

**НАЦІОНАЛЬНИЙ ТЕХНІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ УКРАЇНИ
«КИЇВСЬКИЙ ПОЛІТЕХНІЧНИЙ ІНСТИТУТ
імені ІГОРЯ СІКОРСЬКОГО»
Факультет біотехнології та біоінженерії
Кафедра біотехніки та інженерії**

До захисту допущено:
Завідувач кафедри
_____ Вікторія МЕЛЬНИК
«__» _____ 20__ р.

**Дипломний проєкт
на здобуття ступеня бакалавра
за освітньо-професійною програмою «Біотехнології»
спеціальності 162 «Біотехнологія та біоінженерія»
на тему: «Лінія виробництва біопрепарату на основі бактерій роду *Bacillus*.
Стадія біосинтезу»**

Виконав:
студент IV курсу, групи БІ-21
Петрівський Максим Дмитрович _____

Керівник:
Старший викладач
Остапенко Жанна Ігорівна _____

Консультант з Розділу 3. Технологічна схема:
Старший викладач, кандидат технічних наук
Тітова Лариса Олександрівна _____

Рецензент:
Доцент, кандидат біологічних наук
Яловенко Олена Ігорівна _____

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

Київ – 2026 року

ВІДОМІСТЬ ДИПЛОМНОГО ПРОЄКТУ

№ з/п	Формат	Позначення	Найменування	Кількість листів	Примітка
1	A4		Завдання на дипломний проєкт	1	
2	A4	ДП БІ-2107. 00.000 ПЗ	Пояснювальна записка	136	
3	A1	ДП БІ-2107. 01.000 ТС		2	
4	A1	ДП БІ-2107. 02.000 АС		2	
5	A1	ДП БІ-2107. 03.000 КА		2	

				ДП БІ-2107.000.ВДП		
	ПІБ	Підп.	Дата	Відомість дипломного проєкту	Лист	Листів
Розробн.	Петрівський М.Д.				2	1
Керівн.	Остапенко Ж.І				КПІ ім. Ігоря Сікорського Каф. БТІ Гр. БІ-21	
Консульт.	Тітова Л. О					
Н/контр. Зав.каф.	Мельник В. М.					

Пояснювальна записка
до дипломного проєкту
на тему: «Лінія виробництва біопрепарату на основі бактерій роду
***Bacillus*. Стадія біосинтезу»**

Київ – 2026 року

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

Факультет біотехнології і біотехніки

Кафедра біотехніки та інженерії

Рівень вищої освіти – перший (бакалаврський)

Спеціальність – 162 «Біотехнології та біоінженерія»

Освітньо-професійна програма «Біотехнології»

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри

_____ Вікторія МЕЛЬНИК

« » квітня 2026 р.

ЗАВДАННЯ

на дипломний проєкт студенту

Петрівському Максиму Дмитровичу

1. Тема проєкту «Лінія виробництва біопрепарату на основі бактерій роду *Bacillus*. Стадія біосинтезу», керівник проєкту Остапенко Жанна Ігорівна старший викладач, затверджені наказом по університету від «__» ____2026 р. №__-с.__.
2. Термін подання студентом проєкту 9 червня 2026 року
3. Вихідні дані по проєкту: кінцевий продукт – біопрепарат на основі бактерій роду *Bacillus*; виробниче культивування здійснюється у ферментері.
4. Зміст пояснювальної записки: обрати та надати характеристику продуцента для виробництва біопрепарату; розглянути умови накопичення біомаси; проаналізувати методики створення високопродуктивних продуцентів; дати характеристику кінцевого продукту; скласти матеріальний баланс виробництва; навести технологічну та апаратурну схему виробництва; обґрунтувати вибір конструкції ферментера; провести технологічний та конструктивний розрахунки основного обладнання; здійснити вибір допоміжного обладнання; навести креслення загального виду ферментера.
5. Перелік графічного матеріалу (із зазначенням обов'язкових креслеників, плакатів, презентацій тощо): технологічна схема – 2 арк. А1, апаратурна схема – 2 арк. А1, креслення загального виду ферментера – 2 арк. А1, презентація.

6. Консультанти розділів проєкту

Розділ	Прізвище, ініціали та посада консультанта	Підпис, дата	
		завдання видав	завдання прийняв
Розділ 3	ст. викл. каф. промислової біотехнології та біофармації Тітова Л. О.		

7. Дата видачі завдання

Календарний план

№ з/п	Назва етапів виконання дипломного проєкту	Термін виконання етапів проєкту	Примітка
1	Отримання теми і вихідних даних. Вступ, Характеристика сировини, біологічного агента, обґрунтування технології	20.04.2026- 24.04.2026	
2	Біохімічні основи технологічного процесу	27.04.2026- 01.05.2026	
3	Технологічна частина. Оформлення технологічної схеми	04.05.2026- 08.05.2026	
4	Розрахунок обладнання для проведення технологічного процесу. Оформлення апаратурної схеми	11.05.2026- 15.05.2026	
5	Охорона праці та охорона довкілля	18.05.2026- 22.05.2026	
6	Оформлення пояснювальної записки	25.05.2026- 29.05.2026	
7	Подання дипломного проєкту на рецензування	01.06.2026- 05.06.2026	
8	Подання дипломного проєкту та рецензії до екзаменаційної комісії	09.06.2026	

Студент

Максим ПЕТРІВСЬКИЙ

Керівник

Жанна ОСТАПЕНКО

РЕФЕРАТ

Пояснювальна записка: 136 с., 5 розділів, 8 рис., 4 табл., 44 посилання.

У дипломному проєкті обґрунтовано технологію виробництва рідкої форми біопрепарату на основі бактерій роду *Bacillus*. Як біологічні агенти використані штами *Bacillus subtilis* FB17, *Bacillus amyloliquefaciens* QST 713 та *Bacillus megaterium* QM B1551, які характеризуються високою біологічною активністю та здатністю стимулювати ріст рослин, мобілізувати поживні елементи ґрунту й пригнічувати розвиток фітопатогенних мікроорганізмів.

Було обґрунтовано вибір технологічної схеми виробництва рідкого мікробіологічного препарату з роздільним культивуванням бактеріальних штамів та подальшим змішуванням концентрованої біомаси. Наведено характеристику сировини, біологічних агентів, описано основні біохімічні процеси росту та накопичення біомаси бактерій роду *Bacillus*, очистки біомаси, розроблено матеріальний баланс виробництва та систему контролю технологічних параметрів.

Спроектовано ферментер об'ємом 5 м³ з відкритою турбінною мішалкою та кільцевим барботером. Розроблено технологічну та апаратурну схеми виробництва, а також запропоновано заходи з охорони праці та захисту навколишнього середовища.

БІОПРЕПАРАТ, *BACILLUS SUBTILIS*, *BACILLUS AMYLOLIQUEFACIENS*, *BACILLUS MEGATERIUM*, КУЛЬТИВУВАННЯ, БІОМАСА, ФЕРМЕНТЕР, ЦЕНТРИФУГУВАННЯ, МАТЕРІАЛЬНИЙ БАЛАНС.

					ДП БІ 21.07.000. ПЗ			
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата	Реферат	Стадія	Арк.	Аркушів
	Розроб.	Петрівський М.Д.				Д	4	136
	Конс.					КПІ ім. Ігоря Сікорського Каф. БТІ Гр. БІ-21		
	Керівн.	Остапенко Ж.І.						
	Затв.	Мельник В.М.						

ABSTRACT

Explanatory Note: 136 pages, 5 chapters, 8 figures, 4 tables, 44 references.

The diploma project substantiates the technology for the production of a liquid biological preparation based on bacteria of the genus *Bacillus*. The biological agents used are the strains *Bacillus subtilis* FB17, *Bacillus amyloliquefaciens* QST 713, and *Bacillus megaterium* QM B1551, which are characterized by high biological activity and the ability to stimulate plant growth, mobilize soil nutrients, and suppress the development of phytopathogenic microorganisms.

The choice of the technological scheme for the production of a liquid microbial preparation with separate cultivation of bacterial strains followed by mixing of the concentrated biomass has been substantiated. The characteristics of the raw materials and biological agents are presented, the main biochemical processes of growth, biomass accumulation, and biomass purification of *Bacillus* bacteria are described, and the material balance of the production process together with the technological process control system has been developed.

A 5 m³ fermenter equipped with an open turbine impeller and a ring sparger was designed. Technological and equipment flow diagrams of the production process were developed, and measures for occupational safety and environmental protection were proposed.

BIOLOGICAL PREPARATION, *BACILLUS SUBTILIS*, *BACILLUS AMYLOLIQUEFACIENS*, *BACILLUS MEGATERIUM*, CULTIVATION, BIOMASS, FERMENTER, CENTRIFUGATION, MATERIAL BALANCE.

					ДП БІ 21.07.000. ПЗ			
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата	Abstract	Стадія	Арк.	Аркушів
	Розроб	Петрівський М. Д.				Д	5	136
	Конс.					КПІ ім. Ізгоря Сікорського		
	Керівн.	Остапенко Ж. І.				Каф. БТІ		
	Затв.	Мельник В. М.				Гр. БІ-21		

ЗМІСТ

ВСТУП.....	7
РОЗДІЛ 1. ХАРАКТЕРИСТИКА СИРОВИНИ, БІОЛОГІЧНОГО АГЕНТА. ОБГРУНТУВАННЯ ТЕХНОЛОГІЇ.....	9
1.1 Характеристика сировини.....	9
1.2 Обґрунтування вибору технології.....	14
1.2.1 Вибір продуцентів	15
1.2.3 Методи створення продуцентів методом природнього та штучного добору.....	17
1.2.4 Використання методів індукованого мутагенезу	18
1.2.5 Організація технологічного процесу.....	22
1.3. Характеристика біологічного агента	25
1.3.1 Культуральні характеристики продуцентів.....	27
РОЗДІЛ 2. БІОХІМІЧНІ ОСНОВИ ТЕХНОЛОГІЧНОГО ПРОЦЕСУ.....	30
2.1Схема перебігу процесів.....	30
2.1.2 Умови здійснення процесу біосинтезу.....	33
2.1.3 Біохімічні аспекти взаємодії з рослинами.....	34
2.2 Характеристика кінцевого продукту.....	37
РОЗДІЛ 3. ТЕХНОЛОГІЧНА ЧАСТИНА.....	39
3.1. Матеріали основні і допоміжні.....	39
3.2 Контроль виробництва.....	49
3.3. Матеріальний баланс.....	70
3.4. Опис технологічного процесу.....	77
РОЗДІЛ 4. ПІДБІР ТА ХАРАКТЕРИСТИКА ОБЛАДНАННЯ.....	99
4.1 Вибір конструкції ферментеру для вирощування бактерій.....	99
4.2 Розрахунок ферментера.....	103
4.2.1 Конструктивний розрахунок апарата.....	104

					<i>ДП БІ 21.07.000. ПЗ</i>		
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата			
	Розроб.	Петрівський М. Д.			<i>Зміст</i>		
	Конс.						
	Керівн.	Остапенко Ж. І.					
	Затв.	Мельник В. М.					
						Стадія	Арк.
						Д	Б
						Аркушів	
						136	
						КПІ ім. Ігоря Сікорського	
						Каф. БТІ	
						Гр. БІ-21	

4.2.2	Розрахунок потужності перемішування.....	104
4.2.3	Розрахунок перемішуючого пристрою.....	106
4.2.4	Розрахунок воронки.....	107
4.2.5	Розрахунок насосу.....	109
4.2.6	Тепловий розрахунок.....	110
4.2.7	Визначення температурного напору.....	111
4.2.8	Визначення коефіцієнту теплопередачі від сорочки.....	112
4.2.9	Розрахунок газорозподільного пристрою.....	114
4.2.10	Вибір індивідуального фільтру	115
РОЗДІЛ 5. ОХОРОНА ПРАЦІ ТА ОХОРОНА ДОВКІЛЛЯ.....		117
5.1	Вимоги до персоналу та чистоти.....	117
5.2	Генеральний план та об'ємно-планувальні рішення	117
5.3	Електробезпека та пожежна профілактика	118
5.4	Організація повітрообміну та вентиляції	118
5.5	Санітарна підготовка обладнання та приміщень.....	119
5.6	Охорона навколишнього середовища та екологічна безпека.....	119
ВИСНОВОК.....		122
ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....		124
Додатки.....		130

ВСТУП

Сучасна біотехнологія активно розвивається та використовується у фармацевтичній, харчовій, сільськогосподарській і переробній сферах. Не менш важливим залишається розвиток аграрного сектору, який в Україні є одним із основних напрямків розвитку, завдяки наявності великої площі придатних для посіву та вирощування культур земель.

Окрім мінерального складу, вагомим вважається і стан мікрофлори ґрунту, оскільки дана характеристика прямо впливає на загальний стан земель, дозволяє підтримувати оптимальний вміст гумусу, органічних та неорганічних речовин.

Одним із основних способів для підтримання якісного складу ґрунту є внесення біопрепаратів із певним складом мікроорганізмів безпосередньо у землю або з насінням. Найбільш поширеним є використання біомаси бактерій роду *Bacillus*, а саме *Bacillus megaterium*, *Bacillus amyloliquefaciens* та *Bacillus subtilis*. Дані прокаріоти широко розповсюджені у родючому шарі полів, проте за рахунок обробки хімічними агресивними речовинами та фізичною обробкою полів можуть зменшуватись у кількісному відношенні, що в свою чергу призводить до втрати властивостей земель. Особливо дані продуценти цінуються за рахунок своїх фунгіцидних та бактеріостатичних властивостей, здатністю до біодеструкції органічних залишків та виділенню біологічно активних речовин.

Метою даного дипломного проєкту є опис технології виробництва рідкої форми біопрепарату на основі бактерій роду *Bacillus* з розробкою конструкції ферментеру для культивування та максимального накопичення біомаси, що є основною діючою речовиною з подальшою розробкою апаратурної та технологічної схеми виробництва.

					ДП БІ 21.07.000. ПЗ			
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата	ВСТУП	Стадія	Арк.	Аркушів
	Розроб.	Петрівський М. Д.				Д	8	136
	Конс.					КПІ ім. Ізгоря Сікорського		
	Керівн.	Остапенко Ж. І.				Каф. БТІ		
	Затв.	Мельник В. М.				Гр. БІ-21		

Актуальність дипломного проєкту полягає у впровадженні технології виробництва рідкої форми біопрепарату на основі бакерій роду *Bacillus* для покращення живлення рослин, захисту від патогенних організмів та мобілізації необхідних мікро- та макроелементів з ґрунту у легкодоступні для сільськогосподарських культур форми.

Завданням обраного дослідження є:

- Обґрунтування вибору продуцентів для накопичення біомаси;
- Визначити склад поживного середовища
- Розробити склад препарату для підвищення терміну придатності
- Визначити основні та допоміжні матеріали
- Навести основні параметри процесів
- Розрахувати та створити конструкцію ферментера для культивування
- Розробити технологічну та апаратурну схеми виробництва

					<i>ДП БІ 21.07.000. ПЗ</i>	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		9

РОЗДІЛ 1. ХАРАКТЕРИСТИКА СИРОВИНИ, БІОЛОГІЧНОГО АГЕНТА. ОБГРУНТУВАННЯ ТЕХНОЛОГІЇ

1.1 Характеристика сировини

Початковий вибір сировини для вирощування бактерій роду *Bacillus* потребує детального аналізу морфологічних та культуральних властивостей бактерій, та кінцевої мети вирощування продуценту. У більшості рідких форм біопрепаратів діюча речовина представлена саме біомасою бактерій, яка знаходиться у поживному середовищі, для забезпечення життєдіяльності та ефективності мікроорганізмів. Використання такого продукту орієнтоване на агропромисловий сектор і потребує великих об'ємів виробництва, тому варто враховувати саме економічний показник, а саме собівартість середовища, доступність компонентів та їх якість.

Усі бактерії роду *Bacillus* є грампозитивними, паличкоподібними, ендоспороутворюючими бактеріями, які зустрічаються у широкому діапазоні середовищ – землі, глині, водоймах, на рослинах, шлунково-кишечних трактах комах та тварин. Їхнє вміння виживати та розмножуватись у різних типах екосистем ґрунтується на здатності до утворення ендоспор та загальній невибагливості до наявності поживних речовин та умов росту. Дані властивості дозволяють підібрати основні види сировини для промислового культивування бактерій[1].

					ДП БІ 21.07.000. ПЗ		
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата			
	Розроб	Петрівський М.Д.			ХАРАКТЕРИСТИКА СИРОВИНИ, БІОЛОГІЧНОГО АГЕНТА. ОБГРУНТУВАННЯ ТЕХНОЛОГІЇ	Стадія	Арк.
	Конс.					Д	10
	Керівн.	Остапенко Ж.І.				КПІ ім. Ізгоря Сікорського	
	Затв.	Мельник В. М.				Каф. БТІ Гр. БІ-21	
						Аркуші	136

Для промислового вирощування доцільно використовувати комплексні середовища з достатнім вмістом мікро- та макроелементів. Основною потребою більшості мікроорганізмів, в тому числі бактерій роду *Bacillus*, є достатнє забезпечення елементами, що є базовими для формування клітинних стінок, органел, білків, ліпідного шару, нуклеїнових кислот, цитоплазми. Джерелами карбону, як основного структурного елементу усіх молекул живих організмів зазвичай слугують вуглеводи. Зазвичай використовують цукри, спирти та органічні кислоти [2, 41].

Іншим органогенним елементом є нітроген, який входить до складу усіх компонентів клітин, становить основу всіх амінокислот, білкових структур, нуклеїнових кислот та регулює процеси метаболізму, ферментної активності розмноження та живлення. У середовищі джерелами азоту слугують солі, продукти рослинного, або ж тваринного походження та біомаса живих культур, екстракти, гідролізати відходи харчових та сільськогосподарських виробництв [2, 5].

Забезпечення нітрогеном та киснем зазвичай відбувається за рахунок достатнього вмісту води у поживному середовищі, в залежності від способу культивування та середовища існування культури забезпечення киснем у промислових масштабах додатково забезпечується подачею повітря у товщу рідини а доступність залежить від дифузійних процесів між газом та рідиною. Переважно для кращої доступності використовують метод диспергування повітря у рідині для кращого надходження кисню до аеробних культур.

Для аеробних бактерій роду *Bacillus* макроелементи (фосфор, сірка) слугують будівельним матеріалом для клітинних структур, ліпідів, білків та нуклеїнових кислот, завдяки їхньому вмісту у складних комплексах органічних сполук відіграють значну роль у функціонуванні всієї клітини, в акумулюванні та забезпеченні усієї енергії. Мікроелементи такі як залізо, марганець, цинк виступають незамінними кофакторами ферментів. Особливе значення для аеробів має наявність заліза, міді та магнію, які входять до складу дихальних електронно-транспортних ланцюгів та антиоксидантних систем, що

					ДП БІ 21.07.000. ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		11

забезпечують ефективне використання кисню для генерації енергії (АТФ) та захищають клітину від його токсичних радикалів [9].

Штами *B. subtilis* використовувати економічно доцільно, оскільки дані мікроорганізми досить невибагливі в субстраті, що використовується для їхнього біотехнологічного культивування. Найчастіше для культивування в лабораторних умовах використовують універсальні середовища м'ясо-пептонний агар (МПА) або бульйон (МПБ). Однак для промислового використання вони не сильно підходять за рахунок високої собівартості. Для одержання біомаси маточної культури використання таких середовищ є доцільним. В промисловості широко використовують більш дешеві середовища на основі гідролізатів та кукурудзяного екстракту, також застосовують середовища для глибинного культивування, що містять гідролізат казеїну, дріжджовий екстракт, а також дріжджі, вуглеводи та солі [2, 3].

За основу найбільш доцільно використовувати мелясу та кукурудзяний екстракт. Основною їхньою перевагою є дешевизна та доступність. Мелясна барда це густа темна речовина, що є побічним продуктом цукрового виробництва і її якість регулюється ДСТУ 4631:2006 (Меляса із тростинного цукру-сирцю), та характеризується високим вмістом (43–57 %) сахарози. Масова частка сухих речовин становить 75–85 %, зброджувальні цукри – 48–58 %, вода становить 15–25 % від усього вмісту, містить 8–12 % мінеральних речовин та 15–20 % органічних речовин нецукрової природи. До складу бурякової меляси входять, мг/кг: біотин – 0,03–0,04, пантотенова кислота – 50–110, інозит – 800–5700 [6].

Кукурудзяний екстракт доцільно використовувати як джерело азотистих речовин, що становлять 40–50 % загального вмісту сухої речовини в екстракті. Це густа непрозора рідина від жовтого до коричневого кольору, як має запах кукурудзяного екстракту без сторонніх запахів [3]. Склад вуглеводів не є стабільним, а їх вміст залежить від якості сировини, ступеню її обробки та життєдіяльності молочнокислих бактерій. Екстракт у великих кількостях містить фосфор, калій і магній.

					ДП БІ 21.07.000. ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		12

Вміст зольних елементів становить 15–20 % сухої речовини екстракту, а вміст фосфору може досягати 5 %. Екстракт містить усі необхідні для мікроорганізмів мікроелементи, вітаміни групи В, ростові фактори і біостимулятори [2]. Склад регламентується ТУ У 10.6-00383372-011:2005.

Використовувати ці види сировини як головного компонента поживного середовища є доцільним та вигідним для отримання максимального вмісту біомаси бактерій. Якщо враховувати фізико-хімічні показники сировини то найбільш ефективним є створення комплексного середовища з мелясою та кукурудзяного екстракту. Тому використано патентну модель № 42415 Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України, де вказаний склад кукурудзо-мелясного середовища з оптимальним складом і забезпечує максимальний вихід культури *Bacillus subtilis* IMB B-7023 через 24 години культивування у $1-3 \cdot 10^{10}$ кл/мл [4].

Завдяки спільній морфології бактерій *Bacillus megaterium* QM B1551, *Bacillus subtilis* FB17, *Bacillus amyloliquefaciens* QST 713 дане середовище підходить для вирощування усіх трьох продуцентів з подальшим використанням у агропромисловому секторі. Основною перевагою наявність у ньому необхідних для росту речовин та елементів, а також є економічно вигідним, бо ціна за літр становить 1,45 грн, без врахування вартості води. Склад та вартість середовища представлені в таблиці 1.1.

Таблиця 1.1 Склад та вартість поживного середовища

Компонент поживного середовища	Концентрація у ПС, г/л	Ціна компонента, грн/кг	Вартість компонента (грн) на 1 л середовища
1	2	3	4
Меляса	15	50	0,75
Кукурудзяний екстракт	2	100	0,2
K ₂ HPO ₄ ·3H ₂ O	0,2	255	0,05

KH_2PO_4	0,2	273	0,06
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,3	684	0,21
NaCl	0,3	108	0,03
CaCO_3	3	48	0,15
Вартість 1 л середовища – 1,45 грн			

1.2. Обґрунтування вибору технології

Виробництво бактеріальних добрив є досить поширеним в агропромисловості. Головною перевагою є їхня довготривала дія для підтримання стабільного росту та розвитку рослин, мінімальний ризик токсичного впливу, та позитивний вплив на стан мікрофлори ґрунту. Використання певних продуцентів визначається відповідно до потреб та стану культури. Розрізняють декілька великих груп біопрепаратів відповідної дії:

- біофунгіциди – тип засобів захисту рослин спрямований переважно на пригнічення росту та розвитку патогенних грибів.
- біоінокулянти – тип препаратів призначений для попередньої обробки насіння симбіотичними мікроорганізмами, що у свою чергу підтримують сталий ріст рослин протягом усього періоду вегетації.
- біодеструктори – являють собою комплекс мікроорганізмів, які беруть участь у розкладанні решток для поліпшення доступності поживних речовин у землі.
- комплексні добрива – представлені препаратами, які містять у собі комплекси ґрунтових бактерій та грибів для покращення росту рослин [7].

Основним та єдиним на даний момент способом виробництва бактеріальних добрив є метод мікробіологічного синтезу у промислових біореакторах, параметри та умови визначаються безпосередньо вимог цільової культури. Вибір технології залежить від форми випуску продукції, оскільки існує декілька основних форм в яких виготовляється бактеріальний препарат в

якому діючою речовиною виступає жива культура мікроорганізмів – гранульований, рідкий та сухий (висушена біомаса) [9].

Найбільш поширеним є використання рідкої форми, завдяки простоті та дешевизні виготовлення. Процес виготовлення передбачає першочергове отримання біомаси культури бактерій, з подальшим вирощуванням у виробничих ферментерах для накопичення біомаси у асептичних умовах. В подальшому здійснюється стабілізація культури та фасування на пакувальних лініях.

1.2.1 Вибір продуцентів

Вибір продуцента залежить від потреби виробництва та кінцевого призначення. Основними характеристиками якими повинен володіти продуцент для мікробних добрив рослин є стійкість до умов навколишнього середовища, прогнозованість у процесі культивування, невибагливість до сировини що використовується для виробництва та також можливість зберігати свою активність протягом тривалого часу зберігання. Також важливо враховувати форму цільового продукту, оскільки в даному біопрепараті діючою речовиною виступає біомаса бактерій, то також необхідно брати до уваги здатність до масового розмноження для нарощування необхідної кількості продуцента за максимально короткий термін. Таким чином врахування цих вимог дозволяє одночасно підвищити вихід цільового продукту та його якості, у виробництві це забезпечує передбачуваність процесів та оптимізацію виробничої лінії.

Мікробні препарати на основі бактерій роду *Bacillus* широко використовуються починаючи від сільського господарства до фармацевтичних препаратів. У засобах захисту рослин вони виступають як діюча речовина з широким спектром дії, тобто стимулюють ріст та позитивно впливають на живлення. Вони збільшують споживання азоту та фосфору і виділяють широкий спектр метаболітів, такі як рослинні гормони, сидерофори, ціаніди, антибіотики, що дозволяє захищати культури від негативного впливу багатьох факторів навколишнього середовища і відіграє вагому роль у стійкості до

					ДП БІ 21.07.000. ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		15

патогенів. Їхня антагоністична активність пов'язана зі здатністю індукувати системну стійкість у рослинах і конкурувати за екологічну нішу з патогенними бактеріями, бо виділяють різноманітні ферменти які здатні руйнувати клітинні стінки інших бактерій. Також виявлено властивість *Bacillus* відновлювати ґрунти та стічні води, нейтралізуючи токсини та відходи [1, 9].

Bacillus subtilis мають здатність продукувати ліпопептиди, такі як ітурин А, сурфактин і фенгіцини, виявляють протигрибковий ефект проти збудника чорної плямистості рослин мікроскопічного гриба-аскоміцета – *Mycosphaerella fijiensis* [9, 14].

Bacillus amyloliquefaciens також має здатність солюбілізувати мінерали та синтезувати антимікотичні пептиди, які пригнічують ріст патогеного гриба, збудника сірої гнилі полуниці – *Botrytis cinerea*. Підтверджено здатність до мобілізації цинку, фосфору, продукування речовин, що посилюють ріст рослин (індолілоцтова кислота, сидерофор, гіберелінова кислота, HCN) [9, 13, 21].

B. megaterium є ще одним різновидом ризобактерій, що стимулюють ріст рослин. Бактерія широко використовується у виробництві мікробних добрив, яка має здатність до розкладу лецитину, органічного та неорганічного фосфору у ґрунті у більш доступні форми для рослин, безпосередньо адсорбувати, стимулювати ріст рослин та зменшувати токсичність забруднюючих речовин, а також покращувати родючість ґрунту та стійкість сільськогосподарських культур до хвороб. Продукує широкий спектр таких речовин як 2-пентилфуран, 2,3-диметилбутандінітрил, 1-етеніл-4-метоксибензен, 3,5-диметокситолуен, гексадекан [9, 10].

Промислове вирощування бактерій роду *Bacillus* є досить перспективним напрямком, завдяки фенотиповій невибагливості бактерій до складу поживного середовища, здатності зберігати активність у рідких та сухих препаративних формах, стійкості до коливань умов середовища, температури, рН, механічних змін у процесі культивування. Для цього було обрано три виробничі штами штамів *Bacillus megaterium* QM B1551, *Bacillus subtilis* FB17 та *Bacillus amyloliquefaciens* QST 713, перевагою яких є висока швидкість нарощування

					ДП БІ 21.07.000. ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		16

біомаси, формування стійких ендоспор та їхні властивості утворювати на коренях рослин біоплівки, які в свою чергу виділяють метаболіти для покращення живлення рослинних культур.

1.2.3 Методи створення продуцентів методом природного та штучного добору.

Виділення та створення штамів є основним способом отримання продуцентів біотехнологічних виробництв. Природний добір характеризується простотою виконання, використовується зазвичай для виготовлення мікробної біомаси (мікробного білка), бактеріальних азотних добрив, біопестицидів, у виробництві харчових продуктів та інших галузях. Суть методу полягає в отриманні форми мікроорганізму, яка виявляється в деяких умовах середовища більш пристосованою, ніж вихідна. Для цього створюються певні умови культивування та надають можливість продуцентам витіснити вихідну культуру за рахунок природньо виникаючих мутацій, тобто в кінцевому результаті обирається культура, яка володіє найкращими показниками для використання. Цей метод використовують для виділення більш стійкіших та гнучких мікроорганізмів, які в залежності від умов культивування здатні до росту не зважаючи на зовнішні фактори [11].

Штучний добір використовують в тих випадках, коли ознака, що відбирається, не є біологічно корисною для мікроорганізму і тому неможливо створити умови, що автоматично відбирають необхідні варіанти, використовують штучний добір, проводячи при цьому тестування властивостей окремих клонів.

Штучний добір на основі природно виникаючої мінливості у мікроорганізмів в порівнянні з вищими організмами менш ефективний не тільки тому, що всі мікробні культури є клонами, особини яких є однорідними, але й тому, що завдяки гаплоїдності у більшості мікроорганізмів нема прихованого резерву мінливості, а через наявність звичайного вегетативного розмноження нема процесів комбінативної мінливості.

					<i>ДП БІ 21.07.000. ПЗ</i>	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		17

Штучний добір без застосування мутагенних факторів використовують для мікроорганізмів з гетерогенною за досліджуваною ознакою популяцією.

Ефективність штучного добору в популяціях мікроорганізмів, схильних до розщеплення при тривалому лабораторному вирощуванні або в динамічних умовах великомасштабного виробництва, визначається методом порівняльного дисперсійного аналізу фенотипової мінливості.

Головним лімітуючим фактором селекції, заснованої на спонтанній мінливості, є природно низька частота виникнення корисних мутацій. Проте у лабораторних умовах це здійснюється швидше за рахунок постійного оновлення поколінь мікроорганізмів. Поєднання надвисокої щільності мікробних популяцій у сучасних промислових біореакторах із методом безперервного культивування протягом десятків і сотень поколінь дозволяє штучно максимізувати абсолютну кількість мутантних подій у часі навіть за мінімальної можливості виникнення спонтанних мутацій [11].

1.2.4 Використання методів індукованого мутагенезу

Одним із основних методів отримання продуцентів є використання методів індукованого мутагенезу, тобто впливом деяких факторів на цільовий мікроорганізм з подальшим отриманням мутантів. Мутації загалом це зміна первинної структури ДНК у конкретній її ділянці, що призводить до зміни фенотипу біооб'єкта. У наслідок такого впливу змінюється морфологія клітини, активність її ферментів, накопичення метаболітів та споживання речовин. Мутації при тривалому впливі можуть мати летальний ефект, проте у селекції саме цей фактор дозволяє виділити необхідні цільові продуценти для їх подальшого використання і роботи з ними.

Мутації розрізняють як неконтрольовані, що виникають спонтанно та не контролюються впливом інших факторів, та контрольованими (індукованими). Спонтанні відбуваються із частотою 10^{-7} – 10^{-5} на одну генерацію для різних організмів, тобто це свідчить про досить низьку частоту, виділити такий мікроорганізм досить важко і не гарантує того, що саме така мутація є

					<i>ДП БІ 21.07.000. ПЗ</i>	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		18

корисною для використання в промислових масштабах.

Частота індукованих мутацій має досить високий показник, за рахунок впливу мутагенів, також це дозволяє відділити необхідні продуценти.

Мутагени за походженням розрізняють як фізичні, хімічні чи біологічні. Мутагени за дією поділяють на два класи – прямої (на нуклеїнові кислоти) та непрямой, або опосередкованої дії, переважно – через первинні метаболіти, або білки.

Фізичні мутагени становлять розлогу групу чинників навколишнього середовища, здатних індукувати структурні та функціональні зміни в генетичному апараті клітини. Серед ключових фізичних агентів виділяють критичні температурні коливання (як екстремально підвищені, так і знижені показники), ультразвук та різноманітні види електромагнітного й корпускулярного випромінювання, зокрема іонізуючу радіацію та ультрафіолетове проміння.

Вплив температури є досить простим у використанні, оскільки обмежується впливом зависоких або занижених температурних показників, що призводить до так званого температурного шоку. Даний мутаген впливає безпосередньо на саму клітину, її білки та геном, у частому випадку менш стійкі штами зазнають летальних пошкоджень.

Електромагнітні випромінювання, що застосовуються у мутагенезі, суттєво відрізняються за своїми фізичними параметрами, зокрема за довжиною хвилі, рівнем енергії та ефективністю. Ультрафіолетові промені, які мають більшу довжину хвиль порівняно з іонізуючим випромінюванням, характеризуються помірною ефективністю та порівняно меншим енергетичним потенціалом. Хвилі УФ-діапазону завдовжки 260 нм мають специфічний спектр поглинання, оскільки саме ця частота найінтенсивніше абсорбується молекулами дезоксирибонуклеїнової кислоти. Внаслідок такого квантового поглинання руйнуються слабкі водневі зв'язки між комплементарними азотистими основами паралельних ниток подвійної спіралі ДНК, що викликає димеризацію сусідніх піримідинів. У клітинах, які зазнали подібного впливу,

					<i>ДП БІ 21.07.000. ПЗ</i>	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		19

УФ-опромінення діє як мутаген широкого спектра і викликає переважно внутрішньогенні перебудови, такі як транзиції, трансверсії та дрібні делеції.

Використання високоенергетичного іонізуючого випромінювання, до якого належать рентгенівські промені та швидкі нейтрони, має значно вищу проникну здатність і діє радикальніше. Механізм його дії базується на деструктивних процесах, що викликають переважно прямі розриви хромосом. Таке випромінювання відзначається високою ефективністю і призводить до делецій та інверсій. Водночас суттєвим недоліком використання іонізуючої радіації у практичній діяльності є те, що вона вимагає застосування спеціалізованого високовартісного обладнання та суворих заходів безпеки.

До хімічних мутагенів відносять: інгібітори синтезу нуклеїнових кислот (НК), аналоги азотистих основ, алкілюючі сполуки, окисники, відновники, вільні радикали, акридинові барвники, деякі антибіотики. Часто діють механічно руйнуючи хромосоми та змінюючи склад нуклеїнових кислот.

Аналоги азотистих основ зазвичай вбудовуються в генетичний матеріал клітини, тим самим призводить до виникнення точкових мутацій- Транзиції, трансверсій. Більш глибокі структурні зміни викликають гідроксиламін та азотиста кислота, завдяки здатності дезамінувати нуклеотиди і тим самим стимулювати утворення як точкових транзицій так і делецій. Своєю чергою, акридинові барвники діють за механізмом інтеркаляції, фізично вклинюючись між сусідніми основами у процесі реплікації. Така дія призводить до небезпечних мутацій зі зсувом рамки зчитування, що повністю змінює генетичний матеріал.

Нітрозогуанідін працює безпосередньо на зоні реплікативної вилки, де активно алкілює азотисті основи, що зумовлює появу великої кількості мутантів із різними типами ушкоджень: транзиціями, трансверсіями та делеціями. Етилметансульфонат призводить до множинних хаотичних мутацій, алкілюючи гуанін, внаслідок чого в геномі з високою частотою фіксуються транзиції та трансверсії.

					ДП БІ 21.07.000. ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		20

Вони безпосередньо вступають у хімічну реакцію з уже наявними основами у молекулі ДНК, змінюючи їхню хімічну структуру. Азотиста кислота викликає дезамінування (видалення аміногрупи), перетворюючи цитозин на урацил. Як наслідок, під час подвоєння ДНК замість пари Ц-Г утворюється пара Т-А. До цієї ж групи належить пероксид водню та формальдегід. Акридинові барвники це багатокільцевих молекул, які здатні фізично інтеркалювати між сусідніми парами основ у подвійній спіралі ДНК. Це спричиняє локальне розтягування спіралі і ДНК-полімераза при копіюванні такої ділянки неправильно переписує генетичний код і як наслідок призводить до неправильного кодування білків. Прикладами є акридин помаранчевий та профлавін.

До біологічних мутагенів відносять віруси (фаги), живі вакцини, деякі біотоксини, що утворюються грибами, протозоа та гельмінтами. Так, зміни у хромосомах викликають цитомегаловірус, вірус простого герпесу, герпетиформний вірус, вірус Сендай, вірус саркоми Рауса та ін. З грибних токсинів-мутагенів – афлатоксин В. Мутагени різних класів (фізичні, хімічні, біологічні) використовують у роботі з біооб'єктами. Застосування селекційних методів дозволяє оцінити й спрямовано відібрати мутаційні лінії, необхідні для виробничого процесу отримання цільового продукту. Унаслідок селекційної роботи з мікрооб'єктами виникають модифіковані штами та клони мікроорганізмів.

Виробничі штами, що використовуються у біотехнологічному виробництві, характеризуються високою продуктивністю до інших цільових продуктів. Однак такі штами є надзвичайно нестабільними, оскільки численні штучні зміни їхнього геному не забезпечують переваг для життєздатності клітин. У зв'язку з цим мутантні штами потребують постійного контролю під час зберігання. Для цього клітинну популяцію висівають на тверде поживне середовище, після чого культури, отримані з окремих колоній, перевіряють на рівень продуктивності. Культури зі зниженою активністю — ревертанти — відбраковують. Реверсія виникає внаслідок спонтанних зворотних мутацій, які

					ДП БІ 21.07.000. ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		21

повертають певні ділянки геному, тобто фрагменти ДНК, до їхнього початкового стану [24].

1.2.5 Організація технологічного процесу

Технологія передбачає чотири основні процеси, це передферментаційні, ферментаційні, очистка цільового продукту та знешкодження відходів.

Передферментаційні процеси складаються з підготовки поживного середовища, повітря, біологічного агента, апаратури та комунікацій. Підготовка поживного середовища є одним із найбільш важливих процесів у виробництві, оскільки від цього залежить 50 % результату. Приготування відбувається у реакторах з відповідними перемішувачами пристроями, які оснащені дозаторами та трубами для підведення води та перекачування поживного середовища до виробничого та посівного ферментерів. Рідкі компоненти(м'яса та кукурудзяний екстракт) зберігаються у залізних цистернах на складах, перекачуються насосами або через комунікації дією вакууму. Солі зберігаються на складах у вихідній упаковці, транспортуються вручну або конвеєрними стрічками.

Приготування поживного середовища починається безпосередньо з розчинення солей підготовленою водою у певній ємності, розчин стерилізують в автоклаві за температури 134 °C протягом 30 хв. Кукурудзяну м'ясу перед додаванням до поживного середовища гасять крейдою кип'ятінням, для зниження кислотності, потім разом з м'ясою змішують у реакторі та перекачують насосами до ферментера у якому проводиться стерилізація за м'яких режимів 0,05 МПа, температура 115 °C протягом 30 хв, для уникнення карамелізації цукрів та руйнування вітамінних комплексів. До готового поживного середовища додають стерильні розчини солей та перемішують безпосередньо у стерильному ферментері.

Підготовка аераційного повітря є важливим етапом підготовки, оскільки якість очистки та транспортування повітря до приміщень та апарату визначає вихід цільового продукту та ризики його контамінування.

					ДП БІ 21.07.000. ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		22

Технологічна схема підготовки та очищення технологічного повітря у ферментаційному виробництві складається з трьох послідовних підсистем, де на першому етапі атмосферне повітря забирається через шахту, проходить попередню фільтрацію від пилу та стискається турбокомпресором до 0,35–0,5 МПа (з нагріванням до 120–250 °С), після чого у другій підсистемі піддається «переохолодженню» до 25–40 °С для видалення конденсату в краплевловлювачі та наступному підігріванню до 70–90 °С (при відносній вологості 40 %) з метою запобігання зволоженню фільтрів.

На завершальному етапі повітря проходить через головний фабричний фільтр другого рівня та індивідуальні стерилізовані парою фільтри третього рівня, встановлені безпосередньо на ферментаторах, при цьому відпрацьовані газові викиди з апарата характеризуються 100 % вологістю, вмістом летких органічних сполук, крапель культурної рідини та клітин продуцента, що вимагає їхнього обов'язкового очищення перед викидом в атмосферу [2].

Підготовка біологічного агента є багатостадійним передферментаційним процесом, що полягає в постадійному масштабуванні чистої культури продуцента. Перший етап реалізується в лабораторії, де виконується перевірка музейного штаму шляхом розсіву на чашки Петрі до поодиноких колоній і подальшого тестування біосинтетичної активності 40–60 субклонів з метою недопущення спонтанного генетичного розщеплення культури. Для довготривалого підтримання штамів у життєздатному стані використовують періодичні пересіви на косяках МПА раз на 3–4 місяці, консервацію під шаром стерильної медичної вазелінової олії та з подальшим зберіганням у холодильника при температурі +4 °С.

Технологія отримання промислового інокуляту варіює залежно від способу подальшого вирощування і здійснюється або поверхневим методом з подальшим пересівом на колби, а згодом глибинним способом у спеціальні посівні апарати. Для глибинної ферментації бактеріальний посівний матеріал нарощують на качалках у колбах, після чого асептично передавлюють стерильним повітрям у полум'ї факела через патрубок спочатку в малий, а потім

					ДП БІ 21.07.000. ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		23

у великий інокулятор, де підтримуються оптимальні параметри аерації, температурного режиму та піногасіння. У разі виникнення виробничих затримок готовий рідкий інокулят допускається охолоджувати безпосередньо в апараті до 8–10 °С, проте термін його зберігання обмежений 2–3 годинами, після чого фізіологічна активність бактерій стрімко погіршується.

Оптимальне дозування та фізіологічний стан інокуляту визначаються експериментально для кожного конкретного продуцента, оскільки занижені концентрації призводять до різкого затягування фаз росту та загального часу ферментації. Для поверхневого культивування норма внесення спорової культури становить від 0,02–0,05 % в ідеально стерильних умовах до 0,2–1,0 % у загальнозаводській практиці, тоді як для глибинного процесу посівна доза стандартно варіює від 1 до 15 % від об'єму середовища. Як зрілий інокулят використовують суспензійну бактеріальну культуру в середині експоненційної фази росту (зазвичай 18–24 години вирощування), яка пройшла мікробіологічний контроль, володіє високою енергією життєдіяльності та повністю вільна від сторонньої мікрофлори.

Ферментаційний процес здійснюється у промислових ферментерах, який оснащений сорочкою, мішалкою, приводом, барботером, пробовідбірниками, вимірювальними пристроями та трубопроводами. Умови виробничого культивування залежать від культурно-морфологічних ознак продуцента. Бактерії роду *Bacillus* культивують протягом 48-72 годин при температурі 30°C та аерацією 0,4–0,6 гО₂/л·год, рН=7,2–7,4, ступінь заповнення – 0,6. Після цього процесу культуральна рідина з біомасою потрапляє до реактора змішувача, де проходить змішування. Протягом усього процесу та після нього здійснюється суворий мікробіологічний та технологічний контроль [15, 17].

Після змішування культуральних рідин усіх бактерій у реакторі та перевірки чистоти і якості продукту, рідина відправляється на стадію очистки біомаси. На цьому етапі здійснюється центрифугування суспензії з промиванням дистильованою стерильною водою. Фугат з водою відправляється на знешкодження активним хлором, та утилізується в каналізацію після

					ДП БІ 21.07.000. ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		24

зnezараження. Суспензія клітин та спор переноситься у ємність з стерильним буферним розчином та змішується з полівінілпіролідом, карбоксиметилцелюлозою та гліцеролом, після цього здійснюється мікробіологічний контроль та відправляється на лінію розливу.

1.3. Характеристика біологічного агента

Бактерії роду *Bacillus* використовують у виробничих процесах безпосередньо завдяки їхнім можливостям до швидкого росту та накопичення біомаси, здатності до синтезу ферментів, біологічно активних вторинних метаболітів для подальшого виготовлення пробіотичних, фунгіцидних та лікарських препаратів. Їх використання ціниться у агропромисловому секторі та фармації, адже існує група прокаріотів даного роду що є патогенними чи умовно-патогенними. Значна частина уваги, приділяється бактеріям *B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens* та *B. megaterium*.

Bacillus subtilis FB17 – це грампозитивний аеробний мікроорганізм паличкоподібної форми, який характеризується швидким ростом. Його клітини зазвичай мають довжину 2–6 мкм та діаметр менше 1 мкм. Найкращий розвиток спостерігається при температурі 30–35 °С, за якої подвоєння клітин може відбуватися приблизно кожні 20 хвилин. За певних умов бактерії формують довгі ланцюжки клітин, що залишаються з'єднаними через нерозділені перегородки клітинної стінки. При нестачі поживних речовин мікроорганізм переходить у стадію спороутворення: формуються ендоспори, які звільняються після руйнування материнської клітини. Вегетативні форми здатні до руху. Завдяки простоті культивування та швидкому росту цей вид широко застосовується у промисловості для синтезу білків і низькомолекулярних сполук. Крім того, бактерія використовується як стимулятор росту рослин і є важливим модельним організмом у дослідженнях біоплівки. Клітини мають паличкоподібну форму, грампозитивні, рухливі, утворюють ендоспори. На поживних середовищах формують щільні колонії світло-кремового кольору. Однією з важливих властивостей штаму FB17 є здатність до активного

					ДП БІ 21.07.000. ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		25

утворення біоплівки на поверхні коренів рослин, що забезпечує ефективну колонізацію ризосфери [16, 18, 19].

За типом живлення бактерія є хемоорганогетеротрофом. Для росту використовує різноманітні органічні субстрати: глюкозу, фруктозу, органічні кислоти та амінокислоти. Джерелами нітрогену слугують амонійні солі та органічні азотовмісні сполуки. Бактерія потребує наявності макро- та мікроелементів, зокрема фосфору, магнію, калію, заліза та марганцю.

Bacillus amyloliquefaciens QST 713 – грампозитивна факультативно-аеробна бактерія паличкоподібної форми з перитрихіальним розташуванням джгутиків. Її клітини мають незначні відмінності у розмірах залежно від штаму, але зазвичай не формують ланцюгів. Для типового штаму характерні палички розміром $0,7\text{--}0,9 \times 1,8\text{--}3,0$ мкм, тоді як спори мають овальну форму й розміри близько $0,6\text{--}0,8 \times 1,0\text{--}1,4$ мкм. Цей ґрунтовий мікроорганізм активує механізми індукованої системної стійкості рослин, що забезпечує захист від бактерій, вірусів і нематод. Також він належить до групи бактерій, які стимулюють ріст рослин. Вид був ізольований із ґрунту та промислових амілазних ферментерів. Він проявляє антагоністичну активність щодо фітопатогенів, характеризується термостійкістю та стійкістю до протеолітичних ферментів, зокрема трипсину, хімотрипсину й протеїназ. Окрім цього, бактерія здатна розщеплювати фітат, переводячи фосфор у форму, доступну для рослин [20, 21].

Bacillus megaterium QM B1551 – це грампозитивна спороутворювальна паличка з низьким вмістом G+C у геномі (приблизно 38 Клітини бактерії мають паличкоподібну форму, є грампозитивними, рухливими, здатними утворювати ендоспори. Спори характеризуються високою стійкістю до висихання, ультрафіолетового випромінювання та коливань температури. Штам QM B1551 містить декілька природних плазмід, що визначають його високу генетичну пластичність та біотехнологічну цінність. За типом живлення *B. megaterium* QM B1551 є хемоорганогетеротрофом. Основними джерелами карбону є глюкоза, сахароза, крохмаль та інші органічні сполуки. Джерелами нітрогену можуть бути амонійні солі, нітрати, амінокислоти та пептони. Для росту потребує

					ДП БІ 21.07.000. ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		26

наявності фосфатів, іонів магнію, калію, кальцію та мікроелементів, зокрема Fe, Mn та Zn. Важливою властивістю штаму є здатність до мобілізації нерозчинних фосфатів ґрунту, що має велике значення при створенні мікробних добрив.

Штам характеризується високою стійкістю до несприятливих факторів середовища та деяких інгібіторів, що можуть накопичуватись у технологічному процесі. Завдяки здатності утворювати спори бактерія добре переносить зберігання у складі рідких препаратів. У природі *B. megaterium* поширений у ґрунтах, ризосфері рослин та водних екосистемах [22, 23].

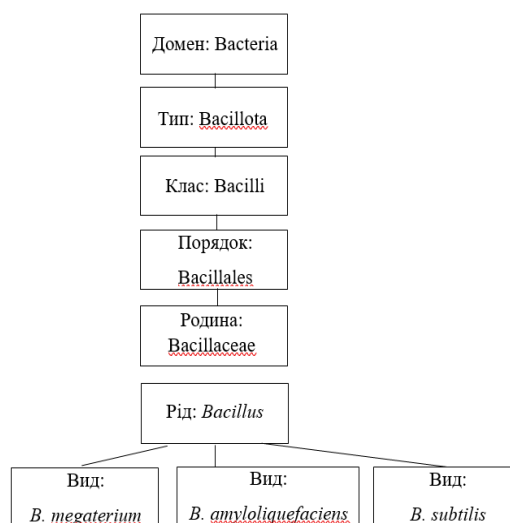


Рисунок 1.1 – Таксономія виробничих продуцентів

1.3.1 Культуральні характеристики продуцентів

B. amyloliquefaciens QST 713 на агаризованих поживних середовищах при 29–30 °C через 24–30 годин культивування утворюються білі матові колонії діаметром 3–5 мм. Через три доби розвитку формуються еліптичні спори розміром приблизно 0,5–0,6 × 0,9–1,5 мкм. Оптимальна температура для росту становить 30–40 °C, тоді як за температур нижче 15 °C і вище 50 °C розвиток припиняється.

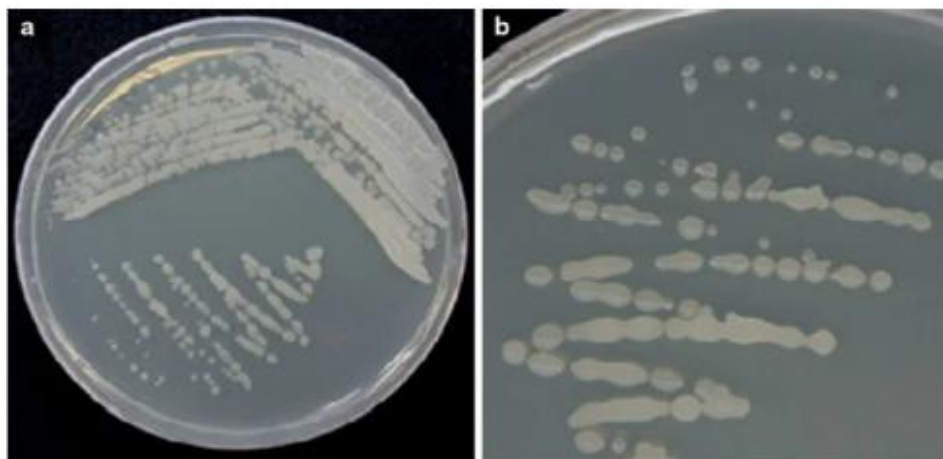


Рисунок 1.2 – Ріст *B. amyloliquefaciens* на агаризованому середовищі через 24 години [25]

B. subtilis FB17 є аеробною бактерією. Оптимальна температура культивування становить 30–37 °С, оптимальний рН – 6,0–7,5. Енергетичний метаболізм реалізується шляхом аеробного дихання. Розмноження здійснюється поділом клітини навпіл.



Рисунок 1.3 – Ріст *B. subtilis* на агаризованому середовищі [26]

Колонії *B. megaterium* QM B1551 на поживних середовищах великі, матові, кремового кольору з нерівними краями. Бактерія є облігатним аеробом або факультативним анаеробом залежно від умов культивування. Оптимальна температура росту становить 28–35 °С, оптимальне значення рН – 6,5–7,5. Енергетичний метаболізм базується переважно на аеробному диханні. Розмноження відбувається шляхом бінарного поділу клітин.



Рисунок 1.3 – Ріст *B. megaterium* на агаризованому середовищі [27]

					ДП БІ 21.07.000. ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		29

РОЗДІЛ 2. БІОХІМІЧНІ ОСНОВИ ТЕХНОЛОГІЧНОГО ПРОЦЕСУ

2.1 Схема перебігу процесів

Технологія одержання комплексного мікробіологічного препарату на основі штамів *Bacillus subtilis* FB17, *Bacillus amyloliquefaciens* QST 713 та *Bacillus megaterium* QM B1551 ґрунтується на використанні біохімічних процесів, які відбуваються під час аеробного культивування мікроорганізмів у живильному середовищі. Основними компонентами кукурудзно-м'ясного середовища є тростинна м'яса та кукурудзяний екстракт, які забезпечують бактерії джерелами вуглецю, азоту, вітамінів і мінеральних речовин. У процесі ферментації відбувається інтенсивне споживання поживних речовин, синтез клітинної біомаси, утворення спор та накопичення біологічно активних метаболітів, що визначають ефективність препарату.

Основою процесу є переробка органічних речовин середовища в продукти клітинного метаболізму. У результаті діяльності бактерій частина вуглецю використовується для отримання енергії, а інша частина включається до складу клітинних структур або спрямовується на синтез вторинних метаболітів. Паралельно відбувається засвоєння азотистих сполук, синтез ферментів, структурних білків і нуклеїнових кислот. Завдяки поєднанню різних фізіологічних властивостей штамів формується біологічно активний симбіоз, здатний забезпечувати стимуляцію росту рослин, мобілізацію поживних речовин та пригнічення розвитку фітопатогенних мікроорганізмів.

Основним джерелом вуглецю в технологічному процесі є тростинна м'яса, до складу якої входять сахароза, глюкоза, фруктоза та інші легкозасвоювані вуглеводи. Після надходження до бактеріальної клітини вони включаються в центральні шляхи метаболізму.

					ДП БІ 21.07.000. ПЗ		
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата			
	Розроб.	Петрівський М.Д.			БІОХІМІЧНІ ОСНОВИ ТЕХНОЛОГІЧНОГО ПРОЦЕСУ		
	Конс.						
	Керівн.	Остапенко Ж.І.					
	Затв.						
					Стадія	Арк.	Аркуші
					Д	30	136
					КПІ ім. Ігоря Сікорського Каф. БТІ Гр. БІ-21		

Сахароза під дією ферментативних систем розщеплюється до моносахаридів, які далі залучаються до реакцій гліколізу. У ході цього процесу молекули глюкози та фруктози поступово перетворюються на піруват із одночасним утворенням енергії у вигляді аденозинтрифосфату та відновлених коферментів. Отримана енергія використовується для забезпечення росту клітин, транспорту поживних речовин через мембрану та синтезу біологічно важливих сполук [28].

Сахароза, яка є основним цукром меляси, транспортується в клітини бактерій за допомогою специфічної фосфоенолпіруват-залежної фосфотрансферазної системи. Цей процес каталізується багатокomпонентним ферментним комплексом, у якому фосфатна група від макроергічної сполуки фосфоенолпірувату послідовно переноситься на цитоплазматичний фермент I (EI), потім на гістидинвмісний білок (HPr), далі на цукор-специфічні компоненти ферменту II (EPA, EPB), і, зрештою, безпосередньо на молекулу сахарози під час її транслокації через клітинну мембрану. У результаті цього процесу утворюється сахарозо-6-фосфат. Всередині клітини ця сполука гідролізується ферментом сахарозо-6-фосфатгідролазою до глюкозо-6-фосфату та вільної фруктози [28, 30].

Подальший метаболізм моносахаридів відбувається переважно шляхом гліколізу. У цьому процесі глюкозо-6-фосфат піддається серії ферментативних перетворень, ізомеризуючись у фруктозо-6-фосфат, фосфорилуючись до фруктозо-1,6-бісфосфату та розщеплюючись на дві тріози, які зрештою перетворюються на піруват. Цей шлях генерує молекули АТФ на рівні субстратного фосфорилування та відновлений нікотинамідаденіндинуклеотид (НАДН). Піруват в аеробних умовах культивування піддається окислювальному декарбоксилуванню піруватдегідрогеназним комплексом до ацетил-коензиму А (ацетил-КоА), який потім вступає в цикл трикарбонових кислот (цикл Кребса), забезпечуючи клітину максимальною кількістю енергії через окисне фосфорилування в дихальному ланцюзі, а також метаболічними попередниками для анаболічних процесів [29].

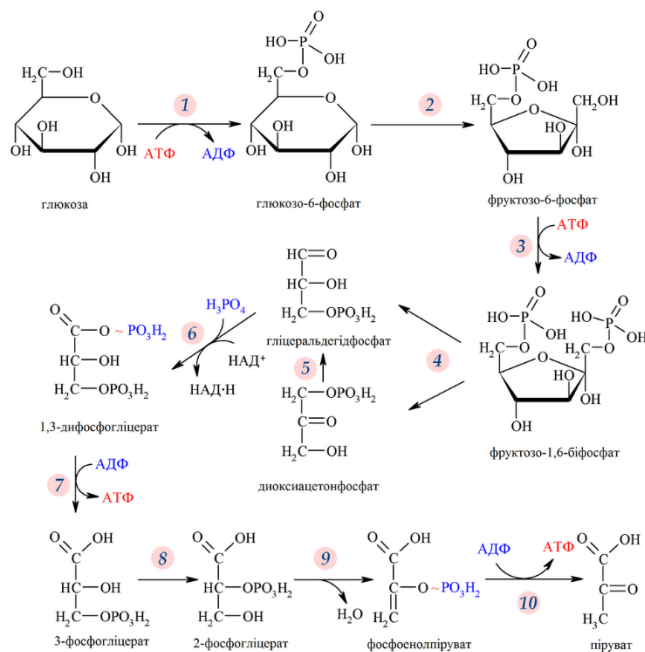


Рисунок 2.1 – Схема гліколізу

За аеробних умов культивування піруват піддається подальшому окисненню з утворенням ацетил-коензиму А, який надходить до циклу трикарбонових кислот. У цьому циклі відбувається повне окиснення органічних речовин із вивільненням значної кількості енергії, необхідної для інтенсивного росту бактеріальної культури. Крім енергетичної функції, цикл трикарбонових кислот забезпечує клітину проміжними метаболітами, які використовуються для синтезу амінокислот, нуклеотидів, ферментів та інших структурних компонентів бактеріальної клітини [2].

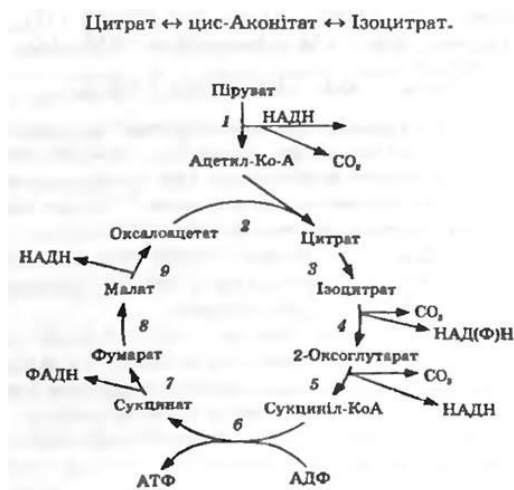


Рисунок 2.2 – Цикл трикарбонових кислот (цикл Кребса) [2]

Важливим компонентом живильного середовища є кукурудзяний екстракт, який містить амінокислоти, пептиди, вітаміни групи В та мікроелементи. Наявність цих сполук дозволяє суттєво скоротити витрати енергії на синтез окремих клітинних компонентів і прискорює накопичення біомаси. Таким чином, кукурудзяний екстракт виконує роль комплексного джерела азоту та факторів росту, що забезпечують високу продуктивність ферментаційного процесу.

Шлях перетворення джерел азоту з великих органічних молекул базується на здатності бактерій виділяти позаклітинні протеази та пептидази, що розщеплюють білкові компоненти до вільних амінокислот та олігопептидів, придатних для поглинання через клітинні мембрани. Асиміляція азоту всередині клітин відбувається переважно через реакції трансамінування та дезамінування, де ключову інтегративну роль відіграють ферменти глутаматдегідрогеназа та глутамінсинтетаза. Амонійний азот, що утворюється в результаті дезамінування, перетворюється в молекули глутамату за допомогою ферменту глутаматсинтази, з якого аміногрупи переносяться на інші вуглецеві скелети трансаміназами. Утворені амінокислоти безпосередньо використовуються в процесі трансляції на рибосомах для синтезу структурних білків, ферментів.

2.1.2 Умови здійснення процесу біосинтезу

Цільовим продуктом слугує саме біомаса бактерій, підтримання оптимальних значень росту дозволяє підвищити загальний вихід біомаси та спор. Ферментаційний процес здійснюється в аеробних умовах із постійним контролем фізико-хімічних параметрів середовища. Для більшості представників роду *Bacillus* оптимальною є температура в межах 30–37 °С. Саме за таких умов спостерігається максимальна активність ферментних систем, що забезпечують катаболізм вуглеводів, синтез клітинних компонентів і накопичення біомаси [15, 29].

					ДП БІ 21.07.000. ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		33

Важливим фактором є кислотність середовища. Підтримання значень рН на рівні 6,8–7,2 забезпечує стабільну роботу основних метаболічних шляхів та ефективне засвоєння поживних речовин. Відхилення кислотності від оптимальних значень може призводити до пригнічення ферментативної активності, уповільнення росту культури та зниження виходу цільового продукту.

Оскільки всі три штами належать до аеробних бактерій, важливу роль відіграє забезпечення достатньої концентрації розчиненого кисню. Для цього під час ферментації застосовують інтенсивне перемішування та аерацію стерильним повітрям. Кисень використовується клітинами як кінцевий акцептор електронів у процесах біологічного окиснення, що забезпечує максимальний вихід енергії та сприяє інтенсивному накопиченню біомаси.

У процесі культивування переважна частина органічного вуглецю використовується для росту клітин, спороутворення та синтезу корисних метаболітів. Проте за певних умов можуть активуватися альтернативні шляхи метаболізму, що супроводжуються утворенням побічних продуктів.

При недостатньому забезпеченні киснем або надлишковій концентрації легкодоступних вуглеводів частина пірувату може спрямовуватися на утворення органічних кислот, зокрема оцтової та молочної. Накопичення цих речовин призводить до поступового зниження рН культуральної рідини та може негативно впливати на швидкість росту мікроорганізмів. Крім того, у бактерій роду *Bacillus* можливе утворення ацетоїну та 2,3-бутандіолу. Ці сполуки не тільки є продуктами вторинного метаболізму, а й можуть брати участь у регуляції внутрішньоклітинних процесів і підвищенні стійкості бактерій до стресових факторів [29].

2.1.3 Біохімічні аспекти взаємодії з рослинами

Після внесення препарату в ґрунт бактерії переходять до активної взаємодії з кореневою системою рослин. Першим етапом цього процесу є колонізація ризосфери – зони ґрунту, що безпосередньо прилягає до кореня та

					ДП БІ 21.07.000. ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		34

характеризується високою концентрацією органічних речовин. Кореневі виділення містять цукри, амінокислоти та органічні кислоти, які приваблюють бактерії та створюють сприятливі умови для їхнього розвитку.

Штам *B. subtilis* FB17 характеризується високою здатністю до колонізації кореневої поверхні та формування біоплівки. Утворення біоплівки забезпечує тривале закріплення бактерій у ризосфері та підвищує їхню стійкість до несприятливих факторів навколишнього середовища. Завдяки цьому створюються умови для стабільної взаємодії між рослиною та корисною мікрофлорою.

Процес формування плівчастих біоплівки *B. subtilis* на початкових етапах виражається в інтенсифікації функціонування циклу трикарбонових кислот, метаболізму заліза, посиленні деградації жирних кислот та метаболічному зсуві від ацетатного до ацетоїнового бродіння. Ця метаболічна перебудова координується регуляторною системою почуття кворуму ComQXPA, яка індукує синтез сурфактину та інших циклічних ліпопептидів. Сформований у такий спосіб архітектурно складний матрикс забезпечує ефективну колонізацію ризосфери та виконує протективну функцію для рослини-господаря. Бактерії у складі біоплівки нівелюють дію фітопатогенів шляхом трофічної та просторової конкуренції, секретують антимікробні метаболіти і стимулюють адаптаційні механізми рослини для подолання абіотичних стресів, зокрема засолення та дефіциту вологи.

Одним із найважливіших механізмів позитивного впливу бактерій є синтез фітогормонів та гормоноподібних речовин. Представники роду *Bacillus* здатні продукувати індол-3-оцтову кислоту, яка стимулює розвиток кореневої системи, утворення бічних коренів і корневих волосків. У результаті збільшується площа поглинання води та поживних речовин, що позитивно впливає на ріст і продуктивність рослин.

Штам *B. amyloliquefaciens* QST 713 виконує переважно захисну функцію. Під час росту він синтезує ліпопептиди груп сурфактинів, фенгіцинів та ітуринів, які проявляють виражену антагоністичну активність щодо багатьох

					ДП БІ 21.07.000. ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		35

фітопатогенних грибів і бактерій. Завдяки цьому зменшується ризик розвитку захворювань рослин та підвищується ефективність природного біологічного захисту.

Близько 10 % геному цього штаму відповідає за синтез протимікробних сполук, серед яких ключову роль відіграють амфіфільні циклічні ліпопептиди трьох основних родин: ітурини (ітурин А, бациломіцин), фенгіцини (пліпастатин) та сурфактини [9, 31].

Механізм фунгіцидної дії ліпопептидів полягає у їхній здатності, завдяки амфіфільній природі, взаємодіяти з ергостеролом та іншими ліпідами мембран фітопатогенних грибів. Ітурини та фенгіцини агрегують і вбудовуються в ліпідний бішар, формуючи трансмембранні іонні канали та гігантські пори. Це призводить до миттєвого порушення осмотичного балансу, втрати внутрішньоклітинного калію, деполяризації мембрани, деформації гіфів, гальмування проростання спор, осмотичного лізису і загибелі клітин патогену. Сурфактини знижують поверхневий натяг, що критично сприяє рухливості бактерій, експансії колоній, формуванню біоплівки.

Окрім ліпопептидів, штам *B. amyloliquefaciens* QST 713 продукує клас полікетидних антибіотиків, таких як бацилаєн, дифіцидин та макролактин, які синтезуються полікетидсинтазами. Ці сполуки мають інший механізм дії, виявляючи переважно бактеріоцидну активність проти конкурентних ґрунтових та фітопатогенних бактерій шляхом інгібування синтезу білка через зв'язування з рибосомами або порушення синтезу клітинної стінки [30, 31].

B. megaterium QM B1551 у процесі життєдіяльності цей штам виділяє органічні кислоти та ферменти фосфатази, які переводять нерозчинні сполуки фосфору у доступні для рослин форми. Крім того, бактеріальні метаболіти сприяють мобілізації заліза, цинку та марганцю, що покращує мінеральне живлення рослин і підвищує ефективність використання поживних речовин із ґрунту.

Таким чином, після внесення до ґрунту комплекс бактерій забезпечує комплексний позитивний вплив на агроценоз. Поєднання механізмів колонізації

					ДП БІ 21.07.000. ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		36

ризосфери, стимуляції росту рослин, мобілізації поживних елементів і пригнічення фітопатогенів створює передумови для підвищення врожайності сільськогосподарських культур та покращення їхнього фізіологічного стану [32].

2.2 Характеристика кінцевого продукту

Назва продукції: Біопрепарат комплексної дії для покращення живлення та захисту сільськогосподарських культур.

НТД: Рідкий препарат на основі комплексу трьох штамів бактерій *B. subtilis* FB17, *B. amyloliquefaciens* QST 713, *B. megaterium* QM B1551 сертифікований «Органік Стандарт», що підтверджує придатність у використанні в органічному виробництві, сільському господарстві. Оскільки відповідного нормативного документу на даний продукт не існує, то характеристика кінцевої продукції здійснюється за власним проєктом ТУ У 20.15.8-XXXXXXX-001:2026. Продукція мікробіологічна. Рідкий біопрепарат на основі бактерій роду *Bacillus*.

Призначення продукції та можливі галузі використання: мікробіологічне добриво, діючою речовиною виступає суміш трьох штамів бактерій *Bacillus subtilis* FB17, *Bacillus amyloliquefaciens* QST 713, *Bacillus megaterium* QM B1551, що використовується у органічному сільському господарстві та приватних садибах для покращення росту сільськогосподарських культур (зернові, овочеві, садові, бобові), захисту від хвороб та покращення мінерального живлення. Використовується для обробки насіння, коріння та прямого внесення у ґрунт.

Зовнішній вигляд та фізико-хімічні властивості: рідка суспензія бактерій білого або жовтуватого забарвлення, можливе утворення осаду та розшарування, яке зникає при струшуванні, кислуватий запах. Наявність слідів сторонньої мікрофлори бактеріального та грибного походження не допускається.

					ДП БІ 21.07.000. ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		37

Компонентний склад: спори та клітини трьох штамів бактерій *Bacillus subtilis* FB17, *Bacillus amyloliquefaciens* QST 713, *Bacillus megaterium* QM B1551 загальним вмістом клітин не менше $1 \cdot 10^9$ КУО/см³, фосфатно-сольовий буфер, полівінілпіролідон, карбоксиметилцелюлоза, гліцерин.

Пакування: Готова форма рідкого біопрепарату розливається у білу, непрозору пластикову тару об'ємом 1 дм³ відповідно до ДСТУ 4260:2003.

Маркування: Кожна одиниця маркується етикеткою українською мовою та містить наступні відомості:

- Назву продукту
- Відомості про виробника
- Склад
- Норму витрат
- Дату виготовлення
- Термін придатності
- Умови зберігання
- Інформацію про сертифікацію препарату
- Номер серії та партії
- Штрих-код
- Об'єм готового продукту

Транспортування: Здійснюється службою доставки з використанням транспортних засобів у чистих контейнерах з підтримкою температури у діапазоні 5–18 °С.

Зберігання: Препарат зберігається у герметично закритій тарі при температурі 5–18 °С.

Термін придатності: 12 місяців з дати виготовлення.

					ДП БІ 21.07.000. ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		38

РОЗДІЛ 3. ТЕХНОЛОГІЧНА ЧАСТИНА

3.1. Матеріали основні і допоміжні

У таблиці 3.1 наведені основні та допоміжні матеріали які використовуються у виробництві рідкої форми біопрепарату.

Таблиця 3.1 – Характеристика сировини, матеріалів та напівпродуктів

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			
1.1 Меляса із тростинного цукру-сирцю.	ДСТУ 4631:2006	Усі показники відповідно до ДСТУ	Компонент поживного середовища
1.2 Кукурудзяний екстракт	ТУ У 10.6-00383372-011:2005	Усі показники відповідно до ТУ	Компонент поживного середовища
1.3 Дигідрофосфат калію(KHN_2PO_4)	Відповідно до сертифікату якості ПП «СИСТЕМА ОПТИМУМ»	Вміст Фосфору (V) оксиду, $\leq 52\%$ Оксид калію $\geq 34\%$ рН 1% розчину 4,1-4,9 Об'ємна густина, 0,8 - 1,2 г/см ³	Компонент поживного середовища

					ДП БІ 21.07.000. ПЗ			
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата	ТЕХНОЛОГІЧНА ЧАСТИНА	Стадія	Арк.	Аркушів
	Розроб.	Петрівський М. Д.				Д	39	136
	Конс.	Тітова Л. О.				КПІ ім. Ігоря Сікорського Каф. БТІ Гр. БІ-21		
	Керівн.	Остапенко Ж. І.						
	Затв.	Мельник В. М.						

Продовження таблиці 3.1

Найменування	Категорія і номер НТД, згідно якого перевіряється сировина	Показники, що обов'язкові для перевірки та їх нормативне значення	Примітка
1.	2.	3.	4.
1.4 Гідрофосфат калію ($K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$)	Відповідно до сертифікату якості "HIMREAGENT"	Зовнішній вигляд: білий дрібнокристалічний порошок Масова частка хлоридів не більше 0,001% – 0,002% Водневий показник рН 1% розчину від 8,7 до 9,4	Компонент поживного середовища
1.5 Сульфат магнію ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$)	Відповідно до сертифікату якості АТ «Макрохім»	Масова частка основної речовини: 99,0–100,5 г/100 г Сірка (S) $\geq 12,9\%$ Хлориди (Cl) $\leq 0,03\%$ Залізо (Fe) $\leq 0,002\%$ Важкі метали (Pb) $\leq 0,001\%$ Миш'як (As) $\leq 0,0002\%$ рН (5%-го розчину) 5,0–9,2	Компонент поживного середовища

Продовження таблиці 3.1

Найменування	Категорія і номер НТД, згідно якого перевіряється сировина	Показники, що обов'язкові для перевірки та їх нормативне значення	Примітка
1.	2.	3.	4.
1.6 Хлорид натрію(NaCl)	ДСТУ ISO 2479-2001	Усі показники відповідно до ДСТУ	Компонент поживного середовища
1.7 Карбонат кальцію(CaCO_3)	Відповідно до сертифікату якості ТОВ «Новохім»	Масова частка основної речовини, %, не менше 98,0 Вологість, %, не більше 2,0 Солі лужних металів, %, не більше 1,0 Фториди, мг/кг, не більше 50,0 Сурма (Sb), мг/кг, не більше 100,0 Мідь (Cu), мг/кг, не більше 100,0 Хром (Cr), мг/кг, не більше 100,0 Цинк (Zn), мг/кг, не більше 100,0 Барій (Ba), мг/кг, не більше 100,0	Компонент поживного середовища

Продовження таблиці 3.1

Найменування	Категорія і номер НТД, згідно якого перевіряється сировина	Показники, що обов'язкові для перевірки та їх нормативне значення	Примітка
1.	2.	3.	4.
1.8 Вода пом'якшена	Державна Фармакопея України	Вміст мікроорганізмів не більше 100 КУО/см ³ . Вміст органічного вуглецю не більше 0,5 мг/дм ³	Компонент поживного середовища, миючих та дезінфікуючих засобів
1.9 Полівінілпіролідон (ПВП)	Державна фармакопея України	Усі показники відповідно ДФУ	Компонент готового препарату
1.10 Карбоксиметил-целюлоза (КМЦ)	Відповідно до сертифікату якості «Новохім»	Зовнішній вигляд - порошок біло-кремового кольору, без запаху Вологість: 3,0–4,5% Активна речовина: 60–65% В'язкість: 6–11 Насипна щільність: 500–600 гр/л	Компонент готового препарату
1.11 Гліцерин	ДСТУ ISO 1614-2003	Усі показники відповідно до ДСТУ	Компонент готового препарату

Продовження таблиці 3.1

Найменування	Категорія і номер НТД, згідно якого перевіряється сировина	Показники, що обов'язкові для перевірки та їх нормативне значення	Примітка
1.	2.	3.	4.
1.12 Фосфатний буфер	ДСТУ 8145:2015	Усі показники відповідно до ДСТУ	Компонент готового препарату
1.13 Агар-агар	ДСТУ 3718:2007	Усі показники відповідно до ДСТУ	Компонент агаризованого середовища
1.14 М'ясо пептоний бульйон	Регламентується згідно сертифікату якості виробника	Усі показники відповідно регламенту виробника	Компонент поживного агаризованого середовища
2			
2.1 Вода питна	ДСТУ 7525:2014	Усі показники відповідно до ДСТУ	Для миття обладнання, холодоагент
2.2 Гідроксид натрію	ДСТУ ISO 979-2001	Усі показники відповідно до ДСТУ	Для миття обладнання, регулювання рівня кислотності поживного середовища

Продовження таблиці 3.1

Найменування	Категорія і номер НТД, згідно якого перевіряється сировина	Показники, що обов'язкові для перевірки та їх нормативне значення	Примітка
1.	2.	3.	4.
2.3 Сульфамінова кислота	Відповідно до сертифікату якості АТ «Макрохім»	Масова частка основної речовини > 99,5% Сульфати $\leq 0,05\%$ Залізо $\leq 0,0010\%$ Важкі метали $\leq 0,001\%$ Нерозчинні у воді речовини $\leq 0,02\%$ Втрати маси при висушуванні $\leq 0,1\%$	Для миття обладнання, регулювання рівня кислотності поживного середовища
2.4 Спирт етиловий	ДСТУ 4221:2003	Усі показники відповідно до ДСТУ	Для дезінфекції приміщень, персоналу, тари та поверхонь
2.5 Вода дистильована	ДСТУ ISO 3696:2003	Усі показники відповідно до ДСТУ	Для промивання біомаси

Продовження таблиці 3.1

Найменування	Категорія і номер НТД, згідно якого перевіряється сировина	Показники, що обов'язкові для перевірки та їх нормативне значення	Примітка
1.	2.	3.	4.
2.6 Хлорамін Б	ТУ 6.01-4689387-16-89	Масова частка активного хлору: щонайменше 24%. Масова частка лужності у перерахунку на NaOH: трохи більше 0,3%. Світлопропуск готового однопроцентного водного розчину: не менше 60%. Розчинність: швидко у воді або водному лужному розчині.	Для дезінфекції приміщень
3. Матеріали			
3.1 Гумові рукавички	ISO 374 1:2018	Зовнішній вигляд, цілісність	Для роботи персоналу
3.2 Маски захисні	ДСТУ EN 14683:2014	Зовнішній вигляд, цілісність	Для роботи персоналу
3.3 Шапочки	ДСТУ EN 14126:2008	Зовнішній вигляд, цілісність	Для роботи персоналу

Продовження таблиці 3.1

Найменування	Категорія і номер НТД, згідно якого перевіряється сировина	Показники, що обов'язкові для перевірки та їх нормативне значення	Примітка
1.	2.	3.	4.
3.4 Одяг захисний	ДСТУ EN ISO 13688:2016	Зовнішній вигляд, цілісність	Для роботи персоналу
3.5 Лабораторний посуд	ДСТУ ISO 4787:2009	Відповідно до ДСТУ	Для приготування поживного середовища та вирощування посівного матеріалу
3.6 Пластикові пляшки	ISO 9001:2015	Цілісність та зовнішній вигляд	Для пакування готового продукту
3.7 Пластикові кришки	ISO 9001:2015	Цілісність та зовнішній вигляд	Для пакування готового продукту, забезпечення герметичності
3.8 Етикетки	ТУ 9570-001-138661117-2009	Цілісність та зовнішній вигляд	Для маркування продукту
3.9 Картон пакувальний	ДСТУ 8401:2015	Цілісність та зовнішній вигляд	Для пакування продукції

Продовження таблиці 3.1

Найменування	Категорія і номер НТД, згідно якого перевіряється сировина	Показники, що обов'язкові для перевірки та їх нормативне значення	Примітка
1.	2.	3.	4.
3.10 Фільтр касетний	ДСТУ Б А.2.4 41:2009	Усі показники відповідно до ДСТУ	Для очищення повітря від механічних домішок
3.11 Фільтри тонкого очищення	ДСТУ EN 1822-1:2019	Усі показники відповідно до ДСТУ	Для підготовки аераційного повітря
4. Напівпродукти			
4.1 Культура штаму <i>B.subtilis</i> FB17	Відповідно регламенту виробництва	Мікробіологічний контроль, зовнішній вигляд	Для виробничого культивування
4.2 Культура штаму <i>B.amyloliquefaciens</i> QST 713	Відповідно регламенту виробництва	Мікробіологічний контроль, зовнішній вигляд	Для виробничого культивування
4.3 Культура штаму <i>B.megaterium</i> QM B1551	Відповідно регламенту виробництва	Мікробіологічний контроль, зовнішній вигляд	Для виробничого культивування
4.4 Посівний матеріал штаму <i>B.subtilis</i> FB17	Відповідно регламенту виробництва	Мікробіологічний контроль, зовнішній вигляд	Для виробничого культивування

Продовження таблиці 3.1

Найменування	Категорія і номер НТД, згідно якого перевіряється сировина	Показники, що обов'язкові для перевірки та їх нормативне значення	Примітка
1.	2.	3.	4.
4.5 Посівний матеріал штаму <i>B.amyloliquefaciens</i> QST 713	Відповідно регламенту виробництва	Мікробіологічний контроль, зовнішній вигляд	Для виробничого культивування
4.6 Посівний матеріал штаму штаму <i>B.megaterium</i> QM B1551	Відповідно регламенту виробництва	Мікробіологічний контроль, зовнішній вигляд	Для виробничого культивування
4.7 Культуральна рідина штаму <i>B.subtilis</i> FB17	Відповідно регламенту виробництва	Мікробіологічний контроль, зовнішній вигляд	Для отримання готового продукту
4.8 Культуральна рідина штаму <i>B.amyloliquefaciens</i> QST 713	Відповідно регламенту виробництва	Мікробіологічний контроль, зовнішній вигляд	Для отримання готового продукту
4.9 Культуральна рідина штаму штаму <i>B.megaterium</i> QM B1551	Відповідно регламенту виробництва	Мікробіологічний контроль, зовнішній вигляд	Для отримання готового продукту

Продовження таблиці 3.1

Найменування	Категорія і номер НТД, згідно якого перевіряється сировина	Показники, що обов'язкові для перевірки та їх нормативне значення	Примітка
1.	2.	3.	4.
4.10 Поживне середовище	Відповідно регламенту виробництва	Мікробіологічний, зовнішній вигляд, вміст компонентів відповідно до встановленого виробничого регламенту	Для вирощування виробничої культури
4.11 Суспензія бактерій	Відповідно регламенту виробництва	Мікробіологічний контроль, визначення титру	Для отримання готового продукту

3.2 Контроль виробництва

У табл. 3.2 наведено контрольні точки та місця їх забору на різних стадіях виробництва

Таблиця 3.2 Контроль виробництва

№ п/п	Найменування стадії процесу, місце заміру параметра або відбору проби	Параметр, що контролюється	Частота контролю	Норми технологічного режиму та допустимі відхилення	Метод контролю параметра, тип приладу
1	ДР 1.1.1. Приготування миючого розчину Кх 1.1.1.1 Кт 1.1.1.2 Кт 1.1.1.3	Вміст компонентів	Кожну операцію	Згідно з рецептурою	Аналітичні ваги, мірний посуд
		Кількість обертів мішалки		500 об/хв	Тахометр
		Температура		50 °С	Термометр
2	ДР 1.1.2. Приготування розчину луку Кх 1.1.2.1 Кт 1.1.2.2	Вміст компонентів	Кожну операцію	5%	Аналітичні ваги, мірний посуд
		Кількість обертів мішалки		500 об/хв	Тахометр
3	ДР 1.1.3. Приготування розчину сульфамідної кислоти Кх 1.1.3.1 Кт 1.1.3.2	Вміст компонентів	Кожну операцію	Згідно з рецептурою	Аналітичні ваги, мірний посуд
		Кількість обертів мішалки		500 об/хв	Тахометр

Продовження таблиці 3.2

№ п/п	Найменування стадії процесу, місце заміру параметра або відбору проби	Параметр, що контролюється	Частота контролю	Норми технологічного режиму та допустимі відхилення	Метод контролю параметра, тип приладу
4	ДР 1.1.4. Приготування дезінфікуючого розчину	Вміст компонентів	Кожну операцію	3%	Аналітичні ваги, мірний посуд
	Кх 1.1.4.1	Кількість обертів мішалки		500 об/хв	Тахометр
	КТ 1.1.4.2				
5	ДР 1.1.5. Приготування розчину спирту	Вміст компонентів	Кожну операцію	70%	Аналітичні ваги, мірний посуд
	Кх 1.1.5.1	Кількість обертів мішалки		500 об/хв	Тахометр
	КТ 1.1.5.2				
6	ДР 1.1.6.1. Приготування буферного розчину	Вміст компонентів	Кожну операцію	Згідно з рецептурою	Аналітичні ваги, мірний посуд
	Кх 1.1.6.1.1				
	КТ 1.1.6.1.2	Кількість обертів мішалки		500 об/хв	Тахометр

Продовження таблиці 3.2

№ п/п	Найменування стадії процесу, місце заміру параметра або відбору проби	Параметр, що контролюється	Частота контролю	Норми технологічного режиму та допустимі відхилення	Метод контролю параметра, тип приладу
7	ДР 1.1.6.2. Стерилізація буферного розчину Кт 1.1.6.2.1 Кт 1.1.6.2.2	Тиск пари	Кожну операцію	0,2 МПа	Манометр
		Час		20–120 хв	Годинник
8	ДР 1.1.7.1. Приготування розчину полівінілпіролідону Кх 1.1.7.1.1 Кт 1.1.7.1.2	Вміст компонентів	Кожну операцію	Згідно з рецептурою	Аналітичні ваги, мірний посуд
		Кількість обертів мішалки		500 об/хв	Тахометр
9	ДР 1.1.7.2. Фільтрування розчину Кт 1.1.7.2.1	Перепад тиску на фільтрі	Безперервно	Згідно з паспортом фільтра	Дифманометр
10	ДР 1.1.8.1. Приготування розчину КМЦ Кх 1.1.8.1.1 Кт 1.1.8.1.2	Вміст компонентів	Кожну операцію	Згідно з рецептурою	Аналітичні ваги, мірний посуд
		Кількість обертів мішалки		500 об/хв	Тахометр

Продовження таблиці 3.2

№ п/п	Найменування стадії процесу, місце заміру параметра або відбору проби	Параметр, що контролюється	Частота контролю	Норми технологічного режиму та допустимі відхилення	Метод контролю параметра, тип приладу
11	ДР 1.1.8.2. Стерилізація розчину КМЦ Кт 1.1.8.2.1 Кт 1.1.8.2.2 Кт 1.1.8.2.3	Тиск пари	Кожну операцію	0,2 МПа	Манометр
		Температура		121 °С	Термометр
		Час витримки		20 хв	Годинник
12	ДР 1.1.9.1. Приготування розчину гліцерину Кх 1.1.9.1.1 Кт 1.1.9.1.2	Вміст компонентів	Кожну операцію	Згідно з рецептурою	Аналітичні ваги, мірний посуд
		Кількість обертів мішалки		500 об/хв	Тахометр
13	ДР 1.1.9.2. Стерилізація розчину гліцерину Кт 1.1.9.2.1 Кт 1.1.9.2.2 Кт 1.1.9.2.3	Тиск пари	Кожну операцію	0,2 МПа	Манометр
		Час витримки		20 хв	Годинник
		Температура		121 °С	Термометр

Продовження таблиці 3.2

№ п/п	Найменування стадії процесу, місце заміру параметра або відбору проби	Параметр, що контролюється	Частота контролю	Норми технологічного режиму та допустимі відхилення	Метод контролю параметра, тип приладу
14	ДР 1.2.1. Медичний огляд персоналу Кт 1.2.1.1	Стан здоров'я	Перед зміною	Відсутність захворювань	Медичний огляд
15	ДР 1.2.2. Навчання персоналу Кт 1.2.2.1	Рівень знань	Періодично	Відповідність вимогам	Тестування
16	ДР 1.2.3. Перевірка знань персоналу Кт 1.2.3.1	Результати перевірки	Періодично	Допуск до роботи	Журнал
17	ДР 1.3.1. Прання одягу Кт 1.3.1.1	Температура	Кожну операцію	90 °С	Термометр
18	ДР 1.3.2. Сушіння одягу Кт 1.3.2.1	Час	Кожну операцію	До повного висихання	Годинник
19	ДР 1.4.1. Щоденне прибирання Кмб 1.4.1.1	Мікробіологічна чистота	Після прибирання	КУО < 2	Висів на чашку Петрі, мазок

Продовження таблиці 3.2

№ п/п	Найменування стадії процесу, місце заміру параметра або відбору проби	Параметр, що контролюється	Частота контролю	Норми технологічного режиму та допустимі відхилення	Метод контролю параметра, тип приладу
20	ДР 1.4.2. Генеральне прибирання Кмб 1.4.2.1	Мікробіологічна забрудненість	Після прибирання	Не більше 10 колоній на 2-х чашках Петрі	Змив і посів на чашку Петрі
21	ДР 1.5.1. Початкове ополіскування Кт 1.5.1.1	Час	Кожну операцію	10 хв	Годинник
22	ДР 1.5.2. Лужна мийка Кх 1.5.2.1 Кт 1.5.2.2	Вміст компонентів	Кожну операцію	3%	Аналітичні ваги, мірний посуд
		Температура		40 °С	Термометр
		Час		10 хв	Годинник
23	ДР 1.5.3. Кислотна мийка Кх 1.5.3.1 Кт 1.5.3.2	Вміст компонентів	Кожну операцію	Згідно з регламентом	Аналітичні ваги, мірний посуд
		Температура		40 °С	Термометр

Продовження таблиці 3.2

№ п/п	Найменування стадії процесу, місце заміру параметра або відбору проби	Параметр, що контролюється	Частота контролю	Норми технологічного режиму та допустимі відхилення	Метод контролю параметра, тип приладу
24	ДР 1.5.4. Фінальне ополіскування Кх 1.5.4.1 Кт 1.5.4.2	Активна кислотність (рН)	Кожну операцію	рН нейтральний (води)	рН-метр
		Загальна чистота, відсутність осаду та каламуті		Прозорість розчину та відсутність осаду	Візуальний контроль
25	ДР 1.6.1. Перевірка на герметичність Кт 1.6.1.1	Тиск	Перед кожним циклом	Без падіння тиску	Манометр
26	ДР 1.6.2. Стерилізація обладнання Кт 1.6.2.1 Кт 1.6.2.2 Кт 1.6.2.3	Температура	Перед кожним циклом	121 °С	Термометр
		Час витримки		90 хв	Годинник
		Тиск		0,2 МПа	Манометр
27	ДР 1.7.1. Миття посуду Кт 1.7.1.1	Температура	Кожну операцію	20–30 °С	Термометр

Продовження таблиці 3.2

№ п/п	Найменування стадії процесу, місце заміру параметра або відбору проби	Параметр, що контролюється	Частота контролю	Норми технологічного режиму та допустимі відхилення	Метод контролю параметра, тип приладу
28	ДР 1.7.2. Стерилізація посуду Кт 1.7.2.1 Кт 1.7.2.2 Кт 1.7.2.3	Температура	Кожну операцію	121 °С	Термометр
		Час витримки		60 хв	Годинник
		Тиск		0,2МПа	Манометр
29	ДР 2.1.1. Забір повітря з атмосфери Кт 2.1.1.1 Кт 2.1.1.2	Об'ємна витрата	Безперервно	Згідно з регламентом	Анемометр
		Висота забору повітря	Одноразово	8-10 м	Лінійка
30	ДР 2.1.2. Попередня механічна очистка повітря Кт 2.1.2.1	Перепад тиску	Періодично	Згідно з паспортом фільтра	Дифманометр
31	ДР 2.1.3. Транспортування повітря Кт 2.1.3.1	Тиск	Безперервно	Згідно з регламентом	Манометр

Продовження таблиці 3.2

№ п/п	Найменування стадії процесу, місце заміру параметра або відбору проби	Параметр, що контролюється	Частота контролю	Норми технологічного режиму та допустимі відхилення	Метод контролю параметра, тип приладу
32	ДР 2.1.4. Регулювання та стабілізація термодинамічних показників повітря Кт 2.1.4.1	Вологість	Безперервно	40–60%	Вологомір
33	ДР 2.2.1. Забір повітря з атмосфери Кт 2.2.1.1 Кт 2.2.1.2	Об'ємна витрата	Безперервно	Згідно з регламентом	Анеометр
		Висота забору повітря	Одноразово	8-10 м	Лінійка
34	ДР 2.2.2. Попередня механічна очистка повітря Кт 2.2.2.1	Перепад тиску	Періодично	Згідно з паспортом фільтра	Дифманометр
35	ДР 2.2.3. Транспортування повітря Кт 2.2.3.1	Тиск	Безперервно	Згідно з регламентом	Манометр
36	ДР 2.2.4. Регулювання та стабілізація термодинамічних показників повітря Кт 2.2.4.1	Вологість	Безперервно	40–60%	Вологомір

Продовження таблиці 3.2

№ п/п	Найменування стадії процесу, місце заміру параметра або відбору проби	Параметр, що контролюється	Частота контролю	Норми технологічного режиму та допустимі відхилення	Метод контролю параметра, тип приладу
37	ДР 2.2.5. Очищення повітря на головному фільтрі Кт 2.2.5.1	Перепад тиску	Періодично	Згідно з паспортом фільтра	Дифманометр
38	ДР 2.2.6. Очищення повітря на індивідуальному фільтрі Кт 2.2.6.1	Чистота повітря	Періодично	Фактор очищення 99,99%	Висів на чашки Петрі
39	ДР 3.1. Попередня очистка механічних домішок Кт 3.1.1	Розмір часток	Періодично	Відсутність механічних домішок > 20 мкм	Візуально
40	ДР 3.2. Фільтрація через волокнистий фільтр Кт 3.2.1	Перепад тиску	Періодично	Згідно з паспортом фільтра	Дифманометр

Продовження таблиці 3.2

№ п/п	Найменування стадії процесу, місце заміру параметра або відбору проби	Параметр, що контролюється	Частота контролю	Норми технологічного режиму та допустимі відхилення	Метод контролю параметра, тип приладу
41	ДР 3.3. Мембранна очистка на фільтрах зворотнього осмосу Кт 3.3.1 Кт 3.3.2	Тиск	Кожну операцію	0,4 МПа	Манометр
		Електропровідність		4,3 мкСм/см	Кондуктометр
42	ДР 4.1. Миття тари Кт 4.1.1 Кт 4.1.2	Температура	Кожну операцію	Згідно з регламентом	Термометр
		Тиск в системі		0,4МПа	Манометр
43	ДР 4.2. Обробка тари Кх 4.2.1 Км 4.2.2	Вміст компонентів	Кожну операцію	70%	Спиртометр (ареометр)
		Мікробіологічна чистота		Відсутність сторонньої мікрофлори	Висів мазків на чашки Петрі
44	ДР 5.1. Приготування поживного середовища для отримання розсіву культури Кх 5.1.1	Вміст компонентів	Кожну операцію	Згідно з рецептурою	Аналітичні ваги, мірний посуд

Продовження таблиці 3.2

№ п/п	Найменування стадії процесу, місце заміру параметра або відбору проби	Параметр, що контролюється	Частота контролю	Норми технологічного режиму та допустимі відхилення	Метод контролю параметра, тип приладу
45	ДР 5.2. Приготування поживного середовища для отримання посівного матеріалу Кх 5.2.1	Вміст компонентів	Кожну операцію	Згідно з рецептурою	Аналітичні ваги, мірний посуд
46	ДР 5.3. Стерилізація поживного середовища Кт 5.3.1 Кт 5.3.2 Кт 5.3.3	Температура	Кожну операцію	116 °С	Термометр
		Час витримки		30 хв	Годинник
		Тиск		0,175 МПа	Манометр
47	ДР 5.4. Приготування та стерилізація термостабільних компонентів Кх 5.4.1 Кт 5.4.2 Кт 5.4.3 Кт 5.4.4 Кт 5.4.5	Вміст компонентів	Кожну операцію	Згідно з рецептурою	Аналітичні ваги, мірний посуд
		Тиск		0,23 МПа	Манометр
		Температура		134°С	Термометр
		Швидкість обертання мішалки		500 об/хв	Тахометр
		Час витримки		30 хв	Годинник

Продовження таблиці 3.2

№ п/п	Найменування стадії процесу, місце заміру параметра або відбору проби	Параметр, що контролюється	Частота контролю	Норми технологічного режиму та допустимі відхилення	Метод контролю параметра, тип приладу
48	ДР 5.5. Приготування та стерилізація термолабільних компонентів поживного середовища Кх 5.5.1 Кт 5.5.2 Кт 5.5.3 Кт 5.5.4	Вміст компонентів	Кожну операцію	Згідно з рецептурою	Аналітичні ваги, мірний посуд
		Тиск		0,15 МПа	Манометр
		Температура		116 °С	Термометр
		Швидкість обертання мішалки		500 об/хв	Тахометр
		Час витримки		30 хв	Годинник
49	ДР 5.6. Змішування компонентів поживного середовища Кт 5.6.1 Кт 5.6.2	Температура	Кожну операцію	25–30 °С	Термометр
		Кількість обертів мішалки		40 об/хв	Тахометр
50	ТП 6.1. Розсів музейної культури <i>Bacillus subtilis</i> FB17 Кт 6.1.1 Кт 6.1.2 Км 6.1.3	Температура	Кожну операцію	28–30 °С	Термометр
		Час культивування		48 год	Годинник
		Чистота культури		Відсутність сторонньої мікрофлори	Візуальний контроль, мікроскопія

Продовження таблиці 3.2

№ п/п	Найменування стадії процесу, місце заміру параметра або відбору проби	Параметр, що контролюється	Частота контролю	Норми технологічного режиму та допустимі відхилення	Метод контролю параметра, тип приладу
51	ТП 6.2. Розсів музейної культури <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> QST 713 Кт 6.2.1 Кт 6.2.2 Км 6.2.3	Температура	Кожну операцію	28–30 °С	Термометр
		Час культивування		48 год	Годинник
		Чистота культури		Відсутність сторонньої мікрофлори	Візуальний контроль, мікроскопія
52	ТП 6.3. Розсів музейної культури <i>Bacillus megaterium</i> QM B1551 Кт 6.3.1 Кт 6.3.2 Км 6.3.3	Температура	Кожну операцію	28–30 °С	Термометр
		Час культивування		48 год	Годинник
		Чистота культури		Відсутність сторонньої мікрофлори	Візуальний контроль, мікроскопія
53	ТП 7.1. Культивування <i>Bacillus subtilis</i> FB17 на колбах Кт 7.1.1 Кт 7.1.2 Кт 7.1.3 Км 7.1.4	Температура	Кожну операцію	28-30°С	Термометр
		Час культивування		48-72 год	Годинник
		Кількість обертів		80 об/хв	Тахометр
		Чистота культури		Відсутність сторонньої мікрофлори	Візуальний контроль, мікроскопія

Продовження таблиці 3.2

№ п/п	Найменування стадії процесу, місце заміру параметра або відбору проби	Параметр, що контролюється	Частота контролю	Норми технологічного режиму та допустимі відхилення	Метод контролю параметра, тип приладу
54	ТП 7.2. Культивування <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> QST 713 на колбах Кт 7.2.1 Кт 7.2.2 Кт 7.2.3 Км 7.2.4	Температура	Кожну операцію	28-30 °С	Термометр
		Час культивування		48-72 год	Годинник
		Кількість обертів		80 об/хв	Тахометр
		Чистота культури		Відсутність сторонньої мікрофлори	Візуальний контроль, мікроскопія
55	ТП 7.3. Культивування <i>Bacillus megaterium</i> QM B1551 на колбах Кт 7.3.1 Кт 7.3.2 Кт 7.3.3 Км 7.3.4	Температура	Кожну операцію	28-30°С	Термометр
		Час культивування		48-72 год	Годинник
		Кількість обертів		80 об/хв	Тахометр
		Чистота культури		Відсутність сторонньої мікрофлори	Візуальний контроль, мікроскопія

Продовження таблиці 3.2

№ п/п	Найменування стадії процесу, місце заміру параметра або відбору проби	Параметр, що контролюється	Частота контролю	Норми технологічного режиму та допустимі відхилення	Метод контролю параметра, тип приладу
56	ТП 8.1. Культивування <i>Bacillus subtilis</i> FB17 Кт 8.1.1 Кт 8.1.2 Кт 8.1.3 Кт 8.1.4 Км 8.1.5 Кх 8.1.6	Температура	Кожну операцію	28–30 °С	Термометр
		Час культивування		48 год	Годинник
		Кількість обертів мішалки		200 об/хв	Тахометр
		Аерація газу		0,6 дм ³ О ₂ /дм ³	Витратомір
		Чистота культури		Відсутність сторонньої мікрофлори	Мікроскопія
		рН		7,2-7,4	рН-метр
57	ТП 8.2. Культивування <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> QST 713 Кт 8.2.1 Кт 8.2.2 Кт 8.2.3 Кт 8.2.4 Км 8.2.5 Кх 8.2.6	Температура	Кожну операцію	28-30°С	Термометр
		Час культивування		48 год	Годинник
		Кількість обертів мішалки		200 об/хв	Тахометр
		Аерація газу		0,6 дм ³ О ₂ /дм ³	Витратомір
		Чистота культури		Відсутність сторонньої мікрофлори	Мікроскопія
		рН		7,2-7,4	рН-метр

Продовження таблиці 3.2

№ п/п	Найменування стадії процесу, місце заміру параметра або відбору проби	Параметр, що контролюється	Частота контролю	Норми технологічного режиму та допустимі відхилення	Метод контролю параметра, тип приладу
58	ТП 8.3. Культивування <i>Bacillus megaterium</i> QM B1551 Кт 8.3.1 Кт 8.3.2 Кт 8.3.3 Кт 8.3.4 Км 8.3.5 Кх 8.3.6	Температура	Кожну операцію	28-30°C	Термометр
		Час культивування		48 год	Годинник
		Кількість обертів мішалки		200 об/хв	Тахометр
		Аерація газу		0,6 дм ³ О ₂ /дм ³	Витратомір
		Чистота культури		Відсутність сторонньої мікрофлори	Мікроскопія
		рН		7,2-7,4	рН-метр
59	ТП 9.1. Культивування <i>Bacillus subtilis</i> FB17 Кт 9.1.1 Кт 9.1.2 Кт 9.1.3 Кт 9.1.4 Км 9.1.5 Кх 9.1.6	Температура	Кожну операцію	28–30 °С	Термометр
		Час культивування		48 год	Годинник
		Кількість обертів мішалки		200 об/хв	Тахометр
		Аерація газу		0,6 дм ³ О ₂ /дм ³	Витратомір
		Чистота культури		Відсутність сторонньої мікрофлори	Мікроскопія
		рН		7,2-7,4	рН-метр

Продовження таблиці 3.2

№ п/п	Найменування стадії процесу, місце заміру параметра або відбору проби	Параметр, що контролюється	Частота контролю	Норми технологічного режиму та допустимі відхилення	Метод контролю параметра, тип приладу
60	ТП 9.2. Культивування <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> QST 713 Кт 9.2.1 Кт 9.2.2 Кт 9.2.3 Кт 9.2.4 Км 9.2.5 Кх 9.2.6	Температура	Кожну операцію	28-30°C	Термометр
		Час культивування		48 год	Годинник
		Кількість обертів мішалки		200 об/хв	Тахометр
		Аерація газу		0,6 дм ³ О ₂ /дм ³	Витратомір
		Чистота культури		Відсутність сторонньої мікрофлори	Мікроскопія
		рН		7,2-7,4	рН-метр
61	ТП 9.3. Культивування <i>Bacillus megaterium</i> QM B1551 Кт 9.3.1 Кт 9.3.2 Кт 9.3.3 Кт 9.3.4 Км 9.3.5 Кх 9.3.6	Температура	Кожну операцію	28-30°C	Термометр
		Час культивування		48 год	Годинник
		Кількість обертів мішалки		200 об/хв	Тахометр
		Аерація газу		0,6 дм ³ О ₂ /дм ³	Витратомір
		Чистота культури		Відсутність сторонньої мікрофлори	Мікроскопія
		рН		7,2-7,4	рН-метр
62	ТП 10. Центрифугування Кт 10.1 КТ 10.2	Кількість обертів	Безперервно	5000 об/хв	Тахометр
		Тиск під яким подається дистильована вода		0,4 МПа	Манометр

Продовження таблиці 3.2

№ п/п	Найменування стадії процесу, місце заміру параметра або відбору проби	Параметр, що контролюється	Частота контролю	Норми технологічного режиму та допустимі відхилення	Метод контролю параметра, тип приладу
63	ТП 11.1. Змішування з буферним розчином Кт 11.1.1 Кт 11.1.2	Кількість обертів	Кожну операцію	80 об/хв	Тахометр
		Температура		30 °С	Термометр
64	ТП 11.2. Змішування з додатковими компонентами Кт 11.2.1 Кт 11.2.2 Км 11.2.3	Температура	Кожну операцію	15–20 °С	Термометр
		Кількість обертів мішалки		200–800 об/хв	Тахометр
		Загальний титр		1·10 ⁹ КУО/мл	Висів на чашки Петрі методом серійних розведень
65	ПМВ 12.1. Розлив у пляшки Кт 12.1.1	Об'єм	Кожну операцію	Згідно з ТУ 1 л	Датчик ваги
66	ПМВ 12.2. Запаювання Кт 12.2.1	Температура	Безперервно	140 °С	Термометр
67	ПМВ 12.3. Перевірка герметичності Кт 12.3.1	Герметичність	Вибірково	Відсутність браку	Візуально

Продовження таблиці 3.2

№ п/п	Найменування стадії процесу, місце заміру параметра або відбору проби	Параметр, що контролюється	Частота контролю	Норми технологічного режиму та допустимі відхилення	Метод контролю параметра, тип приладу
68	ПМВ 12.4. Маркування та поклеїтка етикеток Кт 12.4.1	Якість маркування	Вибірково	Чіткість	Візуально
69	ПМВ 12.5. Пакування в коробки Кт 12.5.1	Кількість одиниць	Кожну операцію	Згідно з фасуванням n=12 шт	Візуально
70	ПВ Переробка відходів 13. Кт 13.1 Кх 13.2	Наявність механічних пошкоджень, хімічних забруднень	Після кожного циклу виробництва	Цілісність та чистота	Візуально
70	ЗВ 14.1. Знешкодження фугату Км 14.1.1	Наявність живих одиниць	Після кожного циклу виробництва	Відсутність живої мікрофлори	Висів на чашки Петрі
71	ЗВ 14.2. Знешкодження рідких відходів Кх 14.2.1	Хімічний склад	Після кожного циклу виробництва	Згідно з ГДК	Лабораторний аналіз
72	ЗВ 14.3. Знешкодження твердих відходів Кт 14.3.1	Мікробіологічна чистота	Після кожного циклу виробництва	Відсутність мікроорганізмів	Висів на чашку Петрі

Продовження таблиці 3.2

№ п/п	Найменування стадії процесу, місце заміру параметра або відбору проби	Параметр, що контролюється	Частота контролю	Норми технологічного режиму та допустимі відхилення	Метод контролю параметра, тип приладу
73	ЗВ 14.4. Знешкодження відпрацьованого повітря Кмб 14.4.1	Мікробіологічна чистота	Після кожного циклу виробництва	90%	Висів на чашку Петрі
74	ЗВ 14.5. Знешкодження біоматеріалу Кт 14.5.1 Кт 14.5.2 Кт 14.5.3 Км 14.5.4	Температура	Кожну операцію	121°C	Термометр
		Тиск		0,2 МПа	Манометр
		Час витримки		60 хв	Термометр
		Мікробіологічна чистота		Відсутність сторонньої мікрофлори	Висів на чашки Петрі

3.3. Матеріальний баланс

Матеріальний баланс виробництва рідкої форми біопрепарату .

Таблиця 3.1 Матеріальний баланс

Використано					Отримано				
Стадія	Назва сировини, матеріалів та напівпродуктів	Кількість			Стадія	Назва сировини, матеріалів та напівпродуктів	Кількість		
		кг	шт	дм ³			кг	шт	дм ³
ДР 5.1	МПБ	0,0402			ДР 5.1	МПА			2,938
	Агар	0,06				Втрати			0,059
	Вода			2,997		Витрачено агару	0,06		
						Витрачено МПБ	0,0402		
	Всього	0,1002		2,997		Всього	0,1002		2,997
ДР 5.2	М'яса	1,404			ДР 5.2	Поживне середовище для колб			91,764
	Кукурудзяний екстракт	0,1872				Витрачено м'яси	1,404		
	K ₂ HPO ₄ · 3H ₂ O	0,0186				Витрачено кукурудзяного екстракту	0,1872		
	KH ₂ PO ₄	0,0186				Витрачено солей	0,561		
	MgSO ₄ · 7H ₂ O	0,0279				Втрати			1,872
	NaCl	0,0279				Всього	1,965		93,636
	CaCO ₃	0,2808			ДР 5.3	Стерильне поживне середовище для колб			90,846
	Вода пом'якшена			93,636		Втрати			0,918
	Всього	1,965		93,636		Всього			91,764
ДР 5.3	Поживне середовище для колб			91,764					
	Всього			91,764					

Продовження таблиці 3.3

Використано					Отримано				
Стадія	Назва сировини, матеріалів та напівпродуктів	Кількість			Стадія	Назва сировини, матеріалів та напівпродуктів	Кількість		
		кг	шт	дм ³			кг	шт	дм ³
ДР 5.4	K ₂ HPO ₄ · 3H ₂ O	1,8			ДР 5.4	Розчин солей			1203,62
	KH ₂ PO ₄	1,8				Втрати			24,56
	MgSO ₄ · 7H ₂ O	2,71				Витрачено солей	36,03		
	NaCl	2,71							
	CaCO ₃	27,01							
	Вода пом'якшена			1228,18					
	Всього	36,03		1228,18		Всього	36,03		1228,18
ДР 5.5	Меляса	135,3			ДР 5.5	Розчин меляси з кукурудзяним екстрактом			8000
	Кукурудзяний екстракт	18,03				Втрати			160
	Вода Пом'якшена			8160		Витрати меляси	135,5		
	Всього	153,33		8160		Витрати кукурудзяного екстракту	18,03		
ДР 5.6	Розчин солей			1203,62	ДР 5.6	Поживне середовище для культивування			9019,56
	Розчин меляси з кукурудзяним екстрактом			8000		Втрати			184,07
	Всього			9203,62		Всього			9203,62

Продовження таблиці 3.3

Використано					Отримано				
Стадія	Назва сировини, матеріалів та напівпродуктів	Кількість			Стадія	Назва сировини, матеріалів та напівпродуктів	Кількість		
		кг	шт	дм ³			кг	шт	дм ³
ТП 6.1	Посівний матеріал <i>B.subtilis</i> FB17		3		ТП 6.1	Пробірки з <i>B.subtilis</i> FB17		30	
	Пробірки з МПА		32			Втрати		2	
						Використані пробірки з музейною культурою <i>B.subtilis</i> FB17		3	
	Всього		35			Всього		35	
ТП 6.2	Посівний матеріал <i>B.amyloliquefaciens</i> QST 713		3		ТП 6.2	Пробірки з <i>B.amyloliquefaciens</i> QST 713		30	
	Пробірки з МПА		32			Втрати		2	
						Використані пробірки з музейною культурою <i>B.amyloliquefaciens</i> QST 713		3	
	Всього		35			Всього		35	
ТП 6.3	Посівний матеріал <i>B.megaterium</i> QM B1551		3		ТП 6.3	Пробірки з <i>B.megaterium</i> QM B1551		30	
	Пробірки з МПА		32			Втрати		2	
						Використані пробірки з музейною культурою <i>B.megaterium</i> QM B1551		3	
	Всього		35			Всього		35	
ТП 7.1	Пробірки з <i>B.subtilis</i> FB17		31		ТП 7.1	Колби з посівним матеріалом <i>B.subtilis</i>		30	
	Колби з поживним середовищем		31			Контаміновані колби		1	
						Використані пробірки з <i>B.subtilis</i> FB17		31	
	Всього		62			Всього		62	

Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата

ДП БІ 21.07.000. ПЗ

Арк.

73

Продовження таблиці 3.3

Використано					Отримано				
Стадія	Назва сировини, матеріалів та напівпродуктів	Кількість			Стадія	Назва сировини, матеріалів та напівпродуктів	Кількість		
		кг	шт	дм ³			кг	шт	дм ³
ТП 7.2	Пробірки з <i>B.amyloliquefaciens</i> QST 713		31		ТП 7.2	Колби з посівним матеріалом <i>B.amyloliquefaciens</i> QST 713		30	
	Колби з поживним середовищем		31			Контаміновані колби		1	
						Використані пробірки з <i>B.amyloliquefaciens</i> QST 713		31	
	Всього		62			Всього		62	
ТП 7.3	Пробірки з <i>B.megaterium</i> QM B1551		31		ТП 7.3	Колби з посівним матеріалом <i>B.megaterium</i> QM B1551		30	
	Колби з поживним середовищем		31			Контаміновані колби		1	
						Використані пробірки з <i>B.megaterium</i> QM B1551		31	
	Всього		62			Всього		62	
ТП 8.1	Колби з посівним матеріалом <i>B.subtilis</i> FB17		30	30	ТП 8.1	Використані колби		30	
	Стерильне поживне середовище			276,02		Посівний матеріал <i>B.subtilis</i> FB17			300
						Відбір проб			0,5
						Втрати при перекачуванні			5.52
	Всього		30	306,02		Всього		30	306,02

Продовження таблиці 3.3

Використано					Отримано				
Стадія	Назва сировини, матеріалів та напівпродуктів	Кількість			Стадія	Назва сировини, матеріалів та напівпродуктів	Кількість		
		кг	шт	дм ³			кг	шт	дм ³
ТП 8.3	Колби з посівним матеріалом <i>B.megateriu</i> m QM B1551		30	30	ТП 8.3	Використа-ні колби		30	
	Стерильне поживне середовище			276,02		Посівний матеріал <i>B.megaterium</i> QM B1551			300
						Відбір проб			0,5
						Втрати при перекачу-ванні ПС			5,52
	Всього		30	306,02		Всього		30	306,02
ТП 9.1	Посівний матеріал <i>B.subtilis</i> FB17			300	ТП 9.1	Культу-ральна рідина <i>B.subtilis</i> FB17			3000
	Стерильне поживне середовище			2786,2		Відбір проб			0,5
						Втрати при перекачуванні ПС			85,7
	Всього			3086,2		Всього			3086,2
ТП 9.2	Посівний матеріал <i>B.amyloliquef</i> <i>aciens</i> QST 713			300	ТП 9.2	Культуральна рідина <i>B.amyloliquef</i> <i>aciens</i> QST 713			3000
	Стерильне поживне середовище			2786,2		Відбір проб			0,5
						Втрати при перекачу-ванні ПС			85,7
	Всього			3086,2		Всього			3086,2

Продовження таблиці 3.3

Використано					Отримано				
Стадія	Назва сировини, матеріалів та напівпродуктів	Кількість			Стадія	Назва сировини, матеріалів та напівпродуктів	Кількість		
		кг	шт	дм ³			кг	шт	дм ³
ТП 9.3	Посівний матеріал <i>B.megaterium</i> QM B1551			300	ТП 9.3	Культуральна рідина <i>B.megaterium</i> QM B1551			3000
	Стерильне поживне середовище			2786,2		Відбір проб			0,5
						Втрати при перекачуванні ПС			85,7
	Всього			3086,2		Всього			3086,2
ТП 10	Культуральна рідина <i>B.subtilis</i> FB17			3000	ТП 9.1	Рідкі відходи			9400
	Культуральна рідина <i>B.amyloliquefaciens</i> QST 713			3000		Суспензія бактерія			100
	Культуральна рідина <i>B.megaterium</i> QM B1551			3000		Втрати при транспортуванні			9,5
	Стерильна дистильована вода			509,5					
	Всього			9509,5		Всього			9509,5
ТП 8.2	Колби з посівним матеріалом <i>B.amyloliquefaciens</i> QST 713		30	30	ТП 8.2	Використані колби		30	
	Стерильне поживне середовище			276,02		Посівний матеріал <i>B.amyloliquefaciens</i> QST 713			300
						Відбір проб			0,5
						Втрати при перекачуванні			5,52
	Всього		30	306,02		Всього		30	306,02

Продовження таблиці 3.3

Використано					Отримано				
Стадія	Назва сировини, матеріалів та напівпродуктів	Кількість			Стадія	Назва сировини, матеріалів та напівпродуктів	Кількість		
		кг	шт	дм ³			кг	шт	дм ³
ПМВ 12	Рідкий препарат			1995	ПМВ 12	Тара з препаратом 1дм ³		1960	1960
	Тара з кришками 1дм ³		1960			Поклеєні етикетки		1960	
	Етикетки		1960			Втрати			35
	Всього		3920	1995		Всього		3920	1995
ТП 11	Суспензія бактерій		100		ТП 11	Рідкий препарат			1995
	Фосфатний буфер			1870,7		Втрати при транспортуванні			40,7
	Розчин ПВП			25		Витрачено суспензії		100	
	Розчин КМЦ			25					
	Розчин гліцерину			25					
	Всього		100	1945,7		Всього		100	1945,7

3.4. Опис технологічного процесу

ДР 1 Підготовка приміщень персоналу та розчинів

ДР 1.1 Приготування розчинів

Першим необхідним етапом підготовки виробництва є приготування робочих розчинів, які використовуються протягом усього процесу виробництва біопрепарату. Виробництво продукції мікробного походження потребує строгого дотримання правил асептики, підготовки персоналу та приміщень.

ДР 1.1.1 Приготування миючого розчину

Миючий розчин використовується для миття приміщень та поверхонь, видалені стійких та поверхневих забруднень. Відбувається процес у реакторах змішувачах із механічним перемішуючим пристроєм – турбінною мішалкою з швидкістю обертання 500 об/хв, інтенсивність регулюється контрольним пристроєм. Розчинення відбувається у підігрітій питній воді з трубопроводу, Технічний контроль температури здійснюється датчиком температури. Розчини

готують у відповідності до рецептури зазначеної виробником синтетичних миючих засобів і хімічний контроль регулюється концентрацією діючої речовини у розчині $C = 0,5 \%$ та $C = 1 \%$.

Готові розчини відправляються у виробництво до ДР 1.4, ДР 1.7.1. та ДР 4.1.

ДР 1.1.2 Приготування розчину лугу

У реактор-змішувач вносять частину чистої каустичної соди вагою яка рівна 5% від усього об'єму рідини через дозатор та регулюється. У середину подається підігріта вода через трубопровід та перемішується турбінною мішалкою з частотою обертання 500 об/хв . Швидкість обертання регулюється датчиком, оскільки реакція є екзотермічною температура регулюється датчиком. Кінцева концентрація розчину становить $C = 5 \%$.

Розчин відправляється на миття обладнання до ДР 1.5.2.

ДР 1.1.3 Приготування розчину сульфамідної кислоти

Розчин використовується для миття обладнання для видалення залишків нальоту та вапняних залишків. Приготування відбувається у реакторі-змішувачі, подача відбувається через ваговий дозатор, вода гаряча подається через трубопровід. Масовий вміст контролюється, температура розчину в реакторі Швидкість обертання турбінної мішалки – 500 об/хв .

Розчин відправляється на миття обладнання до ДР 1.5.3.

ДР 1.1.4 Приготування дезінфікуючого розчину

Дезінфікуючий розчин готується на основі додавання речовин, які в процесі розчинення виділяють активний хлор, у даному виробництві використовується засіб Хлорамін-Б. Приготування відбувається у реакторі-змішувачі Р-8 оснащеним турбінною мішалкою з частотою обертання 500 об/хв , яка регулюється, температура контролюється. Для приготування 200 дм^3 через ваговий дозатор з відважують 6 кг сухого хлораміну-Б та через трубопровід подають гарячу воду в об'ємі 194 дм^3 . Рівень заповнення контролюється.

Розчин відправляється до ДР 1.4, ДР 1.7.1 та ДР 4.1.

					<i>ДП БІ 21.07.000. ПЗ</i>	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		78

ДР 1.1.5 Приготування розчину спирту

Приготування відбувається у реакторах-змішувачах оснащених турбінною мішалкою з частотою обертання 500 об/хв, контрольний пристрій для регулювання 70 % розчин етилового спирту використовується для дезінфекції поверхонь, обробки рук персоналу та хімічної стерилізації тари. Готують додаванням через 736 см³ 96 % розчину етилового спирту до 264 см³ води з трубопроводу. Контроль температури здійснюється датчиком, рівень заповнення рідини датчиком.

Готовий розчин направляється до ДР 4.2.

ДР 1.1.6 Приготування фосфатно-сольового буферу

Розчин використовується для розведення суспензії бактерій у процесі виготовлення готової форми препарату.

ДР 1.1.6.1 Приготування буферного розчину

Відбувається у реакторі-змішувачі з відкритою турбінною мішалкою та частотою її обертання 500 об/хв. Суміш солей зважується на дозаторі з наступним складом відповідно до ДСТУ 8145:2015: NaCl – 16 кг, Na₂HPO₄ – 2,88 кг, KH₂PO₄ – 0,48 кг, KCl – 0,4 кг. У реакторі розводять у воді з трубопроводу в об'ємі 1500 дм³ та доливають до об'єму 2 м³, що регулюється.

Відправляється до ДР 1.1.6.2.

ДР 1.1.6.2 Стерилізація буферного розчину

Стерилізація відбувається гострою парою 0,2 МПа, що подається через трубопровід безпосередньо у реактор. Час експозиції – 20 хв, температура контролюється датчиком, охолодження здійснюється шляхом подачі у сорочку охолоджуючої води та зливом у К-11.

Готовий розчин направляється до ТП 11.1

ДР 1.1.7 Приготування розчину піровінілпіролідону

Розчин піровінілпіролідону слугує стабілізатором у готовому препараті, матеріал чутливий до перепадів температури, тому відбувається мембранна фільтрація розчину.

					<i>ДП БІ 21.07.000. ПЗ</i>	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		79

ДР 1.1.7.1 Приготування розчину піровінілпіролідону

Відбувається у реакторі-змішувачі з турбінною мішалкою (частота обертання 500 об/хв). Змішується з питною водою з трубопроводу та доводиться до концентрації $C = 30 \%$.

ДР 1.1.7.2 Фільтрування розчину піровінілпіролідону

Розчин фільтрується через мембрану перегородку ФП-19 та направляється до ТП 11.1.

ДР 1.1.8 Приготування розчину КМЦ

Карбоксиметилцелюлоза слугує загусником та прилипачем у готовому препараті, що дозволяє утримувати вологу та забезпечувати фіксацію діючої речовини на рослині.

ДР 1.1.8.1 Приготування розчину КМЦ

Відбувається у реакторі-змішувачі з турбінною мішалкою (частота обертання 500 об/хв). Змішується з питною водою з трубопроводу та доводиться до концентрації $C = 10 \%$.

Розчин стерилізується на стадії ДР 1.1.8.2.

ДР 1.1.8.2 Стерилізація розчину КМЦ

Стерилізація відбувається гострою парою 0,2 МПа, що подається через трубопровід у реактор. Час експозиції – 20 хв, температура контролюється датчиком, охолодження здійснюється шляхом подачі у сорочку охолоджуючої води та зливом у К-11.

Готовий розчин направляється до ТП 11.1.

ДР 1.1.9 Приготування розчину гліцеролу

Гліцерин слугує консерватором, знижує осмочутливість клітин, та підтримує життєздатність культури не зважаючи на зміну умов зберігання.

ДР 1.1.9.1 Приготування розчину гліцерину

Відбувається у реакторі-змішувачі з турбінною мішалкою, частою обертання 500 об/хв, яка регулюється. Змішується у співвідношенні до об'єму 1:49 з питною водою з трубопроводу та доводиться до концентрації $C = 30 \%$.

Розчин стерилізується на стадії ДР 1.1.9.2.

					<i>ДП БІ 21.07.000. ПЗ</i>	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		80

ДР 1.1.9.2 Стерилізація розчину гліцерину

Стерилізація відбувається гострою парою 0,2 МПа, що подається через трубопровід у реактор. Час експозиції – 20 хв, температура контролюється датчиком, охолодження здійснюється шляхом подачі у сорочку охолоджуючої води та зливом у К-11.

Готовий розчин направляється до ТП 11.1.

ДР 1.2 Підготовка персоналу

Персонал є основним джерелом аерозольних та мікробних забруднень у чистих приміщеннях. Ефективна система підготовки персоналу є критичним елементом забезпечення якості.

ДР 1.2.1 Медичний огляд персоналу

Здійснюється медичною установою та службою охорони праці. Включає: Періодичні огляди (згідно наказу МОЗ України від 08.09.2025 № 1393). Щоденний візуальний контроль перед зміною (відсутність відкритих ран, симптомів ГРВІ). Бактеріологічні посіви (мазки з рук, носоглотки) для персоналу, що працює в асептичних зонах.

ДР 1.2.2 Навчання персоналу

Проведення лекцій, відеоінструктажі, тренінги в реальних умовах. Вивчення СОП (Стандартних Операційних Процедур).

ДР 1.2.3 Перевірка знань персоналу

Тестування, практичний іспит (демонстрація миття рук, переодягання), мікробіологічний моніторинг (змиви з рукавичок та одягу після входу в чисту зону).

ДР 1.3 Підготовка одягу

ДР 1.3.1 Прання одягу

Використовується промислова бар'єрна пральна машина прохідного типу. Завантаження брудного одягу здійснюється з приміщення нижчого класу чистоти, вивантаження чистого – у приміщення вищого класу. Температура при якій здійснюється прання $T = 90\text{ }^{\circ}\text{C}$. Сушіння одягу відбувається у ДР 1.3.2.

					<i>ДП БІ 21.07.000. ПЗ</i>	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		81

ДР 1.3.2 Сушіння одягу

На виробництві встановлена сушильна шафа з нержавіючої сталі. Одяг обдувається підігрітим до 60 °С стерильним повітрям. Створення надлишкового тиску всередині шафи запобігає підсосу брудного повітря ззовні. Чистий висушений одяг відправляється у виробництво.

ДР 1.4 Підготовка виробничих приміщень

ДР 1.4.1 Щоденне прибирання

Метою даного процесу є підтримання допустимого рівня механічних та мікробних забруднень у чистих приміщеннях протягом робочої зміни. Прибирання базується на принципі видалення забруднень, а не їх перерозподілу. Прибирання здійснюється персоналом щодня з використанням спеціальних швабр, ганчірок та миючими засобами приготованими у ДР 1.1.1.

ДР 1.4.2 Генеральне прибирання

Метою є глибоке очищення всіх поверхонь, включаючи важкодоступні (стелі, вентиляційні решітки, за обладнанням), для повернення приміщення до вихідного стану чистоти. Проводиться раз на тиждень. Може включати аерозольну дезінфекцію (холодний туман) для обробки всього об'єму повітря та поверхонь. Використовуються розчини приготовані у ДР 1.1.1.

ДР 1.5 Миття обладнання

ДР 1.5.1 Початкове ополіскування

Проводиться з використанням подачу води через СІР-системи. На цій стадії відбувається промивання водопровідною водою протягом 10 хв та температурою води 40° з трубопроводу В2. Метою даної стадії є видалення всіх водорозчинних залишків всередині апаратів, процес миття продовжується до відсутності осаду, каламуті. Відпрацьована вода направляється до ЗВ 14.2.

ДР 1.5.2 Лужна мийка

На цьому етапі проводиться промивання апаратів та трубопроводів 5 % розчином лугу від ДР 1.1.2 для видалення залишків мікробного походження. При взаємодії з лугом відбувається гідроліз білків та омилення жирів. Температура 40 °С та час миття 10 хв. Розчин відправляється до ЗВ 14.2.

					<i>ДП БІ 21.07.000. ПЗ</i>	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		82

ДР 1.5.3 Кислотна мийка

Промивання проводиться протягом 10 хв розчином сульфамінової кислоти від ДР 1.1.3. Використовується для нейтралізації залишків лугу та розчинення неорганічного нальоту та солей. Відпрацьований розчин відправляється до ЗВ 14.2.

ДР 1.5.5 Фінальне ополіскування

Видалення залишків хімікатів водою очищеною до досягнення візуальної чистоти на виході, що відповідає воді на вході. Здійснюється протягом 10 хв, а відпрацьований розчин на знешкодження до ЗВ 14.2.

ДР 1.6 Підготовка обладнання

ДР 1.6.1 Перевірка на герметичність

Метою є перевірка апаратів у відсутності витоків та можливості підсосу нестерильного повітря шляхом подачі стисненого повітря (0,2–0,3 МПа) та контролем падіння тиску манометром протягом певного часу.

ДР 1.6.2 Стерилізація

Метою даної стадії є знищення сторонньої мікрофлори на стінках та в трубопроводах апаратів. Даний етап є необхідним для забезпечення виходу якісного продукту та для уникнення втрат цільового продукту через контамінацію. Стерилізація проводиться шляхом подачі гострої насиченої пари $T = 121\text{ }^{\circ}\text{C}$, тиском $P = 0,2\text{ МПа}$ та часом експозиції 90 хв. Конденсат відправляється по трубопроводі К-11 до ЗВ 14.2.

ДР 1.7 Миття та стерилізація посуду

ДР 1.7.1 Миття посуду

Метою є очищення лабораторного посуду від залишків середовищ та реактивів. Миття проводять у спеціальних посудомийних машинах водопровідною водою з використанням миючих засобів від ДР 1.1.1. Здійснюється технологічний контроль процесу шляхом регулювання подачі води в трубопроводі В2 та хімічний контроль лабораторними методами, відпрацьовані розчини через трубопровід К-11 до ЗВ 14.2. Чистий лабораторний посуд відправляється на стерилізацію до ДР 1.7.2.

					<i>ДП БІ 21.07.000. ПЗ</i>	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		83

ДР 1.7.2: Стерилізація посуду

Посуд попередньо обмотується папером, фіксується ниткою та проходить процес автоклавування при температурі $T = 121\text{ }^{\circ}\text{C}$, тиском $P = 0,2\text{ МПа}$ та часом експозиції 60 хв. Використана пара відправляється в конденсатор, звідки конденсат відправляється до ЗВ 14.2.

ДР 2 Підготовка повітря

ДР 2.1 Підготовка вентиляційного повітря

Для забезпечення санітарно-гігієнічних вимог виробництва та запобігання потраплянню сторонньої мікрофлори до виробничих приміщень використовується система підготовки вентиляційного повітря. Її основним призначенням є зниження концентрації пилу, аерозольних частинок та мікроорганізмів, які можуть негативно впливати на якість готового препарату.

ДР 2.1.1 Забір атмосферного повітря

Якість атмосферного повітря визначається багатьма факторами, зокрема кліматичними умовами, сезоном року, особливостями місцевості та висотою точки забору. Для мінімізації ризику потрапляння пилу й мікроорганізмів повітря відбирають через повітрозабірник, який розташований на висоті 8–10 м над рівнем землі. Забірний пристрій встановлюють у зоні з мінімальним рівнем запиленості та найменшим впливом промислових або транспортних викидів.

ДР 2.1.2 Попередня механічна очистка повітря

Очистка повітря здійснюється з використанням фільтрів грубої очистки для вловлювання частинок більших 5 мкм. Даний процес забезпечує очистку від грубих великих частинок, пилу та зменшує навантаження на подальших стадіях очистки. Повітря прямує до ДР 2.1.3.

ДР 2.1.3 Транспортування повітря

Після проходження первинної очистки повітря подається до компресора, де відбувається його стиснення до робочого тиску 0,2 МПа. Унаслідок адіабатичного стискання температура повітря підвищується і може досягати 100–120 $^{\circ}\text{C}$. Компресор забезпечує стабільну подачу необхідного об'єму повітря до виробничих приміщень та технологічного обладнання.

					<i>ДП БІ 21.07.000. ПЗ</i>	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		84

ДР 2.1.4 Стабілізація параметрів повітря

Стиснене повітря надходить до теплообмінного обладнання, де охолоджується до температури близько 40 °С. Далі в ресивері здійснюється вирівнювання тиску, зменшення пульсацій потоку та часткове осадження конденсату й залишкових аерозолів мастильних матеріалів. Вологість повітря стабілізується на рівні приблизно 60 %. Конденсат, який утворюється під час охолодження, відводиться через трубопровід К-11 до ЗВ 14.2. Саме повітря надходить у виробництво.

ДР 2.2 Підготовка стерильного повітря

Стерильне повітря використовується на стадіях культивування мікроорганізмів, де необхідно забезпечити повну відсутність сторонньої мікрофлори. Підготовка стерильного повітря включає ті самі початкові етапи, що й підготовка вентиляційного повітря, однак доповнюється високоефективною системою фільтрації.

ДР 2.2.1 Забір атмосферного повітря

Якість атмосферного повітря залежить від кліматичних умов, сезону року, особливостей місцевості та висоти розташування повітрязабірного обладнання. Для зменшення надходження пилу та мікроорганізмів повітря відбирають через повітрязабірник, встановлений на висоті 8–10 м у зоні з мінімальним рівнем запиленості та віддаленій від джерел забруднення.

ДР 2.2.2 Попередня механічна очистка повітря

Відібране повітря проходить стадію грубого очищення, під час якої видаляються механічні домішки та пилові частинки розміром понад 5 мкм. Це дозволяє зменшити навантаження на наступні етапи підготовки та забезпечити стабільну роботу обладнання.

ДР 2.2.3 Транспортування повітря

Після попередньої очистки повітря надходить до компресора, де стискається до тиску близько 0,2 МПа. Унаслідок адіабатичного стискання його температура підвищується до 100–120 °С. Компресор забезпечує безперервну подачу повітря до технологічної системи.

					<i>ДП БІ 21.07.000. ПЗ</i>	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		85

ДР 2.2.4 Стабілізація параметрів повітря

Стиснене повітря охолоджується в теплообміннику до 40 °С, після чого надходить до ресивера для вирівнювання тиску та видалення конденсату. Вологість підтримується на рівні близько 60 %. Утворений конденсат відводиться трубопроводом К-11 до вузла ЗВ 14.2, а підготовлене повітря спрямовується на подальше використання у виробництві.

ДР 2.2.5 Очищення повітря на головному фільтрі

Підготовлене повітря надходить на головний фільтр, де затримується переважна більшість дрібнодисперсних частинок і мікроорганізмів. Фільтрувальна система забезпечує ступінь очищення близько 95 %, видаляючи частинки розміром до 1,5 мкм.

ДР 2.2.6 Очищення повітря на індивідуальному фільтрі

Для досягнення необхідного рівня стерильності повітря додатково пропускають через індивідуальні ULPA-фільтри, виготовлені із супертонких волокон. Такі фільтрувальні елементи здатні затримувати найдрібніші аерозольні частинки та мікроорганізми розміром до 0,5 мкм. Ефективність очищення становить до 99,999 %. Отримане стерильне повітря відправляється до ТП 9 та ТП 10.

ДР 3 Очищення води

Для забезпечення стабільності технологічного процесу використовують воду, яка попередньо проходить багатоступеневу систему очищення. Основною метою водопідготовки є видалення механічних домішок, органічних речовин, залишкового хлору та розчинених солей. Очищення здійснюється із застосуванням механічних, сорбційних та мембранних методів фільтрації.

ДР 3.1 Видалення грубодисперсних домішок

На першому етапі вода проходить через фільтри із піщаним завантаженням, призначені для затримання частинок розміром понад 80 мкм. Для оцінки ефективності роботи обладнання контролюють величину тиску до та після фільтра.

					<i>ДП БІ 21.07.000. ПЗ</i>	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		86

ДР 3.2 Тонка механічна фільтрація

Після сорбційного очищення вода надходить до волокнистих фільтрів тонкого очищення, де затримуються частинки розміром понад 3 мкм. Це дозволяє захистити мембрани зворотного осмосу від передчасного забруднення та продовжити термін їх експлуатації.

ДР 3.3 Мембранне очищення методом зворотного осмосу

Завершальним етапом підготовки води є мембранне очищення методом зворотного осмосу. Під дією тиску 4–6 МПа вода проходить через напівпроникні мембрани, які затримують розчинені солі, органічні речовини, мікроорганізми та інші забруднення. Якість очищеної води контролюють за показником електропровідності, який повинен становити близько 4,3 мкСм/см при температурі 20 °С.

ДР 4 Підготовка пластикової тари та кришечок

ДР 4.1 Миття тари

Миття проводиться на миючому апараті протягом 20 хв з використанням миючих розчинів концентрацією $C = 0,5 \%$ від ДР 1.1.1 та дезінфекцією 3 % розчином Хлораміну-Б від ДР 1.1.4. Процес миття проводиться протягом 20 хв. Контролюється концентрація миючих засобів та візуальна чистота тари та кришечок. Відходи відправляються до ЗВ 14.2.

ДР 4.2 Обробка тари

Обробка тари являє собою стерилізацію хімічним методом. Використання термічної стерилізації не допускається за рахунок чутливості пластикових компонентів до температурних коливань. Проводиться обробка 70 % розчином етилового спирту від ДР 1.1.5 після цього проводиться вибірковий контроль з висівом мазків з внутрішньої сторони пляшки для визначення мікробіологічної забрудненості. Готова стерильна тара відправляється до лінії розливу ПМВ 12.1.

ДР 5 Підготовка поживного середовища

ДР 5.1 Приготування поживного середовища для отримання розсіву культури

<i>ДП БІ 21.07.000. ПЗ</i>					Арк.
					87
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата	

На цій стадії відбувається приготування агаризованого поживного середовища для подальшого вирощування цільового продуцента, змішується 13г м'ясо-пептонного бульйону з 20 г агар-агару на 1 дм³ води. На цьому етапі поживне середовище розливається у пробірки від ДР 1.7.2, закривається ватно-марлевими пробками та відправляється на стерилізацію до ДР 5.3.

ДР 5.2 Приготування поживного середовища для отримання посівного матеріалу

У реакторах змішувачах відбувається приготування поживного середовища наступного складу: М'яса – 15 г; Кукурудзяний екстракт – 2 г; $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$ – 0,2 г; KH_2PO_4 – 0,2 г; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ – 0,3 г; NaCl – 0,3 г; $CaCO_3$ – 3 г. даний склад призначений на 1 дм³ води. Активна кислотність рН = 7,2–7,4. Після розчинення усіх компонентів середовище розливається дозатором по 1 дм³ у термостійкі колби об'ємом 2 дм³, накриваються ватно-марлевими пробками та відправляється на стерилізацію до ДР 5.3. Залишки середовища відправляються на знезараження до ЗВ 14.5.

ДР 5.3 Стерилізація поживного середовища для отримання посівного матеріалу

Стерилізація відбувається у промислових автоклавах великого об'єму. Для знезараження використовується метод «глухої» пари. У камеру автоклава попередньо завантажують пробірки з МПА та колби з приготовленим кукурудзно-м'ясним середовищем. Продувка відбувається до моменту досягнення температури $T = 116\text{ }^{\circ}\text{C}$, час експозиції – 30 хв при тиску 0,175 МПа. Стерильні пробірки з агаризованим середовищем скошуються та після охолодження відправляються до ТП 6, колби з рідким вмістом відправляються до засіву на ТП 7.

ДР 5.4 Приготування та стерилізація термостабільних компонентів

На цій стадії здійснюється підготовка мінеральної основи поживного середовища. У реактор подається очищена вода від стадії ДР 3.3, солі зі складу наступним складом: $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$ – 0,2 г; KH_2PO_4 – 0,2 г; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ – 0,3 г; NaCl – 0,3 г; $CaCO_3$ – 3 г на 1 дм³ води. Готовий розчин солей розливається у

					<i>ДП БІ 21.07.000. ПЗ</i>	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		88

колби об'ємом 2 дм³, закупорюється ватно-марлевими пробками та відправляється на стерилізацію в автоклав. а як теплоносії використовується насичена пара під тиском 0,23 МПа. Процес термічної стерилізації сольового розчину триває протягом 30 хвилин за температури 134 °С та робочого тиску 0,23 МПа. Здійснюється хімічний контроль якості компонентів та технічний контроль режиму стерилізації після чого готові компоненти спрямовуються на стадію ДР 5.5 для об'єднання з іншими складовими.

ДР 5.5 Приготування та стерилізація термолабільних компонентів поживного середовища

Цей етап призначений для обробки органічної сировини, чутливої до високих температур. До апарату завантажують воду від ДР 3.3, мелясу та попередньо погашений крейдою кукурудзяний екстракт, а нагрівання здійснюють насиченою гострою парою під тиском 0,15 МПа у самому ж реакторі-змішувачі. З огляду на термолабільність компонентів, режим стерилізації є м'якшим: процес триває 30 хвилин за температури 116 °С і тиску 0,15 МПа. Контролюються параметри маси та хімічного складу, а стерильна суміш передається на наступний етап змішування.

ДР 5.6. Змішування компонентів поживного середовища

На даній стадії відбувається остаточне формування рідкого поживного середовища шляхом об'єднання потоків, що надходять від стадій ДР 5.3 та ДР 5.4. Процес гомогенізації середовища триває 15–20 хвилин за механічного перемішування з частотою обертання лопатевої мішалки 40 об/хв. Основним параметром контролю на цьому етапі є мікробіологічний контроль, який здійснюється методом висіву поживного середовища на чашки Петрі. Готове поживне середовище розділяється на два потоки і відправляється на основні стадії культивування – ТП 8 та ТП 9.

ТП 6 Підготовка посівного матеріалу на пробірках

ТП 6.1 Розсів музейної культури *Bacillus subtilis* FB17

Етап призначений для первинного відновлення чистлі музейної культури першого робочого штаму на твердому агаризованому середовищі. На стадію

					<i>ДП БІ 21.07.000. ПЗ</i>	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		89

подається МПА від блоку ДР 5.3 та безпосередньо музейна культура *Bacillus subtilis* FB17, посів відбувається під полум'ям пальника. Процес інкубації здійснюється в термостаті за температури $T = 28\text{--}30\text{ }^{\circ}\text{C}$ протягом часу 48 год. Контролю вимагають показники чистоти посівного матеріалу та температурні режими термостату. Отримані пробірки з підрощеною культурою передаються до блоку ТП 7.1, а всі утворені технологічні відходи спрямовуються до збірника відходів ЗВ 14.

ТП 6.2 Розсів музейної культури *Bacillus amyloliquefaciens* QST 713

У цьому технологічному процесі проводиться аналогічний розсів другого бактеріального штаму для отримання первинного посівного матеріалу. Пробірки з стерильним МПА від ДР 5.3 засіваються музейною культурою *Bacillus amyloliquefaciens* QST 713. Культивування на пробірках проходить за стабільного температурного. Оператор контролює масу та чистоту культури. Готові пробірки з культурою транспортуються до блоку ТП 7.2, а біологічні відходи від маніпуляцій виводяться до збірника відходів ЗВ 14.

ТП 6.3 Розсів музейної культури *Bacillus megaterium* QM B1551

Цей блок забезпечує отримання пробіркової культури третього компонента бактеріального консорціуму. Для цього використовують МПА від блоку ДР 5.3 та музейну культуру *Bacillus megaterium* QM B1551. Режим термостатування є стандартним: температура інкубації становить $T = 28\text{--}30\text{ }^{\circ}\text{C}$ протягом часу 48 год. Контролю вимагають показники чистоти посівного матеріалу та температурні режими термостату. Контролюється чистота та справність термостата. Вирощені пробірки спрямовуються до ТП 7.3, а відходи цієї лінії відводяться окремо до збірника відходів ЗВ 14.5.

ТП 7 Підготовка посівного матеріалу в колбах

ТП 7.1 Культивування *Bacillus subtilis* FB17 на колбах

На стадію надходять колби з поживним середовищем від ДР 5.3 та пробірки з культурою від ТП 6.1. Посів відбувається над полум'ям пальника. Суспезнія готується внесенням 10 см^3 поживного середовища до культури бактерій та переноситься у колбу назад.

ДП БІ 21.07.000. ПЗ					Арк.
					90
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата	

Глибинне вирощування реалізується на орбітальному шейкері за температури $T = 28\text{--}30\text{ }^{\circ}\text{C}$ протягом часу 48 год при частоті обертання $n = 80\text{об/хв}$. Після цього відбувається перевірка мікробіологічної чистоти продукту і після цього колби з готовим інокулятом передаються до промислового блока ТП 8.1, а рідкі відходи та змиви відправляються до збірника відходів ЗВ 14.5.

ТП 7.2 Культивування *Bacillus amyloliquefaciens* QST 713 на колбах

На даному етапі здійснюється накопичення рідкої посівної культури другого робочого штаму. Матеріальною основою процесу є колби з рідким поживним середовищем, що надходять від ДР 5.3, та пробіркові культури бактерій з блоку ТП 6.2. Технологія приготування посівної дози полягає у внесенні 10 см^3 стерильного середовища безпосередньо у пробірку з культурою, після чого утворену клітинну суспензію переносять зворотним током у колбу. Глибинне вирощування інокуляту реалізують на орбітальному шейкері за стабільного температурного режиму $T = 28\text{--}30\text{ }^{\circ}\text{C}$ протягом часу 48 год та частоти обертання вала $n = 80\text{ об/хв}$. Після завершення циклу інкубації обов'язково контролюють мікробіологічну чистоту отриманого продукту. Посівну біомасу в колбах передають на наступну стадію ТП 8.2, а всі супутні рідкі відходи та відпрацьовані змиви відводять на знешкодження до збірника ЗВ 14.5.

ТП 7.3 Культивування *Bacillus megaterium* QM B1551 на колбах

Стадія призначена для отримання рідкого посівного матеріалу третього компонента бактеріального консорціуму. Для реалізації процесу використовують пробірки з посівною культурою від ТП 6.3 та рідке поживне середовище у колбах від ДР 5.3. Посівні дії проводять в зоні дії полум'я пальника середовища з колби до пробірки з бактеріями з подальшим змивом клітинного нальоту та рекомбінацією отриманої суміші назад у колбу. Глибинне вирощування реалізується на орбітальному шейкері за температури $T = 28\text{--}30\text{ }^{\circ}\text{C}$ протягом часу 48 год при частоті обертання $n = 80\text{ об/хв}$. Після інкубації виконують аналіз на відсутність сторонньої мікрофлори, за позитивних результатів якого колби з готовим інокулятом транспортують до апарата ТП 8.3.

					ДП БІ 21.07.000. ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		91

Рідку фазу відходів, брак та промивні розчини цієї лінії централізовано направляють до ЗВ 14.5.

ТП 8 Підготовка посівного матеріалу

ТП 8.1 Культивування *Bacillus subtilis* FB17

Стадія реалізується в посівному інокуляторі з коефіцієнтом заповнення апарата 0,6. До інокулятора подається стерильне рідке поживне середовище від ДР 5.6 та колби з культурою від ТП 7.1. Для запобігання утворенню піни в апарат додають профільтрований стерильний розчин піногасника пропінолу Б400. Процес глибинного вирощування здійснюють за температури $T = 28-30$ °C протягом часу 48 год, частотою обертання турбінної мішалки $n = 200$ об/хв та питомій аерації середовища $V = 0,6 \text{ дм}^3 \cdot \text{O}_2/\text{дм}^3$, $\text{pH} = 7,2-7,4$. Протягом усього процесу здійснюється постійний контроль параметрів культивування та мікробіологічний контроль. Готовий інокулят з культурою спрямовується до промислового ферментера ТП 9.1, а рідкі відходи та залишки змивів відводять до збірника ЗВ 14.

ТП 8.2 Культивування *Bacillus amyloliquefaciens* QST 713

Процес накопичення біомаси другого штаму реалізується в окремому посівному інокуляторі зі ступенем заповнення робочого об'єму 0,6. Вхідними потоками є поживне середовище від ДР 5.6 та інокулят у колбах від ТП 7.2. У процесі біосинтезу до системи дозують профільтрований стерильний розчин пропінолу-Б400. Параметри технологічного режиму становлять: температура $T = 28-30$ °C протягом часу 48 год, частотою обертання турбінної мішалки $n = 200$ об/хв, $\text{pH} = 7,2-7,4$ та питомій аерації середовища $V = 0,6 \text{ дм}^3 \cdot \text{O}_2/\text{дм}^3$. Протягом усього процесу здійснюється постійний контроль параметрів культивування та мікробіологічний контроль. Отриманий інокулят з культурою транспортується до апарата ТП 9.2, а рідкі відходи зливаються у збірник ЗВ 14.

ТП 8.3 Культивування *Bacillus megaterium* QM B1551

Блок призначений для одержання посівного матеріалу третього штаму і реалізується в посівному інокуляторі за коефіцієнта заповнення 0,6. До апарата спрямовують ПС від ДР 5.6 та рідку культуру бактерій у колбах від ТП 7.3.

					<i>ДП БІ 21.07.000. ПЗ</i>	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		92

Для контролю піноутворення в інокулятор вводиться відфільтрований стерильний розчин піногасника пропінолу-Б400. Параметри технологічного режиму становлять: температура $T = 28-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ протягом часу 48 год, частотою обертання турбінної мішалки $n = 200\text{ об/хв}$, $\text{pH} = 7,2-7,4$ та питомій аерації середовища $V = 0,6\text{ дм}^3 \cdot \text{O}_2 / \text{дм}^3$. Протягом усього процесу здійснюється постійний контроль параметрів культивування та мікробіологічний контроль. Готовий інокулят транспортується до ферментера ТП 9.3, а рідкі відходи виводяться до збірника ЗВ 14.

ТП 9 Підготовка посівного матеріалу

ТП 9.1 Культивування *Bacillus subtilis* FB17

Стадія промислового вирощування першого штаму реалізується у виробничому ферментері з коефіцієнтом заповнення апарата 0,6. До ферментера подається стерильне поживне середовище від блоку ДР 5.6 та рідкий інокулят від інокулятора ТП 8.1. Для пригнічення піноутворення в апарат дозується відфільтрований стерильний розчин пропінолу Б400. Глибинне біосинтетичне накопичення здійснюють за температури Параметри технологічного режиму становлять: температура $T = 28-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ протягом часу 48 год, частотою обертання турбінної мішалки $n = 200\text{ об/хв}$, $\text{pH} = 7,2-7,4$ та питомій аерації середовища $V = 0,6\text{ дм}^3 \cdot \text{O}_2 / \text{дм}^3$. Протягом усього процесу здійснюється постійний контроль параметрів культивування та мікробіологічний контроль. Отримана культуральна рідина титром $1 \cdot 10^9\text{ КУО/см}^3$ спрямовується до ТП 10, а відпрацьовані технологічні відходи та змиви відводять до збірника ЗВ 14.

ТП 9.2 Культивування *Bacillus amyloliquefaciens* QST 713

Процес основного культивування другого штаму здійснюється паралельно у виробничому ферментері зі ступенем заповнення 0,6. Матеріальними потоками на вході є поживне середовище від ДР 5.6 та інокулят від стадії ТП 8.2. Для гасіння піни в систему подається стерильний відфільтрований пропінол Б400. Параметри технологічного режиму становлять: температура $T = 28-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ протягом часу 48 год, частотою обертання турбінної мішалки $n = 200\text{ об/хв}$, $\text{pH} = 7,2-7,4$ та питомій аерації середовища $V = 0,6\text{ дм}^3 \cdot \text{O}_2 / \text{дм}^3$. Протягом усього

ДП БІ 21.07.000. ПЗ					Арк.
					93
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата	

процесу здійснюється постійний контроль параметрів культивування та мікробіологічний контроль. Готова культуральна рідина титром $1 \cdot 10^9$ КУО/см³ транспортується до апарата ТП 10, а рідкі відходи скидаються у збірник ЗВ 14.

ТП 9.3 Культивування *Bacillus megaterium* QM B1551

Стадія призначена для промислового накопичення біомаси третього робочого штаму і реалізується у виробничому ферментері за коефіцієнта заповнення 0,6. До апарата спрямовують рідке ПС від ДР 5.6 та посівний матеріал від інокулятора ТП 8.3. У процесі ферментації до системи дозують відфільтрований стерильний піногасник пропінол Б400. Параметри технологічного режиму становлять: температура $T = 28\text{--}30$ °С протягом часу 48 год, частотою обертання турбінної мішалки $n = 200$ об/хв, $pH = 7,2\text{--}7,4$ та питомій аерації середовища $V = 0,6$ дм³·О₂/дм³. Протягом усього процесу здійснюється постійний контроль параметрів культивування та мікробіологічний контроль. Культуральна рідина титром $1 \cdot 10^9$ КУО/см³ передається до центрифуги ТП 10, а рідкі відходи відводять до збірника ЗВ 14.

ТП 10 Центрифугування

На даний етап надходить суміш культуральних рідин трьох бактеріальних штамів від стадії ТП 9, яка змішується у трубопроводі у співвідношенні 1:1:1. Процес розділення фаз та концентрування біомаси реалізується на центрифугі при частоті обертання ротора $n = 5000$ об/хв. Для очищення клітин від залишків поживного середовища та продуктів метаболізму безпосередньо в процесі сепарації здійснюється промивка дистильованою водою. Основними параметрами контролю є швидкість обертання центрифуги. Отримана концентрована суспензія бактерій спрямовується до наступного блока ТП 11.1, а фугат та промивні води як рідкі відходи відводяться до збірника ЗВ 14.

ТП 11 Виготовлення готового препарату

ТП 11.1 Змішування з буферним розчином

На цій стадії розпочинається процес виготовлення рідкої форми готового препарату. До реактора-змішувача, обладнаного лопатевою мішалкою, подається концентрована бактеріальна суспензія від стадії ТП 10 та фосфатно-

					ДП БІ 21.07.000. ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		94

сольовий буферний розчин від блоку 11.6.2. Перемішування компонентів здійснюється протягом 15–20 хв при частоті обертання лопатей мішалки $n = 80$ об/хв. На цьому етапі біомаса розводиться буфером до досягнення стандартизованого титру

клітин $1 \cdot 10^9$ КУО/см³ у кінцевому продукті. Контролюється частота обертання та титр шляхом спектрофотометрії. Отримана стабілізована суспензія передається до наступного апарата ТП 11.2, а технологічні промивні відходи відводяться до збірника ЗВ 14.

ТП 11.2. Змішування з додатковими компонентами.

Відбувається змішування з додатковими компонентами. До реактора-змішувача з лопатевою мішалкою послідовно дозують суспензію бактерій від ТП 11.1, розчин полівінілпіролідону від ДР 11.7.2, розчин натрій-карбоксиметилцелюлози від ДР 11.8.2 та розчин гліцерину від ДР 11.9.2. З огляду на необхідність забезпечення заданого складу, розрахунок потоків виконують таким чином, щоб кінцева масова частка допоміжних речовин у готовому препараті становила: ПВП – 1,5 %, КМЦ – 1 % та гліцерину – 2 %. Гомогенізація суміші триває здійснюється протягом 15–20 хв при частоті обертання лопатей мішалки $n = 80$ об/хв. Проводиться визначення титру та визначення відсоткового вмісту додаткових компонентів у суміші. Готовий комбінований біопрепарат спрямовується на стадію розливу до ПМВ 12.1, а залишки розчинів та промивні води лінії скидаються у збірник ЗВ 14.

ПМВ 12 Пакування, маркування, відвантаження

ПМВ 12.1 Розлив у пляшки

Відбувається фасування готової рідкої форми біопрепарату на розливочному апараті. До розливочного автомата надходить стандартизований комбінований препарат від стадії ТП 11.2, а також підготовлена полімерна тара від стадії ДР 4.2. Дозування продукту здійснюється автоматично у пляшки об'ємом $V = 1$ дм³. Головним параметром контролю на етапі виступає маса наповнених флаконів. Наповнена тара передається на наступну стадію

					<i>ДП БІ 21.07.000. ПЗ</i>	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		95

закупорювання ПМВ 12.2, а можливі технологічні втрати препарату (проливи) та бракована тара як відходи відводяться до збірника ЗВ 14.

ПМВ 12.2 Запаювання

Відбувається герметизація пляшки для запобігання протікання та збереження властивостей продукту. Наповнені пляшки з попереднього етапу проходять стадію герметизації, яка реалізується за допомогою індукційного паяльника для тари. Процес термічного зварювання захисної мембрани (фольги) на горловині пляшки здійснюється за робочої температури термоелемента $T = 250\text{ }^{\circ}\text{C}$. Запечатана тара спрямовується до блоку контролю ПМВ 12.3, а відходи, що утворюються внаслідок відбракування незапаяної тари, скидаються у збірник ЗВ 14.

ПМВ 12.3 Перевірка герметичності

На цій стадії відбувається візуальний контроль на герметичність упаковки для комфортного транспортування. Флакони, що надходять від стадії ПМВ 12.2, проходять механічний на цілісність індукційного шва та закрутки. Цілісна тара з продуктом, транспортуються до блоку маркування ПМВ 12.4. Браковані та розгерметизовані флакони вилучаються з лінії та направляються як відходи до збірника ЗВ 14.

ПМВ 12.4 Маркування та поклейка етикеток

На тару наноситься необхідна інформація про продукт. До автомата маркування подаються перевірені пляшки від ПМВ 12.3 та готові паперові чи полімерні етикетки зі складу. На стадії виконується нанесення маркування (номер партії, дата виготовлення) та фіксація етикетки на корпусі пляшки. Готовий продукт відправляється на пакування в коробки до ПМВ 12.5, а відходи у вигляді паперового чи клейового браку, а також пошкоджених етикеток відводяться до збірника ЗВ 14.

ПМВ 12.5 Пакування в коробки

До пакувального автомата надходять промарковані пляшки з попереднього блоку та картонні коробки зі складу. Технологічний режим передбачає укладання пляшок у кількості $n = 12$ шт. в одну картонну коробку.

					<i>ДП БІ 21.07.000. ПЗ</i>	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		96

Заповнені та заклієні коробки транспортуються на склад готової продукції, а утворені відходи (деформований картон, паперовий брак) відводяться до збірника ЗВ 14.

ПВ 13 Переробка відходів

Стадія призначена для регенерації допоміжних матеріалів з метою їх повторного залучення у виробництво (організація маловідходного виробництва).

На стадію надходять забруднені фільтрувальні елементи та промивна вода. У процесі технологічної обробки здійснюється очищення, дезінфекція та відновлення початкових властивостей матеріалів. Основними параметрами контролю є маса та хіміко-біологічні показники. Регеновані фільтри повертаються на допоміжні стадії ДР 2 та ДР 3, а залишковий концентрований шлам та невикористана рідка фаза як відходи спрямовуються до збірника ЗВ 14.

ЗВ 14 Знешкодження відходів

ЗВ 14.1 Знешкодження фугату

Бактеріальний фугат є токсичним, тому його не дозволяється зливати у загальну каналізацію. До ємності-нейтралізатора надходить відпрацьований фугат від стадії ТП 10, а як дезінфікуючий агент використовується хлорамін-Б зі складу. Хімічне знешкодження ведеться при суворому контролі масових співвідношень та концентрацій активних речовин. Після завершення експозиції та повної інактивації живих клітин бактерій штамів-продуцентів розчин скидається до загальнозаводської каналізації.

ЗВ 14.2 Знешкодження рідких відходів

Відпрацьовані миючі та дезінфікуючі розчини, а також промисловий конденсат проходять процес нейтралізації хімічними засобами відповідно до їхнього складу, процес відбувається до встановлення $\text{pH} = 7$. Нейтралізовані та знезаражені рідкі відходи виводяться до каналізації.

ЗВ 14.3 Знешкодження твердих відходів

Блок призначений для сортування та первинної обробки неліквідних твердих залишків виробництва. На стадію надходять тверді відходи та

					<i>ДП БІ 21.07.000. ПЗ</i>	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		97

відпрацьований лабораторний або технологічний посуд. Тверді побутові та виробничі відходи після знезараження транспортуються на сміттєзвалище, а відпрацьований посуд передається до спеціалізованих установ на утилізацію.

ЗВ 14.4 Знешкодження відпрацьованого повітря

Цей блок забезпечує очищення газових викидів ферментаційного цеху для запобігання потраплянню аерозолів робочих штамів у навколишнє середовище.

Сюди подається відпрацьоване повітря з ферментерів та інокуляторів, яке пропускається крізь систему фільтрів з рівнем очищення повітря $E = 90 \%$. Очищене повітря викидається в атмосферу.

ЗВ 14.5 Знешкодження біоматеріалу

На даному етапі відбувається знезараження а утилізація контамінованих матеріалів та використаного посуду чи поживного середовища. До автоклава завантажуються контамінований біологічний матеріал. Стерилізація відбувається за режимів $T=121\text{ }^{\circ}\text{C}$, тиску 0,2 МПа та протягом 30 хв. Рідкі відходи у каналізацію а тверді до спецзакладів чи у смітник.

					<i>ДП БІ 21.07.000. ПЗ</i>	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		98

РОЗДІЛ 4. ПІДБІР ТА ХАРАКТЕРИСТИКА ОБЛАДНАННЯ

4.1 Вибір конструкції ферментеру для вирощування бактерій

Ферментери є необхідною складовою для культивування мікроорганізмів в промислових масштабах. Правильний та раціональний вибір апарату відіграє важливу роль, адже його робота напряду визначає техніко-економічні показники всього мікробіологічного виробництва. Ферментери використовують для культивування як анаеробних так і аеробних організмів. При його виборі враховують показники для оцінки ефективності роботи, а саме: питома продуктивність по продукту, питомі енерговитрати на одержання продукту.

Ферментери для аеробного культивування розділяють саме за типом підведення енергії:

1. Ферментери з введенням енергії аераційним газом

Це група апаратів, у якій енергія подається найбільш простим та розповсюдженим аераційним способом, та активно використовується для отримання мікробної біомаси у асептичних та умовно асептичних типах біосинтезу. Подача повітря здійснюється безпосередньо у рідку фазу середовища барботером або іншими аеруючими пристроями(дифузори, форсунки). Виразними перевагами цього типу біореактора є простота конструкції, відсутності рухових елементів та простоті керування, яке обумовлює високу експлуатаційну надійність. Щодо недоліків, використання самих лише барботерів є не зовсім ефективне для процесу аерації середовища у великих об'ємах, оскільки навіть при дрібному розпилюванні повітря, під час проходженні у товщі середовища воно може збиратися у великі бульбашки, що значно зменшує показник збагачення киснем, також відбувається погане перемішування компонентів середовища.

					<i>ДП БІ 21.07.000. ПЗ</i>		
<i>Зм.</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>			
	<i>Розроб.</i>	<i>Петрівський М. Д.</i>			<i>ПІДБІР ТА ХАРАКТЕРИСТИКА ОБЛАДНАННЯ</i>		
	<i>Конс.</i>						
	<i>Керівн.</i>	<i>Остапенко Ж. І.</i>					
	<i>Затв.</i>	<i>Мельник В. М.</i>					
						<i>Стадія</i>	<i>Арк.</i>
						<i>Д</i>	<i>99</i>
						<i>Аркуші</i>	
						<i>136</i>	
						<i>КПІ ім. Ігоря Сікорського</i>	
						<i>Каф. БТІ</i>	
						<i>Гр. БІ-21</i>	

Для вирішення усіх цих проблем необхідно збільшувати витрату повітря, що не є економічно вигідно.

2. Ферментери з введенням енергії рідкою фазою

Представляють собою найбільш складні та енергоємні ферментери у порівнянні з тими, що мають введення енергії аераційним газом, проте мають більше значення коефіцієнта масопередачі кисню. У даних апаратах введення кисню відбувається з допомогою рідкої фази, зазвичай самовсмоктуючими мішалками або насосами. У другому випадку рідина вводиться в апарат через спеціальні пристрої (сопло, ежектор, диспергатор).

Ці апарати також можна поділити на ряд типів

– Ферментери з самовсмоктуючими мішалками;

Не вимагають спеціальних повітродувних машин, оскільки подача в них повітря відбувається в результаті розрідження в повітряній камері мішалки, яка з'єднана повітропроводом і рідиною, яка відкидається лопатями мішалки. Перевагою такого типу є те що рідина постійно циркулює та збагачується киснем. Недоліком є складність в проєктуванні та обслуговування.

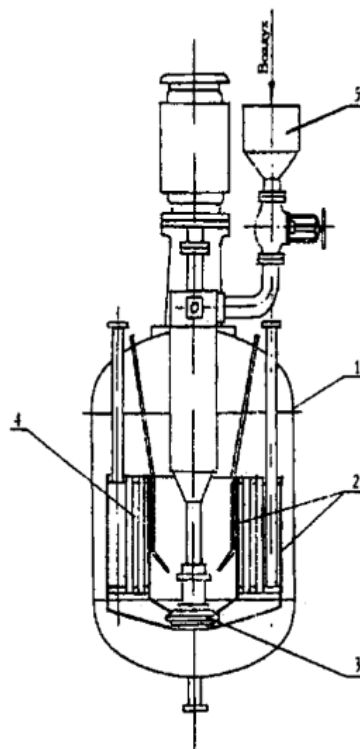


Рисунок 2 – Ферментер з самовсмоктувальною мішалкою безперервної дії
1-корпус; 2-дифузор; 3-самовсмоктувальна мішалка; 4-теплообмінник; 5-фільтр.

– Ежекційні ферментери;

Відбувається рециркуляція газової фази, що економить субстрат, проте потрібна наявність спеціальних насосів для перекачування газовмісного культурального середовища. Застосування ежекційного введення газових субстратів у ферментер інтенсифікує масообмін кисню на порядок вище;

– Струменеві ферментери (із зануреним або падаючим струменем);

Ці ферментери оснащені потужними насосами, які відбирають культуральну рідину з нижньої частини апарата та спрямовують її через напірний трубопровід до аеруючого пристрою. Там струмінь рідини під тиском вільно падає згори, проходячи через рідину, що аерується, і досягає днища апарата. Основною перевагою цього типу є ефективне перемішування культуральної рідини. Однак їхніми недоліками є значні енерговитрати на перекачування рідини та складність у проєктуванні [34].

3. Ферментери з комбінованим введенням енергії

Даний тип апаратів є найбільш поширеним та широко використовується у промисловому вирощуванні аеробних біологічних агентів. Цей різновид ферментерів найбільше підходить для процесу накопичення біомаси. Для виробництва використовують ферментери з механічним перемішуючим пристроєм та барботерами. В таких апаратах може бути створений будь-який оптимальний для обраного продуцента гідродинамічний режим за рахунок зміни швидкості обертання мішалки, швидкості циркуляції рідини, яку перекачує насос або зміни швидкості руху газової фази. Мішалка є основним елементом цього біореактору, яка забезпечує високу інтенсивність транспорту кисню та високий рівень диспергації газової фази нерозчинних субстратів та забезпечує гомогенність фаз, що взаємодіють. До цієї групи апаратів належать ферментери, в яких енергія вводиться у рідку фазу одночасно перемішувальним пристроєм і насосом або тільки насосом. В свою чергу енергія газової фази доставляється звичайним чином – через аераційні пристрої відомих конструкцій (барботери).

Корпус апарата- циліндричний з еліптичними днищем і привареною кришкою. Мішалка турбінна відкритого типу, що знаходиться на валу, який приєднаний муфтами до редуктора із сальником. Кожний ярус мішалки є диском, до якого приварено 6 лопатей. Для більшої турбулізації рідини та для запобігання руху рідини по колу з утворенням воронки, по периферії внутрішньої стінки корпусу розташовані 4 відбійні перегородки.

Повітря в живильне середовище надходить за допомогою барботера, що знаходиться під мішалкою. Барботер є кільцевим трубопроводом діаметром. У цьому кільці розташовуються отвори діаметром від 2 мм до 5 мм, з кроком не менше 10 мм у декілька рядів. Для теплообміну в ферментері розташовується секціонована сорочка. У ферментері використовується верхній привід мішалки з електродвигуном.

Ферментер оснащений штуцерами для вводу та виходу теплоносіїв в сорочку, для зняття показників середовища всередині апарату(для термометра, манометра, рН метра), для подачі поживного середовища, посівного матеріалу, подачу та виходу повітря та 2 резервні, а також для зливу культурального середовища на дні [34].

Ферментери з комбінованим введенням енергії обладнані багатоярусними мішалками, для ефективного перемішування культуральної рідини. Через барботери різної конструкції в установку подається повітря для рівномірної аерації. Промислове використання орієнтоване на проведення асептичного біосинтезу. Ще однією виразною перевагою даного типу ферментера є те, що за необхідності в типовому корпусі можлива установка додаткових пристроїв – дифузорів, центральних або периферійних аераторів, різних конструкцій піногасників (вмонтовані, виносні), секціонування за допомогою тарілок різних конструкцій.

Підтримання необхідного рівня асептики під час біосинтезу залежить від ефективності герметизації ферментера. Найбільш уразливим місцем у ферментерах із комбінованим введенням енергії є зона входу валу мішалки. Для забезпечення стерильності в таких системах застосовують торцеві ущільнення

					<i>ДП БІ 21.07.000. ПЗ</i>	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		102

з, які відіграють ключову роль у герметизації обертових валів. Вони є обов'язковим елементом ферментерів, що працюють в асептичних умовах.

Корпус ущільнення оснащений сорочкою, через яку подається пара для стерилізації. Під час експлуатації торцевого ущільнення необхідна циркуляція запірної рідини (зазвичай масла). Це забезпечується природною циркуляцією масла, у якій беруть участь теплообмінник і масляний фільтр [35].

Для виготовлення складників апарату використовується нержавіюча сталь марки 2Х18Н10Т, яка добре підходить для використання в харчовій, хімічній та фармацевтичній промисловостях за рахунок своїх антикорозійних властивостей, міцності та пластичності. Для опор використовується сталь Ст3сп4, для того щоб витримувати навантаження в 50 тонн [34].

4.2 Розрахунок ферментера

Вихідні дані:

- об'єм апарату $V = 5 \text{ м}^3$;
- ступінь заповнення $\varphi = 0,6$;
- температура в апараті $t_c = 30 \text{ }^\circ\text{C}$;
- початкова температура $t'_b = 21 \text{ }^\circ\text{C}$;
- кінцева температура води $t''_b = 25 \text{ }^\circ\text{C}$;
- холодний теплоносіє – вода

Теплофізичні показники робочого середовища:

- концентрація $CP = 1,67 \%$
- густина $\rho_p = 1000,6 \text{ кг/м}^3$
- теплоємність $c_p = 4080,98 \text{ Дж/(кг}\cdot\text{K)}$
- динамічна в'язкість $\mu_p = 0,94 \cdot 10^{-3} \text{ Па}\cdot\text{с}$
- коефіцієнт теплопровідності $\lambda_p = 0,588 \text{ Вт/(м}\cdot\text{K)}$
- критерій Прандтля $Pr_p = 6,52$

Витрата повітря $W_\Gamma = 0,1 \text{ м}^3/\text{с}$

Густина повітря $\rho_\Pi = 1,147 \text{ кг/м}^3$

Питома швидкість поглинання кисню $q_{VC} = 1,2 \cdot 10^{-4} \text{ кг/(м}^3 \cdot \text{с)}$

					ДП БІ 21.07.000. ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		103

- Число Прантля Pr

$$Pr = \frac{\nu \cdot \rho \cdot c}{\lambda} = \frac{0,939 \cdot 10^{-6} \cdot 1000,6 \cdot 4080,98}{0,588} = 6,52$$

$$\nu = \frac{\mu}{\rho} = \frac{0,94 \cdot 10^{-3}}{1000,6} = 0,939 \cdot 10^{-6}$$

4.2.1 Конструктивний розрахунок апарату

Робочий об'єм ферментеру розраховуємо за формулою :

$$V_p = V_n \cdot \varphi = 5 \cdot 0,6 = 3 \text{ м}^3$$

Приймаємо розмір внутрішнього діаметра ферментеру: $D_{вн} = 1800 \text{ мм}$, $H = 2230 \text{ мм}$

Об'єм циліндричної частини апарату:

$$V_{ц} = V_n - 2 \cdot V_{дн} = 5 - 2 \cdot 888,7 \cdot 10^{-3} = 3,2226 \text{ м}^3$$

Висота циліндричної частини апарату:

$$H_{ц} = \frac{4 \cdot V_{ц}}{\pi \cdot D^2} = \frac{4 \cdot 3,2226}{\pi \cdot 1,8^2} = 1,2664 \text{ м}$$

Висота днища

$$H_{дн} = 0,25 \cdot D = 0,25 \cdot 1800 = 450 \text{ мм}$$

Висота корпусу апарату:

$$H_a = H_{ц} + 2 \cdot H_{дн} = 1,2664 + 2 \cdot 0,45 = 2,1664 \text{ м}$$

4.2.2 Розрахунок потужності перемішування

Тиск на вході становить:

$$P_n = P + \rho_p \cdot g \cdot H_p = 1,01 \cdot 10^5 + 9,81 \cdot 1,3 \cdot 1000,6 = 113760,65 \text{ Па}$$

$$H_p = H_a \cdot 0,6 = 2,1664 \cdot 0,6 = 1,3 \text{ м}$$

Масова частка кисню на виході з ферментеру визначається за формулою:

$$y_k = \frac{W_{гп} y_n - q_{VC} V_p}{W_{гп} - q_{VC} V_p} = \frac{0,1 \cdot 1,147 \cdot 0,232 - 1,2 \cdot 10^{-4} \cdot 3}{0,1 \cdot 1,147 - 1,2 \cdot 10^{-4} \cdot 3} = 0,229$$

Де $y_n = 0,232$ - масова частка кисню в атмосферному повітрі.

Використовуючи знайдені значення у і Р, розрахуємо рівноважні концентрації кисню на вході і виході з ферментера:

$$C_p^n = \frac{\rho_{\text{ж}} M_{\text{Г}} P_{\text{н}} y_{\text{н}}}{M_p m_{\text{рх}}} = \frac{1000,6 \cdot 32 \cdot 1,14 \cdot 10^5 \cdot 0,232}{34,03 \cdot 5,13 \cdot 10^9} = 4,85 \cdot 10^{-3} \text{ кг/м}^3$$

$$C_p^{\text{к}} = \frac{\rho_{\text{ж}} M_{\text{Г}} P_{\text{к}} y_{\text{к}}}{M_p m_{\text{рх}}} = \frac{1000,6 \cdot 32 \cdot 1,14 \cdot 10^5 \cdot 0,229}{34,03 \cdot 5,13 \cdot 10^9} = 4,8 \cdot 10^{-3} \text{ кг/м}^3$$

Де $M_{\text{Г}} = 32$ – молекулярна маса кисню; $M_p = 34,03$ – молекулярна маса рідини; $m_{\text{рх}} = 5,13 \cdot 10^9$ Па – константа фазової рівноваги, що встановлює зв'язок між парціальним тиском кисню в повітрі та його концентрацією в рідкій фазі.

Рівноважна концентрація для системи рідина-повітря:

$$C_p = \frac{C_p^n + C_p^{\text{к}}}{2} = \frac{4,85 \cdot 10^{-3} + 4,75 \cdot 10^{-3}}{2} = 4,825 \cdot 10^{-3} \text{ кг/м}^3$$

Поточну концентрація кисню, який розчинений у рідині, в процесі культивування при повному перемішуванні в усіх точках ферментера знаходимо з рівняння:

$$C = 0,1 \cdot C_p = 4,825 \cdot 10^{-3} \cdot 0,1 = 4,825 \cdot 10^{-4} \text{ кг/м}^3$$

Різниця концентрацій на вході повітря у ферментер:

$$\Delta C_{\text{б}} = C_p^n - C = 4,85 \cdot 10^{-3} - 4,825 \cdot 10^{-4} = 4,37 \cdot 10^{-3} \text{ кг/м}^3$$

Різниця концентрацій на виході повітря з ферментера:

$$\Delta C_{\text{м}} = C_p^{\text{к}} - C = 4,8 \cdot 10^{-3} - 4,825 \cdot 10^{-4} = 4,32 \cdot 10^{-3} \text{ кг/м}^3$$

Середня різниця концентрацій:

$$\Delta C_{\text{ср}} = \frac{\Delta C_{\text{б}} - \Delta C_{\text{м}}}{\ln \frac{\Delta C_{\text{б}}}{\Delta C_{\text{м}}}} = \frac{4,37 \cdot 10^{-3} - 4,32 \cdot 10^{-3}}{\ln \frac{4,37 \cdot 10^{-3}}{4,32 \cdot 10^{-3}}} = 4,35 \cdot 10^{-3} \text{ кг/м}^3$$

Об'ємний коефіцієнт масопередачі:

$$K_V = \frac{q_{Vc}}{\Delta C_{\text{ср}}} = \frac{1,2 \cdot 10^{-3}}{4,35 \cdot 10^{-3}} = 0,28 \text{ с}^{-1}$$

Приведена швидкість повітря, віднесена до поперечного перерізу ферментера:

$$\omega = \frac{4 \cdot W_{\text{Г}}}{\pi \cdot D^2} = \frac{4 \cdot 0,1}{\pi \cdot 1,8^2} = 0,0393 \text{ с}^{-1}$$

Для знаходження відносного газовмісту ϕ приймемо значення питомої потужності $N_v = 3,8 \text{ кВт/м}^3$:

$$\phi = \left(\frac{\omega}{\omega_0} \cdot \phi \right)^{0,5} + 3,42 \times 10^{-2} \frac{N_v^{0,4} \cdot \rho_p^{0,2}}{\sigma_p^{0,6}} \left(\frac{\omega}{\omega_0} \right)^{0,5} =$$

$$= \left(\frac{0,0393}{0,25} \cdot \phi \right)^{0,5} + 3,42 \times 10^{-2} \frac{3,8^{0,4} \cdot 1000,6^{0,2}}{(69,06 \cdot 10^{-3})^{0,6}} \left(\frac{0,0197}{0,25} \right)^{0,5}$$

Де ω_0 - швидкість вільного підйому бульбашок газу ($\omega_0 = 0,25 \text{ м/с}$); σ_p - поверхневий натяг рідини ($\sigma_p = 6,906 \cdot 10^{-2} \text{ Н/м}$)

$$\phi = 0,397 \cdot \phi^{0,5} + 0,456, \text{ звідки } \phi = 0,814$$

$$N_v = \left(\frac{K_v}{0,171 \cdot \phi^{0,67}} \right)^{\frac{1}{0,44}} = \left(\frac{0,28}{0,171 \cdot 0,814^{0,67}} \right)^{\frac{1}{0,44}} = 3,86 \frac{\text{кВт}}{\text{м}^3}$$

Так як отримане значення мало відрізняється від прийнятого, тому в подальших уточненнях немає необхідності.

4.2.3 Розрахунок перемішуючого пристрою

Для інтенсивного перемішування рекомендовано використовувати один перемішуючий пристрій на кожні 20 м^3 , тому обираємо одну турбіну мішалку.

Обираємо зі стандартного ряду частоту обертання мішалки $n = 3,33 \text{ с}^{-1}$.

Приймаємо попередньо значення критерія Ейлера для мішалки Eu_m рівним такому для відкритої турбінної мішалки з параметрами: $\Gamma_{D_0} = \Gamma_{H_0} = 3$; $\Gamma_{n_0} = 1$; $\Gamma_{v_0} = 0,2$; $Eu_m = 6$.

Потужність перемішування газорідинної системи:

$$N_{p-\Gamma} = N_v \cdot V_p = 3,8 \cdot 3 = 11,4 \text{ кВт}$$

Знаходимо діаметр мішалки:

$$d_m = \left[\frac{N_{p-\Gamma} \cdot W_\Gamma^{0,25}}{0,695 \cdot (Eu_m \cdot \rho_p)^{0,9} \cdot n^{3,15}} \right]^{\frac{1}{5,85}} = \left[\frac{11,4 \cdot 10^3 \cdot 0,1^{0,25}}{0,695 \cdot (6 \cdot 1000,6)^{0,9} \cdot 3,33^{3,15}} \right]^{\frac{1}{5,85}}$$

$$= 0,65 \text{ м}$$

Приймаємо $d_m = 630 \text{ мм}$; $h_1 = 3,15 \text{ мм}$; $S = 8 \text{ мм}$.

Уточнюємо значення Eu_m :

Симплекси геометричної подібності:

$$\Gamma_D = \frac{D}{d_M} = \frac{1,8}{0,63} = 2,86$$

$$\Gamma_H = \frac{H_a}{d_M} = \frac{2,17}{0,63} = 3,4$$

$$\Gamma_B = \frac{0,1 \cdot D}{d_M} = \frac{0,1 \cdot 1,8}{0,63} = 0,29$$

$Eu_{M0} = 6$ – критерій Ейлера для експериментальної мішалки.

$$Eu_M = Eu_{M0} \left(\frac{\Gamma_D}{\Gamma_{D0}} \right)^{-0,33} \left(\frac{\Gamma_H}{\Gamma_{H0}} \right)^{0,5} \left(\frac{\Gamma_B}{\Gamma_{B0}} \right)^{0,3} = 6 \left(\frac{2,86}{3} \right)^{-0,33} \left(\frac{3,4}{3} \right)^{0,5} \left(\frac{0,29}{0,2} \right)^{0,3} = 7,25$$

Уточнюємо діаметр мішалки:

$$d_M = \left[\frac{11,4 \cdot 10^3 \cdot 0,1^{0,25}}{0,695 \cdot (7,25 \cdot 1000,6)^{0,9} \cdot 3,33^{3,15}} \right]^{\frac{1}{5,85}} = 0,635 \text{ м}$$

Залишаємо параметри мішалки як є.

Коефіцієнт опору для турбінної мішалки $\xi_M = 8,4$.

Центробіжний критерій Рейнольдса при перемішуванні

$$Re_{цб} = \frac{nd_M^2 \rho_p}{\mu} = \frac{3,33 \cdot 0,63^2 \cdot 1000,6}{0,94 \cdot 10^{-3}} = 1,41 \cdot 10^6$$

4.2.4 Розрахунок воронки

Розраховуємо глибину воронки, щоб визначити необхідність встановлення перегородок[44].

$$\Gamma = 8 \frac{H_p}{D} + 1 = 8 \frac{1,3}{1,8} + 1 = 6,7$$

$$E = \frac{\Gamma}{\xi_M z Re_{цб}^{0,25}} = \frac{6,7}{0,85 \cdot 1 \cdot (1,41 \cdot 10^6)^{0,25}} = 0,229$$

де z – кількість мішалок на одному валу, приймаємо $z = 1$.

За значенням параметру E знаходимо з графіку 2.1 [9] значення параметру $\psi = -1$.

При цьому значенні E і G та ψ за рисунком 2.5 [9] знаходимо коефіцієнт пропорційності (ведемо до лінії):

$$B=10$$

Глибину воронки в посудині без перегородок знайдемо по формулі:

$$h_{\text{в}} = \frac{Bn^2 d_{\text{м}}^2}{2} = \frac{10 \cdot 3,33^2 \cdot 0,63^2}{2} = 22,4 \text{ м}$$

Гранично допустима глибина воронки визначається формулі:

$$h'_{\text{пр}} = H_{\text{р}} - h = 1,3 - 0,2 = 1,1 \text{ м}$$

де $H_{\text{р}}$, м – висота рідини в апараті. Обирається в залежності від коефіцієнту заповнення з таблиці 2.

Розрахункове значення глибини воронки більше за допустиме значення глибини воронки ($h'_{\text{пр}} < h_{\text{в}}$), що говорить про необхідність встановлення відбиваючих перегородок у апараті. Тому встановлюємо чотири перегородки.

Ширина перегородок визначається за формулою:

$$b = 0,1 \cdot 0,63 = 0,063 \text{ м} = 63 \text{ мм}$$

Коефіцієнт опору для турбінної мішалки $\xi_{\text{м}}=8,4$ м

$$\theta = \frac{2 \cdot \Gamma_D \cdot z_n \cdot H}{\xi_{\text{м}} \cdot D \cdot z_{\text{м}}} \cdot \ln \frac{D}{D - 2b} = \frac{2 \cdot 2,86 \cdot 4 \cdot 2,1664}{8,4 \cdot 1,8 \cdot 1} \cdot \ln \frac{1,8}{1,8 - 2 \cdot 0,126} = 0,49$$

де Γ_D ; b - параметри мішалки ($\Gamma_D = 2,86$; $b = 0,126$ м)

z_n - кількість відбиваючих перегородок (4);

$z_{\text{м}}$ - кількість мішалок ($z_{\text{м}} = 1$).

Приймаємо коефіцієнт $K_{\text{м}} = 0,1$.

Знову уточнюємо значення $Eu_{\text{м}}$:

$$Eu_{\text{м}} = 4 \cdot \xi_{\text{м}} \cdot z_{\text{м}} \cdot K_{\text{м}} = 4 \cdot 8,4 \cdot 4 \cdot 0,1 = 13,44$$

Приймаємо це значення для подальших розрахунків.

Уточнюємо потужність перемішування газорідинної системи:

$$N_{\text{р-г}} = 0,695 \cdot \frac{(Eu_{\text{м}} \cdot \rho_{\text{р}})^{0,9} \cdot n^{3,15} \cdot d_{\text{м}}^{5,85}}{W_{\text{г}}^{0,25}} =$$

					ДП БІ 21.07.000. ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

$$= 0,695 \cdot \frac{(13,44 \cdot 1000,6)^{0,9} \cdot 3,33^{3,15} \cdot 0,63^{5,85}}{0,1^{0,25}} = 19,04 \text{ кВт}$$

Питома потужність перемішування газорідинної системи:

$$N_V = \frac{N_{p-r}}{V_p} = \frac{19,04 \cdot 10^3}{3} = 6,35 \frac{\text{кВт}}{\text{м}^3}$$

Порівнюємо раніше отримане значення N_V :

$$6,35 > 3,8$$

таким чином мішалка забезпечить необхідну швидкість масообміну.

Номинальна потужність електродвигуна приводу з урахуванням ККД редуктора ($\eta = 0,9$):

$$N_e = \frac{N_{p-r}}{\eta} = \frac{19,04 \cdot 10^3}{0,9} = 21,16 \text{ кВт}$$

4.2.5 Розрахунок насосу

Насос необхідний на початку процесу ферментації для завантаження поживного середовища до ємності апарату. Об'єм поживного середовища складає:

$$V_c = 0,9 \cdot V_p = 0,9 \cdot 3 \text{ м}^3 = 2,7 \text{ м}^3$$

Припустимо, що час заповнення ферментеру - 30 хв, тоді витрата рідини:

$$U = \frac{V_c}{t} = \frac{2,7}{30 \cdot 60} = 0,0015 \text{ м}^3/\text{с}$$

Середовище подається насосом на висоту заливного штуцера в кришці, а також він має подолати гідравлічний опір труб та поворотів напрямку руху рідин, так що потужність, що витрачається на перекачування рідини, розраховується за наступною формулою:

$$N_p = U \cdot g \cdot \rho_c \cdot H = 0,0015 \cdot 9,81 \cdot 1000,6 \cdot 10 = 147,24 \text{ Вт}$$

Звідки

$$H = \left(\frac{\Delta P}{\rho g} + H_2 + h_{\text{вт}} \right)$$

					ДП БІ 21.07.000. ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		109

ΔP -різниця тисків між апаратами з якого перекачують і тим в який перекачують, приймаємо $\Delta P = P_n - P = 1,14 - 1,01 = 0,13 \text{ МПа}$

ρ -густина середовища, кг/м^3

H_2 -висота заповнення рідиною, м

$h_{\text{вт}}$ -сумарні витрати напору по лініям, м

Приймаємо сумарні втрати напору по лініям як 10%, тоді формула матиме наступний вигляд:

$$H = 0,11 \left(\frac{\Delta P}{\rho g} + H_2 \right) = 0,11 \left(\frac{0,13 \cdot 10^6}{1000,6 \cdot 9,81} + 1,3 \right) = 1,6 \text{ м}$$

З урахуванням трубопроводів, колін та висоти апарату, приймаємо 10 м

Потужність електродвигуна:

$$N_e = \frac{N_p}{\eta \cdot \eta_{\text{пер}}} = \frac{147,24 \text{ Вт}}{0,7 \cdot 1} = 219,34 \text{ Вт}$$

Де η для відцентрового насоса = 0,7, а $\eta_{\text{пер}}$, який безпосередньо сполучений з валом електродвигуна, дорівнює приблизно 1[35].

Прийmemo потужність електродвигуна 0,25 кВт. Тоді для насосу необхідний буде трьохфазний асинхронний електродвигун закритого типу з короткозамкненим простором M2AA 90 S 3GAA 092 001, з напругою на 230 В з частотою 50 Гц. Обирається насос відцентровий 0.25 кВт Hmax 17м Qmax 80л/хв LEO (Aquatica) 775260.

4.2.6 Тепловий розрахунок

Рівняння теплового балансу ферментера з перемішуючим пристроєм і барботером:

$$q_1 + q_2 + q_3 + q_4 = q_5 + q_6 + q_7 + q_8;$$

q_1 – кількість теплоти, що вноситься із середовищем:

$$q_1 = G_p \cdot c_p \cdot t_{\text{п.с.}} = V_p \cdot \rho_p \cdot c_p \cdot t_{\text{п.с.}} = 3 \cdot 1000,6 \cdot 4080,98 \cdot 30 = 2,6 \cdot 10^8 \text{ Дж}$$

q_2 - кількість теплоти, що надходить за рахунок дисипації механічної енергії перемішуючого пристрою:

					ДП БІ 21.07.000. ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		110

$$q_2 = N_e \cdot \tau = 21,16 \cdot 10^3 \cdot 48 \cdot 3600 = 3,66 \cdot 10^9 \text{ Дж}$$

q_3 - кількість теплоти, що надходить за рахунок дисипації від тертя повітря:

$$q_3 = W_r \cdot \rho_{\text{п.с.}} \cdot g \cdot V_p \cdot \tau = 0,1 \cdot 1000,6 \cdot 9,81 \cdot 3 \cdot 48 \cdot 3600 = 5,09 \cdot 10^8 \text{ Дж}$$

q_4 - кількість теплоти, що надходить від процесу біосинтезу(враховуючи, що виділяється 870 МДж на 1 м³ субстрату):

$$q_4 = V_p \cdot 870 \cdot 10^6 = 3 \cdot 870 \cdot 10^6 = 2,61 \cdot 10^9 \text{ Дж}$$

$$q_{\text{надх.}} = q_1 + q_2 + q_3 + q_4 = 2,6 \cdot 10^8 + 3,66 \cdot 10^9 + 5,09 \cdot 10^8 + 2,61 \cdot 10^9 \\ = 7,04 \cdot 10^9 \text{ Дж}$$

q_5 - кількість теплоти, що відводиться із апарату продуктами біосинтезу:

$$q_5 = q_1 = 2,6 \cdot 10^8 \text{ Дж}$$

q_6 - кількість теплоти, що відводиться з повітрям:

$$q_6 = W_r \cdot \rho_r \cdot t_r \cdot \tau = 0,1 \cdot 1,147 \cdot 35 \cdot 48 \cdot 3600 = 6,94 \cdot 10^5 \text{ Дж}$$

q_7 – втрати в навколишнє середовище:

$$q_7 = 0,1 \cdot q_{\text{надх}} = 0,1 \cdot 4,6 \cdot 10^9 \text{ Дж} = 4,6 \cdot 10^8 \text{ Дж}$$

q_8 - кількість теплоти, що необхідно відводити теплоносієм:

$$q_8 = q_{\text{надх.}} - q_5 - q_6 - q_7 = \\ = 7,04 \cdot 10^9 - 2,6 \cdot 10^8 - 6,94 \cdot 10^5 - 4,6 \cdot 10^8 = 6,32 \cdot 10^9 \text{ Дж}$$

$$\text{Або } Q = \frac{q_8}{\tau} = \frac{6,32 \cdot 10^9}{48 \cdot 3600} = 36,58 \text{ кВт.}$$

4.2.7 Визначення температурного напору

Знаходимо температурні напори для заданих значень температури середовища у ферментері та значень температур охолоджуючої води на вході та виході:

$$\Delta t_6 = t_p - t_{\text{поч}} = 30 - 21 = 9^\circ\text{C}$$

$$\Delta t_m = t_p - t_{\text{кін}} = 30 - 25 = 5^\circ\text{C}$$

Середній температурний напір:

$$\Delta t_{\text{ср}} = \frac{\Delta t_6 - \Delta t_m}{2,3 \cdot \lg \frac{\Delta t_6}{\Delta t_m}} = \frac{9 - 5}{2,3 \cdot \lg \frac{9}{5}} = 6,81^\circ\text{C}$$

4.2.8 Визначення коефіцієнту теплопередачі від сорочки

Для знаходження коефіцієнту теплопередачі необхідно знайти коефіцієнти тепловіддачі:

α_1 – від рідини у ферментері до стінки ферментера;

α_2 – від стінки ферментера до охолоджуючої води;

Знайдемо температуру стінки:

$$t_{\text{ср}} = \frac{t_{\text{поч}} + t_{\text{кін}}}{2} = \frac{21 + 25}{2} = 23^\circ\text{C}$$

$$t_{\text{ст}} = \frac{t_{\text{реч}} + t_{\text{ср}}}{2} = \frac{30 + 23}{2} = 26,5^\circ\text{C}$$

Розрахуємо критерій Nu для рідини, у ферментері:

$$\begin{aligned} Nu &= 0,76 \cdot \left(\frac{n \cdot d_{\text{м}}^2 \cdot \rho_{\text{р}}}{\mu_{\text{р}}} \right)^{0,67} \cdot Pr_{\text{р}}^{0,33} \cdot \left(\frac{\mu_{\text{р}}}{\mu_{\text{ст}}} \right)^{0,14} \cdot \left(\frac{\Gamma_D}{\Gamma_{D_0}} \right)^{-0,13} \\ &\quad \cdot \left(\frac{\Gamma_H}{\Gamma_{H_0}} \right)^{-0,56} = 0,76 \cdot \left(\frac{1,33 \cdot 1,2^2 \cdot 1000,6}{0,94 \cdot 10^{-3}} \right)^{0,67} \cdot 6,52^{0,33} \\ &\quad \cdot \left(\frac{0,94 \cdot 10^{-3}}{1,018 \cdot 10^{-3}} \right)^{0,14} \cdot \left(\frac{1,5}{3} \right)^{-0,13} \cdot \left(\frac{1,86}{3} \right)^{-0,56} = 28138,07 \end{aligned}$$

Тоді коефіцієнт тепловіддачі α_1 буде рівний:

$$\alpha_1 = \frac{Nu \cdot \lambda_{\text{р}}}{D} = \frac{28138,07 \cdot 0,588}{1,8} = 9191,77 \frac{\text{Вт}}{\text{м}^2 \cdot \text{К}}$$

Знаходимо α_2 :

Охолоджуюча вода протікає по спіральному каналу прямокутного перетину ($n_{\text{сн}} \times b_{\text{сн}} = 0,25 \times 0,05 \text{ м}$), що має площу:

$$f = n_{\text{сн}} \cdot b_{\text{сн}} = 0,25 \cdot 0,05 = 0,0125 \text{ м}^2$$

Та еквівалентний діаметр:

$$d_{\text{екв}} = \frac{4 \cdot f}{\Pi} = \frac{4 \cdot 0,0125}{2 \cdot (0,25 + 0,05)} = 0,083 \text{ м}$$

Задаємося швидкістю води в каналі сорочки:

$$w_{\text{в}} = 0,6 \frac{\text{м}}{\text{с}}$$

Тоді витрати води в сорочці будуть рівні:

$$G_B = w_B \cdot f \cdot \rho_B = 0,6 \cdot 0,0125 \cdot 997,4 = 7,48 \frac{\text{кг}}{\text{с}}$$

При такій швидкості критерій Рейнольдса буде рівний:

$$Re = \frac{w_B \cdot d_{\text{екв}} \cdot \rho_B}{\mu_B} = \frac{0,6 \cdot 0,083 \cdot 997,4}{941,2 \cdot 10^{-6}} = 52773,61$$

Таким чином рух – турбулентний, отже для розрахунку критерія Nu можна скористатися рівнянням:

$$\begin{aligned} Nu &= 0,021 \cdot Re^{0,8} \cdot Pr^{0,4} \cdot \left(\frac{Pr}{Pr_{\text{ст}}} \right)^{0,25} \cdot X = \\ &= 0,021 \cdot 52773,61^{0,8} \cdot 6,54^{0,4} \cdot \left(\frac{6,54}{5,98} \right)^{0,25} \cdot 1,163 = 317,45 \end{aligned}$$

Де X – коефіцієнт, що враховує кривизну спіралі:

$$X = 1 + 3,54 \cdot \frac{d_{\text{екв}}}{D} = 1 + 3,54 \cdot \frac{0,083}{1,8} = 1,163$$

Тоді коефіцієнт тепловіддачі α_2 буде рівний:

$$\alpha_2 = \frac{Nu \cdot \lambda_B}{d_{\text{екв}}} = \frac{317,45 \cdot 0,6047}{0,083} = 2312,795 \frac{\text{Вт}}{\text{м}^2 \cdot \text{К}}$$

Де $\lambda_B = 60,47 \cdot 10^{-2}$ – коефіцієнт теплопровідності води при $t = 23^\circ\text{C}$;

Тепер можна розрахувати коефіцієнт теплопередачі:

$$k' = \frac{1}{\frac{1}{\alpha_1} + \frac{\delta_{\text{ст}}}{\lambda_{\text{ст}}} + \frac{1}{\alpha_2}} = \frac{1}{\frac{1}{9191,77} + \frac{0,01}{17,9} + \frac{1}{2312,795}} = 909,23 \frac{\text{Вт}}{\text{м}^2 \cdot \text{К}}$$

З урахуванням забруднення:

$$k = 0,9 \cdot k' = 0,9 \cdot 909,23 = 818,31 \frac{\text{Вт}}{\text{м}^2 \cdot \text{К}}$$

Площа поверхні охолодження:

$$F = \frac{Q}{k \cdot \Delta t_{\text{ср}}} = \frac{36,58 \cdot 10^3}{818,31 \cdot 6,81} = 6,56 \text{ м}^2$$

Поверхня охолодження розміститься на висоті:

$$H = \frac{F}{\pi \cdot D} = \frac{6,56}{3,14 \cdot 1,8} = 1,16 \text{ м}$$

Оскільки розрахована площа поверхні теплообміну менша від стандартного $F > F_0$, то сорочка забезпечить необхідну температуру у ферментері протягом його роботи, для інтенсифікації теплопередачі не потрібно встановлювати змієвик.

4.2.9 Розрахунок газорозподільчого пристрою

Мета розрахунку барботера полягає у визначенні його конструктивних розмірів.

Приведена швидкість повітря $w_r = 0,1$ м/с.

Розміри мішалки:

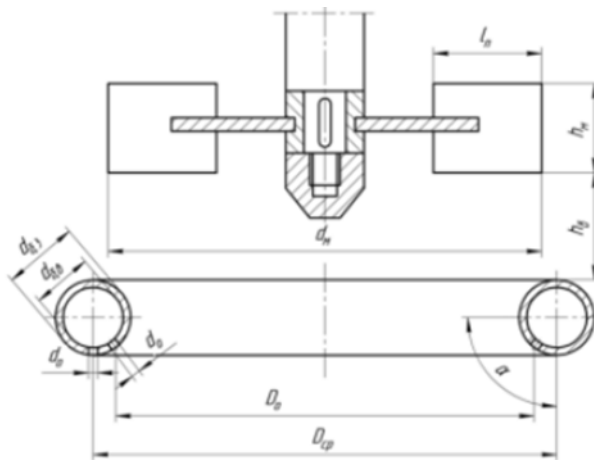


Рисунок 4.2 Розташування мішалки над барботером [41].

$$d_m = 630 \text{ мм}$$

$$h_m = 0,2 \cdot d_m = 0,2 \cdot 630 = 126 \text{ мм}$$

$$l_n = 0,25 \cdot d_m = 0,25 \cdot 630 = 157,5 \text{ мм}$$

$$h_b = 0,25 \cdot d_m = 0,25 \cdot 630 = 157,5 \text{ мм}$$

$$D_0 = 0,5 \cdot d_m = 0,5 \cdot 630 = 400 \text{ мм}$$

Визначаємо об'ємну витрату повітря, що подається у ферментер для аерації культурального середовища за формулою:

$$V_r = w_r \cdot \frac{\pi \cdot D^2}{4} = 0,0393 \cdot \frac{3,14 \cdot 1,8^2}{4} = 0,1 \frac{\text{м}^3}{\text{с}}$$

Розраховуємо внутрішній діаметр труби барботера $d_{б.н}$ виходячи з прийнятої швидкості руху газу в трубі $\omega_b = 25$ м/с:

$$d_{б.н.} = \sqrt{\frac{4 \cdot V_r}{\pi \cdot \omega_b}} = \sqrt{\frac{4 \cdot 0,012}{3,14 \cdot 25}} = 0,072 \text{ м}$$

Вибираємо трубу стандартного розміру 83х5,5 мм.

Середній діаметр барботера

$$D_{cp} = 6 \cdot d_{6.3} = 6 \cdot 83 = 498 \text{ мм}$$

Швидкість газу у отворах барботера знаходять за формулою:

$$\omega_0 = 3,4 \cdot \sqrt{\frac{d_{6.в.} \cdot \rho_p}{\rho_r}} = 3,4 \cdot \sqrt{\frac{0,072 \cdot 1000,6}{1,147}} = 26,95 \frac{\text{м}}{\text{с}}$$

Де $d_{6.в.}$ – внутрішній діаметр труби барботера, м; ρ_p і ρ_r – густини рідини і газу, кг/м³.

Кількість отворів у барботері:

$$z_0 = \frac{4 \cdot V_r}{\pi \cdot d_0^2 \cdot \omega_0} = \frac{4 \cdot 0,1}{3,14 \cdot 0,005^2 \cdot 26,95} = 189$$

Якщо отвори розмістити по колу діаметром, то крок їх розміщення буде:

$$t = \frac{\pi \cdot D_{cp}}{z_0} = \frac{3,14 \cdot 498}{189} = 8,27 \text{ мм}$$

Так як крок менше 10 мм, то їх необхідно розміщувати в 2 ряди, тоді

$$z_{01} = \frac{z_0}{2} = \frac{189}{2} = 95 \text{ шт. отворів у кожному ряду.}$$

Перший ряд по колу діаметром D_{cp} буде мати крок

$$t = \pi \cdot \frac{D_{cp}}{z_{01}} = 3,14 \cdot \frac{0,498}{95} = 16,5 \text{ мм}$$

Другий ряд розмістимо по колу діаметром D_0

$$D_0 = D_{cp} - d_{6.3} \sin 45^\circ = 0,498 - 0,083 \cdot \sin 45^\circ = 0,427 \text{ м}$$

Крок розміщення отворів в цьому ряду

$$t = \pi \cdot \frac{D_0}{z_{01}} = 3,14 \cdot \frac{0,427}{95} = 14,1 \text{ мм}$$

4.2.10 Вибір індивідуального фільтру

Витрата повітря в апараті $V_r = 0,1 \text{ м}^3/\text{с}$

Обирається індивідуальний фільтр за обраними показниками. У промислових умовах з ферментаційними процесами використовують, в основному, метод фільтрування крізь шари насипного, пористого або волокнистого матеріалу. Для попередньої стерилізації використовуємо глибинні (набивні) фільтри на основі волокнистих матеріалів. Для остаточної стерилізації перед входом у ферментер встановлюємо індивідуальні фільтри з розгорнутою поверхнею. Тому для цього доцільно використовувати фільтри типу НЕРА-різновид дуже дієвого повітряного фільтра, який відповідає найжорсткішим вимогам. Найкраще підійде модель K57– В– 006, цей фільтр призначений для очистки повітря з приведеною швидкістю 0,55м/с і за рахунок волокнистого матеріалу забезпечує уловлювання частинок 0,3-10мкм, що забезпечує ефективну підготовку аераційного повітря [36].

					ДП БІ 21.07.000. ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		116

РОЗДІЛ 5. ОХОРОНА ПРАЦІ ТА ОХОРОНА ДОВКІЛЛЯ

5.1 Вимоги до персоналу та чистоти

Під час розроблення генерального плану підприємства особливу увагу приділено раціональному розміщенню об'єктів відповідно до їхнього функціонального призначення, рівня виробничої небезпеки та особливостей експлуатації. Адміністративно-побутові приміщення, виробничі корпуси та складські будівлі розташовані з урахуванням переважаючих напрямків вітру, що забезпечує ефективне природне провітрювання території, достатню освітленість робочих зон і мінімізує ризик потрапляння можливих викидів у зону перебування персоналу. Відстані між спорудами відповідають чинним санітарним і протипожежним нормам. Для підвищення безпеки руху транспортні маршрути та пішохідні доріжки розмежовані між собою. Незабудовані ділянки території підлягають озелененню деревами та чагарниками, які не є джерелом значної кількості пилку або пуху, що сприяє підтриманню необхідного рівня чистоти навколишнього середовища біотехнологічного виробництва.

5.2 Генеральний план та об'ємно-планувальні рішення

Внутрішнє планування виробничих приміщень виконано відповідно до вимог будівельних та санітарних нормативів щодо площі й об'єму приміщень на одного працівника. Технологічне та допоміжне обладнання розміщується з дотриманням необхідних проходів і відстаней для забезпечення зручності обслуговування, ремонту та безпечної евакуації персоналу у разі надзвичайної ситуації. Дільниці, пов'язані з використанням небезпечних речовин або проведенням потенційно ризикованих операцій, розташовані в окремих

					ДП БІ 21.07.000. ПЗ			
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата				
	Розроб.	Петрівський М. Д.			ОХОРОНА ПРАЦІ ТА ОХОРОНА ДОВКІЛЛЯ	Стадія	Арк.	Аркуші
	Конс.					Д	117	136
	Керівн.	Остапенко Ж. І.				КПІ ім. Ігоря Сікорського		
	Затв.	Мельник В. М.				Каф. БТІ Гр. БІ-21		

ізолюваних приміщеннях. Конструктивне виконання вікон та світлових ліхтарів забезпечує нормативний рівень природного освітлення, а система евакуаційних виходів відповідає вимогам пожежної безпеки та не перетинається з основними технологічними потоками. Для працівників передбачено необхідні побутові приміщення, включаючи гардеробні, душові кімнати та зони відпочинку, параметри яких визначені з урахуванням характеру виробничої діяльності [41].

5.3 Електробезпека та пожежна профілактика

З огляду на значну кількість електротехнічного обладнання, що використовується у виробничому процесі, особлива увага приділяється дотриманню вимог електробезпеки. Кабельні мережі та електричні комунікації повинні мати надійну ізоляцію та відповідне маркування. Допуск персоналу до роботи здійснюється лише після проходження спеціального навчання та інструктажу з правил експлуатації електроустановок і дій у разі виникнення аварійних ситуацій.

Відповідно до вимог класифікації виробничих приміщень за рівнем пожежної та вибухопожежної небезпеки, ділянки, де можливе використання легкозаймистих речовин або утворення горючих газів, оснащуються автоматичними системами сигналізації та контролю. Для забезпечення належного рівня пожежного захисту передбачено встановлення автоматичних систем пожежогасіння, первинних засобів боротьби з вогнем та протипожежних конструкцій із регламентованою межею вогнестійкості [37].

5.4 Організація повітрообміну та вентиляції

У виробничих приміщеннях функціонують системи припливно-витяжної вентиляції, які забезпечують підтримання нормативних параметрів повітряного середовища. Об'єм припливного повітря узгоджується з об'ємом витяжки, а різниця між ними не повинна перевищувати встановлених нормативів. Повітря подається в найбільш чисті виробничі зони, тоді як його видалення здійснюється безпосередньо з ділянок можливого накопичення шкідливих домішок.

					ДП БІ 21.07.000. ПЗ	Арк.
						118
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Робота вентиляційних систем не повинна створювати додаткових несприятливих факторів, таких як надмірний шум, вібрація, протяги чи перегрівання робочої зони. Параметри вентиляції забезпечують необхідний рівень очищення повітря та ефективний повітрообмін у приміщеннях [42].

Під час роботи з дезінфекційними, мийними та іншими хімічними речовинами, що можуть виділяти шкідливі випари або викликати подразнення шкіри й слизових оболонок, персонал зобов'язаний використовувати засоби індивідуального захисту відповідно до встановлених вимог.

5.5 Санітарна підготовка обладнання та приміщень

Перед початком кожного виробничого циклу технологічне обладнання, трубопроводи та внутрішні поверхні біореакторів проходять комплекс процедур очищення, дезінфекції та стерилізації. Для проведення дезінфекції застосовують препарати на основі дихлорізоціанурату натрію, які ефективно пригнічують розвиток бактерій, спор та грибкової мікрофлори. Після завершення дезінфекції обладнання ретельно промивають очищеною водою до повного видалення залишків реагентів, що підтверджується аналітичним контролем.

Стерилізацію ферментаційного обладнання здійснюють безпосередньо в апараті шляхом подачі насиченої пари під тиском за температури 121 °C протягом часу, визначеного технологічним регламентом [38].

5.6 Охорона навколишнього середовища та екологічна безпека

Основними джерелами впливу біотехнологічного виробництва на довкілля є стічні води, газоподібні викиди та тверді виробничі відходи. Для мінімізації екологічного навантаження передбачено впровадження комплексу природоохоронних заходів. Відпрацьовані рідкі середовища та культуральні змиви перед утилізацією проходять обов'язкову дезактивацію термічними або хімічними методами, що забезпечує повну інактивацію мікроорганізмів-

продуцентів. Після цього стоки направляються на локальні очисні споруди або передаються спеціалізованим підприємствам для подальшої обробки.

Газові потоки, що відводяться від ферментаційного обладнання, проходять

очищення на високоефективних фільтраційних системах, які затримують біоаерозолі та інші потенційно небезпечні домішки. Збір, транспортування та утилізація відходів здійснюються відповідно до затверджених нормативних документів і не допускають негативного впливу на довкілля та здоров'я населення.

З метою підвищення ресурсоефективності виробництва передбачено використання систем повторного використання очищених оборотних вод, а також рекуперації теплової енергії технологічних потоків.

Усе обладнання, що працює під тиском або містить рухомі механізми, оснащується захисними огороженнями, аварійними кнопками зупинки та запобіжними клапанами. Для оперативного усунення можливих аварійних ситуацій у виробничих приміщеннях передбачена система аварійної вентиляції. Перед введенням обладнання в експлуатацію проводять його промивання, перевірку герметичності та продування комунікацій. Пусконаладжувальні роботи виконуються спочатку без навантаження, а після перевірки працездатності — в робочому режимі із застосуванням інертних середовищ. На всіх виробничих ділянках розміщуються інформаційні матеріали з правил безпечної експлуатації обладнання, планами евакуації та інструкціями з охорони праці.

До експлуатації ферментаційних установок висуваються вимоги щодо суворого дотримання технологічних регламентів, проведення регулярних технічних оглядів, використання засобів індивідуального захисту, функціонування систем очищення відхідних газів та належної утилізації відходів. Також обов'язковими є періодичні медичні огляди персоналу та застосування автоматизованих систем контролю основних технологічних параметрів. Для підвищення рівня безпеки виробництва сучасні ферментаційні

					<i>ДП БІ 21.07.000. ПЗ</i>	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		120

комплекси оснащують системами автоматичного виявлення розгерметизації, розливів культуральної рідини, перевищення допустимого тиску або температури з можливістю аварійного відключення обладнання та блокування подальшої роботи установки [37].

					<i>ДП БІ 21.07.000. ПЗ</i>	Арк.
						121
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

ВИСНОВОК

У результаті виконання дипломного проєкту було розроблено технологію виробництва рідкої форми комплексного біопрепарату на основі бактерій роду *Bacillus*, призначеного для покращення живлення рослин, захисту від фітопатогенних мікроорганізмів та підвищення родючості ґрунтів.

1. Обґрунтовано вибір продуцентів *Bacillus subtilis* FB17, *Bacillus amyloliquefaciens* QST 713 та *Bacillus megaterium* QM B1551. Обрані штами характеризуються високою швидкістю росту, здатністю до спороутворення, стійкістю до несприятливих факторів середовища та комплексною біологічною дією, що включає мобілізацію фосфору, стимуляцію росту рослин, пригнічення розвитку патогенних мікроорганізмів і покращення мікробіологічного стану ґрунту.

2. Визначено оптимальний склад поживного середовища на основі меляси та кукурудзяного екстракту з додаванням фосфатів, сульфату магнію, хлориду натрію та карбонату кальцію. Використання кукурудзяно-мелясного середовища забезпечує високу продуктивність культивування бактерій роду *Bacillus* та є економічно доцільним завдяки низькій собівартості середовища – близько 1,45 грн на 1 дм³, оскільки дозволяє використовувати відходи харчової промисловості.

3. Розроблено склад готового препарату для підвищення стабільності та терміну зберігання біомаси. Після концентрування клітин препарат стабілізується у фосфатному буфері з додаванням полівінілпіролідону, карбоксиметилцелюлози та гліцерину, що забезпечує збереження життєздатності клітин і спор під час транспортування та зберігання.

					ДП БІ 21.07.000. ПЗ		
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата	ВИСНОВОК		
	Розроб.	Петрівський М. Д.					
	Конс.						
	Керівн.	Остапенко Ж. І.					
	Затв.	Мельник В. М.					
						Стадія	Арк.
						Д	122
							Аркушів
							136
					КПІ ім. Ігоря Сікорського		
					Каф. БТІ		
					Гр. БІ-21		

4. Визначено основні та допоміжні матеріали виробництва. До основної сировини віднесено штами-продуценти, мелясу, кукурудзяний екстракт і мінеральні солі. Допоміжними матеріалами є вода, дезінфекційні та мийні засоби, фосфатний буфер, гліцерин, ПВП, КМЦ, піногасники та полімерна тара для фасування готового препарату.

5. Встановлено основні параметри технологічного процесу. Культивування здійснюється в аеробних умовах за температури 28–30 °С, рН 7,2–7,4, коефіцієнта заповнення ферментера 0,6, інтенсивної аерації стерильним повітрям та тривалості ферментації 48–72 години. Після завершення процесу проводиться центрифугування культуральної рідини, промивання біомаси та її стабілізація.

6. Виконано розрахунок і розроблено конструкцію виробничого ферментера з комбінованим введенням енергії об'ємом 5 м³. Конструкція включає циліндричний корпус із сорочкою охолодження, турбінну мішалку, кільцевий барботер, систему аерації та контрольно-вимірювальні прилади. Наведено креслення загального виду, видом зверху та виносними елементами

7. Розроблено технологічну та апаратурну схеми виробництва, які охоплюють стадії підготовки поживного середовища, підготовки посівного матеріалу, стерилізації середовища та повітря, ферментації, концентрування біомаси, стабілізації препарату, фасування готової продукції та знешкодження відходів. Передбачено систему очищення аераційного повітря та знезараження виробничих відходів, що забезпечує біологічну безпеку виробництв

					ДП БІ 21.07.000. ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		123

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Diversity and applications of *Bacillus* bacteriocins / H. Abriouel, C. M. A. P. Franz, N. Ben Omar, A. Gálvez. *FEMS Microbiology Reviews*. 2011. Vol. 35, Iss. 1. P. 201–232. URL: <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2010.00244.x>

2. Пирог Т. П., Ігнатова О. А. Загальна біотехнологія: Підручник. — К.: НУХТ, 2009. — 336 с.

3. Corn Steep Liquor as an Efficient Bioresource for Functional Components Production by Biotransformation Technology / Y. Chang, X.-Q. Zhao, X. Zhang, Y. Jiao. *Foods*. 2025. Vol. 14, iss. 13. Art. 2158. URL: <https://doi.org/10.3390/foods14132158>.

4. Поживне середовище для отримання біомаси бактерій роду *Bacillus*: пат. 42415 Україна: МПК C12N 1/00. № u200813441; заявл. 21.11.2008; опубл. 10.07.2009, Бюл. № 13. [кількість] с. URL: <https://iprop-ua.com/inv/p3bcf5t6/>

5. Understanding and application of *Bacillus* nitrogen regulation: A synthetic biology perspective / H. He, Y. Li, L. Zhang, Z. Ding, G. Shi. *Journal of Advanced Research*. 2022. Vol. 49. P. 1–14. URL: <https://doi.org/10.1016/j.jare.2022.09.003>.

6. Efficient molasses utilization for low-molecular-weight poly-gamma-glutamic acid production using a novel *Bacillus subtilis* strain / J. Li, S. Chen, J. Fu, J. Xie, J. Ju, B. Yu, L. Wang. *Microbial Cell Factories*. 2022. Vol. 21. Art. 140. URL: <https://doi.org/10.1186/s12934-022-01867-5>.

7. Крутякова В. І., Гулич О. І., Янсе Л. А. Стан і проблеми ринку біологічних засобів захисту рослин в Україні. *Рослинництво, кормовиробництво*. 2022. № [1]. С. [10]. URL: https://agrovisnyk.com/pdf/ua_2023_01_04.pdf

					ДП БІ 21.07.000. ПЗ		
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата			
	Розроб	Петрівський М. Д.			ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ		
	Конс.						
	Керівн.	Остапенко Ж. І.					
	Затв.	Мельник В. М.					
						Стадія	Арк.
						Д	124
						Аркушів	
						136	
						КПІ ім. Ігоря Сікорського	
						Каф. БТІ	
						Гр. БІ-21	

8. Elemental economy: microbial strategies for optimizing growth in the face of nutrient limitation / S. S. Merchant, J. D. Helmann. *Advances in Microbial Physiology*. 2012. Vol. 60. P. 91–210. URL: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-398264-3.00002-4>.

9. *Bacillus* based microbial formulations: Optimization of the production process / S. Stamenković Stojanović, I. T. Karabegovic Stanisavljevic, V. P. Beškoski et al. *Hemijaska industrija*. 2019. Vol. 73, iss. 3. P. 169–182. URL: <https://doi.org/10.2298/HEMIND1090214014S>.

10. Genomic Analysis of *Bacillus megaterium* NCT-2 Reveals Its Genetic Basis for the Bioremediation of Secondary Salinization Soil / B. Wang, D. Zhang, S. Chu, Y. Zhi, X. Liu, P. Zhou. *International Journal of Genomics*. 2020. Vol. 2020. Art. 4109186. URL: <https://doi.org/10.1155/2020/4109186>.

11. Промислова біотехнологія: навчальний посібник/ М.Д. Мельничук, О.Л.Кляченко, В.В.Бородай, Ю.В.Коломієць. – Київ: ФОП Корзун Д.Ю., 2014. - 252 с.

12. Промислова біотехнологія : курс лекцій для здобувачів першого (бакалаврського) рівня вищої освіти спец. 162 «Біотехнології та біоінженерія» денної форми здобуття вищої освіти. Миколаїв : МНАУ, 2024. [160] с. URL: <https://dspace.mnau.edu.ua/jspui/bitstream/123456789/17401/1/pb-162-lekc-2024.pdf>

13. *Bacillus amyloliquefaciens*: A Review / Gaurav Dhumal, Khushal Chaudhari, Mahalaxmi Mohan. *Research & Reviews: A Journal of Microbiology & Virology*. 2021. Volume 11, Issue 1. URL: <https://www.researchgate.net/publication/358633541>

14. Harwood C. R., Pohl S., Smith W., Wipat A. *Bacillus subtilis*: Model Gram Positive Synthetic Biology Chassis // *Methods in Microbiology*. — 2013. — Vol. 40. — P. 87–117. URL: [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(98\)00346-8](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(98)00346-8)

15. Current advances in *Bacillus* spp. fermentation and scale-up for the production of industrial enzymes and biosurfactants / T. S. Tikhomirova, G. D. Milovidov, S. Y. But, V. A. Nemashkalov. *Journal of Applied Microbiology*. 2026. Vol. 137, iss. 1. Art. lxag014. URL: <https://doi.org/10.1093/jambio/lxag014>.

16. Factors other than root secreted malic acid that contributes toward *Bacillus subtilis* FB17 colonization on *Arabidopsis* roots / V. Lakshmanan, H. P. Bais. *Plant Signaling & Behavior*. 2013. Vol. 8, iss. 11. Art. e27277. URL: <https://doi.org/10.4161/psb.27277>.

17. Screening of different growth conditions of *Bacillus subtilis* isolated from membrane-less microbial fuel cell toward antimicrobial activity profiling / D. K. Sreedharan, H. Alias, M. M. Z. Makhtar et al. *Open Life Sciences*. 2024. Vol. 19, iss. 1. Art. 20220809. URL: <https://doi.org/10.1515/biol-2022-0809>.

18. *Bacillus subtilis*: A plant-growth promoting rhizobacterium that also impacts biotic stress / A. Hashem, B. Tabassum, E. F. Abd Allah. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 2019. Vol. 26, iss. 6. P. 1291–1297. URL: <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2019.05.004>.

19. Harwood C. R., Pohl S., Smith W., Wipat A. Chapter 4 – *Bacillus subtilis*: Model Gram-Positive Synthetic Biology Chassis. *Methods in Microbiology*. 2013. Vol. 40. P. 87–117. URL: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-417029-2.00004-2>.

20. *Bacillus amyloliquefaciens*: A Review / G. Dhumal, K. Chaudhari, M. Mohan. *Research & Reviews: A Journal of Microbiology & Virology*. 2021. Vol. 11, iss. 1. P. [сторінки]. URL: <http://medicaljournals.stmjournals.in/index.php/RRJoMV/index>.

21. Peer review of the pesticide risk assessment of the active substance *Bacillus amyloliquefaciens* strain QST 713 (formerly *Bacillus subtilis* strain QST 713) / M. Anastassiadou, M. Arena, D. Auteri et al. *EFSA Journal*. 2021. Vol. 19, iss. 1. Art. e06381. URL: <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2021.6381>.

22. Optimization of Cultural Conditions for *Bacillus megaterium* Cultured in *Agaricus bisporus* Industrial Wastewater / J. Huang, D. Zhang, Y. Ou, G. Zhang, L. Zheng, L. Lin, X. Ye, X. Zhu, Y. Pan. *BioMed Research International*. 2018. Vol. 2018. Art. 8106245. URL: <https://doi.org/10.1155/2018/8106245>.

23. Genome sequences of the biotechnologically important *Bacillus megaterium* strains QM B1551 and DSM319 / M. Eppinger, B. Bunk, M. A. Johns et al. *Journal of Bacteriology*. 2011. Vol. 193, iss. 16. P. 4199–4213. URL: <https://doi.org/10.1128/JB.00449-11>.

24. Кравченко О. О., Савчук О. М., Остапченко Л. І. Основи біотехнології : навчальний посібник. Київ : ВПЦ «Київський університет», 2019. 270 с. URL: https://biomed.knu.ua/images/stories/Kafedry/Biochimiya/Biblioteka/Osnovy_biotehnologii_posibnyk.pdf

25. Occurrence of bacterial rot of onion caused by *Bacillus amyloliquefaciens* in Korea / S.-K. Hwang, C.-G. Back, N. K. K. Win et al. *Journal of General Plant Pathology*. 2012. Vol. 78, iss. 3. P. [сторінки]. URL: <https://URL.org/10.1007/s10327-012-0376-8>.

26. *Bacillus subtilis* URL: <https://microbecanvas.com/Bacteria/gram-positive-rods/cells-with-spores/obligate-aerobic-1/catalase-positive-7/lecithinase-negative-1/Bacillus-subtilis.html>

27. Behavior of fenhexamid in soil and water / C. Abbate, D. Borzì, P. Caboni, M. Gennari, S. Puglisi. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*. 2007. Vol. 42, iss. 7. P. 843–849. URL: <https://URL.org/10.1080/03601230701555088>.

28. Bais H. P., Fall R., Vivanco J. M. Biocontrol of *Bacillus subtilis* against infection of *Arabidopsis* roots by *Pseudomonas syringae* is facilitated by biofilm formation and surfactin production. *Plant Physiology*. 2004. Vol. 134, no. 1. P. 307–319. URL: <https://URL.org/10.1104/pp.103.028712>

29. Stülke J., Hillen W. Regulation of carbon catabolism in *Bacillus* species. *Annual Review of Microbiology*. 2000. Vol. 54, no. 1. P. 849–880. URL: <https://URL.org/10.1146/annurev.micro.54.1.849>

30. Ongena M., Jacques P. *Bacillus* lipopeptides: versatile weapons for plant disease biocontrol. *Trends in Microbiology*. 2008. Vol. 16, no. 3. P. 115–125. URL: <https://URL.org/10.1016/j.tim.2007.12.009>

31. Chen X. H. та ін. Comparative analysis of the complete genome sequence of the plant growth–promoting bacterium *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42. *Nature Biotechnology*. 2007. Vol. 25, no. 9. P. 1007–1014. URL: <https://URL.org/10.1038/nbt1325>

32. Vary P. S. та ін. *Bacillus megaterium*—from simple soil bacterium to industrial protein production host. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2007. Vol. 76, no. 5. P. 957–967. URL: <https://URL.org/10.1007/s00253-007-1089-3>

33. Технологічне обладнання фармацевтичної та біотехнологічної промисловості /М. Стасевич та ін. 2-ге вид. Львів : Новий Світ, 2000. 409 с.

34. Карлаш, Ю. В. Основи проєктування біотехнологічних виробництв : навч. посібник / Ю. В. Карлаш, В. О. Красінько ; Національний університет харчових технологій. – Київ : НУХТ, 2022. – 373 с. URL - <https://dspace.nuft.edu.ua/handle/123456789/39521>

35. Данилов І. П., Самойленко С. І. Апарати мікробіологічної промисловості: навч. посібник/ Харків: НТУ “ХПІ” 2008. -272 с.

36. Фільтри HEPA для очищення повітря [Електронний ресурс] // Aerofilter.ua. – URL: https://aerofilter.ua/filtr_hepa.html

37. Курепін В. М. К93 Основи охорони праці: навчальний посібник для студентів закладів вищої освіти аграрної галузі. Миколаїв : МНАУ, 2022. 347 с URL - <https://dspace.nuft.edu.ua/handle/123456789/39521>

38. Про охорону праці : Закон України від 14.10.1992 № 2694-XII. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/2694-12>

39. Про управління відходами : Закон України від 20.06.2022 № 2320-IX. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/2320-20>

40. ДСТУ EN ISO 14644-1:2016. Чисті приміщення та пов'язані з ними контрольовані середовища. Частина 1. Класифікація чистоти повітря за концентрацією частинок (EN ISO 14644-1:2015, IDT; ISO 14644-1:2015, IDT).

Київ : ДП «УкрНДНЦ», 2018. 35 с. URL:
https://online.budstandart.com/ua/catalog/doc-page.html?id_doc=119521

41. Карлаш Ю.В., Красінько В.О. Основи проектування біотехнологічних виробництв Електронний ресурс : Навч. посібник. –К.:НУХТ, 2022. –373 с. URL: file:///D:/Ansys/Karlash_2022_2.pdf

42. ДСТУ EN 13053:2013 Системи вентиляції та кондиціонування повітря. Кондиціонери повітря центральні. Номінальні та робочі характеристики складових частин та секцій (EN 13053:2006, IDT) URL:
https://online.budstandart.com/ua/catalog/doc-page.html?id_doc=59973

43. Устаткування виробництв галузі. Курсовий проєкт [Електронний ресурс] : навч. посіб. для здобувачів ступеня бакалавра за освіт. програмою «Біотехнології» спец. 162 Біотехнології та біоінженерія / КПІ ім. Ігоря Сікорського ; уклад.: М.Ф. Калініна та ін. – Електрон. текст. дані (1 файл). – Київ : КПІ ім. Ігоря Сікорського, 2025. – 138 с. URL:
<https://ela.kpi.ua/items/0e3bd15a-5afb-4d79-816b-ce507eabbf0d>

44. Проектування реакторів біотехнологічних та фармацевтичних виробництв [Електронний ресурс] : навчальний посібник / НТУУ «КПІ» ; уклад.: Л. І. Ружинська, І. А. Буртна, В. М. Поводзинський, В. Ю. Шибецький. – Електронні текстові дані (1 файл: 10,7 Мбайт). – Київ : НТУУ «КПІ», 2014. – 131 с. – Назва з екрана. URL: <https://ela.kpi.ua/items/4efbb50a-a906-4f5c-b34f-b3203a4c9186>

Додатки

					ДП БІ 21.07.000. ПЗ		
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата			
	Розроб.	Петрівський М. Д.			Додатки		
	Конс.						
	Керівн.	Остапенко Ж. І.					
	Затв.	Мельник В. М.					
						Стадія	Арк.
						Д	130
						Аркушів	
						136	
						КПІ ім. Ігоря Сікорського	
						Каф. БТІ	
						Гр. БІ-21	

Додаток А
Специфікація обладнання.

Формат	Зона	Поз.	Позначення	Найменування	Кіл.	Примітки
				Документація		
A 1			ДП БІ 2107.003 КА	Складальний кресленик	2	
				Складальні одиниці		
Б/К	1		ДП БІ 2107.003.01	Електродвигун	1	Сталь 12Х18Н10Т
Б/К	2		ДП БІ 2107.003.02	Кришка еліптична	1	Сталь 12Х18Н10Т
Б/К	3		ДП БІ 2107.003.03	Днище еліптичне	1	Сталь 12Х18Н10Т
Б/К	4		ДП БІ 2107.003.04	Корпус	1	Сталь 12Х18Н10Т
Б/К	5		ДП БІ 2107.003.05	Сальник	1	Сталь 12Х18Н10Т
Б/К	6		ДП БІ 2107.003.06	Редуктор	1	Сталь 12Х18Н10Т
Б/К	7		ДП БІ 2107.003.07	Сорочка	1	Сталь 12Х18Н10Т
Б/К	8		ДП БІ 2107.003.08	Вал мішалки	1	Сталь 12Х18Н10Т
Б/К	9		ДП БІ 2107.003.09	Мішалка турбінна	1	Сталь 12Х18Н10Т
Б/К	10		ДП БІ 2107.003.10	Труба передавлювання	1	Сталь 12Х18Н10Т
Б/К	11		ДП БІ 2107.003.11	Барботер кільцевий	1	Сталь 12Х18Н10Т
Б/К	12		ДП БІ 2107.003.12	Перегородка відбивна	1	Сталь 12Х18Н10Т
Б/К	13		ДП БІ 2107.003.13	Муфта	1	Сталь 12Х18Н10Т
Б/К	14		ДП БІ 2107.003.14	Нижнє кріплення валу	1	Сталь 12Х18Н10Т
				Деталі		
	15			Ущільнення Т 2-95-6 К -01	1	Гума

					ДП БІ 21.07.000. ПЗ			
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата	Специфікація	Стадія	Арк.	Аркушів
	Розроб	Петрівський М.Д.				Д	1	2
	Конс.					КПІ ім. Ігоря Сікорського		
	Керівн.	Остапенко Ж.І.				Каф. БТІ		
	Затв.	Мельник В.М.				Гр. БІ-21		

[illegible]

Додаток Б
Патентний пошук.

Патентний пошук

Таблиця 1 Регламент пошуку

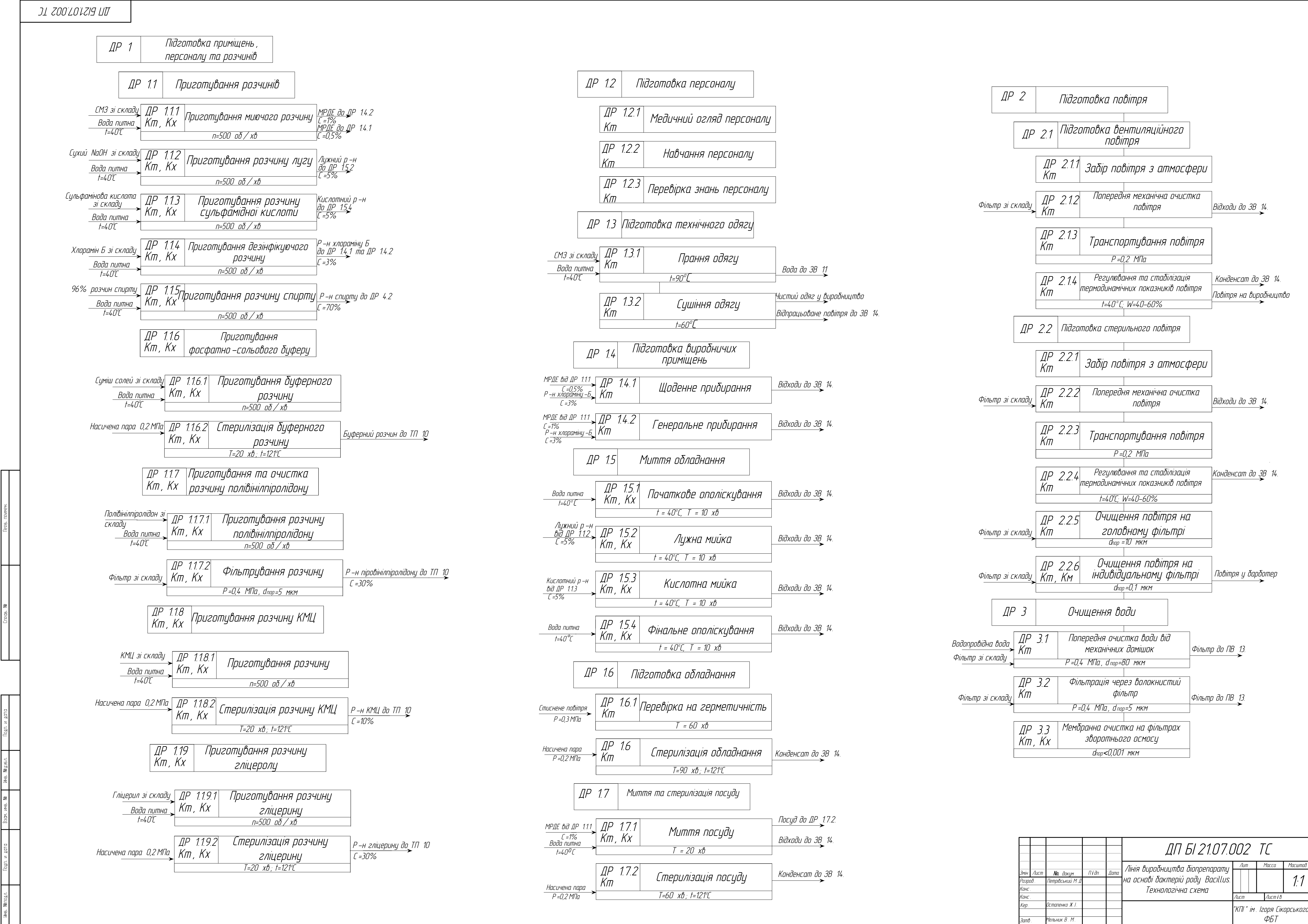
Предмет пошуку (ОГД, його складові частини)	Мета пошуку інформації	Держава пошуку	Класифікаційні індекси: МПК,НПК,МК ПЗ, МКТП,УДК	Ретроспективність пошуку	Джерела інформації
Ферментер ,біореактор	Визначення патентоздатності апарата, що проектується, та тенденцій розвитку цього напрямку в техніці	Україна Грузія Китай США Корея	C12G1/032 C12M1/00; C12M1/02 C12M1/04 C12M1/40 C12M1/06 C12M1/34 C12M1/12 C12M3/00 C02F11/04	2011-2026	Офіційні патентні бюлетені Укрпатенту та закордонних баз даних. (https://espacenet.com https://uapatents.com).

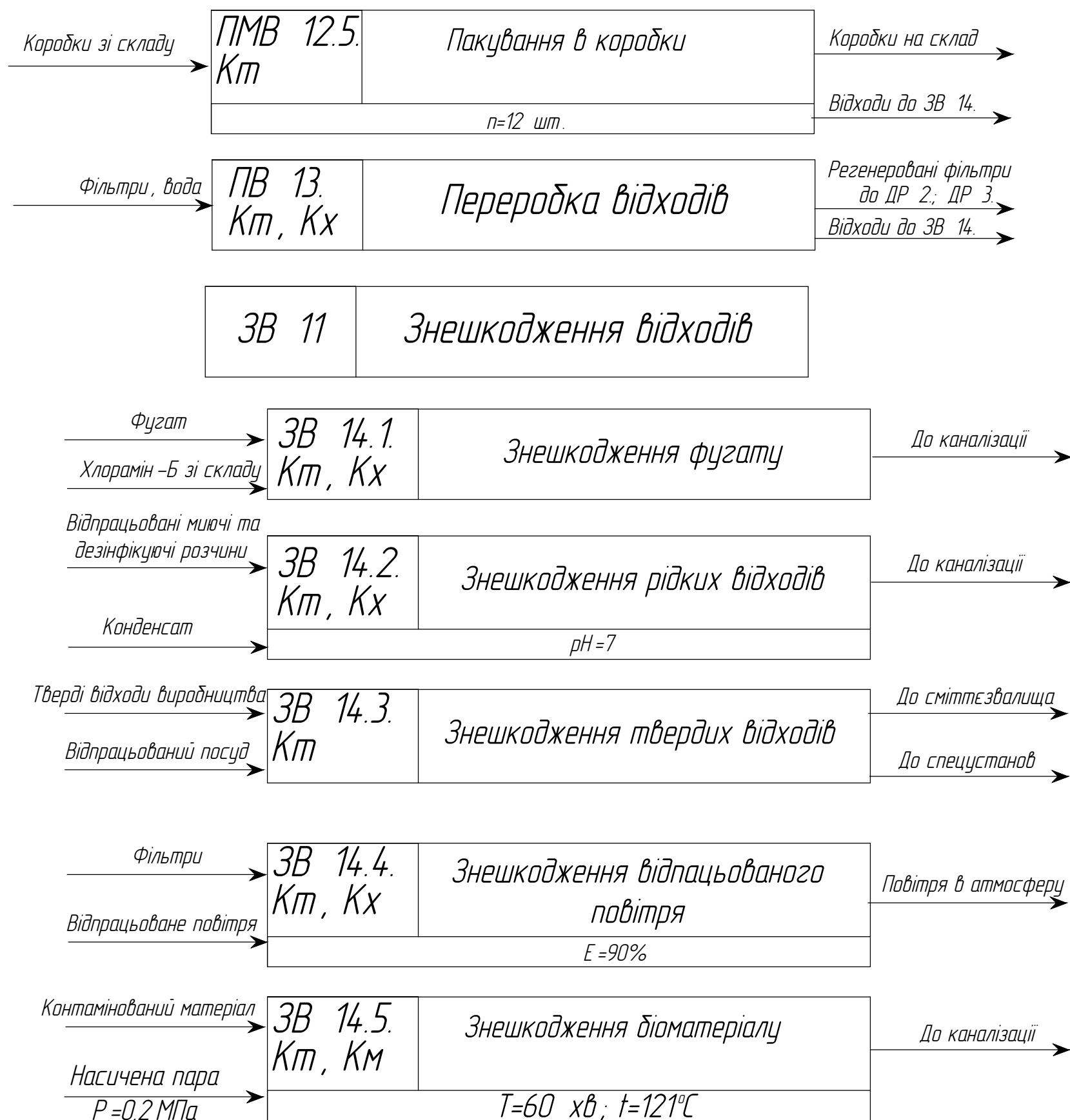
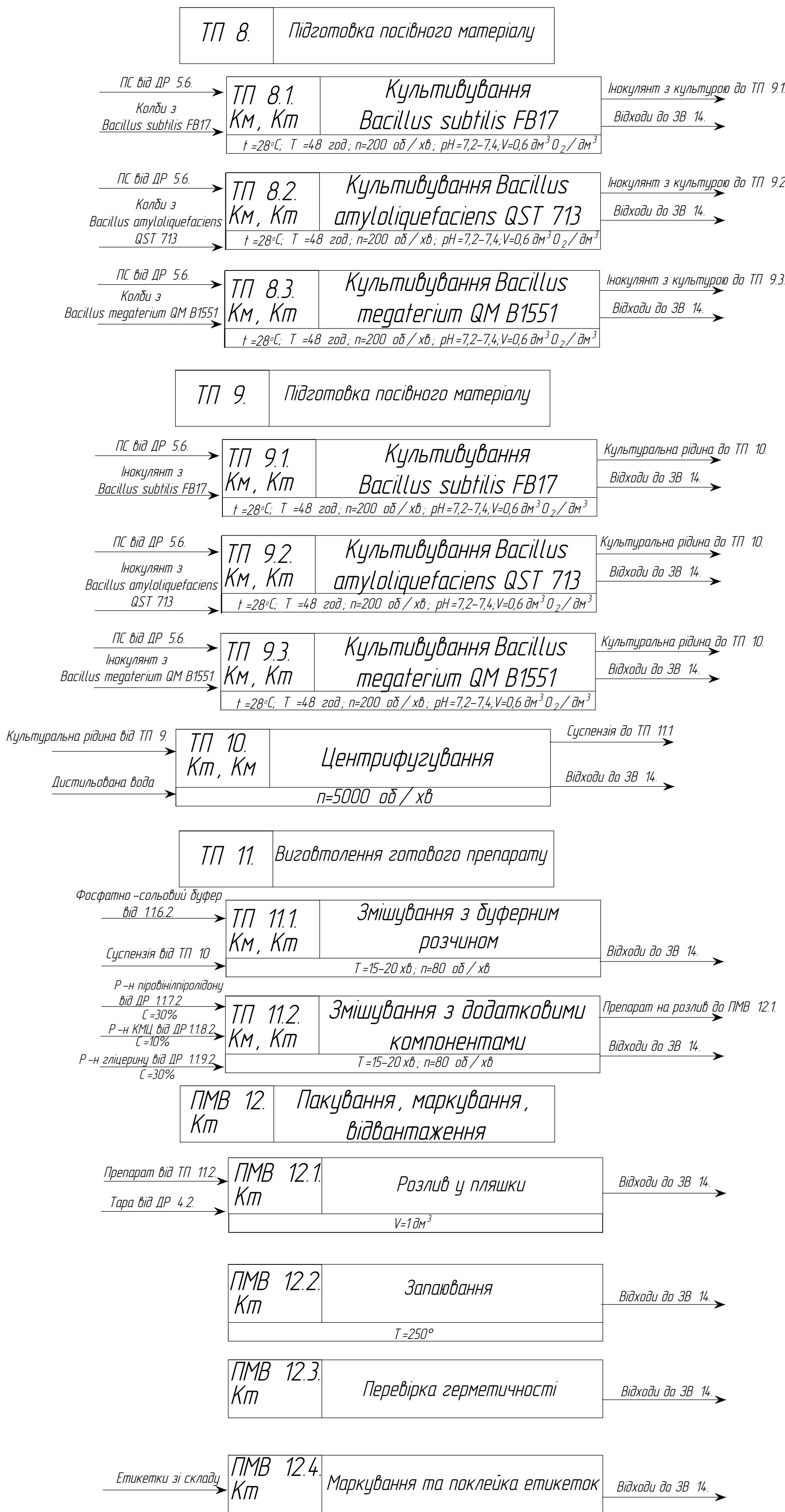
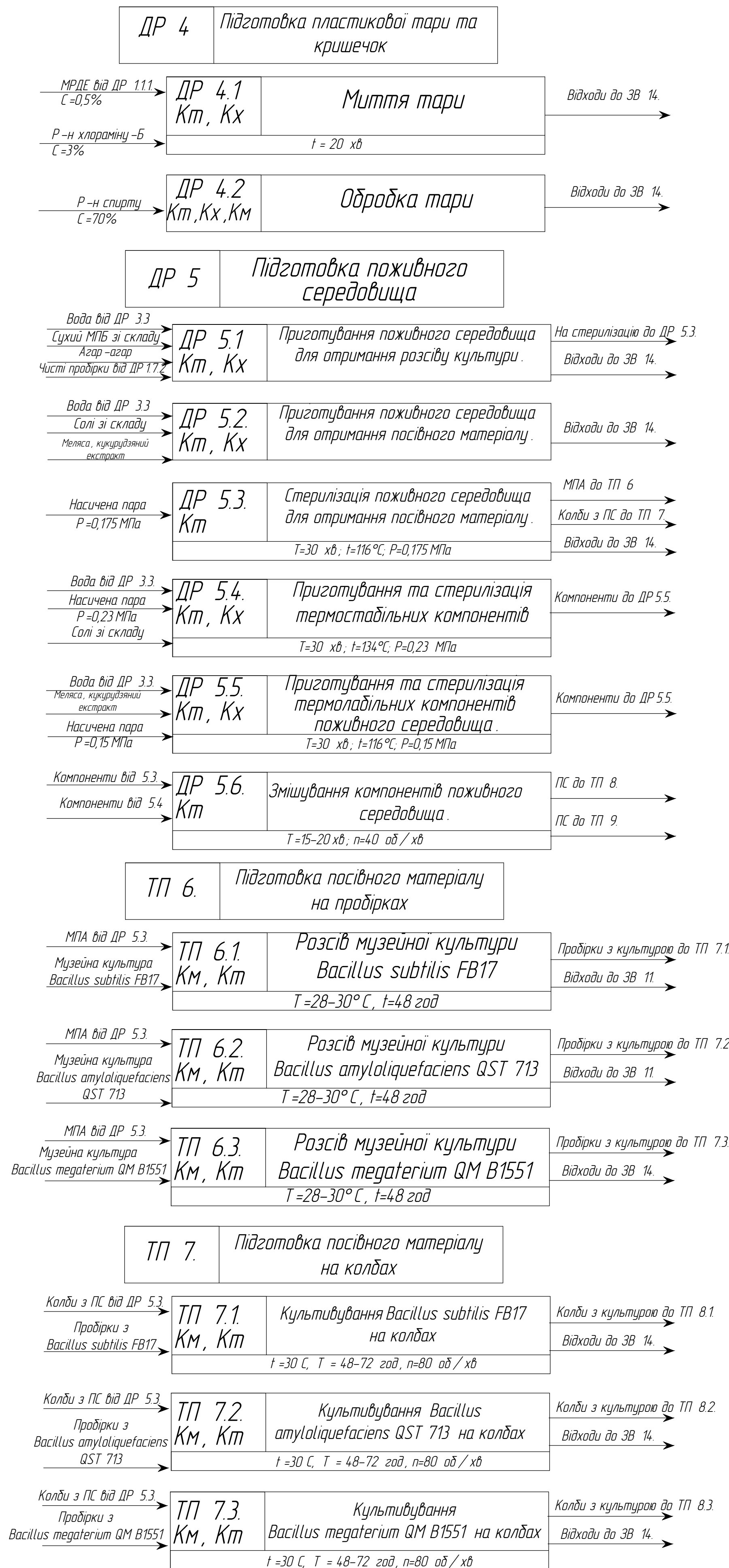
Таблиця 2 Джерела інформації, використані під час проведення пошуку

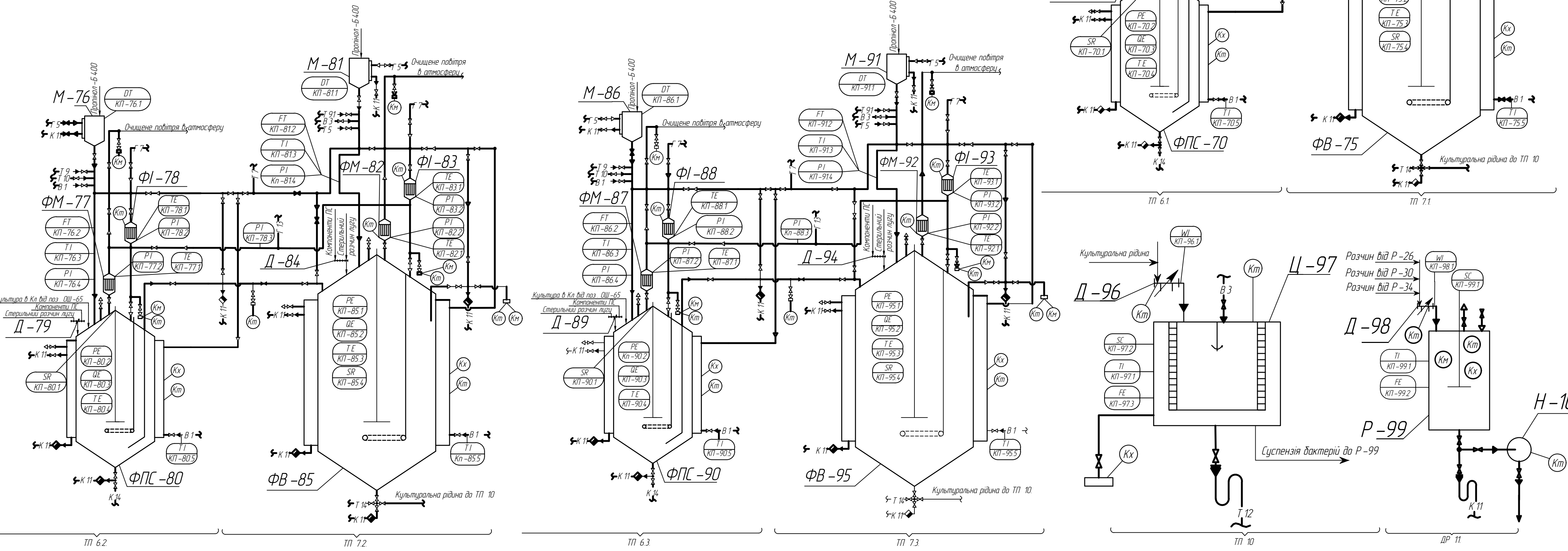
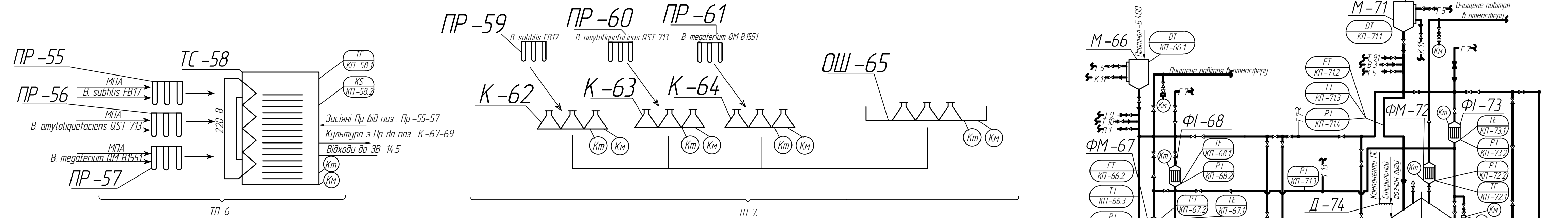
Предмет пошуку (ОГД, його складові частини)	Держава пошуку	Класифікаційні індекси: МПК,НПК,МК ПЗ, МКТП,УДК	Інформаційна база, використана під час пошуку	Бібліографічні дані першого та останнього за хронологією джерела інформації	
				Патентна інформація	Інша науково-технічна інформація
1	2	3	4	5	6
Ферментер, біореактор	Україна Грузія Китай США Корея	C12G1/032 C12M1/00 C12M1/02 C12M1/04 C12M1/40 C12M1/06 C12M1/34 C12M1/12 C12M3/00 C02F11/04	Науково-технічна бібліотека НТУУ „КПІ”, Науково-технічна бібліотека України Електронні ресурси: https://espacenet.com ; https://uapatents.com	Описи до винаходів, офіційні патентні бюлетені Укрпатенту, та баз даних патентних установ США	Підручники та навчальні посібники з курсу дисциплін «Процеси, апарати і машини галузі»

Таблиця 3 Патентна документація, відібрана для подальшого аналізу біореактору.

ОГД, його складові частини	Документи на об'єкти промислової власності	
	Бібліографічні дані	Відомості щодо їхньої дії
1	2	3
IMPROVED FERMENTER	Patent GEAP201914762 (A) Georgia, International Classification C12G 1/032 / Marin Franchesko; applicant Castle Commercial Enterprises Ltd. – № GE2019AP14762; filed 10.11.2016; published 11.03.2019.	Діє
BIOREACTOR OR FERMENTER FOR THE CULTURING OF CELLS OR MICROORGANISMS IN SUSPENSION IN INDUSTRIAL SCALE	Patent US2025327014 (A1) United States of America, International Patent Classification C12M 1/00, C12M 1/06, C12M 1/34 / Schulz Torsten Wilhelm, Wucherpennig Thomas; applicant Boehringer Ingelheim International GmbH. – № US202519249475; filed 25.06.2025; published 09.10.2025.	Діє
Microbial Fermenter	Patent KR20250043927 (A) Republic of Korea, International Patent Classification C12M 1/00, C12M 1/06, C12M 1/34 / Shin Dongil; applicant JNS Corporation. – № KR20230127250; filed 22.09.2023; published 31.03.2025.	Діє
Probiotic liquid fermenter	Patent CN223936484 (U) China, International Patent Classification C12M 1/00, C12M 1/21 / Chen Tianfeng, Chen Lei, Li Baoxia, Chen Jie, Xie Zhiguo; applicant Guangzhou Taihe Biotechnology Company Limited. – № CN20252026265U; filed 07.01.2025; published 24.02.2026.	Діє
БІОРЕАКТОР	Патент 162096 Україна, Міжнародна патентна класифікація C12M 3/00 / Шибецький Владислав Юрійович; заявник і власник Національний технічний університет України «Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського». – № u202502471; заявлено 26.05.2025; опубліковано 18.02.2026, бюлетень № 7/2026.	Діє

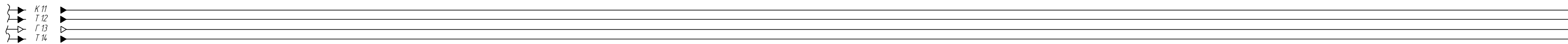
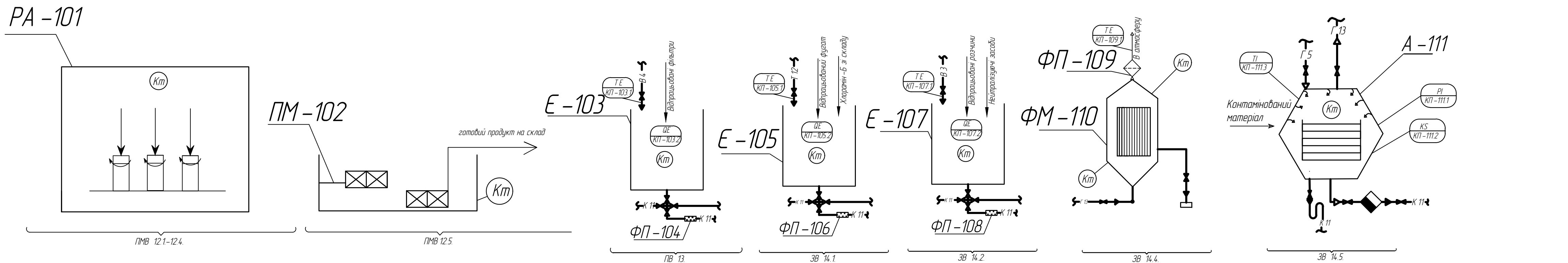


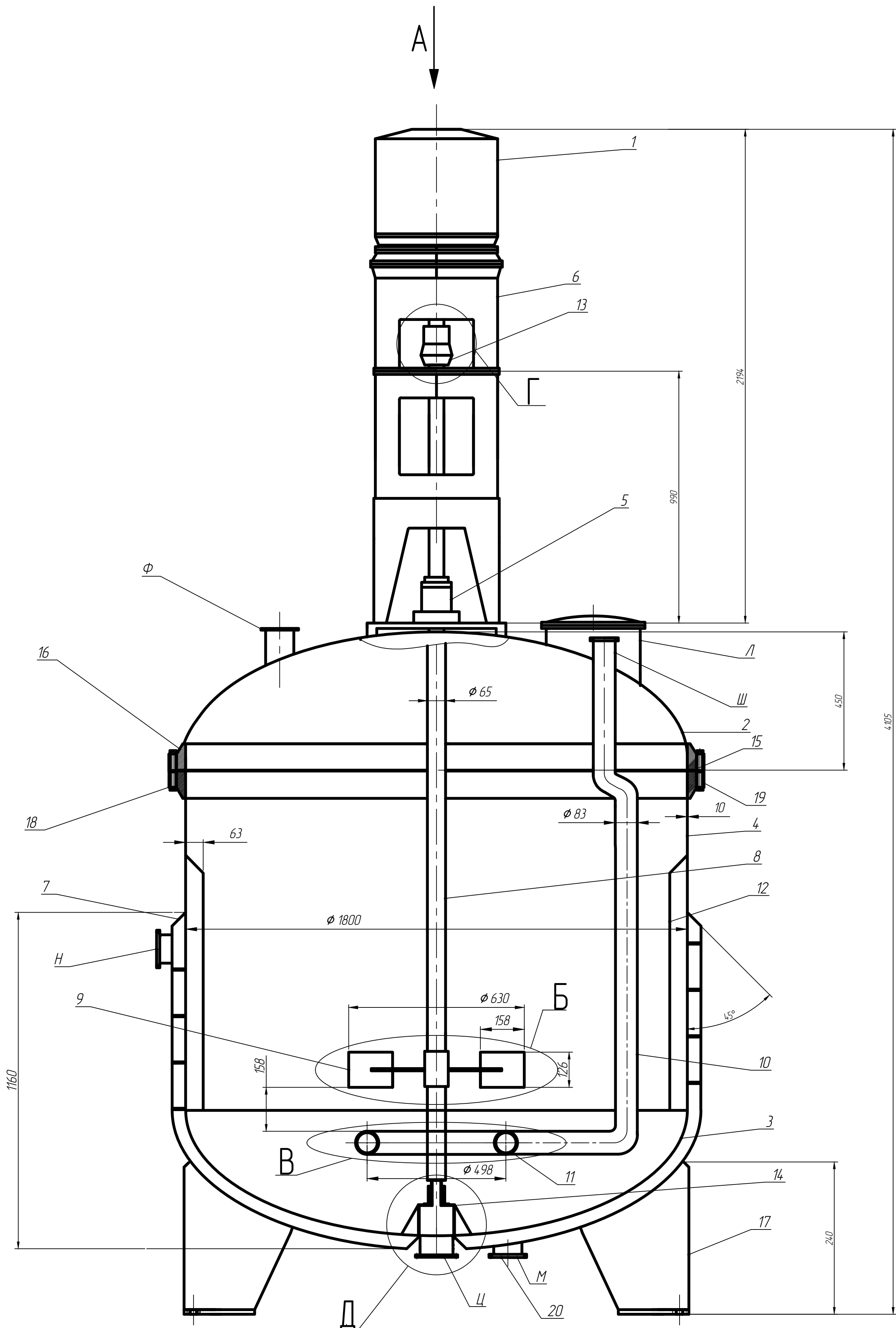




Умовне позначення	Графічне	Найменування середовища в трубопроводі
В 1		Вода питна охолоджена
В 2		Вода питна гаряча
В 3		Вода дистильована
В 4		Вода очищена
Г 5		Насичена пара
Г 6		Повітря технічне
Г 7		Повітря аераційне
Т 8		Миючий розчин
Т 9		Розчин лузгу
Т 10		Розчин кислоти
К 11		Каналізація
Т 12		Фугат
Г 13		Повітря відпрацьоване
Т 14		Відпрацьовані розчини

Позна - чення	Найменування	Кільк.	Примітка
Д	Дозатор ваговий	8	
Р	Реактор -змішувач	1	
Н	Насос відцентровий з лопатями	1	
ФП	Фільтувальна перегородка	3	
ПР	Продірки	6	
А	Автоклав	1	
К	Колди	3	
М	Мірний апарат	6	
ОШ	Орбітальний шейкер	1	
ФПС	Ферментер посівний	3	
ФВ	Ферментер виробничий	3	
Ц	Центрифуга	1	
ФІ	Фільтр індивідуальний	6	
ФМ	Фільтрувальна мембрана	7	
Е	Емність	3	
РА	Розлибачний апарат	1	
ПМ	Пакувальна машина	1	
ТС	Термостат	1	





Таблиця штуцерів

Позна-чення	Найменування	Кільк	Прохід умовний D у, мм	Тиск умовний Ру, мм
А	Для подачі поживного середовища	1	250	0,2
Б	Для подачі псївного матерiалу	1	150	0,2
В	Для манометра	1	40	0,2
Г	Для термометра	1	40	0,2
Д	Для рН-метра	1	40	0,2
Ж	Для вiдбору проб	2	25	0,2
К	Для подачі піногасника	1	25	0,2
Л	Люк	1	600	0,2
М	Для подачі теплоносія	1	200	0,2
Н	Для виходу теплоносія	1	200	0,2
С	Оглядове вікно	2	200	0,2
Т	Резервний	2	100	0,2
Ф	Для виходу повітря	1	140	0,2
Ц	Для виходу продукту	1	250	0,2
Ш	Для подачі стерильного повітря	1	250	0,2

Технічна характеристика

1. Призначений для культивування продуцентів роду Bacillus

2. Об'єм апарату

– номінальний

– робочий
- 5 м³

3 м³
3. Тип перемішуючого пристрою – мішалка

тип
- турбінна відкрита
4. Кількість мішалок

5. Кількість відділених перегородок

6. Частота обертання вала мішалки
- 1

4

3,33 с⁻¹
7. Потужність електродвигуна

8. Тип електродвигуна

9. Висота поверхні теплообміну

10. Площа поверхні теплообміну
- 30 кВт

АІР 225 М 8

1,16 м

6,56 м²
11. Робочий тиск

12. Середовище:

– в апараті

– у сорочці
- 0,1 МПа

стерильне поживне середовище

вода технічна очищена
13. Температура, °С

– поживного середовища

– вода на вході

– вода на виході
- 30

21

25
14. Габаритні розміри

– висота

– довжина

– ширина

15. Маса апарату
- 4105 мм

1900 мм

1800 мм

953 кг

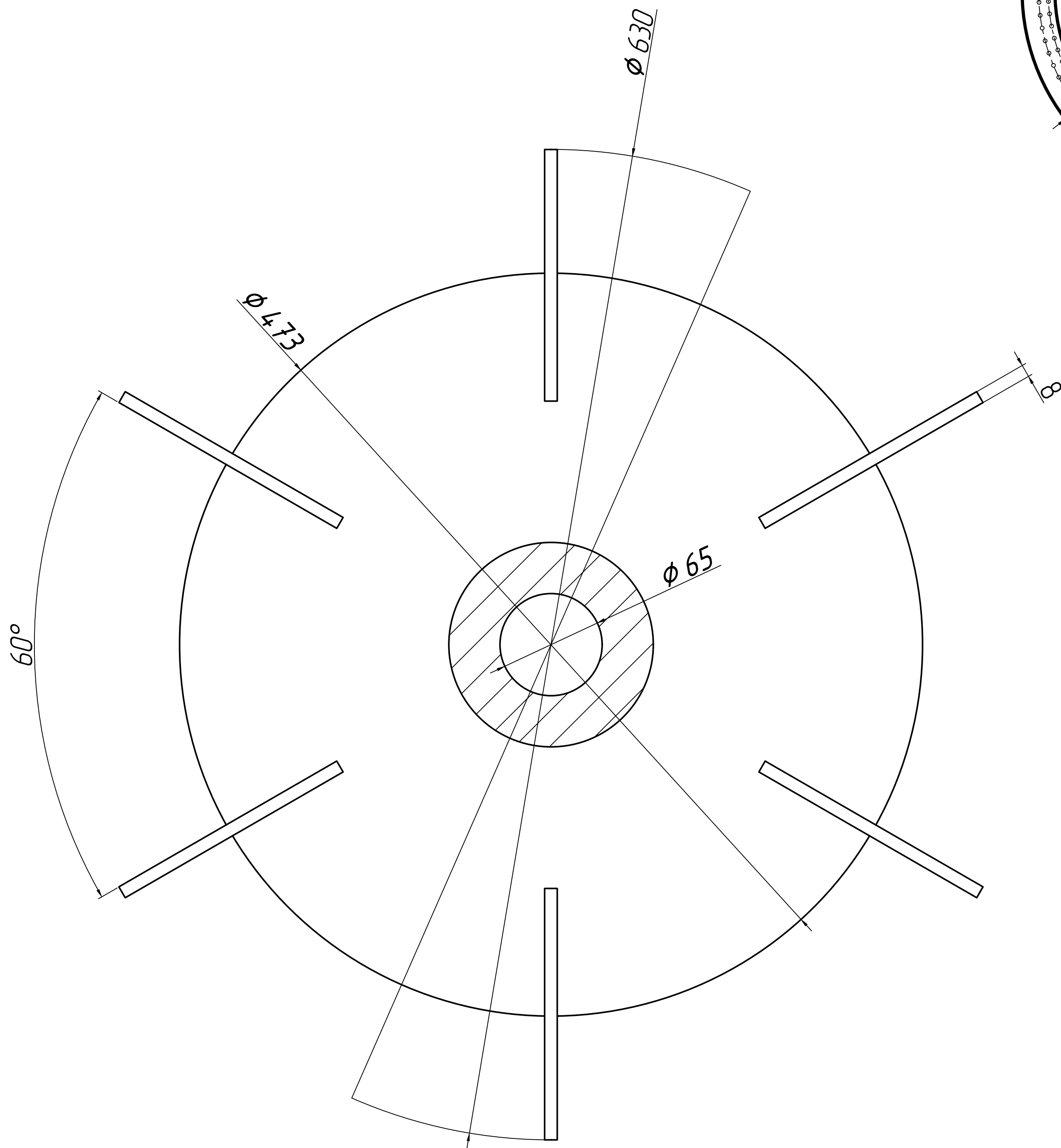
Технічні вимоги

1. Апарат повинен відповідати: «Правилам устрою і безпечної експлуатації ємностей, що працюють під тиском».
2. Перед запуском у роботу необхідно провести гідравлічне випробування апарату на міцність тиском Р=0,3 МПа.
3. Зварні шви необхідно контролювати методом рентгенопрoсвічування або УЗД.
4. Призначення штуцерів – див. таблицю штуцерів.
5. Граничні відхилення на виліт штуцерів – 10 мм.

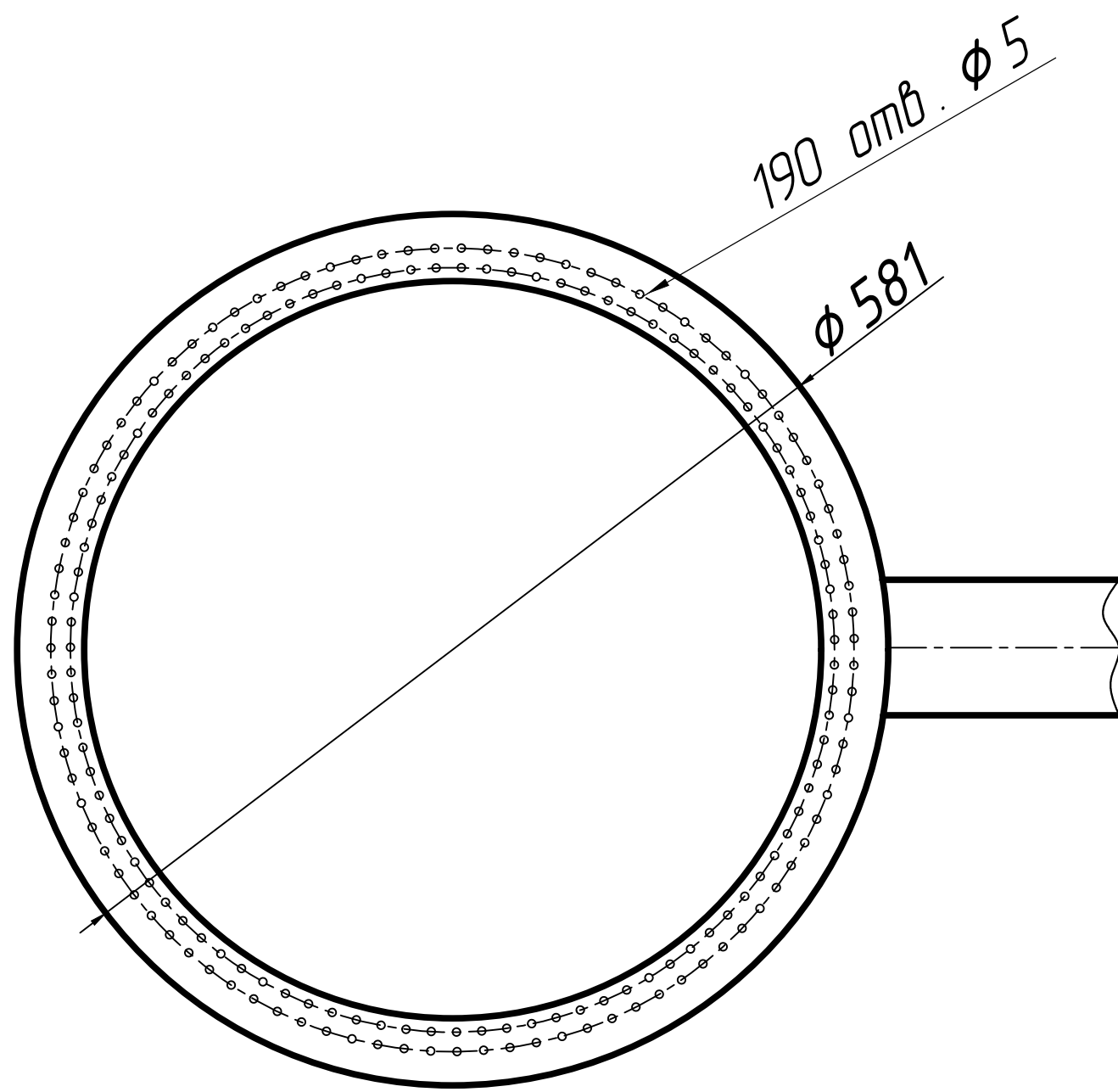
Складові апарату

Поз.	Позначення	Найменування	Кільк	Маса 1 шт.	Найменування і марка матеріалу	Примітка
1		Електродвигун	1		Сталь 12Х18Н10Т	
2		Кришка еліптична	1		Сталь 12Х18Н10Т	
3		Днище еліптичне	1		Сталь 12Х18Н10Т	
4		Корпус	1		Сталь 12Х18Н10Т	
5		Сальник	1		Сталь 12Х18Н10Т	
6		Редуктор	1		Сталь 12Х18Н10Т	
7		Сорочка	1		Сталь 12Х18Н10Т	
8		Вал мішалки	1		Сталь Ст3сп4	
9		Мішалка турбінна	1		Сталь 12Х18Н10Т	
10		Труба передавлювання	1		Сталь 12Х18Н10Т	
11		Барботер кільцевий	1		Сталь 12Х18Н10Т	
12		Перегородка віддівна	4		Сталь 12Х18Н10Т	
13		Муфта	1		Сталь 12Х18Н10Т	
14		Нижнє кріплення валу	1		Сталь 12Х18Н10Т	
15		Ущільнення	1		Гума	
16		Фланець	1		Сталь 12Х18Н10Т	
17		Опора –стіюка	4		Сталь 12Х18Н10Т	
18		Гайка М 30	80		Сталь 12Х18Н10Т	
19		Болт М 30	80		Сталь 12Х18Н10Т	
20		Штуцер	18		Сталь 12Х18Н10Т	

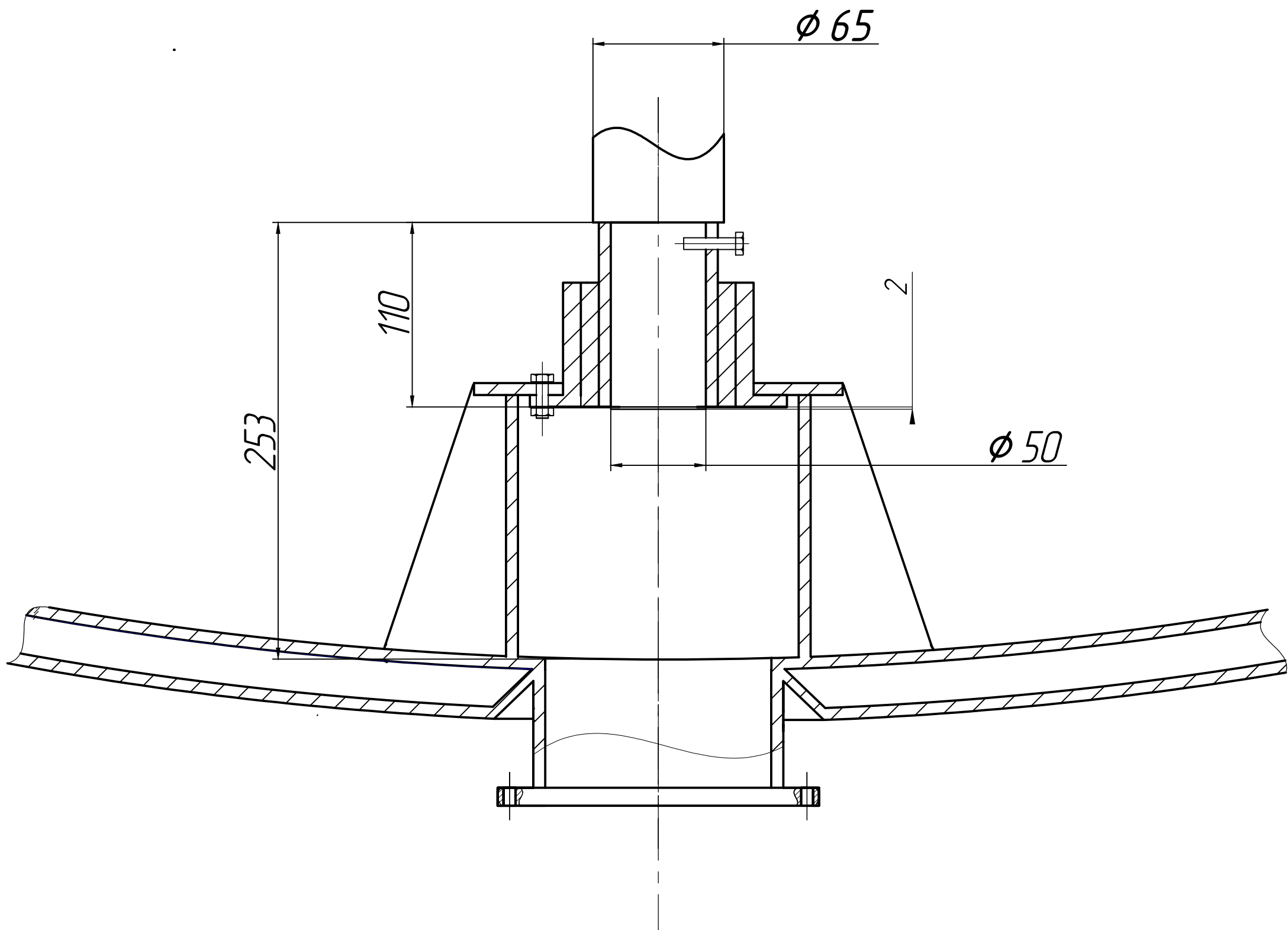
Б (1:2)



В (1:4)



Д (1:2)



Г (1:2)

