM 6473 | Середовище №1: зернова суміш (Cornsteep) 11,75 Ацетат аммонія 4,5 Сахароза 20,0 CaSO ₄ ·2H ₂ O 0,5 MgSO ₄ ·7H ₂ O 0,5 Середовище №2: Обезжирена арахісова мука 100, Ацетат аммонія 6,0 Моногидрат глюкози 5,0 Метилолеат 5,0 D, L-метионин 3,0 CaSO ₄ ·2H ₂ O 5,0 MgSO ₄ ·7H ₂ O 5,0 CaCO ₃ 5,0 Антивспениватель 5,0 Исходный раствор: Моногидрат глюкози 500,0 D, L-метионин 24,7 | 142 | 15 | Двостадійний спосіб культивування. Культивування для Отримання цефаласпорину проводять в конічних колбах на 5000 мл. Ферментацію здійснюють при 25°C | [7] |

| | | | | | |
|---------------------------------------|---|-----|------|---|-----|
| <i>Acremonium chrysogenum</i> 12/9 | Середовище №1: Дріжджовий екстракт - 28,0 м'ясний пептон - 10 мальт-екстракт - 28 крейда - 4,0 рапсове масло - 3,0 Середовище №2: Кукурудзяний екстракт - 93,0 Кукурудзяний крохмаль - 32,0 декстрин - 43,0 глюкоза - 4,0 (NH ₄) ₂ SO ₄ - 11,0 MgSO ₄ - 13,5 KН ₂ PO ₄ - 3,5 CaCO ₃ - 4,0 CuSO ₄ ·5H ₂ O - 0,017 ZnSO ₄ ·7H ₂ O - 0,16 MnSO ₄ ·7H ₂ O - 0,03 FeSO ₄ ·7H ₂ O - 0,08 масло рапсове - 3,0 | 115 | 15,5 | Двостадійний спосіб культивування. Середовище №1 використовується для Отримання посівного матеріалу, середовище №2 — для Отримання цефаласпорину. Колба Эрленмейера вмістом 0,75 л, містять 0,04 л посівної середовище. Ферментація проводиться на круговій качалці | [7] |
|---------------------------------------|---|-----|------|---|-----|

Переваги *Acremonium chrysogenum* ВКМ F-4081D є:

1. Новий штам *Acremonium chrysogenum* ВКМ F-4081D з пониженим рівнем утворення міцелію в поверхневих та глибинних умовах росту.
2. Збільшення рівня антибіотикоутворення в порівнянні з іншими при нерегульованому процесі біосинтеза на декілька пунктів, а в умовах регуляції на 40%.
3. Скорочення часу ферментації на 20%.
4. Проміжковий продукт дазацетилцефаласпорин С утворюється в сумі не більше 5%.

Розрахунок складу поживного середовища
Вартість компонентів поживного середовища для культивування
***Acremonium chrysogenum* BKM F-4081D, *Acremonium chrysogenum* DSM**
6473, *Acremonium chrysogenum* 12/9

Таблиця 2.1

| Біологічний агент | Концентрація (г/л) | Ціна (грн/кг) | Вартість 1л середовища (грн) |
|---|---|---|------------------------------|
| <i>Acremonium chrysogenum</i> BKM F-4081D | Середовище №1: зернова суміш (Cornsteep) 11,75 Ацетат аммонія 4,5 Сахароза 20,0 CaSO ₄ ·2H ₂ O 0,5 MgSO ₄ ·7H ₂ O 0,5 | 35 130 13 67 6.5 | 9.14 |
| | Середовище №2: Кукурудзяний екстракт - 105,0 Кукурудзяний крохмаль - 38,0 Фармамедиа - 16 декстрин - 43,0 глюкоза - 4,0 (NH ₄) ₂ SO ₄ - 13,5 MgSO ₄ - 3,5 KH ₂ PO ₄ - 4,0 CaCO ₃ - 11,0 CuSO ₄ ·5H ₂ O - 0,017 ZnSO ₄ ·7H ₂ O - 0,16 MnSO ₄ ·7H ₂ O - 0,03 FeSO ₄ ·7H ₂ O - 0,08 масло рапсове - 3,0 фосфатидилхолін - 1,0 Ситостерин - 0,1 | 35 19 80 75 37 47 6.50 47.33 7.50 48 80 32 9 68.54 452 437 | |
| <i>Acremonium chrysogenum</i> DSM 6473 | Середовище №1: зернова суміш (Cornsteep) 11,75 Ацетат аммонія 4,5 Сахароза 20,0 CaSO ₄ ·2H ₂ O 0,5 MgSO ₄ ·7H ₂ O 0,5 | 35 130 13 67 6.5 | 24.02 |
| | Середовище №2: Обезжирена арахисова мука 100,0 Ацетат аммонія 6,0 Моногидрат глюкози 5,0 Метилолеат 5,0 D, L-метионин 3,0 CaSO ₄ ·2H ₂ O 5,0 MgSO ₄ ·7H ₂ O 5,0 CaCO ₃ 5,0 Піногасник 5,0 Моногидрат глюкози 500,0 D, L-метионин 24,75 | 109 130 37 1170 80 67 6.5 7.50 219 37 67 | |

| | | | |
|------------------------------------|--|----------|-------|
| <i>Acremonium chrysogenum</i> 12/9 | Середовище №1: | | 10.64 |
| | Дріжджовий екстракт - 28,0 | 28 | |
| | мясний пептон - 10,0 | 7812 | |
| | мальт-екстракт - 28,3 | 48 | |
| | крейда - 4,0 | 3.57 | |
| | рапсове масло - 3,0 | 68.54 | |
| | Середовище №2: | | |
| | Кукурудзяний екстракт - 93,0 | 35 19 | |
| | Кукурудзяний крохмаль - 32,0 | 80 75 | |
| | Фармамедиа - 12 | 37 | |
| | декстрин - 43,0 | 47 | |
| | глюкоза - 4,0 | 6.5 | |
| | (NH ₄) ₂ SO ₄ - 11,0 | 6.50 | |
| | MgSO ₄ - 13,5 | 47.33 | |
| | KH ₂ PO ₄ - 3,5 | 7.50 | |
| | CaCO ₃ - 4,0 | 48 | |
| | CuSO ₄ ·5H ₂ O - 0,017 | 80 | |
| | ZnSO ₄ ·7H ₂ O - 0,16 | 47.33 | |
| | MnSO ₄ ·7H ₂ O - 0,03 | 9 | |
| | FeSO ₄ ·7H ₂ O - 0,08 | 68.54 | |
| | масло рапсове - 3,0 | | |

Морфолого-культуральні та фізіолого-біохімічні ознаки біологічного агента

Поява цефаласпоринів пов'язана роботами професора бактеріолога Джузеппе Братц, якому в 1945 р. вдалося добути гриб *Cephalosporium acremonium* (нині іменованій *Acremonium chrysogenum*) з морської води, отриманої поблизу зливу стічних вод в Сардинії. Після відкриття іншим вченим вдалося з продуктів обміну *A. chrysogenum* виділити бактерицидну субстанцію – цефаласпорин С, що стала вихідною речовиною для одержання 7-аміноцефалоспоринової кислоти (7-АЦК) – структурної основи цефаласпоринових антибіотиків [32].

Рід *Acremonium* містить близько 100 видів, з яких більшість виділенні з рослинного матеріалу або ґрунту.

Гіфи гриба *A. chrysogenum* занурені в субстрат, або розташовані на його поверхні. Від гіфів відходять прямостоячі конідієносці. Ці утворення розгалужуються і формують метули, які в свою чергу утворюють стеригми, на кінцях яких розташовуються конідії (рис. 2.1.).

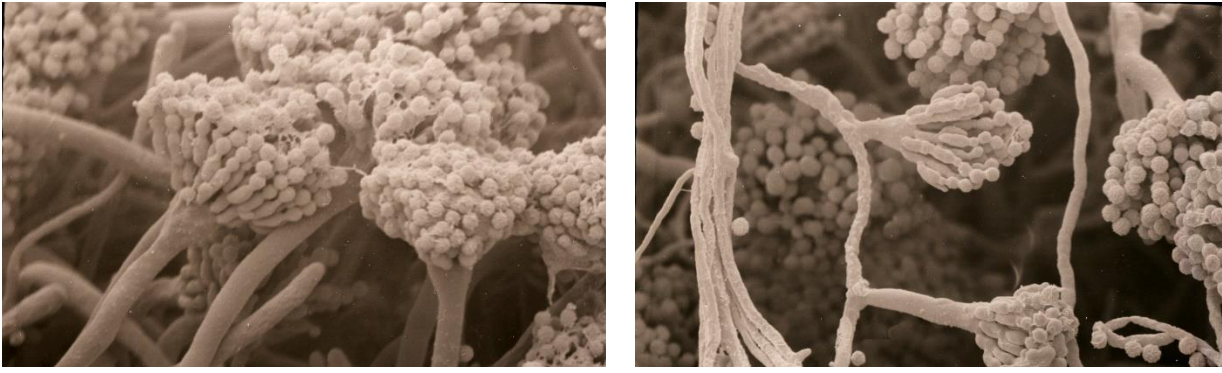


Рис. 2.1. Клітина *A. chrysogenum* у електронному мікроскопі.

РОЗДІЛ 3. Техніко-економічне обґрунтування

3.1. Потреба у цільовому продукті

Множинні та поєднані ушкодження людини в наш час є однією з найактуальніших проблем медицини. Більш того, є вагомим підставою вважати, що дане питання може стати основною проблемою медичної науки у XXI-му столітті. Сполученим травматичним пошкодженням та політравмою притаманні висока шокогенність, коли запускається синдром взаємного обтяження пошкоджень і починається розвиток ранніх інфекційних ускладнень, які в гострому періоді травматичної хвороби призводять до критичного стану і викликають високий ризик смерті постраждалого [1].

До основних видів гнійно-септичних ускладнень відносяться місцеві (локалізуються безпосередньо в зоні травмування), системні (втягують органи, які безпосередньо були травмовані) та генералізовані (сепсис) [2].

Тому, одним із важливих та складних аспектів комплексної терапії травматичної хвороби є попередження та своєчасне лікування інфекцій у зазначених категоріях хворих. Оптимальним є призначення антибіотиків з урахуванням бактеріограми. Проте, не завжди у медичного персоналу є зайвий час для виявлення патогенних мікроорганізмів, адже основним принципом терапії хворих з політравмою є концепція «золотої години», котра наголошує на необхідності відновлення життєво важливих функцій протягом однієї години, в іншому ж випадку в органах і тканинах розвиваються незворотні зміни з ймовірним летальним наслідком [3].

Саме через це, антибіотикотерапія повинна починатися із призначення засобів широкого спектру дії, щоб забезпечити захист від якомога найбільшої кількості штамів мікроорганізмів. Лише з часом можна переходити до режиму монотерапії або поєднання антибактеріальних засобів з різних фармакотерапевтичних груп. При цьому обов'язковим є контроль за лікуванням та об'єктивна оцінка ефективності антибіотикотерапії, що дозволяє

| | | | | | НУХТ БТЕК | | | |
|-----------|------|---------------|--------|------|-----------|-------------|------|--------|
| Змн. | Лист | № докум. | Підпис | Дата | | | | |
| Розроб. | | Волков О.А. | | | Розділ 3 | Літ | Арк. | Акруші |
| Консульт. | | | | | | | | |
| Керівн. | | Удимович В.М. | | | | Кафедра БТМ | | |
| Н. Контр. | | | | | | | | |
| Зав. каф. | | Пирог Т.П. | | | | | | |

зорієнтуватися відносно вибору препарату і рекомендувати його заміну у разі недостатнього терапевтичного ефекту.

Окрім безпосереднього лікування, антибактеріальні лікарські засоби використовують також для проведення антибіотикопротекції. На сьогодні загальноприйнятим методом попередження розвитку ранової інфекції є проведення періопераційної антибіотикопротекції. Доведено, що профілактичне призначення антибіотиків при певних ситуаціях знижує частоту післяопераційних ускладнень з 40-20 % до 5-1,5 % [4].

Для вирішення зазначених питань, а саме: надання медичної допомоги та проведення своєчасної дієвої антибіотикопротекції із залученням протимікробних лікарських засобів, існує величезне різноманіття медикаментів із вказаним механізмом дії. При виборі Требаго препарату фахівець може розгубитися, адже сучасний фармацевтичний ринок України нараховує значний номенклатурний перелік препаратів з протимікробною активністю. Тому проведення маркетинг-аналізу є доцільним.

На сьогоднішній день в Україні зафіксовано часті випадки бактеріальних захворювань таких як: Холера, Черевний тиф, Сальмонельоз, Дизентерія, Бруцельоз, Пращець, Дифтерія, Кашлюк та Сифіліс. Для їх лікування на сьогоднішній день були розроблені антибіотичні препарати різних типів, але ми зараз будемо говорити про переваги цефаласпорину, як пріоритетного препарату для їх лікування.

Спочатку визначимося з тим що за захворювання нам загрожують:

1. Холера - це гостра діарейна інфекція, що виникає при вживанні харчових продуктів або води, заражених бактерією *Vibrio cholerae* O1 або O139. Холера передається фекально-оральним шляхом від людини до людини, частіше при вживанні забрудненої води, овочів, фруктів, при купанні, а також через їжу і при побутових контактах. Без належного лікування може призвести до смерті. Інкубаційний період триває від кількох годин до 5 днів. Хвороба, зазвичай, починається гостро і призводить до різкого зневоднення організму. Джерелом збудника інфекції є людина - хворий або носій вібріонів. Холерний вібріон може зберігати життєздатність у воді протягом тривалого часу, у харчових продуктах при кімнатній температурі протягом 2-5 днів, на поверхні плодів і овочів в умовах сонячного освітлення впродовж 8 годин, при низьких температурах та у морській воді — 2 тижнів і більше, у кишечнику окремих річкових та морських тварин — декількох місяців. Під час кип'ятіння холерний вібріон гине протягом хвилини, є мало стійким до

висушування, до прямого сонячного опромінення, є надзвичайно чутливим до дії звичайних дезінфектантів.

2.Кашлюк – це вкрай заразне захворювання дихальних шляхів, викликане бактерією. Кашлюк легко поширюється від людини до людини, головним чином повітряно-крапельним шляхом при кашлі чи чханні. Багато дітей, які заразилися кашлюком, страждають від нападів кашлю протягом 4-8 тижнів. Найбільш небезпечне це захворювання для немовлят.

.Правець — це захворювання, що передається при контакті зі спорами бактерій *Clostridium tetani*, які живуть у ґрунті та кишковому тракті тварин. Можна інфікуватися правцем при потраплянні бруду у рану або поріз, внаслідок укусів тварин чи травмування гострими предметами, уламками деревини. Від людини до людини це захворювання не передається.

Гострі кишкові інфекції – одні з найпоширеніших інфекційних захворювань, які можуть призвести до серйозних ускладнень, особливо у дітей. Зазвичай, гострі кишкові інфекції викликані бактеріями чи вірусами, які потрапляють в організм людини із зараженою їжею чи водою. Кишкові інфекції передаються через споживання зараженої їжі, вживання зараженої води, під час купання у забруднених водоймах, через брудні руки і предмети побуту. Найчастіше збудники кишкових інфекцій знаходяться у сирій їжі тваринного походження (м'ясо, яйця, непастеризоване молоко, морепродукти), немитих фруктах та овочах. Найпоширеніші симптоми гострих кишкових інфекцій – слабкість, підвищення температури, біль у животі, блювота і діарея. При перших симптомах звертайтеся до лікаря. Щоб вберегти себе від харчових отруєнь і гострих кишкових інфекцій вживайте лише ті продукти, у якості яких ви впевнені, дотримуйтеся 5 кроків до безпечної їжі, купайтеся у безпечній воді.

Бруцельоз — антропозоонозна інфекція, що передається від хворих тварин людині, з переважним ураженням опорно-рухового апарату, нервової та статеві систем організму. Бруцельоз поширений в усьому світі. Летальність для людей не перевищує 2–4%, але хвороба схильна до переходу в хронічну форму і може спричинити довготривалу втрату працездатності та інвалідність.

Дифтерія — це гостре інфекційне захворювання з повітряно-крапельним механізмом передачі, яке характеризується місцевим фібринозним запаленням (переважно слизових

оболонок ротоглотки) та явищами загальної інтоксикації з переважним ураженням серцево-судинної та нервової систем.

*Інфекційна захворюваність населення по Україні
згідно звіту по Ф.№ 1 за січень 2019–2018 рр.
(в абс.чис. та інтенсивних показниках на 100 тис. населення) [5]*

Таблиця 3.1

| №п/п | Найменування захворювань | Зареєстровано | | | | Зростання або зниження в %, р. вип. (+/-) |
|------|--------------------------|----------------|----------|----------------|----------|---|
| | | січень 2019 р. | | січень 2018 р. | | |
| | | абс. чис | інт. пок | абс. чис | інт. пок | |
| 1 | Холера | - | - | - | - | - |
| 2 | Черевний тиф | - | - | - | - | - |
| 3 | Інші сальмон.інф | 286 | 0,68 | 367 | 0,87 | -22,1% |
| 4 | Шигельоз | 34 | 0,08 | 62 | 0,15 | -45,1% |
| 5 | Бруцельоз | - | - | - | - | - |
| 6 | Правець | - | - | - | - | - |
| 7 | Дифтерія | - | - | - | - | - |
| 8 | Кашлюк | 120 | 0,28 | 242 | 0,57 | -50% |
| 9 | Сифіліс | 175 | 0,41 | 218 | 0,51 | -19,7% |
| 10 | Кір | 13760 | 32,59 | 3027 | 7,14 | +4,6р |

Цефаласпорини 3 генерації (цефтазидим) розглядаються як «золотий стандарт» серед даної групи. Активність даної генерації значно вища. Ефективним препаратом для

проведення антибіотикопротекції в цій групі є цефтриаксон. Він має найбільший період напіввиведення з організму, що дозволяє застосовувати його 1 раз на добу. Його застосування є доцільним при забруднених ранах, операціях з ризиком розвитку масивного полімікробного інфікування.

Залежно від спектра антимікробної активності цефаласпорини прийнято розділяти на чотири покоління. Тому на створення актуального отримання антибіотика цефаласпорину використовують новий штам-продуцент антибіотика *Acremonium chrysogenum* ВКМ F-4081D. *Acremonium chrysogenum* ВКМ F-4081D культивують на ферментаційних поживних середовищах, що містить джерела вуглеводів - глюкозу, кукурудзяний крохмаль, декстрин, джерела азоту - кукурудзяний екстракт, сульфат амонія, а також неорганічні солі - фосфорнокислий калій, сірчаноокислий калій, крейда, сірчаноокисла мідь, сірчаноокислий цинк, сірчаноокислий марганець, сірчаноокисле залізо: в якості рослинного жиру - рапсове масло і допоміжно фосфатидилхолін і/або сітостерин. Продуцент сприяє збільшенню рівня антибіотикоутворення в 2 рази, скорочення часу ферментації на 20%. Процес мікробіологічного утворення цефаласпорина С завдяки гриба-продуцента з роду *Acremonium* широко вивченим і задокументовано. Відома здатність різних штамів *Acremonium chrysogenum* к біосинтезу цефаласпорина С. Одним із близьких є штам *Acremonium chrysogenum* 12/9.

Особливості Отримання цефаласпорину завдяки штамів *Acremonium chrysogenum* ВКМ F-4081D, *Acremonium chrysogenum* DSM 6473, *Acremonium chrysogenum* 12/9

Таблиця 3.2

| Біологічний агент | Склад поживного середовища, г/л | Тривалість культивування, год | Концентрація цільового продукту, г/л | Особливості процесу біосинтезу | Література |
|---|--|-------------------------------|--------------------------------------|--|------------|
| <i>Acremonium chrysogenum</i> ВКМ F-4081D | Кукурудзяний крохмал-35, Декстрін-70, Рідкий кукурудзяний екстракт-50, D, L-метионін-6, Сечовина-3, CaCO ₃ -10, (NH ₄) ₂ SO ₄ -13 КН ₂ РО ₃ -9, Соева олія-50, Амілаза- (20000 од/мл) | 190 | 37 | Протягом перших 50 год температура підтримується на 28 С, а рН - 6,2. Температура знижується до 25 °С, а рН до 5,60±0,05 шляхом автоматичного додавання розведеного сумішу НСl | [6] |
| <i>Acremonium chrysogenum</i> DSM 6473 | Середовище №1: зернова суміш (Cornsteep) 11,75 Ацетат аммонія 4,5 Сахароза 20,0 CaSO ₄ ·2H ₂ O 0,5 MgSO ₄ ·7H ₂ O 0,5 Середовище №2: Обезжирена арахісова мука 100, Ацетат аммонія 6,0 Моногидрат глюкози 5,0 Метилолеат 5,0 D, L-метионин 3,0 CaSO ₄ ·2H ₂ O 5,0 MgSO ₄ ·7H ₂ O 5,0 CaCO ₃ 5,0 Антиспениватель 5,0 Исходный раствор: Моногидрат глюкози 500,0 D, L-метионин 24,7 | 142 | 15 | Двостадійний спосіб культивування. Культивування для Отримання цефаласпорину проводять в конічних колбах на 5000 мл. Ферментацію здійснюють при 25°С | [7] |

| | | | | | |
|---------------------------------------|---|-----|------|---|-----|
| <i>Acremonium chrysogenum</i> 12/9 | Середовище №1: Дріжджовий екстракт - 28,0 м'ясний пептон - 10 мальт-екстракт - 28 крейда - 4,0 рапсове масло - 3,0 Середовище №2: Кукурудзяний екстракт - 93,0 Кукурудзяний крохмаль - 32,0 декстрин - 43,0 глюкоза - 4,0 (NH ₄) ₂ SO ₄ - 11,0 MgSO ₄ - 13,5 KН ₂ PO ₄ - 3,5 СаСО ₃ - 4,0 CuSO ₄ ·5H ₂ O - 0,017 ZnSO ₄ ·7H ₂ O - 0,16 MnSO ₄ ·7H ₂ O - 0,03 FeSO ₄ ·7H ₂ O - 0,08 масло рапсове - 3,0 | 115 | 15,5 | Двостадійний спосіб культивування. Середовище №1 використовується для Отримання посівного матеріалу, середовище №2 — для Отримання цефаласпорину. Колба Эрленмейера вмістом 0,75 л, містять 0,04 л посівної середовище. Ферментація проводиться на круговій качалці | [7] |
|---------------------------------------|---|-----|------|---|-----|

Переваги *Acremonium chrysogenum* ВКМ F-4081D є:

1. Новий штам *Acremonium chrysogenum* ВКМ F-4081D з пониженим рівнем утворення міцелію в поверхневих та глибинних умовах росту.
2. Збільшення рівня антибіотикоутворення в порівнянні з іншими при нерегульованому процесі біосинтеза на декілька пунктів, а в умовах регуляції на 40%.
3. Скорочення часу ферментації на 20%.
4. Проміжковий продукт дазацетилцефаласпорин С утворюється в сумі не більше 5%.

3.1 Визначення потреби населення України в цефаласпорині

Цефтриксон є напівсинтетичним антибіотиком III покоління. Наразі є всього IV покоління цефаласпоринових антибіотиків. Тому цефтриксон це новий антибіотик, до якого більшість мікроорганізмів ще не встигла набути резистентності. Широкий антибактеріальний спектр, сприятливі фармакокінетичні властивості, відсутність алергічної реакції цефтриксону зробили його. Одним із найбільш широко використовуваних для лікування інфекцій антибіотиків [8].

Станом на 2019 рік, ми маємо 4884000 хворих по всій країні, для їх лікування треба розрахувати потребу населення України в цефаласпорині.

Згідно інструкції до застосування препарату [9], який випускає підприємство Київмедпрепарат, курс терапії складає 7-14 діб по 1-2 г кожні 24 год. Беремо середнє значення, а саме 10 діб по 1 г кожні 24 год. Отже, в середньому за курс терапії розрахован прийом 10 г препарату. Підрахуємо річні потреби в цефтриаксоні населення України:

$$4884000 \cdot 101000 = 48840 \text{ кг/рік}$$

3.2 Розрахунок потужності виробництва цефаласпорину

Щоб розрахувати потужність виробництва цефтриаксону в Україні, Треба від загальн потреби населення у вакцині відняти постачання готового антибіотика до інших країн, а саме: Індії, Німеччини та Польщі.

Звідси на сьогоднішній день в Україні відсутнє виробництво виробництво власного препарату цефаласпорину. Є потреба у створенні відповідного виробничих ділянок. Тому що, зважаючи на високу захворюваність населення України і дороговартість імпорتنих препаратів для їхнього лікування, раціональним рішенням є побудова власних потужностей для Отримання препаратів цефаласпорину у різних лікарських формах. Будемо уявляти, що Україна надає четверту частину цефтриаксону від усієї потреби, тобто 25 %. Отримаємо Сума препарату, яку Треба виробляти державі, щоб забезпечити своє населення:

$$G_{\text{гп}} = 48840 - (48840 \cdot 0,75) = 12210 \text{ кг/рік}$$

Знаючи синтезувальну здатність продуцента, можемо розрахувати річну Сума культуральної рідини, яку Треба одержати. Штам *A. chrysogenum* ВКМ F-4081D синтезує 37 г антибіотика на 1 л культуральної рідини [36]. Сума культуральної рідини, Требаї для отримання 12210 кг цефтриаксону становить:

$$0,037 \text{ кг антибіотика} - 0,001 \text{ м}^3 \text{ культуральної рідини}$$

$$12210 \text{ кг} - x \text{ м}^3$$

$$x = 12210 \cdot 0,001 / 0,037 \approx 330 \text{ м}^3 \text{ на рік}$$

Беручи до уваги втрати при виділенні та очищенні (10 %) Треба одержати:

$$330 + 33 = 363 \text{ м}^3 \text{ на рік культуральної рідини}$$

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

Для лікування хворого населення України препаратами цефаласпорину Треба одержати 363 м3 культуральної рідини

Розраховуємо Сума культуральної рідини, яку Треба отримати за цикл ферментації і Сума стадій Виготовлення посівного матеріалу.

На протязі календарного року Сума робочих днів становитиме 330 день. Таким чином Сума культуральної рідини на добу становитиме:

$$V_{л} = V_{гп} / T_{гд} = 363 / 330 = 1,1 \text{ м3/добу}$$

Сума культуральної рідини за один цикл ($V_{кр}$) становитиме:

$$V_{цк} = (K1V_{дТцф}) / 24 = (1,21,1200) / 24 = 11 \text{ м3}$$

Цикл уввімкненого ферментера, який включає тривалість виробничого біосинтезу (190 год) та час підготовки ферментера до роботи (10 год). – коефіцієнт запасу, що може враховувати кількість нестерильних операцій (1,2).

Підготовка ферментера підрозуміває: миття та огляд (2 год), перевірка на герметичність (2 год), стерилізація (2 год), охолодження (1 год), загруження середовища (1,5 год), засів (0,5 год), відгруження культуральної рідини (1 год).

За один цикл ферментації потрібно отримати 11 м3 культуральної рідини. Сумуємо геометричний об'єм ферментера:

$$V_{г} = V_{кр} / Кап = 11 / 0,6 = 18,33 \text{ м3}$$

Беремо найближчий за об'ємом стандарт ферментер $V_{сф} = 20 \text{ м3}$, та уточнюємо отриманий раніше коефіцієнт заповнення:

$$Кзф = V_{кр} / V_{сф} = 11 / 20 = 0,55$$

3.4 Розрахунок кількості стадій підготовки посівного матеріалу для біосинтезу цефаласпорину *A.chrysogenum* ВКМ F-4081D.

За один виробничий цикл одержують $V_{кр} = 11 \text{ м3}$ культуральної рідини. При отриманні культуральної рідини треба врахувати її втрати в результаті краплевиносу з колектора відпрацьованого повітря, які становлять 15 %.

Результат поживного середовища та посівного матеріалу перед виробничим біосинтезом становитиме:

$$V_{роб.1} = V_{кр} / (1 - Eф) = 11 / (1 - 0,15) = 12,94 \text{ м3}$$

Виробничий біосинтез роблять у ферментері з робочим об'ємом $V_{роб.1}=12,94\text{м}^3$. З коефіцієнтом заповнення 0,6 підраховуємо можливий геометричний об'єм ферментера, що становить:

$$V_{ф} = V_{роб.1} / K_{зап} = 12,94 / 0,6 = 21,6\text{м}^3$$

Отримуємо найближчий за об'ємом стандартн ферментер $V_{сф}=25\text{м}^3$, та уточнюємо прийнятий раніше коефіцієнт заповнення:

$$K_{зап.1} = V_{роб.1} / V_{сф} = 12,94 / 25 = 0,517$$

Отриманий коефіцієнт заповнення знаходиться у вибраних межах, отже геометричний об'єм ферментера отриманно вірно.

Результат посівного матеріалу для ферментера становить 5 % від об'єму поживного середовища. Тоді Результат поживного середовища в ферментері буде становити:

$$V_{пс1} = V_{роб.1} / (1 + X_{ф}) = 12,94 / (1 + 0,05) = 12,32\text{ м}^3$$

Сума посівного матеріалу дорівнює:

$$V_{пм1} = V_{роб.1} - V_{пс1} = 12,94 - 12,32 = 0,62\text{м}^3$$

Для Отримання 0,62м³ в посівному апараті інокуляту враховуємо втрати в результаті краплевиносу через колектор відпрацьованого повітря, котрі становлять 10 %. Тоді Сума посівного матеріалу та поживного середовища у посівному апараті становитиме:

$$V_{роб.2} = V_{пм1} / (1 - E_{па}) = 0,62 / (1 - 0,1) = 0,69\text{м}^3$$

Сума посівного матеріалу становить 5% від об'єму поживного середовища. Тоді Сума поживного середовища в посівному апараті дорівнює:

$$V_{пс2} = V_{роб.2} / (1 + X_{па}) = 0,69 / (1 + 0,05) = 0,657\text{м}^3$$

Сума посівного матеріалу для посівного апарату становить:

$$V_{пм} = V_{роб.2} - V_{пс2} = 0,69 - 0,657 = 0,033\text{м}^3 \text{ а саме } 33 \text{ л.}$$

Сума інокуляту $V_{роб.2}=0,6\text{ м}^3$ можна одержати під час культивування мікроорганізмів у посівному апараті геометричним об'ємом:

$$V_{па2} = V_{роб.2} / K_{зап} = 0,69 / 0,6 = 1,15\text{м}^3$$

Беремо ближчий за об'ємом стандартний ферментер $V_{сф}=1,25\text{м}^3$, уточнюємо взятий раніше коефіцієнт заповнення:

$$K_{зап.2} = V_{роб.2} / V_{сф} = 0,69 / 1,25 = 0,552$$

Для Отримання 33л в інокуляторі посівного матеріалу, враховуємо втрати в результаті краплевиносу через колектор відпрацьованого повітря, які становлять 10 %. Тоді Сума поживного середовища та посівного матеріалу перед культивуванням в інокуляторі буде:

$$V_{роб.3} = V_{пм2} / (1 - E_{ін}) = 33 / (1 - 0,1) = 36,7 \text{ л.}$$

Сума посівного матеріалу становить 5% від об'єму в малому інокуляторі поживного середовища. Тоді Сума поживного середовища в інокуляторі буде:

$$V_{пс3} = V_{роб.3} / (1 + X_{ін}) = 36,7 / (1 + 0,05) = 35 \text{ л}$$

Сума посівного матеріалу буде:

$$V_{пм3} = V_{роб.3} - V_{пс3} = 36,7 - 35 = 1,7 \text{ л.}$$

Сума інокуляту $V_{роб.3} = 36,7 \text{ л}$ можна отримати під час культивування мікроорганізмів в інокуляторі геометричним об'ємом:

$$V_{ін3} = V_{роб.3} / K_{зап} = 36,7 / 0,65 = 56,5 \text{ л.}$$

Беремо ближчий за об'ємом стандартний ферментер $V_{сф} = 60 \text{ л}$, уточнюємо прийнятий раніше коефіцієнт заповнення:

$$K_{зап3} = V_{роб.3} / V_{сф} = 36,7 / 60 = 0,61$$

Сума для засіву інокуляту в інокулятору $V_{пм3} = 1,7 \text{ л}$ можна отримати культивуванням грибів на качалці в колбах. Для цього користують качалочні колби об'ємом $V_{колб} = 750 \text{ мл}$ та коефіцієнтом заповнення $K_{зк} = 0,2$. Тоді Сума колб для одержання посівного матеріалу становитиме:

$$N_{колб} = V_{пм3} / (V_{колб} \cdot K_{зк}) = 1700 / (750 \cdot 0,2) = 11,3.$$

Таким чином для Отримання посівного матеріалу Треба 12 качалочних колб. Отже, процес Отримання посівного матеріалу для забезпечення виробничого біосинтезу цефаласпорину об'ємом 25 м³ у ферментері з коефіцієнтом заповнення 0,6 буде проходити у чотири етапи (рис.1.1.).

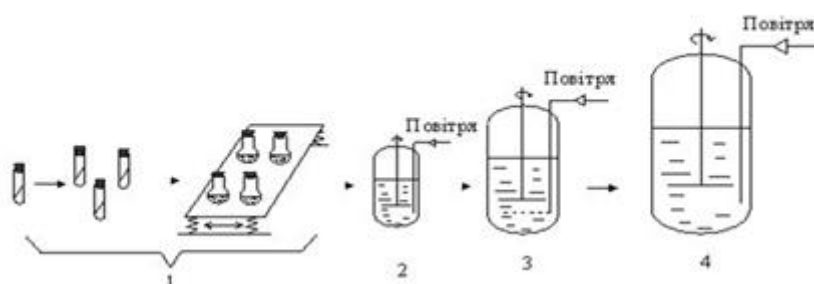


Рис. 4.1. Схема Виготовлення посівного матеріалу:

- 1 – вирощування в лабораторії
- 2 – вирощування в інокуляторі об'ємом 60 л
- 3 – вирощування в посівному апараті об'ємом 1,25 м³
- 4 – вирощування в ферментері об'ємом 25 м³

Розділ 4. Обґрунтування вибору технологічної схеми

4.1. Обґрунтування доферментаційних процесів та виробничого біосинтезу

Перед тим як обирати ферментер для промислового Отримання цефаласпорину С завдяки міцеліальних грибів *Acremonium chrysogenum* M104, Треба знати, які умови проведення процесу він повинен забезпечувати. Ці умови перед усім залежать от способу культивування і фізіолого-біохімічних особливостей продуцента.

1. Міцеліальні гриби роду *Acremonium* є мезофільними мікроорганізмами, для них оптимальна температура росту становить 28°C, а оптимальне значення рН – 6,8 - 7,2, В цей час культивування продуцента є ризик контамінації сторонніми мезофільними та нейтрофільними мікроорганізмами. Саме це зумовлює необхідність забезпечення асептичних умов під час біосинтезу, саме: стерилізація обладнання і комунікацій, поживного середовища, аераційного повітря, піногасників.

2. Культивування продуценту проводимо глибинним методом, котрий має ряд переваг, порівняно з поверхневим культивуванням. Перше, обраний метод є економічно вигіднішим, так при цьому скорочується термін ферментації і збільшується Сума одержуваного продукту. Друге, при поверхневому культивуванні, та на відміну від глибинного, не можна досягти повної стерильності. Третє, при глибинному культивуванні легко виділити та очистити цільовий продукт.

3. Звідси міцеліальні гриби роду *Acremonium* є аеробами, в глибинних шарах рідкої культури Потребна додаткова аерація, так як гриби використовують тільки сумішений кисень. кінцеве накопичення цільового продукту відбувається при інтенсивності аерації, близької до одиниці.

| Змн. | Лист | № докум. | Підпис | Дата | НУХТ БТЕК | | | |
|-----------|------|---------------|--------|------|-----------|-------------|------|--------|
| Розроб. | | Волков О.А. | | | Розділ 4 | Літ | Арк. | Акруші |
| Консульт. | | | | | | | | |
| Керівн. | | Удимович В.М. | | | | Кафедра БТМ | | |
| Н. Контр. | | | | | | 31 | | |
| Зав. каф. | | Пирог Т.П. | | | | | | |

4. Антибіотики є вторичними метаболітами, а отже їх кінцева концентрація накопичення спостерігається на стаціонарній фазі культивування. Звідси при безперервному культивуванні отримати стаціонарної фази неможливо, для вирощування культури мікроорганізму обираємо періодичне культивування.

Звідси, культивування процудента цефаласпорину *C Acremonium chrysogenum* проводять в умовах глибинного, періодичного культивування та з постійною аерацією.

4.2 Обґрунтування способу культивування і типу ферментера

Треба підрахувати оптимальну площу виробничих приміщень з урахуванням кількості та габаритних розмірів ферментаційного обладнання. Так визначимо обладнання для кожного з виробничих приміщень:

1. Приміщення А: збірник для соєвої олії та ферментер.
2. Приміщення Б: збірник для виготовлення середовища перед УБС, УБС, збірники для виготовлення та стерилізації композиції Б для виробничого біосинтезу, збірники для виготовлення і стерилізації поживного середовища для вирощування посівного матеріалу у посівному апараті і інокуляторі.
3. Приміщення В: інокулятор і посівний апарат.
4. Приміщення Л: лабораторія з боксом і автоклавом.
5. Приміщення К: качалки

Підрахуємо оптимальні площі приміщень, враховуючи, що відстань між ферментером і стінами та стелею повинна бути не менше ніж 1 м; висота кришки ферментера становить приблизно 0,7 м; радіус майданчику обслуговування кришки ферментера – 0,5 м; ширина сорочки ферментера – 0,2 м, а також те, що сам ферментер знаходиться на підставці, висотою близько 1 м.

1) Приміщення А

В приміщенні встановлені:

- ✓ Ферментер об'ємом 25 м^3 ($d_{\text{ф}}=2,8 \text{ м}$)
- ✓ Збірник об'ємом 1 м^3 ($d_{36}=1,2 \text{ м}$)

Внутрішній діаметр ферментера становить 2,8 м, знаючи це можемо знайти висоту ферментера:

$$V_{\text{ф}} = \pi \cdot r^2 \cdot h \Rightarrow h = \frac{V_{\text{ф}}}{\pi \cdot r^2} = \frac{25}{3,14 \cdot 1,4^2} = 4 \text{ м}$$

Беремо висоти стін 6 м, вважаючи на додаткову висоту, що займає висота кришки ферментера і відстань між ферментом та стелею.

Довжина однієї стіни приміщення:

$$l_{\text{ст1}} = d_{\phi} + d_{\text{зб}} + l_{\text{мз}} + 2 \cdot l_{\text{дс}} = 2,8 + 1,2 + 1 + 2 \cdot 1,5 = 8 \text{ м}$$

Довжина другої стіни приміщення:

$$l_{\text{ст2}} = 2 \cdot l_{\text{дс}} + d_{\phi} = 2 \cdot 1,5 + 2,8 = 5,8 \text{ м}$$

де, $l_{\text{дс}}$ – відстань від ферментера до стіни, $l_{\text{мз}}$ – відстань між збірником та ферментом.

Площа підлоги приміщення:

$$S_{\text{пА}} = l_{\text{ст1}} \cdot l_{\text{ст2}} = 8 \cdot 5,8 = 46 \text{ м}^2$$

Загальна площа стін:

$$S_{\text{стА}} = 2 \cdot (l_{\text{ст1}} \cdot h) + 2 \cdot (l_{\text{ст2}} \cdot h) = 2 \cdot (8 \cdot 6) + 2 \cdot (5,8 \cdot 6) = 96 + 69,6 = 167 \text{ м}^2$$

Площа поверхні стін, яку обробляють мийними засобами:

$$S_{\text{стА}} = 2 \cdot (l_{\text{ст1}} \cdot h_{\text{м}}) + 2 \cdot (l_{\text{ст2}} \cdot h_{\text{м}}) = 2 \cdot (8 \cdot 2,5) + 2 \cdot (5,8 \cdot 2,5) = 40 + 29 = 69 \text{ м}^2$$

де, $h_{\text{м}}$ – висота миття поверхні стін, $h_{\text{м}} = 2,5 \text{ м}$

2) Приміщення Б

В приміщенні встановлені:

- ✓ УБС
- ✓ збірник для виготовлення середовища перед УБС об'ємом $12,5 \text{ м}^3$ ($d_{\text{зб1}} = 2,4 \text{ м}$)
- ✓ Збірники для виготовлення та стерилізації композиції Б для виробничого біосинтезу ($d_{\text{зб2}} = 1 \text{ м}$)
- ✓ Збірники для виготовлення та стерилізації поживного середовища для вирощування посівного матеріалу в посівному апараті та інокуляторі:
 - $0,63 \text{ м}^3$ ($d_{\text{зб}} = 0,8 \text{ м}$)
 - $0,1 \text{ м}^3$ ($d_{\text{зб}} = 0,5 \text{ м}$)
 - $0,04 \text{ м}^3$ ($d_{\text{зб}} = 0,4 \text{ м}$)

Внутрішній діаметр збірника для виготовлення середовища перед УБС становить 2,4 м, знаючи це можемо знайти його висоту:

$$V_{\text{зб1}} = \pi \cdot r^2 \cdot h \Rightarrow h = \frac{V_{\text{зб1}}}{\pi \cdot r^2} = \frac{12,5}{3,14 \cdot 1,2^2} = 2,7 \text{ м}$$

Отже, висоту стін приміщення беремо 4 м. Площу, яку займає УБС беремо як площу двох збірників об'ємом $12,5 \text{ м}^3$.

Довжина однієї стіни приміщення:

$$l_{\text{ст1}} = 2 \cdot l_{\text{дс}} + d_{\text{зб1}} + l_{\text{мз}} + l_{\text{убс}} = 2 \cdot 1,5 + 2,4 + 1 + 4,8 = 11,2 \text{ м}$$

де, $l_{\text{мз}}$ – відстань між збірником та УБС, $l_{\text{дс}}$ – відстань від збірника до стіни.

Довжина другої стіни приміщення:

$$l_{\text{ст2}} = 2 \cdot l_{\text{дс}} + d_{\text{зб1}} + 2 \cdot (l_{\text{мз}} + d_{\text{зб2}}) = 2 \cdot 1,5 + 2,4 + 2 \cdot (1 + 1) = 9,4 \text{ м}$$

Площа підлоги приміщення:

$$S_{\text{пБ}} = l_{\text{ст1}} \cdot l_{\text{ст2}} = 11,2 \cdot 9,4 = 105 \text{ м}^2$$

Загальна площа стін:

$$S_{\text{стБ}} = 2 \cdot (l_{\text{ст1}} \cdot h) + 2 \cdot (l_{\text{ст2}} \cdot h) = 2 \cdot (11,2 \cdot 4) + 2 \cdot (9,4 \cdot 4) = 89,6 + 75,2 = 165 \text{ м}^2$$

Площа поверхні стін, яку обробляють мийними засобами:

$$\begin{aligned} S_{\text{стБ}} &= 2 \cdot (l_{\text{ст1}} \cdot h_{\text{м}}) + 2 \cdot (l_{\text{ст2}} \cdot h_{\text{м}}) = 2 \cdot (11,2 \cdot 2,5) + 2 \cdot (9,4 \cdot 2,5) = 56 + 47 \\ &= 103 \text{ м}^2 \end{aligned}$$

де, $h_{\text{м}}$ – висота миття поверхні стін, $h_{\text{м}} = 2,5 \text{ м}$

3) Приміщення В

✓ Посівний апарат об'ємом $1,25 \text{ м}^3$ ($d_{\text{зб}} = 1,2 \text{ м}$)

✓ Інокулятор об'ємом 60 л ($d_{\text{зб}} = 0,4 \text{ м}$)

Висота посівного апарату становить:

$$V_{\text{па}} = \pi \cdot r^2 \cdot h \Rightarrow h = \frac{V_{\text{па}}}{\pi \cdot r^2} = \frac{1,25}{3,14 \cdot 0,6^2} = 1,1 \text{ м}$$

Висоту стін приміщення Беремо $2,5 \text{ м}$.

Довжина однієї стіни приміщення:

$$l_{\text{ст1}} = 2 \cdot l_{\text{дс}} + d_{\text{па}} + l_{\text{мз}} + d_{\text{ін}} = 2 \cdot 1,5 + 1,2 + 1 + 0,4 = 5,6 \text{ м}$$

де, $l_{\text{мз}}$ – відстань між посівним апаратом та інокулятором, $l_{\text{дс}}$ – відстань від посівного апарата до стіни та від інокулятора до стіни.

Довжина другої стіни приміщення:

$$l_{\text{ст2}} = 2 \cdot l_{\text{дс}} + d_{\text{па}} = 2 \cdot 1,5 + 1,2 = 4,2 \text{ м}$$

Площа підлоги приміщення:

$$S_{\text{пБ}} = l_{\text{ст1}} \cdot l_{\text{ст2}} = 5,6 \cdot 4,2 = 24 \text{ м}^2$$

Загальна площа стін:

$$S_{\text{стБ}} = 2 \cdot (l_{\text{ст1}} \cdot h) + 2 \cdot (l_{\text{ст2}} \cdot h) = 2 \cdot (5,6 \cdot 2,5) + 2 \cdot (4,2 \cdot 2,5) = 28 + 21 = 49 \text{ м}^2$$

Враховуючи те, що висота стін приміщення В – $2,5 \text{ м}$, площа поверхні стін, яку обробляють мийними засобами відповідає загальній площі стін.

4) Приміщення Л

Беремо, що довжина лабораторії становить 5 м, а ширина – 4 м. Тоді, площа підлоги лабораторії становить:

$$S_{\text{пл}} = l_{\text{ст1}} \cdot l_{\text{ст2}} = 4 \cdot 5 = 20 \text{ м}^2$$

Загальна площа стін лабораторії:

$$S_{\text{стЛ}} = 2 \cdot (l_{\text{ст1}} \cdot h) + 2 \cdot (l_{\text{ст2}} \cdot h) = 2 \cdot (5 \cdot 2,5) + 2 \cdot (4 \cdot 2,5) = 25 + 20 = 45 \text{ м}^2$$

Площа поверхні стін, яку обробляють мийними засобами відповідає загальній площі стін.

5) Приміщення К

Беремо, що довжина та ширина кімнати, в якій встановлені качалки становлять 3 м. Тоді, площа підлоги лабораторії становить:

$$S_{\text{пК}} = l_{\text{ст1}} \cdot l_{\text{ст2}} = 3 \cdot 3 = 9 \text{ м}^2$$

Загальна площа стін кімнати з качалками:

$$S_{\text{стК}} = 2 \cdot (l_{\text{ст1}} \cdot h) + 2 \cdot (l_{\text{ст2}} \cdot h) = 2 \cdot (3 \cdot 2,5) + 2 \cdot (3 \cdot 2,5) = 15 + 15 = 30 \text{ м}^2$$

Площа поверхні стін, яку обробляють мийними засобами відповідає загальній площі стін.

Відповідно розрахункам, наведених вище, загальний об'єм збірників і апаратів для вирощування посівного матеріалу та виробничого біосинтезу, становить 43 м^3 . Сума виробничих циклів синтезу антибіотика становить 5. Звідси миття обладнання відбувається після кожного циклу, Сума процесів миття та/або дезинфекції за весь період виробництва Беремо 5. Тоді загальна площа миття становитиме:

$$43 \cdot 5 = 215 \text{ м}^3$$

4.3 Обґрунтування стадій підготовки аераційного повітря для культивування

A.chrysogenum НС-3.

A. chrysogenum НС-3 є строгим аеробним засобом, тому підготовка стерильного аеріруемого повітря для вирощування бактерій є обов'язковою.

Для стерилізації повітря з належними характеристиками використовуються два методи: знищення мікрофлори нагріванням або іонізуючим випромінюванням, наприклад, ультрафіолетовим випромінюванням, і видалення його фільтрацією.

Ультрафіолетові лампи використовуються для стерилізації повітря в ящиках в лабораторіях, де вони працюють з культурами та інокуляти.

У промислових умовах використовують в основному метод фільтрації. Для попередньої стерилізації використовують глибокі (набивні) фільтри на основі волокнистих матеріалів. Окремі фільтри встановлюються для остаточної стерилізації перед входом в ферментер, сівалку або інокулят.

Основні фільтри заповнені набивним волокном і встановлені в бродильном цеху на головному повітрозбірнику стисненого аераційного повітря. Приблизно 98% мікроорганізмів видаляються на цих фільтрах, і до 99,999% мікроорганізмів зберігаються на окремих фільтрах, які заповнені ультратонкими мембранами або волокнами [43].

4.4 Вибір миючих і дезінфікуючих засобів

Пол слід мити і дезінфікувати щодня (за кількістю робочих днів - 42 рази), а стіни, двері та вікна - один раз на місяць, ми беремо 2 рази. Чистота повітря в приміщеннях повинна відповідати встановленим нормам, тому ми вибираємо періодичність включення стельових бактерицидних ламп - 1 година після кожної загального прибирання і 0,5 години кожного робочого дня.

Узагальнені дані по розрахунку площі мийки та / або дезінфекції наведені в табл. 4.1.

Таблиця 4.1

Розрахунок загальної площі миття та/або дезінфекції оброблюваного об'єкту за весь період виробництва антибіотика цефтриаксону

| Об'єкт миття та/або дезінфекції | Площа (об'єм) оброблюваного об'єкту, м ² (л) | Сума 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, інвентар, комунікації | 43000 л | 5 | 215000 л |
| Підлога | 204 | 42 | 8568 |
| Стіни, двері, вікна | 296 | 2 | 592 |

Щоб вибрати миючі та дезінфікуючі засоби, необхідно враховувати їх вартість і вартість обробки необхідної площі виробничого приміщення. Приблизно 100 мл

робочої суміші миючого або дезінфікуючого засобу використовується на 1 м² (відповідно до методичних рекомендацій з підготовки виробничих потужностей, наказом Міністерства охорони здоров'я України від 14.12.2001 №502).

Вартість концентратів миючих і дезінфікуючих засобів та витрати на їх виробництво приведені в табл. 5.2.

Проаналізувавши дані в табл. 5.2 можна зробити наступні висновки:

- для миття обладнання, інвентарю, засобів зв'язку і контейнерів рекомендується використовувати їдкий натр, тому після прання він не залишає мильних плівок на поверхні обладнання, на відміну від більшості миючих засобів;

- для миття та дезінфекції стін, підлог, вікон і дверей доцільно використовувати раз в тиждень Гембар - миючий засіб з пролонгованим дією (тоді кількість робочої суміші за весь період виробництва складе 130 літрів), для щоденного прибирання вибирайте два миючі засоби - хлорамін (хлорсодержащий) і делаксон (тип пероксиду), які будуть використовуватися поперемінно (після одного циклу) для запобігання появи стійких форм мікроорганізмів.

Миття ферментера (25 м³), посівного апарату (1,25 м³), інокулятора (60 л), збірників для виготовлення та стерилізації композицій (загалом 43 м³) відбуватиметься завдяки СІР-мийки. Об'єм мийного засобу складатиме 30 % від об'єму апарата. Таким чином, для одного циклу Треба витратити близько 12 900 л робочого сумішу мийно-дезінфікувального засобу, а для всього періоду виробництва – 64 500 л.

4.5 Обґрунтування стадій виділення і очищення цільового продукту

Найважливішим етапом після ферментації антибіотиків є їх виділення і очищення з культуральної рідини. У культуральної рідини поряд з антибіотичним речовиною, як правило, міститься величезна Сума сторонніх домішок, дуже часто близьких за своїми хімічним і фізико-хімічними властивостями до антибіотика. домішки, супутні антибіотичні речовини, являють собою речовини мінерального або органічного характеру, є або продуктами біосинтезу, або компонентами живильного середовища, а також речовинами, додаються в культуральну рідину для її попередньої обробки. Концентрація цих речовин часто досягає декількох відсотків і перевищує концентрацію антибіотиків в десятки і сотні, а іноді і тисячі разів.

Процес виділення і очищення антибіотиків являє собою складний технологічний процес. Мала стабільність багатьох антибіотиків і можливість втрати їх активності при

хімічних перетвореннях привели до переважного використання для виділення і очищення антибіотиків фізико-хімічних прийомів поділу речовин, включаючи сорбцію, екстракцію та кристалізацію, тобто таких процесів, які не супроводжувалися різким хімічним впливом на молекулу антибіотика. Для поділу, виділення і очищення антибіотиків застосовуються як рівноважні, так і кінетичні методи. Однак для виробничих задач рівноважні методи виявилися більш економічно вигідними і ефективними. Найбільше значення придбали тут сорбційні і екстракційні методи. Рівноважні методи можуть бути одностадійна і багатостадійними. При промисловому застосуванні, а також при вивченні властивостей антибіотиків мають велике значення багатостадійні процеси, що дозволяють значно поліпшувати ступінь чистоти виділяється препарату.

Флокуляція - вид коагуляції, при якій укрупнені частки дисперсної фази є великі пухкі пухкі агрегати - флокули здатні до швидкого осідання або спливання. Як флокулянтів часто застосовують синтетичні полімерні матеріали, зокрема поліакриламід. Макромолекули полімерів одночасно адсорбуються на декількох дисперсних частинках з утворенням сполучних містків між частинками дисперсної фази, як би склеюють ці частинки в більші агрегати. З неорганічних флокулянтів застосовують активну кремнієву кислоту. Мостіковий механізм і обумовлена розмірами макромолекул флокулянтів більша рихлість агрегатів, що утворюються відрізняють флокуляцію від звичайної коагуляції, при якій відбувається безпосередня агрегація частинок. При очищенні природних вод високомолекулярні флокулянти часто використовують спільно з коагулянтами: флокулянти «зшивають» мікрохлопья, що виникли в результаті введення коагулянтів. При цьому мікрохлопья об'єднуються у великі агрегати, седиментація яких протікає значно швидше.

Коагуляційні структури утворюються при втраті дисперсної системою агрегативної стійкості, при достатньому вмісті дисперсної фази забезпечується армування всього обсягу дисперсної системи. Головний зміст колоїдно-дисперсної фази, здатне «отверждающей» рідку дисперсне середовище, може бути дуже малим (особливо в разі різко анізотричних частинок), наприклад всього лише кілька відсотків по масі для бентонітових глин, і ще значно менше для ниткоподібних частинок.

Характерною властивістю коагуляційних структур поряд з відносно невисокою міцністю є їх оборотність по відношенню до механічних впливів - здатність до

мимовільного відновлення після механічних руйнувань (в рухомий дисперсному середовищі); це властивість називають тиксотропией. Коагуляційні дисперсні структури утворюються пігментами і наповнювачами лаків, фарб, полімерів. Характерний приклад тиксотропних структур - це просторові сітки, що виникають в дисперсіях глини при їх коагуляції під дією електролітів.

Теорія коагуляції (М. Смолуховський) розвинена на основі наступних уявлень: частинки дисперсної фази здійснюють незалежну один від одного броунівський рух до тих пір, поки при зближенні двох частинок відстань між їх центрами не робиться рівним так званому радіусу сфери впливу d . Ця величина приблизно дорівнює сумі радіусів частинок, що відповідає їх безпосередньому контакту. На цій відстані з'являються (відразу, стрибком!) Сили взаємодії між частинками, в результаті чого створюється можливість їх агрегування. В результаті коагуляції відбувається взаємодія тільки двох частинок, так як ймовірність зіткнення більшого числа частинок дуже мала. Таким чином, стикаються поодинокі частинки, утворюючи подвійні, поодинокі з подвійними, подвійні один з одним, потрійні з поодинокими і т. Д. Таке уявлення процесу коагуляції дозволяє формально звести його до теорії молекулярних хімічних реакцій.

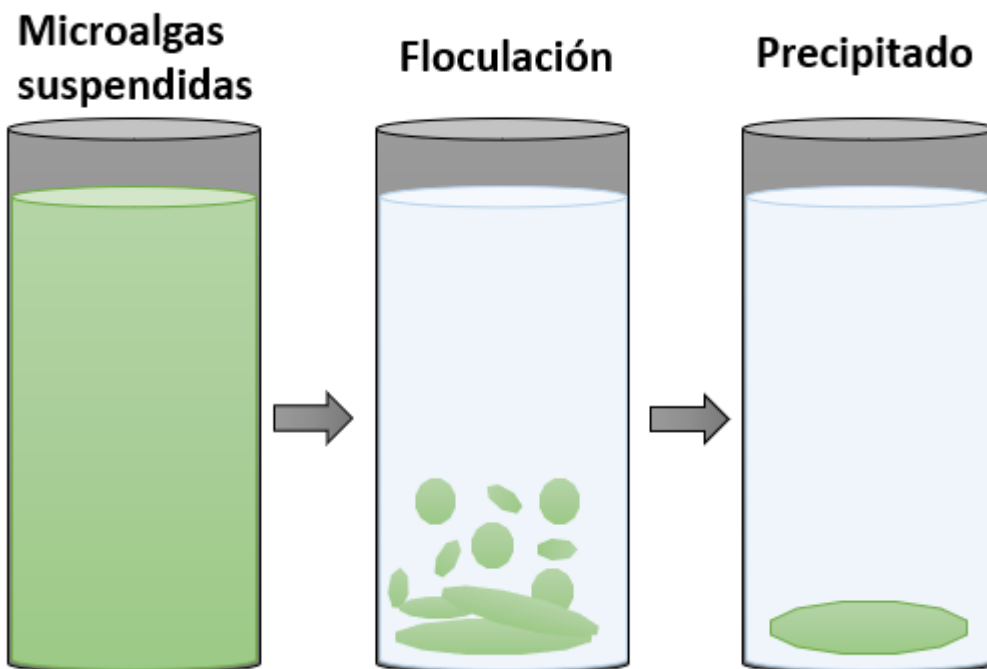


Рис. 1

1.1.1 Вибір способу відокремлення біомаси та відповідного обладнання

Першим етапом виділення цефаласпорину є відділення клітин продуцента *Cephalosporium Acremonium* від культуральної рідини та отримання супернатанту, що містить цефаласпорин. Попередня обробка культуральної рідини і видалення міцеліальної маси є першою стадією перед виділенням і очищенням. Власне, вже на цій стадії починається часткове очищення культуральної рідини від домішок. Залежно від властивостей антибіотика і методів його виділення і очищення вибирається спосіб попередньої обробки культуральної рідини. Основним завданням попередньої обробки культуральної рідини є отримання нативного сумішу (а в разі знаходження антибіотика в міцелії - міцеліальної маси) з найбільшим ступенем чистоти, з найменшими втратами, що дозволяють забезпечити успішне проведення подальших операцій виділення і хімічного очищення антибіотика. Більшість антибіотиків виділяються і очищаються з нативного сумішу трьома методами: 1) екстракційним, 2) іонообмінним, 3) осадженням несумішного з'єднання. При екстракційному методі вилучення антибіотиків з рідини (пеніцилін, еритроміцин, новобиоцин, цефаласпорин) нативний суміш при попередній обробці повинен бути максимально звільнений від домішок, здатних утворювати стійкі емульсії з органічним сумішником. Білкові домішки, як правило, викликають утворення стійких емульсій, видаляються або разом з міцелієм завдяки різним хімічним способам або нагріванням рідини, або тим і іншим разом. Якщо міцеліальна маса видаляється легко без попередньої обробки, то до нативному сумішу додають деземульгатори, утримують білкові речовини в сумішеному стані в умовах екстракції. Однією з основних завдань попередньої обробки культуральної рідини є коагуляція часток, що знаходяться в підвішеному стані. Особливо важливість цього завдання проявляється при коагуляції і фільтрації культуральної рідини актиномицетного походження або бактеріального. Відділення міцеліальної маси від нативного сумішу в більшості випадків пов'язано зі значними труднощами. Це пояснюється специфікою осаду, який зазвичай має аморфний, слизовий, неструктурний характер і швидко забиває пори фільтруючого матеріалу. Великий вплив на процес фільтрації надають якість сировини і сировинний склад живильного середовища. Наприклад, застосування соєвої муки, макухи у складі середовища погіршує фільтрацію рідини. Застосування гідролу замість глюкози як джерела вуглеводу знижує швидкість фільтрації (виробництво стрептоміцину). Неповне споживання поживних речовин, застосування жирних піногасників на останніх етапах ферментації також призводять до погіршення

фільтрації. Для поліпшення процесу фільтрації дуже важливо вчасно припинити процес ферментації. Припинити ферментацію бажано при повному споживанні вуглеводів, але до настання руйнування мікробної клітини, так як процес фільтрації автолізуваної культури зазвичай йде погано. Крім того, збільшення тривалості ферментації погіршує якість нативного сумішу, збільшує його пігментацію, вміст білкових домішок.

Фільтрування. У промислових масштабах використовується для відокремлення біомаси міцеліальних грибів, актиноміцетів (продуцентів антибіотиків) та бактерій (продуцентів ферментних препаратів). Середня швидкість фільтрування культуральних рідин лежить в межах 0,01...2 (в середньому 0,05) м³/(м²·год). У більшості випадків в процесі утворюються студенисті пластівці або дрібнозернисті осади з великим питомим опором фільтруванню.

Для збільшення швидкості фільтрування культуральну рідину (КР) попередньо обробляють, якщо це не викликає небажаних хімічних змін цільових речовин, і використовують допоміжні фільтрувальні матеріали (фільтрувальні порошки для фільтрування через наливний шар порошку). Частки порошку (кізельгур, перліт, діатоміт) мають розміри більше клітин мікроорганізмів, але після «наливання» створюють об'ємний шар із системою пор. Суспензія, проходячи через цей шар, залишає біомасу на частках порошку.

Статичні нутч-фільтри доцільніше використовувати для виділення невеликих кількостей напівпродуктів у маломасштабних виробництвах. Закриті механізовані нутч-фільтри застосовують і для очисного фільтрування, і для виділення продуктів. Статичні друк-фільтри доцільніше використовувати для очисного фільтрування рідких продуктів (у т.ч., сумішів) від домішок і відпрацьованих сорбентів за об'ємної частки осаду до (2...3) %. Для виділення продуктів вони ефективно застосовуються у маломасштабних виробництвах, звідси їх експлуатація вимагає, як правило, кожносерійної заміни фільтруючої перегородки (трудомістка ручна робота). Механізовані друк-фільтри застосовують і для очисного фільтрування й для виділення продуктів. Через можливість багаторазового промивання в режимі репульпування осаду, механізації процедур вивантаження продукту, автоматизації керування процесом і відповідності GMP – ці фільтри в багатьох випадках не поступаються і навіть часом перевершують центрифуги за технологічною ефективністю. За умови організації безперервних процесів варто використати батареї з 2...4 працюючих циклічно друк-фільтрів.

Коагульований міцелій відділяють сепарацією або фільтрацією (частіш за все у вакуум-фільтрах циліндричного типу). Процес фільтрування здійснюється за Наступний схемою. Пульпу подаються у ванну фільтра, де гребками частинки твердого підтримуються в зависли стані. У зоні А секторі барабана знаходяться під розрідженням, тому на поверхні фільтротканіні відкладається куля облогу. Вода проходить через пори фільтротканіні и потрапляє під внутрішню порожніну барабана, звідки відводиться через розподільну головку. Зона Б - зона підсушування облогу. Під дією вакууму через облог просочується Повітря, вітісняючи волога, что міститься в порах. Зона В - зона віддувкі облогу. Сектору, що знаходяться в Цій зоні, підключаються до магістралі стиснутого Повітря, Пожалуйста віддуває облог з поверхні фільтротканіні. У зоні Г відбувається регенерація фільтрувальної тканини. Пори тканини очищують від частінок твердого с помощью подачі води або стисненого Повітря.

Процес Утворення облогу на поверхні барабана відбувається в складних умовах, что змінюються. Незважаючи на наявність працюючої мішалкі, у ванні фільтра спостерігається розшарування суспензії за крупністю. Встановлен, что у верхніх шарах суспензії у ванні знаходиться около 7-10% крупних частінок, в Середніх - 30-40% и в нижніх - 50-58%. Тому при зануренні в суспензію фільтрувальної поверхні на ній в Першу Черга утворюється шар облогу, что складається з найтонших частінок. Ці частинки забивають пори тканини и збільшують Опір руху Рідини. Надалі, у міру Обертаном барабана, утворюється шар з більш великих часток, что знаходяться в Нижній часті ванни. При виході фільтрувальної поверхні з суспензії знову формується куля облогу з найтонших частінок. Облог такой Структури має підвищену вологість и

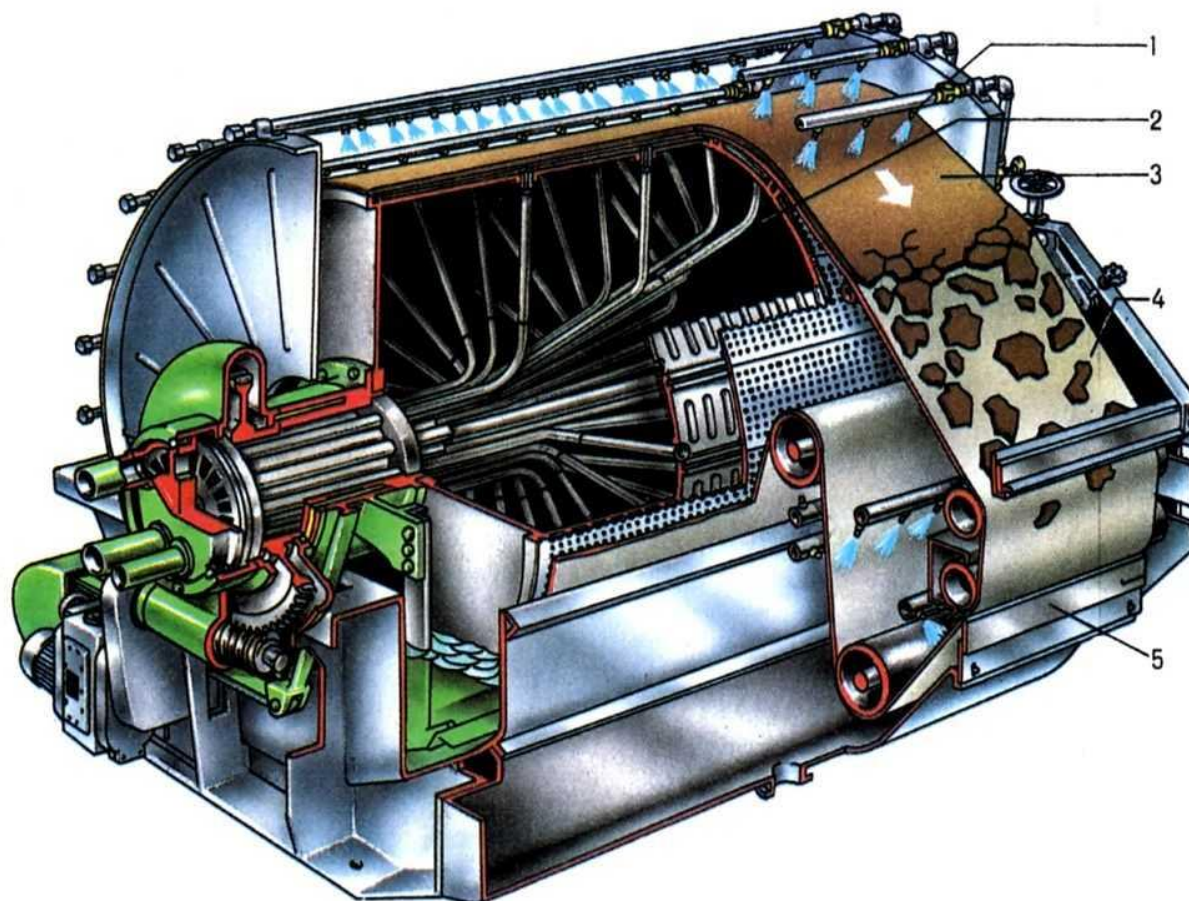


Рис. 2

1.1.2. Обґрунтування вибору способу дезінтеграції клітин

Широко застосовуються сорбційні методи виділення й очищення антибіотиків. У якості сорбентів широко використовуються синтетичні йонообмінні смоли. Для коагуляції культуральні рідини антибіотиків спеціально обробляються. Залежно від властивості антибіотика, походження міцеліальної маси і методу виділення та очищення антибіотика культуральна рідина для поліпшення фільтрації обробляється: 1) кислотної коагуляцією; 2) введенням в рідину електролітів; 3) теплової коагуляцією; 4) застосуванням наповнювачів; 5) освітою наповнювача безпосередньо в рідині. Іноді використовується поєднання двох методів. Кислотна і тепла коагуляція використовується в тому випадку, якщо антибіотики стійкі при зміні рН сумішу і температури. Нагрівання рідини збільшує швидкість фільтрації внаслідок згортання і коагуляції білків при високій температурі, а також завдяки значному зменшенню в'язкості фільтрату. З іншого боку, тепла коагуляція збільшує пігментацію нативного сумішу і тим самим може погіршити якість готового продукту.

Після відділення міцелію в фільтраті міститься 3 – 6 % сухих речовин, із яких 30 – 40 % складають мінеральні речовини, а 15 – 30 % цефаласпорин. Вміст редуруючих речовин за Бертраном в нативному суміші зазвичай складає 0,1 – 0,4 %. Крім того, в ньому міститься 50 – 200 мг/100 г, а іноді навіть до 700 мг білку на 100 г сумішу, що дуже ускладнює виділення цефаласпорину. Білкові домішки видаляють, використовуючи різні методи попередньої обробки, наприклад, осадження солями полівалентних металів (Al, Fe, Zn), коагуляція таніном або високою температурою (60 – 70 °C) за рН середовища 5,5 – 6,0. В цих процесах втрати цефаласпорину становлять 5 – 15 %. Після цього цефаласпорин екстрагують органічними сумішниками (бутилацетат, амілацетат), які не змішуються із водою. На даному етапі важливо витримати рН середовища в межах 1,9 – 2,0. В результаті екстрагування чистота продукту збільшується в 4 – 6 рази. Потім цефаласпорин із бутилацетатного екстракту завдяки сумішу дикарбонату натрію (рН середовища 6,6 – 7,2) сумішують у воді, отримуючи суміш із 5 – 7 % вмістом сухих речовин і активністю 30000 – 50000 од./мл. Для очищення цефаласпорину його знову екстрагують органічним сумішником (бутилацетатом). Під час екстрагування співвідношення фаз 1:0,5 – 1:1, активність екстракту 50000 – 70000 од./мл. Вихід цефаласпорину складає приблизно 86 % від його кількості в культуральній рідині.

1.1.4. Вибір способу сушіння та сушарки

Після виділення й хімічного очищення антибіотика його Треба висушити, тобто вилучити із препарату вільну і зв'язану воду. Звідси більшість антибіотиків тією чи іншою мірою термолабільні, для їхнього висушування застосовують методи, що не приводять до втрати біологічної активності та хімічної структури препарату. На сучасному етапі промислового Отримання антибіотиків використовують наступні методи зневоднювання.

Висушування із застосуванням розпилювальної сушарки – прогресивний метод при роботі з великими кількостями антибіотика. Суміш антибіотика пневматично розпилюється у камері з протитоком нагрітого повітря. Процес висушування антибіотиків триває кілька секунд, при цьому навіть термолабільні препарати не змінюють свої властивості.

Розпилювальна сушка. Сушка розпиленням є Одним ізнайбільш сучасних і перспективних методів зневоднення лікарських сумішей термолабільної природи і

харчових продуктів (молока, яєць). В принципі метод сушіння полягає в тому, що висушуваний суміш розпорошується завдяки форсунок, струменя стиснутого повітря або швидко обертового диска до частинок розміром 5-25 мк в струмі протікає через сушильну камеру нагрітого до температури близько 160 ° С повітря. Величина поверхні частинок близько 0,5 млн. М² на 1 м³ сумішу забезпечує сушку протягом часток секунди. Висушений продукт у вигляді порошку відділяється від відпрацьованого теплоносія в спеціальних пиловідокремлювачі.

Повітря всмоктується з атмосфери через тканинної фільтр грубої очистки вентилятором і нагнітається через фільтр Петрянова, паровий калорифер і електрокалорифери в випарну щабель ємністю 7 м³. Повітря з температурою 165 ° С подається в камеру через газорозподільне пристрій. Стерильний суміш стрептоміцину подається на диск, що обертається зі швидкістю 18 000 об / хв. Потік повітря, проходячи між стелею камери і радіальним факелом розпорошується сумішу, запобігає осіданню сумішу на стелі камери.

Потім повітря повертає вниз. Випаровування сумішу зменшує його обсяг в чотири рази. Суміш з вологістю 250-300% відділяється на 98-99% від повітря в мокрому циклоні. Повітря викидається в атмосферу, а суміш негайно розпорошується на диску сушильної камери ємністю 17 м³. Подача теплоносія в сушильну камеру проводиться з аналогічної системи стерилізації та нагріву атмосферного повітря. Порошок антибіотика відділяється від відпрацьованого повітря в циклоні і вивантажується в герметичний пристрій для стерильної фасування антибіотика в контейнери. Відпрацьоване повітря, що містить близько 7% порошку антибіотика, направляється в випарну камеру, де, завдяки малій вологості, використовується як вторинний сушильний агент.

Сушильні камери виготовляються з полірованої зсередини камери нержавіючої сталі і мають форму циліндра з конусним днищем. Продуктивність сушарки 200 л / год испаренной вологи. Система автоматичних приладів регулює температуру теплоносія на вході в камери і витрата сумішу.

Порівняння молекулярної і розпилювальної сушки.

З економічної точки зору обидва методи в даний час приблизно рівноцінні. Молекулярна сушка вимагає в 2,7 рази більше виробничої площі і в 2,1 рази більша витрата електроенергії. Трудові витрати також вище 114. В той же час вихід

антибіотиків при молекулярної сушінню (97-98%) вище, ніж при розпилювальної сушки (92-94%). Якщо ж врахувати втрати при фасуванні порошку антибіотиків, то зниження виходу нижче 90%, що спостерігається в практичній роботі підприємств, зводить нанівець економічні переваги розпилювального методу. При більш ретельній відпрацювання режиму недавно освоєної двоступеневої розпилювальної сушарки і усунення конструктивних недоліків, її економічні показники стануть безсумнівно вище показників молекулярної сушки.

Однак молекулярна сушка має переваги в більш важливому, ніж економічний, показнику для антибіотиків медичного парентерального застосування - як препаратів. Сушка при мінусовій температурі під вакуумом забезпечує гарантію збереження якості - сумішності, безбарвності, апірогенності, відсутності опалесценції сумішів тощо. Відсутність подальшої фасування забезпечує збереження стерильності. При розпилювальної сушки 7% антибіотика, які повертаються з другого ступеня на першу, сушаться повторно. Цей та деякі інші технічні особливості процесу (наприклад, полідисперсність розпилу) знижують якість продукту. У міру освоєння розпилювальної сушки якість сухого продукту буде підвищуватися. У виробництві антибіотиків перспективні обидва розглянутих методи сушіння сумішів антибіотиків.

РОЗДІЛ 5. Матеріальний баланс і розрахунок обладнання.

Згідно техніко-економічного обґрунтування, потреба в ЦЕФТРИАКСОНУ становить $G_{gr} = 1548,5$ кг / рік. за

відповідно до умов замовника, це кількість антибіотика має бути здійснене за $Trd = 42$ дня. Згідно з літературними даними, максимальний синтез антибіотика ($R_{kr} = 37$ г / л для $T_f = 190$ ч культивування) досягається в умовах росту штаму *A. chrysogenum* НС-3 на середовищі наступного складу (г / л): декстрин - $C_1 = 70,0$; кукурудзяний крохмаль - $C_2 = 35,0$; рідкий кукурудзяний екстракт - $C_3 = 50$ мл; D, L-метіонін - $C_4 = 6,0$; сечовина - $C_5 = 3,0$; $(NH_4)_2SO_4$ - $C_6 = 13,0$; $CaCO_3$ - $C_7 = 10,0$; KH_2PO_4 - $C_8 = 9,0$; соєву олію - $C_9 = 50$ мл; амілаза - $C_{10} = 0,2$.

Інокулят вирощують на живильному середовищі наступного складу (г / л): сахароза - $C_1 = 35,0$; глюкоза - $C_2 = 5,0$; рідкий кукурудзяний екстракт - $C_3 = 31$ мл; соєву олію - $C_4 = 5$ мл; D, L-метіонін - $C_5 = 0,5$; $CaCO_3$ - $C_6 = 5,0$.

Згідно ТУ вміст сухої речовини в готовому продукті SR_{gr} становить $0,97$; частка. Для подальших розрахунків візьмемо такі вихідні дані: час циклу ферментера $T_{cf} = T_f + T_{po} = 180 + 10 = 190$ ч, де T_f - час культивування; ТПО - час підготовчих операцій; коефіцієнт запасу (втрата культуральної рідини або насіння з нестерильних операцій $1,1 - 1,5$) $K_1 = 1,3$. Сумарні втрати при виборі готового продукту, частка $E = 0,1$.

Коефіцієнт заповнення ферментера $K_{zf} = 0,6$. Коефіцієнт заповнення сівалки $K_{па} = 0,6$. Коефіцієнт заповнення інокулята $K_{ін} = 0,65$. Коефіцієнт заповнення колб $K_{кол} = 0,2$. Коефіцієнт наповнення колекції $K_{zb} = 0,8$. Кількість насіння для виробничого ферментера, частка $X_f = 0,05$; Кількість насіння для сівалки, частка $X_{pa} = 0,05$; Кількість інокулята для інокулятора, частка $N_{ін} = 0,05$; Кількість насіння для колб гойдання, частка $N_{col} = 0,05$; втрата культуральної рідини при біосинтезі, частка $E_f = 0,15$; втрати посівного матеріалу в процесі його вирощування на висівних машинах, частка $E_{па} = 0,1$;

НУХТ БТЕК

Розділ 5

Кафедра БТМ

47

втрати посівного матеріалу у процесі його культивування в колбах, частка $E_{\text{кол}} = 0,005$.

Розрахунок кількості партій продукту (виробничих циклів).

1.1. Сума продукту на добу:

$$G_{\text{нтд}} = \frac{G_{\text{нт}}}{T_{\text{рд}}} = \frac{1548,5}{42} = 36,86 \text{ кг/добу}$$

1.2. Сума продукту на добу з урахуванням втрат за виробничий цикл ($E_{\text{св}}$):

$$G_{\text{пд}} = \frac{G_{\text{нтд}}}{1 - E_{\text{св}}} = \frac{36,86}{1 - 0,1} = 41 \text{ кг/добу}$$

1.3. Сума антибіотика за цикл:

$$G_{\text{цк}} = \frac{G_{\text{пд}} \cdot T_{\text{цф}}}{24} = \frac{41 \cdot 190}{24} = 324,6 \text{ кг/цикл}$$

1.4. Об'єм КР, що зливається за одну ферментацію (цикл):

$$V_{\text{кр}} = \frac{K_1 \cdot G_{\text{цк}} \cdot \text{CP}_{\text{гп}}}{P_{\text{кр}}} = \frac{1,3 \cdot 324,6 \cdot 0,97}{37} = 11 \text{ м}^3/\text{цикл}$$

1.5. Сума ферментацій (циклів) на рік:

$$N_{\text{цк}} = \frac{G_{\text{нт}}}{G_{\text{цк}}} = \frac{1548,5}{324,6} = 4,77 \approx 5 \text{ циклів}$$

Виготовлення та стерилізація поживного середовища (ПС) для виробничого культивування та вирощування посівного матеріалу (ПМ).

Визначення об'єму ферментера для виробничого біосинтезу.

Сума ПС та ПМ в ферментері для культивування становить:

$$V_{\text{ф}} = \frac{V_{\text{кр}}}{1 - E_{\text{ф}}} = \frac{11}{1 - 0,15} = 12,94 \text{ м}^3$$

Сума ПС в ферментері: $V_{\text{пс}} = \frac{V_{\text{ф}}}{1 + X_{\text{ф}}} = \frac{12,94}{1 + 0,05} = 12,32 \text{ м}^3$

Потребна Сума ПМ для засіву ферментера:

$$V_{\text{пмф}} = V_{\text{ф}} - V_{\text{пс}} = 12,94 - 12,32 = 0,62 \text{ м}^3$$

Геометричний об'єм ферментера при $K_{\text{зф}}=0,6$, становить:

$$V_{\text{гф}} = \frac{V_{\text{ф}}}{K_{\text{зф}}} = \frac{12,94}{0,6} = 21,57 \text{ м}^3.$$

Беремо найближчий за об'ємом стандартний ферментер $V_{\text{сф}}=25 \text{ м}^3$.

Визначення кількості стадій вирощування ПМ.

Звідси Сума ПМ становить $X_{\phi} = X_i = X_{\text{колб}} = 0,05\%$ від кількості ПС визначаємо Сума ПМ для інших стадій.

ПМ для ферментера з посівного апарата: $V_{\text{пмф}} = 0,62 \text{ м}^3$.

ПМ для посівного апарата з інокулятора:

- Сума ПС та ПМ в посівному апараті

$$V_{\text{па}} = \frac{V_{\text{пмф}}}{1 - E_{\text{па}}} = \frac{0,62}{1 - 0,1} = 0,69 \text{ м}^3$$

- Сума ПС в посівному апараті

$$V_{\text{пспа}} = \frac{V_{\text{па}}}{1 + X_{\text{па}}} = \frac{0,69}{1 + 0,05} = 0,657 \text{ м}^3$$

- Сума ПМ для посівного апарату:

$$V_{\text{пмпа}} = V_{\text{па}} - V_{\text{пспа}} = 0,690 - 0,657 = 0,033 \text{ м}^3 \text{ або } 33 \text{ л.}$$

ПМ для інокулятора з качалочних колб:

- Сума ПС та ПМ в інокуляторі

$$V_{\text{ін}} = \frac{V_{\text{пмпа}}}{1 - E_{\text{ін}}} = \frac{33}{1 - 0,1} = 36,67 \text{ л}$$

- Сума ПС в інокуляторі

$$V_{\text{псіін}} = \frac{V_{\text{ін}}}{1 + X_{\text{ін}}} = \frac{36,67}{1 + 0,05} = 34,92 \text{ л}$$

- Сума ПМ для інокулятора

$$V_{\text{пміін}} = V_{\text{ін}} - V_{\text{псіін}} = 36,67 - 34,92 = 1,75 \text{ л}$$

Отже, маємо триступеневий процес отримання посівного матеріалу для виробничого біосинтезу.

Виготовлення та стерилізація ПС для виробничого біосинтезу в ферментері об'ємом 25 м³.

Згідно з прийнятим складом поживного середовища для виробничого біосинтезу, розрахуємо загальні втрати компонентів на визначений об'єм поживного середовища $V_{\text{пс}}$.

Для рідких компонентів

$$G_{\text{заг.рк}} = V_{\text{пс}} \cdot C_{\Sigma\text{рк}} = 12320 \cdot 0,1 = 1232 \text{ л, в тому числі покомпонентно:}$$

$$\text{Рідкий кукурудзяний екстракт} - G_{1\text{рк}} = G_{\text{заг.рк}} \cdot \left(\frac{C_{1\text{рк}}}{C_{\Sigma\text{рк}}} \right) = 1232 \cdot \left(\frac{50}{100} \right) = 616 \text{ л.}$$

$$\text{Соева олія} - G_{2\text{рк}} = G_{\text{заг.рк}} \cdot \left(\frac{C_{2\text{рк}}}{C_{\Sigma\text{рк}}} \right) = 1232 \cdot \left(\frac{50}{100} \right) = 616 \text{ л.}$$

Для сухих компонентів

Сума поживного середовища без рідких компонентів становить:

$$V_{\text{пс ск}} = V_{\text{пс}} - V_{\text{рк}} = 12320 - 1232 = 11088 \text{ л.}$$

Тоді, $G_{\text{заг.ск}} = V_{\text{пс ск}} \cdot C_{\Sigma\text{ск}} = 11088 \cdot 146,2 = 1621065,6 \text{ г} = 1621 \text{ кг}$

В тому числі покомпонентно, кг:

$$\text{Кукурудзяний крохмаль} - G_{1\text{ск}} = G_{\text{заг.ск}} \cdot \left(\frac{C_{1\text{ск}}}{C_{\Sigma\text{ск}}}\right) = 1621 \cdot \left(\frac{35}{146,2}\right) = 388$$

$$\text{Декстрин} - G_{2\text{ск}} = G_{\text{заг.ск}} \cdot \left(\frac{C_{2\text{ск}}}{C_{\Sigma\text{ск}}}\right) = 1621 \cdot \left(\frac{70}{146,2}\right) = 776$$

$$\text{D,L-Метіонін} - G_{3\text{ск}} = G_{\text{заг.ск}} \cdot \left(\frac{C_{3\text{ск}}}{C_{\Sigma\text{ск}}}\right) = 1621 \cdot \left(\frac{6}{146,2}\right) = 66,5$$

$$\text{Сечовина} - G_{4\text{ск}} = G_{\text{заг.ск}} \cdot \left(\frac{C_{4\text{ск}}}{C_{\Sigma\text{ск}}}\right) = 1621 \cdot \left(\frac{3}{146,2}\right) = 33,3$$

$$\text{(NH}_4\text{)}_2\text{SO}_4 - G_{5\text{ск}} = G_{\text{заг.ск}} \cdot \left(\frac{C_{5\text{ск}}}{C_{\Sigma\text{ск}}}\right) = 1621 \cdot \left(\frac{13}{146,2}\right) = 144,15$$

$$\text{CaCO}_3 - G_{6\text{ск}} = G_{\text{заг.ск}} \cdot \left(\frac{C_{6\text{ск}}}{C_{\Sigma\text{ск}}}\right) = 1621 \cdot \left(\frac{10}{146,2}\right) = 110,9$$

$$\text{KH}_2\text{PO}_4 - G_{7\text{ск}} = G_{\text{заг.ск}} \cdot \left(\frac{C_{7\text{ск}}}{C_{\Sigma\text{ск}}}\right) = 1621 \cdot \left(\frac{9}{146,2}\right) = 99,8$$

$$\text{Амілаза} - G_{8\text{ск}} = G_{\text{заг.ск}} \cdot \left(\frac{C_{8\text{ск}}}{C_{\Sigma\text{ск}}}\right) = 1621 \cdot \left(\frac{0,2}{146,2}\right) = 2,2$$

Розрахунок кількості води для виготовлення поживного середовища для виробничого біосинтезу здійснюємо без урахування рідких компонентів.

$$V_{\text{в}} = V_{\text{пс ск}} - G_{\text{заг.ск}} - (V_{\text{пс ск}} \cdot K_{\text{кон}})$$

Беремо рішення щодо використання для стерилізації 2 паралельно працюючі УБС-5. Одну композицію, а саме CaCO_3 стерилізуємо в окремому збірнику через небажаний контакт при стерилізації в УБС крейди з фосфорними солями, що також присутні в поживному середовищі.

Частка конденсату у загальній кількості води $K_{\text{кон}}=0,2$. Тоді загальна Сума конденсату, що утворюється при стерилізації ПС в УБС становитиме:

$$V_{\text{к}} = V_{\text{пс ск}} \cdot K_{\text{кон}} = 11,088 \cdot 0,2 = 2,217 \text{ м}^3$$

Загальна Сума води Требаї для розбавлення компонентів поживного середовища буде: $V_{\text{в}} = V_{\text{пс ск}} - V_{\text{к}} - G_{\text{заг.ск}} = 11088 - 2217 - 1621 = 7250 \text{ л.}$

Для спрощення розрахунків приймемо, що густина компонентів приблизно дорівнює густині води, тобто 1 л = 1кг. Розраховуємо Сума води для сумішення покомпонентно, л:

$$\text{Кукурудзяний крохмаль} - V_{1В} = V_B \cdot \left(\frac{C_{1СК}}{C_{\Sigma СК}}\right) = 7250 \cdot \left(\frac{35}{146,2}\right) = 1735,6$$

$$\text{Декстрин} - V_{2В} = V_B \cdot \left(\frac{C_{2СК}}{C_{\Sigma СК}}\right) = 7250 \cdot \left(\frac{70}{146,2}\right) = 3471,2$$

$$D,L\text{-Метіонін} - V_{3В} = V_B \cdot \left(\frac{C_{3СК}}{C_{\Sigma СК}}\right) = 7250 \cdot \left(\frac{6}{146,2}\right) = 297,5$$

$$\text{Сечовина} - V_{4В} = V_B \cdot \left(\frac{C_{4СК}}{C_{\Sigma СК}}\right) = 7250 \cdot \left(\frac{3}{146,2}\right) = 148,8$$

$$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 - V_{5В} = V_B \cdot \left(\frac{C_{5СК}}{C_{\Sigma СК}}\right) = 7250 \cdot \left(\frac{13}{146,2}\right) = 644,7$$

$$\text{CaCO}_3 - V_{6В} = V_B \cdot \left(\frac{C_{6СК}}{C_{\Sigma СК}}\right) = 7250 \cdot \left(\frac{10}{146,2}\right) = 496$$

$$\text{KH}_2\text{PO}_4 - V_{7В} = V_B \cdot \left(\frac{C_{7СК}}{C_{\Sigma СК}}\right) = 7250 \cdot \left(\frac{9}{146,2}\right) = 446,4$$

$$\text{Амілаза} - V_{8В} = V_B \cdot \left(\frac{C_{8СК}}{C_{\Sigma СК}}\right) = 7250 \cdot \left(\frac{0,2}{146,2}\right) = 9,8$$

Разом: 7250 л

Формування композицій:

Так як крейду було прийнято стерилізувати окремо від УБС, розрахуємо Сума конденсату, що припадає на цю композицію:

$$V_{\text{крп}} = V_K \cdot \left(\frac{C_{6СК}}{C_{\Sigma СК}}\right) = 2217 \cdot \left(\frac{10}{146,2}\right) = 151,6 \text{ л}$$

Стерилізація буде проводитися безпосередньо у реакторі-змішувачі, тоді

$K_{\text{кон}} = 0,15$. Складаємо пропорцію:

151,6 л конденсату – 20%

x л конденсату – 15 %

$$\text{Звідси } x = \frac{151,6 \cdot 0,15}{0,2} = 113,7 \text{ л}$$

Отже, при стерилізації в збірниках, Сума утвореного конденсату буде менша, тому цю різницю Треба компенсувати водою для розбавлення цих композицій, додавши 38 л води до композиції з крейдою.

Таблиця 5.1

Склад композицій для стерилізації поживного середовища у виробничому біосинтезі

| Компонент поживного середовища | Вміст, г/л | Сума для виготовлення 12,32 м ³ середовища, кг (л) | Композиція | Об'єм композиції, V, л |
|---|------------|---|----------------|------------------------|
| Декстрин | 70 | 776 | A ₁ | 10944,4 |
| Кукурудзяний крохмаль | 35 | 388 | | |
| (NH ₄) ₂ SO ₄ | 13 | 144 | | |
| KH ₂ PO ₄ | 9 | 99,8 | | |
| Сечовина | 3 | 33,3 | | |
| D,L-метіонін | 6 | 66,5 | | |
| Амілаза | 0,2 | 2,2 | | |
| Вода | | 6753,6 | | |
| Конденсат | | 2065 | | |
| Рідкий кукурудзяний екстракт | 50 мл | 616 л | | |

| | | | | |
|-------------------|-------|--------------|-----|--------------|
| CaCO ₃ | 10 | 110,9 | B* | 758,9 |
| Вода | | 534 | | |
| Конденсат | | 114 | | |
| Соева олія | 50 мл | 616 л | Г** | 616 |
| Разом: | | 12320 | | 12320 |

композиції В Сума конденсату та води розраховувалась з коефіцієнтом $K_{\text{кон}} = 0,15$, Звідси вони стерилізуються в окремих збірниках.

** – композиція Г стерилізації не потребує, Звідси в її складі міститься близько 99% жирних кислот, тому вірогідність росту в ній будь-якої мікрофлори є дуже низькою. Соеву олію подаємо безпосередньо в ферментер перед початком біосинтезу.

Виготовлення та стерилізація поживного середовища для вирощування посівного матеріалу в посівному апараті об'ємом 1,25 м³.

Сума поживного середовища та посівного матеріалу в посівному апараті становить:

$$V_{\text{па}} = \frac{V_{\text{пмф}}}{1 - E_{\text{па}}} = \frac{0,62}{1 - 0,1} = 0,69 \text{ м}^3$$

Сума поживного середовища в посівному апараті становить:

$$V_{\text{пспа}} = \frac{V_{\text{па}}}{1 + X_{\text{па}}} = \frac{0,69}{1 + 0,05} = 0,657 \text{ м}^3$$

Потребна Сума посівного матеріалу для засівання посівного апарата:

$$V_{\text{пмпа}} = V_{\text{па}} - V_{\text{пспа}} = 0,690 - 0,657 = 0,033 \text{ м}^3 \text{ або } 33 \text{ л.}$$

Згідно з прийнятим складом поживного середовища розрахуємо загальні витрати компонентів на визначений об'єм поживного середовища $V_{\text{пспа}}$.

Для рідких компонентів

$G_{\text{заг.рк}} = V_{\text{пс}} \cdot C_{\Sigma\text{рк}} = 657 \cdot 0,036 = 23,7$ л, в тому числі покомпонентно:

Рідкий кукурудзяний екстракт – $G_{1\text{рк}} = G_{\text{заг.рк}} \cdot \left(\frac{C_{1\text{рк}}}{C_{\Sigma\text{рк}}}\right) = 23,7 \cdot \left(\frac{31}{36}\right) = 20,4$ л.

Соева олія – $G_{2\text{рк}} = G_{\text{заг.рк}} \cdot \left(\frac{C_{2\text{рк}}}{C_{\Sigma\text{рк}}}\right) = 236,5 \cdot \left(\frac{5}{36}\right) = 3,3$ л.

Для сухих компонентів

Сума поживного середовища без рідких компонентів становить:

$$V_{\text{пс ск}} = V_{\text{пс}} - V_{\text{рк}} = 657 - 23,7 = 633,3 \text{ л.}$$

Тоді, $G_{\text{заг.ск}} = V_{\text{пс ск}} \cdot C_{\Sigma\text{ск}} = 0,6333 \cdot 45,5 = 28,8$ кг

В тому числі покомпонентно, кг:

Сахароза – $G_{1\text{ск}} = G_{\text{заг.ск}} \cdot \left(\frac{C_{1\text{ск}}}{C_{\Sigma\text{ск}}}\right) = 28,8 \cdot \left(\frac{35}{45,5}\right) = 22$

Глюкоза – $G_{2\text{ск}} = G_{\text{заг.ск}} \cdot \left(\frac{C_{2\text{ск}}}{C_{\Sigma\text{ск}}}\right) = 28,8 \cdot \left(\frac{5}{45,5}\right) = 3,2$

D,L-Метіонін – $G_{3\text{ск}} = G_{\text{заг.ск}} \cdot \left(\frac{C_{3\text{ск}}}{C_{\Sigma\text{ск}}}\right) = 288,2 \cdot \left(\frac{0,5}{45,5}\right) = 0,32$

CaCO_3 – $G_{4\text{ск}} = G_{\text{заг.ск}} \cdot \left(\frac{C_{4\text{ск}}}{C_{\Sigma\text{ск}}}\right) = 288,2 \cdot \left(\frac{5}{45,5}\right) = 3,2$

Стерилізація компонентів в композиціях буде проводиться в окремих реакторах гострою парою, Беремо $K_{\text{кон}} = 0,1$, тоді загальна Сума конденсату становитиме: $V_{\text{кпа}} = V_{\text{пс ск}} \cdot K_{\text{кон}} = 633,3 \cdot 0,1 = 63,3 \text{ м}^3$

Загальна Сума води потреба для розбавлення компонентів поживного середовища буде становити:

$$V_{\text{в}} = V_{\text{пс ск}} - V_{\text{кпа}} - G_{\text{заг.ск}} = 633,3 - 63,3 - 28,8 = 541,2 \text{ л.}$$

Розраховуємо Сума води для сумішення покомпонентно, л:

Сахароза – $V_{1\text{в}} = V_{\text{в}} \cdot \left(\frac{C_{1\text{ск}}}{C_{\Sigma\text{ск}}}\right) = 541,2 \cdot \left(\frac{35}{45,5}\right) = 416,3$

Глюкоза – $V_{2\text{в}} = V_{\text{в}} \cdot \left(\frac{C_{2\text{ск}}}{C_{\Sigma\text{ск}}}\right) = 541,2 \cdot \left(\frac{5}{45,5}\right) = 59,5$

D,L-Метіонін – $V_{3\text{в}} = V_{\text{в}} \cdot \left(\frac{C_{3\text{ск}}}{C_{\Sigma\text{ск}}}\right) = 541,2 \cdot \left(\frac{0,5}{45,5}\right) = 6$

CaCO_3 – $V_{4\text{в}} = V_{\text{в}} \cdot \left(\frac{C_{4\text{ск}}}{C_{\Sigma\text{ск}}}\right) = 541,2 \cdot \left(\frac{5}{45,5}\right) = 59,5$

Розраховуємо Сума конденсату покомпонентно, л

$$\text{Сахароза} - V_{1к} = V_k \cdot \left(\frac{C_{1ск}}{C_{\Sigmaск}} \right) = 63,3 \cdot \left(\frac{35}{45,5} \right) = 48,7$$

$$\text{Глюкоза} - V_{2к} = V_k \cdot \left(\frac{C_{2ск}}{C_{\Sigmaск}} \right) = 63,3 \cdot \left(\frac{5}{45,5} \right) = 7$$

$$D,L\text{-Метіонін} - V_{3к} = V_k \cdot \left(\frac{C_{3ск}}{C_{\Sigmaск}} \right) = 63,3 \cdot \left(\frac{0,5}{45,5} \right) = 0,7$$

$$\text{CaCO}_3 - V_{4к} = V_k \cdot \left(\frac{C_{4ск}}{C_{\Sigmaск}} \right) = 63,3 \cdot \left(\frac{5}{45,5} \right) = 7$$

Формування композицій:

Склад композицій для стерилізації компонентів при вирощуванні посівного матеріалу в посівному апараті

Таблиця 5.2

| Компонент поживного середовища | Вміст, г/л | Сума для Виготовлення 657 л середовища, кг (л) | Композиція | Об'єм композиції, V, л |
|--------------------------------|------------|--|------------|------------------------|
| Сахароза | 35 | 22 | А | 577 |
| Глюкоза | 5 | 3,2 | | |
| Рідкий кукурудзяний екстракт | 31 мл | 20,4 | | |
| Вода | | 475,8 | | |
| Конденсат | | 55,7 | | |
| <i>D,L</i> -Метіонін | 0,5 | 0,32 | Б* | 7 |
| Вода | | 6,7 | | |
| CaCO ₃ | 5 | 3,2 | В | 69,7 |
| Вода | | 59,5 | | |
| Конденсат | | 7 | | |
| Соева олія | 5 мл | 3,3 | Г** | 3,3 |
| Разом: | | 657 | | 657 |

* – За малої кількості *D,L*-Метіонін стерилізується в колбі, а отже частка конденсату $K_{кон} = 0$, тому цю різницю Треба компенсувати додавши 700 мл води для розбавлення цієї композиції.

** – композиція Г стерилізації не потребує.

Виготовлення та стерилізація поживного середовища для вирощування посівного матеріалу в інокуляторі об'ємом 60 л.

Сума поживного середовища та посівного матеріалу в інокуляторі становить: $V_{ін} = \frac{V_{пмпа}}{1-E_{ін}} = \frac{33}{1-0,1} = 36,7 \text{ л}$

Сума поживного середовища в інокуляторі:

$$V_{\text{псіН}} = \frac{V_{\text{іН}}}{1 + X_{\text{іН}}} = \frac{36,67}{1 + 0,05} = 35 \text{ л}$$

Потрібна Сума посівного матеріалу для засівання інокулятора:

$$V_{\text{пміН}} = V_{\text{іН}} - V_{\text{псіН}} = 36,7 - 35 = 1,7 \text{ л}$$

Згідно з прийнятим складом поживного середовища розрахуємо загальні витрати компонентів на визначений об'єм поживного середовища $V_{\text{псіН}}$.

Для рідких компонентів

$$G_{\text{заг.рк}} = V_{\text{пс}} \cdot C_{\Sigma\text{рк}} = 35 \cdot 0,036 = 1,3 \text{ л, в тому числі покомпонентно, л:}$$

$$\text{Рідкий кукурудзяний екстракт} - G_{1\text{рк}} = G_{\text{заг.рк}} \cdot \left(\frac{C_{1\text{рк}}}{C_{\Sigma\text{рк}}}\right) = 1,3 \cdot \left(\frac{31}{36}\right) = 1,1$$

$$\text{Соева олія} - G_{2\text{рк}} = G_{\text{заг.рк}} \cdot \left(\frac{C_{2\text{рк}}}{C_{\Sigma\text{рк}}}\right) = 1,3 \cdot \left(\frac{5}{36}\right) = 0,2$$

Для сухих компонентів

Сума поживного середовища без рідких компонентів становить:

$$V_{\text{пс ск}} = V_{\text{пс}} - V_{\text{рк}} = 35 - 1,3 = 33,7 \text{ л.}$$

$$\text{Тоді, } G_{\text{заг.ск}} = V_{\text{пс ск}} \cdot C_{\Sigma\text{ск}} = 33,7 \cdot 45,5 = 1533 \text{ г} = 1,53 \text{ кг}$$

В тому числі покомпонентно, г:

$$\text{Сахароза} - G_{1\text{ск}} = G_{\text{заг.ск}} \cdot \left(\frac{C_{1\text{ск}}}{C_{\Sigma\text{ск}}}\right) = 1533 \cdot \left(\frac{35}{45,5}\right) = 1179 = 1,18 \text{ кг}$$

$$\text{Глюкоза} - G_{2\text{ск}} = G_{\text{заг.ск}} \cdot \left(\frac{C_{2\text{ск}}}{C_{\Sigma\text{ск}}}\right) = 1533 \cdot \left(\frac{5}{45,5}\right) = 168,5$$

$$\text{D,L-Метіонін} - G_{3\text{ск}} = G_{\text{заг.ск}} \cdot \left(\frac{C_{3\text{ск}}}{C_{\Sigma\text{ск}}}\right) = 1533 \cdot \left(\frac{0,5}{45,5}\right) = 17$$

$$\text{CaCO}_3 - G_{4\text{ск}} = G_{\text{заг.ск}} \cdot \left(\frac{C_{4\text{ск}}}{C_{\Sigma\text{ск}}}\right) = 1533 \cdot \left(\frac{5}{45,5}\right) = 168,5$$

Звідси стерилізація компонентів в композиціях буде проводитись в окремих реакторах гострою парою, Беремо $K_{\text{кон}} = 0,1$, тоді загальна Сума конденсату становитиме: $V_{\text{кін}} = V_{\text{пс ск}} \cdot K_{\text{кон}} = 33,7 \cdot 0,1 = 3,4 \text{ л.}$

Загальна Сума води Требаї для розбавлення компонентів поживного середовища буде становити:

$$V_{\text{в}} = V_{\text{пс ск}} - V_{\text{кін}} - G_{\text{заг.ск}} = 33,7 - 3,4 - 1,53 = 28,7 \text{ л.}$$

Розраховуємо Сума води для сумішення покомпонентно, л:

$$\text{Сахароза} - V_{1\text{в}} = V_{\text{в}} \cdot \left(\frac{C_{1\text{ск}}}{C_{\Sigma\text{ск}}}\right) = 28,7 \cdot \left(\frac{35}{45,5}\right) = 22$$

$$\text{Глюкоза} - V_{2В} = V_B \cdot \left(\frac{C_{2СК}}{C_{\Sigma СК}}\right) = 28,7 \cdot \left(\frac{5}{45,5}\right) = 3,2$$

$$D,L\text{-Метіонін} - V_{3В} = V_B \cdot \left(\frac{C_{3СК}}{C_{\Sigma СК}}\right) = 28,7 \cdot \left(\frac{0,5}{45,5}\right) = 0,32$$

$$\text{CaCO}_3 - V_{4В} = V_B \cdot \left(\frac{C_{4СК}}{C_{\Sigma СК}}\right) = 28,7 \cdot \left(\frac{5}{45,5}\right) = 3,2$$

Розраховуємо Сума конденсату покомпонентно, л

$$\text{Сахароза} - V_{1К} = V_{КІН} \cdot \left(\frac{C_{1СК}}{C_{\Sigma СК}}\right) = 3,4 \cdot \left(\frac{35}{45,5}\right) = 2,6$$

$$\text{Глюкоза} - V_{2К} = V_{КІН} \cdot \left(\frac{C_{2СК}}{C_{\Sigma СК}}\right) = 3,4 \cdot \left(\frac{5}{45,5}\right) = 0,37$$

$$D,L\text{-Метіонін} - V_{3К} = V_{КІН} \cdot \left(\frac{C_{3СК}}{C_{\Sigma СК}}\right) = 3,4 \cdot \left(\frac{0,5}{45,5}\right) = 0,04$$

$$\text{CaCO}_3 - V_{4К} = V_{КІН} \cdot \left(\frac{C_{4СК}}{C_{\Sigma СК}}\right) = 3,4 \cdot \left(\frac{5}{45,5}\right) = 0,37$$

Формування композицій:

**Склад композицій для стерилізації компонентів для вирощування
посівного матеріалу в інокуляторі**

Таблиця 5.3

| Компонент поживного середовища | Вміст, г/л | Сума для Виготовлення 35 л середовища, кг (л) | Композиція | Об'єм композиції, V, л |
|--------------------------------|------------|---|------------|------------------------|
| Сахароза | 35 | 1,18 | А | 30,65 |
| Глюкоза | 5 | 0,17 | | |
| Рідкий кукурудзяний екстракт | 31 мл | 1,1 | | |
| Вода | | 25,2 | | |
| Конденсат | | 3 | | |
| <i>D,L</i> -Метіонін | 0,5 | 0,017 | Б* | 0,4 |
| Вода | | 0,36 | В* | 3,75 |
| CaCO ₃ | 5 | 0,17 | | |
| Вода | | 3,6 | Г** | 0,2 |
| Сосва олія | 5 мл | 0,2 | | |
| Разом: | | 35 | | 35 |

* – За малої кількості CaCO₃ та *D,L*-Метіонін стерилізуються в колбі, а отже частка конденсату $K_{кон} = 0$, тому цю різницю Треба компенсувати водою для розбавлення цих композицій, додавши 370 та 40 мл води до композиції В та Б відповідно.

** – композиція Г стерилізації не потребує.

Виготовлення та стерилізація поживного середовища для вирощування в колбах на качалках.

Сума поживного середовища та посівного матеріалу в колбах становить: $V_{\text{кол}} = 1,7$ л

Сума поживного середовища в колбах становить:

$$V_{\text{пск}} = \frac{V_{\text{кол}}}{1 + X_{\text{IH}}} = \frac{1,7}{1 + 0,05} = 1,6 \text{ л}$$

Потребна Сума посівного матеріалу для засівання колб, л:

$$V_{\text{пмк}} = V_{\text{кол}} - V_{\text{пск}} = 1,7 - 1,6 = 0,1 \text{ л} = 100 \text{ мл.}$$

Згідно з прийнятим складом поживного середовища розрахуємо загальні витрати компонентів на визначений об'єм поживного середовища $V_{\text{пск}}$.

Для рідких компонентів

$$G_{\text{заг.рк}} = V_{\text{пск}} \cdot C_{\Sigma\text{рк}} = 1,6 \cdot 0,036 = 0,06 \text{ л} = 60 \text{ мл, в тому числі покомпонентно,}$$

мл:

$$\text{Рідкий кукурудзяний екстракт} - G_{1\text{рк}} = G_{\text{заг.рк}} \cdot \left(\frac{C_{1\text{рк}}}{C_{\Sigma\text{рк}}}\right) = 60 \cdot \left(\frac{31}{36}\right) = 52$$

$$\text{Соева олія} - G_{2\text{рк}} = G_{\text{заг.рк}} \cdot \left(\frac{C_{2\text{рк}}}{C_{\Sigma\text{рк}}}\right) = 60 \cdot \left(\frac{5}{36}\right) = 8$$

Для сухих компонентів

Сума поживного середовища без рідких компонентів становить:

$$V_{\text{пс ск}} = V_{\text{пск}} - V_{\text{рк}} = 1600 - 60 = 1540 \text{ мл} = 1,54 \text{ л.}$$

$$\text{Тоді, } G_{\text{заг.ск}} = V_{\text{пс ск}} \cdot C_{\Sigma\text{ск}} = 1,54 \cdot 45,5 = 70 \text{ г}$$

В тому числі покомпонентно, г:

$$\text{Сахароза} - G_{1\text{ск}} = G_{\text{заг.ск}} \cdot \left(\frac{C_{1\text{ск}}}{C_{\Sigma\text{ск}}}\right) = 70 \cdot \left(\frac{35}{45,5}\right) = 54$$

$$\text{Глюкоза} - G_{2\text{ск}} = G_{\text{заг.ск}} \cdot \left(\frac{C_{2\text{ск}}}{C_{\Sigma\text{ск}}}\right) = 70 \cdot \left(\frac{5}{45,5}\right) = 7,7$$

$$\text{D,L-Метіонін} - G_{3\text{ск}} = G_{\text{заг.ск}} \cdot \left(\frac{C_{3\text{ск}}}{C_{\Sigma\text{ск}}}\right) = 70 \cdot \left(\frac{0,5}{45,5}\right) = 0,7$$

$$\text{CaCO}_3 - G_{4\text{ск}} = G_{\text{заг.ск}} \cdot \left(\frac{C_{4\text{ск}}}{C_{\Sigma\text{ск}}}\right) = 1533 \cdot \left(\frac{5}{45,5}\right) = 7,7$$

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

Загальна Сума води Требаї для розбавлення компонентів поживного середовища буде: $V_{\text{в}} = V_{\text{пс ск}} - G_{\text{заг.ск}} = 1540 - 70 = 1470 \text{ мл.}$

Розраховуємо Сума води для сумішення покомпонентно, мл:

$$\text{Сахароза} - V_{1B} = V_B \cdot \left(\frac{C_{1\text{СК}}}{C_{\Sigma\text{СК}}} \right) = 1470 \cdot \left(\frac{35}{45,5} \right) = 1130$$

$$\text{Глюкоза} - V_{2B} = V_B \cdot \left(\frac{C_{2\text{СК}}}{C_{\Sigma\text{СК}}} \right) = 1470 \cdot \left(\frac{5}{45,5} \right) = 162$$

$$D,L\text{-Метіонін} - V_{3B} = V_B \cdot \left(\frac{C_{3\text{СК}}}{C_{\Sigma\text{СК}}} \right) = 1470 \cdot \left(\frac{0,5}{45,5} \right) = 16$$

$$\text{CaCO}_3 - V_{4B} = V_B \cdot \left(\frac{C_{4\text{СК}}}{C_{\Sigma\text{СК}}} \right) = 1470 \cdot \left(\frac{5}{45,5} \right) = 162$$

Формування композицій:

**Склад композицій для стерилізації компонентів для вирощування
посівного матеріалу в колбах на качалках**

Таблиця 5.4

| Компонент поживного середовища | Вміст, г/л | Сума для Виготовлення 1,6 л середовища, г (мл) | Композиція | Об'єм композиції, V, мл |
|--------------------------------|------------|--|------------|-------------------------|
| Сахароза | 35 | 54 | А | 1405,7 |
| Глюкоза | 5 | 7,7 | | |
| Рідкий кукурудзяний екстракт | 31 мл | 52 | | |
| Вода | | 1292 | | |
| <i>D,L</i> -Метіонін | 0,5 | 0,7 | Б** | 16,7 |
| Вода | | 16 | | |
| CaCO ₃ | 5 | 7,7 | В | 169,7 |
| Вода | | 162 | | |
| Соєва олія | 5 мл | 8 | Г* | 8 |
| Разом: | | 1600 | | |

* – композиція Г стерилізації не потребує.

** – об'єм цієї композиції складає менше 100 мл, тому буде доцільним не доливати додатковий об'єм води, а відняти з композиції А 84 мл води та додати у композицію Б для стерилізації. Відтак кінцеві концентрації компонентів поживного середовища залишаться правильними.

Матеріальний баланс на один цикл виробничого біосинтезу

Таблиця 5.5

| № з/п | Використано | | Отримано | |
|----------|--------------------------------------|----------------|---|----------------|
| | Назва сировини і напівпродукту | Сума, кг, л | Назва кінцевого продукту, відходів та втрат | Сума, кг, л |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |

| | | | | |
|------|---|-------------|----------------------|-------------|
| 1. | ВИГОТОВЛЕННЯ ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА ДЛЯ ВИРОЩУВАННЯ ІНОКУЛЯТУ В КОЛБАХ НА КАЧАЛКАХ (мл, г) | | | |
| 1.1. | Сахароза | 54 | Нестерильне ПС | 1600 |
| 1.2. | Глюкоза | 7,7 | | |
| 1.3. | Рідкий кукурудзяний екстракт | 52 | | |
| 1.4. | <i>D,L</i> -Метіонін | 0,7 | | |
| 1.5. | CaCO ₃ | 7,7 | | |
| 1.6. | Соева олія | 8 | | |
| 1.7. | Вода | 1470 | | |
| | Всього: | 1600 | Всього: | 1600 |
| 2. | СТЕРИЛІЗАЦІЯ ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА В АВТОКЛАВІ (л) | | | |
| 2.1. | Нестерильне ПС | 1,6 | Стерильне ПС | 1,6 |
| | Всього: | 1,6 | Всього: | 1,6 |
| 3. | ОТРИМАННЯ ПОСІВНОГО МАТЕРІАЛУ ПІД ЧАС КУЛЬТИВУВАННЯ В КОЛБАХ НА КАЧАЛКАХ (л) | | | |
| 3.1. | Стерильне ПС | 1,6 | Посівний матеріал | 1,7 |
| 3.2. | Посівний матеріал з колби | 0,1 | | |
| | Всього: | 1,7 | Всього: | 1,7 |
| 4. | ВИГОТОВЛЕННЯ ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА ДЛЯ ІНОКУЛЯТОРА | | | |
| 4.1. | Сахароза | 1,18 | Нестерильне ПС | 32 |
| 4.2. | Глюкоза | 0,17 | | |
| 4.3. | Рідкий кукурудзяний екстракт | 1,1 | | |
| 4.4. | <i>D,L</i> -Метіонін | 0,017 | | |
| 4.5. | CaCO ₃ | 0,17 | | |
| 4.6. | Соева олія | 0,2 | | |
| 4.7. | Вода | 29,2 | | |
| | Всього: | 32 | Всього: | 32 |
| 5. | СТЕРИЛІЗАЦІЯ ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА ДЛЯ ІНОКУЛЯТОРА | | | |
| 5.1. | Нестерильне ПС | 32 | Стерильне ПС | 35 |
| 5.2. | Конденсат | 3,0 | (втрат немає) | 0,0 |
| | Всього: | 35 | Всього: | 35 |
| 6. | ОТРИМАННЯ ПОСІВНОГО МАТЕРІАЛУ В ІНОКУЛЯТОРІ | | | |
| 6.1 | Стерильне ПС | 35 | Посівний матеріал | 33 |
| 6.2 | Посівний матеріал з колб на качалках | 1,7 | | |

| | | | | |
|------|--|-------------|----------------|-------------|
| 6.3 | Втрати (частка) | 0,1 | | 3,67 |
| | Всього: | 36,7 | Всього: | 36,7 |
| 7. | ВИГОТОВЛЕННЯ ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА ДЛЯ ПОСІВНОГО АПАРАТУ | | | |
| 7.1. | Сахароза | 22 | Нестерильне ПС | 594,4 |
| 7.2. | Глюкоза | 3,2 | | |
| 7.3. | Рідкий кукурудзяний екстракт | 20,4 | | |
| 7.4. | <i>D,L</i> -Метіонін | 0,32 | | |
| 7.5. | CaCO ₃ | 3,2 | | |

Продовження табл. 4.8.

| | | | | |
|--------|--|--------------|-----------------------------------|--------------|
| 7.6. | Соева олія | 3,3 | | |
| 7.7. | Вода | 541,3 | | |
| | Всього: | 594,4 | Всього: | 594,4 |
| 8. | СТЕРИЛІЗАЦІЯ ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА ДЛЯ ПОСІВНОГО АПАРАТУ | | | |
| 8.1. | Нестерильне ПС | 594,4 | Стерильне ПС | 657 |
| 8.2. | Конденсат | 62,7 | (втрат немає) | 0,0 |
| | Всього: | 657 | Всього: | 657 |
| 9 | ОТРИМАННЯ ПОСІВНОГО МАТЕРІАЛУ В ПОСІВНОМУ АПАРАТІ | | | |
| 9.1. | Стерильне ПС | 657 | Посівний матеріал | 620 |
| 9.2. | Посівний матеріал з інокулятора | 33 | | |
| 9.3. | Втрати (частка) | 0,1 | | 69 |
| | Всього: | 690 | Всього: | 690 |
| 10. | ВИГОТОВЛЕННЯ ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА ДЛЯ ФЕРМЕНТЕРА | | | |
| 10.1. | Декстрин | 776 | Нестерильне ПС | 10140 |
| 10.2. | Кукурудзяний крохмаль | 388 | | |
| 10.3. | (NH ₄) ₂ SO ₄ | 144 | | |
| 10.4. | KH ₂ PO ₄ | 99,8 | | |
| 10.5. | Сечовина | 33,3 | | |
| 10.6. | <i>D,L</i> -метіонін | 66,5 | | |
| 10.7. | Амілаза | 2,2 | | |
| 10.8. | Рідкий кукурудзяний екстракт | 616 | | |
| 10.9. | CaCO ₃ | 110,9 | | |
| 10.10. | Соева олія | 616 | | |
| 10.11. | Вода | 7287,6 | | |
| | Всього: | 10140 | Всього: | 10140 |
| 11. | СТЕРИЛІЗАЦІЯ ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА ДЛЯ ФЕРМЕНТЕРА | | | |
| 11.1 | Нестерильне ПС | 10140 | Стерильне ПС | 12320 |
| 11.2 | Конденсат | 2179 | (втрат немає) | |
| | Всього: | 12320 | Всього: | 12320 |
| 12. | ВИРОБНИЧИЙ БІОСИНТЕЗ | | | |
| 12.1 | Стерильне поживне середовище | 12320 | Культуральна рідина на фільтрацію | 10999 |
| 12.2 | Посівний матеріал з посівного апарата | 620 | | |

| | | | | |
|------|-----------------|--------------|----------------|--------------|
| 12.3 | Втрати (частка) | 0,15 | Втрати (Сума) | 1941 |
| | Всього: | 12940 | Всього: | 12940 |

Звідси , Сума культуральної рідини згідно матеріального балансу (10999 л) практично співпадає із кількістю культуральної рідини, визначеної відповідно у п.4.5.1 розрахунку партій продукту (11 м³), вважаємо, що матеріальний баланс зроблено вірно.

Уточнюючий розрахунок ферментаційного обладнання.

За результатами продуктового розрахунку та матеріального балансу проводимо розрахунок ферментаційної та ємнісної апаратури для виготовлення та стерилізації компонентів поживного середовища.

Уточнюючий розрахунок кількості ферментерів.

$$V_{\text{рф}} = \frac{V_{\text{ф}}}{K_3} = \frac{12,94}{0,6} = 21,6 \text{ м}^3$$

Беремо найближчий за об'ємом стандартний ферментер $V_{\text{сф}} = 25 \text{ м}^3$

Сума виробничих ферментерів при заданому K_3 :

$$N_{\text{фр}} = \frac{V_{\text{рф}}}{V_{\text{нф}}} = \frac{21,6}{25} = 0,87$$

Беремо 1 ферментер та уточнюємо коефіцієнт заповнення ферментера:

$$K_{\text{зф}} = \frac{V_{\text{ф}}}{V_{\text{нф}} \cdot N_{\text{фр}}} = \frac{12,94}{25 \cdot 1} = 0,52$$

Звідси уточнений коефіцієнт заповнення не перевищує заданих меж (0,5 – 0,65), то Беремо до установки ферментерів $N_{\text{фр}} + 1$ запасний.

Уточнюючий розрахунок кількості посівних апаратів.

Загальний геометричний об'єм посівного апарата при заданому $K_3 = 0,6$:

$$V_{\text{рпа}} = \frac{V_{\text{па}}}{K_3} = \frac{0,69}{0,6} = 1,15 \text{ м}^3$$

Вибираємо найближчий за номінальним об'ємом посівний апарат: $V_{\text{сф}} = 1,25 \text{ м}^3$.

Сума посівних апаратів при заданому K_3 :

$$N_{\text{пар}} = \frac{V_{\text{рпа}}}{V_{\text{нпа}}} = \frac{1,15}{1,25} = 0,92$$

Беремо 1 посівний апарат та уточнюємо коефіцієнт заповнення:

$$K_{\text{зпа}} = \frac{V_{\text{па}}}{V_{\text{нпа}} \cdot N_{\text{пар}}} = \frac{0,69}{1,25 \cdot 1} = 0,55$$

Звідси уточнений коефіцієнт заповнення не перевищує заданих меж (0,5 – 0,65), то Беремо до установки 1 посівний апарат геометричним об'ємом 1,25 м³.

Уточнюючий розрахунок кількості інокуляторів.

Загальний геометричний об'єм інокулятора при заданому $K_3 = 0,65$:

$$V_{\text{гін}} = \frac{V_{\text{ін}}}{K_3} = \frac{36,7}{0,65} = 56,5 \text{ л}$$

Обираємо найближчий за номінальним об'ємом інокулятор: $V_{\text{нін}} = 60 \text{ л}$.

Сума інокуляторів при заданому K_3 :

$$N_{\text{інр}} = \frac{V_{\text{гін}}}{V_{\text{нін}}} = \frac{56,5}{60} = 0,94$$

Беремо 1 інокулятор та уточнюємо коефіцієнт заповнення:

$$K_{\text{зін}} = \frac{V_{\text{ін}}}{V_{\text{нін}} \cdot N_{\text{інр}}} = \frac{36,7}{60 \cdot 1} = 0,61$$

Звідси уточнений коефіцієнт заповнення не перевищує заданих меж (0,5 – 0,65), то Беремо до установки 1 інокулятор геометричним об'ємом 60 л.

Уточнюючий розрахунок кількості качалочних колб.

Загальний Потребний об'єм качалочних колб при заданому $K_{\text{колб}} = 0,2$:

$$V_{\text{гколб}} = \frac{V_{\text{колб}}}{K_3} = \frac{1700}{0,2} = 8500 \text{ мл}$$

Об'єм 1 качалочної колби $V_{\text{нколб}} = 750 \text{ мл}$. Сума качалочних колб при заданому

$$K_{\text{колб}} = 0,2: N_{\text{колб}} = \frac{V_{\text{гколб}}}{V_{\text{нколб}}} = \frac{8500}{750} = 11,3 - \text{Беремо } 12 \text{ колб.}$$

Розрахунок кількості реакторів-змішувачів для

Виготовлення та стерилізації поживного середовища.

Уточнюючий розрахунок кількості реакторів-змішувачів для Виготовлення середовища для виробничого біосинтезу в ферментері об'ємом 25 м³.

Композицію А₁ готують в окремому реакторі та після Виготовлення подають в реактор-змішувач УБС. Стерилізацію компонентів ПС в об'ємі $V_{\text{ст}} = V_{\text{пс}} - V_{\text{кон}} = 10944,4 - 2065 = 8879,4 \text{ л} = 8,9 \text{ м}^3$ проводять в УБС потужністю 5 м³/год. Час стерилізації становить $t = 8,9/5 = 1,78 \text{ год} = 107 \text{ хв}$. Стерильне ПС з УБС передається безпосередньо в ферментер.

а) Підбираємо геометричний об'єм реактора-змішувача УБС. Приблизний геометричний об'єм реактора-змішувача при заданому $K_3 = 0,8$:

$$V_{УБС} = \frac{V_{ст}}{K_3} = \frac{8,9}{0,8} = 11,1 \text{ м}^3$$

Обираємо найближчий за номінальним об'ємом реактор: $V_{нр} = 12,5 \text{ м}^3$. Сума реакторів при заданому K_3 становить:

$$N_p = \frac{V_{УБС}}{V_{нр}} = \frac{11,1}{12,5} = 0,88$$

Беремо до установки 1 реактор. Уточнюємо коефіцієнт заповнення реактора:

$$K_3 = \frac{V_{ст}}{V_{нр} \cdot N_p} = \frac{8,9}{12,5 \cdot 1} = 0,71$$

Звідси уточнений коефіцієнт заповнення лежить в заданих межах (0,7 – 0,85), то Беремо до установки Сума реакторів УБС – 1.

б) Підбираємо геометричний об'єм реактора-змішувача для виготовлення композиції A_1 . Приблизний геометричний об'єм реактора-змішувача при заданому $K_{3б} = 0,8$:

$$V_{Аг} = \frac{V_A}{K_3} = \frac{8,9}{0,8} = 11,1 \text{ м}^3$$

Обираємо найближчий за номінальним об'ємом реактор: $V_{нр} = 12,5 \text{ м}^3$. Сума реакторів при заданому $K_{3б}$ становить:

$$N_p = \frac{V_{УБС}}{V_{нр}} = \frac{11,1}{12,5} = 0,88$$

Беремо до установки 1 реактор. Уточнюємо коефіцієнт заповнення реактора:

$$K_3 = \frac{V_{ст}}{V_{нр} \cdot N_p} = \frac{8,9}{12,5 \cdot 1} = 0,71$$

Звідси уточнений коефіцієнт заповнення лежить в заданих межах (0,7 – 0,85), то Беремо до установки Сума реакторів для виготовлення композиції $A_1 - 1+1$ запасний.

в) Підбираємо геометричний об'єм реактора-змішувача для виготовлення композиції В. Приблизний геометричний об'єм реактора-змішувача при заданому $K_{3б} = 0,8$:

$$V_{Бг} = \frac{V_B}{K_3} = \frac{644,9}{0,8} = 806 \text{ л}$$

Обираємо найближчий за номінальним об'ємом реактор: $V_{\text{нр}} = 1 \text{ м}^3$. Сума реакторів при заданому $K_{зб}$ становить:

$$N_p = \frac{V_{\text{БГ}}}{V_{\text{нр}}} = \frac{806}{1000} = 0,8$$

Беремо – 1 од. Уточнюємо коефіцієнт заповнення реактора:

$$K_з = \frac{V_{\text{Б}}}{V_{\text{нр}} \cdot N_p} = \frac{644,9}{1000 \cdot 1} = 0,64$$

Уточнений коефіцієнт заповнення не лежить в заданих межах (0,7 – 0,85), але враховуючи те, що немає Требасті стерилізувати дану композицію, а Треба лише приготувати її, економічно вигідніше буде встановити стандартний реактор об'ємом 1 м³. Отже, Беремо до установки Сума реакторів для Виготовлення композиції В – 1+1 запасний.

Підбираємо геометричний об'єм реактора-змішувача для стерилізації композиції В. Приблизний геометричний об'єм реактора-змішувача при заданому $K_{зб} = 0,8$:

$$V_{\text{БГ}} = \frac{V_{\text{Б}}}{K_з} = \frac{758,9}{0,8} = 949 \text{ л}$$

Обираємо найближчий за номінальним об'ємом реактор: $V_{\text{нр}} = 1 \text{ м}^3$. Сума реакторів при заданому $K_{зб}$ становить:

$$N_p = \frac{V_{\text{БГ}}}{V_{\text{нр}}} = \frac{949}{1000} = 0,95$$

Беремо – 1 од. Уточнюємо коефіцієнт заповнення реактора:

$$K_з = \frac{V_{\text{Б}}}{V_{\text{нр}} \cdot N_p} = \frac{758,9}{1000 \cdot 1} = 0,75$$

Звідси уточнений коефіцієнт заповнення лежить в заданих межах (0,7 – 0,85), то Беремо до установки Сума реакторів для Виготовлення композиції В – 1.

г) Підбираємо геометричний об'єм реактора для Виготовлення композиції Г. Приблизний геометричний об'єм реактора при заданому $K_{зб} = 0,8$:

$$V_{\text{БГ}} = \frac{V_{\text{Б}}}{K_з} = \frac{616}{0,8} = 770 \text{ л}$$

Обираємо найближчий за номінальним об'ємом реактор: $V_{\text{нр}} = 1 \text{ м}^3$. Сума реакторів при заданому $K_{зб}$ становить:

$$N_p = \frac{V_{\text{БГ}}}{V_{\text{нр}}} = \frac{770}{1000} = 0,77$$

Беремо – 1 од. Уточнюємо коефіцієнт заповнення реактора:

$$K_3 = \frac{V_B}{V_{\text{нр}} \cdot N_p} = \frac{616}{1000 \cdot 1} = 0,6$$

Уточнений коефіцієнт заповнення не лежить в заданих межах (0,7 – 0,85), але враховуючи те, що немає Требасті стерилізувати дану композицію, а Треба лише завантажити її в збірник, економічно вигідніше буде встановити стандартний реактор об'ємом 1 м³. Отже, Беремо до установки Сума реакторів для Виготовлення композиції Г – 1+1 запасний.

Розрахунок кількості реакторів-змішувачів для Виготовлення середовища для вирощування посівного матеріалу в посівному апараті об'ємом 1,25 м³.

а) Композицію А об'ємом 577 л стерилізуємо безпосередньо в посівному апараті. Підбираємо геометричний об'єм реактора-змішувача для Виготовлення композиції А. Приблизний геометричний об'єм реактора-змішувача при заданому $K_{3б} = 0,85$:

$$V_{\text{Аг}} = \frac{V_A}{K_3} = \frac{521}{0,85} = 613 \text{ л}$$

Обираємо найближчий за номінальним об'ємом реактор: $V_{\text{нр}} = 0,63 \text{ м}^3$. Сума реакторів при заданому $K_{3б}$ становить:

$$N_p = \frac{V_{\text{Аг}}}{V_{\text{нр}}} = \frac{613}{630} = 0,97$$

Беремо – 1 од. Уточнюємо коефіцієнт заповнення реактора:

$$K_3 = \frac{V_A}{V_{\text{нр}} \cdot N_p} = \frac{521}{630 \cdot 1} = 0,83$$

Звідси уточнений коефіцієнт заповнення лежить в заданих межах (0,7 – 0,85), Беремо до установки Сума реакторів для Виготовлення композиції А – 1+1 запасний.

б) Підбираємо геометричний об'єм реактора-змішувача для Виготовлення для композиції В. Приблизний геометричний об'єм реактора-змішувача при заданому $K_{3б} = 0,8$:

$$V_{\text{Вг}} = \frac{V_B}{K_3} = \frac{62,7}{0,8} = 78 \text{ л}$$

Обираємо найближчий за номінальним об'ємом реактор: $V_{\text{нр}} = 0,1 \text{ м}^3$. Сума реакторів при заданому $K_{3б}$ становить:

$$N_p = \frac{V_{B\Gamma}}{V_{np}} = \frac{78}{100} = 0,78$$

Беремо – 1 од. Уточнюємо коефіцієнт заповнення реактора:

$$K_3 = \frac{V_B}{V_{np} \cdot N_p} = \frac{62,7}{100 \cdot 1} = 0,63$$

Уточнений коефіцієнт заповнення не лежить в заданих межах (0,7 – 0,85), але враховуючи те, що немає Требасті стерилізувати дану композицію, а Треба лише приготувати її, економічно вигідніше буде встановити стандартний реактор об'ємом 0,1 м³. Отже, Беремо до установки Сума реакторів для виготовлення композиції В – 1+1 запасний.

Підбираємо геометричний об'єм реактора-змішувача для стерилізації композиції В. Приблизний геометричний об'єм реактора-змішувача при заданому $K_{36} = 0,8$:

$$V_{B\Gamma} = \frac{V_B}{K_3} = \frac{69,7}{0,8} = 87 \text{ л}$$

Обираємо найближчий за номінальним об'ємом реактор: $V_{np} = 0,1 \text{ м}^3$. Сума реакторів при заданому K_{36} становить:

$$N_p = \frac{V_{B\Gamma}}{V_{np}} = \frac{87}{100} = 0,87$$

Беремо – 1 од. Уточнюємо коефіцієнт заповнення реактора:

$$K_3 = \frac{V_B}{V_{np} \cdot N_p} = \frac{69,7}{100 \cdot 1} = 0,697$$

Враховуючи те, що уточнений коефіцієнт заповнення майже досягає заданих меж (0,7 – 0,85), Беремо до установки Сума реакторів для стерилізації композиції В – 1.

Композиції Б та Г готують в лабораторному посуді, тому розрахунок ємнісної апаратури для них не проводиться.

Розрахунок кількості реакторів-змішувачів для виготовлення середовища для вирощування посівного матеріалу в інокуляторі об'ємом 60 л.

а) Композицію А об'ємом 30,65 л стерилізуємо безпосередньо в інокуляторі. Підбираємо геометричний об'єм реактора-змішувача для виготовлення композиції А. Приблизний геометричний об'єм реактора-змішувача при заданому $K_{36} = 0,8$:

$$V_{A\Gamma} = \frac{V_A}{K_3} = \frac{27,65}{0,8} = 35 \text{ л}$$

Обираємо найближчий за номінальним об'ємом реактор: $V_{\text{нр}} = 0,04 \text{ м}^3$. Сума реакторів при заданому $K_{зб}$ становить:

$$N_p = \frac{V_{\text{Аг}}}{V_{\text{нр}}} = \frac{35}{40} = 0,87$$

Беремо – 1 од. Уточнюємо коефіцієнт заповнення реактора:

$$K_з = \frac{V_A}{V_{\text{нр}} \cdot N_p} = \frac{27,65}{40 \cdot 1} = 0,7$$

Звідси уточнений коефіцієнт заповнення лежить в заданих межах (0,7 – 0,85), Беремо до установки Сума реакторів для виготовлення композиції А – 1+1 запасний.

Композиції Б та В готуються в лабораторному посуді та стерилізуються в автоклаві, тому розрахунок ємнісної апаратури для них не проводиться.

Для кожної з композицій потрібен реактор-змішувач відповідного об'єму для виготовлення, стерилізації композиції та запасний. Композиції, що не стерилізуються (соєва олія) відповідно не потребують реактора для стерилізації, а тільки для подачі в ферментер. Таким чином маємо 11 виробничих реакторів та 7 запасних.

РОЗДІЛ 6. Специфікація обладнання

Специфікація обладнання, зображеного на апаратурній схемі, наведена в табл. 6.1.

Специфікація обладнання ділянки допоміжних робіт та виробничого біосинтезу антибіотику цефтриаксону *Acetmonium chrysogenum* НС-3

Таблиця 6.1

| Позиція | Найменування | Су ма | Технічна характеристика (виробник) |
|--|---|----------|---|
| 1 | 2 | 3 | 4 |
| Д-10 Д-15 Д-17 Д-22 Д-25 Д-30 Д-35 | Об'ємно-вагові дозатори для рідких та сипучих компонентів | 7 | Регульований об'ємно-ваговий дозатор для сипучих компонентів фірми «Vostok» (Україна) [50]. |
| ПЗ-1 | Повітрязабірник | 1 | Повітрязабірник фірми «Екафарм» (Україна) Обладнаний металевією сіткою для видалення механічних забруднень [51]. |
| Ф-2 | Фільтр грубої очистки | 1 | Фільтр панельного типу компанії «Технофільтр» (Україна). Фільтроматеріал: поліестр, скловолокно/сітка оцинкована Корпус: оцинкована або н/ж сталь. Е=90 % [52]. |

| | | | |
|-----|---------------------------|---|--|
| К-3 | Компресор | 1 | Компресор GX 7 фірми AtlasCopco (Швеція), потужність 14 л/с, робочий тиск 1 МПа [53]. |
| Т-4 | Теплообмінник-охолоджувач | 1 | Кожухотрубний теплообмінник серії ССФА з нержавіючої сталі виробництва фірми «FUNKE» (Німеччина) [54]. |

| | | | | | | | | |
|-----------|------|---------------|--------|------|-----------|-------------|------|--------|
| | | | | | НУХТ БТЕК | | | |
| Змн. | Лист | № докум. | Підпис | Дата | | | | |
| Розроб. | | Волков О.А. | | | Розділ 6 | Літ | Арк. | Акруші |
| Консульт. | | | | | | | | |
| Керівн. | | Удимович В.М. | | | | Кафедра БТМ | | |
| Н. Контр. | | | | | | | | |
| Зав. каф. | | Пирог Т.П. | | | | | | |

| | | | |
|-----------------------------|--|---|---|
| P-5 | Ресивер | 1 | Ресивер серії ПЗГ 270-600-16-01 фірми ООО «Зелко групп» (Україна), об'єм 270 л, робочий тиск 1,6 МПа [55]. |
| T-6 | Теплообмінник-нагрівач | 1 | Кожухотрубний теплообмінник типу С200 виробництва фірми «FUNKE» (Німеччина) [56]. |
| Ф-7 | Фільтр тонкої очистки | 1 | Фільтр компактний ФТОП-М компанії «Технофільтр» (Україна). Фільтроматеріал: мікроскловолокно Корпус: алюміній, оцинкована або н/ж сталь. Е=99,996 % [57]. |
| M-8 | Сіп-мийка | 1 | Безрозбірна циркуляційна СІР-мийка фірми «Інохра» (Іспанія) [58]. |
| Н-9 Н-27 Н-29 Н-37 | Відцентровий насос | 4 | Насос відцентровий, типу К50-32-250, Продуктивність 12,5 м ³ /год, потужність двигуна 5,87 кВт [59]. |
| P-11 | Реактор-змішувач для Виготовлення композиції А для вирощування посівного матеріалу в інокуляторі | 1 | Реактор-змішувач фірми Zeta (Австрія) оснащений перемішуючим пристроєм. Загальний об'єм 40 л [60]. |
| ФР-12 | Ферментер (Інокулятор) | 1 | Інокулятор об'ємом 60 л фірми Zeta (Австрія) [60]. |
| ЗП-13 | Засівний пристрій | 1 | Засівний пристрій для внесення посівного матеріалу в інокулятор в стерильних умовах, Робочий об'єм 2000 мл. |
| Ф-14 Ф-21 Ф-34 | Фільтри індивідуальної очистки | 3 | Фільтри НЕРА компанії «Технофільтр» (Україна). Фільтроматеріал: мікроскловолокно Корпус: пластик, алюміній, оцинкована або н/ж сталь Е=99,9995 % [61] |
| P-16 | Реактор-змішувач для Виготовлення композиції А для вирощування посівного матеріалу в посівному апараті | 1 | Реактор-змішувач фірми Zeta (Австрія) оснащений перемішуючим пристроєм. Загальний об'єм 630 л [60]. |
| P-18 | Реактор-змішувач для Виготовлення композиції В для вирощування посівного матеріалу в посівному апараті | 1 | Реактор-змішувач фірми Zeta (Австрія) оснащений перемішуючим пристроєм. Загальний об'єм 100 л [60]. |

| | | | |
|--------|---|---|---|
| P-19 | Реактор-змішувач для стерилізації композиції В для вирощування посівного матеріалу в посівному апараті | 1 | Реактор-змішувач фірми Zeta (Австрія) оснащений паровою сорочкою та перемішуючим пристроєм. Загальний об'єм 100 л [60]. |
| ФР-20 | Ферментер (Посівний апарат) | 1 | Посівний апарат фірми SartoriusStedinSystemsGmbH об'ємом 1,25 м ³ (Німеччина) [62] |
| P-23 | Реактор-змішувач для виготовлення композиції В для вирощування посівного матеріалу для виробничого біосинтезу | 1 | Реактор-змішувач фірми Waldner Process Systems оснащений перемішуючим пристроєм. Загальний об'єм 1 м ³ [63]. |
| P-24 | Реактор-змішувач для стерилізації композиції В для вирощування посівного матеріалу для виробничого біосинтезу | 1 | Реактор-змішувач фірми Waldner Process Systems оснащений паровою сорочкою та перемішуючим пристроєм. Загальний об'єм 1 м ³ [63]. |
| P-26 | Реактор-змішувач для виготовлення композиції А для виробничого біосинтезу | 1 | Реактор-змішувач фірми Waldner Process Systems оснащений перемішуючим пристроєм. Загальний об'єм 12,5 м ³ [63]. |
| УБС-28 | УБС-5 | 1 | Установка безперервної стерилізації, продуктивність 5 м ³ . |
| P-31 | Реактор для подачі рідких компонентів | 1 | Ємність для зберігання сумішей фірми Waldner Process Systems. Загальний об'єм 1 м ³ [63]. |
| Н-32 | Насос шестиригчатий | 1 | Шестиригчатий насос фірми "NETPOM" (Турція), продуктивність 10 м ³ /год [64]. |
| ФР-33 | Ферментер | 1 | Ферментер фірми SartoriusStedinSystemsGmbH об'ємом 25 м ³ (Німеччина) [62] |
| P-36 | Реактор-змішувач для виготовлення сумішу соляної кислоти | 1 | Реактор-змішувач фірми Zeta (Австрія) оснащений перемішуючим пристроєм. Загальний об'єм 30 л [60]. |

Специфікація обладнання ділянки після ферментаційних робіт

| Позиція | Найменування | Сума | Технічна характеристика (виробник) |
|---------|------------------|------|---|
| 1 | 2 | 3 | 4 |
| P-29 | Реактор-змішувач | 1 | реактор компанії «Біотехно» з нерж сталі з турбінною мішалкою |

| | | | |
|---------------|---------------------------------|----------|---|
| | | | закритого типу. Потужність реактора становить 0,75 кВт, частота обертів 25-1500 об/хв..4 |
| Н-30 | Насос | 1 | Насос відцентровий Debem MB 120. Продуктивність 25,0 м ³ /год, матеріал поліпропілен (PP/PVDF). Виробник: «Debem» (Україна). |
| БВФ-31 | Барабанний вакуум фільтр | 1 | Производитель: ООО "УКР-КОНТАКТ" Вакуум-фільтр БОК20-2,6 из коррозионностойкой стали |
| З-32 | Збірник | 1 | |
| РС-33 | Розпилювальна сушарка | 1 | Розпилювальна сушарка Nano Spray Dryer B-90 НР. Напруга живлення 100 - 240В ± 10 %. Нержавіюча сталь |
| Др-35 | Дробарка кульова | 1 | Мakita EFS 4200 Румунія, 4200 кВт |
| ФМ-36 | Фасувальна машин | 1 | Фасовочный дозатор весовой для полуавтоматический ВДК-1 пакеты и короба открытого типа от 20 г до 2 кг |
| ПМ-37 | Пакувальна машина | 1 | Горизонтальная Упаковочная Машина HDL-250 Потребляемая мощность 2.4 (кВт) Максимальная производительность 230.0 (шт./мин) |

РОЗДІЛ 7. Опис технологічної схеми

ДР 1. Санітарна підготовка виробництва.

ДР 1.1. Підготовка мийних та дезинфікуючих засобів.

ДР 1.1.1. Приготування суміші їдкого натру.

Каустична сода надходить на рослину в пакетиках у вигляді білого порошку. Для одного циклу прання потрібно 12900 л робочої суміші. Для цього необхідно зважити 258 кг їдкого натру і 12 640 літрів води, які завантажуються в змішувальний реактор об'ємом 16 м³, розташований в підвалі. Суміш готують при температурі 30 - 35 ° С.

ДР 1.1.2. Приготування суміші дезинфікуючого засобу «Хлорамін».

Робоча суміш «Хлорамін» готується в маркованої тарі з будь-яких матеріалів. Для приготування 22 літрів 0,5% робочої суміші необхідно зважити 110 г хлораміну і 21,9 літра води, потім компоненти слід завантажити в 30-літровий реактор-змішувач в підвалі і включити мішалку.

ДР 1.1.3. Приготування суміші дезинфікуючого засобу «Делаксон».

Робоча суміш Делаксон готується в маркованої тарі з будь-яких матеріалів. Для приготування 22 літрів робочої суміші необхідно відміряти 1,1 літра її концентрату і 20,9 літра води за допомогою мірного циліндра, а потім подати компоненти в 30-літровий контейнер в підвалі і перемішати їх.

Др 1.1.4. Приготування суміші дезинфікуючого засобу "Гембар".

Робоча суміш «Гембар» готується в маркованих контейнерах з будь-яких матеріалів. Для приготування 22 літрів робочої суміші, 440 мл її концентрату і 21,6 літрів води необхідно відміряти, зважені компоненти слід подати в 30-літровий контейнер в підвалі і змішати.

| Змн. | Лист | № докум. | Підпис | Дата | НУХТ БТЕК | | | |
|-----------|------|---------------|--------|------|-----------|-------------|------|--------|
| Розроб. | | Волков О.А. | | | Розділ 7 | Літ | Арк. | Акруші |
| Консульт. | | | | | | | | |
| Керівн. | | Удимович В.М. | | | | Кафедра БТМ | | |
| Н. Контр. | | | | | | | | |
| Зав. каф. | | Пирог Т.П. | | | | | | |

ДР 1.2. Підготовка виробничих приміщень.

ДР 1.2.1. Щоденне прибирання.

Під час щоденного прибирання проводиться миття підлоги 0,5%-им сумішом мийно-дезінфікувального засобу «Хлорамін» (Від ДР 1.1.2.) або «Делаксон» (Від ДР 1.1.3.). Один раз на тиждень проводять миття підлоги 0,5 % сумішом мийно-дезінфікувального засобу «Гембар» (Від ДР 1.1.4.).

ДР 1.2.2. Генеральне прибирання.

Під час генерального прибирання, окрім миття підлоги, проводиться також обробка всіх виробничих обладнань та приміщень (двері, стіни, столи, поверхні, обладнання, тара, інвентар, комунікації). Перед обробкою відключають від електричного струму все обладнання та електроприлади. Миття обладнання здійснюється 2%-им сумішом каустичної соди (Від ДР 1.1.1.), а всіх інших поверхонь – 0,5 % сумішом «Гембару» (Від ДР 1.1.4.) Генеральне прибирання проводиться після кожного виробничого циклу. Після закінчення прибирання приміщення закривають на 30–40 хвилин, після чого залишки миючого сумішу видаляють шляхом протирання чистою безворсовою серветкою. Для знезараження повітря після генерального прибирання вмикають бактерицидні лампи. Проводиться прибирання і наведення порядку в шафах, стелажах.

ДР 1.3. Підготовка технологічного обладнання.

ДР 1.3.1. Миття обладнання.

Для миття обладнання застосовують 2%-ий суміш каустичної соди (від ДР. 1.1.1.). Процес проводять використовуючи безрозбірну циркуляційну СІР-мийку (М-9) за рахунок циркуляції води і миючого сумішу всередині апаратів. На сенсорному екрані пульта керування СІР-модуля відображається технологічна схема установки, показники температури, концентрації, швидкості потоку, рівні миючих сумішів в ємностях, стан клапанів, насосів, аварії та ін.

ДР 1.3.2. Ополіскування обладнання.

Після миття обладнання його Треба ополоснути, для цього промивають все обладнання дистильованою водою при температурі 30°C, протягом 10-20 хв.

ДР 1.3.3. Технічний огляд.

Після закінчення процесу миття та ополіскування, обладнання підлягає обов'язковому технічному огляду, який здійснюють з метою виявлення неущільнень в комунікаціях та запірній арматурі на обладнанні. У разі виявлення неущільнень здійснюють підтягування різьбових з'єднань.

ДР 1.3.4. Перевірка на герметичність.

Перевірку на герметичність проводять шляхом створення у апараті тиску 0,02 МПа. Для цього перекривають вентиль подачі повітря і фіксують показання манометра на кришці апарату та час витримки (30-60 хв) в операційному журналі. Якщо падіння тиску не перевищує 0,01 МПа, вважається, що апарат герметичний. Особливу увагу при перевірці приділяють фланцевим з'єднанням та зварним швам. Нещільність в фланцевих з'єднаннях, зварювальних швах знаходяться завдяки галогенових течієпошукачів. Знайдені пропуски усувають і проводять повторну перевірку.

ДР 1.3.5. Стерилізація обладнання.

Стерилізація обладнання здійснюється гострою парою під тиском 0,2 МПа за температури 125 ± 2 °С протягом 40 хвилин. По закінченні стерилізації зупиняють подачу гострої пари, ставлять всі вузли під паровий захист та знижують тиск.

ДР 2. Підготовка аераційного повітря.

Підготовка аераційного технологічного повітря відбувається шляхом очистки повітря на системі фільтрів (фільтр грубого, основного та тонкого очищення) та стабілізації термодинамічних показників (вологість, температура).

ДР 2.1. Забір атмосферного повітря.

Атмосферне повітря забирають через забірну шахту (ПЗ-1) на висоті 30 м.

ДР 2.2. Очищення повітря від пилу та механічних часток.

Попередню очистку повітря здійснюють у фільтрі грубого очищення (Ф-2) зі ступенем очистки $E = 80\%$. Під час проходження повітря через фільтр, пил та механічні частки з повітря осідають, а очищене повітря надходить у турбокомпресор (К-3).

ДР 2.3. Компресування повітря.

Здійснюється у турбокомпресорі (К-3) при тиску 0,4 МПа. При цьому температура повітря піднімається до значення 120 – 250°С. Тому для подальших операцій його Треба охолодити.

ДР 2.4. Охолодження повітря та видалення вологи.

Повітря надходить до теплообмінника (Т-4), де відбувається охолодження стиснутого повітря до температури «точки роси», за якої волога з повітря конденсується і відводиться. Процес охолодження здійснюється до температури 25-40°C.

ДР 2.5. Нагрівання повітря.

Для стабілізації термодинамічних показників повітря подають в ресивер (Р-5), де зайва волога конденсується та відводиться з нижньої частини апарату. Після ресивера повітря підігрівається до температури 45-50°C паром у кожухотрубному теплообміннику (Т-6).

ДР 2.6. Очищення на головному фільтрі.

Очищення повітря проводиться на фільтрі тонкої очистки (Ф-7) до ступеня очищення $E = 99,996\%$. При цьому 2 рази на рік проводиться заміна фільтрувального матеріалу. Але, якщо виявляється інфікування фільтруючого матеріалу, його передчасне зволоження чи забруднення, проводять позачергову зміну.

ДР 2.7. Очищення на індивідуальному фільтрі.

Очищення повітря до $E = 99,999\%$ відбувається на індивідуальних фільтрах тонкого очищення (Ф-14), (Ф-21), (Ф-34) з діаметром пор 0,12 мкм типу НЕРА.

ДР 3. Підготовка титрувальних агентів.

ДР 3.1. Виготовлення 6%-ого сумішу HCl.

Об'єм поживного середовища, в яке Треба вносити соляну кислоту становить 12,3 м³. Потребний об'єм HCl становитиме 25 л (2 мл сумішу соляної кислоти на 1 л поживного середовища). Звідси знаходимо об'єм 36%-ої концентрованої HCl для Виготовлення 6%-ого сумішу: $\frac{25 \cdot 6}{36} = 4$ л Звідси знаходимо об'єм води: 25 л – 4 л = 21 л. Отже, для Виготовлення 6%-ого сумішу HCl завдяки об'ємно-вагового дозатора (Д-35) подають 21 л води і обережно доливають 4 л соляної кислоти в збірник об'ємом 0,03 м³ (Р-36).

ДР 4. Виготовлення та стерилізація поживних середовищ.

Для забезпечення стерильних умов в процесі біосинтезу цільового продукту, проводиться стерилізація поживного середовища. Враховуючи різні фізико-хімічні властивості компонентів середовища, їх розбивають на композиції з різним режимом стерилізації.

ДР 4.1. Виготовлення і стерилізація поживного середовища для вирощування інокуляту в колбах на качалках.

Згідно даних, наведених у таблиці 3.5. Треба отримати 1,7 л посівного матеріалу. Сума поживного середовища для отримання такої кількості посівного матеріалу становить 1,6 л (поз. 2.1.). Загальна Сума води, яку Треба додати становить 1,47 л (поз. 1.7.).

ДР 4.1.1. Виготовлення і стерилізація композиції А.

На технічних вагах зважують 54 г сахарози і 7,7 г глюкози, завдяки мірного циліндра відміряють 52 мл кукурудзяного екстракту. Зважені компоненти поміщають в колбу об'ємом 3 л, додають 1,3 л дистильованої води,

перемішують. Закривають колбу ватно-марлевою пробкою і стерилізують в автоклаві при температурі 112⁰С упродовж 30 хв.

Суміш А: 1292 мл води + 54 г сахарози + 7,7 г глюкози + 52 мл кукурудзяного екстракту = 1,4 л.

ДР 4.1.2. Виготовлення і стерилізація композиції Б.

На технічних вагах зважують 0,7 г *D,L*-Метіоніна. Зважений компонент поміщають в колбу об'ємом 50 мл, додають 16 мл дистильованої води, перемішують. Закривають колбу ватно-марлевою пробкою і стерилізують в автоклаві при температурі 112⁰С упродовж 30 хв.

Суміш Б: 16 мл води + 0,7 г *D,L*-Метіоніна = 16,7 мл.

ДР 4.1.3. Виготовлення і стерилізація композиції В.

На технічних вагах зважують 7,7 г CaCO₃. Зважений компонент поміщають в колбу об'ємом 250 мл, додають 162 мл дистильованої води, перемішують. Закривають колбу ватно-марлевою пробкою і стерилізують в автоклаві при температурі 131⁰С упродовж 40 хв.

Суміш В: 162 мл води + 7,7 г CaCO₃ = 169,7 мл.

ДР 4.1.4. Виготовлення композиції Г.

Завдяки мірного циліндра відміряють 8 мл соєвої олії. Зважений компонент поміщають в колбу об'ємом 25 мл.

Після стерилізації всі компоненти змішують і готове поживне середовище розподіляють по колбам для отримання інокуляту.

ДР 4.2. Виготовлення і стерилізація поживного середовища для вирощування посівного матеріалу в інокуляторі.

Згідно даних, наведених у таблиці 4.8. Треба отримати 33 л посівного матеріалу. Сума нестерильного поживного середовища для отримання такої кількості посівного матеріалу становить 32 л (поз. 5.1.). Загальна Сума води, яку Треба додати становить 29,2 л (поз. 4.7.).

ДР 4.2.1. Виготовлення і стерилізація композиції А.

На технічних вагах зважують 1,18 кг сахарози і 170 г глюкози, завдяки мірного циліндра відміряють 1,1 л кукурудзяного екстракту, на об'ємно-ваговому дозаторі (Д-10) відміряють 25,2 л питної води. Зважені компоненти поміщають у реактор-змішувач об'ємом 40 л (Р-11). Після Виготовлення композиція самоплином подається в інокулятор (ФР-12), де відбувається її стерилізація при температурі 112⁰С упродовж 30 хв.

Суміш А: 25,2 л води + 1,18 кг сахарози + 170 г глюкози + 1,1 л кукурудзяного екстракту = 27,65 л.

ДР 4.2.2. Виготовлення і стерилізація композиції Б.

На технічних вагах зважують 17 г *D,L*-Метіоніна. Зважений компонент поміщають в колбу об'ємом 500 мл, додають 360 мл дистильованої води, перемішують. Закривають колбу ватно-марлевою пробкою і стерилізують в автоклаві при температурі 112⁰С упродовж 30 хв, після чого подають готову композицію в інокулятор.

Суміш Б: 360 мл води + 17 г *D,L*-Метіоніна = 377 мл.

ДР 4.2.3. Виготовлення і стерилізація композиції В.

На технічних вагах зважують 170 г CaCO₃. Зважений компонент поміщають в колбу об'ємом 5 л, додають 3,6 л питної води, перемішують. Закривають колби ватно-марлевою пробкою і стерилізують в автоклаві при температурі 131⁰С упродовж 40 хв, після чого подають готову композицію в інокулятор.

Суміш В: 3,6 л води + 0,17 кг CaCO₃ = 3,75 л.

ДР 4.2.4. Виготовлення композиції Г.

Завдяки мірного циліндра відміряють 200 мл соєвої олії. Зважений компонент поміщають в колбу об'ємом 250 мл, потім подають композицію в інокулятор.

ДР 4.3. Виготовлення і стерилізація поживного середовища для вирощування посівного матеріалу в посівному апараті.

Згідно даних, наведених у таблиці 4.8. Треба отримати 620 л посівного матеріалу. Сума нестерильного поживного середовища для отримання такої кількості посівного матеріалу становить 593,7 л (поз. 8.1.). Загальна Сума води, яку Треба додати становить 541,3 л (поз. 7.7.).

ДР 4.3.1. Виготовлення і стерилізація композиції А.

Завдяки об'ємно-вагового дозатора (Д-15) зважують 22 кг сахарози, 3,2 кг глюкози, 20,4 л кукурудзяного екстракту та 475,8 л питної води. Зважені компоненти завантажують у реактор-змішувач об'ємом 630 л (Р-16), де відбувається перемішування. Потім, завдяки труби перетискання, композиція подається безпосередньо в посівний апарат (ФР-20), де відбувається стерилізація при температурі 112°C упродовж 30 хв.

Суміш А: 475,8 л води + 22 кг сахарози + 3,2 кг глюкози + 20,4 л кукурудзяного екстракту = 521,4 л.

ДР 4.3.2. Виготовлення і стерилізація композиції Б.

На технічних вагах зважують 320 г *D,L*-Метіоніна. Зважений компонент розподіляють між двома колбами об'ємом 5 л, додають 6,7 л питної води. Стерилізують при температурі 112°C упродовж 30 хв, після чого готову композицію завантажують в посівний апарат.

Суміш Б: 6,7 л води + 0,32 кг *D,L*-Метіоніна = 7 л.

ДР 4.3.3. Виготовлення і стерилізація композиції В.

На технічних вагах зважують 3,2 кг CaCO₃, завдяки об'ємно-вагового дозатора (Д-17) відміряють 59,5 л питної води. Зважені компоненти завантажують у реактор-змішувач (Р-18) об'ємом 100 л. Після Виготовлення композицію самоплином подають на стерилізацію у реактор-змішувач (Р-19) об'ємом 100 л. Стерилізують при температурі 131°C упродовж 40 хв, після чого завдяки труби перетискання подають готову композицію в посівний апарат (ФР-20).

Суміш В: 59,5 л води + 3,2 кг CaCO₃ = 62,7 л.

ДР 4.3.4. Виготовлення композиції Г.

Завдяки мірного циліндра відміряють 3,3 л соєвої олії. Зважений компонент поміщають в колбу об'ємом 5 л, після чого подають в посівний апарат.

ДР 4.4. Виготовлення і стерилізація поживного середовища для виробничого біосинтезу.

Згідно даних, наведених у таблиці 4.8. Треба отримати 11 м³ культуральної рідини. Сума нестерильного поживного середовища для отримання такої кількості посівного матеріалу становить 10,14 м³ (поз. 11.1.). Загальна Сума води, яку Треба додати становить 7287,6 л (поз. 10.11.).

ДР 4.4.1. Виготовлення і стерилізація композиції А₁.

Завдяки об'ємно-вагового дозатора (Д-25) Треба зважити 776 кг декстрину, 388 кг кукурудзяного крохмалю, 144 кг (NH₄)₂SO₄, 99,8 кг КН₂РО₄, 33,3 кг сечовини, 66,5 кг D,L-метіоніну, 2,2 кг амілази, 616 л кукурудзяного екстракту, 6753,6 л питної води. Спочатку у реактор-змішувач (Р-26) об'ємом 12,5 м³ завдяки об'ємно-вагового дозатора (Д-25) завантажують декстрин, амілазу та подають 2000 л питної води. Вистояють суміш 1,5 години для розщеплення декстрину амілазою. Потім вносять всі інші компоненти, та подають 4753,6 л питної води. Після Виготовлення композицію завдяки відцентрового насосу (Н-27) подають на стерилізацію в УБС-5 (УБС-28).

Стерилізують при температурі 131 °С упродовж 107 хв. Після стерилізації завдяки стерильного відцентрового насосу (Н-29) композицію подають в ферментер (ФР-33).

Суміш А₁: 6753,6 л води + 776 кг декстрину + 2,2 кг амілази + 388 кг кукурудзяного крохмалю + 144 кг (NH₄)₂SO₄ + 99,8 кг КН₂РО₄ + 33,3 кг сечовини + 66,5 кг D,L-метіоніну + 616 л кукурудзяного екстракту = 8879,4 л.

ДР 4.4.2. Виготовлення і стерилізація композиції В.

Завдяки об'ємно-вагового дозатора (Д-22) зважують 110,9 кг СаСО₃ та 534 л питної води. Зважені компоненти завантажують у реактор-змішувач (Р-23) об'ємом 1 м³. Після Виготовлення композицію стерилізують. Для цього самоплином композиція потрапляє в реактор-змішувач для стерилізації (Р-24) об'ємом 1 м³. Стерилізують при температурі 131°С упродовж 40 хв, після чого використовуючи трубу перетискання композицію подають в ферментер (ФР-33).

Суміш В: 534 л води + 110,9 кг СаСО₃ = 644,9 л.

ДР 4.4.3. Виготовлення композиції Г.

Завдяки об'ємно-вагового дозатора (Д-30) в збірник (Р-31) об'ємом 1 м³ вносять 616 л соєвої олії, яку завдяки шестирнчастого насосу (Н-32) подають в ферментер.

ТП 5. Підготовка посівного матеріалу.

ТП 5.1. Підтримання колекційної культури.

Колекційну культуру *A. chrysogenum* НС-3 зберігають у замороженому стані при -20 °С в суспензії, що містить 20% гліцерину. Всі роботи з колекційною культурою проводять в асептичних умовах.

ТП 5.2. Отримання робочої культури на агаризованих середовищах.

Колекційну культуру розсівають петлею до ізольованих колоній на чашки Петрі із сусло-агаром і вирощують при температурі 28 °С 5-7 діб.

ТП 5.3. Вирощування інокуляту на агаризованих середовищах.

Отримані Ізольовані колонії пересівають петлею, в асептичних умовах, у пробірці зі скошеним середовищем такого складу г/л:

- сусло (12°) 200
- мальтоза 40
- пептон 10
- агар 17

рН 7,0

Одна ізольована колонія використовується для засіву однієї пробірки. Засіяні пробірки вирощуються в термостаті при температурі 28 °С протягом 5-7 діб.

ТП 5.4. Вирощування інокуляту в колбах на качалках.

Весь процес проводиться в строго асептичних умовах. У попередньо простерилізовану колбу об'ємом 2 л зливають 1,4 л композиції А від ДР 4.1.1, 16,7 мл композиції Б від ДР 4.1.2, 170 мл композиції В від ДР 4.1.3 та 8 мл композиції Г. Отримане середовище, завдяки колби, розливають приблизно по 130 мл у 12 стерильних качалочних колб, об'ємом 750 мл.

У пробірку з робочою культурою *A. chrysogenum* НС-3 від ТП 5.3, вносять 3 мл фізіологічного сумішу, що містить 0,1% (по об'єму) Твін-80, суспендують клітини та вносять в колби з розлитим поживним середовищем. Для засіву однієї колби використовують бактеріальну суспензію однієї пробірки.

Посівний матеріал вирощують на качалках (240 об/хв) упродовж 84 год при температурі 28 °С.

ТП 5.5. Вирощування посівного матеріалу в інокуляторі об'ємом 60 л.

В інокулятор (ФР-12) самоплином подають попередньо приготовану композицію А від Д.Р 4.2.1, де відбувається її стерилізація. Після стерилізації в автоклаві з колб в інокулятор (ФР-12) вносять композиції Б від Д.Р. 4.2.2 та В від ДР 4.2.3, додають

композицію Г від Д.Р 4.2.4. Зі стерильної засівної колби вносять посівний матеріал від ТП 5.4 в засівний пристрій (ЗП-13), після чого посівний матеріал подається в інокулятор. Вмикають перемішуючий пристрій та барботер. Процес культивування проводять за температури 28°C протягом 84 год. Стерильне повітря до інокулятора (ФР-12) надходить через фільтр-індивідуальної очистки (Ф-14).

***ТП 5.6. Вирощування посівного матеріалу в посівному апараті
об'ємом 1,25 м³.***

В посівний апарат (ФР-20) завдяки труби перетискання подають попередньо приготовану композицію А від Д.Р 4.3.1, де відбувається її стерилізація. Після стерилізації в автоклаві з колб в посівний апарат (ФР-20) вносять композицію Б від Д.Р. 4.3.2 та додають композицію Г від Д.Р 4.3.4. Завдяки труби перетискання подають попередньо простерилізовану композицію В від ДР 4.3.3. Через трубу перетискання завантажують посівний матеріал від ТП 5.5. Вмикають перемішуючий пристрій та барботер. Процес культивування проводять за температури 28 °С протягом 84 год.

Стерильне повітря до посівного апарату (ФР-20) надходить через фільтр-індивідуальної очистки (Ф-21).

ТП 6. Біосинтез.

ТП 6.1 Виробниче культивування.

У Попередньо стерилізований ферментер (FR-33) завдяки стерильному відцентрового насоса (Н-29) подає стерилізовану композицію А1 з DR 4.4.1. Після стерилізації через компресійної трубки в ферментере (FR-33) завантажують композицію В з DR 4.4.2 і завдяки зубчастому насосу (Н-32) подають композицію G з DR 4.4.3. Посівний матеріал з ТР 5.6 завантажуються через обжимную трубу. Увімкніть мішалку і барботер. Час вирощування становить 190 годин. Протягом перших 50 годин культивування температуру підтримують на рівні 28 ° С, рН 6,2. Після 50 годин ферментації температура знижується до 25 ° С, з DR 3 подають титри суміш соляної кислоти, яка знижує рН до 5,6 ± 0,05.

У процесі промислового біосинтезу і культивування інокулята зразки культуральної рідини відбирають кожні 4 години, в яких визначають концентрацію антибіотика і біомаси.

Стерильне повітря надходить в ферментер (FR-33) через фільтр індивідуальної очищення (F-34).

ТП 7. Відділення

ТП 7.1 Коагуляція, обробкою флокулянтами міцелію

Завдяки флокуляції осаджуем культуральну рідину Після відділення міцелію в фільтраті міститься 3 – 6% сухих речовин, із яких 30 – 40 % складають мінеральні речовини, а 15 – 30 % цефаласпорину.

ТП 7.2 Фільтрація коагульованогоміцелію в барабаном вакуумфільтрі

Коагульований міцелій відділяють сепарацією або фільтрацією (частіш за все у вакуум-фільтрах циліндричного типу)

ТП 8. Осадження солями важких металлів

Білкові домішки видаляю використовуючи осадження солями полівалентних металів (Al, Fe, Zn). В цих процесах втрати цефаласпорину становлять 5 – 15 %. Після цього цефаласпорин екстрагують органічними сумішниками бутилацетат. На даному етапі важливо витримати рН середовища в межах 1,9 – 2,0. В результаті екстрагування чистота продукту збільшується в 4 – 6 рази. Потім цефаласпорин із бутилацетатного екстракту завдяки сумішу дикарбонату натрію (рН середовища 6,6 – 7,2) сумішяють у воді, отримуючи суміш із 5 – 7 % вмістом сухих речовин і активністю 30000 – 50000 од./мл.

ТП 9. Сушіння

Після виділення й хімічного очищення антибіотика його Треба висушити, тобто вилучити із препарату вільну і зв'язану воду. Звідси більшість антибіотиків тією чи іншою мірою термолабільні, для їхнього висушування застосовують методи, що не приводять до втрати біологічної активності та хімічної структури препарату. Застосуванням розпилювальної сушарки – прогресивний метод при роботі з великими кількостями антибіотика. Суміш антибіотика пневматично розпилюється у камері з протитоком нагрітого повітря. Процес висушування антибіотиків триває кілька секунд, при цьому навіть термолабільні препарати не змінюють свої властивості.

ТП 10. Фасування, маркування

ТП 10.1. Фасування готового препарату

Готовий продукт в блістрі фасують вручну у упаковки по 1 штуці.

ТП 10.2. Маркування

Інформація на маркуванні і в інструкції по застосуванню медичного виробу повинна бути представлена українською мовою відповідно до Закону України «Про засади державної

мовної політики», але додатково може включати і інші мови. Нанесення національного знака відповідності, вказівка найменування та адреси уповноваженого представника виробника в Україні - важливі нововведення щодо маркування виробів, які пройшли оцінку відповідності. Опис знака відповідності затверджено ПКМУ № 1184 від 30.12.2015, в той же час, Технічні регламенти уточнюють вимоги до розмірів знака. Якщо оцінка відповідності проводилася з залученням призначеного органу, то його номер Треба вказується поруч зі знаком.

ЗВ 11. Знешкодження відходів.

ЗВ 11.1. Знешкодження газоподібних відходів.

Для знезараження газоподібних відходів використовується рідкофазне окислення. В цьому випадку відпрацьоване повітря пропускається через суміш $KMnO_4$ або сумішу гіпохлориду.

ЗВ 11.2. Знешкодження рідких відходів.

Для знезараження рідких відходів використовують активний мул в аеротенках. Також таким способом можна знезаражувати і тверді відходи якщо вони є безпечними і не потребують попередньої підготовки.

РОЗДІЛ 8. Контроль виробництва

Таблиця 8.1.

Карта постадійного контролю

| Номер контрольної точки та назва стадії | Об'єкт контролю і показник, що визначається | Засоби та методи контролю | Періодичність перевірки та порядок відбору проб | Нормативна характеристика показника, що визначається |
|---|---|--|---|--|
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| Кх 1.1.1 Виготовлення сумішу каустичної соди | Суміш каустичної соди | Хімічний метод Перевірка концентрації | Після Виготовлення сумішу | Концентрація сумішу 2% |
| Кх 1.1.2 Виготовлення сумішу Хлораміну | Суміш хлораміну | Хімічний метод Перевірка концентрації | Після Виготовлення сумішу | Концентрація сумішу 0,5% |
| Кх 1.1.3 Виготовлення сумішу Делаксону | Суміш Делаксону | Хімічний метод Перевірка концентрації | Після Виготовлення сумішу | Концентрація сумішу 0,5% |
| Кх 1.1.4 Виготовлення сумішу Гембару | Суміш Гембару | Хімічний метод Перевірка концентрації | Після Виготовлення сумішу | Концентрація сумішу 0,5% |
| Кт 1.2.1 Щоденне прибирання | Підлога, чистота | Візуальний огляд | Щоденно, після миття | Чисте приміщення, відсутність бруду та пилу |
| Кт 1.2.2 Генеральне прибирання | Поверхні обладнання, стіни, двері, вікна, чистота | Змиви стерильними тампонами | Раз на місяць під час виробничого процесу після дез.обробки | Чисте приміщення $\tau = 30$ хв |

Продовження табл. 8.1

| | | | | |
|---|--|---|---|--|
| Кт 1.3.1 Миття обладнання | Обладнання та комунікації, чистота | Термометр технічний, манометр технічний, годинник | Під час проведення операції | $t = 45\text{ }^{\circ}\text{C}$ $\tau = 15\text{-}20\text{ хв}$ |
| Кт 1.3.2 Ополіскування | Внутрішня та зовнішня поверхня обладнання та комунікацій | Термометр технічний, годинник | Під час операції | $t = 30\text{ }^{\circ}\text{C}$ $\tau = 20\text{ хв}$ |
| Кт 1.3.3 Технічний огляд | Обладнання, інвентар, комунікації | Візуальний огляд | Під час технічного огляду | Відсутність несправностей |
| Кт 1.3.4 Перевірка на герметичність | Герметичність роботи обладнання, час роботи, тиск | Течієшукач, манометр технічний, годинник | Постійно під час визначення | $p = 0,02\text{ МПа}$ $\tau = 1\text{ год}$ відсутність неущільнень |
| Кт 1.3.5 Стерилізація | Обладнання та комунікації | Манометр технічний, термометр | Температура та тиск визначаються безперервно під час стерилізації | $t = 125 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ $\tau = 40\text{ хв}$ $p = 0,2\text{ МПа}$ |
| Кт 2.1 Забір атмосферного повітря | Висота повітрязабірної труби | Висотомір | Перманентно | $H = 30\text{ м}$ |
| Кт 2.2 Очищення від пилу і механічних часток | Попереднє очищення повітря, ступінь очищення | Перевірка ступеня очищення | Під час очистки повітря в фільтрі грубого очищення | $E = 80\%$ |
| Кт 2.3 Компресування повітря | Стискання повітря | Манометр технічний Термометр | Під час компресування повітря | $P = 0,4\text{ МПа}$ $t = 120\text{-}250\text{ }^{\circ}\text{C}$ |
| Кт 2.4 Охолодження повітря та видалення вологи | Охолодження повітря, температура | Термометр технічний | Після охолодження повітря | $t = 25\text{-}40\text{ }^{\circ}\text{C}$ |
| Кт 2.5 Нагрівання повітря | Нагріте повітря, температура | Термометр технічний | Після нагрівання повітря | $t = 45\text{-}50\text{ }^{\circ}\text{C}$, $W = 40\text{ } \%$ |

Продовження табл. 8.1

| | | | | |
|---|---|--|--|--|
| Кт 2.6 Очищення на головному фільтрі | Очищене повітря, ступінь очищення, перепад тисків | Манометр, перевірка ступеню очищення згідно паспорту фільтра | Після очистки повітря в фільтрі тоного очищення | $E = 99,996\%$ $\delta = 1 \text{ мкм}$ |
| Кт 2.7 Очищення на індивідуальному фільтрі | Очищене повітря, ступінь очищення | Перевірка ступеню очищення згідно паспорту фільтра | Під час очистки повітря на індивідуальному фільтрі | $E = 99,9999\%$ $\delta = 0,12 \text{ мкм}$ |
| Кт, Кх 3.1 Виготовлення 6% сумішу соляної кислоти | Суміш соляної кислоти, концентрація | Хімічний метод Перевірка концентрації | Після приготуванн | $C = 6\%$ |
| Кт 4.1.1 Виготовлення та стерилізація композиції А | Суміш композиції А, Температура, тиск, час стерилізації | Термометр технічний, манометр технічний, годинник | Тиск визначається безперервно під час стерилізації | $t = 112 \text{ }^\circ\text{C}$ $\tau = 30 \text{ хв}$ $p = 0,05 \text{ МПа}$ |
| Кт 4.1.2 Виготовлення та стерилізація композиції Б | Суміш композиції Б, Температура, тиск, час стерилізації | Термометр технічний, манометр технічний, годинник | Тиск визначається безперервно під час стерилізації | $t = 112 \text{ }^\circ\text{C}$ $\tau = 30 \text{ хв}$ $p = 0,05 \text{ МПа}$ |
| Кт 4.1.3 Виготовлення та стерилізація композиції В | Суміш композиції В, Температура, тиск, час стерилізації | Термометр технічний, манометр технічний, годинник | Тиск визначається безперервно під час стерилізації | $t = 131 \text{ }^\circ\text{C}$ $\tau = 40 \text{ хв}$ $p = 0,15 \text{ МПа}$ |
| Кт 4.2.1 Виготовлення та стерилізація композиції А | Суміш композиції А, Температура, тиск, час стерилізації | Термометр технічний, манометр технічний, годинник | Тиск визначається безперервно під час стерилізації | $t = 112 \text{ }^\circ\text{C}$ $\tau = 30 \text{ хв}$ $p = 0,05 \text{ МПа}$ |
| Кт 4.2.2 Виготовлення та стерилізація композиції Б | Суміш композиції Б, Температура, тиск, час стерилізації | Термометр технічний, манометр технічний, годинник | Тиск визначається безперервно під час стерилізації | $t = 112 \text{ }^\circ\text{C}$ $\tau = 30 \text{ хв}$ $p = 0,05 \text{ МПа}$ |

Продовження табл. 8.1

| | | | | |
|---|---|---|---|--|
| Кт 4.2.3 Виготовлення та стерилізація композиції В | Суміш композиції В Температура, тиск, час стерилізації | Термометр технічний, манометр технічний, годинник | Тиск визначається безперервно під час стерилізації | $t = 131\text{ }^{\circ}\text{C}$ $\tau = 40\text{ хв}$ $p = 0,15\text{ МПа}$ |
| Кт 4.3.1 Виготовлення та стерилізація композиції А | Суміш композиції А, Температура, тиск, час стерилізації | Термометр технічний, манометр технічний, годинник | Тиск визначається безперервно під час стерилізації | $t = 112\text{ }^{\circ}\text{C}$ $\tau = 30\text{ хв}$ $p = 0,05\text{ МПа}$ |
| Кт 4.3.2 Виготовлення та стерилізація композиції Б | Суміш композиції Б Температура, тиск, час стерилізації | Термометр технічний, манометр технічний, годинник | Тиск визначається безперервно під час стерилізації | $t = 112\text{ }^{\circ}\text{C}$ $\tau = 30\text{ хв}$ $p = 0,05\text{ МПа}$ |
| Кт 4.3.3 Виготовлення та стерилізація композиції В | Суміш композиції В Температура, тиск, час стерилізації | Термометр технічний, манометр технічний, годинник | Тиск визначається безперервно під час стерилізації | $t = 131\text{ }^{\circ}\text{C}$ $\tau = 40\text{ хв}$ $p = 0,15\text{ МПа}$ |
| Кт 4.4.1 Виготовлення композиції А1 | Нестерильне поживне середовище | Однорідність | Під час операції | $t = 30\text{ }^{\circ}\text{C}$ |
| Кт 4.4.1 Стерилізація композиції А1 в УБС-5 | Стерильне поживне середовище, Температура, тиск, час стерилізації, стерильність | Термометр технічний, манометр технічний, годинник, мікробіологічний контроль | Тиск визначається безперервно під час стерилізації, мікробіологічний контроль після стерилізації | $t = 131\text{ }^{\circ}\text{C}$ $\tau = 107\text{ хв}$ $p = 0,15\text{ МПа}$ відсутність мікробіоти |
| Кт 4.4.2 Виготовлення та стерилізація композиції В | Суміш композиції В Температура, тиск, час стерилізації | Термометр технічний, манометр технічний, годинник | Тиск визначається безперервно під час стерилізації | $t = 112\text{ }^{\circ}\text{C}$ $\tau = 30\text{ хв}$ $p = 0,05\text{ МПа}$ |
| Кт, Км 4.4.3 Виготовлення композиції Г | Соева олія | Мікробіологічний контроль | Мікробіологічний контроль перед подачею компоненту в ферментер | відсутність мікробіоти |

Продовження табл. 8.1

| | | | | |
|---|--|---|--|--|
| <p>Кт, Км 5.4 Вирощування культури в колбах на качалках</p> | <p>Посівний матеріал, тривалість вирощування, температура, частота обертів качалки, мікробіологічна чистота культури</p> | <p>Годинник, термометр технічний, тахометр, мікробіологічний контроль,</p> | <p>Температура і швидкість обертів контролюються перед культивуванням. Мікробіологічний контроль і визначення концентрації біомаси проводять після вирощування.</p> | <p>$t = 28\text{ }^{\circ}\text{C}$ $\tau = 84\text{ год}$ $\omega = 240\text{ об/хв}$ відсутність сторонньої мікробіоти</p> |
| <p>Кт, Кх, Км 5.5 Вирощування ПМ в інокуляторі об'ємом 60 л</p> | <p>Посівний матеріал, рН, тривалість вирощування, температура, частота обертів мішалки, мікробіологічна чистота культури</p> | <p>Датчик рН, датчик рО₂, годинник, термометр, технічний, тахометр, манометр</p> | <p>рН визначають після змішування всіх компонентів поживного середовища в інокуляторі, Температура і швидкість обертання контролюються та підтримуються автоматично весь час вирощування. Мікроскопіювання – в кінці процесу вирощування культури в інокуляторі</p> | <p>рН=6,5 $t = 28\text{ }^{\circ}\text{C}$ $\tau = 84\text{ год,}$ $\omega = 120\text{ об/хв,}$ відсутність сторонньої мікробіоти</p> |
| <p>Кт, Кх, Км 5.6 Вирощування ПМ в посівному апараті об'ємом 1,25 м³</p> | <p>Посівний матеріал, рН, тривалість вирощування, температура, частота обертів мішалки, мікробіологічна чистота культури, концентрація біомаси</p> | <p>Датчик рН, датчик рО₂, годинник, термометр, технічний, тахометр, манометр</p> | <p>рН визначають після змішування всіх компонентів поживного середовища в посівному апараті, Температура і швидкість обертання контролюються і підтримуються автоматично весь час вирощування. Мікроскопіювання – в кінці процесу вирощування культури в посівному апараті</p> | <p>рН=6,5 $t = 28\text{ }^{\circ}\text{C}$ $\tau = 84\text{ год,}$ $\omega = 120\text{ об/хв}$ відсутність сторонньої мікробіоти</p> |

Продовження табл. 8.1

| | | | | |
|---|---|---|---|--|
| <p>Кт, Кх, Км 6.1 Виробничий біосинтез в ферментері об'ємом 25 м3</p> | <p>Посівний матеріал, рН, тривалість вирощування, температура, частота обертів мішалки, кратність подачі повітря, мікробіологічна чистота культури, морфологічна відповідність м/о, концентрація біомаси, концентрація цільового продукту</p> | <p>Датчик рН, датчик рО₂, годинник, термометр технічний, тахометр, витратомір, манометр, метод йодометричного титрування</p> | <p>рН визначають після змішування всіх компонентів поживного середовища в ферментері, і протягом перших 50 годин культивування постійно контролюють його на одному рівні, після 50 години рН знижують. Температура і швидкість обертання контролюються і підтримуються автоматично весь час вирощування. Пробовідбір проводиться кожні 40 год для визначення концентрації антибіотику та концентрації біомаси. Шляхом мікроскопіювання проводиться мікробіологічний контроль на наявність контамінації.</p> | <p>рН1 = 6,2 t1 = 28 °С τ1 = 0-50 год</p> <p>рН2 = 5,6±0,05 t2 = 25 °С τ2 = 50-190 год ω = 120 об/хв відсутність сторонньої мікробіоти кінцева концентрація цефаласпорину – 37 г/л</p> |
|---|---|---|---|--|

8.1 Мікробіологічний контроль.

Зважаючи на те, що культивування грибів *A. chrysogenum* НС-3 з метою Отримання цефаласпорину С проводиться в асептичних умовах, то Треба проводити мікробіологічний контроль на всіх етапах, щоб переконатися у відсутності забруднення.

Кожні 40 годин з ферментера відбирають 20 мл зразка культуральної рідини для аналізу.

Мікробіологічний контроль проводиться двома способами: прямий посів на агарових поживних середовищах і мікроскопія.

Прямий посів проводять шляхом інокуляції культуральної рідини в ізольовані колонії на чашках Петрі з м'ясо-пептони агаром (МПА) для виявлення бактерій, а також з глюкозо-картопляним агаром (ДКА) або сусельним агаром (СА) - грибами і дріжджами.

Для мікроскопії використовуються світловий мікроскоп і подрібнений крапельний препарат.

Виробництво препарату "Дроблена крапля". Препарат готують на знежиреному предметному склі, на яке наноситься невелика крапля дистильованої води. Відповідно до правил асептики з бактеріологічною петлею в воду вносять невелику кількість культуральної рідини, розмішують і накривають покривним склом. Немає необхідності вносити велику кількість культури, отже, препарат буде густим і непридатним для спостереження. Не допускайте утворення бульбашок повітря під покривним склом. Якщо є надлишок води, її видаляють за допомогою фільтрувального паперу. Мікроскопія проводиться з сухою системою, збільшення x40.

При відсутності чужорідної мікрофлори в зразку під час мікроскопії можна побачити клітини *A. chrysogenum* НС-3. Представники цього роду мають розгалужений міцелій. На кінцях довгих тонких конидиеносцев розвиваються циліндричні або еліптичні конідії, які утворюють пучки (рис. 4.2).

Присутність іншої мікрофлори грибів або бактерій не повинно спостерігатися під мікроскопом.

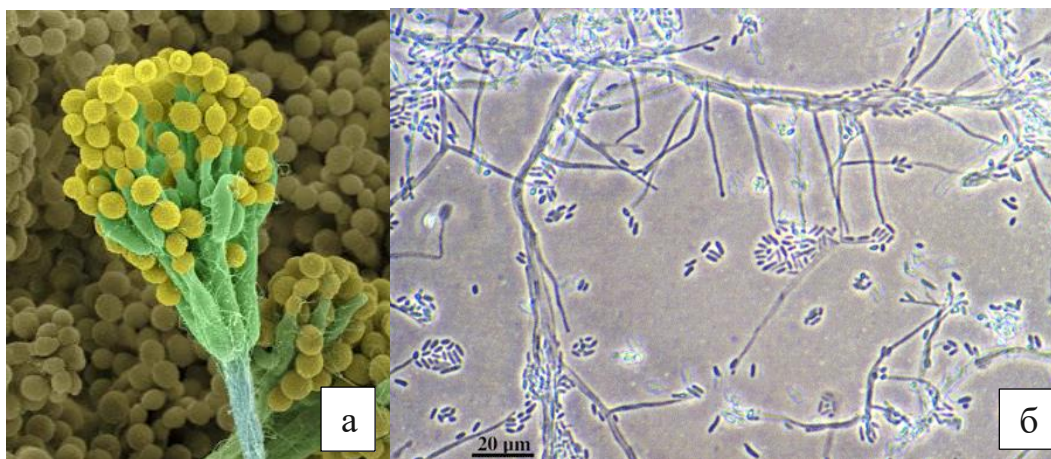


Рис 4.2. Клітини штаму *A. chrysogenum* НС-3 на 24 год культивування у електронному (а) та світловому (б) мікроскопах.

8.2 Визначення концентрації біомаси.

Концентрація біомаси визначається по оптичній щільності суспензії клітин з наступним перетворенням в абсолютно суху біомасу (рис. 4.3.) Відповідно до калібрувальним графіком. Налийте 9 мл дистильованої води в пробірку і додайте 1 мл культуральної рідини. Суміш перемішували і потім вимірювали її оптичну щільність (при 540 нм). Перетворення в суху біомасу здійснюється згідно з графіком калібрування [65].

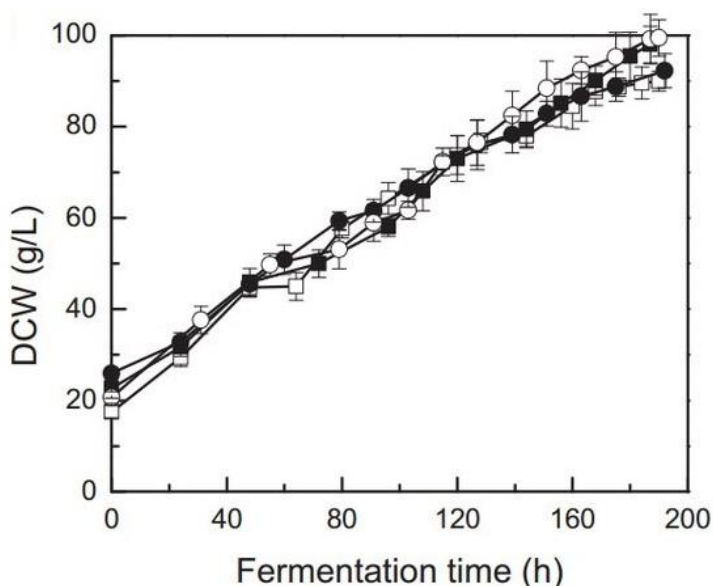


Рис 4.3. Графік залежності концентрації сухої ваги клітин (г/л) від часу культивування (год). DCW – Dry cell weight (суха клітинна вага), Fermentation time – час культивування [36].

8.3. Визначення концентрації синтезованого цефаласпорину С.

Поширений метод визначення кількості цефаласпоринів – йодометричне титрування, що ґрунтується на різному відношенні цефаласпоринів і цефаласпоринових кислот до йоду. З йодом взаємодіють лише цефаласпоринові кислоти, які утворюються з цефаласпоринів у результаті розриву їх β-лактамного кільця під впливом лугів.

Перед початком проведення визначення концентрації антибіотика, зразок культуральної рідини центрифугують при 8000 об/хв протягом 15 хв. В утвореному супернатанті вимірюють концентрацію цефаласпорину С.

Техніка визначення. 1-2 краплі супернатанту сумішують у 100 мл дистильованої води у мірній колбі. 5 мл сумішу переносять у конічну колбу з притертою пробкою місткістю 250 мл, додають 2 мл 1 н. сумішу NaOH і залишають на 20 хв для інактивації цефаласпоринів. Після цього до суміші додають 2 мл 1 н. сумішу соляної кислоти, 5 мл 0,3 М сумішу ацетатного буферу (рН 4,5), 20 мл сумішу йоду (0,01 н.) і залишають на 20 хв у темному місці. Надлишок йоду відтитровують 0,01 н. сумішем тіосульфату натрію до ледь жовтого кольору, потім додають суміш крохмалю і титрують до знебарвлення. У контрольну пробу переносять 5 мл сумішу цефаласпорину, додають 5 мл 0,3 М сумішу ацетатного буферу (рН 4,5) та 20 мл сумішу йоду і залишають на 20 хв у темному місці, після чого надлишок йоду відтитровують 0,01 н. суміш тіосульфату натрію. Різниця в об'ємах між титруванням відповідає вмісту суми цефаласпоринів у препараті. Вміст суми пеніцилінів у препараті розраховується за формулою:

$$X = \frac{e \cdot V \cdot V_r}{a \cdot 5} \cdot 100\%$$

Де, V – різниця в об'ємах 0,01 н. сумішу тіосульфату натрію між контрольним і дослідним титруванням, мл;

V_r – об'єм води, в якому сумішали наважку антибіотика, мл;

e – розмір еквівалента (1 мл 0,01 н. сумішу йоду у грамах стандартного зразка натрієвої солі цефаласпорину в перерахунку на хімічно чисту речовину при температурі 20 °С, e=0,0004055);

а – наважка препарату, г.

За різницею між кількістю йоду, яку було витрачено на титрування сумішу до і після інактивації цефаласпорину С, можна зробити висновок про Сума антибіотика (рис. 4.4.) [66].

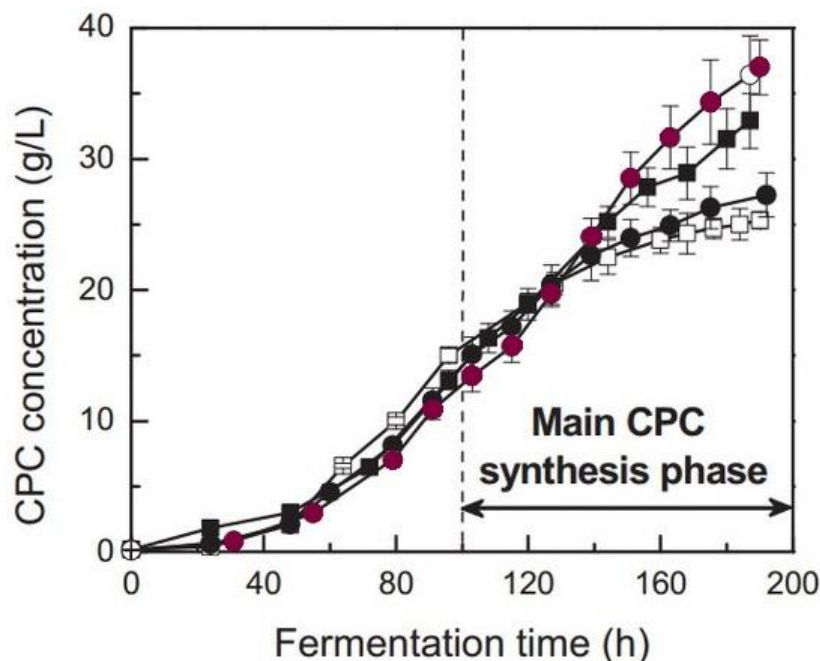


Рис. Графік залежності концентрації антибіотика (г/л) в культуральній рідині від часу культивування (год) – позначено кольором. CPC concentration – концентрація цефаласпорину С, Fermentation time – час культивування [36].

Як бачимо з графіка, найважливіша фаза культивування *A. chrysogenum* НС-3, під час якої накопичується найбільша концентрація антибіотика, а саме 37 г/л, проходить між 100 та 190 годинами культивування.

8.4. Визначення антибіотичної активності цефаласпорину С.

Антибіотична активність цефаласпорина 3 визначається методом радіальної дифузії антибіотика в агар, який був попередньо інокулював тестової культурою.

Метод досить простий і добре демонструє випадок антагоністичних відносин в світі мікроорганізмів. Він заснований на явищі дифузії антибіотика в живильне агарове середовище, в результаті чого створюються несприятливі умови для розвитку відповідної тестової культури.

Основою цього явища є закон Фіка, згідно з яким хімічну речовину поширюється в гелі з утворенням градієнта концентрації. На процес дифузії

антибіотиків впливає значна кількість різних факторів: сама тестова культура, освіта продуктів метаболізму, які також дифундують в агар, і інші. Щоб отримати достовірні результати за цим методом, необхідно дотримуватися таких вимог по його реалізації:

- 1) стандартність живильного середовища за складом;
- 2) однакове фізіологічний стан і кількість тестованої культури.

Суть методу. Налийте 2 шари агаризованому середовища в чашки Петрі - дно без тест-культури, верхній - з суспензією тест-культури в дозі насіння 1 мл агару. Завдяки трафарету під кутом 60 ° встановлюють 6 стерильних циліндрів з нержавіючої сталі або алюмінію (циліндри стандартні - однакової ваги, розмір - 10 мм у висоту і внутрішній діаметр 6 мм). Активність антибіотика визначають шляхом порівняння ступеня пригнічення росту чутливих мікроорганізмів в результаті дії тестованого антибіотика і стандартного зразка у відомих концентраціях.

8,5. Визначення концентрації глюкози.

Визначення концентрації глюкози проводиться методом Бертрана. 0,5-1 мл культуральної рідини з клітинами додають в пробірку і відповідно додають 0,5-1 мл 2 н. соляна кислота. Зразок кількісно переносять в колбу Ерленмейера, додають відповідно 9 мл дистильованої води, потім суміш валки 1 і валки 2 по 10 мл кожна, після чого колбу спочатку кип'ятять протягом 2 хв (точно), вважаючи час від початок кипіння, а потім швидко охолоджують в місці з холодною водою. У охолоджувану колбу вносять 2 г йодистого калію і 15 мл 20% -ної сірчаної кислоти і відразу після цього титрують вивільнений йод 0,1 сумішшю тіосульфату. У момент ослаблення кольору суміші до солом'яно-жовтого додають три краплі індикатора (1% крохмальної суміші), після чого титрування завершується. Закінчення титрування визначається зникненням синього кольору і знебарвлення суміші. Паралельно проводять контрольний експеримент, в якому замість зразка беруть 10 мл дистильованої води. Для контрольної пробою виконуються ті ж операції, що і для пробної пробірки після гідролізу і додавання води [67]

8.6. Визначення концентрації амонійного азоту.

Джерелом азоту в культуральному середовищі *A. chrysogenum* НС-3 є сульфат амонію.

Метод Несслера заснований на утворенні кольорової важкої суміші, коли реагент Несслера (K_2HgI_4) взаємодіє з аміаком в нейтральних або лужних сумішах: $2 HgI_4 + NH_3 + OH = NH_2Hg_2I_3 + 5I + H_2O$. Для визначення аміаку 1 мл реагенту Несслера додають до 1 мл супернатанту культуральної рідини. Коефіцієнт екстинкції вимірюється на довжині хвилі 400-425 нм. Концентрація аміаку визначається відповідно до графіка калібрування.

РОЗДІЛ 9. Автоматизація ділянки виробництва

Автоматизація виробництва - найвищий рівень розвитку техніки, коли регулювання і управління виробничими процесами здійснюються без участі людини, а тільки під його контролем. Сучасний стан розвитку автоматизації виробництва призвело до появи якісно нової системи технологічних машин із засобами управління, заснованими на використанні електронних комп'ютерів, програмованих логічних контролерів, інтелектуальних засобів вимірювання і управління, інформаційних інтегрованих промислових мереж. Автоматизація виробництва є одним з основних напрямків науково-технічного прогресу.

В останні роки відбулися значні зміни в масштабах і рівні автоматизації технологічних процесів у фармацевтичному виробництві. Застосовуються новітні вимірювальні, технічні засоби і системи управління на електронній основі.

Також були впроваджені автоматизовані технологічні комплекси, засновані на використанні мікропроцесорної техніки.

Особливо важливо використовувати системи автоматизації в тих фармацевтичних галузях, де персоналу заборонено втручатися в технологічний процес (виробництво стерильних препаратів), а також в тих, де існує загроза здоров'ю персоналу (виробництво вакцин).

Використання сучасних засобів автоматизації та систем дозволяє вирішити такі завдання:

- проводити процес з максимально допустимою потужністю для цього виробництва;
- автоматично з урахуванням безперервних змін технологічних параметрів;
- керувати процесом;
- постійно враховувати динаміку виробничого плану за асортиментом продукції за рахунок швидкого перенастроювання режимів технологічного обладнання;

| | | | | | | | | |
|-----------|------|---------------|--------|------|-----------------|------|--------|--|
| | | | | | НУХТ БТЕК | | | |
| Змн. | Лист | № докум. | Підпис | Дата | Розділ 9 | | | |
| Розроб. | | Волков О.А. | | | | | | |
| Консульт. | | | | | | | | |
| Керівн. | | Удимович В.М. | | | | | | |
| Н. Контр. | | | | | | | | |
| Зав. каф. | | Пирог Т.П. | | | Літ | Арк. | Акруші | |
| | | | | | | | 96 | |
| | | | | | Кафедра БТМ | | | |

Завдання на розробку схеми автоматизації.

| Машина, агрегат, установка | Параметр, місце відбору сигналу | Допустиме значення параметру | Вид автоматизації | Характер контролю управління | Засоби управління та контролю, реалізація управляючої дії |
|-----------------------------------|--|-------------------------------------|--------------------------|--------------------------------------|--|
| Ферментер | Верхній рівень | 2,4 м | Управління | Дистанційне | АРМ оператора |
| | рН в агрегаті | I. 6,2 II. 5,6±0,05 | Контроль | Відображення, сигналізація (звукова) | |
| | | | Регулювання | Підтримання на заданому значенні | |
| | Оберти | 180 об/хв | Регулювання | Підтримання на заданому значенні | |
| | Подача кисню | 0.07-0,09 г О ₂ /л год | Регулювання | Підтримання на заданому значенні | |
| | Температура | I. 28 °С II. 25 °С | Регулювання | Підтримання на заданому значенні | |
| | Нижній рівень | 0,02 ±0,001 м | Управління | Дистанційне | |

Таблиця 9.1

Опис функціональної схеми автоматизації.

Температура в ферментері вимірюється датчиком температури (поз. 5а). Сигнал від датчика подається на контролер, і, в залежності від температури, подача холодної води контролюється регулюючим органом (поз. 5 с), який приводиться в дію електропневматичним перетворювачем 5b.

Верхній і нижній рівні в ферментері контролюються датчиками рівня (Поз. 2а, 2б). Принцип роботи датчиків рівня полягає в тому, що коли вимірюється речовина рухається від низу до верху, коли датчик досягнуто, воно автоматично закривається і відправляє сигнал контролеру. Коли рідина опускається, датчик відкривається.

Також необхідно охарактеризувати середу, важливим показником якої є активна концентрація іонів водню, яка характеризує ступінь кислотності або лужності середовища. У цьому ферментері рН вимірюється датчиком (поз. 3а). Сигнал від датчика надходить на контролер і в залежності від значення рН контролюється подачею суміші соляної кислоти за рахунок приводу 1а.

Після подачі живильного середовища, інокулята в ферментер і коригування рН, необхідно визначити кількість кисню через сенсор. (Поз. 4а). Потім, в залежності від певного рівня, додатковий обсяг кисню подається в середу через клапан подачі (поз. 4b), який регулюється автоматично.

Специфікація на прилади та засоби автоматизації

| Позиція | Параметр | Місце установки | Найменування характеристика приладу | Тип моделі | Завод виготовлювач |
|----------|-------------|-----------------|--|--------------------------|--|
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| 1a | Витрата | На щиті | Електропневмоперетворювач з сигнал 4-20 мА в сигнал 20-100 кПа | Dwyer серія 2700 | СВ Альтера м. Київ |
| 2a 2б | Рівень | По місцю | Електромагнітний регулюючий клапан | | СВ Альтера м. Київ |
| 3a | pH | По місцю | Для вимірювання pH водних сумішів у стаціонарних умовах промислового підприємства | pH-101П | ООО Компанія «Хімснабжени е» м. Харків |
| 4a | Рівень | В агрегаті | Контактний датчик рівня, з вихідним сигналом по напрузі | SITRNS L Pointek CLS 200 | ДП «Сименс Україна» м.Київ |
| 4б | Рівень | На щиті | Електропневмоперетворювач з сигнал 4-20 мА в сигнал 20-100 кПа | Dwyer серія 2700 | СВ Альтера м. Київ |
| 5a | Температура | В агрегаті | Датчик термоперетворювач опору ТСП, НСХ-Pt100, діапазон (0 – 100)°С, з уніф. вих. сигнал 4...20 мА | ТСП-0193-01 | СВ Альтера м. Київ |
| 5б | Температура | На щиті | Електропневмоперетворювач з сигнал 4-20 мА в сигнал 20-100 кПа | Dwyer серія 2700 | СВ Альтера м. Київ |

Використана література

Ельперін І.В. Автоматизація виробничих процесів: підручник / І.В.Ельперін, О.М.Пупена, В.М.Сідлецький, С.М.Швед. – Вид. 2-ге виправлене – К.: Вид. Ліра-К, 2015. – 378 с.

Ладанюк, А.П. Автоматизація технологічних процесів і виробництв харчової промисловості / А.П. Ладанюк, В.Г. Трегуб, І.В. Ельперін, В.Д. Цюцюра. – К.: Аграрна освіта, 2001. – 221 с.

Ельперін, І.В., Швед С.М. Автоматизація систем управління технологічними процесами: Конспект лекцій до вивчення дисципліни для студентів спеціальності 6.08040 «Інформаційні управляючі системи та технології напряму підготовки 0804 «Комп'ютерні науки» - КбНУХТ, 2007. 71 с.

Трегуб, В.Г. Проектування систем автоматизації: Навч. посібник. – К.: Видавництво Ліра-К, 2014. – 344 с.

1. *Моргун В.В.* Потенціал сорту як основа врожайності пшениці // *Зерно: журнал сучасного агропромисловця.* – травень 2010.

2. *Borlaug N. E. et al.* A Green Revolution Yields a Golden Harvest // *Columbia Journal of World Business.* – 1969. – Vol. 4. – P.9-19.

3. *Hedden P.* The genes of the Green Revolution // *Trends in Genetics.* – 2003. Vol. 19. – P. 5–9.

4. *Jauhar P.* Modern biotechnology as an integral supplement to conventional plant breeding: The prospects and challenges // *Crop science.* – 2006. – V. 46. – P. 1841–1859.

5. *Sramkova Z.* Genetic improvement of wheat – a review // *Nova Biotechnologica* – 2009. – V. 9. – P. 27–51.

6. *Benderradji L. et. al.* Callus induction, poliferation, and regeneration of two bread wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes under saline and heat stress conditions // *Int. Schol. Res. Network.* – 2012. – P. 1-8.

7. *Гончарук О.М., Бавол А.В., Дубровна О.В.* Морфогенез в культур апікальних меристем пагонів високопродуктивних сортів озимої пшениці // *Физиология растений и генетика.* – 2014. – №3, Т. 46. – С. 245 – 251.

8. Пшениця сорту Ятрань 60 [Електронний ресурс] – Режим доступу: <http://agroua.net/plant/catalog/cg-1/c-1/s-563/>

9. *Грицюк Н.В.* Стійкість сортів пшениці озимої проти фузаріозної інфекції

за різних строків ураження//Наукові дослідження. – жовтень 2013.

10. Озима пшениця Подолянка [Електронний ресурс] – Режим доступу: <http://www.semagro.com.ua/info/ozima-pshenicja-podoljanka-333.html>
11. Сельдимирова О. А. Формирование морфогенетического очага как начальный этап морфогенеза *in vitro* в каллюсах различного происхождения у пшеницы // Физиология и биохимия культ. растений. – 2011. – Т. 43. – С. 297–306.
12. Chen Jun-Ying et al. Study on plant regeneration of wheat mature embryos under endosperm-supported culture // *Agricult. Sci. China.* – 2006.
13. Ying-Hua Su. Auxin-cytokinin interaction regulates meristem development// *Mol. Plant.* – 2011. – Vol. 4. – P. 616–625.
14. Бавол А. В. Дослідження впливу тидіазурону на частоту утворення морфогенного калюсу та регенерацію пагонів у культурі *in vitro* м'якої пшениці // Фактори експериментальної еволюції організмів. – 2010. – Т. 9. – С. 129–133.
15. Горбатюк І.Р., Гнатюк І.С., Банникова М.О., Тараненко А.М., Моргун Б.В. Вплив регуляторів росту на регенераційну здатність калюсу м'якої пшениці сорту Зимоярка//Фізіологія рослин та генетика. – № 6. – 2015.
16. Ding L. Optimization of *Agrobacterium*-mediated transformation conditions in mature embryos of elite wheat // *Mol Biol Rep.* – 2009. – Vol. 36. – P. 29-36
17. Delporte F. et al. Morpho-histology and genotype dependence of *in vitro* morphogenesis in mature embryo cultures of wheat // *Protoplasma.* – 2014. Vol. 251. – P. 1455–1470.
18. Круглова Н. Н. Незрелый зародыш пшеницы как морфогенетически компетентный эксплантат // Физиология и биохимия культ. растений. – 2009. – Т. 41. – С. 124–131.
19. Дубровна О. В., Моргун Б.В., Бавол А.В. Біотехнологія пшениці: клітинна селекція та генетична інженерія. – К.: Логос. – 2014. – 375 с.
20. Ahmad A. et al. Shoot apical meristem: *in vitro* regeneration and morphogenesis in wheat (*Triticum aestivum* L.) // *In Vitro Cellular and Developmental Biology.* – 2002. – Vol. 38. – P. 163–167.
21. Wang K. *Agrobacterium Protocols, Second Edition: Volume 2.* – 2ed. – 2006.

22. Бавол А.В., Дубровна О.В., Гончарук О.М., Воронова С.С. *Agrobacterium*-опосередкована трансформація м'якої пшениці з використанням калюсних культур // Фактори експериментальної еволюції організмів: зб. наук. праць. – 2014. – 15. – С. 16–19.

23. Дубровна О.В., Бавол А.В., Зінченко М.О., Гончарук О.М., Лялько І.І. Вплив цефатоксиму на морфогенез у культурі апікальних меристем і зрілих зародків пшениці // Физиология и биохимия культурных растений. – 2012. – 44, № 3. – С. 218–224.

24. Si-Nae Han, Poo-Reum Oh, Hong-Sig Kim, Hwa-Young Heo, Jun Cheol Moon, Sang-Kyu Lee, Kyung-Hee Kim, Yong-Weon Seo, Byung-Moo Lee Effects of antibiotics on suppression of *Agrobacterium tumefaciens* and plant regeneration from wheat embryo // Journal of Crop Science and Biotechnology. – 2007. – 10. – P. 92 – 98.

25. Tang H., Ren Z., Krczal G. An evaluation of antibiotics for the elimination of *Agrobacterium tumefaciens* from walnut of somatic embryos and for the effects on the proliferation of somatic embryos and regeneration of transgenic plants // Plant Cell Rep. – 2000. – 19. – P. 881–887.

26. Горбатюк І.Р., Гнатюк І.С., Банникова М.О., та ін. Позитивний вплив антибіотику тиментину на елімінацію *Agrobacterium tumefaciens* та регенерацію *in vitro* пшениці м'якої *Triticum aestivum* // Фактори експериментальної еволюції організмів. – 2015. – № 7. – С. 136-140.

27. Aram Farzaneh et al. Determine Effective Concentrations of β -lactam antibiotics against three strains of *Agrobacterium tumefaciens* and phytotoxicity on tomato and tobacco // International Journal of Agronomy and Plant Production. – 2013.

28. Panathula S., Mahadev M., Naidu C. The stimulatory effects of the antimicrobial agents Bavistin, Cefotaxime and Kanamycin on *in vitro* plant regeneration of *Centella asiatica* (L.) – An important anti-jaundice medicinal plant // American Journal of Plant Sciences. – 2014. – 5. – P. 279–285.

29. Bannikova M. A., Gorbatyuk I. R., Hnatiuk I. S., Malysheva-Otto L. V., Duplij

V. P. Effect of Ceftriaxone and Timentin antibiotics on morphogenetic processes in the in vitro culture of bread wheat *Triticum aestivum* L. // Biopolymers and Cell. – 2016. – V.32. – N 5. – P. 367-376.

30. Гнатюк І.С., Горбатюк І.Р., Банникова М.О., Моргул Б.В. Синергічна дія антибіотиків тиментину та цефтріаксону на регенерацію *in vitro* пшениці м'якої *Triticum aestivum* // Фактори експериментальної еволюції організмів. – 2016. – № 19. – С. 102-105.

31. Gorbatyuk I.R. Gnatyuk I.S., Bannikova M.A. Effect of antibiotic ceftriaxone on elimination of ABI and GV3101 strains of *Agrobacterium tumefaciens* // Biopolymers and Cell. – 2015. – 31. – N 6. – P. 455–457.

32. Description of *Acremonium* [Електронний ресурс] – Режим доступу: http://www.eol.org/data_objects/16890823.

33. Gohar U. F., Mukhtar H., Ikram H. Studies the nutritional parameters for cephalosporin biosynthesis from *Acremonium Chrysogenum* by submerged fermentation // Pak. J. Bot. – 2013. – № 45. – P. 1058 – 1061.

34. Nigam V. K., Ruchi V., Abhishek K., Subir K., Purnendu G. Influence of medium constituents on the biosynthesis of cephalosporin-C // Electron J Biotechnol. – 2007. – Vol. 10, № 2. – P. 230-239.

35. Hassanein S.H., Nasr M.I., Abd El-Aziz R.M., Elbaz A.F., Malash M.N. Induction of cephalosporin C by *Cephalosporium acremonium* using u.v. light and selection of a mutant that showed highest fermentation capability // Minufiya J. Agric. Rec. – 2009. – Vol. 34, № 1. – P. 3-16.

36. Hongzhen L., Jingshu Z., Guoqiang Y., Yanli Z., Han L., Zhenni H., Zhongping S. Performance improvement of cephalosporin C fermentation by *Acremonium chrysogenum* with DO-Stat based strategy of co-feeding soybean oil and glucose // Process Biochemistry – 2013. – № 9. – P. 1-9.

37. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // Physiol. Plant. – 1962. – Vol. 15. – P. 473–497.

38. Хайтович Н.В. Цефаласпорины при лечении респираторных заболеваний в амбулаторно-поликлинической практике педиатра // Здоровье ребенка. – 2013. – № 1

39. Державна служба статистики України [Електронний ресурс] – Режим доступу: <http://www.ukrstat.gov.ua/>
40. Інструкція для медичного застосування препарату цефтріаксон [Електронний ресурс] – Режим доступу: <http://www.dovgolit.com>
41. Система циркуляційної мойки (CIP-мойка) // [Електронний ресурс]: <http://lakta-service.com/wpcproduct/sistema-cirkulyacionnoj-mojki-4/>
42. CIP-мойка // [Електронний ресурс]: <http://www.attis.com.ua/site/equipment/CIP.html?lang=ru>
43. *Карлаш Ю.В.* Основи проектування біотехнологічних виробництв: Конспект лекцій для студентів напряму 6.051401 «Біотехнологія» денної та заочної форм навчання - К: НУХТ, 2013. – 143 с.
44. Каустична сода // [Електронний ресурс]: <http://tridar.com.ua/proizvodstvennaya-sanitariya-na-pishhevyihpredpriyatiyah/>
45. Інструкція до засобу «Біомой», прайс на ціни мийно-дезинфікувальних засобів // [Електронний ресурс]: <http://farmakos.ua/ua/bimoj.html>
<http://www.triumph.kharkov.ua/price.php>
46. Інструкція до засобу «Гембар» // [Електронний ресурс]: <http://www.attis.com.ua/site/liquid/gembar.html>
47. Інструкція до засобу «Делаксон», прайс на ціни мийно-дезинфікувальних засобів // [Електронний ресурс]: <http://spdmatvienko.com.ua/index.php?productID=673>
<http://www.triumph.kharkov.ua/price.php>
48. Інструкція до засобу «Хлорамін» // [Електронний ресурс]: <http://medpomosh.com/?p=351>
49. Автоклав // [Електронний ресурс]: <http://kiev.prom.ua/p260378227-sterilizator-parovoj-avtoklav.html>
50. Ваги і ваговимірювальне обладнання // [Електронний ресурс]: <http://www.vostok.dp.ua/ukr/>
51. Повітрязабірники // [Електронний ресурс]: <http://ekapharm.com>
52. Повітряні фільтри та фільтраційні системи. Фільтр грубої очистки // [Електронний ресурс]: <http://technofilter.com.ua/#3>
53. Компресор [Електронний ресурс]: <http://www.atlascopco.ua/uaru/>

54. Теплообмінник-охолоджувач [Електронний ресурс]:
<http://funke-ukraine.com.ua>
55. Компресорна техніка. Ресивер повітряний [Електронний ресурс]:
<http://zelko.ua/vozduhopodgotovka/resivery>
56. Теплообмінник-нагрівач [Електронний ресурс]:
<http://funke-ukraine.com.ua/images/katalogi/rbw-ru.pdf>
57. Повітряні фільтри та фільтраційні системи. Фільтр тонкої очистки // [Електронний ресурс]: <http://technofilter.com.ua/#1>
58. Стандартні станції СІП ph // [Електронний ресурс]
<http://www.inoxpa.com/sectors/product/skid-mounted-units-cip-ph/description/pharma-cosmetics>
59. Відцентровий насос [Електронний ресурс]:
<http://electronpo.ru/nasos-k50-32-125>
60. Біореактори та системи ферментації // [Електронний ресурс]:
<http://www.zeta.com/>
61. Повітряні фільтри та фільтраційні системи. Індивідуальний фільтр // [Електронний ресурс]: <http://technofilter.com.ua/#2>
62. *Сидоров Ю. І.* Промислові ферментери // Біотехн. – 2012. – Т.5. – № 3. – с.34.
63. Фармацевтичне та біотехнологічне обладнання // [Електронний ресурс]:
<http://www.waldner-lab.de/en/home.aspx>
64. Шестиренчатий насос [Електронний ресурс]:
<http://www.mecconsult.com.ua/nasosy/specialnue-nasosu.html>
65. *Пирог Т.П.* Загальна мікробіологія./ *Т.П. Пирог.* – К.:НУХТ, 2010. – 632 с.
66. *Безуглий П.О., Українець І.В., Таран С.Г.* Фармацевтична хімія: Навч. посіб. для студ. вищ. фармац. навч. закл. і фармац. ф-тів вищ. мед. навч. закл. III-IV рівнів акредитації. – Х.: Вид-во НФАУ; Золоті сторінки, 2002. – 448 с.
67. Технології мікробного синтезу лікарських засобів: Лабор. практикум для студ. за напрямом підгот. 6.051401 "Біотехнологія" ден. та заоч. форм навчання /Уклад.: *Л.М. Буценко, В.О.Красінько.* – К.: НУХТ, 2011. – 75 с.

- 68.Ельперін І.В. Автоматизація виробничих процесів: підручник / І.В.Ельперін, О.М.Пупена, В.М.Сідлецький, С.М.Швед. – Вид. 2-ге виправлене – К.: Вид. Ліра-К, 2015. – 378 с.
- 69.Ладанюк, А.П. Автоматизація технологічних процесів і виробництв харчової промисловості / А.П. Ладанюк, В.Г. Трегуб, І.В. Ельперін, В.Д. Цюцюра. – К.: Аграрна освіта, 2001. – 221 с.
- 70.Ельперін, І.В., Швед С.М. Автоматизація систем управління технологічними процесами: Конспект лекцій до вивчення дисципліни для студентів спеціальності 6.08040 «Інформаційні управляючі системи та технології напряму підготовки 0804 «Комп'ютерні науки» - КбНУХТ, 2007. 71 с.
- 71.Трегуб, В.Г. Проектування систем автоматизації: Навч. посібник. – К.: Видавництво Ліра-К, 2014. – 344 с.