

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ТЕХНІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ УКРАЇНИ
“КИЇВСЬКИЙ ПОЛІТЕХНІЧНИЙ ІНСТИТУТ ІМЕНІ ІГОРЯ
СІКОРСЬКОГО”

Факультет біотехнології і біотехніки
Кафедра біоенергетики, біоінформатики та екобіотехнології

ДИПЛОМНИЙ ПРОЄКТ

на здобуття ступеня бакалавра за освітньо-професійною
програмою «Біотехнології» спеціальності 162
«Біотехнології та біоінженерія» на тему: «Технологія
біоінсектициду на основі *Metarhizium anisopliae*»

Виконала: Дейнека Ольга Володимирівна

Студентка IV курсу, групи ББ-11

Керівниця проекту: асистентка, докторка філософії Колтишева Діна Сергіївна

Проект захищено з оцінкою _____

Дата захисту 18.06.25р

КИЇВ 2025

НАЦІОНАЛЬНИЙ ТЕХНІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ УКРАЇНИ
«КИЇВСЬКИЙ ПОЛІТЕХНІЧНИЙ ІНСТИТУТ імені ІГОРЯ
СІКОРСЬКОГО»

Факультет біотехнології і біотехніки

Кафедра біоенергетики, біоінформатики та екобіотехнології

До захисту допущено:

Завідуюча кафедри

 Наталія ГОЛУБ

« 03 » 06 2025 р

ДИПЛОМНИЙ ПРОЄКТ

на здобуття ступеня бакалавра за освітньо-професійною
програмою «Біотехнології» спеціальності 162 «Біотехнології та
біоінженерія» на тему: «Технологія біоінсектициду на основі
Metarhizium anisopliae»

Виконала:

студентка IV курсу, групи ББ-11

Дейнека Ольга Володимирівна

Керівниця:

Асистентка, докторка філософії кафедри біоенергетики, біоінформатики та
екобіотехнології

Колтишева Діна Сергіївна

Консультанка з проектування:

Професорка, д.т.н., кафедри біоенергетики, біоінформатики та екобіотехнології

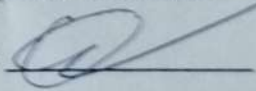
Саблій Лариса Андріївна

Рецензент:

Асистент кафедри промислової біотехнології та біофармації

Зубик Павло Романович

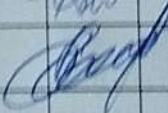
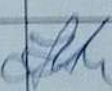
Засвідчую, що у цьому дипломному
проєкті немає запозичень з праць інших
авторів без відповідних посилань.

Студентка 

Київ – 2025 року

ВІДОМІСТЬ ДИПЛОМНОГО ПРОЄКТУ

№ з/п	Формат	Позначення	Найменування	Кількість листів	Примітка
1	A4		Завдання на дипломний проєкт	2	
2	A4	ДП ББ-11.07.000 ПЗ	Пояснювальна записка	103	
3	A1	ДП ББ-11.07.001 ТС	Технологічна схема	1	
4	A1	ДП ББ-11.07.002 АС	Апаратурна схема	2	
5	A1	ДП ББ-11.07.003 ТК	Ферментер	1	

				ДП ББ-1107.000.00		
	ПІБ	Підп.	Дата			
Розробниця	Дейнека О.В.			Відомість дипломного проєкту	Лист	Листів
Керівниця	Колтишева Д.С.				1	103
Консулт.	Саблій Л.А.				КПІ ім. Ігоря Сікорського Каф. ББЕ Гр. ББ-11	
Н/контр.						
Зав.каф.	Голуб Н.Б.					

Національний технічний університет України
«Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського»

Факультет біотехнології і біотехніки

Кафедра біоенергетики, біоінформатики та екобіотехнології

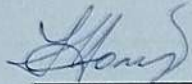
Рівень вищої освіти – перший (бакалаврський)

Спеціальність – 162 «Біотехнології та біоінженерія»

Освітньо-професійна програма «Екологічна біотехнологія та біоенергетика»

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідуюча кафедри

 Наталія ГОЛУБ

«21» квітня 2025 р.

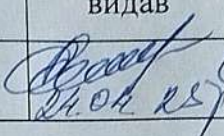
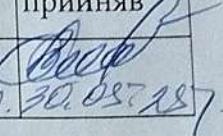
ЗАВДАННЯ

на дипломний проєкт студентці

Дейнеці Ользі Володимирівні

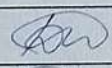
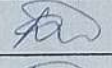
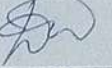
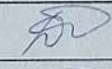
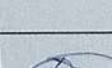
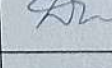
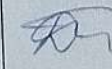
1. Тема проєкту: «Технологія біоінсектициду на основі *Metarhizium anisopliae*». Керівниця проєкту: Колтишева Діна Сергіївна, асистентка, докторка філософії, затверджені наказом по університету від «29» травня 2025р. № 1838-с.
2. Термін подання студентом проєкту 03.06.2025 р.
3. Вихідні дані до проєкту: штам-продуцент *Metarhizium anisopliae* F-52; середовище культивування – на основі глюкози та екстракту дріжджів; ферментер для промислового культивування - об'єм 5 м³; параметри культивування: $t = 28^{\circ}\text{C}$, аерація, $\tau = 144-168$ год, спосіб отримання продукту – центрифугування та сушіння; кінцевий продукт – гранули мікросклероцій у пакетах.
4. Зміст пояснювальної записки: підібрати і охарактеризувати продуцент для виробництва біоінсектициду. Обґрунтувати схему отримання мікросклероцій. Розглянути основні фізико-хімічні характеристики кінцевого продукту та біохімічні основи його виробництва. Скласти матеріальний баланс виробництва, обрати технологічну і апаратурну схему. Обґрунтувати вибір конструкції апарату, здійснити технологічний, конструктивний та тепловий розрахунки.

5. Перелік графічного матеріалу (із зазначенням обов'язкових креслеників, плакатів, презентацій тощо): креслення загального виду ферментеру – 1 арк. А1, технологічна схема – 1 арк. А1, апаратурна схема – 2 арк. А1.
6. Консультантка розділів проекту:

Розділ	Прізвище, ініціали та посада консультанта	Підпис, дата	
		завдання видав	завдання прийняв
Розділ 4	Д.т.н., проф.. Саблій Л.А.	 24.04.25	 30.03.25

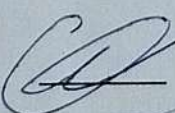
7. Дата видачі завдання 21.04.2025 _____

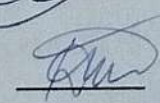
Календарний план

№ з/п	Назва етапів виконання дипломного проекту	Термін виконання етапів проекту	Примітка
1.	Характеристика біологічного агента	21.04.25-30.04.25	
2.	Характеристика сировини	30.04.25-05.05.25	
3.	Біохімічні основи технологічного процесу	05.05.25-10.05.25	
4.	Технологічна частина	11.05.25-25.05.25	
5.	Складання апаратурної схеми	25.05.25-27.05.25	
6.	Розрахунок обладнання для проведення технологічного процесу	27.05.25-30.05.25	
7.	Оформлення пояснювальної записки	01.06.25-02.06.25 р.	
8.	Подання дипломного проекту на рецензування	03.06.25-07.06.25 р.	
9.	Подання дипломного проекту до екзаменаційної комісії	до 18.06.25	

Студентка

Керівниця проекту


Ольга ДЕЙНЕКА


Діна КОЛТИШЕВА

Пояснювальна записка

до дипломного проєкту на тему

«Технологія біоінсектициду на основі *Metarhizium anisopliae*»

Київ 2025

РЕФЕРАТ

Пояснювальна записка: 103 сторінок, 4 таблиці, 2 рисунки, 59 посилань та додаток А.

Метою дипломного проєкту є розробка та проектування технології біоінсектициду на основі мікросклероцій *Metarhizium anisopliae*.

У цьому дипломному проєкті була відібрана і ретельно розроблена технологія виробництва біоінсектициду на основі мікросклероцій *Metarhizium anisopliae*. Біологічним агентом був обраний *Metarhizium anisopliae*, штам F-52, завдяки своїм декільком перевагам: він націлений на різноманітний спектр шкідників, добре пристосований для виживання в ґрунті, сприяє росту і розвитку рослин і вважається безпечним як для людини, так і для навколишнього середовища. В пояснювальній записці окреслюються його характеристики та представляється детальна технологічна схема виробництва біоінсектициду.

Виходячи з фізіологічних і біохімічних характеристик біологічного агента був обраний ферментер об'ємом 5 м³. Він має барботер та турбінну мішалку, що забезпечує оптимальні умови для вирощування. Розраховано річний матеріальний баланс. Технологічні та апаратні схеми накреслені відповідно до вимог до готового продукту.

Технологія виробництва біоінсектициду, отриманого з мікросклероцій *Metarhizium anisopliae*, дотримується екологічних, санітарних та гігієнічних стандартів, а також правил охорони праці.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: БІОМЕТОДИ ЗАХИСТУ РОСЛИН, БІОПРЕПАРАТ, БІОІНСЕКТИЦИД, METARHIZIUM ANISOPLIAE, МІКРОСКЛЕРОЦІЇ, ГЛИБИННЕ КУЛЬТИВУВАННЯ, ФЕРМЕНТЕР

ABSTRACT

Explanatory note: 103 pages, 4 tables, 2 figures, 59 links and appendix A.

The aim of the diploma project is to develop the production technology of bioinsecticide based on *Metarhizium anisopliae* microsclerotia.

In this diploma, the technology for the production of a bioinsecticide based on *Metarhizium anisopliae* microsclerotia was selected and carefully developed. The biological agent chosen was *Metarhizium anisopliae*, an F-52 strain, due to its several advantages: it targets a diverse range of pests, is well adapted for survival in soil, promotes plant growth and development and is considered safe for both humans and the environment. The explanatory note outlines its characteristics and presents a detailed technological scheme for the production of bioinsecticide.

Based on the physiological and biochemical characteristics of the biological agent, a 5 m³ fermenter was selected. It has a bubblers and turbine stirrer, which provides optimal conditions for growing. The material balance is calculated. Technological and hardware diagrams are drawn in accordance with the requirements for the finished product.

The technology for the production of a bioinsecticide derived from *Metarhizium anisopliae* microsclerotics adheres to environmental, sanitary and hygienic standards, as well as occupational safety rules.

KEYWORDS: BIOMETODS OF PLANT PROTECTION, BIOPREPARATION, BIOINSECTICIDE, METARHIZIUM ANISOPLIAE, MICROSCLERATIONS, CULTIVATION, FERMENTER

ЗМІСТ

ВСТУП	6
РОЗДІЛ 1. ХАРАКТЕРИСТИКА СИРОВИНИ, БІОЛОГІЧНОГО АГЕНТА. ОБГРУНТУВАННЯ ТЕХНОЛОГІЇ	99
1.1. Характеристика біологічного агента	9
1.1.1. Систематичне положення	11
1.1.2. Морфолого-цитологічні та культуральні ознаки	12
1.1.3. Поживні потреби.....	14
1.1.4. Тип живлення.....	15
1.1.5. Відношення до кисню.	16
1.1.6. Залежність росту від температури та рН.....	17
1.1.7. Тип енергетичного метаболізму	17
1.1.8. Життєвий цикл	18
1.2. Характеристика сировини	19
1.3 Обґрунтування вибору технології.	22
РОЗДІЛ 2. БІОХІМІЧНІ ОСНОВИ ТЕХНОЛОГІЧНОГО ПРОЦЕСУ	26
2.1. Схема перебігу процесів	26
2.2. Характеристика кінцевого продукту	31
РОЗДІЛ 3. ТЕХНОЛОГІЧНА ЧАСТИНА	37
3.1. Матеріали основні і допоміжні	37
3.2. Контроль виробництва	42
3.3. Матеріальний баланс	48
3.4. Опис технологічного процесу	51
РОЗДІЛ 4. ПІДБІР ТА ХАРАКТЕРИСТИКА ОБЛАДНАННЯ	61
4.1 Базові принципи вибору ферментерів для глибинного культивування	61

					<i>ДПББ1107000ПЗ</i>		
<i>Зм.</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>			
<i>Розроб.</i>		<i>Дейнека О.В.</i>			<i>ЗМІСТ</i>		
<i>Конс.</i>		<i>Саблій Л.А.</i>					
<i>Керівн.</i>		<i>Колтишева Д.С.</i>					
<i>Затверд.</i>							
					<i>Лист</i>	<i>Аркш</i>	<i>Архів</i>
						8	103
					<i>КПІ ім. Ігоря Сікорського,</i>		
					<i>ФБТ</i>		

4.2 Продуктивність та потужність виробництва	63
4.3 Конструктивний розрахунок	65
4.4 Розрахунок мішалки	67
4.5 Розрахунок глибини воронки	67
4.6 Розрахунок потужності.....	68
4.7 Розрахунок барботеру	69
4.8 Тепловий розрахунок	70
4.9 Вибір загальнозаводського обладнання	74
РОЗДІЛ 5. ОХОРОНА ПРАЦІ ТА ОХОРОНА ДОВКІЛЛЯ.....	76
ВИСНОВКИ.....	80
ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	81

					ДПББ1107000ПЗ	Арк.
						5
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

ВСТУП

Протягом 70 років хімічні пестициди були домінуючою стратегією для боротьби з комахами, бур'янами та хворобами рослин. Однак розвиток стійкості шкідників до багатьох хімічних речовин у поєднанні зі зростаючими суспільними побоюваннями щодо негативного впливу широкого застосування пестицидів на здоров'я людини, безпеку харчових продуктів та навколишнє середовище викликали підвищений інтерес до біологічно обґрунтованих методів захисту рослин. [1]

Ринок сільськогосподарських біопрепаратів склав \$13,15 млрд. у 2024 році і, як очікується, досягне \$47,6 млрд. до 2035 року, зростаючи на близько 12,4% між 2025 і 2035.[5]

Біологічні способи контролю [2] зменшили кількість відносно всіх особин шкідників на 63%, збільшивши врожайність сільськогосподарських культур більш ніж на 60%(конкретні типи культур показали різний рівень підвищення врожайності: овочі мали збільшення на 57%, бобові мали збільшення на 61%, злаки - на 36%, а текстильні культури на 29%), і призвели до збільшення кількості природніх ворогів фітофагів(шкідників рослин) на 43% порівняно з використанням синтетичних пестицидів у країнах Африки. Метод, який використовувався для підрахунку кількості шкідників та їх природніх ворогів, включає систематичні методи відбору проб в експериментальних умовах. У дослідженнях, про які йде мова, різні методології були використані для збору даних, хоча конкретні деталі про точні методи підрахунку не наводяться в мета-аналізі. Загалом був проведений комплексний аналіз, який включає ієрархічний мета-аналіз для оцінки ефективності впливу біоконтролю щодо чисельності шкідників та їх природніх ворогів в різних сільськогосподарських умовах.

					ДПББ1107000ПЗ			
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Дейнека О.В.				Лит.	Аркш	Аркшів
Конс.		Садлій Л.А.					10	103
					ВСТУП	КПІ ім. Ігоря Сікорського, ФБТ		
Керівн.		Колтишева Д.С.						
Затверд.								

Є данні про скорочення популяцій шкідників на 73% і збільшення врожайності на 25% за рахунок використання природних хижаків фітофагів[3], ефективність яких підтримується в різних типах культур і кліматичних умовах. Ці результати показують, що широкий спектр біопрепаратів може конкурувати з синтетичними пестицидами в боротьбі зі шкідниками, одночасно підтримуючи екологічну стабільність і стійкість.

Екологічні переваги біопрепаратів додатково висвітлюються дослідженнями, зосередженими на природній динаміці. Було показано[4], що синтетичні пестициди часто не можуть стійко і протягом тривалого часу ефективно регулювати популяцію шкідників. І навпаки, біопрепарати і ентомофаги, такі як мурахи, не тільки діють тривалий час, а й посилюють біорізноманіття.

В кінці 19-го століття було описано інфекції *Metarhizium anisopliae*, відомі як «зелений мускардин». Було запропоновано використовувати цей мікроорганізм як біологічний засіб контролю комах фітофагів. Подальші дослідження показали, що застосування конідій *M. anisopliae* може ефективно усувати личинки травневих хрущів і довгоносиків цукрових буряків через пряме інфікування. З тих пір численні гриби були ідентифіковані і розроблені як біологічні засоби боротьби з різними шкідниками комах і бур'янів.

Інтерес до використання *M. anisopliae* для боротьби з ґрунтовими комахами фітофагами призвів до створення біологічних продуктів захисту. Ці продукти можуть використовувати міцеліальні пеллети з рідких культур, інкапсульований грибковий матеріал, мікросклероції, бластоспори або конідії з твердих субстратів. Вони бувають у рідкій формі або в гранулах, які можуть бути збагаченими поживними речовинами. [1]

Метою виконання дипломного проєкту є розробка технології виробництва біоінсектициду у формі гранул на основі мікросклероцій *Metarhizium anisopliae*.

Для досягнення мети потрібно виконати завдання:

					ДПББ1107000ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		7

- Обрати та обґрунтувати вибір цільового організму, який буде використаний для отримання біоінсектициду.
- Охарактеризувати цільовий мікроорганізм, описати фізіологічно-біохімічні ознаки.
- Обґрунтувати вибір та описати технологію отримання біоінсектициду з цільового організму.
- Охарактеризувати кінцевий продукт.
- Розрахувати технічні показники ферментера для культивування цільового організму.
- Накреслити технологічні, апаратурну схеми та креслення апарату.
- Виконати розрахунок матеріального балансу.
- Навести засади техніки безпеки, заходи охорони праці та навколишнього середовища.

					ДПББ1107000ПЗ	Арк.
						8
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

РОЗДІЛ 1. ХАРАКТЕРИСТИКА СИРОВИНИ, БІОЛОГІЧНОГО АГЕНТА. ОБГРУНТУВАННЯ ТЕХНОЛОГІЇ

1.1. Характеристика біологічного агента

Metarhizium anisopliae дуже універсальний гриб, відомий ефективними впливом на широкий спектр економічно важливих сільськогосподарських шкідників. На відміну від багатьох спеціалізованих агентів біологічного контролю, цей гриб може націлюватися на різні види комах. Він має високу адаптивність до умов навколишнього середовища, що відрізняє його від інших біологічних агентів контролю. Хоча *M. anisopliae* найкраще функціонує при температурі між 25-30°C, він здатний виживати в різних умовах. Ця гнучкість дозволяє ефективно керувати популяціями шкідників у різних сільськогосподарських ландшафтах.

Види *Metarhizium* були ідентифіковані як збудники більш ніж 100 видів комах, особливо впливаючи на різні ґрунтові комахи, такі як *Reticulitermes*, *Coptotermes*, *Diabrotica*, *Otiorhynchus sulcatus*, *Diaprepes abrotatus*, *Popillia japonica* і *Rhizotrogus majalis*. На ефективність засобів захисту рослин, що наносяться на землю, значно впливають фактори навколишнього середовища, які можуть призвести до значних втрат перед тим, як активні інгредієнти почнуть діяти. Саме три основні механізми - змивання, випаровування та фотодеградація впливають на ефективність. Біоконтроль саме комах фітофагів, що живуть у ґрунті, є привабливим, оскільки він обходить згубний вплив УФ-випромінювання на препарати та ймовірно змивання опадами. Крім того, ґрунтові середовища зазвичай демонструють помірніші температури з меншими перепадами і високий рівень вологості, що сприяє виживанню і зростанню багатьох мікроорганізмів, особливо грибів.

Комерційно важливі цілі для цього підходу включають кореневих довгоносиків, ґрунтових фітопатогенних грибів, личинок хрущів європейських, дротяників та плодових мух.

					ДПББ1107000ПЗ				
Зм.	Арк.	№ док.	Підпис	Дата					
Розроб.	Дейнека О.В.				РОЗДІЛ 1. ХАРАКТЕРИСТИКА СИРОВИНИ, БІОЛОГІЧНОГО АГЕНТА. ОБГРУНТУВАННЯ ТЕХНОЛОГІЇ				
Конс.	Саблій Л.А.								
Керівн.	Колтишева Д.С.								
Затверд.									
					Лит.		Аркцш	Аркцшів	
							13	103	
					КПІ ім. Ігоря Сікорського, ФБТ				

Зростаючий інтерес до використання *Metarhizium* для боротьби з комахами, що живуть у ґрунті, призвів до створення різних препаратів на його основі для боротьби зі шкідниками.

Metarhizium spp. традиційно займають друге місце після *Beauveria spp.* з популярності їх застосування в області боротьби з комахами фітофагами; проте, в майбутньому, такий порядок може змінитися. *Metarhizium* також був в центрі уваги молекулярних досліджень з тем вірулентності і специфічності господарів. В даний час це, ймовірно, найбільш досліджений рід ентомопатогенних грибів. [7]

Мікросклероції демонструють високу толерантність до абіотичних стресорів, що робить їх придатними для різноманітних сільськогосподарських умов. Цієї адаптивності не мають звичайні конідії, які потребують охолодження і схильні до швидкої деградації в польових умовах. Також меланізовані клітинні стінки мікросклероцій забезпечують захист від УФ-В-випромінювання та окислювального стресу. Включення гранул мікросклероцій в ґрунт забезпечує розширений захист від підземних шкідників. У випробуваннях проти кліщів *Rhipicephalus microplus*, препарати, що містять мікросклероції, досягли значного зниження кількості паразитів, на 73%, завдяки безперервному виробленню конідій у верхньому шарі ґрунту. Крім того, особливість затримки проростання мікросклероцій, що відповідає життєвим циклам шкідників, забезпечують зараження фітофагів на найбільш вразливих стадіях розвитку.[58, 59]

Штам F52, *Metarhizium anisopliae*, є широко використовуваним штамом для виробництва мікросклероцій через його помітні переваги в промисловій масштабованості та ефективності як біоінсектициду. Цей штам особливо добре підходить для виробництва мікросклероцій, особливо за використання глибинного культивування. Дослідження показали, що мікросклероції F52 ефективно виробляються в середовищах з високим співвідношенням вуглецю до азоту (C: N), таких як 30:1 або 50:1. Хоча більш високі концентрації азоту можуть сприяти більшому накопиченню біомаси, формування

					ДПББ1107000ПЗ	Адк.
						10
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

мікросклероцій залишається незмінним, демонструючи адаптивність штаму до різних композицій середовища. [12, 17]

Мікроклероції, отримані з F52 штаму, демонструють підвищену життєздатність навіть після тривалого сушіння та зберігання. Гранули зберігають високу здатність до подальшого продукування конідій протягом року, дозволяючи їм проростати і розвиватися в ґрунті. [6]

F52 - це універсальний штам, який пройшов польові випробування і довів свою ефективність проти широкого спектру сільськогосподарських шкідників. Сюди входять *Alphitobius diaperinus*, *Tetanops myopaeformis* і азіатські довгоноги *Anoplophora glabripennis*. Цей широкий спектр, в поєднанні з хорошим розповсюдженням в ґрунті, показують F52 як дуже адаптивний варіант для інтегрованих стратегій управління шкідниками. [12]

Крім того, мікросклероції F52 сумісні з рядом носіїв і методами формулювання гранул. Гранульовані продукти, які включають такі носії, як каолінову глину, мікрокристалічну целюлозу або діатомову землю, мають кращі результати застосування. Ці речовини забезпечують сприятливу дисперсність, можливості регідrataції та високий потенціал інфекції після формування конідій. Ці мікросклероціальні гранули демонструють відносно високу стійкість до ультрафіолетового випромінювання в порівнянні з іншими варіантами розмноження і поширення грибів, що робить їх особливо придатними для зовнішніх застосувань. [12, 21]

1.1.1. Систематичне положення

Домен: *Eukaryota*

Царство: *Fungi*

Тип: *Ascomycota*

Клас: *Sordariomycetes*

Порядок: *Hypocreales*

					ДПББ1107000ПЗ	Адк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		11

Сімейство: *Clavicipitaceae*

Рід: *Metarhizium*

Вид: *Metarhizium anisopliae*

Штамп: F52

1.1.2. Морфолого-цитологічні та культуральні ознаки

Морфологічно *Metarhizium anisopliae* має ниткоподібну структуру і може утворювати безстатеві синеми, подібні до тих, що зустрічаються у видів *Cordyceps*.

Генетично *Metarhizium* демонструє значну різноманітність серед своїх штамів. Групи вегетативної сумісності показують, що штамми з різних середовищ або навіть різних видів можуть проявляти незначні генетичні варіації. Крім того, гриб має парасексуальний цикл. [7]

Диплоїдність може виходити з парасексуального циклу грибів, де злиття ядер (каріогамія) відбувається після анастомозу штамів з соматично сумісних груп. На відміну від статевого циклу, злиті ядра в парасексуальному циклі не піддаються мейозу; замість цього вони продовжують мітотично ділитися. Початковий рівень плоїдності відновлюється через випадкову втрату хромосоми, через серію анеуплоїдних інтермедіатів, процесу, що спостерігається, наприклад, в *Candida albicans*. Ця реверсія є поступовим процесом, який розгортається протягом декількох поколінь анеуплоїдії. Парасексуальний цикл зазвичай вимагає сумісних ідентичностей. Репродуктивна ізоляція в парасексуальному циклі підтримується білковими доменами гетерокаріонної несумісності, які запобігають несумісним спробам гіфального злиття. Отже, будь-яке парасексуальне злиття ядер відбувається між тісно пов'язаними і дуже схожими геномами. [30]

Останні досягнення в цитогенетиці стосувалися каріотипінчих варіацій, пов'язаних з парасексуальним циклом. Імпульсно-польовий гелевий електрофорез виявив значні

					ДПББ1107000ПЗ	Адк.
						12
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

хромосомні поліморфізми серед штамів *M. anisopliae*, що вказує на те, що парасексуальність відіграє роль у нестабільності геному та адаптивності. [31]

Геном *M. anisopliae* демонструє значну активність транспозонів і, можливо, що пластичність геному, керованого цими транспозонами, може сприяти парасексуальній рекомбінації всередині цього виду. [32]

Крім того, парасексуальна рекомбінація була функціонально пов'язана з адаптивними ознаками, оскільки рекомбінантні штами демонструють підвищену секрецію ферментів, таких як протеази та амілази. Це підвищення може поліпшити взаємодію хазяїн-патоген, впливаючи на розпізнавання та проникнення в кутикулу комах і підвищити адаптивність до змін навколишнього середовища, розширюючи список таргетних організмів. [33]

Макроскопічна морфологічна характеристика вказує, що більшість ізолятів мають помірно швидке зростання при інкубації за 30 °C. Температура відіграє важливу роль у визначенні швидкості росту міцелію; однак, це може значно відрізнятись серед різних ізолятів.

Що стосується інших характеристик, колонії, як правило, бавовняні за характером поверхні і округлої форми. Їх забарвлення варіюється, відображаючи відтінки від зеленого до темно-зеленого і жовтувато-білого на поверхні, в той час як нижня сторона може представляти відтінки від оранжевого і коричневого до жовтувато-білого. Також деякі ізоляти мають оливково-зелену, порошкоподібну текстуру через рясне спороношення. Пігментація спостерігалася в різних відтінках, включаючи білий, жовтий, коричневий і червоний.

Конідії *Metarhizium spp.* вимірюються між 2,7 до 7,8 мкм в довжину і 0,8 до 2,8 мкм в ширину.

Хоча більшість ізолятів *Metarhizium* можуть активно розмножуватися і виробляти спори на простих середовищах, таких як рис, рисові висівки та різноманітні

					ДПББ1107000ПЗ	Адк.
						13
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

мікробіологічні субстрати, налагодження виробництва спор не є простим аспектом боротьби з комахами фітофагами. Особливо важливо підтримувати суворі стерильні умови протягом всього процесу, оскільки багато інших організмів можуть або домінувати над грибом або негативно впливати на *Metarhizium*. Наприклад, виробництво в Бразилії зіткнулося із забрудненням від виду *Penicillium*, який порушив життєздатність їх *Metarhizium*, потенційно через патулін, вироблений *Penicillium*. [8]

Metarhizium anisopliae найкраще пристосований до життя в ґрунтових умовах. Він може приймати сапрофітний спосіб життя, коли не заражає господарів і має здатність виробляти протеази, які посилюють його взаємодію з комахами.

1.1.3. Поживні потреби

Макроелементи, такі як вуглець, кисень, водень, азот, сірка та фосфор, є важливими компонентами вуглеводів, ліпідів, білків та нуклеїнових кислот. Ці групи речовин безпосередньо або опосередковано беруть участь у взаємодіях хазяїна-збудника(виробляє ферменти, які руйнують кутикулу комах, щоб проникнути і заразити господаря), а також у механізмах самозахисту (комахи реагують імунологічно, активуючи клітинний і гуморальний захист. *M. anisopliae* має механізми для уникнення цього захисту, такі як ген MCL1, що кодує гідрофільний білок, який запобігає адгезії до імунних клітин, допомагаючи грибу уникнути фагоцитозу[57]). Вуглець, зокрема, служить фундаментальним будівельним блоком всіх органічних молекул, джерела вуглецю зазвичай додатково також можуть забезпечувати як кисень, так і водень.

Ступінь росту міцелію та утворення спор на штучних середовищах змінюється залежно від специфічних грибкових ізолятів та компонентів, що використовуються в культуральних середовищах. Хоча сапрофітні гриби можуть використовувати різноманітні джерела поживних речовин, існує зростаюча потреба в простих і економічно ефективних поживних середовищах для підтримки масового виробництва та подальшої комерціалізації.

					ДПББ1107000ПЗ	Адк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		14

Для оптимального росту мікроорганізми повинні отримувати значну кількість азоту, фосфору та сірки, які відіграють роль у синтезі основних факторів росту, таких як амінокислоти, пурини, піримідини та вітаміни. Хоча ці елементи можуть, в деяких випадках, бути отримані з тих же джерел, які постачають вуглець(наприклад, м'яса), мікроорганізми також мають можливість використовувати неорганічні джерела для задоволення своїх харчових потреб. [9]

Дослідження показали, що багате поживними речовинами середовище з співвідношеннями вуглецю до азоту (C: N) 30:1 і 50:1 сприяло швидкому виробленню підвищених концентрацій міросклероцій. [6]

Мінерали є критично важливими для активності ферментів і біосинтезу клітинних стінок. Цинк і залізо служать кофакторами, які необхідні для грибкових ферментативних систем, сприяючи споруляції та зростанню. Магній має значення для синтезу білка, енергетичного метаболізму (включаючи утворення АТФ) та споруляції. Фосфор необхідний для синтезу нуклеїнових кислот і передачі енергії під час метаболізму.

Мікроелементи вже можуть бути присутніми в таких субстратах, як рис і пшеничні та рисові висівки. Хоча додаткові добавки менш поширені в твердофазній ферментації, вони можуть бути включені в середовища для глибинного культивування. У цьому контексті мікроелементи, такі як марганець, мідь, кальцій і кобальт, можуть додаватися в низьких концентраціях. [8, 10]

В цілому, характеристики *Metarhizium anisopliae* підкреслюють його екологічне різноманіття та адаптивність до різних середовищ та взаємодій.

1.1.4. Тип живлення.

Metarhizium anisopliae є гетеротрофним грибом. Він живиться органічними речовинами, що розкладаються, включаючи рослинні рештки та сільськогосподарські побічні продукти. У промисловому виробництві, при твердофазній ферментації або глибинній, цей гриб зазвичай використовує багаті вуглеводами та азотом субстрати, такі

					ДПББ1107000ПЗ	Адк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		15

як рис, пшеничні/рисові висівки, просо або рідкі середовища, що містять глюкозу, екстракт дріжджів або патоку. Він виробляє ферменти, включаючи целюлази і протеази, щоб розкласти складні органічні матеріали в своєму середовищі на більш прості поживні речовини, які він може ефективно поглинати.

Як ентомопатогенний гриб, *M. anisopliae* націлений на комах. Процес починається з прилипання гриба до екзоскелету господаря з подальшим проникненням завдяки ферментам (таким як хітинази і протеази) або механічними способами. Потрапивши всередину, він «витягує» поживні речовини з внутрішніх тканин господаря, споживаючи білки, ліпіди та вуглеводи, а також виділяючи токсини, які призводять до загибелі комах. [10, 11]

1.1.5. Відношення до кисню.

Metarhizium anisopliae, як і інші аеробні гриби, використовує кисень для росту та обмінних процесів, особливо енергоємних, таких як виробництво спор. Специфічні вимоги до кисню можуть змінюватися залежно від використовуваного методу ферментації - твердофазної або глибинної - а також від культуральних умов та типу використовуваного субстрату.

При глибинній ферментації розчинений кисень (РК) у рідкому середовищі має важливе значення для підтримки росту грибів та спороношення. Кисень споживається під час різних обмінних процесів, включаючи утворення конідій або мікросклероцій. Оптимальні рівні РК зазвичай знаходяться в діапазоні від 20% до 80% насичення, що залежить від конкретного штаму і складу середовища. Коли рівень РК падає нижче 10% насичення, ріст грибів і спорокуляція помітно гальмуються, оскільки метаболічні процеси сильно залежать від кисню, що призводить до менш ефективного виробництва біомаси та розмноження.

При твердофазній ферментації доступність кисню залежить від аерації та вибору субстрату. Повітря між твердими частинками служить основним джерелом кисню для

					ДПББ1107000ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		16

росту грибів, оскільки немає рідкої фази для утримання розчиненого кисню. Системи твердофазної ферментації зазвичай підтримують на приблизно 21% насичення киснем. [10, 12]

1.1.6. Залежність росту від температури та рН.

Оптимальна температура для вегетативного росту, споруляції та проростання *M. anisopliae* зазвичай становить між 25°C і 30°C. У цьому діапазоні конідіальне виробництво та метаболізм працюють на найбільш ефективному рівні. Однак зростання значно зменшується за межами цього температурного діапазону:

- Нижче 20 °C ріст грибів сповільнюється через зниження ферментативної активності.
- Вище 35 °C, як грибковий ріст, так і споруляція гальмуються, а конідіальна життєздатність зменшується в результаті теплового стресу.

M. anisopliae також добре працює в слабкокислих до нейтральних умовах рН, з оптимальним діапазоном від 5,5 до 7,5. Найбільш сприятливі спороутворення і конідіальна життєздатність зазвичай зустрічаються при рН від 6,5 до 7,0. Важливо відзначити, що рідкі середовища на основі глюкози або патоки можуть призвести до зниження рН з часом через виробництво метаболічних кислот, що робить необхідним використання буферизації рН, таких як фосфатні буфери. [10, 11, 13, 14]

1.1.7. Тип енергетичного метаболізму

Патогенні гриби комах демонструють універсальний метаболізм, який включає цикл гліюксилату як життєво важливий елемент росту та патогенезу. Під час процесу зараження комах *Metarhizium anisopliae* взаємодіє з різними джерелами вуглецю. Білки, вуглеводи, жирні кислоти та ліпіди містяться на поверхні кутикули комах, в жировому тілі, в гемолімфі та серед гемоцитів комах.

В інших грибів використання неферментованих джерел вуглецю викликає регуляцію циклу гліюксилату, що важливо для клітинного метаболізму та біосинтезу.

					ДПББ1107000ПЗ	Арк.
						17
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Цикл гліюксилату служить модифікованим шляхом циклу трикарбонових кислот. Цей шлях обходить етапи декарбоксилювання циклу Кребса для збереження вуглецю для глюконеогенезу та біосинтетичних процесів, в результаті чого утворюється малат і сукцинат з двох молекул ацетил-КоА. Цей ацетил-КоА може бути отриманий з метаболізму ацетату або з деградації етанолу, жирних кислот або полі- β - гідроксибутирату.

Цикл гліюксилату необхідний для використання сполук, таких як ліпіди або жирні кислоти, що містяться в конідіях, та які можуть становити до 48% сухої ваги у видів *Metarhizium*. Запаси поліолів і трегалози, присутні в конідіях *M. anisopliae*, недостатні для забезпечення енергії, необхідної для проростання. Через цю недостачу, цикл гліюксилату є важливим для мобілізації альтеративних джерел енергії.

Цей цикл активується під час формування апресоріїв і протягом усього патогенезу, але він не активний під час гіфальної проліферації в гемоцелі комах. Ймовірно, що *M. anisopliae* здатний використовувати C2 сполуки, що виділяються при гідролізі внутрішньоклітинних ліпідів у гемоцитах комах. Однак, як тільки гриб успішно ухиляється від фагоцитозу і починає розмножуватися в гемоцелі, цикл гліюксилату пригнічується. Ця репресія, ймовірно, відбувається через цукри, що легко метаболізуються, такі як трегалоза.

Після вичерпання цих цукрів цикл гліюксилату повторно активується для метаболізації більш складних джерел вуглецю, таких як ліпіди та жирні кислоти, під час повторного виникнення гіфів з трупа комах, а потім конідіації. Ці результати показують, що цикл гліюксилату також може мати вирішальне значення під час сапробного росту або колонізації ризосфери рослин. [15]

1.1.8. Життєвий цикл

Гриби *Deuteromycetous* являють собою групу грибів, що характеризуються відсутністю (відомої) статевої стадії. Серед них кілька ентомопатогенних родів, таких як

					ДПББ1107000ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		18

Beauveria, *Fusarium* і *Metarhizium*. Життєвий цикл грибів починається з конідій, які прикріплюються, проростають і проникають в кутикулу комах. Потрапляючи в гемоцель, міцелій розмножується по всьому хазяїну, утворюючи структури, відомі як бластоспори. Загибель комах, як правило, є результатом комбінації факторів, включаючи вплив грибкових токсинів, фізичну непрохідність кровообігу, виснаження поживних речовин та порушення цілісності життєво важливих органів. Після смерті господаря, гіфи зазвичай виходять з тіла мертвої комах, і при відповідних абіотичних умовах конідії виробляються на зовнішній стороні господаря. Ці конідії згодом розсіюються вітром або водою. [16]

1.2. Характеристика сировини

Мікросклероції - це компактні, багаті меланіном агрегати гіфів, що отримують глибинним культивуванням. Морфологічно мікросклероції можуть бути присутні як агломеровані групи клітин. Ці гіфальні агрегати функціонують як природні зимуючі структури для грибів. При регідратації ці агрегати проростають через як гіфальні, так і спорогенні процеси, в результаті чого утворюються конідії, здатні заражати специфічних цільових комах, таких як личинка кореня цукрового буряка, *Tetanops myopaeformis*. Вони високо цінуються у виробництві біоінсектицидів промислового масштабу завдяки їх високій стресостійкості, надійності для довгострокового зберігання (наприклад, у формі гранул) та здатності підтримувати виробництво конідій у цій галузі. У порівнянні з конідіями або бластоспорами, мікросклероції демонструють більшу стійкість до висушування, стабільність зберігання та адаптивність до стресу навколишнього середовища. [1, 7]

Препарати, отримані з мікросклероцій, особливо ефективні для застосування у ґрунтах через їх високу ефективність у польових умовах. Ці препарати служать зернистими ґрунтовими інокулянтами, проростаючи для вивільнення конідій за сприятливих умов.

					ДПББ1107000ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		19

Як правило, утворення мікросклероцій починається протягом 48-72 годин, з піковою врожайністю від 4 до 7 днів, залежно від використовуваного штаму та середовища росту. [12, 17]

Мікросклероції можна вносити в ґрунт у водних суспензіях; однак досягнення ефективного застосування за допомогою стандартного сільськогосподарського обладнання, а також забезпечення належного розміщення та рівномірного розподілу по всій землі, може бути досить складним завданням. Більш практичною альтернативою є використання гранульованого складу, схожого на склади хімічних інсектицидів. Гранульована форма краще підходить для звичайної обробки при посадці.

Цей підхід генерує кілька умовних сфер високих концентрацій мікросклероцій, а потім конідій, що оточують кожен гранулу. Комаха, що проходить через ґрунт, повинна тільки зіткнутися з одною або кількома з цих сфер, щоб отримати інфекційну і потенційно смертельну дозу конідій. Гранули загалом можуть або містити конідії, прилипли до поверхні інертного носія, або мати конідіогенну здатність (як, наприклад, мікросклероції), що дозволяє грибу виробляти значну кількість конідій на поживному носії. Останній метод пропонує перевагу в значному збільшенні кількості гриба, внесеного на територію за допомогою природного розмноження.

Ще однією очевидною перевагою мікросклероцій є здатність проростати при більш низьких рівнях води в порівнянні з гранулами кукурудзяного зерна з конідіями. [17]

Гранули мікросклероцій призвели до значно більш високих показників смертності серед личинок в більш сухих ґрунтах і в більш короткі терміни порівняно з гранулами кукурудзяного зерна з конідіями *M. anisopliae*. Ця підвищена ефективність, ймовірно, пов'язана з швидким проростанням і спорокуляцією гранул мікросклероцій, що призводить до виробництва більш інфекційних конідій. Це підкреслює перевагу гранул мікросклероцій над гранулами, що складаються з поживних субстратів, що містять конідії.

					ДПББ1107000ПЗ	Арк.
						20
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Висушені повітрям гранули мікросклероцій з середовищ з співвідношенням вуглецю до азоту (C: N) як 30:1, так і з 50:1 виробляють порівняно однакову кількість конідій при оцінці відразу після сушіння. Однак після зберігання при 4°C гранули мікросклероцій з середовища зі співвідношенням 50:1 C:N генерували значно більшу кількість конідій на літр ферментативного бульйону.

При оцінці стабільності зберігання висушених повітрям гранул мікросклероцій з різним рівнем вологості, виробництво конідій на літр ферментативного бульйону було значно більшим протягом перших чотирьох місяців зберігання гранул з більш високим вмістом води (2,6-5%), ніж для тих, хто має більш низький рівень вологості (0-2,5%). І навпаки, після 12 місяців зберігання при 4°C гранули з меншим вмістом води показали значно продуктивніше виробництво конідій у порівнянні з більш високим рівнем вологості.

Формування мікросклероцій починається з встановлення невеликих скупчень або агрегатів гіфів. Ці скупчення перетворюються на більш щільні багатоклітинні структури, оскільки окремі гіфи компактні разом. У міру прогресування цього процесу формується перегородка, що призводить до утворення поперечних стінок всередині гіфальних клітин, що створює роздільні секції всередині мікросклероції. [17, 1]

Після септації відбувається меланізація шляхом біосинтезу DHN-меланіну. Ключові ферменти, такі як полікетидсинтаза (ПКС) і лаказа, сприяють відкладенню меланіну в клітинні стінки зовнішніх гіфальних шарів. Цей меланін не тільки підвищує структурну цілісність, але і підвищує стресостійкість. [18, 19]

Під час утворення мікросклероцій метаболічна активність переходить до захисних функцій. Ліпіди накопичуються як запаси енергії, а синтез трегалози регулюється для захисту від висушування та окисного стресу. Крім того, окислювальні сигнали стресу, включаючи активні види кисню, служать тригерами для диференціації. [18, 20]

					ДПББ1107000ПЗ	Арк.
						21
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Як тільки мікросклероції сформувалися в глибинній рідкій культурі, вони відокремлюються від культури для подальшої обробки, наприклад, сушіння та формулювання.

1.3 Обґрунтування вибору технології.

Штами *Metarhizium anisopliae* вибираються на основі їх ефективності у формуванні мікросклероцій, продукуванні конідій та прояві інсектицидних властивостей. Розвиток мікоінсектицидів у межах ентомопатогенного роду *Metarhizium* значною мірою фокусувався на твердофазній ферментації та виробництві повітряних конідій. Однак масове виробництво життєздатних конідій має кілька проблем, такі як: необхідність оптимізації температури, аерації, рівня рН та вологості під час виробництва та збирання врожаю. Крім того, існує потреба у зменшенні твердих відходів, а також мінімізації зусиль праці та часу виробництва.

Глибинне культивування широко розглядається як найбільш економічно ефективний метод для отримання стабільних інфекційних поширювачів різних грибів, які використовують в якості біологічних агентів контролю. Останні дослідження виділили здатність *Metarhizium anisopliae* і *Metarhizium brunneum* генерувати стійкі до висихання мікросклероції в багатих вуглецем середовищах, які продемонстрували значну ефективність в знищенні личинки кореня цукрового буряка, *Tetanops myopaeformis*. [23]

Мікросклероції – це стійкі до висихання структури виживання, що містяться в аскоміцетах та базидіоміцетах. Ці компактні меланізовані структури складаються з твердих гіфів, об'єднаних в частинки розміром від 200 до 600 мкм у межах роду *Metarhizium*. Мікросклероції можуть бути отриманими глибинним культивуванням, що знімає деякі обмеження, пов'язані з твердо фазним культивуванням. Мікросклероції виробляють інфекційні конідії при регідратації.

Умови зберігання мікросклеротій можуть значно впливати на потенціал проростання та конідіальний вихід, на обидва з яких впливають такі фактори, як види

					ДПББ1107000ПЗ	Арк.
						22
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

грибів, штам, формулювання та упаковка. Крім того, тип ґрунту, поряд з різними абіотичними та біотичними умовами, може значно вплинути на життєздатність та доступність конідій.

Ґрунти з меншим вмістом глини і більш високим вмістом піску сприяють виживанню конідій *Metarhizium*. Але температура і вологість є основними факторами, що регулюють життєздатність і вірулентність ентомопатогенних грибів. [22]

Незважаючи на численні спроби сформулювати і застосувати препарати з міцелію або конідій на основі *Metarhizium* в ґрунті, продуктивність була недостатньою для комерційного застосування. Для ефективного досягнення біологічного контролю ґрунтових видів членистоногих за допомогою грибів потрібні більш стійкі грибові форми. Складність ґрунтового середовища означає, що на стійкість і ефективність цих грибових форм впливають різні біотичні та абіотичні фактори. Препарати, що використовують мікросклеротії *Metarhizium*, можуть забезпечити триваліший результат порівняно з тими, що базуються на міцелії або конідіях, а також потенційно знижують ефективну дозу, необхідну на гектар. [23]

Для отримання інокулянту споровий ізолят штаму F52 культивують на картопляному агарі з декстрозою. Агар зі спорами розрізають на пробки 1 мм², які потім зберігають у 10% гліцеролі за температури -80° С.

Конідіальні суспензії отримують з картопляного агару з декстрозою зі спорами промиванням 10 мл водного розчину, що містить 0,04% поліоксиетилену сорбітану моноолеату. [6]

Конідіальний інокулянти отримують культивування на картопляному агарі з декстрозою з конідіальною суспензією з замороженої культури, з подальшою інкубацією при кімнатній температурі протягом двох-трьох тижнів.

Рідке середовище, що використовується для виробництва гіфального інокулянту та міцеліальних суспензій *Metarhizium*, складається з розчину базальних солей, збагаченого

					ДПББ1107000ПЗ	Арк.
						23
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

мікроелементами та вітамінами. Цей визначений розчин базальних солей, що використовується у всіх рідких культурах, містить наступні компоненти на літр деіонізованої води:

- KH_2PO_4 : 4,0 г
- $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$: 0.8 г
- $\text{MgCO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$: 0,6 г
- $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$: 0,1 г
- $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$: 37 мг
- $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$: 16 мг
- $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$: 14 мг
- Тіамін, рибофлавін, пантотенова кислота, нікотинова кислота, піридоксамін і тіоктова кислота: 500 мкг кожен
- Фолієва кислота, біотин і вітамін B12: 50 мкг кожен

Передкультуральне середовище (C:N = 50:1), що використовується для отримання гіфального інокуляту *Metarhizium*, містить базальне середовище, доповнене глюкозою та екстрактом дріжджів. Розчини глюкози автоклавуються окремо від розчину базальних солей і потім додаються до інокуляції.

У дослідженнях, проведених з 100 л біореактором, базальне середовище було доповнено різними комбінаціями глюкози та кислотно-гідролізованого казеїну для досягнення 36 г/л вуглецю та співвідношення C:N 30:1 або 50:1. Крім того, перед автоклавуванням додають 10 мл органічного, не силіконового, поліпропіленового поліефіру. [6, 24]

Гіфальний передкультуральний інокулянти штаму F52 *Metarhizium* готується шляхом культивування дев'яти реплікаційних рідких культур об'ємом 400 мл в 1 л колбах Ерленмейера, використовуючи раніше описане передкультуральне середовище. Культури інкубуються протягом 48 годин при температурі 28 °C і швидкості обертання 300 об/хв

					ДПББ1107000ПЗ	Адк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		24

на роторному шейкері. Інокулянт об'ємом 3 літри потім використовується для введення у біореактор.

Для перевірки наявності контамінації, ферментаційний бульйон сіють на агарові пластини та інкубують протягом 48 годин при 30°C, і візуально перевіряють на бактеріальне забруднення. Мікроклероції *Metarhizium* формуються в біореакторах, з температурою ферментації 28 °C і за постійної аерації та перемішування. Параметри ферментації змінюються під час процесу, зокрема швидкість перемішування (150-400 об/хв) і аерації (20-60 л/хв⁻¹ стерильного повітря). [6, 23]

Мікросклеротія варіюється в розмірах від 100 до 300 мкм, що робить фільтрацію та центрифугування найбільш ефективними методами поділу. Отримана біомаса поєднується з діатомовою землею у співвідношенні ваги 1:1 для досягнення рівномірного розміру частинок. Діатомова земля служить як осушувачем, так і структурним стабілізатором, допомагаючи запобігти грудкуванню під час процесу сушіння.

Отримані коржі з мікросклеротіями мають вологість 70%, далі ці коржі сушаться. Після висихання повітря до 5% вологи, гранули мікросклеротій просівають через сито і вакуумно упаковують в поліетиленові пакети і зберігають при температурі 4 °C. Вміст вологи вимірюється за допомогою аналізатора вологості і повідомляється у відсотках від вологої ваги. [6, 23]

Цільові розміри мікросклеротій зазвичай становлять 200-600 мкм. [23]

					ДПББ1107000ПЗ	Адк.
						25
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

РОЗДІЛ 2. БІОХІМІЧНІ ОСНОВИ ТЕХНОЛОГІЧНОГО ПРОЦЕСУ

2.1. Схема перебігу процесів

Ентомопатогенні гриби мають універсальний метаболізм, який включає цикл гліюксилату як важливий компонент росту, патогенезу та сапробного росту. Ферментативні аналізи підтвердили наявність активності ізоцитрат-ліази у цих грибів, її експресія змінюється залежно від середовища росту. Як правило, *Metarhizium anisopliae* виявляє найвищу ферментативну активність ізоцитрат-ліази, коли використовує сполуки C2, такі як ацетат та етанол, але активність зменшувалась, коли глюкоза або рафіноза служили єдиним джерелом вуглецю. Поєднання глюкози та ацетату призводить до зниження активності ізоцитрат-ліази у *M. anisopliae*, що вказує на виникнення катаболічних репресій. Крім того, активність ізоцитрат-ліази також спостерігалася, коли гриби росли в присутності олеїнової кислоти. Але експресія генів циклу гліюксилату в *M. anisopliae* була репресована в присутності як глюкози, так і ацетату. В цілому, цикл гліюксилату відіграє вирішальну роль у використанні сполук C2. [15]

У грибів формування багатоклітинних структур (мікросклероцій) походить від полярних гіфів. Крім того, гідрофобні характеристики полярних гіфів та адгезія гіфальних клітин теж мають вплив на формування мікросклероцій. Різні фактори сприяють генерації різноманітності клітин під час гіфального розвитку, включаючи сигналізацію G-білка, цитоскелетну поляризацію, екзоцитоз, координовану дію скоротливого кільця актоміозину та цілеспрямоване осадження мембран. Наприклад, інгібування Rho/Rac/CDC42 ГТФаз - членів сімейства G-білків - значно погіршує поляризоване зростання гіфів і знижує продукування мікросклероцій. [25]

У початковій фазі формування мікросклероцій на зовнішній шар клітин осідає пігментована желатинова матриця. На біосинтез пігментів під час формування впливають кілька факторів, включаючи поживні речовини, вік культури та наявність антиоксидантів.

					ДПББ1107000ПЗ				
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата	РОЗДІЛ 2. БІОХІМІЧНІ ОСНОВИ ТЕХНОЛОГІЧНОГО ПРОЦЕСУ	Лит.	Аркцш	Аркцшів	
Розроб.		Дейнека О.В.							
Конс.		Саблій Л.А.					30	103	
						КПІ ім. Ігоря Сікорського,			
Керівн.		Колтишева Д.С.				ФБТ			
Затверд.									

Грибкова пігментація виконує важливі функції, такі як захист від ультрафіолетового випромінювання, забезпечення стійкості до фунгіцидів, підвищення жорсткості клітин і вірулентності, а також захист від тепла.

Різні типи пігментних гранул відкладаються на шкірці зовнішнього шару під час розвитку міросклероцій. Хоча більшість грибкових міцелій, що виробляються в ґрунті є чорними через вироблення меланіну, інкубовані у рідкій культурі, як правило, набувають коричневих або червоних відтінків.

Мультитрофічні системи в основному утворюються у відповідь на виснаження поживних речовин в умовах росту або в несприятливих умовах. Різні фізичні фактори, включаючи рівні заліза, рН, концентрацію кальцію, аерацію та температуру, можуть підвищувати внутрішній молекулярний кисень, тим самим впливаючи на біогенез міросклероцій. У рідкій культурі формування міросклероцій гальмується екзогенними гідроксильними радикалами, тоді як наявність окисників може сприяти їх розвитку.

Іони заліза були визначені як критичний поживний фактор для індукції диференціації міросклероцій. Крім того, систематичні зміни в концентраціях катіонів заліза та кальцію в середовищі культури підвищують внутрішній окислювальний стрес під час розвитку міросклероцій. [25]

Температура служить значним обмежуючим фактором при морфогенезі, проростанні і обмінних процесах грибів. Тепловий стрес може негативно вплинути на проростання конідій, спороутворення та зростання термочутливих ентомопатогенних грибів, викликаючи затримки росту та зменшуючи їх загальну ефективність.

Розвиток клітин у мікробних еукаріотів тісно пов'язаний з генерацією активних (або реактивних) форм кисню (ROS) та регуляцією специфічних антиоксидантних ферментів, включаючи супероксиддисмутази, каталази, пероксидази, глутатіонові пероксидази та пероксиредоксини. Дисбаланс між виробництвом ROS і активністю цих

					ДПББ1107000ПЗ	Адк.
						27
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

антиоксидантних ферментів може призвести до згубного впливу на морфологію клітин, швидкість росту, метаболізм і секрецію білка.

Генерація ROS і отриманий окислювальний стрес пов'язані з дозріванням склероцій у ниткоподібних грибів *Sclerotium rolfii* і *Rhizoctonia solani*, а також з розвитком міцеліальних (мікросклероцій) і мікросклероцій-подібних утворень в ентомопатогенних грибах видів *Metarhizium* і *Beauveria* відповідно.

Крім того, біогенез пероксисом спостерігався в *B. bassiana* при утворенні міцеліальних пелет при вирощуванні в рідкому середовищі, доповненому вуглеводами, а також при формуванні мікросклероцій-подібних структур. Цей біогенез супроводжується індукцією генів-маркерів окисдативного стресу та генів, які кодують пероксини, білки, що відповідають за транспортування білків матриці з цитозолу в люмен пероксисоми.

Гідрофобіни - поверхнево-активні білки, що утворюються ниткоподібними грибами, критично важливі для росту і морфогенетичних процесів. У *Metarhizium anisopliae* ген гідрофобіну *ssgA* пов'язаний з розвитком апресорій.

Для пігментації важливі лаккази і полікетидсинтази. Лаккази, які каталізують перетворення різних сполук при одночасному відновленні молекулярного кисню, існують в декількох ізоформах завдяки своїм різноманітним функціям. У *Metarhizium* ген *Mlac1* експресується під час ізотропного росту і допомагає при абіотичній стресостійкості під час конідіальної пігментації. Лаккази від *M. robertsii* і *M. acridum* (*lac1*, *lac2* і *lac3*) піддаються регуляції при впливі ультрафіолетового випромінювання.

Процес мікросклероціальної диференціації включає принаймні механізм, що викликає окисний стрес, високу активність пероксидази та активний біогенез пероксисом. [26]

Глутамат є попередником біосинтезу пуринових і піримідинових нуклеотидних основ і відіграє життєво важливу роль у різних метаболічних шляхах як донор аміногрупи. Глутамат і глутамін мають важливе значення для регуляції біосинтезу

					ДПББ1107000ПЗ	Адк.
						28
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

глутатіону. Катаболізм глутаміну через шлях глутамінолізу продукує глутамат і меншу кількість аспартату, аланіну, молочної кислоти та пірувату, а також служить субстратом для синтезу ГАМК.

Підвищення рівня аспартату і аргініноянтарної кислоти було відзначено поряд зі зниженням рівня фумарату, що вказує на потенційні проблеми з перетворенням аспартату в фумарат. Це перетворення може відбуватися через два шляхи, один з яких включає проміжний аспартат-аденілосукцинат-фумарат.

Зниження регуляції фумарату може бути результатом відсутності генів або аномальної експресії білків у другому шляху за участю аспартату, аргініноянтарної кислоти та фумарату. Накопичення аргініноянтарної кислоти під час його перетворення в фумарат пов'язане з відсутніми генами або пригніченою експресією білка, що призводить до його регуляції..

У шляху за участю гліцину, серину та треоніну гліцин індукує ослаблення та регуляцію гліюксилату, треоніну та серину, що передбачає інгібування їх перетворень та накопичення сполук далі. Включення гліцину і серину в штам дикого типу під час спороутворення пов'язано з утворенням спорового шару, причому більш високий рівень гліцину, що, ймовірно, впливає на реакцію на високотемпературний стрес, пов'язаний з виробництвом спор і конідій.

Інші метаболіти, такі як олеїнова, лінолева та ліноленова кислоти, є важливими джерелами оксиліпінів у патогенних грибах. Ці важливі сигнальні молекули відіграють значну роль у рості грибів, розмноженні, взаємодії хазяїн-гриб та патогенності, а також пов'язані з синтезом мікотоксинів.

Трегалоза, дисахарид, що міститься в грибкових гіфах і спорах, виробляється в стресових умовах, таких як тепло і висушування, в першу чергу для підтримки плинності мембран і стабільності білка.

					ДПББ1107000ПЗ	Арк.
						29
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Манітол може бути перетворений в манітол-1-фосфат ферментами, такими як манітолкіназа. Таке перетворення призводить до утворення фруктозо-6-фосфату, вступаючи в гліколітичний шлях для енергетичного обміну. Манітол має важливе значення для підтримки осмотичного тиску, підвищення стресостійкості та полегшення взаємодії хазяїн-гриб.

Більшість органічних матеріалів окислюються і деградують під час циклу трикарбонових кислот. Пригнічення цього циклу може зменшити надмірне споживання цих матеріалів, сприяючи біосинтезу спор. Шлях аланіну, аспартату та глутамату, а також гліцин, серин та треонін значно впливають на спороутворення, (особливо при синтезі ненасичених жирних кислот), функції лізосом та метаболізм амінокислот.

Крім того, сполуки, такі як амід, мають вирішальне значення для спороутворення. Зміни рівня основних метаболітів можуть вказувати на їх важливу роль у регулюванні споруляції в *M. anisopliae*. [27]

Терпеноїдні біосинтетичні шляхи мають важливе значення для зв'язку виробництва стеринів, таких як ергостерин, з мембранними компонентами та вторинними метаболітами. Фарнезил-пірофосфат-синтаза та геранілгераніл-дифосфат-синтаза є ключовими ферментами в ізопреноїдному біосинтезі за допомогою шляху мевалонату, що полегшує фарнезилювання білка та геранілгеранілювання, необхідне для активації малих ГТФаз.

Ці ферменти також виробляють прекурсори для різних сполук, включаючи стерини, сесквітерпени та рослинні хлорофіли. Фарнезил-пірофосфат-синтаза діє як фермент, перенаправляючи вуглець в ізопреноїдні шляхи. Коливання рівня цього ферменту впливають на синтез поліпренолу більше, ніж стерини, а мевалонатний шлях служить ключовим шляхом для виробництва терпеноїдів. [28]

Клітинні стінки грибів *Ascomycete* в основному складаються з хітину, альфа/бета-глюканів та галактоманнопротеїнів. Ці полімери синтезуються і деградують

					ДПББ1107000ПЗ	Адк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		30

різноманітним масивом ферментів, відомих як глікозидролази . Серед них хітинази особливо важливі для модуляції клітинної стінки і відіграють ключову роль у деградації хітину шляхом розриву β -1,4-зв'язків. Хітинази поділяються на два сімейства GH, GH18 і GH19, кожна з яких характеризується різними каталітичними механізмами.

Синтез нового біологічного матеріалу в гіфах пов'язаний з підвищенням метаболізму клітинної стінки, а також підвищеною активністю генів, пов'язаних з ДНК і вуглеводним метаболізмом. Багато грибів активують цикл гліюксилату у відповідь на джерела вуглецю, що не ферментуються, і двохвуглецеві сполуки. Вид *M. anisopliae* регулює цикл гліюксилату під час його росту в гемоцитах комах, але він пригнічує цей цикл, коли ухиляється від гемоцитів і проліферує в гемолімфі. Це говорить про те, що *M. anisopliae* може гідролізувати та отримувати енергію з внутрішньоклітинних ліпідів, одночасно зростаючи в гемоцитах комах.

Види *Metarhizium* покладаються не тільки на вторинні метаболіти, але також виробляють кілька секретованих білків, які відіграють значну роль у патогенезі. Наприклад, субтилізиноподібні серинові протеази мають важливе значення для таких процесів, як проникнення в кутикули комах за допомогою аппресоріїв. [29]

2.2. Характеристика кінцевого продукту

Metarhizium anisopliae продукує різноманітні біологічно активні речовини, в першу чергу деструксини, разом з такими ферментами, як хітинази, протеази та ліпази. Крім того, він синтезує різні метаболіти, включаючи ауровертини, похідні геліволової кислоти та сериноцикліни.

Деструксини - це циклічні пептидні токсини, що складаються з п'яти амінокислот і α -гідроксидної кислоти, утворюючи циклічний гексадепсипептид. На сьогоднішній день 35 різних деструксинів були ідентифіковані з різних видів грибів, а *Metarhizium anisopliae* визнаний одним з найпродуктивніших продуцентів. Крім сільськогосподарського

					ДПББ1107000ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		31

значення, деякі дослідження показують, що деструксини можуть стимулювати виробництво еритропоєтину і проявляти протівірусні та протипухлинні властивості. [34]

У великомасштабних процесах ферментації, де рівень аерації перевищує рівень у колбах, токсинів не виявлено. Дослідження показують, що підвищена аерація зменшує вироблення метаболітного свенсоніну *M. anisopliae*. Тобто режим аерації також значно впливає на виробництво деструксину. [35]

Нові вторинні метаболіти також включають ауровертини, які продемонстрували протигрибкову активність. Ці сполуки мають полікетидне походження і мають унікальне 2,6-діоксабіциклове [3.2.1] октанове кільце, яка включає спряжений R-пірон. [36]

Крім того, похідні гел्वолової кислоти також демонструють антибактеріальні властивості, особливо при наявності комах як субстратів. Попередні дослідження показали, що деякі ентомопатогенні гриби, включаючи *M. anisopliae*, збільшують виробництво антибактеріальних сполук при вирощуванні в середовищах, доповнених матеріалами з залишками комах. При виділенні та ідентифікації було підтверджено, що вони складаються з гел्वолової кислоти та її нової похідної, 1,2-дигідрогел्वолової кислоти. Обидві ці сполуки проявляють гальмівну активність проти *S. aureus*. [37]

Сериноцикліни - це циклічні гептапептиди, про які раніше не повідомлялося ні в одному іншому організмі. До сих пір вони були виявлені виключно у відносно невеликих кількостях з *Metarhizium anisopliae*. Сериноцикліни були виявлені тільки в повітряних конідіях *M. anisopliae* та *M. acridum*, у культурах на чашках петрі. [38]

У *M. anisopliae* протеази відіграють вирішальну роль на ранніх стадіях вторгнення, особливо під час фази проникнення. Хоча хітинази індукуються під час деградації білків у захисній кутикулі комах, вони, як правило, вважаються менш важливими в патогенезі порівняно з протеазами у *M. anisopliae*. Однак хітинази були пов'язані з вірулентністю у різних грибів, включаючи *M. anisopliae*. Крім того, повідомлялося, що кілька грибів, включаючи *M. anisopliae*, виробляють кілька позаклітинних ізоферментів хітинази. [39]

					ДПББ1107000ПЗ	Адк.
						32
Зм.	Арк.	№ докum.	Підпис.	Дата		

З точки зору безпеки є важливим проведення оцінки ризику токсичних метаболітів, вироблених грибовими біологічними агентами в поєднанні з методами, середовищами та штамми, що використовуються під час масового виробництва. [35]

Основні культурні параметри, що впливають на формування мікросклеротій, включають:

1. Співвідношення вуглецю до азоту (C: N) : підвищені співвідношення C: N, такі як 30:1 або 50:1, полегшують розвиток мікросклеротії, тоді як менші співвідношення, як правило, сприяють формуванню дисперсного міцелію.

2. Насичення кисню: високий рівень кисню зазвичай підтримує вегетативний ріст, в той час як обмежені кисневі умови викликають стресові реакції, які підвищують диференціацію мікросклеротій.

3. Механічний вплив: надмірний механічний вплив може поставити під загрозу цілісність мікросклеротій або перешкоджати їх утворенню. [6, 23]

Фаза раннього росту (0-24 години): У цій початковій стадії грибовий інокулянт-такий як конідії або фрагменти міцелію - проростають у багатому поживними речовинами рідкому середовищі. Основна увага приділяється насамперед вегетативному росту і розширенню ниткоподібних гіфів.

Агрегація та ініціація мікроклероцій (24-72 години): Оскільки рівень поживних речовин зменшується (характеризується високим співвідношенням вуглецю до азоту) і кисень стає обмеженим, починає відбуватися гіфальна агрегація. Це призводить до утворення сферичних попередників мікросклеротій. На перехід від дисперсного міцелію до мікросклеротичних структур впливають сигнали, пов'язані з рівнем розчиненого кисню та виснаженням поживних речовин. Дозрів зрілі мікросклероції зазвичай мають розмір від 100 до 300 мкм і готові до наступних етапів обробки, таких як сепарація та сушіння. [6, 23]

					ДПББ1107000ПЗ	Арк.
						33
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Мікроклероції *Metarhizium anisopliae* мають більш високу щільність, ніж міцеліальні фрагменти, що полегшує їх відділення від культуральної рідини за допомогою різних механічних і хімічних методів. Мікросклеротії мають розміри від 100 до 300 мкм, що робить фільтрацію та центрифугування найбільш перспективними методами сепарації. Їх відносно більша щільність порівняно з міцелієм підвищує продуктивність центрифугування. Крім того, мікросклероції, як правило, добре осідають під впливом гравітації, а включення флокулянтів може посилити грудкування, тим самим підвищуючи загальну ефективність процесу поділу. [23]

Отримана біомаса змішується з діатомовою землею для досягнення рівномірного розміру частинок у співвідношенні ваги до ваги 1:1. Діатомова земля функціонує як осушувач і структурний стабілізатор, запобігаючи грудкуванню в процесі сушіння. [40]

Мікросклероції *Metarhizium anisopliae* зазвичай сушать для підвищення стабільності, тривалого зберігання та життєздатності на полі. Дуже важливо, щоб процес сушіння зберігав їх здатність ефективно формувати інфекційні конідії.

Переважаючим методом, що використовується для сушіння, є сушіння у киплячому шарі. Цей метод передбачає циркуляцію теплого повітря через суспензію з мікросклероціями для швидкого видалення вологи, що дозволяє контролювати швидкість сушіння та зберігаючи їх життєздатність.

Температура повітря на вході повинна підтримуватися від 30 до 45 °C, оскільки більш високі температури можуть зменшити життєздатність. Крім того, кінцева вологість повинна бути нижче 8%, що важливо для оптимального тривалого зберігання. Надмірне сушіння (< 5%) може пошкодити мікросклероції, потенційно зменшуючи життєздатність після регідратації. [6]

Після висихання агрегати подрібнюють і просівають через сітчасті екрани, щоб стандартизувати розміри гранул. Оптимальні гранули класифікуються як діаметром від 0,6 до 0,85 мм або від 0,6 до 1,5 мм. Частинки розміром більше 1,5 мм повторно

					ДПББ1107000ПЗ	Арк.
						34
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

подрібнюються для забезпечення однорідності, тим самим підвищуючи ефективність розповсюдження у ґрунті та спороношення. [40, 17]

Далі висушені гранули вакуумуються в поліетиленових пакетах для запобігання регідrataції. Ці умови зберігання допомагають підтримувати гіфальну життєздатність вище 93% і зберегти конідіальну продуктивність протягом як мінімум 3,5 місяців. [23]

Мікроклероціальні гранули мають темно-коричнєве та чорне забарвлення через відкладення меланіну всередині гіфів. Діатомова земля надає зернистість, при цьому окремі частинки мають вигляд зубчастих фрагментів під збільшенням. Після регідrataції ці гранули покриваються слизом, що служить гігроскопічною адаптацією для посилення поглинання води та сприяння споруляції.

Меланізований зовнішній шар мікроклероціальних гранул забезпечує механічну стійкість та дозволяє протистояти мікробній деградації. Скануюча електронна мікроскопія виявляє щільну, переплетену гіфальну матрицю всередині гранул, з шарами меланіну, що утворюють захисний бар'єр від УФ-випромінювання та окислювального стресу. [20]

Життєздатність оцінюється шляхом покриття висушених гранул на водяний агар і вивчення гіфального проростання після 24-48 годин при 28 °C. Для комерційної якості гранул потрібно мінімум 90% проростання, при цьому гіфальне подовження 50 мкм і більше служить індикатором метаболічної активності. [40, 23] Для визначення конідіального виробництва гранули заливаються на пластини агару, а спори виводять за допомогою стерильної петлі, перш ніж рахувати гемоцитометром. Високопродуктивні штами виробляють 4×10^9 конідій на грам, з *M. anisopliae* F52, які демонструють високу спорогенність у умовах низької вологості ґрунту. [17]

Крім того, гранули піддаються прискореному старінню при температурі 26°C і відносній вологості 60%. Прийнятні продукти повинні підтримувати принаймні 80%

					ДПББ1107000ПЗ	Арк.
						35
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

життєздатності після 90 днів, без будь-якого значного зниження конідіального виробництва. [23]

Для запобігання передчасного проростання під час транзиту рівень вологості для мікрослероцій повинен бути нижче 5%. Включення осушувачів, таких як силікагель, в упаковку ефективно підтримує низьку вологість. Крім того, вакуумні або промиті азотом контейнери можуть допомогти зменшити окисне пошкодження. Діатомова земля, що використовується як носій у складі мікрослероцій, сприяє стабільності шляхом поглинання залишкової вологи та запобігання грудкуванню. [1, 41, 42]

Частково деградовані мікрослероції зберігають здатність встановлювати ендоефітні відносини з рослинами. Включення таких мікрослероцій в ґрунт при концентрації в кореневій зоні сприяє колонізації ризосфери і підвищує системну стійкість до шкідників в таких культурах, як кукурудза і кава. Цей підхід використовує грибкові вторинні метаболіти, включаючи деструксини, для зміцнення механізмів захисту рослин без вимоги до повної життєздатності мікрослероцій. [43]

Крім того, нежиттєздатні мікрослероції можуть служити джерелом поживних речовин у вермикомпостингу. Дощові черв'яки *Eisenia fetida* перетворюють багаті мікрослероціями відходи в гумус, з рекомендованим співвідношенням 3:1 (мікрослероції до органічних відходів) для оптимізації швидкості розкладання. Отриманий компост зберігає хітинолітичні ферменти від *Metarhizium*, які сприяють зниженню залишків шкідників у ґрунтах. [42]

Біопрепарат регулюється відповідно до ДСТУ 4756:2007 та ДСТУ 7938:2015. Опис готової продукції здійснюється відповідно до ТУ У 24.1-30165603-020:2010.

					ДПББ1107000ПЗ	Арк.
						36
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

РОЗДІЛ 3. ТЕХНОЛОГІЧНА ЧАСТИНА

3.1 Матеріали основні і допоміжні

Таблиця 3.1-Матеріали основні і допоміжні

Найменування	Категорія і номер НТД, згідно якого перевіряється сировина	Показники, що обов'язкові для перевірки та їх нормативне значення	Примітка
1	2	3	4
1.Основна сировина			
Діатомова земля	Commission implementing regulation (EU) 2020/2101 No 540/2011 ДСТУ 4756:2007	Згідно НТД	Для формулювання гранул
Lansperse LT87	Safety data sheet та Technical Data Sheet Lansperse LT87 Lankem	Згідно НТД	Для формулювання гранул
Гідроксиетилцелюлоза	Guinama SDS (92260-hydroxyethylcellulose)	Згідно НТД	Для формулювання гранул

					<i>ДПББ1107000ПЗ</i>		
<i>Зм.</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ докцм.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>			
<i>Розроб.</i>	<i>Дейнека О.В.</i>				РОЗДІЛ 3. ТЕХНОЛОГІЧНА ЧАСТИНА		
<i>Конс.</i>	<i>Саблій Л.А.</i>						
<i>Керівн.</i>	<i>Колтишева Д.С.</i>						
<i>Затверд.</i>							
						<i>Лит.</i>	<i>Аркцш</i>
							<i>Архів</i>
							41 103
						КПІ ім. Ігоря Сікорського, ФБТ	

Вода	ДСТУ 7525:2014	Згідно НТД	Для формулювання гранул, приготування миючих, дезінфікуючих та хімічних розчинів, для приготування ПС, для регулювання температури ферментера
Агар	ТУ У 24.4-372/9230-001:2011	Згідно НТД	Для приготування картопляно-декстрозного агару
Глюкоза	ДСТУ 4464:2005	Згідно НТД	Для приготування картопляно-декстрозного агару, для приготування ПС
Картопляний екстракт	ДСТУ 4993:2008	Згідно НТД	Для приготування картопляно-декстрозного агару
Екстракт дріжджів	ДСТУ 4812:2007	Згідно НТД	Для приготування ПС
Пептон	ДСТУ 7963:2015	Згідно НТД	Для приготування ПС

KH_2PO_4	EU Regulation 2006/1907	Згідно НТД	Для приготування ПС
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	EU Regulation 2006/1907	Згідно НТД	Для приготування ПС
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	EU Regulation 2006/1907	Згідно НТД	Для приготування ПС
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	ДСТУ 30333:2009	Згідно НТД	Для приготування ПС
$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	EU Regulation 2006/1907	Згідно НТД	Для приготування ПС
$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	EU Regulation 2006/1907	Згідно НТД	Для приготування ПС
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	EU Regulation 2006/1907	Згідно НТД	Для приготування ПС
Тіамін	FAD-2010- 0040+0052+0140	Згідно НТД	Для приготування ПС
Рибофлавін	FEED-2021-1475	Згідно НТД	Для приготування ПС
Пантотенова кислота	COMMISSION IMPLEMENTING REGULATION (EU) No 669/2014	Згідно НТД	Для приготування ПС
Нікотинова кислота	COMMISSION IMPLEMENTING REGULATION (EU) 2024/1194	Згідно НТД	Для приготування ПС

Піридоксамін	COMMISSION IMPLEMENTING REGULATION (EU) 2021/507	Згідно НТД	Для приготування ПС
Тіоктова кислота	Technical package 19/06/2023	Згідно НТД	Для приготування ПС
Фолієва кислота	FAD-2010-0197	Згідно НТД	Для приготування ПС
Біотин	Council Directive 70/524/EEC	Згідно НТД	Для приготування ПС
Кобаламін	COMMISSION IMPLEMENTING REGULATION (EU) 2024/1325	Згідно НТД	Для приготування ПС

2. Допоміжна сировина

Хлорамін Б	ТУ 9392-031- 00203306-97	Згідно НТД	Дезінфекція
Синтетичний мийний засіб	ДСТУ 2207.1-93	Згідно НТД	Для миття
Олеїнова кислота	ДСТУ 4830:2007	Згідно НТД	Піногасник
Поліоксиетилен сорбітан моноолеат	Safety data sheet - Sigma Aldrich - P1754	Згідно НТД	Накопичення культури
Силікагель	Safety data sheet Sigma-Aldrich-	Згідно НТД	Пакування гранул

					ДПББ1107000ПЗ	Адк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		40

	236772		
3. Матеріали та комплектуючі вироби			
Поліетиленові пакети	ДСТУ 7275:2012	Згідно НТД	Пакування гранул
Папір для етикеток	ТУ 9571-002-14350732-2006	Згідно НТД	Маркування
Картонні коробки	ДСТУ 8401:2015	Згідно НТД	Пакування гранул
Пробірки	ДСТУ ISO 1042:2005	Згідно НТД	Відновлення культури продуцента
Колби	ДСТУ ISO 1042:2005	Згідно НТД	Відновлення культури продуцента
Спецодяг	ДСТУ 7239:2011	Згідно НТД	Для працівників
Гідроксид натрію	ДСТУ ISO 3196-2001	Згідно НТД	Для знешкодження відходів
Соляна кислота	ДСТУ 2904-94	Згідно НТД	Для знешкодження відходів
4. Напівпродукти			
Посівний матеріал	Згідно виробничого регламенту	Чистота	Для інокуляції та подальшого культивування

3.1. Контроль виробництва

Таблиця 3.2-Контроль виробництва

	Найменування стадії процесу, місце заміру параметра або відбору проби	Параметр,що контролюється	Метод контролю параметра, тип приладу	Частота контролю	Норми технологічного режиму та допустимі відхилення
	2	3	4	5	6
P1	ДР1.1Підготовка персоналу К _{мб}	Чистота персоналу	Огляд	Кожної операції	Згідно НТД
	ДР1.2Підготовка дезінфікуючих, мийних та хімічних засобів К _т , К _х	Концентрації розчинів, дезінфікуючи та очищуючі властивості, температура, час	Ваги, аерометр, огляд, термометр, годинник	Кожної операції	Згідно НТД, технічному регламентів
	ДР1.3Підготовка виробничих приміщень К _т , К _{мб}	Концентрація мікроорганізмів, забруднення(пил та ін.)	Мікробіологічно, огляд	Кожної операції	Згідно НТД, концентрація мікроорганізмів в 500 клітин/м ³ повітря
	ДР1.4Підготовка лабораторного посуду К _т	Наявність забруднення	Огляд, термометр	Кожної операції	Згідно НТД

	ДР1.5 Підготовка обладнання та комунікацій К _т	Наявність забруднення, температура, тиск, герметичність, час	Огляд, термометр, манометр, годинник	Кожної операції	Згідно НТД
	ДР2.1 Забір повітря з атмосфери К _т	Відсутність перешкод	Огляд	Кожної операції	Згідно НТД
	ДР2.2 Механічна очистка повітря К _т	ККД	Перевірки	Кожної операції	Е 80-90%
	ДР 2.3 Стиснення та транспортування повітря К _т	Тиск, температура	Манометр, термометр	Кожної операції	Згідно НТД
	ДР2.4 Стабілізація термодинамічних показників К _т	Температура	Термометр	Кожної операції	Згідно НТД
	ДР 2.5 Очистка повітря на головному	Ефективність	Перевірки	Кожної операції	Е=98%

					ДПББ1107000ПЗ	Арк.
						43
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

	фільтрі К _т				
	ДР2.6 Очищення повітря на індивідуальному фільтрі для аерації К _т	Ефективність	Перевірки	Кожної операції	E=99,999%
	ДР3.1 Стерилізація води К _т	Температура, час	Термометр, годинник	Кожної операції	Згідно НДТ
	ДР 3.2 Подвійна фільтрація води К _т	ККД	Перевірки	Кожної операції	Згідно НДТ
	ДР 4 Підготовка діатомової землі для формулювання гранул К _т , К _х	Час, оберти, склад	Годинник	Кожної операції	Згідно НДТ
	ДР5.1 Приготування поживного середовища для посівного	Концентрація, температура, час, тиск	Ваги, термометр, манометр, годинник	Кожної операції	Згідно НДТ

					ДПББ1107000ПЗ	Адк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		44

	матеріалу К _т , К _х				
	ДР5.2 Приготування поживного середовища для II та III генерації. К _т , К _х	Концентрація, температура, тиск, час	Ваги, термометр, манометр, годинник	Кожної операції	Згідно НДТ
	ДР5.3 Приготування ПС для виробничого біосинтезу. К _т , К _х	Концентрація, температура, тиск, час	Ваги, термометр, манометр, годинник	Кожної операції	Згідно НДТ
	ДР6.1 Відновлення культури продуцента К _{мб} , К _т , К _х	Температура, час, мікробіологічна чистота	Термометр, годинник, мікробіологічни й аналіз, огляд	Кожної операції	Згідно НДТ
	ДР6.2 Накопичення культури К _{мб} , К _т , К _х	Час, температура, оберти, мікробіологічна чистота	Годинник, термометр, мікробіологічни й аналіз, огляд візуально	Кожної операції	Згідно НДТ
	ДР6.3 Накопичення	Час, температура,	Годинник, термометр,	Кожної операції	Згідно НДТ

					ДПББ1107000ПЗ	Арк.
						45
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

	культури в інокуляторі K_{mb}, K_T, K_x	оберти, мікробіологічна чистота	мікробіологічний аналіз, огляд візуально		
	ТП7.1 Завантаження ферментера K_T	Ступінь заповнення	Об'єм	Кожної операції	Згідно НДТ
	ТП7.2 Виробниче культивування K_{mb}, K_T, K_x	Коефіцієнт заповнення, температура, аерація, оберти, рівень розчиненого кисню, рН, час, мікробіологічна чистота, тиск	Об'єм, термометр, рН-метр, мікробіологічний аналіз, огляд, манометр	Кожної операції	Згідно НДТ
	ТП 8 Сепарація K_T	Час, оберти	Годинник	Кожної операції	Згідно НДТ
	ТП 9 Додавання діатомової землі K_T, K_x	Концентрація, оберти	Годинник, об'єм	Кожної операції	Згідно НДТ
0	ТП 10 Сушіння міросклероцій K_T	Температура, час, потік повітря, вологість	Термометр, годинник, гігрометр	Кожної операції	Згідно НДТ
	ТП11 Грануляція	Розмір гранул	Сітчасті екрани	Кожної операції	Згідно НДТ

					ДПББ1107000ПЗ	Арк.
						46
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

1	мікросклероцій К _т			операції	
2	ТП 12 Перевірка життєздатності К _т , К _{мб}	Час, температура, відсоток життєздатних мікросклероцій, вологість	Годинник, термометр, гігрометр, мікробіологічни й аналіз	Кожної операції	Згідно НДТ
3	ПМВ13 Пакування К _т	Температура	Термометр	Кожної операції	Згідно НДТ
4	ЗВ14 Знешкодження відходів К _т , К _х	рН, температура, тиск, час	рН-метр, термометр, манометр, годинний	Кожної операції	Згідно НДТ
5	ПВ 15 Переробка відходів К _т , К _х	Концентрації, візуальна цілістність	Хімічний аналіз, огляд	Кожної операції	Згідно НДТ

					ДПББ1107000ПЗ	Арк.
						47
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

3.3. Матеріальний баланс

Таблиця 3.3 – Матеріальний баланс

Використано					Отримано				
Стадія	Назва сировини, матеріалів та напівпродуктів	Кількість			Стадія	Назва кінцевого продукту або напівпродукту, відходів та втрат	Кількість		
		кг	т				кг	т	
ТП 7	Глюкоза	420			ТП 7	Культуральна рідина	3325		
	Екстракт дріжджів	87,5				Втрати	175		
	Пептон	24,5							
	KH ₂ PO ₄	0,014							
	CaCl ₂ ·2H ₂ O	0,0028							
	MgSO ₄ · 7H ₂ O	0,0021							
	FeSO ₄ · 7H ₂ O	0,00035							
	CoCl ₂ · 6H ₂ O	0,00013							
	MnSO ₄ · H ₂ O	0,00006							
	ZnSO ₄ · 7H ₂ O	0,00005							

					ДПББ1107000ПЗ	Арк.
						48
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

	Суміш вітамінів	0,00001							
	Піногасник	10,53							
	Інокулянт	350							
	Очищена вода	2607,45							
Всього:		3500			Всього:		3500		
ТП 8	Культуральна рідина	3325			ТП 8	Культуральна рідина	631,75		
						Мікросклероції	2527		
						Втрати	166,25		
Всього:		3325			Всього:		3325		
ТП 9	Мікросклероції	2527			ТП 9	Суміш мікросклероцій із діатомовою землею	4801,3		
	Діатомова земля	2527				Втрати	252,7		
Всього:		5054			Всього:		5054		
ТП 10	Суміш мікросклероцій із діатомовою землею	4801,3			ТП 10	Сухі мікросклероції	2394,65		
						Втрати(з вологою)	2406,65		

					ДПББ1107000ПЗ				Арк.
									49
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата					

Всього:		4801,3			Всього:		4801,3		
ТП 11	Сухі мікросклероції	2394,65			ТП 11	Гранули мікросклероцій	2370,7		
						Втрати	23,65		
Всього:		2394,65			Всього:		2394,65		
ТП 12	Гранули мікросклероцій	2370,7			ТП 12	Гранули мікросклероцій	2346,3		
						Втрати	23,7		
Всього:		2370,7			Всього:		2370,7		
ПМВ 13	Гранули мікросклероцій	2346,3			ПМВ 13	Готовий упакований продукт	3462,3		
	Картонні коробки		4			Втрати	35		
	Етикетки		64						
	Силікагель	23							
	Пакети		70						
Всього:		3497,3			Всього:		3497,3		

					ДПББ1107000ПЗ				Адк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата					50

3.4. Опис технологічного процесу

ДР 1 Санітарна підготовка виробництва

ДР 1.1 Підготовка персоналу

Весь персонал, що займається біотехнологічним виробництвом, незалежно від їх досвіду або кваліфікації, повинен пройти навчання з техніки безпеки. Навчання персоналу засноване на санітарних протоколах, інструктажах з безпеки та підготовці до конкретних робочих місць. Щоб підтримувати належні санітарні умови для працівників, їхнє здоров'я має контролюватися під час процесу найму та за допомогою медичних оглядів. Згідно з наказом Міністерства охорони здоров'я України № в1925 від 8 листопада 2023 року, ці обстеження повинні проводитися не рідше одного разу на рік або в міру необхідності. Крім того, періодичні медичні оцінки можуть проводитися для виявлення хронічних захворювань або забезпечення дотримання стандартів особистої гігієни.

До початку роботи співробітникам видають засоби індивідуального захисту, в тому числі халати, рукавички, респіратори, захисні окуляри. Крім того, важливо, щоб вони дезінфікували будь-які відкриті ділянки шкіри відповідним дезінфікуючим засобом. [45]

ДР 1.2 Підготовка дезінфікуючих, мийних та хімічних засобів

ДР 1.2.1 Приготування дезінфікуючого розчину

Дезінфікуючий розчин буде складатися з хлораміну Б, порошку, що містить 25-30% активного хлору. Цей розчин готують в реакторі-змішувачі Р-3 об'ємом 0,1 м³, поєднуючи порошок хлораміну Б зі складу з водою (t=60°C) з магістрального трубопроводу в співвідношенні 1:20. Готовий розчин подають до ДР 1.3 та ДР 1.5.1.

ДР 1.2.2 Приготування миючого засобу

Розчин порошкоподібного синтетичного миючого засобу в концентрації 0,5% готують в реакторі-змішувачі Р-6 об'ємом 0,1 м³. Вода (t=60°C) подається з магістрального трубопроводу у реактор. Додають концентрат мийного засобу і перемішують розчин. Готовий розчин подають у ДР 1.3, ДР 1.4 та ДР 2.

					ДПББ1107000ПЗ	Адк.
						51
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

ДР 1.2.3 Підготовка розчину піногасника

Емульсія олеїнової кислоти проходить обробку в апарті Р-9 при температурі 121 ± 2 °С протягом 30 хвилин.

ДР 1.3 Підготовка виробничих приміщень

Підготовка охоплює як щоденні, так і загальні очисні процедури. Очищення виробничих приміщень, поряд із зовнішніми поверхнями обладнання та комунікаційних пристроїв, проводиться за допомогою миючих розчинів з ДР 1.2.2 з подальшою дезінфікуючою обробкою розчином з ДР 1.2.1 та промиванням чистою водою. Щоденне прибирання відбувається після кожної зміни, а генеральне прибирання проводиться раз на тиждень.

Мікробіологічний контроль проводиться з використанням методу седиментації, який передбачає розміщення відкритих чашок Петрі, що містять поживне середовище, з метою виявлення бактерій і грибків в навколишньому середовищі. Допустима верхня межа для мікроорганізмів - 500 клітин/м³ повітря. [44, 45]

ДР 1.4 Підготовка лабораторного посуду

Підготовка лабораторного посуду здійснюється в строгому дотриманні всіх санітарних норм. Весь посуд промивають водою при температурі 40°C. Використовується концентрований миючий засіб з ДР 1.2.2. Посуд ретельно промивають. Далі очищений посуд поміщають на стіл для висихання.

ДР 1.5 Підготовка обладнання та комунікацій

ДР 1.5.1 Миття обладнання та комунікацій

Обладнання та з'єднання спочатку промивають водою при температурі 40°C. Після цього застосовується розчин хлораміну Б з ДР 1.2.1. Знову промивають водою при температурі 40°C. Відходи спрямовують до ЗВ 14.2.

ДР 1.5.2 Перевірка на герметичність

					ДПББ1107000ПЗ	Адк.
						52
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Проводиться шляхом створення тиску 0,2 МПа протягом 30 хвилин, під час якого здійснюється контроль показань манометрів. Використовувані датчики повинні мати сталі показники. Фланцеві з'єднання і трубопроводи повинні бути обмиленні, щоб перевірити герметичність. Відсутність бульбашок свідчить про те, що апаратура герметична.

ДР 1.5.3 Перевірка справності

Проводиться комплексний візуальний огляд зовнішніх і внутрішніх компонентів приладів для ретельного виявлення будь-яких несправностей або ознак пошкоджень.

ДР 1.5.4 Стерилізація обладнання та комунікацій

Використовують гостру пару під тиском (0,2-0,3 МПа) і температурі 140°C. Тривалість процесу стерилізації становить приблизно 90 хвилин. Пара направляється в середину обладнання і в прилеглі з'єднання. Конденсат відправляється до ПВ 15.

ДР 2 Підготовка повітря

ДР 2.1 Забір повітря з атмосфери

Забір повітря здійснюється через ПЗ-10. Система втягує повітря через сітку в трубопроводі, щоб відфільтрувати більші частинки. Далі повітря направляють до ДР 2.2.

ДР 2.2 Механічна очистка повітря

Грубе очищення повітря спрямоване на видалення аерозолі і механічних частинок для запобігання пошкодження компресорів. Фільтр попереднього очищення Ф-11 встановлюється перед вентилятором або компресором, ефективно видаляючи частинки розміром більше 5 мікрометрів з E=80-90%.

ДР 2.3 Стиснення та транспортування повітря

Попередньо очищене повітря піддається стисненню компресором К-12 для досягнення тиску 0,4 МПа, забезпечуючи тим самим дотримання необхідних параметрів подачі повітря. Під час цього процесу стиснення температура повітря збільшується до 100-120 °C.

					<i>ДПББ1107000ПЗ</i>	Арк.
						53
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

ДР 2.4 Стабілізація термодинамічних показників

Повітря з ДР 2.3 потребує охолодження в теплообміннику Т-13 для досягнення оптимальної температури. Для цього використовується промислова вода при температурі 10°C.

ДР 2.5 Очистка повітря на головному фільтрі

Використовується фільтр глибинного типу, Ф-14, який має сорочку і з скловату як фільтруючий матеріал. На цьому етапі частинки, які пройшли через основний фільтр, захоплюються з ефективності очищення 98%.

ДР 2.6 Очищення повітря на індивідуальному фільтрі для аерації

Індивідуальний фільтр Ф-15 усуває забруднення, які могли проникнути через попередні стадії. Важливо, щоб ці фільтри були дуже надійними, оскільки повітря з цієї стадії направляється в ферментатор та інокулятор для аерації. Ефективністю очищення 99,999%.

ДР 3 Підготовка води

ДР 3.1 Стерилізація води

Вода забирається зі складу за допомогою Н-16 насоса і потім направляється в стерилізаційний апарат ГФ-17. У цьому апараті вода нагрівається до 130 °C протягом 20 хвилин. Після процесу стерилізації вода переходить до стадії фільтрації ДР 3.2.

ДР 3.2 Подвійна фільтрація води

Після процесу стерилізації вода піддається подвійній фільтрації, де вона протікає через два високоякісних вугільних фільтра Ф-18 і Ф-19.

ДР 4 Підготовка діатомової землі для формулювання гранул

Типова дисперсійна формула включає діатомову землю (12%), диспергуючий агент, такий як Lansperse LT87 (3%), гідроксиетилцелюлозу (0,85%) та воду (84,15%). Диспергуючий агент запобігає агломерації частинок, в той час як гідроксиетилцелюлоза стабілізує суміш і забезпечує потрібну консистенцію.

					<i>ДПББ1107000ПЗ</i>	Арк.
						54
<i>Зм.</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>		

У реактор змішувач Р-24 вводять воду, Lansperse LT87 та гідроксиетилцелюлозу. Змішують 10 хвилин на параметрах 300 об/хв.. Далі при постійному перемішування вводять діатомову землю та продовжують перемішування ще 20 хвилин.

ДР 5 Підготовка поживного середовища

ДР 5.1 Приготування поживного середовища для посівного матеріалу

Для початкового лабораторного вирощування використовують картопляно-декстрозний агар.

ДР 5.1.1 Стерилізація поживного середовища

Стерилізують картопляно-декстрозний агар за параметрами: температура 121°C протягом 40 хвилин, охолоджують до 30°C.

ДР 5.2 Приготування поживного середовища для отримання посівного матеріалу II та III генерації.

Рідке середовище, що використовується для виробництва культури II та III генерації складається з 8% глюкози, 0,09% кислотно-гідролізованого казеїну, базальних солей, мікроелементів та вітамінів. Стерилізовані компоненти вводять в Р-30, і перемішують: оберти 300 об/хв., протягом 40 хвилин.

ДР 5.2.1 Стерилізація термолабільних компонентів поживного середовища

Стерилізація термолабільних компонентів (глюкози та кислотно-гідролізованого казеїну) проводиться за параметрів: температура підтримується 120°C протягом 5 хвилин, охолоджують до 30°C.

ДР 5.2.2 Стерилізація термостабільних компонентів поживного середовища

Стерилізація термостабільних компонентів(розчини базальних солей, мікроелементів, вітамінів) проводиться за параметрів: температура підтримується 120°C протягом 40 хвилин, охолоджують до 30°C.

ДР 5.3 Приготування поживного середовища для виробничого біосинтезу.

					ДПББ1107000ПЗ	Адк.
						55
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Формулюється з наступним складом: глюкоза 12,5%, екстракт дріжджів 2,5%, пептон 0,7%. Розчин базальних солей, з мікроелементами та вітамінами. Компоненти на літр деіонізованої води:

- KH_2PO_4 : 4,0 г
- $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$: 0.8 г
- $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$: 0,6 г
- $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$: 0,1 г
- $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$: 37 мг
- $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$: 16 мг
- $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$: 14 мг
- Тіамін, рибофлавін, пантотенова кислота, нікотинова кислота, піридоксамін і тіоктова кислота: 500 мкг кожен
- Фолієва кислота, біотин і вітамін В12: 50 мкг кожен

ДР 5.3.1 Стерилізація термостабільних компонентів

Термостабільні компоненти, додаються в реактор Р-33, з коефіцієнтом заповнення 0,9. Суміш перемішують і стерилізують. Охолоджують до 30°C.

ДР 5.3.2 Стерилізація термолабільних компонентів

Додають глюкозу 12,5 г/л і змішують в реакторі Р-33 з коефіцієнтом заповнення 0,9. Потім суміш стерилізують. Охолоджують до 30°C.

ДР 6 Отримання посівного матеріалу

ДР 6.1 Відновлення культури продуцента

Для отримання інокулянту спори ізоляту F52 культивують на картопляно-декстрозному агарі, інкубують при температурі 25 ± 2 °C протягом приблизно 15 днів, щоб оптимізувати спороутворення. Далі агар нарізають пластинами на 1 мм² і зберігають у 10% гліцерині при -80 °C.

ДР 6.2 Одержання культури в колбах.

					ДПББ1107000ПЗ	Адк.
						56
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Конідіальні інокуляти культивуються на картопляно-декстрозному агарі з замороженої суспензії і інкубуються при кімнатній температурі протягом 2-3 тижнів. Конідіальні суспензії отримують шляхом промивання агару 0,04% розчином поліоксиетилену сорбітану моноолеату (Твін 80). Далі гіфальний передкультуральний інокулянт штаму F52 готується шляхом культивуванням в 1 л колбах Ерленмейера КБ-36 з передкультурним середовищем з ДР 5.2 протягом 48 годин при 28 °С і 300 об/хв.

Для перевірки на забруднення ферментаційний бульйон сіють на агарові пластини, інкубують при 30 °С протягом 48 годин, і візуально перевіряють на ріст бактерій.

ДР 6.3 Одержання культури в інокуляторі.

Після інкубаційного періоду засіяні колби асептично переміщують в інокулятор зі стерилізованим поживним середовищем з ДР 5.2 у співвідношення 1:10. Процес відбувається протягом 72 години при контрольованій температурі 28°С, обертах мішалки 250 об/хв., аерація 40л/хв, забезпечуючи оптимальні умови росту.

ТП 7 Виробниче культивування

ТП 7.1 Завантаження ферментера

Попередньо стерилізоване поживне середовище з ДР 5.2, вводиться в ферментер з використанням дозатора Д-44. Коефіцієнт наповнення встановлюється на рівні 0,7. У ферментер, наповнений живильним середовищем, інокулянт вводиться асептично. Обсяг інокулянту повинен становити 10% від загального середнього обсягу середовища.

ТП 7.2 Виробниче культивування

Вирощування відбувається в 5 м³ ферментері ФР-41 з коефіцієнтом наповнення 0,7. Це вертикальний циліндричний апарат, зі сталі, має еліптичну кришку і дно.

Конструкція з сорочкою підтримує оптимальну температуру 28 °С, з входом і виходом охолоджуючої рідини. Основні параметри: швидкість перемішування 300 об/хв. Аерація 50 л/хв стерильного повітря, рівень розчиненого кисню 40%).

					<i>ДПББ1107000ПЗ</i>	Адк.
						57
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Перемішування досягається за рахунок роботи мішалки зі швидкістю 300 оборотів в хвилину (об/хв). Початкове значення рН коливається від 6,5 до 7,5. Коли метаболічні кислоти та ацетат вивільняються, рН згодом зменшується до 5,5, перш ніж знову піднятися до діапазону від 6,5 до 7.

Після досягнення стабільного росту протягом 2-4 днів починають формуватися мікроклероції. Ферментація триває до досягнення високої концентрації міросклероцій (пікова врожайність спостерігається з 4 до 7 дня), більше 50% від маси грибів має знаходитися у вигляді міросклероцій.

Для оцінки мікробіологічної чистоти встановлюють пробовідбірник. Візуально перевіряють, чи відповідають мікробні колонії стандартам і чи немає чужорідної мікрофлори. Крім того, чужорідні мікроорганізми та морфологічні особливості досліджуються шляхом прямого висівання на чашку Петрі з картопляно-декстрозним агаром.

ТП 8 Сепарація

Центрифуга Ц-46 відділяє культуральну рідину від біомаси протягом 5 хвилин при 7500 об/хв. Потім супернатант нейтралізується, тоді як відокремлена біомаса готується до подальшого формулювання і направляється на ТП 9.

ТП 9 Додавання діатомової землі

Процес формулювання включає додавання діатомової землі з ДР 4 до біомаси у реакторі Р-48, в співвідношенні 1:1, з подальшим перемішуванням 200 об/хв..

ТП 10 Сушіння міросклероцій

Суспензія подається до сушарки з псевдорозрідженим шаром СШ-51. Гаряче повітря вводиться в сушильну камеру за допомогою вентилятора. У камері гаряче повітря створює киплячий шар, суспендуючи матеріал. Коли повітря циркулює, волога випаровується з поверхні матеріалу і виводиться разом з гарячим повітрям з сушильної камери. Одночасно витяжна система видаляє вологу для підтримки мікроклімату у

					ДПББ1107000ПЗ	Адк.
						58
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

приміщенні. Температура повітря на вході 40°C, час 30 хвилин, потік повітря 33,3 л/с. Кінцева вологість 5%.

ТП 11 Грануляція мікросклероцій

Далі гранули подрібнюють у роторній дробарці РД-54 і просівають через сітчасті екрани. Кінцевий розмір гранул від 0,6 до 0,85 мм або від 0,6 до 1,5 мм в діаметрі. Частинки розміром більше 1,5 мм повторно подрібнюються, щоб забезпечити рівномірність, підвищуючи поширення в ґрунті та ефективність спороутворення.

ТП 12 Перевірка життєздатності

Життєздатність визначається покриттям висушених гранул на картопляно-декстрозний агар і перевіркою проростання через 24-48 годин при 28 ° С. Мінімум 90% проростання необхідне для комерційної якості. Конідіальне виробництво оцінюється шляхом посівом гранул на агар та підрахунку спор гемоцитометром. Гранули від температури 26 °С та вологістю 60% повинні підтримувати 80% життєздатності та конідіального виробництва після 90 днів.

ПМВ 13 Пакування

Гранули вакуумуються в поліетиленові пакети з силікагелем для запобігання регідратації. Кожна упаковка містить необхідну інформацію, включаючи назву виробника, назву та склад препарату, дату виробництва, термін зберігання, умови зберігання та інструкції з використання. Пакети розміщуються в картонних коробках і повинні зберігатися при температурі + 4°C. Термін придатності рік.

ЗВ 14 Знешкодження відходів

ЗВ 14.1 Знешкодження твердих відходів.

Після процесу фільтрації залишки, що містять діатомову землю та біомасу, піддаються сушінню. Згодом ці висушені матеріали разом з іншими ТПВ транспортуються на полігони для належного захоронення.

ЗВ 14.2 Знешкодження рідких відходів.

					<i>ДПББ1107000ПЗ</i>	Адк.
						59
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Стічні води та дезінфікуючі розчини нейтралізують, розбавляючи 3-4 рази і регулюючи рН до 7 гідроксидом натрію або соляною кислотою перед виходом у каналізацію.

Культуральна рідина обробляється гострою парою при 130-132 °С і 0,3 МПа протягом 45 хвилин, потім охолоджується, регулюється до рН 7 перед скиданням у каналізаційну систему.

ПВ 15 Переробка відходів

Інші матеріали збираються і відправляються в центри переробки. Використовувані реагенти регенеруються для повторного використання у виробництві. Фільтруючі матеріали очищаються і обробляються дезінфікуючими засобами перед повторним введенням у виробничий процес.

					ДПББ1107000ПЗ	Адк.
						60
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

РОЗДІЛ 4. ПІДБІР ТА ХАРАКТЕРИСТИКА ОБЛАДНАННЯ

4.1 Базові принципи вибору ферментерів для глибинного культивування

У виробництві сприятливе середовище для біологічного агента створюється за допомогою спеціалізованого обладнання, відомого як ферментер, який також називають біологічним реактором або біореактором. Ключова відмінність біотехнологічних систем полягає в тому, що фокус зміщується від окремих клітин, які вивчаються в мікробіології, до популяцій або сумішей біологічних агентів. У цій галузі досліджують поведінку та характеристики гетерогенних популяцій клітин, які процвітають у штучно створених середовищах.

Рідкофазне культивування біологічних агентів є переважним методом, що використовується в біотехнології для виробництва мікробної біомаси. Цей метод культивування можна розділити на два типи: поверхнєве культивування, де біологічні агенти ростуть на поверхні рідкого середовища, і глибинне культивування. Ферментери, спеціально розроблені для глибинного культивування, забезпечують оптимальні умови для біологічних агентів, дозволяючи їм повністю реалізувати свої потенційні властивості.

При виборі ферментерів важливо почати з визначення технологічних вимог стадії вирощування. Постійне зростання знань щодо фізіології біологічних агентів, поряд з досягненнями у використанні рекомбінантних культур і клітинних гібридів, накладає додаткові вимоги для розробки обладнання для ферментації.

Вибір типового ферментера, проєктування нового ферментаційного обладнання та модернізація існуючих структур можуть бути ефективно зроблені тільки з урахуванням конкретних фенотипічних характеристик мікроорганізмів, що беруть участь в організації технологічного процесу. Точні структурні розрахунки ферментатора, поряд з оцінками характеристик гідродинамічного, масопереносу та теплопередачі, повинні враховувати умови фазової дисперсії та ступінь сегрегації в живильному середовищі.

					ДПББ1107000ПЗ		
Зм.	Арк.	№ док.м.	Підпис	Дата			
Розроб.		Дейнека О.В.			РОЗДІЛ 4. ПІДБІР ТА ХАРАКТЕРИСТИКА ОБЛАДНАННЯ		
Конс.		Саблій Л.А.					
Керівн.		Колтишева Д.С.					
Затверд.							
						Лит.	Аркцш
							Аркцшв
							65
						КПІ ім. Ігоря Сікорського,	
						ФБТ	

Цього можна досягти тільки для конкретних груп пристроїв на основі встановлених класифікацій.

При періодичному способі культивування в ферментер за одну операцію додається весь обсяг культурального середовища з подальшим введенням інокулянту, в якому містяться необхідні для ферментації мікроорганізми. Під час цього процесу біологічний агент переживає різні етапи зростання і розвитку, як правило, зображені в графічному форматі як крива зростання або логістична крива.

Ферментатор із змішувальними пристроями - це система, в якій культуральна рідина перемішується механічним апаратом. Цей апарат включає в себе вал, оснащений одним або декількома змішувачами. Крім того, ферментер аерується шляхом введення стисненого повітря через газорозподільник, розташований у нижній частині блоку.

Ферментери з механічними змішувальними пристроями, можна класифікувати на основі як конструктивних особливостей реактора, так і характеристик використовуваних мішалок. У цьому контексті мішалка виступає в якості основного компонента системи механічного змішування. В даний час змішування в промислових ферментерах може бути досягнуто за допомогою широкого спектру типів мішалок (всього 12), які зазвичай використовуються в рідких фазних системах. Однак у галузі біотехнології надають перевагу високошвидкісним мішалкам, таким як лопатеві, гвинтові та турбінні мішалки, які ефективно працюють з в'язкістю до 50 Па•с.

У промислових ферментерах механічні мішалки зазвичай використовуються для створення обертального руху. Ця операція призводить до складного тривимірного потоку рідини, що характеризується тангенціальними, радіальними та осьовими потоками. Змішуванню рідкої фази сприяють вихори, які утворюються по краях мішалки. [45]

Всі матеріали, що використовуються в ферментері, повинні бути нетоксичними, щоб запобігти будь-якому гальмуванню росту мікроорганізмів і забезпечити ефективне виробництво цільового продукту. Матеріали, які взаємодіють з мікробною культурою або

					ДПББ1107000ПЗ	Адк.
						62
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

розчинами, введеними в ферментер, повинні бути стійкими до корозії, щоб запобігти забрудненню навколишнього середовища металами. Точки входу і виходу для речовин і продуктів разом з системою змішування повинні бути міцними і легко доступними, щоб мінімізувати ризик поломки через механічний контакт або деформацію. Крім того, матеріали, які використовуються для побудови ферментатора, повинні бути здатні витримувати стерилізацію паром під тиском. [53]

Підготовка розчинів, емульсій і суспензій, а також хімічних перетворень всередині реакторів, вимагає управління температурою за допомогою процесів охолодження або нагріву. Для ефективного регулювання цих температурних змін реактори, як правило, розроблені з зовнішньою сорочкою або внутрішніми зміювиками, які полегшують необхідний тепловий контроль. [54]

4.2 Продуктивність та потужність виробництва

В Україні впровадження біологічних методів захисту рослин у сільському господарстві протягом останніх кількох десятиліть було надзвичайно низьким і становить лише 4-5% від загального обсягу реалізованих захисних методів. На жаль, ця тенденція не показує ніяких ознак поліпшення; натомість спостерігається подальше зниження використання біологічних методів. Дані 2020 року свідчать про те, що на біологічні методи захисту рослин припадало лише 3,6% всіх заходів. Ця ситуація різко контрастує зі світовими тенденціями, де застосування методів біологічного контролю зростає, що стимулюється швидшим зсувом до сталого сільського господарства та розширенням практики органічного землеробства. [55]

Якщо припустити, що частка методів біологічного захисту залишається відповідною рівню, зафіксованому в 2020 році (3,6%), розрахункова площа сільськогосподарських угідь, оброблених цими методами, може становити близько 828 000 гектарів, що становить 3,6% від прогнозованих 23 мільйонів гектарів.[56] Важливо відзначити, що це приблизна оцінка, оскільки не всі посівні площі використовують

					ДПББ1107000ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		63

засоби захисту рослин, а відсоток використовуваних біологічних методів може розвинутися до 2025 року.

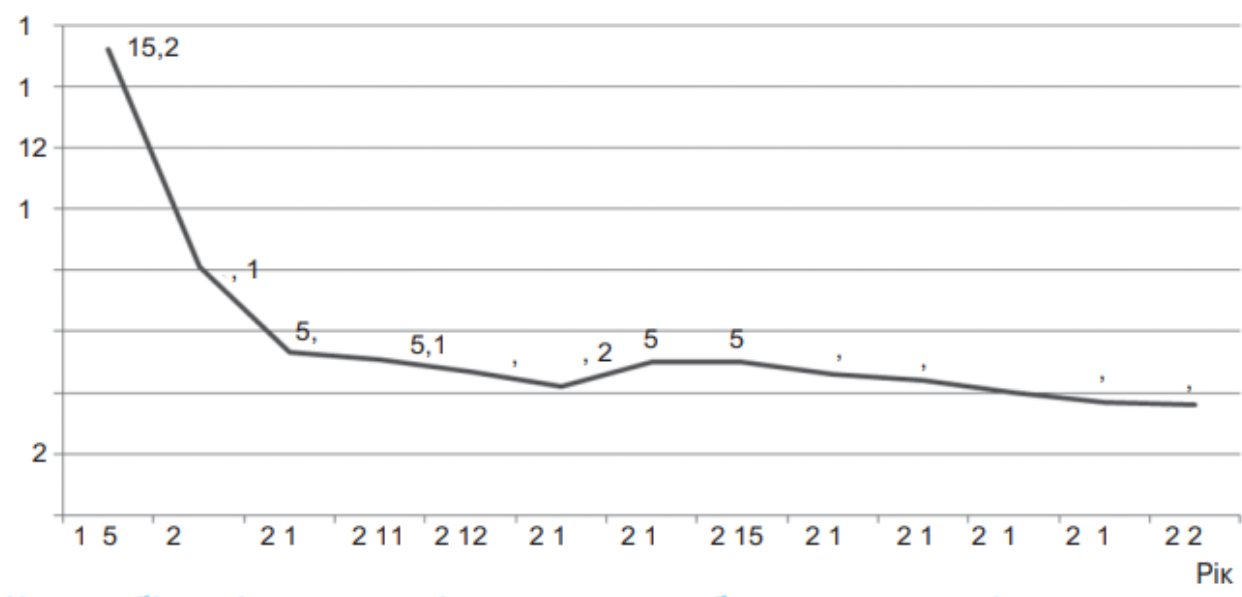


Рис. 1. Частка біологічних методів у загальних обсягах захисту сільськогосподарських культур в Україні,%. [55]

Припускаючи, що препарат вводять до 10% загальної площі обробки, призначеної для біологічних методів захисту, що становить приблизно 828 000 гектарів, це призводить до площі 82 800 гектарів, які отримують обробку препаратом на основі *Metarhizium anisopliae*.

Норма внесення для боротьби зі шкідниками коливається від 5 до 25 літрів на гектар, залежно від конкретного виду шкідників і тяжкості зараження. При застосуванні середньої норми в 15 літрів на гектар передбачуваний річний обсяг складе приблизно 1 242 000 літрів.

$$82\,800 \cdot 15 = 1\,242\,000 \text{ л} \tag{4.2.1}$$

Підприємство буде виробляти 20% від загального ринкового попиту. Тобто це 248 400 літрів. Важливо враховувати втрату продукту на різних етапах виробництва. Крім

того, 50% кінцевого продукту містить суміш з діатомовою землею, яка має значення для формулювання та стабільності гранул.

$$248\,400 \cdot 0,57 = 151\,588 \text{ літрів} \quad (4.2.2)$$

За добу(300 робочих днів) це:

$$V_{\text{доба}} = \frac{151\,588}{300} = 505 \text{ літрів/доба} \quad (4.2.3)$$

Цикл роботи ферментера:

$$T_{\phi} = T_{\text{кул}} + T_o = 144 + 10 = 154 \text{ год} \quad (4.2.4)$$

$T_{\text{кул}}=144$ - тривалість культивування (приблизно 6 днів до досягнення максимальної концентрації мікрослерецій), $T_o=10$ год – тривалість проведення підготовчих операцій.

Відповідно кількість культуральної рідини за цикл:

$$V_{\text{кул.ц}} = \frac{V_{\text{доба}} \cdot T_{\phi}}{24} = \frac{505 \cdot 154}{24} = 3\,177 \text{ літрів або } 3,177 \text{ м}^3 \quad (4.2.5)$$

Робочий об'єм ферментера:

$$V_{\phi.p} = \frac{V_{\text{кул.ц}}}{1-E_{\phi}} = \frac{3,177}{1-0,95} = 3,336 \text{ м}^3 \quad (4.2.6)$$

Враховуючи коефіцієнт заповнення 0,7 маємо:

$$V_{\phi.n} = \frac{V_{\phi.p}}{0,7} = \frac{3,336}{0,7} = 4,77 \text{ м}^3 \quad (4.2.7)$$

Обираємо стандартний ферментер на 5 м^3 .

4.3 Конструктивний розрахунок

Робочий об'єм середовища(з попередніх розрахунків):

$$V_{\phi.p} = \frac{V_{\text{кул.ц}}}{1-E_{\phi}} = \frac{3,177}{1-0,95} = 3,336 \text{ м}^3 \quad (4.3.1)$$

Номінальний об'єм ферментера(з попередніх розрахунків):

$$V_{\phi.n} = \frac{V_{\phi.p}}{0,7} = \frac{3,336}{0,7} = 4,77 \text{ м}^3 \quad (4.3.2)$$

Повна висота днища:

$$h_{\text{дн}} = h_{\text{в}} + h_1 = 450 + 40 = 490 \text{ мм} = 0,49 \text{ м} \quad (4.3.3)$$

					ДПББ1107000ПЗ	Арк.
						65
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Висота рівня рідини в реакторі:

$$H_p = \frac{4 \cdot (V_{ф.р} - V_{дн})}{\pi \cdot D} + h_1 + h_b = \frac{4 \cdot (3,336 - 0,8617)}{3,14 \cdot 1,8} + 0,04 + 0,45 = 2,24 \text{ м} \quad (4.3.4)$$

$V_{дн}$ – об'єм рідини в днищі, м^3 .

h_1 – висота відбортаної частини днища, м.

h_b – висота еліптичної частини днища, м.

Повний об'єм:

$$V_{ф.н} = V_{ц} + 2 \cdot V_{дн} \quad (4.3.5)$$

Об'єм циліндричної частини:

$$V_{ц} = V_{ф.н} - 2 \cdot V_{дн} = 5 - 2 \cdot 0,8617 = 3,28 \text{ м}^3 \quad (4.3.6)$$

Висота циліндричної частини:

$$H_{ц} = \frac{V_{ц}}{F} = \frac{V_{ц} \cdot 4}{\pi \cdot D^2} = \frac{3,28 \cdot 4}{\pi \cdot 1,8^2} = 1,29 \text{ м} \quad (4.3.7)$$

Висота рівня рідини в циліндричній частині:

$$H_{ц.р} = \frac{V_{ц} \cdot 4}{\pi \cdot D^2} \cdot K_3 = \frac{3,28 \cdot 4}{\pi \cdot 1,8^2} \cdot 0,7 = 0,9 \text{ м} \quad (4.3.8)$$

Висота стовпа рідини в реакторі:

$$H_{с.р} = H_{ц.р} + h_{дн} = 0,9 + 0,49 = 1,39 \text{ м} \quad (4.3.9)$$

Загальна висота ферментера:

$$H_{ф} = H_{ц} + 2 \cdot h_{дн} = 1,29 + 2 \cdot 0,49 = 2,27 \text{ м} \quad (4.3.10)$$

					ДПББ1107000ПЗ	Адк.
						66
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

4.4 Розрахунок мішалки

Для турбінної мішалки:

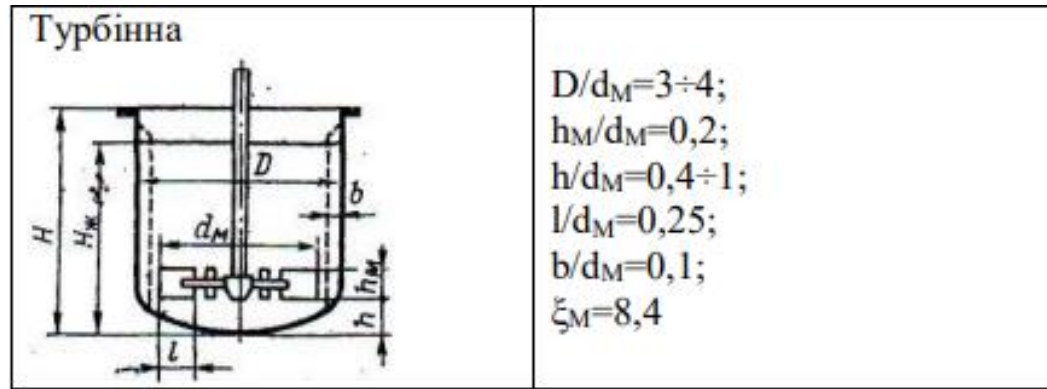


Рис. 2. Основні співвідношення розмірів турбінної мішалки. [54]

Діаметр мішалки:

$$d_M = 0,25 \cdot D = 0,25 \cdot 1,8 = 0,45 \text{ м} \quad (4.4.1)$$

Значення стандартне. [54]

Висота лопатей:

$$h_M = 0,2 \cdot d_M = 0,2 \cdot 0,45 = 0,09 \text{ м} \quad (4.4.2)$$

Довжина лопатей:

$$l_M = 0,25 \cdot d_M = 0,25 \cdot 0,45 = 0,1125 \text{ м} \quad (4.4.3)$$

Висота від днища до мішалки:

$$h = 1 \cdot d_M = 1 \cdot 0,45 = 0,45 \text{ м} \quad (4.4.4)$$

Частота обертів мішалки згідно обраної технології:

$$n = \frac{300 \text{ об}}{\text{хв}} = 5 \frac{\text{об}}{\text{с}} \quad (4.4.5)$$

4.5 Розрахунок глибини воронки

Параметр висоти завантаження γ реактора:

$$\gamma = 8 \cdot \frac{H_p}{D} + 1 = 8 \cdot \frac{2,24}{1,8} + 1 = 10,96 \quad (4.5.1)$$

Параметр гідравлічного опору мішалки E :

$$E = \frac{\gamma}{\xi_M \cdot z_M \cdot R_{\text{ец}}^{0,25}} = \frac{10,96}{8,4 \cdot 1 \cdot (1,3 \cdot 10^6)^{0,25}} = 0,023 \quad (4.5.2)$$

- Критерій Рейнольдса:

$$Re = \frac{\rho \cdot n \cdot d_M^2}{\mu} = \frac{1030 \cdot 5 \cdot 0,45^2}{1,08 \cdot 10^{-4}} = 9,7 \cdot 10^6 \quad (4.5.3)$$

Графічним методом: $\psi_1 = -0,7, B = 14$

Глибина воронки:

$$h_B = \frac{B \cdot n^2 \cdot d_M^2}{2} = 35,4 \text{ м} \quad (4.5.4)$$

Гранично допустима глибина воронки:

$$h_{\text{гр}} = H_p - h = 2,24 - 0,45 = 1,79 \text{ м} \quad (4.5.5)$$

Виконується співвідношення $h_B > h_{\text{гр}}$, отже потрібні перегородки.

Ширина перегородок:

$$b = 0,1 \cdot d_M^2 = 0,1 \cdot 0,45^2 = 0,02 \text{ м} \quad (4.5.6)$$

4.6 Розрахунок потужності

Потужність, що витрачається на перемішування:

$$N = K_n \cdot \rho \cdot n^3 \cdot d_M^5 = 8 \cdot 1030 \cdot 5^3 \cdot 0,45^5 = 19006 \text{ Вт} \quad (4.6.1)$$

Діаметр вала в місці ущільнення:

$$d_B = C \cdot d_M = 0,117 \cdot 0,45 = 0,053 \text{ м} \quad (4.6.2)$$

$$d_B = 0,065 \text{ м}$$

Потужність, що витрачається на терті в торцевому ущільненні:

$$N_{\text{ущ}} = 6020 \cdot d_B^{1,3} = 172,34 \text{ Вт} \quad (4.6.3)$$

Потужність привода мішалки:

$$N_{\text{ел}} = \frac{(K_n \cdot K_H \cdot \sum K_1 \cdot N + N_{\text{ущ}})}{\eta} = \frac{1 \cdot 1,116 \cdot 1,1 \cdot 19006 + 172,34}{0,9} = 26112 \text{ Вт} \quad (4.6.4)$$

$$K_H = \sqrt{\frac{H_p}{D}} = \sqrt{\frac{2,24}{1,8}} = 1,116 \quad (4.6.5)$$

Візьмемо двигун потужність 30 кВт.

4.7 Розрахунок барботеру

Висота перемішуючого пристрою над барботером:

$$h_{\delta} = 0,25 \cdot d_{\text{м}} = 0,11 \text{ м} \quad (4.7.1)$$

Діаметр на якому розміщенні отвори в барботері:

$$D_0 = 0,75 \cdot d_{\text{м}} = 0,75 \cdot 0,45 = 0,34 \text{ м} \quad (4.7.2)$$

Діаметр отворів:

$$d_0 = 0,005 \text{ м}$$

Питома витрата повітря $V_{\Gamma}=0,056 \text{ м}^3/\text{с}$.

Швидкість газу в отворах $W_0=24 \text{ м/с}$.

Кількість отворів в барботері:

$$Z_{\text{отв}} = \frac{4 \cdot V_{\Gamma}}{\pi \cdot W_0 \cdot d_0^2} = \frac{4 \cdot 0,056}{\pi \cdot 24 \cdot 0,005^2} = 119 \text{ шт} \quad (4.7.3)$$

Кількість отворів в одному ряду становить:

$$Z_1 = \frac{\pi \cdot D_0}{t} = \frac{\pi \cdot 0,34}{25} = 42 \text{ шт} \quad (4.7.4)$$

Кількість рядів:

$$n_{\text{ряд}} = \frac{Z_{\text{отв}}}{Z_1} = \frac{119}{42} = 3 \text{ шт} \quad (4.7.5)$$

Сумарна площа поперечного перерізу отворів барботера:

$$S_{\text{отв}} = \frac{\pi}{4} \cdot d_0^2 \cdot Z_{\text{отв}} = \frac{\pi}{4} \cdot 0,005^2 \cdot 119 = 0,0023 \text{ м}^2 \quad (4.7.6)$$

Внутрішній діаметр барботеру:

$$d_{\text{б.вн}} = \sqrt{\frac{4 \cdot V_{\Gamma}}{\pi \cdot W_0}} = \sqrt{\frac{4 \cdot 0,056}{\pi \cdot 24}} = 0,054 \text{ м} \quad (4.7.7)$$

Середній діаметр барботера:

$$D_{\text{ср}} = 6 \cdot d_{\text{б.вн}} = 0,33 \text{ м} \quad (4.7.8)$$

Крок розміщення отворів:

$$\tau = \frac{\pi \cdot D_{\text{ср}}}{Z_{\text{отв}}} = \frac{\pi \cdot 0,33}{119} = 0,009 \text{ м} \quad (4.7.9)$$

					ДПББ1107000ПЗ	Адк.
						69
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

4.8 Тепловий розрахунок

Об'єм посівного матеріалу:

$$V_{\text{пм}} = 0,1 \cdot V_p = 0,1 \cdot 3,336 = 0,3336 \text{ м}^3 \quad (4.8.1)$$

Об'єм поживного середовища:

$$V_{\text{пс}} = 0,9 \cdot V_p = 0,9 \cdot 3,336 = 3,0024 \text{ м}^3 \quad (4.8.2)$$

Густина:

$$\rho_{\text{кр}} = \rho_{\text{пм}} = \rho_{\text{пс}} = 1030 \text{ кг/м}^3$$

Маса поживного середовища:

$$M_{\text{пс}} = \rho_{\text{пс}} \cdot V_{\text{пс}} = 1030 \cdot 3,0024 = 3092 \text{ кг} \quad (4.8.3)$$

Маса посівного матеріалу:

$$M_{\text{пм}} = \rho_{\text{пм}} \cdot V_{\text{пм}} = 1030 \cdot 0,3336 = 343,6 \text{ кг} \quad (4.8.4)$$

Маса культуральної рідини:

$$M_{\text{кр}} = \rho_{\text{кр}} \cdot V_{\text{кр}} = 1030 \cdot 3,336 = 3436 \text{ кг} \quad (4.8.5)$$

Надходження енергії з поживним середовищем:

$$E_{\text{пс}} = M_{\text{пс}} \cdot C_{\text{пс}} \cdot t_{\text{пс}} = 3092 \cdot 3,82 \cdot 28 = 331 \text{ МДж} \quad (4.8.6)$$

(Теплоємність розчинів можна визначити за формулою:

$$C_{\text{кр}} = C_{\text{пм}} = C_{\text{пс}} = 4,073 - 0,00134 \cdot (14,4 \cdot C_p - t) = 4,073 - 0,00134 \cdot (14,4 \cdot 15 - 28) = 3,82 \cdot 10^3 \text{ Дж/(кг} \cdot \text{K)} \quad (4.8.7)$$

Надходження енергії з посівним матеріалом:

$$E_{\text{пм}} = M_{\text{пм}} \cdot C_{\text{пм}} \cdot t_{\text{пм}} = 343,6 \cdot 3,82 \cdot 28 = 37 \text{ МДж} \quad (4.8.8)$$

Надходження енергії від перемішуючих пристроїв:

$$E_{\text{дис}} = N_{\text{ел}} \cdot 518 \text{ 400} = 26112 \cdot 518 \text{ 400} = 1,35 \cdot 10^{10} \text{ Дж} \quad (4.8.9)$$

Енергія реакції:

$$m_{\text{цук}} = 0,125 \cdot M_{\text{пс}} = 0,15 \cdot 3092 = 387 \text{ кг} \quad (4.8.10)$$

$$E_p = m_{\text{цук}} \cdot K_{\text{згор}} = 387 \cdot 3744 \cdot 4,18 = 6049617 \text{ Дж} \quad (4.8.11)$$

Сумарна кількість надходжень теплоти:

					ДПББ1107000ПЗ	Адк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		70

$$\sum E_{\text{над}} = E_{\text{пс}} + E_{\text{пм}} + E_{\text{дис}} + E_{\text{р}} = 1,35 \cdot 10^{10} \text{ Дж} \quad (4.8.12)$$

Витрати теплової енергії з культуральною рідиною:

$$E_{\text{кр}} = M_{\text{кр}} \cdot C_{\text{кр}} \cdot t_{\text{кр}} = \rho_{\text{кр}} \cdot V_{\text{р}} \cdot C_{\text{кр}} \cdot t_{\text{кр}} = 3,68 \cdot 10^8 \text{ Дж} \quad (4.8.13)$$

Втрати теплоти в навколишнє середовище:

$$E_{\text{втр}} = 0,02 \cdot E_{\text{кр}} = 7352540 \text{ Дж} \quad (4.8.14)$$

Втрати теплової енергії:

$$\sum E_{\text{витр}} = E_{\text{кр}} + E_{\text{втр}} = 3,68 \cdot 10^8 + 7352540 = 3,75 \cdot 10^8 \text{ Дж} \quad (4.8.15)$$

Теплове навантаження:

$$E_{\text{т}} = \sum E_{\text{витр}} - \sum E_{\text{над}} = 3,75 \cdot 10^8 - 1,35 \cdot 10^{10} = -1,32 \cdot 10^{10} \text{ Дж} \quad (4.8.16)$$

З системи потрібно відводити тепло.

$$Q = |E_{\text{т}}| = 1,32 \cdot 10^{10} \text{ Дж}$$

$$Q = M_{\text{т}} \cdot C_{\text{т}} \cdot (t_{\text{тп}} - t_{\text{тк}})$$

$$M_{\text{т}} = \frac{Q}{C_{\text{т}} \cdot (t_{\text{тп}} - t_{\text{тк}})} = \frac{1,32 \cdot 10^{10}}{4180 \cdot 13} = 242\,324 \text{ кг} \quad (4.8.17)$$

$$(t_{\text{тп}} - t_{\text{тк}}) = 13^\circ\text{C}$$

Приймемо температуру води в рубашці 15°C .

$$G_{\text{т}} = \frac{M_{\text{т}}}{\tau_{\text{пр}}} = \frac{242\,324}{518\,400} = 0,47 \text{ кг/с} \quad (4.8.18)$$

Розраховуємо теплофізичні параметри носія(води):

Середня температура теплоносія:

$$\Delta t_{\text{сер1}} = \frac{15+28}{2} = 21,5^\circ\text{C} \quad (4.8.19)$$

$$\rho_{121,5^\circ\text{C}} = \rho_{20^\circ\text{C}} + (\Delta t_{\text{сер1}} - 20^\circ\text{C}) \times \frac{\rho_{20^\circ\text{C}} - \rho_{30^\circ\text{C}}}{20^\circ\text{C} - 30^\circ\text{C}} = 998 + (21,5 - 20) \cdot \frac{998 - 996}{20 - 30} = 997,7 \text{ кг/м}^3 \quad (4.8.20)$$

					ДПББ1107000ПЗ	Арк.
						71
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

$$\mu_{121,5^{\circ}\text{C}} = \mu_{20^{\circ}\text{C}} - (\Delta t_{\text{сер}_1} - 20^{\circ}\text{C}) \times \frac{\mu_{20^{\circ}\text{C}} - \mu_{30^{\circ}\text{C}}}{20^{\circ}\text{C} - 30^{\circ}\text{C}} = 1000 \cdot 10^{-6} - (21,5 - 20) \cdot \frac{1000 \cdot 10^{-6} - 804 \cdot 10^{-6}}{20 - 30} = 970 \cdot 10^{-6} (\text{Па} \cdot \text{с}) \quad (4.8.21)$$

$$\lambda_{121,5^{\circ}\text{C}} = \lambda_{20^{\circ}\text{C}} - (\Delta t_{\text{сер}_1} - 20^{\circ}\text{C}) \times \frac{\lambda_{20^{\circ}\text{C}} - \lambda_{30^{\circ}\text{C}}}{30^{\circ}\text{C} - 20^{\circ}\text{C}} = 0,599 - (21,5 - 20) \cdot \frac{0,599 - 0,618}{30 - 20} = 0,602 \left(\frac{\text{Вт}}{\text{м} \cdot \text{К}} \right) \quad (4.8.22)$$

$$v_T = \frac{\mu_{121,5^{\circ}\text{C}}}{\rho_{121,5^{\circ}\text{C}}} = \frac{970 \cdot 10^{-6}}{997,7} = 0,973 \cdot 10^{-6} \text{ м}^2/\text{с} \quad (4.8.22)$$

Об'ємні витрати:

$$V_T = \frac{G_T}{\rho_{121,5^{\circ}\text{C}}} = \frac{0,47}{997,7} = 4,7 \cdot \frac{10^{-4} \text{ м}^3}{\text{с}} \quad (4.8.23)$$

Швидкість:

$$W_T = \frac{V_T}{a \cdot b} = \frac{4,7 \cdot 10^{-4}}{0,036 \cdot 0,114} = 0,114 \text{ м/с} \quad (4.8.24)$$

$$a = \frac{D_c - 2 \cdot \delta_{\text{СТ}} - D}{2} = \frac{1,9 - 2 \cdot 0,014 - 1,8}{2} = 0,036 \text{ м} \quad (4.8.25)$$

$$b = 0,15 - a = 0,15 - 0,036 = 0,114 \text{ м} \quad (4.8.26)$$

Еквівалентний діаметр:

$$d_{\text{екв}} = \frac{4 \cdot a \cdot b}{2 \cdot (a + b)} = 0,055 \text{ м} \quad (4.8.27)$$

Середній діаметр:

$$D_{\text{ср}} = D_c - a = 1,9 - 0,036 = 1,864 \text{ м} \quad (4.8.28)$$

Коефіцієнт тепловіддачі від середовища в ферментері:

$$\alpha_c = \frac{Nu_c \cdot \lambda_c}{D} = \frac{18528 \cdot 0,373}{1,8} = 3844 \text{ Вт/м}^2 \cdot \text{К} \quad (4.8.29)$$

Критерій Нуссельта:

					ДПББ1107000ПЗ	Адк.
						72
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

$$Nu_c = 1,35 \cdot Re_c^{0,59} \cdot Pr_c^{0,38} \cdot \left(\frac{\mu_c}{\mu_{ct}} \right)^{0,14} = 1,35 \cdot (9,7 \cdot 10^6)^{0,59} \cdot 1,1^{0,38} \cdot \left(\frac{1,08 \cdot 10^{-4}}{1,08 \cdot 10^{-4}} \right)^{0,14} = 18528$$

(4.8.30)

Критерій Прандтля:

$$Pr_c = \frac{\mu_c \cdot c_c}{\lambda_c} = \frac{1,08 \cdot 10^{-4} \cdot 3,82 \cdot 10^3}{0,373} = 1,10$$

(4.8.31)

$$(\lambda_c = 0,265 \cdot 28^{0,0093} \cdot 10^{0,29(0,49-15^2)}) = 0,373 \frac{\text{Вт}}{\text{м}} \cdot \text{К}$$

(4.8.32)

Коефіцієнт тепловіддачі від теплоносія до середовища:

Критерій Рейнольдса:

$$Re_T = \frac{W_T \cdot d_{\text{екв}}}{\nu_T} = \frac{0,114 \cdot 0,055}{0,973 \cdot 10^{-6}} = 6421$$

(4.8.33)

Критерій Прандтля:

$$Pr_T = \frac{\mu_T \cdot c_T}{\lambda_T} = \frac{970 \cdot 10^{-6} \cdot 4180}{0,602} = 6,74$$

(4.8.34)

Критерій Нуссельта:

$$Nu_T = 0,037 \cdot Re_T^{0,8} \cdot Pr_T^{0,43} = 0,037 \cdot 6421^{0,8} \cdot 6,74^{0,43} = 93,47$$

(4.8.35)

Коефіцієнт тепловіддачі від теплоносія в сорочці:

$$\alpha_T = \frac{Nu_T \cdot \lambda_T}{d_{\text{екв}}} = \frac{93,47 \cdot 0,602}{0,055} = 1028 \frac{\text{Вт}}{\text{м}^2} \cdot \text{К}$$

(4.8.36)

Коефіцієнт теплопередачі:

$$K = \frac{1}{\frac{1}{\alpha_c} + \frac{1}{\alpha_T} + \frac{\delta_{\text{ст}}}{\lambda_{\text{ст}}}} = \frac{1}{\frac{1}{3844} + \frac{1}{1028} + \frac{0,014}{16}} = 474 \frac{\text{Вт}}{\text{м}^2} \cdot \text{К}$$

(4.8.37)

Розрахована поверхня теплообміну:

$$F_p = \frac{E}{K \cdot \Delta t_{\text{ср}} \cdot \tau_{\text{пр}}} = \frac{1,32 \cdot 10^{10}}{474 \cdot 21,5 \cdot 518400} = 2,5 \text{ м}^2$$

(4.8.38)

					ДПББ1107000ПЗ	Адк.
						73
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Дійсна поверхня теплообміну:

$$H_c = H_p - h_{дн} = 2,24 - 0,49 = 1,75 \text{ м} \quad (4.8.39)$$

$$F_d = \pi \cdot D \cdot H_c = \pi \cdot 1,8 \cdot 1,75 = 9,9 \text{ м}^2 \quad (4.8.10)$$

Поверхня теплообміну рубашки забезпечує температурний режим.

Обираємо стандартний ферментер на 5 м³. [54]

Номінальний об'єм: $V_{ф.н} = 5 \text{ м}^3$

Внутрішній діаметр: $D_{вн} = 1800 \text{ мм}$

Висота еліптичної частини днища: $h_b = 450 \text{ мм}$

Площа поверхні теплообміну рубашки: $F_p = 12 \text{ м}^2$

Об'єм днища: $V_{дн} = 0,8617 \text{ м}^3$

Висота відбортаної частини днища: $h_1 = 0,04 \text{ м}$

Товщина стінки днища: $s = 14 \text{ мм}$

Площа внутрішньої поверхні $F = 3,74 \text{ м}^2$

4.9 Вибір загальнозаводського обладнання

Потужність, яка витрачається на перекачування води:

$$N_n = G_t \cdot H \cdot g = 0,47 \cdot 10 \cdot 9,18 = 42,911 \text{ кВт} \quad (4.9.1)$$

Потужність електродвигуна:

$$N_e = \frac{N_n}{\eta \cdot \eta_{пер}} = \frac{42,911}{0,8 \cdot 1} = 53,64 \text{ кВт} \quad (4.9.2)$$

Відцентровий насос X160/29. Матеріал - нержавіюча сталь 12x18H10T.

Електродвигун типу АО2-82-2 У3, потужністю 55 кВт.

Для ефективного дозування сировини був обраний об'ємний дозатор ДОП-1000.

Цей дозатор автоматизує процес завантаження необхідних речовин. У біотехнологічному виробництві стерилізація повітря здійснюється шляхом фільтрації його через гранульовані або волокнисті матеріали. Для очищення повітря в межах класифікацій чистих приміщень В, С та D використовуються фільтри HEPA і ULPA, що охоплюють

					ДПББ1107000ПЗ	Адк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		74

грубі та тонкі частинки. Ці фільтри здатні захоплювати до 99,99% найменших мікрочастинок, аж до 0,3 мікрометрів, тим самим забезпечуючи ретельне очищення повітря і значно знижуючи ризик забруднення навколишнього середовища.

Для ефективного контролю всіх параметрів біосинтезу всередині ферментатора повинні бути встановлені наступні прилади: пірометр, манометр (ЕКМ-10), тахометр для вимірювання частоти обертання мішалки, датчик рН з діапазоном вимірювань від 0 до 14.

					ДПББ1107000ПЗ	Аук.
Зм.	Аук.	№ док.	Підпис	Дата		75

РОЗДІЛ 5. ОХОРОНА ПРАЦІ ТА ОХОРОНА ДОВКІЛЛЯ

Закон «Про охорону праці» є основною правовою базою з питань охорони праці, який набрав чинності 24 листопада 1992 року відповідно до Постанови Верховної Ради України № 2695 XII.

Він передбачає, що умови трудового договору повинні відповідати правилам охорони праці, не дозволяючи роботодавцям встановлювати умови, які порушують ці стандарти. Зокрема, роботодавець не може вимагати від працівника працювати понад 40 годин на тиждень без згоди або в небезпечних умовах без належного захисту.

Персонал, який бере участь у виробництві, повинен розуміти технологічний процес, властивості речовин та заходи безпеки. До роботи допускаються тільки ті, хто отримав належну підготовку та оцінку з охорони праці та техніки безпеки. Чіткі інструкції повинні відображатися для керівництва співробітників, і важливо дотримуватися протоколів безпеки при виробництві. Працівники повинні володіти знаннями про надання першої допомоги для травм на робочому місці, дотримуючись встановлених протоколів. Додатково робоче місце повинно бути оснащено аптечкою, що містить необхідні витратні матеріали та медикаменти.

Працівники біотехнологічного виробництва стикаються з кількома ключовими небезпеками:

— Біологічно активні метаболіти: метаболічні побічні продукти від мікроорганізмів можуть подразнювати слизові оболонки і викликати алергічні реакції.

— Хімічні речовини: процес виробництва може включати кислоти і луги для очищення продукту.

					<i>ДПББ1107000ПЗ</i>		
<i>Зм.</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>	РОЗДІЛ 5. ОХОРОНА ПРАЦІ ТА ОХОРОНА ДОВКІЛЛЯ		
<i>Розроб.</i>		<i>Дейнека О.В.</i>					
<i>Конс.</i>		<i>Саблій Л.А.</i>					
<i>Керівн.</i>		<i>Колтишева Д.С.</i>					
<i>Затверд.</i>							
					<i>Лист.</i>	<i>Аркцш</i>	<i>Аркцшів</i>
						80	103
					<i>КПІ ім. Ігоря Сікорського, ФБТ</i>		

— Патогени: деякі фармацевтичні препарати використовують патогенних для людини мікроорганізмів, які можуть становити ризик для здоров'я або викликати алергічні реакції.

— Інші небезпеки: електричне обладнання може бути небезпечним через електричний струм, тому вкрай важливо дотримуватися протоколів безпеки та використовувати засоби індивідуального захисту (ЗІЗ), такі як діелектричні рукавички та килимки. Обладнання під тиском також вимагає обережності для запобігання вибухів; завжди носити захисні окуляри і щити. Крім того, обережно поводитися зі скляним посудом, щоб уникнути поранення осколками.

Освітлення є важливим у виробничих середовищах. Якісне освітлення зменшує навантаження на очі і допомагає працівникам чітко бачити своє оточення. Недостатнє освітлення може призвести до втоми очей, підвищеної нервозності та зменшення координації, що в кінцевому підсумку знижує продуктивність та якість роботи, одночасно підвищуючи ризик аварій поблизу експлуатаційного обладнання.

На всіх підприємствах герметизація обладнання стандартна, але мікробіологічні виробничі площі виділяють мікроорганізми, побічні продукти, пил, вологу, гази, тепло. Ефективна вентиляція регулює температуру та якість повітря, при цьому більшість галузей промисловості використовують вентиляцію для очищення повітря, що надходить. Зони, схильні до витоку пилу, оснащені місцевими витяжними системами. В цілому, вентиляція повинна відповідати стандартам, щоб забезпечити належну якість повітря у виробничих приміщеннях.

На всіх виробничих потужностях повинні бути позначені аварійні виходи та відповідне обладнання для пожежогасіння. Первинні вогнегасники повинні бути легкодоступними, з конкретними вимогами, викладеними в інструкції з пожежної безпеки для кожного виду підприємства.

					ДПББ1107000ПЗ	Арк.
						77
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Очищення стічних вод фокусується на видаленні або знищенні забруднень і патогенних мікроорганізмів, використовуючи чотири основні методи: механічний, хімічний, фізико-хімічний та біологічний.

Механічна чистка фізично видаляє пісок, глину, мул, жири та нафтопродукти, досягаючи приблизно 60% ефективності, яку можна підвищити до 75% за допомогою аерації.

Хімічне очищення передбачає додавання реагентів, які осаджують забруднюючі речовини і перетворюють шкідливі речовини в більш безпечні форми. Цей метод часто використовується при очищенні промислових стічних вод, видаляючи до 25% розчинених забруднень і 95% нерозчинених.

Як механічні, так і хімічні методи можуть бути застосовані на завершальній стадії перед скиданням обробленої води в природні водойми або як попередні кроки перед біологічною обробкою.

Фізико-хімічні методи очищення включають різні реагенти, які змінюють фізичні властивості забруднень, щоб допомогти в їх видаленні. Зазвичай використовуються такі методи, як флотація, екстракція, випаровування та нейтралізація.

Біологічні методи очищення також широко застосовуються в промисловості, використовуючи аеробні мікроорганізми, які споживають органічні речовини, такі як білки і вуглеводи. Цей процес мінералізує забруднюючі речовини, розбиваючи їх на вуглекислий газ, воду і мінеральні солі. Ці методи очищення можуть генерувати воду, багату розчиненим киснем і нітратами, яка залишається прозорою і не псується.

Важливим аспектом охорони навколишнього середовища є ефективне очищення повітря, що виділяється в атмосферу. Це досягається шляхом установки вискоефективних фільтрів, особливо тих, якими обладнуються ферментери. Поширені методи очищення повітря включають механічні пристрої, які використовують відцентрову силу для відділення частинок від повітря, а також вологі скрубери, які

					ДПББ1107000ПЗ	Адк.
						78
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

зволожують повітря рідиною. Крім того, повітря може бути прокладено через пористі матеріали для захоплення забруднюючих речовин. Циклони зазвичай використовуються для механічного очищення, тоді як тканинні рукавні фільтри використовуються для фільтрації.

Ключовим пріоритетом захисту навколишнього середовища на підприємстві є мінімізація негативного впливу його економічної діяльності при сприянні сталій екологізації. Це включає ефективне використання природних ресурсів, зменшення викидів забруднюючих речовин в атмосферу та джерела води, управління утилізацією відходів та підвищення ефективності екологічних заходів.

					ДПББ1107000ПЗ	Адк.
						79
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

ВИСНОВКИ

1. Обрано штам F52 *Metarhizium anisopliae* як цільовий організм завдяки добре задокументованій інсектицидній активності проти шкідників сільськогосподарських культур та здатності продукувати інфікуючі структури, такі як конідії, мікроспороції та бластоспори, що знижують чисельність популяцій фітофагів.

2. Враховуючи фізіологічні та біохімічні ознаки та літературні дані стосовно вирощування *Metarhizium anisopliae*, а саме утворення мікроспороцій, було обрано умови для культивування: $t = 28^{\circ}\text{C}$, аерація, $\tau = 144-168$ год, $\text{pH} = 6,5-7,5$, співвідношення вуглецю до нітрогену C:N 50:1.

3. Підібрано технологію виробництва біоінсектицидів, що включає в себе глибинне культивування з подальшою сепарацією та формування гранул з сумішшю діатомової землі. Біотехнологічний процес включає етапи: підготовку, стерилізацію, інокуляцію, ферментацію, сепарацію, сушку та упаковку. Вказано характеристики кінцевого продукту, включаючи його форму (гранули), стабільність зберігання та ефективність проти шкідників.

4. Розраховано основні параметри для ферментера, такі як об'єм 5 м^3 , співвідношення висоти до діаметра 3:2, параметри змішування 300 об/хв та система аерації з барботуванням. Накреслено технологічну та апаратурну схеми та креслення ферментера. Розраховано матеріальний баланс циклу виробництва мікроспороцій.

5. Розглянуті основні положення безпеки та заходи охорони праці при роботі з біологічними агентами та обладнанням, що забезпечують належні та безпечні умови праці для отримання цільового продукту.

В результаті всі завдання вирішуються комплексно, що дозволяє виробляти екологічно безпечний біоінсектицид на основі *Metarhizium anisopliae*.

					ДПББ1107000ПЗ		
Зм.	Арк.	№ докцм.	Підпис	Дата			
Розроб.		Дейнека О.В.			ВИСНОВКИ	Лит.	Аркцш
Конс.		Саблій Л.А.					84
						Аркцшів	
						103	
						КПІ ім. Ігоря Сікорського,	
Керівн.		Колтишева Д.С.				ФБТ	
Затверд.							

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Jackson, Mark & Jaronski, Stefan. (2009). Production of microsclerotia of the fungal entomopathogen *Metarhizium anisopliae* and their potential for use as a biocontrol agent for soil-inhabiting insects. *Mycological research.* 113. 842-50. 10.1016/j.mycres.2009.03.004.

2. Ratto Fabrizia, Bruce Toby, Chipabika Gilson, Mwamakamba Sithembile, Mkandawire Rachel, Khan Zeyaur, Mkindi Angela, Pittchar Jimmy, Sallu Susannah M., Whitfield Stephen, Wilson Kenneth and Sait Steven M. 2022 Biological control interventions reduce pest abundance and crop damage while maintaining natural enemies in sub-Saharan Africa: a meta-analysis *Proc. R. Soc. B.* 289 2022 1695

3. Boldorini, Gabriel & Mccary, Matthew & Romero, Gustavo & Mills, Kirby & Sanders, Nathan & Reich, Peter & Michalko, Radek & Gonçalves-Souza, Thiago. (2024). Predators control pests and increase yield across crop types and climates: a meta-analysis. *Proceedings of the Royal Society B.* 291. 10.1098/rspb.2023.2522.

4. Janssen A, van Rijn PCJ. Pesticides do not significantly reduce arthropod pest densities in the presence of natural enemies. *Ecology Letters.* 2021; 24: 2010–2024.

5. Metatech Insights. Agricultural Biologicals Market By Product Type (Biopesticides, Biostimulants, Biofertilizers, Others), By Crop Type (Field Crops {Grains, Oilseeds, Legumes, Others}, Fruits & Vegetables, Horticulture, Others), By Formulation Type (Liquid, Granular, Powder, Pellets), and By End-User (Organic Farmers, Commercial Growers, Agricultural Service Providers, Others), Global Market Size. *Metatech Insights.* URL: <https://www.metatechinsights.com/industry-insights/agricultural-biologicals-market-1336> (date of access: 16.01.2025).

					ДПББ1107000ПЗ								
Зм.	Арк.	№ докum.	Підпис	Дата	ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ								
Розроб.		Дейнека О.В.								Лист.		Аркцш	Аркцшів
Конс.		Саблій Л.А.										85	103
										КПІ ім. Ізгоря Сікорського, ФБТ			
Керівн.		Колтишева Д.С.											
Затверд.													

6. Jackson, Mark & Jaronski, Stefan. (2012). Development of pilot-scale fermentation and stabilisation processes for the production of microsclerotia of the entomopathogenic fungus *Metarhizium brunneum* strain F52. *Biocontrol Science and Technology* - BIOCONTROL SCI TECHNOL. 22. 915-930. 10.1080/09583157.2012.696578.
7. Roberts, Donald. "Metarhizium Spp., Cosmopolitan Insect-Pathogenic Fungi: Mycological Aspects." *Advances in Applied Microbiology*, 2004.
8. Oliva-Cruz, Manuel, Miguel A. Altamirano-Tantalean, Reyna Chuquizuta-Torres, Carlos Oliva-Cruz, Jorge L. Maicelo-Quintana, Santo T. Leiva-Espinoza, Lorenzo Culqui, Lizette Daniana Mendez-Fasabi, Heidel Marcelo Rojas Ventura, Mike Anderson Corazon-Guivin, and et al. 2024. "Isolation and Characterization of Native Isolates of *Metarhizium* sp. as a Biocontrol Agent of *Hypothenemus hampei* in Rodríguez de Mendoza Province—Peru" *Agronomy* 14, no. 7: 1341. <https://doi.org/10.3390/agronomy14071341>
9. Uzma Mustafa and Gurvinder Kaur. Effects of carbon and nitrogen sources and ratio on the germination, growth and sporulation characteristics of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* isolates. *International Scholars Journals*. 2019. Vol. 7, no. 001-009.
10. Kleespies, R. G., & Zimmermann, G. (1992). Production of blastospores by three strains of *metarhizium anisopliae* (metch.) sorokin in submerged culture. *Biocontrol Science and Technology*, 2(2), 127–135. <https://doi.org/10.1080/09583159209355226>
11. latifian, Masoud, Bahar Rad and Majid Amani. "Mass production of entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae* by using agricultural products based on liquid- solid diphasic method for date palm pest control." (2014).
12. Robert W. Behle, Mark A. Jackson, Effect of Fermentation Media on the Production, Efficacy, and Storage Stability of *Metarhizium brunneum* Microsclerotia Formulated as a Prototype Granule, *Journal of Economic Entomology*, Volume 107, Issue 2, 1 April 2014, Pages 582–590,

					ДПББ1107000ПЗ	Адк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		82

13. Song, Min Ho, Jeong Seon Yu, Sihyeon Kim, Se Jin Lee, Jong Cheol Kim, Yu-Shin Nai, Tae Young Shin, and Jae Su Kim. 2019. "Downstream Processing of *Beauveria Bassiana* and *Metarhizium Anisopliae*-Based Fungal Biopesticides against *Riptortus Pedestris*: Solid Culture and Delivery of Conidia." *Biocontrol Science and Technology* 29 (6): 514–32. doi:10.1080/09583157.2019.1566951.
14. G.V.S. Bhanu Prakash, V. Padmaja, R.R. Siva Kiran. Statistical optimization of process variables for the large-scale production of *Metarhizium anisopliae* conidiospores in solid-state fermentation, *Bioresource Technology*, Volume 99, Issue 6, 2008, Pages 1530-1537, ISSN 0960-8524,
15. Padilla-Guerrero, Israel Enrique, Larissa Barelli, Gloria Angélica González-Hernández, Juan Carlos Torres-Guzmán, and Michael J. Bidochka. 2011. "Flexible Metabolism in *Metarhizium Anisopliae* and *Beauveria Bassiana*: Role of the Glyoxylate Cycle During Insect Pathogenesis". *Microbiology*. Microbiology Society. doi:10.1099/mic.0.042697-0.
16. Scholte EJ, Ng'habi K, Kihonda J, Takken W, Paaijmans K, Abdulla S, Killeen GF, Knols BG. An entomopathogenic fungus for control of adult African malaria mosquitoes. *Science*. 2005 Jun 10;308(5728):1641-2. doi: 10.1126/science.1108639. PMID: 15947190.
17. Jaronski, Stefan T., and Mark A. Jackson. 2008. "Efficacy of *Metarhizium Anisopliae* Microsclerotial Granules." *Biocontrol Science and Technology* 18 (8): 849–63. doi:10.1080/09583150802381144.
18. Abrashev, Radoslav I., Svetlana B. Pashova, Lilyana N. Stefanova, Spassen V. Vassilev, Pavlina A. Dolashka-Angelova, and Maria B. Angelova. 2008. "Heat-shock-induced Oxidative Stress and Antioxidant Response in *Aspergillus Niger* 26". *Canadian Journal of Microbiology*. Canadian Science Publishing. doi:10.1139/w08-091.

- 19.Espín-Sánchez, Daysi, Lautaro Preisegger, Romina Mazzolenis, Marianela Santana, Mario C. N. Saparrat, Nicolás Pedrini, and Carla Huarte-Bonnet. 2023. "Dark Pigments in Entomopathogenic Fungal Microsclerotia: Preliminary Evidence of a 1,8-Dihydroxynaphthalene-melanin-like Compound in *Metarhizium robertsii*" *Journal of Fungi* 9, no. 12: 1162. <https://doi.org/10.3390/jof9121162>
- 20.Liu H, Huang C, Lin Y, Tseng M, Chang H.2022.Superoxide Initiates the Hyphal Differentiation to Microsclerotia Formation of *Macrophomina phaseolina*. *Microbiol Spectr*10:e02084-21.<https://doi.org/10.1128/spectrum.02084-21>
- 21.Goble, Tarryn A., Sana Gardescu, Mark A. Jackson, and Ann E. Hajek. 2016. "Evaluating Different Carriers of *Metarhizium Brunneum* F52 Microsclerotia for Control of Adult Asian Longhorned Beetles (Coleoptera: Cerambycidae)." *Biocontrol Science and Technology* 26 (9): 1212–29. doi:10.1080/09583157.2016.1192103
- 22.Yousef-Yousef, Meelad, Antonia Romero-Conde, Enrique Quesada-Moraga, and Inmaculada Garrido-Jurado. 2022. "Production of Microsclerotia by *Metarhizium* sp., and Factors Affecting Their Survival, Germination, and Conidial Yield" *Journal of Fungi* 8, no. 4: 402. <https://doi.org/10.3390/jof8040402>
- 23.Mascarin, G.M., Kabori, N.N., de Jesus Vital, R.C. *et al*. Production of microsclerotia by Brazilian strains of *Metarhizium* spp. using submerged liquid culture fermentation. *World J Microbiol Biotechnol* 30, 1583–1590 (2014). <https://doi.org/10.1007/s11274-013-1581-0>
- 24.Behle, Robert & Jackson, Mark. (2014). Effect of Fermentation Media on the Production, Br, and Storage Stability of *Metarhizium brunneum* Microsclerotia Formulated as a Prototype Granule. *Journal of economic entomology*. 107. 582-90. 10.1603/EC13426.

					ДПББ1107000ПЗ	Адк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		84

25. Song, Z. Fungal microscerotia development: essential prerequisites, influencing factors, and molecular mechanism. *Appl Microbiol Biotechnol* 102, 9873–9880 (2018). <https://doi.org/10.1007/s00253-018-9400-z>
26. Abrashev, R. I., Pashova, S. B., Stefanova, L. N., Vassilev, S. V., Dolashka-Angelova, P. A., & Angelova, M. B. (2008, December). Heat-shock-induced oxidative stress and antioxidant response in *Aspergillus niger* 26. *Canadian Journal of Microbiology*. Canadian Science Publishing. <http://doi.org/10.1139/w08-091>
27. Yang, Hua, Longyan Tian, Hualong Qiu, Changsheng Qin, Siquan Ling, and Jinzhu Xu. 2023. "Metabolomics Analysis of Sporulation-Associated Metabolites of *Metarhizium anisopliae* Based on Gas Chromatography–Mass Spectrometry" *Journal of Fungi* 9, no. 10: 1011. <https://doi.org/10.3390/jof9101011>
28. Huang, Wenyou et al. “Proteomic Analysis of a Hypervirulent Mutant of the Insect-Pathogenic Fungus *Metarhizium anisopliae* Reveals Changes in Pathogenicity and Terpenoid Pathways.” *Microbiology spectrum* vol. 10,6 (2022): e0076022. doi:10.1128/spectrum.00760-22
29. Iwanicki NS, Júnior ID, Eilenberg J, De Fine Licht HH. Comparative RNAseq Analysis of the Insect-Pathogenic Fungus *Metarhizium anisopliae* Reveals Specific Transcriptome Signatures of Filamentous and Yeast-Like Development. *G3* (Bethesda). 2020 Jul 7;10(7):2141-2157. doi: 10.1534/g3.120.401040. PMID: 32354703; PMCID: PMC7341153.
30. Nielsen KN, Salgado JFM, Natsopoulou ME, Kristensen T, Stajich JE, De Fine Licht HH. Diploidy within a Haploid Genus of Entomopathogenic Fungi. *Genome Biol Evol*. 2021 Jul 6;13(7):evab158. doi: 10.1093/gbe/evab158. PMID: 34247231; PMCID: PMC8325562.

					ДПББ1107000ПЗ	Адк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		85

31. Susumu Shimizu, Youko Arai, Tsuguo Matsumoto. Electrophoretic karyotype of *Metarhizium anisopliae*. *Journal of Invertebrate Pathology*. Volume 60, Issue 2, 1992, Pages 185-187, ISSN 0022-2011.
32. St. Leger Raymond J. and Wang Jonathan B. 2020 *Metarhizium*: jack of all trades, master of many Open Biol. 10:200307
33. Inglis, Maria Cleria Valadares and João Lúcio de Azevedo. "Amylase and protease secretion in recombinant strains of *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* following parasexual crosses." *Brazilian Journal of Genetics* 20 (1997): 171-175.
34. Liu, Cheng-Ming, Shyuan-Shuenn Huang, and Yew-Min Tzeng. 2004. "Purification and Quantitative Analysis of Destruxins from *Meterhizium Anisopliae* by HPLC." *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies* 27 (6): 1013–25. doi:10.1081/JLC-120030175.
35. Wang, C., Skrobek, A., & Butt, T. M. (2004). *Investigations on the destruxin production of the entomopathogenic fungus Metarhizium anisopliae*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 85(3), 168–174. doi:10.1016/j.jip.2004.02.008
36. Azumi, M., Ishidoh, K., Kinoshita, H., Nihira, T., Ihara, F., Fujita, T., & Igarashi, Y. (2008). *Aurovertins F–H from the Entomopathogenic Fungus Metarhizium anisopliae*(1). *Journal of Natural Products*, 71(2), 278–280. doi:10.1021/np070494e
37. Lee, S.-Y., Kinoshita, H., Ihara, F., Igarashi, Y., & Nihira, T. (2008). *Identification of novel derivative of helvolic acid from Metarhizium anisopliae grown in medium with insect component*. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 105(5), 476–480. doi:10.1263/jbb.105.476

					ДПББ1107000ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		86

38. Moon Y, Donzelli BGG, Krasnoff SB, McLane H, Griggs MH, Cooke P, Vandenberg JD, Gibson DM, Churchill ACL. 2008. Agrobacterium-Mediated Disruption of a Nonribosomal Peptide Synthetase Gene in the Invertebrate Pathogen *Metarhizium anisopliae* Reveals a Peptide Spore Factor. *Appl Environ Microbiol* 74: <https://doi.org/10.1128/AEM.00285-08>
39. Kang, S. C., Park, S., & Lee, D. G. (1999). *Purification and Characterization of a Novel Chitinase from the Entomopathogenic Fungus, Metarhizium anisopliae*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 73(3), 276–281. doi:10.1006/jipa.1999.4843
40. Composition of entomopathogenic fungus and method of production and application for insect control - Google Patents. Retrieved from <https://patents.google.com/patent/WO2009035925A2/en>
41. Mascarin GM, Golo PS, de Souza Ribeiro-Silva C, Muniz ER, de Oliveira Franco A, Kobori NN, Fernandes ÉKK. Advances in submerged liquid fermentation and formulation of entomopathogenic fungi. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2024 Aug 30;108(1):451. doi: 10.1007/s00253-024-13287-z. PMID: 39212719; PMCID: PMC11364594.
42. Santos TR, da Paixão FRS, Catão AML, Muniz ER, Ribeiro-Silva CS, Taveira SF, Luz C, Mascarin GM, Fernandes ÉKK, Marreto RN. Inorganic pellets containing microsclerotia of *Metarhizium anisopliae*: a new technological platform for the biological control of the cattle tick *Rhipicephalus microplus*. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2021 Jun;105(12):5001-5012. doi: 10.1007/s00253-021-11372-1. Epub 2021 Jun 8. PMID: 34100979.
43. Akutse, K. S., Fiaboe, K. K. M., Van den Berg, J., Ekesi, S., & Maniania, N. K. (2014, October 22). Effects of Endophyte Colonization of *Vicia faba* (Fabaceae) Plants on the Life–History of Leafminer Parasitoids *Phaenotoma scabriventris* (Hymenoptera:

					ДПББ1107000ПЗ	Адк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		87

Braconidae) and *Diglyphus isaea* (Hymenoptera: Eulophidae). (R. N. C. Guedes, Ed.), *PLoS ONE*. Public Library of Science (PLOS).
<http://doi.org/10.1371/journal.pone.0109965>

44. Головей О.П. , Гуляєв В.М. Конспект лекцій з дисципліни «Асептика біотехнологічних виробництв» освітньо-професійної програми другого (магістерського) рівня вищої освіти зі спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія» усіх форм навчання, – Кам'янське, ДДТУ, 2017 р., 140 с.
45. Конспект лекцій з дисципліни «Проектування біотехнологічних виробництв-2. Основи проектування» для здобувачів вищої освіти зі спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія». – НТУУ «КПІ», Київ, 2022 р. Поводзинський В. М.
- 46.(n.d.). The Preparation of Diatomaceous Earth Dispersions. Retrieved from <https://www.lankem.com/post/the-preparation-of-diatomaceous-earth-dispersions>
47. Paixão, Flávia R S et al. "Tolerance to Abiotic Factors of Microsclerotia and Mycelial Pellets From *Metarhizium robertsii*, and Molecular and Ultrastructural Changes During Microsclerotial Differentiation." *Frontiers in fungal biology* vol. 2 654737. 30 Apr. 2021, doi:10.3389/ffunb.2021.654737
48. Kang, Hyun-Jin, Hwan Hee Yu, Chang-Won Cho, Young Kyung Rhee, Tae-Wan Kim, and Young-Wook Chin. 2025. "Optimization of Medium Composition and Fluidized Bed Drying Conditions for Efficient Production of Dry yeast" *Microorganisms* 13, no. 1: 22. <https://doi.org/10.3390/microorganisms13010022>
49. Крюковська О.А., Левчук К.О. Охорона праці в галузі (для хімічних спеціальностей): Навч. посібник. – 2011. – 230 с.

					ДПББ1107000ПЗ	Адк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		38

- 50.Фесенко Г. В. Конспект лекцій з курсу «Пожежна безпека виробництв» (для студентів 4-го курсу денної форми навчання за напрямом підготовки 6.170202 «Охорона праці»); Харк. нац. ун-т міськ. госп-ва. ім. О. М. Бекетова; – Х.: ХНУМГ, 2013, 86 с.
- 51.Манцев А.І., Проценко С.Б., Саблій Л.А. Моніторинг та інженерні методи охорони довкілля: Навч. посібник. – Рівне: ВАТ «Рівненська друкарня», 2000, 504 с.
- 52.Поводзинський В. М. Основи проектування біотехнологічних виробництв. Конспект лекцій для студентів спеціальності 6.092900 та 7.092901 «Промислова біотехнологія» напряму 0929 “Біотехнологія” денної та заочної форм навчання. 2006.
- 53.Гуляєв В.М. Методичні вказівки до практичних занять з дисципліни «Основи проектування» для здобувачів першого (бакалаврського) рівня вищої освіти зі спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія» Укл: Гуляєв В.М. - Кам’янське: ДДТУ, 2019 р. – 71 с.
- 54.Ружинська Л.І. Проектування реакторів біотехнологічних та фармацевтичних виробництв. Навч. посібник. Укл: Л.І. Ружинська, І А Буртна, В.М.Поводзинський, В.Ю. Шибецький – К.: НТУУ «КПІ», 2014 – 130 с.
- 55.Krutiakova, V. & Gulych, O. & Janse, Liliya. (2023). State and problems of the market of biological plant protection products in Ukraine. Visnyk agrarnoi nauky. 101. 30-39. 10.31073/agrovisnyk202301-04.
56. Міністерство аграрної політики та продовольства України. У 2025 році в Україні плануємо засіяти понад 23 млн гектарів. URL: <https://minagro.gov.ua/news/vitalii-koval-u-2025-rotsi-v-ukraini-planuiemo-zasiiaty-ponad-23-mln-hektariv>

					ДПББ1107000ПЗ	Адк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		89

- 57.Monge, R. A., Román, E., Nombela, C., & Pla, J. (2006, April 1). The MAP kinase signal transduction network in *Candida albicans*. *Microbiology*. Microbiology Society. <http://doi.org/10.1099/mic.0.28616-0>
- 58.Paixão, Flávia R S et al. “Tolerance to Abiotic Factors of Microsclerotia and Mycelial Pellets From *Metarhizium robertsii*, and Molecular and Ultrastructural Changes During Microsclerotial Differentiation.” *Frontiers in fungal biology* vol. 2 654737. 30 Apr. 2021, doi:10.3389/ffunb.2021.654737
- 59.Marciano, A.F., Mascarin, G.M., Franco, R.F.F. *et al*. Innovative granular formulation of *Metarhizium robertsii* microsclerotia and blastospores for cattle tick control. *Sci Rep* **11**, 4972 (2021). <https://doi.org/10.1038/s41598-021-84142-8>

					ДПББ1107000ПЗ	Адк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		90

ДОДАТОК А

Таблиця А.1 – Специфікація обладнання

Індекс і номер за схемою	Найменування	Кількість одиниць	Технічна характеристика
Д-1	Дозатор	21	Нержавіюча сталь AISI 316, дозування до 20 літрів, точність $\pm 1-2\%$.
Д-2	Дозатор	21	Нержавіюча сталь AISI 316, дозування до 20 літрів, точність $\pm 1-2\%$.
Р-3	Реактор- змішувач	8	Нержавіюча сталь AISI 316L, 20 – 300 об/хв, температурний режим від $+15^{\circ}\text{C}$ до $+80^{\circ}\text{C}$, тиск робочий - атмосферний або надлишковий до 3 бар
Д-4	Дозатор	21	Нержавіюча сталь AISI 316, дозування до 20 літрів, точність $\pm 1-2\%$.
Д-5	Дозатор	21	Нержавіюча сталь AISI 316, дозування до 20 літрів, точність $\pm 1-2\%$.
Р-6	Реактор- змішувач	8	Нержавіюча сталь AISI 316L, 20 – 300 об/хв, температурний режим від $+15^{\circ}\text{C}$ до $+80^{\circ}\text{C}$, тиск робочий - атмосферний або надлишковий до 3 бар

					ДПББ1107000ПЗ							
Зм.	Арк.	№ докum.	Підпис	Дата								
Розроб.		Дейнека О.В.			ДОДАТОК А			Лит.	Аркцш	Аркцшв		
Конс.		Саблій Л.А.								95	103	
								КПІ ім. Ігоря Сікорського, ФБТ				
Керівн.		Колтишева Д.С.										
Затверд.												

Д-7	Дозатор	21	Нержавіюча сталь AISI 316, дозування до 20 літрів, точність $\pm 1-2\%$.
Д-8	Дозатор	21	Нержавіюча сталь AISI 316, дозування до 20 літрів, точність $\pm 1-2\%$.
Р-9	Реактор-змішувач	8	Нержавіюча сталь AISI 316L, 20 – 300 об/хв, рубашка наявна, температурний режим від $+15^{\circ}\text{C}$ до $+80^{\circ}\text{C}$, тиск робочий - атмосферний або надлишковий до 3 бар
ПЗ-10	Повітрозбірник	1	Повітрозбірник V-10-0,8 призначений для роботи при температурі від -70°C до $+200^{\circ}\text{C}$. Термін його служби - до 40 років. Вентиляційний бак призначений для створення запасу повітря. Максимальний тиск на повітрозбірнику даної модифікації становить не більше 0,785 МПа (8 кгс/см ²).
Ф-11	Фільтр	1	Фільтр ФЯР є пристроєм для грубої очистки повітря, призначеним для використання в системах вентиляції та кондиціонування. Основні характеристики: Коефіцієнт очищення: Не менше 80% (0,8). Опір потоку повітря: 30 Н/м ² (30 Па). Розміри: Стандартний розмір фільтра - 514x514 мм з товщиною рамки 50 мм. Матеріал виготовлення: Оцинкована сталь. Пропускна спроможність: До 1540 м ³ /год .

					ДПББ1107000ПЗ	Адк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		92

К-12	Компресор	1	Клас ISO 8573-1:2010 – 1.4.1 (для стерильного повітря), Електричний, з частотним регулюванням (VFD)
Т-13	Теплообмінник	1	Температура на вході +120 °С, температура на виході +20 °С, робочий тиск до 16 бар, продуктивність (повітря) 0.5 – 5.0 м³/хв. Нержавіюча сталь AISI 316L, матеріал ущільнень EPDM.
Ф-14	Фільтр	1	До 0.01 мкм, нерж. сталь, до 16 бар, температура -10°C - +60°C.
Ф-15	Фільтр	6	0.01 – 0.003 мкм, PTFE, Нержавіюча сталь AISI 316L, до 10 бар
Н-16	Відцентровий насос змінної продуктивності	5	Відцентровий насос CM MAGP15 PVDF з нереверсивним потоком. Максимальна продуктивність 23 м³/год, максимальний напір 19м, максимальна щільність рідини 1900 кг/м³, потужність електродвигуна 1,1 кВт.
ГФ-17	Стерилізаційний блок	1	Продуктивність води: 1000 л/год; ємність камери: 4000 л; матеріал корпусу: АБС-пластик; матеріал камери: нерж. сталь;
ФВ-18	Вугільний фільтр	2	5 м³/год, активоване вугілля (гранульоване, кокосове, або з бітумного вугілля), 5–10 мкм (залежно від матеріалу), Нержавіюча сталь AISI 304/316L, 2 – 6 бар

					ДПББ1107000ПЗ	Адк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		93

ФВ-19	Вугільний фільтр	2	5 м³/год, активоване вугілля (гранульоване, кокосове, або з бітумного вугілля), 5–10 мкм (залежно від матеріалу), Нержавіюча сталь AISI 304/316L, 2 – 6 бар
Д-20	Дозатор	21	Нержавіюча сталь AISI 316, дозування до 20 літрів, точність ±1–2%.
Д-21	Дозатор	21	Нержавіюча сталь AISI 316, дозування до 20 літрів, точність ±1–2%.
Д-22	Дозатор	21	Нержавіюча сталь AISI 316, дозування до 20 літрів, точність ±1–2%.
Д-23	Дозатор	21	Нержавіюча сталь AISI 316, дозування до 20 літрів, точність ±1–2%.
Р-24	Реактор-змішувач	8	Нержавіюча сталь AISI 316L, 20 – 300 об/хв, температурний режим від +15°C до +80°C, тиск робочий - атмосферний або надлишковий до 3 бар
Д-25	Дозатор	21	Нержавіюча сталь AISI 316, дозування до 20 літрів, точність ±1–2%.
Д-26	Дозатор	21	Нержавіюча сталь AISI 316, дозування до 20 літрів, точність ±1–2%.
Р-27	Реактор-змішувач	8	Нержавіюча сталь AISI 316L, 20 – 300 об/хв, рубашка наявна, температурний режим від +15°C до +80°C, тиск робочий - атмосферний або надлишковий до 3 бар
Д-28	Дозатор	21	Нержавіюча сталь AISI 316, дозування до 20 літрів, точність ±1–2%.

					ДПББ1107000ПЗ	Арк.
						94
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Д-29	Дозатор	21	Нержавіюча сталь AISI 316, дозування до 20 літрів, точність $\pm 1-2\%$.
Р-30	Реактор-змішувач	8	Нержавіюча сталь AISI 316L, 20 – 300 об/хв, рубашка наявна, температурний режим від +15°C до +80°C, тиск робочий - атмосферний або надлишковий до 3 бар
Д-31	Дозатор	21	Нержавіюча сталь AISI 316, дозування до 20 літрів, точність $\pm 1-2\%$.
Д-32	Дозатор	21	Нержавіюча сталь AISI 316, дозування до 20 літрів, точність $\pm 1-2\%$.
Р-33	Реактор-змішувач	8	Нержавіюча сталь AISI 316L, 20 – 300 об/хв, рубашка наявна, температурний режим від +15°C до +80°C, тиск робочий - атмосферний або надлишковий до 3 бар
ЧП-34	Чашки Петрі	6	Боросилікатне скло, діаметр 90 мм, об'єм до 20 мл (90 мм)
ЧП-35	Чашки Петрі	6	Боросилікатне скло, діаметр 90 мм, об'єм до 20 мл (90 мм)
КЛ-36	Колби Ерленмеєра	3	500 мл, боросилікатне скло
Ф-37	Фільтр	6	0.01 – 0.003 мкм, PTFE, Нержавіюча сталь AISI 316L, до 10 бар
Н-38	Відцентровий насос змінної продуктивності з	5	Відцентровий насос CM MAGP15 PVDF з нереверсивним потоком. Максимальна продуктивність 23 м ³ /год, максимальний напір

					ДПББ1107000ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		95

	неревверсивним потоком		19м, максимальна щільність рідини 1900 кг/м ³ , потужність електродвигуна 1,1 кВт.
Ф-39	Фільтр	6	0.01 – 0.003 мкм, PTFE, Нержавіюча сталь AISI 316L, до 10 бар
ІН-40	Інокулятор	1	Нержавіюча сталь AISI 316L, механічне перемішування, автоматизована система підтримки температури, автоматизована система з датчиком і дозуванням коригуючих розчинів; запобіжні клапани, система аварійного відключення, захист від перевищення тиску та температури.
ФР-41	Ферментер	1	Номинальний об'єм: $V_{ф.н} = 5\text{м}^3$ Внутрішній діаметр: $D_{вн} = 1800\text{ мм}$ Висота еліптичної частини днища: $h_b = 450\text{ мм}$ Площа поверхні теплообміну рубашки: $F_p = 12\text{ м}^2$ Об'єм днища: $V_{дн} = 0,8617\text{ м}^3$ Висота відбортаної частини днища: $h_1 = 0,04\text{ м}$ Товщина стінки днища: $s = 14\text{ мм}$ Площа внутрішньої поверхні $F = 3,74\text{ м}^2$
Ф-42	Фільтр	6	0.01 – 0.003 мкм, PTFE, Нержавіюча сталь AISI 316L, до 10 бар

					ДПББ1107000ПЗ	Адк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		96

Ф-43	Фільтр	6	0.01 – 0.003 мкм, PTFE, Нержавіюча сталь AISI 316L, до 10 бар
Д-44	Дозатор	21	Нержавіюча сталь AISI 316, дозування до 20 літрів, точність $\pm 1-2\%$.
Н-45	Відцентровий насос змінної продуктивності з нереверсивним потоком	5	Відцентровий насос CM MAGP15 PVDF з нереверсивним потоком. Максимальна продуктивність 23 м ³ /год, максимальний напір 19м, максимальна щільність рідини 1900 кг/м ³ , потужність електродвигуна 1,1 кВт.
Ц-46	Центрифуга	1	Частота обертання ротора, 740–2500 об/хв, Максимальне завантаження, 1700 кг, нежавуюча сталь, автоматичний спосіб завантаження
Н-47	Відцентровий насос змінної продуктивності з нереверсивним потоком	5	Відцентровий насос CM MAGP15 PVDF з нереверсивним потоком. Максимальна продуктивність 23 м ³ /год, максимальний напір 19м, максимальна щільність рідини 1900 кг/м ³ , потужність електродвигуна 1,1 кВт.
Р-48	Реактор-змішувач	8	Нержавіюча сталь AISI 316L, 20 – 300 об/хв, температурний режим від +15°C до +80°C, тиск робочий - атмосферний або надлишковий до 3 бар
Д-49	Дозатор	21	Нержавіюча сталь AISI 316, дозування до 20

			літрів, точність $\pm 1-2\%$.
Н-50	Відцентровий насос змінної продуктивності з nereversивним потоком	5	Відцентровий насос CM MAGP15 PVDF з nereversивним потоком. Максимальна продуктивність 23 м ³ /год, максимальний напір 19м, максимальна щільність рідини 1900 кг/м ³ , потужність електродвигуна 1,1 кВт.
С-51	Сушарка у киплячому шарі	1	Вертикальна сушильна камера з горизонтальною решіткою для рівномірного розподілу повітря. Зона киплячого шару має висоту 0,3–0,7 м, над нею розташована сепараційна зона для зменшення винесення частинок. Можливість регулювання часу перебування матеріалу на решітці, що дозволяє досягти глибокого і рівномірного сушіння.
Ф-43	Фільтр	6	0.01 – 0.003 мкм, PTFE, Нержавіюча сталь AISI 316L, до 10 бар
Д-53	Дозатор	21	Нержавіюча сталь AISI 316, дозування до 20 літрів, точність $\pm 1-2\%$.
РД-54	Роторна дробарка	1	Розмір завантажувального отвору 1000 мм. Продуктивність: 2000 м ³ /год.
Д-55	Дозатор	21	Нержавіюча сталь AISI 316, дозування до 20 літрів, точність $\pm 1-2\%$.
СЕ-56	Сітчасті екрани	1	Металеві сітки з отворами певного розміру, що забезпечують просіювання гранул потрібної фракції.

					ДПББ1107000ПЗ	Адк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		98

ЧП-57	Чашки Петрі	6	Боросилікатне скло, діаметр 90 мм, об'єм до 20 мл (90 мм)
КН-58	Конвеєр	1	Ширина стрічки: 1000 мм, довжина 10 м. Привід: мотор-редуктор. Коефіцієнти: тертя приблизно 0,35, опору на вигинах 0,06.
ПМ-59	Пакувальна машина	1	Діапазон упаковки: 2,5 кг – 25 кг. Монітор: 4,3 дюйма. Електроживлення: 400 V. Потужність компресора: 5-6 bar, 30 л/хв. Потужність машини: 3,2 kW. Розміри: 4,4 м x 1,0 м x 2,2 м.

					ДПББ1107000ПЗ	Арк.
						99
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

