

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

До захисту допущено:

Завідувач кафедри

_____ Вікторія МЕЛЬНИК
(підпис)

« ____ » _____ 20 ____ р.

**Дипломний проєкт
на здобуття ступеня бакалавра
за освітньо-професійною програмою «Біотехнології»
спеціальності 162 Біотехнології та біоінженерія
на тему: «Лінія виробництва пробіотичного препарату «Лактобактерин».
Дільниця ліофілізації мікробної біомаси»**

Виконала:

студентка IV курсу, групи БІ-21

Пономаренко Олександра Сергіївна _____

Керівник:

Асистент кафедри біотехніки та інженерії

Косова Віра Петрівна _____

Консультант з Розділу 4. Технологічна частина:

Старший викладач кафедри промислової біотехнології та біофармації

Тітова Лариса Олександрівна _____

Рецензент:

Доцент кафедри промислової біотехнології та біофармації

Клочко Віталій Вікторович _____

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

Студентка _____

Київ – 2026 року

ВІДОМІСТЬ ДИПЛОМНОГО ПРОЄКТУ

№ з/п	Формат	Позначення	Найменування	Кількість листів	Примітка
1	A4		Завдання на дипломний проєкт	2	
2	A4	ДП БІ-2109.00 ПЗ	Пояснювальна записка	116	
3	A1	ДП БІ-2109.01 ТС	Технологічна схема	2	
4	A1	ДП БІ-2109.02 АС	Апаратурна схема	2	
5	A1	ДП БІ-2109.03 КА	Сублімаційна сушарка	1	

				ДП БІ-2109.00 ВДП		
	ПІБ	Підп.	Дата	Відомість дипломного проєкту	Лист	Листів
Розробн.	Понамаренко О.С.				1	1
Керівн.	Косова В.П.					
Консульт.	Тітова Л.О.					
Н/контр.						
Зав.каф.	Мельник В.М.				КПІ ім. Ізгоря Сікарського Каф. БТБІ Гр. БІ-21	

Пояснювальна записка
до дипломного проєкту
на тему: «Лінія виробництва пробіотичного препарату
«Лактобактерин». Стадія ліофілізації мікробної біомаси»

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
(підпис)

«___» _____ 20__ р.

ЗАВДАННЯ

на дипломний проєкт студенту

Пономаренко Олександрі Сергіївні

1. Тема проєкту «Лінія виробництва пробіотичного препарату "Лактобактерин". Дільниця ліофілізації мікробної біомаси», керівник проєкту Косова Віра Петрівна, асистент кафедри біотехніки та інженерії, затверджені наказом по університету від «___» _____ 20__ р. №_____.
2. Термін подання студентом проєкту «___» _____ 20__ року.
3. Вихідні дані до проєкту: готовий продукт – ліофілізований пробіотичний препарат «Лактобактерин» у флаконах. Продуцент – *Lactiplantibacillus plantarum* 8P-A3. Вміст життєздатних клітин – не менше 2×10^9 КУО в одній дозі препарату. Продуктивність дільниці визначається відповідно до розрахункової потужності виробництва.
4. Зміст пояснювальної записки: охарактеризувати кінцевий продукт виробництва – пробіотичний препарат «Лактобактерин»; обґрунтувати вибір продуцента *Lactiplantibacillus plantarum* 8P-A3 та технології виробництва препарату; охарактеризувати біологічний агент як об'єкт промислового культивування; навести схеми біохімічних перетворень під час біосинтезу; охарактеризувати сировину, поживні середовища, допоміжні речовини та кріопротектори; описати технологічний процес виробництва; скласти матеріальний баланс виробництва; розробити технологічну та апаратурну схеми виробництва; провести технологічні та конструктивні розрахунки сублімаційної сушарки; розробити креслення загального виду сублімаційної сушарки.

5. Перелік графічного матеріалу: технологічна схема – 2 арк. А1, апаратурна схема – 2 арк. А1, креслення сублимаційної сушарки загально виду – 1 арк. А1, презентація.

6. Консультанти розділів проекту

Розділ	Прізвище, ініціали та посада консультанта	Підпис, дата	
		Завдання видав	Завдання прийняв
Розділ 4	Тітова Лариса Олександрівна Старший викладач кафедри промислової біотехнології та біофармації		

7. Дата видачі завдання ____ 20__ року

Календарний план

№ з/п	Назва етапів виконання дипломного проекту	Термін виконання етапів проекту	Примітка
1.	Технологічна частина		
2.	Складання технологічної схеми		
3.	Складання апаратурної схеми		
4.	Розрахунок обладнання для проведення технологічного процесу		
5.	Креслення апарату		
6.	Характеристика біологічного агента		
7.	Біохімічні основи виробництва		
8.	Методи отримання промислових продуктів		
9.	Оформлення висновків, вступу та списку джерел		
10.	Подання дипломного проекту на рецензування		
11.	Оформлення доповіді та презентації		
12.	Подання дипломного проекту та рецензії до екзаменаційної комісії		

Студентка

Олександра ПОНОМАРЕНКО

Керівник

Віра КОСОВА

РЕФЕРАТ

Дипломний проєкт містить 116 с., 6 рис., 6 табл., 64 джерел та 5 аркушів з кресленнями формату А1.

Дипломний проєкт присвячений розробці лінії виробництва пробіотичного препарату «Лактобактерин» з проєктуванням дільниці ліофілізації мікробної біомаси.

Наведено характеристику цільового продукту – ліофілізованого пробіотичного препарату «Лактобактерин», діючою речовиною якого є живі клітини *Lactiplantibacillus plantarum* 8P-A3. Одна доза препарату містить не менше 2×10^9 КУО життєздатних лактобактерій. Обґрунтовано вибір штаму-продуцента *Lactiplantibacillus plantarum* 8P-A3, який характеризується високою антагоністичною активністю, здатністю до інтенсивного накопичення біомаси та стійкістю до ліофілізації.

Розглянуто технологію виробництва препарату, охарактеризовано біологічний агент, склад поживних середовищ та основні стадії технологічного процесу. Особливу увагу приділено процесу ліофілізації, який забезпечує збереження життєздатності мікроорганізмів і стабільність готового препарату під час зберігання.

Складено матеріальний баланс виробництва, розроблено технологічну та апаратурну схеми. Виконано технологічні та конструктивні розрахунки основного обладнання дільниці ліофілізації та розроблено креслення ліофільної сушарки загального виду.

Практична цінність роботи полягає в удосконаленні технологічних рішень дільниці ліофілізації з метою підвищення якості пробіотичного препарату та ефективності виробництва.

ЛАКТОБАКТЕРИН, LACTIPLANTIBACILLUS PLANTARUM, ПРОБІОТИК, ЛІОФІЛІЗАЦІЯ, МІКРОБНА БІОМАСА, СУБЛІМАЦІЙНЕ СУШІННЯ

					ДП БІ-2109.00 ПЗ		
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата			
Розроб.		Пономаренко О.С.			РЕФЕРАТ	Стадія	Арк.
Конс.							4
							116
Керівн.		Косова В.П.				КПІ ім. Ігоря Сікорського ФБТ	

ABSTRACT

The diploma project includes 116 pages, 6 figures, 6 tables, 64 references, and 5 A1-sized sheets of technical drawings.

The diploma project is devoted to the development of a production line for the probiotic preparation “Lactobacterin” with the design of a microbial biomass lyophilization unit.

The characteristics of the target product, the lyophilized probiotic preparation “Lactobacterin”, are presented. The active ingredient of the preparation is viable cells of *Lactiplantibacillus plantarum* 8P-A3. One dose contains not less than 2×10^9 CFU of viable lactobacilli. The choice of the producer strain *Lactiplantibacillus plantarum* 8P-A3 was substantiated due to its high antagonistic activity, intensive biomass accumulation, and resistance to the lyophilization process.

The production technology of the preparation was considered, and the biological agent, nutrient media composition, and main stages of the technological process were characterized. Special attention was paid to the lyophilization process, which ensures the preservation of microbial viability and the stability of the final product during storage.

A material balance of the production process was developed, and technological and equipment flow diagrams were designed. Technological and engineering calculations of the main equipment of the lyophilization unit were performed, and a general arrangement drawing of the freeze dryer was developed.

The practical significance of the project lies in the improvement of technological solutions for the lyophilization unit aimed at enhancing the quality of the probiotic preparation and increasing production efficiency.

LACTOBACTERIN, LACTIPLANTIBACILLUS PLANTARUM,
PROBIOTIC, LYOPHILIZATION, MICROBIAL BIOMASS, FREEZE-DRYING

					ДП БІ-2109.00 ПЗ		
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата			
Розроб.		Пономаренко О.С.			ABSTRACT	Стадія	Арк.
Конс.							5
						Аркушів	116
Керівн.		Косова В.П.				КПІ ім. Ізгоря Сікорського ФБТ	

ЗМІСТ

РЕФЕРАТ.....	4
ABSTRACT.....	5
ВСТУП.....	9
РОЗДІЛ 1. ХАРАКТЕРИСТИКА КІНЦЕВОГО ПРОДУКТУ ТА БІОЛОГІЧНОГО АГЕНТА.....	10
1.1 Загальний опис кінцевої продукції виробництва	10
1.2 Основні промислові продуценти	12
1.3 Характеристика біологічного агента.....	13
1.3.1 Морфолого-цитологічні ознаки.....	14
1.3.2 Культуральні ознаки	15
1.3.3 Фізіолого-біохімічні ознаки.....	16
1.3.4. Поширення продуцента в природі.....	17
РОЗДІЛ 2 БІОХІМІЧНІ ОСНОВИ ВИРОБНИЦТВА.....	19
2.1 Характеристика цільового продукту	19
2.2. Схема перебігу процесів	19
2.3. Механізми впливу цільового продукту на біохімічні процеси.....	21
РОЗДІЛ 3 МЕТОДИ ОТРИМАННЯ ПРОМИСЛОВИХ ПРОДУЦЕНТІВ.....	24
3.1 Генетична вивченість біологічного об'єкту	24
3.2. Методи створення високопродуктивного промислового продуценту	25
3.3 Схема отримання продуцента, що використовується в роботі.....	27
РОЗДІЛ 4 ТЕХНОЛОГІЧНА ЧАСТИНА	30
4.1. Характеристика цільового продукту	30
4.2 Характеристика сировини, матеріалів та напівпродуктів, що використовуються у виробництві	32
4.3. Контроль виробництва.....	61
4.4. Опис технологічного процесу	35
4.5. Матеріальний баланс.....	73

					<i>ДП БІ-2109.00 ПЗ</i>		
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата	<i>ЗМІСТ</i>		
Розроб.		Пономаренко О.С.					
Конс.							
Керівн.		Косова В.П.					
					Стадія Арк. Аркушів		
					6 115		
					КПІ ім. Ігоря Сікорського ФБТ		

РОЗДІЛ 5. РОЗРАХУНОК ОБЛАДНАННЯ ДЛЯ ПРОВЕДЕННЯ ТЕХНОЛОГІЧНОГО ПРОЦЕСУ	79
5.1 Обґрунтування вибраної конструкції та принцип дії. Підбір конструкційних матеріалів для окремих елементів апарату	79
5.2. Патентно-літературний огляд	84
5.3. Технологічний розрахунок сублімаційно ї сушарки періодичної дії	87
5.3.1 Визначення основних розмірів сублімаційної камери	87
5.3.2. Розрахунок маси сублімаційної камери	89
5.3.3 Розрахунок теплових витрат.....	91
5.3.4 Розрахунок температури теплоносія на вході та на виході з плит	95
5.3.5 Розрахунок діаметру вакуумного трубопроводу	97
5.3.6 Розрахунок продуктивності апарату	98
5.4. Вибір загальнозаводського обладнання	98
РОЗДІЛ 6. ОХОРОНА ПРАЦІ ТА ОХОРОНА ДОВКІЛЛЯ	103
ВИСНОВКИ	107
ПЕРЕЛІК ПОСИЛАНЬ	109
ДОДАТКИ	116

ВСТУП

У сучасних умовах важливого значення набуває проблема збереження здоров'я населення, що значною мірою залежить від стану мікробіоти організму людини. Під впливом нераціонального харчування, стресів, забруднення навколишнього середовища та широкого застосування антибактеріальних препаратів відбувається порушення мікробного балансу, що може призводити до розвитку дисбіотичних станів та інших патологій [1]. У зв'язку з цим зростає актуальність використання пробіотичних препаратів, які сприяють відновленню нормальної мікрофлори організму.

Серед пробіотичних засобів важливе місце займають препарати на основі лактобактерій – природних представників нормальної мікробіоти людини. Вони беруть участь у процесах травлення, формуванні імунної відповіді та пригніченні розвитку патогенних мікроорганізмів. Одним із найбільш відомих препаратів цієї групи є «Лактобактерин», який застосовується для профілактики та лікування порушень мікрофлори різного походження [2].

Важливою умовою отримання якісних пробіотичних препаратів є збереження життєздатності мікроорганізмів під час виробництва та зберігання. Для цього широко використовують ліофілізацію – метод висушування замороженого матеріалу шляхом сублімації льоду у вакуумі. Даний процес дозволяє мінімізувати пошкодження клітин та забезпечити тривале збереження їх біологічної активності.

Незважаючи на широке застосування ліофілізації, процес характеризується значними енергетичними витратами та потребує ретельного підбору технологічних режимів. Тому актуальним завданням є вдосконалення роботи дільниць ліофілізації з метою підвищення ефективності виробництва та забезпечення стабільної якості готового продукту.

					ДП БІ-2109.00 ПЗ		
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата	ВСТУП		
Розроб.		Пономаренко О.С.					
Конс.							
Керівн.		Косова В.П.					
					Стадія	Арк.	Аркушів
						8	116
					КПІ ім. Ігоря Сікорського ФБТ		

Метою даного дипломного проєкту є розробка та обґрунтування технологічних рішень для дільниці ліофілізації мікробної біомаси у складі лінії виробництва пробіотичного препарату «Лактобактерин».

Об’єкт дослідження – процес ліофілізації мікробної біомаси лактобактерій.

Предмет дослідження – технологічні параметри та інженерні рішення дільниці ліофілізації у виробництві пробіотичного препарату.

Для досягнення поставленої мети необхідно вирішити такі завдання:

- проаналізувати сучасний стан виробництва пробіотичних препаратів та визначити роль лактобактерій у їх складі;
- розглянути технологічні особливості отримання біомаси лактобактерій;
- дослідити теоретичні основи процесу ліофілізації та фактори, що впливають на його ефективність;
- розробити технологічну схему дільниці ліофілізації у складі виробничої лінії;
- виконати технологічні та інженерні розрахунки, необхідні для обґрунтування роботи дільниці;
- оцінити умови безпеки та екологічні аспекти функціонування виробництва.

Отже, реалізація даного дипломного проєкту спрямована на підвищення ефективності виробництва пробіотичного препарату «Лактобактерин» шляхом удосконалення процесу ліофілізації мікробної біомаси та забезпечення високої якості готової продукції.

РОЗДІЛ 1. ХАРАКТЕРИСТИКА КІНЦЕВОГО ПРОДУКТУ ТА БІОЛОГІЧНОГО АГЕНТА

1.1 Загальний опис кінцевої продукції виробництва

Кінцевим продуктом даного виробництва є пробіотичний препарат «Лактобактерин», до складу якого входять живі молочнокислі бактерії роду *Lactiplantibacillus*. Препарат призначений для нормалізації мікрофлори організму людини, профілактики та лікування дисбіотичних станів, а також відновлення природного мікробіоценозу після застосування антибактеріальних препаратів. Препарат належить до монокомпонентних препаратів I покоління, які складаються з одного штаму мікроорганізмів – типових мешканців кишківника [2].

Препарат випускається у різних препаративних формах, основною з яких є ліофілізат для приготування суспензії для перорального застосування. Також Лактобактерин може випускатися у вигляді порошку, капсул, таблеток або супозиторіїв залежно від призначення та способу застосування [3]. Найбільш поширеною формою у біотехнологічному виробництві є саме ліофілізована форма, оскільки вона забезпечує тривале збереження життєздатності мікроорганізмів та стабільність пробіотичних властивостей препарату.

Основу препарату становить ліофілізована біомаса життєздатних молочнокислих бактерій, яка після висушування являє собою суху пористу масу світло-кремового або світло-жовтого кольору зі специфічним запахом. При відновленні водою утворюється однорідна суспензія, придатна для подальшого застосування [3].

Біологічна активність препарату обумовлена властивостями лактобактерій, які здатні синтезувати молочну кислоту, перекис водню, бактеріоцини та інші метаболіти, що пригнічують розвиток патогенних і умовно-патогенних мікроорганізмів. Завдяки цьому Лактобактерин проявляє

					ДП БІ-2109. 00 ПЗ		
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата	РОЗДІЛ 1. ХАРАКТЕРИСТИКА КІНЦЕВОГО ПРОДУКТУ ТА		
Розроб.		Пономаренко О.С.					
Конс.							
Керівн.		Косова В.П.					
					КПІ ім. Ігоря Сікорського ФБТ		
					Стадія	Арк.	Аркушів
						10	116

антагоністичну активність щодо представників родів *Salmonella*, *Shigella*, *Staphylococcus*, *Proteus* та інших небажаних мікроорганізмів [4].

Лактобактерії, що входять до складу препарату, беруть участь у підтриманні нормального функціонального стану мікробіоти організму людини, сприяють покращенню процесів травлення, синтезу окремих вітамінів та формуванню неспецифічного імунного захисту. Завдяки цим властивостям препарат широко застосовується у гастроентерології, гінекології, стоматології та інших галузях медицини.

Одним із найважливіших показників якості пробіотичного препарату є вміст життєздатних клітин у готовому продукті. Для забезпечення високої виживаності мікроорганізмів у технології виробництва Лактобактерину застосовується метод ліофілізації. Сублімаційне сушіння дозволяє видаляти вологу за низьких температур і вакууму, що забезпечує мінімальне пошкодження клітинних структур та збереження біологічної активності бактерій [2].

Ліофілізований препарат характеризується підвищеною стабільністю під час зберігання та транспортування. Для збереження життєздатності молочнокислих бактерій препарат необхідно зберігати у сухому, захищеному від світла місці за зниженої температури. Порушення умов зберігання може призводити до зниження кількості життєздатних клітин та погіршення пробіотичних властивостей препарату.

Лактобактерин належить до безпечних пробіотичних препаратів і характеризується доброю переносимістю. Мікроорганізми, що входять до його складу, мають статус GRAS (Generally Recognized As Safe), тобто вважаються безпечними для використання у харчовій та фармацевтичній промисловості [5].

Таким чином, препарат «Лактобактерин» є ефективним пробіотичним засобом, властивості якого визначаються високою біологічною активністю лактобактерій, здатністю підтримувати нормальний мікробіоценоз організму людини та збереженням життєздатності клітин після ліофілізації.

					ДП БІ-2109.00 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат		11

1.2 Основні промислові продуценти

Лактобактерії відносяться до родини *Lactobacillaceae* *Lactiplantibacillus*. На сьогоднішній день виділено і описано сотні штамів лактобактерій, і багато з них все ще вивчаються або відкриваються. У складі пробіотичних препаратів використовують штами *L.acidophilus*, *L.plantarum*, *L.fermentum*, *L.casei*, *L.rhamnosus* та ін. Дані мікроорганізми являють собою грампозитивні, нерухомі, неспороутворюючі паличкоподібні бактерії, здатні рости в анаеробних або мікроаерофільних умовах.

Lactiplantibacillus acidophilus та *Lacticaseibacillus rhamnosus* не вважаються традиційними виробничими штамми для виробництва Лактобактерину, а застосовуються при створенні комбінованих пробіотичних препаратів, що пов'язано з їхньою технологічними та фізіолого-біохімічними властивостями, зокрема підвищеною вибагливістю до умов культивування, меншою стійкістю до процесу ліофілізації та необхідністю більш жорсткого контролю параметрів виробництва.

Для промислового виробництва препарату найчастіше використовують штами *Lactiplantibacillus plantarum* 8P-A3, *Lactiplantibacillus plantarum* 38, *Lactiplantibacillus fermentum* 90T-C4 та *Lactiplantibacillus fermentum* 39 [2].

За даними досліджень, виробничі штами лактобактерій характеризуються достатньою стійкістю до біологічних рідин організму людини [2, 4]. Зокрема, для *Lactiplantibacillus plantarum* 8P-A3 відзначено високу резистентність до дії шлункового соку та жовчі. Серед штамів виду *Lactiplantibacillus fermentum* найбільшою стійкістю характеризується штам *Lactiplantibacillus fermentum* 90T-C4.

Важливою властивістю пробіотичних культур є їх антагоністична активність щодо патогенної та умовно-патогенної мікрофлори. Встановлено, що найбільш виражену інгібуючу активність мають штами *Lactiplantibacillus plantarum* 8P-A3 та *Lactiplantibacillus fermentum* 90T-C4. У процесі

					ДП БІ-2109.00 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат		12

життєдіяльності дані мікроорганізми утворюють молочну кислоту, перекис водню, бактеріоцини та інші метаболіти, що забезпечують пригнічення розвитку небажаної мікрофлори [4].

Виробничі штами лактобактерій також характеризуються різною чутливістю до антибактеріальних препаратів. Для штамів *Lactiplantibacillus plantarum* 8P-A3 та *Lactiplantibacillus fermentum* 90T-C4 встановлена стійкість до широкого спектра антибіотиків, що є важливою перевагою при застосуванні пробіотичних препаратів на фоні антибіотикотерапії.

Під час вибору продуцента для промислового виробництва особливу увагу приділяють технологічним властивостям штамів. Одним із основних критеріїв є здатність до інтенсивного накопичення біомаси при глибинному культивуванні. За результатами досліджень встановлено, що штам *Lactiplantibacillus plantarum* 8P-A3 характеризується більш високим рівнем накопичення біомаси порівняно з іншими виробничими штамами [2].

Важливим етапом виробництва Лактобактерину є ліофілізація мікробної біомаси. У процесі сублімаційного сушіння частина клітин втрачає життєздатність внаслідок дії низьких температур, вакууму та дегідратації. Проте виробничі штами *Lactiplantibacillus plantarum* характеризуються достатньою стійкістю до процесу ліофілізації та зберігають біологічну активність після висушування [6]. Це дозволяє підтримувати необхідну кількість життєздатних клітин у готовому препараті та забезпечує його пробіотичну ефективність.

1.3 Характеристика біологічного агента

У якості біологічного агента для виробництва пробіотичного препарату «Лактобактерин» обрано штам *Lactiplantibacillus plantarum* 8P-A3, який характеризується високою пробіотичною активністю, здатністю до інтенсивного накопичення біомаси та достатньою стійкістю до процесу ліофілізації. Даний штам належить до молочнокислих бактерій і широко використовується у біотехнологічному виробництві пробіотичних препаратів [2].

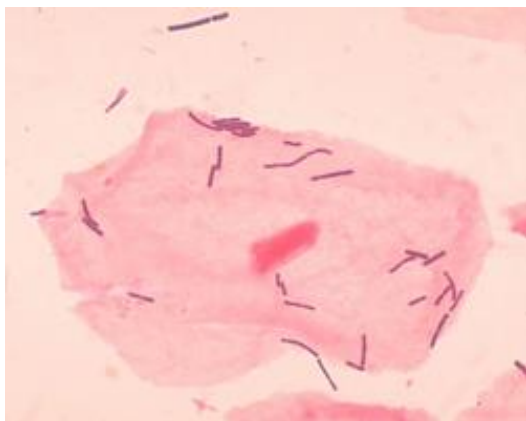
					ДП БІ-2109.00 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат		13

Відповідно до сучасної систематики мікроорганізм займає наступне таксономічне положення:

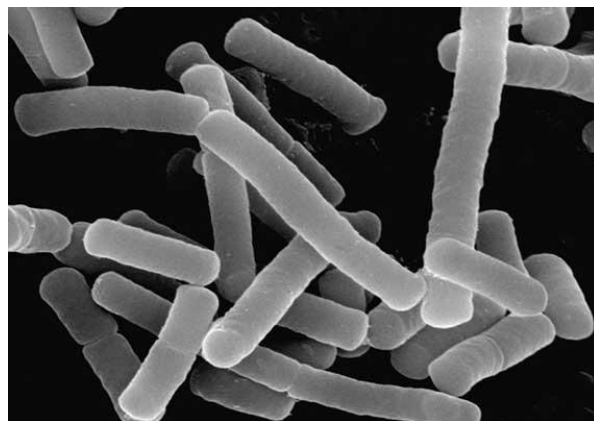
- домен – *Bacteria*;
- царство – *Bacillati*;
- тип – *Bacillota*;
- клас – *Bacilli*;
- порядок – *Lactobacillales*;
- родина – *Lactobacillaceae*;
- рід – *Lactiplantibacillus*;
- вид – *Lactiplantibacillus plantarum*.

1.3.1 Морфолого-цитологічні ознаки

Клітини штаму *Lactiplantibacillus plantarum* 8P-A3 мають паличкоподібну форму із заокругленими кінцями та можуть розташовуватись поодинокі, попарно або у вигляді коротких ланцюжків (рис. 1.1). Розміри клітин зазвичай становлять $0,7\text{--}1,1 \times 3,0\text{--}8,0$ мкм і можуть змінюватися залежно від складу поживного середовища, температури культивування та віку культури [2].



а



б

Рисунок 1.1 – Морфологія клітин *Lactiplantibacillus plantarum* 8P-A3:
а – світлова мікроскопія мазка, забарвленого за Грамом; б – електронно-
мікроскопічне зображення клітин

Даний мікроорганізм належить до грампозитивних бактерій. Клітини є нерухомими, не утворюють спор та капсул і не мають джгутиків. Клітинна стінка

Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат

характеризується щільною однорідною структурою та забезпечує підтримання форми клітини і захист від впливу зовнішніх факторів.

Цитоплазматична мембрана виконує бар'єрну та транспортну функції, бере участь у процесах енергетичного обміну та синтезі клітинних компонентів. У цитоплазмі клітин містяться рибосоми, нуклеоїд та інші внутрішньоклітинні структури, необхідні для забезпечення процесів росту, поділу та синтезу біологічно активних речовин.

Для *Lactiplantibacillus plantarum* характерний прокаріотичний тип організації клітини, при якому генетичний матеріал представлений нуклеоїдом без оформленої ядерної оболонки. Основу клітинної стінки становить пептидоглікановий шар, що є характерною ознакою грампозитивних бактерій та забезпечує механічну стійкість клітини [4].

1.3.2 Культуральні ознаки

Однією з важливих характеристик виробничих штамів молочнокислих бактерій є особливості їх росту на поживних середовищах. Аналіз культуральних властивостей дозволяє оцінити фізіологічний стан культури, ідентифікувати мікроорганізм та визначити його придатність для використання у біотехнологічному виробництві.

При вирощуванні штаму *Lactiplantibacillus plantarum* 8P-A3 на щільних поживних середовищах формуються колонії округлої форми з гладкою поверхнею та чітко вираженим рівним краєм. Колонії мають щільну консистенцію і переважно біле або кремове забарвлення. Залежно від складу поживного середовища та тривалості культивування їх діаметр може змінюватися у межах 1–5 мм.

На середовищах типу MRS-агар та Лактобакагар ріст культури супроводжується утворенням невеликих гладких колоній із випуклим профілем. При використанні агару з гідролізованим молоком спостерігається формування

					ДП БІ-2109.00 ПЗ	Арк.
						15
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат		

сірувато-кремових колоній, розміри яких значною мірою визначаються густотою посіву та умовами інкубації [2].

Штам *Lactiplantibacillus plantarum* 8P-A3 активно ферментує молочний субстрат, унаслідок чого відбувається згортання знежиреного стерильного молока з утворенням однорідного щільного згустку без вираженого виділення сироватки. Накопичення молочної кислоти у процесі росту культури також може проявлятися утворенням зон просвітлення навколо колоній на середовищах, що містять крейду.

У напіврідких середовищах із низьким вмістом агару штам демонструє активний ріст у мікроаерофільних умовах. Характер росту може проявлятися у вигляді рівномірного помутніння середовища, локального накопичення клітин або формування осаду.

При культивуванні у рідких поживних середовищах *Lactiplantibacillus plantarum* 8P-A3 зазвичай викликає рівномірне помутніння культуральної рідини. Після завершення росту на дні посудини формується світлий однорідний осад, тоді як поверхнева плівка, як правило, не утворюється [4].

1.3.3 Фізіолого-біохімічні ознаки

Штам *Lactiplantibacillus plantarum* 8P-A3 належить до молочнокислих бактерій із хемоорганотрофним типом живлення та потребує для росту поживних середовищ, багатих на органічні сполуки. Основними джерелами енергії для даного мікроорганізму є моно- та дисахариди, зокрема глюкоза, галактоза, сахароза та целобіоза. У процесі ферментації вуглеводів штам утворює переважно молочну кислоту, що є характерною ознакою молочнокислого бродіння [2].

Для нормального росту та розвитку *Lactiplantibacillus plantarum* необхідна наявність у поживному середовищі амінокислот, вітамінів, мінеральних речовин та факторів росту. Найчастіше для культивування виробничих штамів використовують поживні середовища типу MRS, середовище Рогоза та інші

					ДП БІ-2109.00 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат		16

спеціалізовані середовища, які містять джерела вуглецю, азоту, дріжджові екстракти та мінеральні компоненти. Використання таких середовищ забезпечує інтенсивне накопичення життєздатної біомаси [2, 4].

У промислових умовах для отримання посівного матеріалу та проведення виробничого біосинтезу застосовують середовища зі збалансованим вуглеводним, азотним та вітамінним складом. До їх компонентів входять глюкоза, пептон, дріжджові автолізати, гідролізати білків, мінеральні солі та допоміжні речовини, що легко засвоюються мікроорганізмом.

За відношенням до кисню *Lactiplantibacillus plantarum* 8P-A3 є факультативним анаеробом та здатний розвиватися як в умовах обмеженого доступу кисню, так і при його наявності. Оптимальна температура росту становить близько 37 °С, а найбільш сприятливе значення рН знаходиться у межах 6,0–6,8. Ріст мікроорганізму можливий у температурному діапазоні від 20 до 45 °С [2].

Метаболізм штаму має бродильний характер. Основним кінцевим продуктом ферментації є молочна кислота. Для *Lactiplantibacillus plantarum* характерна висока ферментативна активність та здатність ефективно засвоювати компоненти поживного середовища, що забезпечує активне накопичення біомаси під час культивування [4].

Важливою властивістю виробничого штаму є його стійкість до ряду антибактеріальних препаратів, що дозволяє використовувати пробіотичні препарати на основі лактобактерій під час антибіотикотерапії. Крім того, штам характеризується достатньою технологічною стабільністю та здатністю зберігати життєздатність після процесу ліофілізації, що має важливе значення для виробництва препарату «Лактобактерин» [2, 6].

1.3.4. Поширення продуцента в природі

Бактерії виду *Lactiplantibacillus plantarum* є широко розповсюдженими представниками молочнокислої мікрофлори та зустрічаються у різноманітних

					ДП БІ-2109.00 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат		17

природних середовищах. Дані мікроорганізми входять до складу нормальної мікробіоти організму людини та тварин, зокрема виявляються у шлунково-кишковому тракті, ротовій порожнині та на слизових оболонках [4].

Значне поширення *Lactiplantibacillus plantarum* спостерігається у рослинному середовищі. Мікроорганізм часто ізолюють із поверхні овочів, фруктів, зернових культур, силосу та рослинної сировини, багатой на вуглеводи. Завдяки здатності активно ферментувати цукри штам добре адаптується до рослинних субстратів та бере участь у процесах природного молочнокислого бродіння.

Представники виду *Lactiplantibacillus plantarum* широко зустрічаються у ферментованих харчових продуктах, зокрема кисломолочній продукції, квашених овочах, заквасках та продуктах спонтанного бродіння. Їх присутність сприяє накопиченню органічних кислот та пригніченню розвитку сторонньої мікрофлори [2].

Завдяки високій адаптивності до різних умов середовища, стійкості до змін кислотності та здатності ефективно використовувати широкий спектр поживних речовин *Lactiplantibacillus plantarum* успішно застосовується у харчовій, фармацевтичній та біотехнологічній промисловості як продуцент пробіотичних препаратів [5].

Отже, фізіолого-біохімічні властивості штаму *Lactiplantibacillus plantarum* забезпечують його ефективне використання у виробництві пробіотичних препаратів. Стійкість клітин до дії стресових факторів сприяє збереженню їх функціональної активності після сублімаційного сушіння.

					ДП БІ-2109.00 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат		18

РОЗДІЛ 2 БІОХІМІЧНІ ОСНОВИ ВИРОБНИЦТВА

2.1 Характеристика цільового продукту

Цільовим продуктом даного біотехнологічного виробництва є мікробна біомаса життєздатних клітин *Lactiplantibacillus plantarum* 8P-A3, отримана у процесі культивування на поживних середовищах. Основною вимогою до цільового продукту є висока концентрація життєздатних клітин, збереження пробіотичних властивостей та стабільність фізіолого-біохімічних характеристик [2].

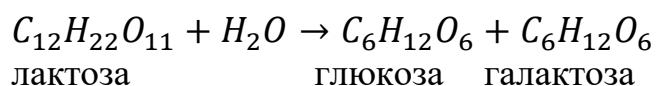
Важливими показниками якості мікробної біомаси є активність молочнокислого бродіння, інтенсивність накопичення біомаси та антагоністична активність щодо патогенних мікроорганізмів [4]. Значну роль також відіграє фізіологічний стан клітин, оскільки від нього залежить стійкість мікроорганізмів до процесів заморожування та сублімаційного сушіння [6].

Отримана мікробна біомаса повинна характеризуватись високою життєздатністю, мікробіологічною чистотою та здатністю зберігати біологічну активність після ліофілізації. Це є важливою умовою отримання стабільного пробіотичного препарату з високим вмістом життєздатних клітин.

2.2. Схема перебігу процесів

Основним джерелом вуглецю та енергії під час культивування *Lactiplantibacillus plantarum* 8P-A3 є вуглеводи поживного середовища, зокрема лактоза, що може надходити у складі молочної або сирної сироватки. Для засвоєння клітинами лактоза попередньо піддається ферментативному гідролізу за участю β -галактозидази з утворенням глюкози та галактози [7].

Схему гідролізу лактози можна представити у вигляді:



					ДП БІ-2109.00 ПЗ		
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата			
Розроб.		Пономаренко О.С.			РОЗДІЛ 2. БІОХІМІЧНІ ОСНОВИ ВИРОБНИЦТВА	Стадія	Арк.
Конс.							19
						Аркушів	116
Керівн.		Косова В.П.				КПІ ім. Ігоря Сікорського ФБТ	

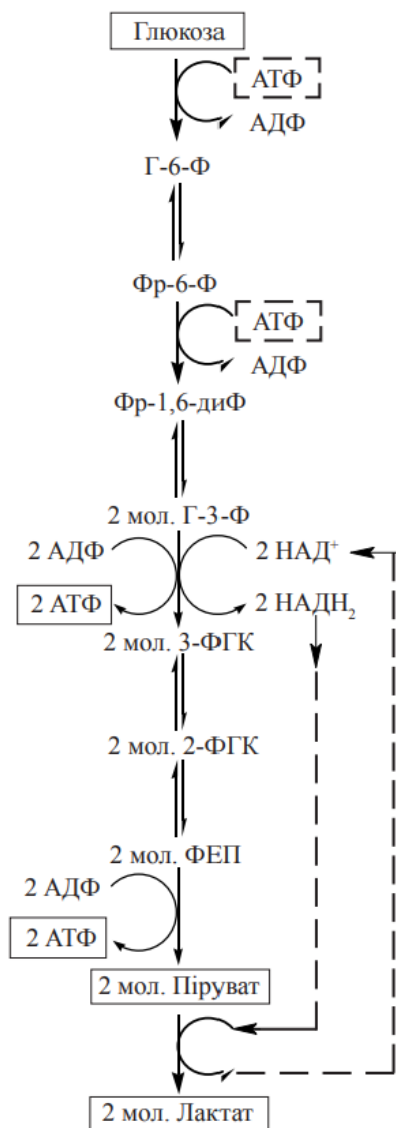


Рисунок 2.1 – Метаболічна карта гліколізу

Утворена глюкоза далі включається у процес анаеробного гліколізу – шлях Ембдена–Мейєргофа–Парнаса (рис. 2.1.), у ході якого відбувається її послідовне перетворення до пірувату з утворенням енергії у вигляді АТФ, яка необхідна для росту і функціонування клітин.

На першому етапі молекула глюкози за участю ферменту гексокінази фосфорилується з утворенням глюкозо-6-фосфату. Дана реакція супроводжується витратою однієї молекули АТФ. Далі глюкозо-6-фосфат під дією глюкозо-6-фосфатізомерази перетворюється на фруктозо-6-фосфат.

Наступною стадією є фосфорилування фруктозо-6-фосфату ферментом фосфофруктокіназою з утворенням фруктозо-1,6-дифосфату. Для здійснення реакції також використовується одна молекула АТФ.

Під дією ферменту фруктозобісфосфатальдолази фруктозо-1,6-

дифосфат розщеплюється на дві тривуглецеві сполуки – гліцеральдегід-3-фосфат та діоксиацетонфосфат. Діоксиацетонфосфат у подальшому ізомеризується до гліцеральдегід-3-фосфату, тому наступні реакції відбуваються вже для двох молекул гліцеральдегід-3-фосфату.

На етапі окиснення гліцеральдегід-3-фосфат за участю гліцеральдегід-3-фосфатдегідрогенази перетворюється на 1,3-дифосфогліцерат. У процесі реакції відбувається відновлення НАД⁺ до НАДН₂.

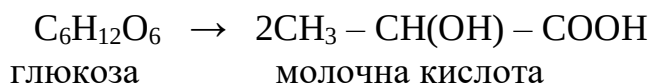
Далі 1,3-дифосфогліцерат під дією фосфогліцераткінази перетворюється на 3-фосфогліцерат із одночасним синтезом АТФ. Наступні реакції включають

ізомеризацію 3-фосфогліцерату на 2-фосфогліцерат та його дегідратацію з утворенням фосфоенолпірувату під дією енолази.

Заключною реакцією гліколізу є перетворення фосфоенолпірувату на піруват за участю ферменту піруваткінази. При цьому також синтезується АТФ. В анаеробних умовах піруват відновлюється до молочної кислоти під дією ферменту лактатдегідрогенази [7].

У результаті даної реакції відбувається регенерація НАД⁺, необхідного для подальшого перебігу гліколізу. Кінцевим продуктом анаеробного метаболізму є молочна кислота, накопичення якої призводить до зниження рН культурального середовища.

Рівняння реакції молочно-кислого бродіння:



Таким чином, особливості перебігу молочнокислого бродіння забезпечують активне накопичення мікробної біомаси та формування фізіологічно активних клітин. Від фізіологічного стану культури значною мірою залежить ефективність подальшої ліофілізації та рівень виживаності мікроорганізмів після висушування.

2.3. Механізми впливу цільового продукту на біохімічні процеси

Пробіотичний препарат «Лактобактерин» проявляє комплексний вплив на біохімічні процеси організму людини завдяки метаболічній активності молочнокислих бактерій *Lactiplantibacillus plantarum* 8P-A3. Основна дія препарату пов'язана з нормалізацією складу кишкової мікрофлори, пригніченням розвитку патогенних мікроорганізмів та підтриманням функціонального стану слизової оболонки кишечника.

Після потрапляння до шлунково-кишкового тракту клітини *Lactiplantibacillus plantarum* адсорбуються на поверхні епітелію кишечника, формуючи додатковий захисний шар. Завдяки високій адгезивній здатності лактобактерії конкурують із патогенною мікрофлорою за поживні речовини та рецепторні ділянки епітеліальних клітин, що ускладнює колонізацію кишечника небажаними мікроорганізмами [8].

Одним із ключових механізмів антагоністичної дії препарату є утворення молочної кислоти в процесі молочнокислого бродіння. Накопичення органічних кислот супроводжується зниженням рН середовища кишечника, що створює несприятливі умови для розвитку багатьох патогенних і умовно-патогенних бактерій [2]. Окрім молочної кислоти, *Lactiplantibacillus plantarum* здатний синтезувати перекис водню, діацетил та інші антимікробні сполуки.

Важливу роль у механізмі дії препарату відіграють бактеріюцини – низькомолекулярні білкові речовини з вираженими антибактеріальними властивостями. Для штамів *Lactiplantibacillus plantarum* характерним є синтез плантарицинів, які порушують проникність цитоплазматичної мембрани клітин-мішеней. У результаті цього відбувається вихід іонів та низькомолекулярних сполук із клітини, що призводить до пригнічення росту або загибелі чутливих мікроорганізмів [9].

Під час життєдіяльності лактобактерій утворюються коротколанцюгові жирні кислоти, які беруть участь у регуляції обмінних процесів у кишечнику. Дані сполуки є додатковим джерелом енергії для епітеліальних клітин товстого кишечника, сприяють підтриманню цілісності слизової оболонки та позитивно впливають на процеси всмоктування поживних речовин [10].

Lactiplantibacillus plantarum також продукує ряд ферментів, які беруть участь у розщепленні вуглеводів та інших органічних сполук. Завдяки цьому покращуються процеси травлення та засвоєння окремих компонентів їжі. Крім того, лактобактерії здатні брати участь у синтезі деяких вітамінів групи В та інших біологічно активних речовин [2].

Однією з важливих властивостей препарату є його вплив на імунну систему організму. Лактобактерії стимулюють активність макрофагів та інших клітин неспецифічного імунного захисту, сприяють підвищенню рівня секреторного імуноглобуліну А та регуляції місцевих імунних реакцій слизових оболонок [8].

Крім антимікробної та імуномодулювальної дії, представники роду *Lactiplantibacillus* беруть участь у процесах детоксикації, зв'язуючи окремі

					ДП БІ-2109.00 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат		22

токсичні сполуки та продукти метаболізму. Це сприяє підтриманню стабільності кишкового мікробіоценозу та зниженню токсичного навантаження на організм [10].

Отже, ефективність препарату «Лактобактерин» безпосередньо залежить від збереження життєздатності та метаболічної активності клітин *Lactiplantibacillus plantarum*. Тому забезпечення високої виживаності мікроорганізмів після ліофілізації є важливою умовою отримання якісного пробіотичного препарату.

					ДП БІ-2109.00 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат		23

РОЗДІЛ 3 МЕТОДИ ОТРИМАННЯ ПРОМИСЛОВИХ ПРОДУЦЕНТІВ

3.1 Генетична вивченість біологічного об'єкту

Штам *Lactiplantibacillus plantarum* 8P-A3 належить до представників молочнокислих бактерій, генетичні особливості яких є достатньо добре вивченими завдяки розвитку сучасних методів молекулярної біології та секвенування геномів. Представники виду *Lactiplantibacillus plantarum* характеризуються одним із найбільших геномів серед молочнокислих бактерій, що обумовлює їх високу метаболічну активність та здатність адаптуватися до різноманітних умов середовища [11].

Геном *Lactiplantibacillus plantarum* представлений однією кільцевою хромосомою розміром близько 3,3 млн пар нуклеотидів. Вміст пар гуанін–цитозин (G+C) становить у середньому 44–45 %, що характерно для грампозитивних бактерій з низьким рівнем G+C [11]. У геномі представників даного виду виявлено понад 3000 генів, значна частина яких відповідає за транспорт і метаболізм вуглеводів, синтез білків, регуляцію клітинного метаболізму та адаптацію до стресових факторів [12].

Для представників виду *Lactiplantibacillus plantarum* характерна наявність плазмідних елементів різного розміру, які можуть містити гени, пов'язані зі стійкістю до несприятливих факторів середовища, синтезом антимікробних сполук та регуляцією окремих фізіолого-біохімічних процесів [12]. Наявність плазмід підвищує адаптивні можливості мікроорганізму та забезпечує стабільність його властивостей під час промислового культивування.

Однією з важливих генетичних особливостей *Lactiplantibacillus plantarum* є наявність великої кількості генів, відповідальних за транспорт і засвоєння вуглеводів. У геномі представників даного виду виявлено понад 25 генів фосфотрансферазної системи (PTS-системи), що забезпечують транспорт і фосфорилування різних цукрів [14]. Завдяки цьому штам здатний ефективно використовувати широкий спектр вуглеводних субстратів та підтримувати

					ДП БІ-2109.00 ПЗ		
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата			
Розроб.		Пономаренко О.С.			РОЗДІЛ 3. МЕТОДИ ОТРИМАННЯ ПРОМИСЛОВИХ ПРОДУЦЕНТІВ	Стадія	Арк.
Конс.							Аркушів
							24
							116
Керівн.		Косова В.П.			КПІ ім. Ігоря Сікорського ФБТ		

інтенсивний перебіг молочнокислого бродіння.

Гени, які кодують ферменти гліколізу та молочнокислого бродіння, організовані у функціональні кластери, що забезпечують узгоджену регуляцію енергетичного метаболізму клітини. Це дозволяє мікроорганізму швидко адаптуватися до змін складу поживного середовища та підтримувати стабільний рівень синтезу молочної кислоти [11].

У геномі *Lactiplantibacillus plantarum* також виявлено кластери генів, що відповідають за синтез бактеріоцинів, зокрема плантарицинів. Дані антимікробні сполуки пригнічують розвиток патогенних та умовно-патогенних мікроорганізмів шляхом порушення проникності їх цитоплазматичних мембран [15]. Наявність генів синтезу бактеріоцинів є важливою ознакою пробіотичних штамів, оскільки забезпечує антагоністичну активність продуцента.

Для промислового використання важливе значення має генетична стабільність штаму. *Lactiplantibacillus plantarum* 8P-A3 характеризується збереженням основних фізіолого-біохімічних властивостей під час багаторазових пересівів та тривалого культивування. Генетична стабільність забезпечує сталість показників росту культури, рівень накопичення біомаси та збереження пробіотичних властивостей готового препарату [2].

Таким чином, генетичні особливості *Lactiplantibacillus plantarum* визначають його адаптаційні можливості та стійкість до технологічних факторів виробництва. Це позитивно впливає на здатність клітин переносити процеси заморожування та сублімаційного висушування.

3.2. Методи створення високопродуктивного промислового продуценту

Створення високопродуктивних промислових продуцентів є важливим етапом у виробництві пробіотичних препаратів. Промислові штами повинні характеризуватись високою швидкістю росту, здатністю до інтенсивного накопичення біомаси, стабільністю фізіолого-біохімічних властивостей та збереженням життєздатності під час технологічної обробки і зберігання препарату. Для пробіотичних мікроорганізмів особливого значення набуває

					ДП БІ-2109.00 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат		25

стійкість клітин до процесів заморожування та висушування, оскільки саме ці фактори значною мірою впливають на ефективність готового препарату [6].

Основними методами створення високопродуктивних промислових продуцентів є:

- відбір природних штамів;
- селекція та адаптація;
- індукований мутагенез;
- використання методів генної інженерії;
- оптимізація умов культивування.

Одним із найпоширеніших методів є *відбір природних штамів мікроорганізмів*. Під час скринінгу проводять дослідження великої кількості ізолятів та відбирають культури, які мають найбільш цінні технологічні та пробіотичні властивості. Для *Lactiplantibacillus plantarum* важливими критеріями є швидкість росту, інтенсивність кислотоутворення та антагоністична активність щодо патогенних мікроорганізмів [4, 13]. Згідно з рекомендаціями FAO/WHO, пробіотичні штами повинні зберігати життєздатність у кислому середовищі та бути стійкими до дії жовчних кислот [5]. Важливою властивістю також є здатність до адгезії на поверхні епітеліальних клітин кишечника [8].

Для покращення властивостей промислових штамів застосовують *методи селекції та адаптації*. Вони базуються на багаторазовому культивуванні мікроорганізмів у певних умовах із подальшим відбором найбільш продуктивних варіантів. У результаті адаптації можливе підвищення швидкості накопичення біомаси, стабілізація фізіологічних властивостей та підвищення стійкості клітин до несприятливих факторів зовнішнього середовища. Для пробіотичних мікроорганізмів важливе значення має адаптація до технологічних процесів заморожування та висушування, оскільки під час ліофілізації клітини зазнають значного стресового впливу [17].

Одним із методів підвищення продуктивності продуцентів є *індукований мутагенез*. Для отримання мутантних форм використовують фізичні або хімічні

					ДП БІ-2109.00 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат		26

мутагени, дія яких спрямована на виникнення спадкових змін у клітинах мікроорганізмів [2]. До фізичних методів належать ультрафіолетове та рентгенівське опромінення, а до хімічних – використання речовин, здатних змінювати генетичний матеріал клітини, таких як нітрозосполуки та етиленімін. Після проведення мутагенезу здійснюють відбір штамів із покращеними технологічними властивостями, зокрема підвищеною швидкістю росту або стійкістю до висушування.

У сучасній біотехнології також використовують *методи генної інженерії*, які дозволяють цілеспрямовано змінювати окремі властивості мікроорганізмів. Завдяки розвитку молекулярно-генетичних досліджень стало можливим детальне вивчення геному *Lactiplantibacillus plantarum* та особливостей його метаболізму [11, 12]. Проте у виробництві пробіотичних препаратів переважно використовують природні або селекційно вдосконалені штами, що пов'язано з вимогами безпечності та стабільності пробіотичних культур [5].

Важливим напрямом підвищення продуктивності промислових продуцентів є *оптимізація умов культивування*. На ріст і накопичення біомаси *Lactiplantibacillus plantarum* значно впливають склад поживного середовища, температура культивування, активна кислотність середовища, тривалість ферментації [4, 16]. Правильно підібрані умови вирощування забезпечують інтенсивне накопичення мікробної біомаси та сприяють підвищенню виживаності клітин під час ліофілізації [17].

Таким чином, використання методів селекції, адаптації та оптимізації умов культивування дозволяє отримати високопродуктивні штами *Lactiplantibacillus plantarum* із підвищеною технологічною стійкістю. Це сприяє зменшенню втрат життєздатних клітин під час ліофілізації мікробної біомаси.

3.3 Схема отримання продуцента, що використовується в роботі

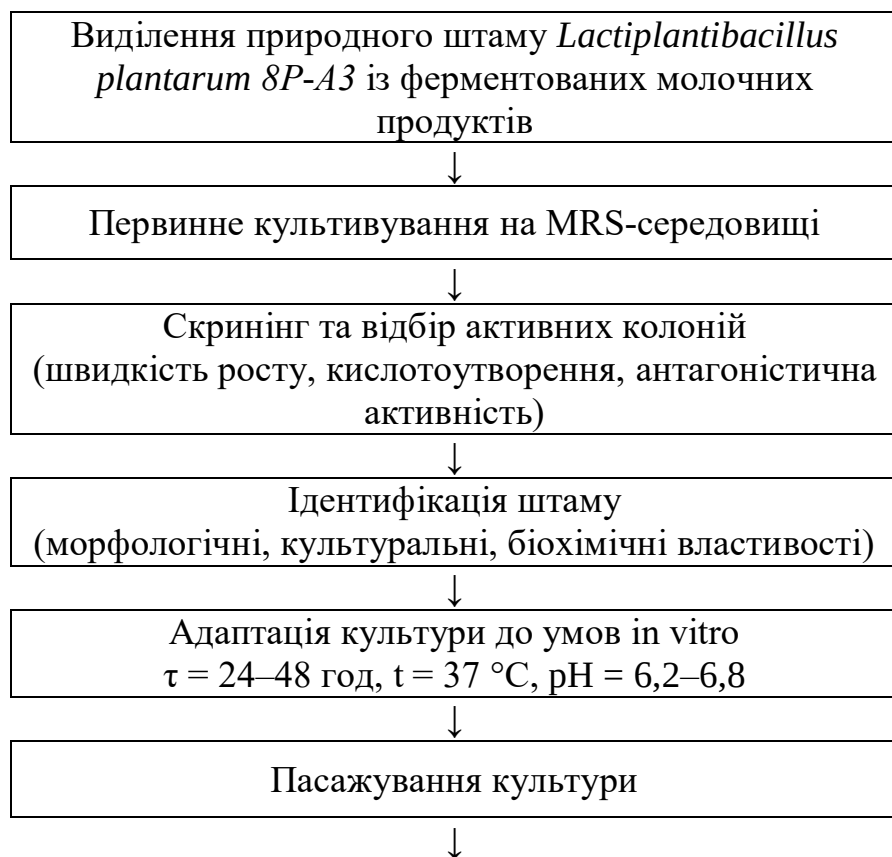
Для виробництва пробіотичного препарату «Лактобактерин» доцільним є використання селекційно-адаптаційного методу отримання промислового продуцента. Даний метод базується на відборі природних штамів мікроорганізмів та їх подальшій адаптації до умов промислового культивування.

					ДП БІ-2109.00 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат		27

Порівняно з методами генної інженерії або індукованого мутагенезу, селекційно-адаптаційний метод є більш безпечним, технологічно доступним та широко застосовується у виробництві пробіотичних препаратів. Його використання дозволяє отримати штами з високою швидкістю росту, стабільними пробіотичними властивостями та підвищеною стійкістю до технологічних факторів, зокрема до процесів заморожування і ліофілізації [6, 17].

Схема отримання продуцента *Lactiplantibacillus plantarum*, що використовується у виробництві препарату «Лактобактерин», включає декілька послідовних етапів:

1. виділення природного штаму,
2. скринінг та відбір активних культур,
3. ідентифікацію мікроорганізму,
4. селекцію та адаптацію штаму,
5. оптимізацію умов культивування,
6. нарощування мікробної біомаси



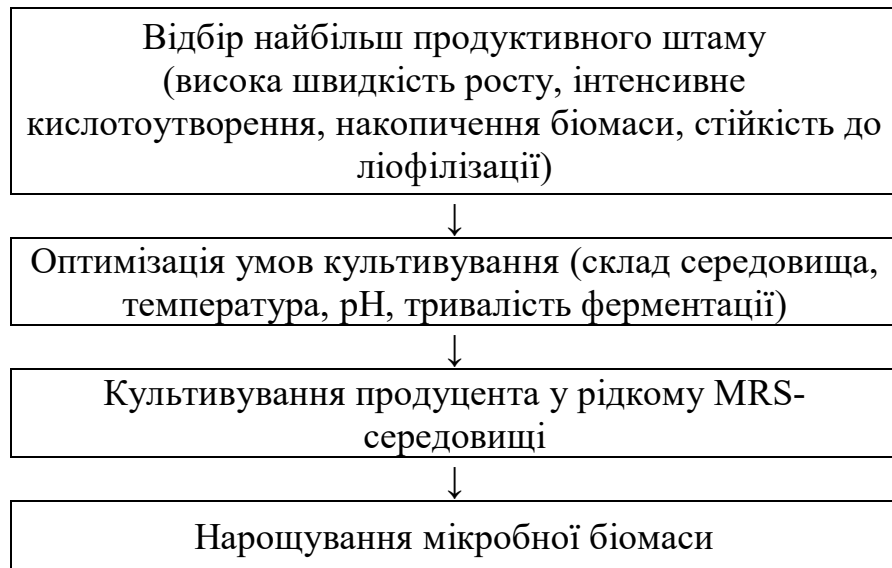


Рисунок. 3.1 – Блок-схема отримання продуцента *Lactiplantibacillus plantarum* 8P-A3 для виробництва препарату «Лактобактерин»

Як показано на рис. 3.1, отримання виробничого штаму *Lactiplantibacillus plantarum* 8P-A3 включає послідовні етапи відбору, адаптації та культивування продуцента. Селекційно-адаптаційний метод отримання продуцента забезпечує формування культури з високою біологічною активністю та стабільними технологічними властивостями. Підготовка продуцента до процесу ліофілізації дозволяє підвищити стійкість клітин до дегідратації та отримати стабільний сухий пробіотичний препарат.

РОЗДІЛ 4 ТЕХНОЛОГІЧНА ЧАСТИНА

4.1. Характеристика цільового продукту

Кінцевим продуктом виробництва є ліофілізований пробіотичний препарат «Лактобактерин», діючою речовиною якого є живі клітини *Lactiplantibacillus plantarum* 8P-A3. В одній дозі препарату повинно міститися не менше $2 \cdot 10^9$ КУО життєздатних молочнокислих бактерій [2].

До складу препарату, окрім основної діючої речовини, входять компоненти стабілізувального середовища сушіння, які забезпечують захист клітин під час ліофілізації та подальшого зберігання готового продукту. У якості стабілізаторів та кріопротекторів використовують:

- сахарозу харчову відповідно до ДСТУ 4623:2006 «Цукор білий. Технічні умови» або цукор дрібнокристалічний згідно з ТУ 15.8-00372658-005-2004 у кількості 7–10 %;
- желатин згідно з ТУ У 15.8-00418030-001:2004 у кількості 0,7–1,0 %;
- молоко сухе знежирене відповідно до ДСТУ 4273:2015 «Молоко та вершки сухі. Загальні технічні умови» у кількості 15–25 % [2].

Вміст основної речовини у готовому продукті становить близько 65–78 %, тоді як допоміжні компоненти складають приблизно 22–35 % загальної маси препарату. Допоміжні речовини виконують функцію захисного середовища та сприяють підвищенню виживаності клітин під час сублімаційного сушіння.

Готовий препарат являє собою суху пористу масу світло-кремового або світло-жовтого кольору без сторонніх механічних домішок. Після розчинення у воді утворюється однорідна суспензія.

Важливим показником якості ліофілізованого препарату є низький залишковий вміст вологи, який зазвичай не повинен перевищувати 5 %. Це забезпечує стабільність препарату та збереження життєздатності клітин під час зберігання.

					ДП БІ-2109.00 ПЗ		
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата	РОЗДІЛ 4. ТЕХНОЛОГІЧНА ЧАСТИНА		
Розроб.		Пономаренко О.С.					
Конс.							
Керівн.		Косова В.П.					
					КПІ ім. Ігоря Сікорського ФБТ		
					Стадія	Арк.	Аркушів
						30	116

Однією з основних вимог до препарату є мікробіологічна чистота. У готовому продукті не допускається наявність патогенної або умовно-патогенної мікрофлори. Контроль мікробіологічних показників здійснюють відповідно до вимог нормативно-технічної документації та фармакопейних методів контролю [2].

Фасування препарату проводять у герметично закупорені флакони або ампули, які забезпечують захист ліофілізованої мікробної біомаси від дії вологи та сторонньої мікрофлори. Вторинним пакуванням є картонна упаковка, маркування якої повинно містити:

- торгову назву препарату,
- лікарську форму,
- склад препарату,
- кількість доз,
- спосіб застосування,
- умови зберігання,
- дату виготовлення,
- термін придатності,
- номер серії,
- реєстраційний номер,
- найменування та адресу виробника,
- елементи ідентифікації та штрихкод [20].

Препарат зберігають у сухому, захищеному від світла місці при температурі від 2 до 10 °С. Транспортування здійснюють із дотриманням холодового ланцюга, що забезпечує збереження життєздатності ліофілізованих клітин протягом усього терміну придатності [3].

Термін придатності готового препарату в нерозкритій оригінальній упаковці виробника становить 2 роки з дати виготовлення. Після розкриття упаковки препарат зберігається не більше 30 днів.

«Лактобактерин» застосовується у медичній практиці як пробіотичний засіб для нормалізації мікрофлори кишечника та профілактики дисбіотичних

					ДП БІ-2109.00 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат		31

станів. Препарат застосовують після попереднього відновлення у кип'яченій охолодженій воді. Після розчинення ліофілізат утворює однорідну суспензію, придатну для перорального застосування.

Кінцевий продукт виробництва – ліофілізований пробіотичний препарат «Лактобактерин» – повинен характеризуватись високим вмістом життєздатних клітин, мікробіологічною чистотою та стабільністю під час зберігання. Використання стабілізувальних середовищ і кріопротекторів дозволяє зменшити пошкодження клітин у процесі заморожування та сублімаційного сушіння, що забезпечує збереження пробіотичних властивостей препарату та високу виживаність молочнокислих бактерій після ліофілізації.

4.2 Характеристика сировини, матеріалів та напівпродуктів, що використовуються у виробництві

Вимоги до якості сировини, матеріалів та напівпродуктів, що використовуються у виробництві «Лактобактерину» наведено у таблиці 4.1.

Таблиця 4.1 – 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. Ліофілізована музейна культура <i>Lactiplantibacillus plantarum</i> 8P-A3	ФС 42-3256-96	Специфічна активність, мікробіологічна чистота	Робоча культура для отримання посівного матеріалу
1.2. Глюкоза	ДФУ, монографія «Глюкоза моногідрат»	Усі показники відповідно до вимог ДФУ	Компонент поживного середовища для культивування
1.3. Пептон ферментативний сухий	Відповідно до НТД виробника	Усі показники відповідно до вимог НТД виробника	Джерело азоту у поживному середовищі

1.4. Дріжджовий екстракт	ДСТУ 4812:2007	Усі показники відповідно до вимог ДСТУ	Компонент поживного середовища
1	2	3	4
1.5. Натрій оцтовокислий 3-водний	ДФУ, монографія «Натрію ацетат тригідрат»	Масова частка $\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ не менше 99 %	Компонент поживного середовища
1.6. Магній сірчаноокислий 7-водний	ДФУ, монографія «Магнію сульфат гептагідрат»	Масова частка $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ не менше 99,5 %	Компонент поживного середовища
1.7. Марганець сірчаноокислий 5-водний	Специфікація виробника, реактив кваліфікації «Ч.д.а.»	Масова частка $\text{MnSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ не менше 96 %	Компонент поживного середовища
1.8. Твін-80	ТУ 6-14-938-79	Усі показники відповідно до вимог ТУ	Компонент поживного середовища
1.9. Молоко коров'яче знежирене	ДСТУ 2661:2010	Усі показники відповідно до вимог ДСТУ	Компонент захисного середовища сушіння
1.10. Желатин харчовий	ДФУ, монографія «Желатин»	Усі показники відповідно до вимог ДФУ	Компонент захисного середовища ліофілізації
1.11. Сахароза	ДСТУ 4623:2006 «Цукор білий. Технічні умови»	Усі показники відповідно до вимог ДСТУ	Кріопротектор та компонент захисного середовища
2. Допоміжна сировина			
2.1. Вода очищена	ДФУ	Відповідність вимогам ДФУ	Для приготування поживних середовищ та технологічних розчинів
2.2. Натрій гідроксид	ДФУ, монографія «Натрію гідроксид»	Масова частка NaOH не менше 42 %	Для регулювання рН середовища
2.3. Кислота соляна	ДФУ, монографія «Кислота хлористоводнева концентрована»	Масова частка HCl не менше 31,5 %	Для регулювання рН середовища

2.4. Перекис водню	ДФУ, монографія «Розчин перекису водню»	Масова частка H_2O_2 30–40 %	Для дезінфекції обладнання та приміщень
2.5. Засоби мийні та дезінфікуючі	Відповідно до НТД виробника	Усі показники відповідно до НТД	Для санітарної обробки обладнання
1	2	3	4
3. Матеріали			
3.1. Флакони скляні	ТУ У 9461-010-00480514-99	Цілісність, герметичність	Для первинного пакування препарату
3.2. Пробки гумові	ТУ У 6-00152253.013-96	Цілісність	Для герметизації флаконів
3.3. Ковпачки алюмінієві	ТУ У 25206109.001-2001	Цілісність	Для закупорювання флаконів
3.4. Коробки картонні	ДСТУ EN ISO 12048:2018	Цілісність	Для вторинного пакування
3.5. Матеріали фільтрувальні	Специфікація виробника	Усі показники відповідно до специфікації виробника	Для фільтрування технологічних розчинів
4. Напівпродукти			
4.1. Культуральна рідина	Технологічний регламент	pH, мікробіологічна чистота	Напівпродукт після культивування
4.2. Концентрована мікробна біомаса	Технологічний регламент	Концентрація життєздатних клітин	Напівпродукт перед стабілізацією
4.3. Стабілізована мікробна біомаса	Технологічний регламент	Життєздатність клітин, однорідність	Напівпродукт перед ліофілізацією
4.4. Ліофілізат	Технологічний регламент	Залишкова вологість, життєздатність клітин	Готовий продукт після сублимаційного сушіння

Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат

ДП БІ-2109.00 ПЗ

Арк.

34

4.3. Опис технологічного процесу

ДР 1 Санітарна підготовка виробництва

Метою стадії є забезпечення асептичних умов виробництва препарату «Лактобактерин», підготовка виробничих приміщень, обладнання та персоналу до проведення технологічного процесу.

ДР 1.1 Приготування миючих та дезінфікуючих розчинів

ДР 1.1.1 Приготування 1 % розчину натрію гідроксиду

У реактор-змішувач об'ємом 50 дм³ подають 45 дм³ води очищеної зі стадії ДР 3.3. При постійному перемішуванні механічною мішалкою зі швидкістю 80–100 об/хв у реактор додають 0,5 кг натрію гідроксиду до повного розчинення компонентів та отримання 1 % миючого розчину.

Готовий миючий розчин направляють на стадії ДР 1.3.1-1.3.2, 1.41, ДР 1.5.1 та ПВ 14. Відпрацьовані миючі розчини направляють на стадію ЗВ 15.

Контроль процесу включає перевірку температури води очищеної (Кт 1.1.1.1), швидкості перемішування (Кт 1.1.1.2), концентрації готового розчину та повноти розчинення натрію гідроксиду (Кх 1.1.1.3).

ДР 1.1.2 Приготування 6 % розчину перекису водню

У ємність-змішувач об'ємом 100 дм³ подають 94 дм³ води очищеної зі стадії ДР 3.3 та додають 6 дм³ 30 % перекису водню. Перемішування проводять механічною мішалкою зі швидкістю 80–100 об/хв до отримання однорідного 6 % дезінфікуючого розчину.

Готовий дезінфікуючий розчин направляють на стадії ДР 1.3.1-1.3.2, ДР 1.4.2 та ПВ 14. Відпрацьовані дезінфікуючі розчини направляють на стадію ЗВ 15.

Контроль процесу включає перевірку температури води очищеної (Кт 1.1.2.1), швидкості перемішування (Кт 1.1.2.2) та концентрації перекису водню у готовому розчині (Кх 1.1.2.3).

ДР 1.1.3 Приготування 70 % розчину етилового спирту

У ємність-змішувач об'ємом 100 дм³ подають 73 дм³ етилового спирту концентрацією 96 % та 27 дм³ води очищеної зі стадії ДР 3.3. Перемішування проводять до отримання однорідного 70 % спиртового розчину.

					ДП БІ-2109.00 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат		35

Готовий 70 % розчин етилового спирту направляють на стадії ДР 1.2, ДР 1.3.1-1.3.2, ДР 1.4.2 та ПВ 14. Відпрацьовані спиртові розчини направляють на стадію ЗВ 14.1.

Контроль процесу включає перевірку температури розчину (Кт 1.1.3.1), швидкості перемішування (Кт 1.1.3.2) та визначення концентрації етилового спирту у готовому розчині спиртометричним методом (Кх 1.1.3.3).

ДР 1.2 Підготовка персоналу

Перед початком роботи персонал проходить санітарну обробку та одягає стерильний технологічний одяг. Руки обробляють 70 % етиловим спиртом приготованим на стадії ДР 1.1.3. Персонал допускається до роботи лише після проходження медичного огляду, інструктажу з техніки безпеки та охорони праці та з правил асептики [21–22].

Використані засоби індивідуального захисту направляють на стадію ЗВ 15.

Контроль процесу включає перевірку наявності медичного допуску персоналу до роботи (Кт 1.2.1), санітарної обробки рук (Кт 1.2.2) та правильності одягання стерильного технологічного одягу (Кт 1.2.3).

ДР 1.3 Підготовка виробничих приміщень

ДР 1.3.1 Щоденне прибирання приміщень

Щоденне прибирання виробничих приміщень проводять перед початком роботи та після завершення технологічного процесу. Для проведення прибирання використовують 1 % розчин натрію гідроксиду зі стадії ДР 1.1.1, 6 % розчин перекису водню зі стадії ДР 1.1.2 та 70 % розчин етилового спирту зі стадії ДР 1.1.3.

Обробку підлоги, стін, робочих поверхонь та технологічного інвентарю проводять методом вологого протирання. Температуру у виробничих приміщеннях підтримують у межах 18–22 °С [21–22].

Відпрацьовані дезінфікуючі розчини направляють на стадію ЗВ 15, використані матеріали – на стадію ПВ 14.

Контроль процесу включає мікробіологічний контроль чистоти поверхонь методом змивів (Км 1.3.1.1).

ДР 1.3.2 Генеральне прибирання приміщень

					ДП БІ-2109.00 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат		36

Генеральне прибирання виробничих приміщень проводять не рідше одного разу на тиждень. Для проведення прибирання використовують 1 % розчин натрію гідроксиду зі стадії ДР 1.1.1, 6 % розчин перекису водню зі стадії ДР 1.1.2.

У процесі генерального прибирання проводять повну обробку виробничих приміщень, вентиляційних решіток, освітлювальних приладів, дверей, стін та технологічного обладнання [21–22].

Відпрацьовані миючі та дезінфікуючі розчини та використані матеріали направляють на стадію ЗВ 15.

Контроль процесу включає мікробіологічний контроль чистоти повітря виробничих приміщень (Км 1.3.2.1) та поверхонь виробничих приміщень (Км 1.3.2.2).

ДР 1.4 Підготовка виробничого обладнання та комунікацій

ДР 1.4.1 Миття обладнання та комунікацій

Технологічне обладнання та комунікації промивають 1 % розчином натрію гідроксиду, отриманим на стадії ДР 1.1.1. Миття проводять при температурі 45–50 °С протягом 30 хв [21].

Після завершення миття обладнання направляють на стадію ДР 1.4.2.

Відпрацьовані миючі розчини направляють на стадію ЗВ 15.

Контроль процесу включає перевірку температури миття (Кт 1.4.1.1) та тривалості обробки (Кт 1.4.1.2).

ДР 1.4.2 Дезінфекція обладнання та комунікацій

Після миття обладнання зі стадії ДР 1.4.1 обробляють 6 % розчином перекису водню зі стадії ДР 1.1.2 та 70 % розчином етилового спирту зі стадії ДР 1.1.3. Дезінфекцію проводять при температурі 20–25 °С протягом 30 хв [21].

Після завершення дезінфекції обладнання направляють на стадію ДР 1.4.3.

Відпрацьовані дезінфікуючі розчини направляють на стадію ЗВ 15.

Контроль процесу включає перевірку температури дезінфекції (Кт 1.4.2.1), тривалості обробки (Кт 1.4.2.2) та мікробіологічний контроль чистоти поверхонь обладнання методом змивів (Км 1.4.2.3).

ДР 1.4.3 Ополіскування обладнання та комунікацій

					ДП БІ-2109.00 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат		37

Після дезінфекції обладнання зі стадії ДР 1.4.2 ополіскують водою очищеною зі стадії ДР 3.4 до нейтрального значення рН промивних вод [21].

Після завершення ополіскування обладнання направляють на стадію ДР 1.4.4.

Промивні води направляють на стадію ЗВ 15.

Контроль процесу включає визначення рН промивних вод (Кх 1.4.3.1).

ДР 1.4.4 Стерилізація обладнання та комунікацій

Після ополіскування обладнання зі стадії ДР 1.4.3 стерилізують гострою водяною парою при температурі 121 °С та тиску 0,11 МПа протягом 30 хв [21].

Після завершення стерилізації стерильне обладнання направляють на стадії ТП 5–10.

Утворений конденсат направляють на стадію ЗВ 15.

Контроль процесу включає перевірку температури стерилізації (Кт 1.4.4.1), тиску пари (Кт 1.4.4.2), тривалості стерилізації (Кт 1.4.4.3) та перевірку стерильності обладнання методом відбору змивів із внутрішніх поверхонь апаратів (Км 1.4.4.4).

ДР 1.5 Підготовка лабораторного посуду та тари

Метою стадії є підготовка стерильного лабораторного посуду та первинної тари для приготування поживних середовищ, отримання посівного матеріалу та фасування стабілізованої мікробної суспензії перед ліофілізацією.

ДР 1.5.1 Миття лабораторного посуду та флаконів

Лабораторний посуд і флакони зі складу промивають 1 % миючим розчином натрію гідроксиду, отриманим на стадії ДР 1.1.1, при температурі 45–50 °С протягом 15 хв. Для ополіскування використовують воду очищену зі стадії ДР 3.4.

Після миття лабораторний посуд і флакони ополіскують водою очищеною до нейтрального значення рН промивних вод [21].

Промитий посуд направляють на стадію ДР 1.5.2. Промивні води направляють на стадію ЗВ 15.

					ДП БІ-2109.00 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат		38

Контроль процесу включає перевірку температури миття (Кт 1.5.1.1), визначення рН промивних вод (Кх 1.5.1.2) та візуальний контроль чистоти лабораторного посуду і флаконів (Кт 1.5.1.3).

ДР 1.5.2 Сушіння лабораторного посуду та флаконів

Промитий лабораторний посуд і флакони зі стадії ДР 1.5.1 висушують стерильним повітрям, отриманим на стадії ДР 2.2.6, при температурі 60–70 °С протягом 20 хв [21].

Висушений лабораторний посуд і флакони направляють на стадію ДР 1.5.3.

Контроль процесу включає перевірку температури сушіння (Кт 1.5.2.1), тривалості сушіння (Кт 1.5.2.2) та відсутності залишкової вологи на поверхні посуду і флаконів (Кт 1.5.2.3).

ДР 1.5.3 Стерилізація лабораторного посуду та флаконів

Висушений лабораторний посуд і флакони зі стадії ДР 1.5.2 стерилізують водяною парою при температурі 121 °С та тиску 0,11 МПа протягом 20 хв.

Після завершення стерилізації посуд і флакони охолоджують в асептичних умовах [21].

Стерильні пробірки направляють на стадію ДР 5.1 для приготування та стерилізації MRS-агару, стерильні колби – на стадію ДР 5.2.1 для приготування рідкого MRS-середовища, а стерильні флакони – на стадію ТП 9 для розливу стабілізованої мікробної суспензії.

Утворений конденсат направляють на стадію ЗВ 15.

Контроль процесу включає перевірку температури стерилізації (Кт 1.5.3.1), тиску пари (Кт 1.5.3.2), тривалості стерилізації (Кт 1.5.3.3) та мікробіологічний контроль стерильності лабораторного посуду та флаконів методом змивів з внутрішньої поверхні (Км 1.5.3.4).

ДР 2 Підготовка повітря

Метою стадії є очищення та знезараження атмосферного повітря, що використовується у процесі культивування, фасування та ліофілізації препарату.

ДР 2.1 Підготовка вентиляційного повітря

ДР 2.1.1 Забір атмосферного повітря

					ДП БІ-2109.00 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат		39

Атмосферне повітря забирають через повітрозабірник, розташований на висоті 8–10 м від рівня землі, що забезпечує зменшення надходження пилу та механічних домішок [21].

Забране атмосферне повітря направляють на стадію ДР 2.1.2.

Контроль процесу включає перевірку температури атмосферного повітря (Кт 2.1.1.1) та стабільності подачі повітря (Кт 2.1.1.2).

ДР 2.1.2 Грубе очищення вентиляційного повітря

Повітря зі стадії ДР 2.1.1 подають на фільтри грубого очищення, де відбувається видалення механічних домішок розміром понад 5 мкм [21].

Механічні домішки та відпрацьовані фільтри направляють на стадію ПВ 14.

Очищене повітря направляють на стадію ДР 2.1.3.

Контроль процесу включає перевірку перепаду тиску на фільтрі (Кт 2.1.2.1) та ефективності очищення повітря (Кх 2.1.2.2).

ДР 2.1.3 Кондиціонування вентиляційного повітря

Очищене повітря зі стадії ДР 2.1.2 подають у кондиціонер, де здійснюється його охолодження або підігрів залежно від пори року, а також регулювання вологості до нормативних параметрів виробничих приміщень.

Температуру повітря підтримують у межах 18–22 °С, відносну вологість – у межах 40–60 % [21].

Утворений конденсат відводять на стадію ЗВ 15.

Кондиційоване повітря направляють на стадію ДР 2.1.4.

Контроль процесу включає визначення температури повітря (Кт 2.1.3.1), відносної вологості (Кт 2.1.3.2) та тиску у системі (Кт 2.1.3.3).

ДР 2.1.4 Очищення вентиляційного повітря на головному фільтрі

Кондиційоване повітря зі стадії ДР 2.1.3 подають на головний фільтр тонкого очищення. Після очищення повітря містить переважно частинки розміром не більше 1,5–3 мкм, що забезпечує можливість його використання у чистих приміщеннях класів чистоти С і D. [21].

Відпрацьовані фільтри направляють на стадію ПВ 14.

					ДП БІ-2109.00 ПЗ	Арк.
						40
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат		

Очищене вентиляційне повітря подають у вентиляційну систему виробничих приміщень.

Контроль процесу включає перевірку перепаду тиску на фільтрі (Кт 2.1.4.1), температури очищеного повітря (Кт 2.1.4.2) та ефективності фільтрації (Кх 2.1.4.3).

ДР 2.2 Підготовка стерильного технологічного повітря

ДР 2.2.1 Забір атмосферного повітря

Атмосферне повітря забирають через повітрозабірник, розташований на висоті 8–10 м від рівня землі [21].

Забране повітря направляють на стадію ДР 2.2.2.

Контроль процесу включає перевірку стабільності подачі повітря (Кт 2.2.1.1).

ДР 2.2.2 Грубе очищення технологічного повітря

Повітря зі стадії ДР 2.2.1 подають на фільтри грубого очищення, де видаляються механічні домішки розміром понад 5 мкм [21].

Механічні домішки та відпрацьовані фільтри направляють на стадію ПВ 14.

Очищене повітря направляють на стадію ДР 2.2.3.

Контроль процесу включає перевірку ефективності очищення повітря (Кх 2.2.2.1) та перепаду тиску на фільтрі (Кт 2.2.2.2).

ДР 2.2.3 Компресування технологічного повітря

Очищене повітря зі стадії ДР 2.2.2 подають у компресор, де його стискають до тиску 2 атм [21].

Стиснене повітря направляють на стадію ДР 2.2.4.

Контроль процесу включає визначення робочого тиску повітря (Кт 2.2.3.1) та температури повітря після компресора (Кт 2.2.3.2).

ДР 2.2.4 Охолодження технологічного повітря та видалення надлишкової вологи

Стиснене технологічне повітря зі стадії ДР 2.2.3 подають до теплообмінника, де його охолоджують до температури 18–20 °С. У результаті

					ДП БІ-2109.00 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат		41

зниження температури відбувається конденсація частини водяної пари, що міститься у повітрі.

Для забезпечення стабільної роботи наступних стадій підготовки повітря сконденсована волога відокремлюється у вологовідділювачі (ресивері) та відводиться на стадію ЗВ 15, після чого відносна вологість повітря складає близько 40%.

Охолоджене та осушене повітря направляють на стадію ДР 2.2.5.

Контроль процесу включає визначення температури повітря після охолодження (Кт 2.2.4.1), тиску в ресивері (Кт 2.2.4.2) та ефективності видалення конденсату (Кт 2.2.4.3).

ДР 2.2.5 Очищення технологічного повітря на головному фільтрі

Осушене повітря зі стадії ДР 2.2.4 подають на головний фільтр тонкого очищення, де відбувається видалення частинок розміром понад 1,5 мкм з ефективністю очищення не менше 95 % [21].

Відпрацьовані фільтри направляють на стадію ПВ 14.

Очищене повітря направляють на стадію ДР 2.2.6.

Контроль процесу включає перевірку ефективності очищення повітря (Кх 2.2.5.1) та перепаду тиску на фільтрі (Кт 2.2.5.2).

ДР 2.2.6 Стерилізуюча фільтрація технологічного повітря

Очищене повітря зі стадії ДР 2.2.5 подають на стерилізуючі НЕРА-фільтри з ефективністю очищення не менше 99,97 % [21].

Стерильне технологічне повітря направляють на стадії, ТП 9 та ТП 10.3.

Відпрацьовані НЕРА-фільтри направляють на стадію ПВ 14.

Контроль процесу включає перевірку вмісту механічних частинок у повітрі (Кх 2.2.6.1), мікробіологічний контроль стерильності повітря (Км 2.2.6.2) та перевірку герметичності НЕРА-фільтрів (Кт 2.2.6.3).

ДР 3 Підготовка води очищеної

Підготовка води очищеної необхідна для забезпечення технологічного процесу виробництва. Воду очищену використовують для приготування миючих і дезінфікуючих розчинів, поживних середовищ, стабілізуючих розчинів та миття технологічного обладнання.

					ДП БІ-2109.00 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат		42

ДР 3.1 Попередня фільтрація води

Водопровідну воду подають на фільтр попереднього очищення, де відбувається видалення механічних домішок розміром понад 50 мкм. Фільтрацію проводять при тиску 0,05–0,15 МПа [21].

Відпрацьовані фільтри направляють на стадію ПВ 14.

Попередньо очищену воду направляють на стадію ДР 3.2.

Контроль процесу включає перевірку тиску у системі (Кт 3.1.1) та ступеня забруднення фільтра (Кх 3.1.2).

ДР 3.2 Фільтрація води через вугільний фільтр

Воду зі стадії ДР 3.1 подають на вугільний фільтр, де відбувається видалення органічних домішок, залишкового хлору та механічних частинок розміром понад 10 мкм [21].

Відпрацьовані вугільні фільтри направляють на стадію ПВ 14.

Очищену воду направляють на стадію ДР 3.3.

Контроль процесу включає перевірку перепаду тиску на вугільному фільтрі (Кт 3.2.1) та якості очищення води (Кх 3.2.2).

ДР 3.3 Зворотно-осмотичне очищення води

Воду зі стадії ДР 3.2 подають на установку зворотного осмосу, де при тиску 0,4–0,8 МПа відбувається видалення розчинених солей, органічних домішок та мікроорганізмів.

Питома електропровідність очищеної води повинна становити не більше 10 мкСм/см, що перевіряється за допомогою кондуктометра [21].

Отриману воду очищену направляють на стадію ДР 3.4.

Концентрат та промивні води направляють на стадію ЗВ 15.

Відпрацьовані мембранні елементи направляють на стадію ПВ 14.

Контроль процесу включає перевірку робочого тиску в установці зворотного осмосу (Кт 3.3.1) та визначення електропровідності води (Кх 3.3.2).

ДР 3.4 Зберігання води очищеної

Воду очищену зі стадії ДР 3.3 збирають у накопичувальній ємності з нержавіючої сталі марки AISI 316. Температуру води підтримують у межах 15–20 °С.

					ДП БІ-2109.00 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат		43

Тривалість зберігання води очищеної не повинна перевищувати 24 год [21].

Очищену воду подають на стадії ДР 1.1.1-1.1.3, ДР 1.4.1, ДР 1.5.1, ДР 4.1-4.2, ДР 5.1-5.3 та ПВ 14.

Контроль процесу включає контроль рівня води у збірнику (Кт 3.4.1), температури води очищеної (Кт 3.4.2), мікробіологічний контроль води (Км 3.4.3) та визначення її електропровідності (Кх 3.4.4).

ДР 4 Підготовка титрувальних агентів

Титрувальні агенти використовують для регулювання значення рН поживного середовища та культуральної рідини у процесі культивування *Lactiplantibacillus plantarum*.

ДР 4.1 Приготування 10 % розчину HCl

У ємність-змішувач об'ємом 100 дм³ подають 90 дм³ води очищеної зі стадії ДР 3.4. При постійному перемішуванні до ємності обережно додають 10 дм³ концентрованої соляної кислоти до отримання 10 % розчину HCl.

Перемішування проводять механічною мішалкою зі швидкістю 80–100 об/хв до утворення однорідного розчину.

Отриманий 10 % розчин HCl направляють на стадії ДР 5.1–5.3 для корекції рН поживного середовища та на стадію ТП 7.2 для регулювання рН культуральної рідини під час ферментації.

Контроль процесу включає перевірку температури води очищеної (Кт 4.1.1), швидкості перемішування (Кт 4.1.2), визначення концентрації HCl титриметричним методом (Кх 4.1.3) та контроль об'єму приготовленого розчину (Кх 4.1.4).

ДР 4.2 Приготування 10 % розчину NaOH

У ємність-змішувач об'ємом 100 дм³ подають 90 дм³ води очищеної зі стадії ДР 3.4. При постійному перемішуванні додають 10 кг натрію гідроксиду до повного розчинення та отримання 10 % розчину NaOH.

Перемішування проводять механічною мішалкою зі швидкістю 80–100 об/хв.

					ДП БІ-2109.00 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат		44

Отриманий 10 % розчин NaOH направляють на стадії ДР 5.1–5.3 для корекції рН поживного середовища та на стадію ТП 7.2 для регулювання рН культуральної рідини під час ферментації.

Контроль процесу включає перевірку температури води очищеної (Кт 4.2.1), швидкості перемішування (Кт 4.2.2), визначення концентрації NaOH титриметричним методом (Кх 4.2.3) та контроль повноти розчинення натрію гідроксиду (Кх 4.2.4).

ДР 5 Підготовка поживного середовища

Метою стадії є приготування та стерилізація поживних середовищ для відновлення музейної культури *Lactiplantibacillus plantarum* 8P-A3, отримання посівного матеріалу та виробничого культивування.

ДР 5.1 Приготування та стерилізація твердого поживного середовища для відновлення культури

У термостійку скляну колбу об'ємом 2 дм³ подають 1 дм³ води очищеної зі стадії ДР 3.4. При постійному перемішуванні зі швидкістю 100 об/хв послідовно завантажують 0,020 кг глюкози, 0,010 кг пептону, 0,005 кг дріжджового екстракту, 0,005 кг ацетату натрію, 0,002 кг цитрату амонію, 0,0002 кг магнію сірчаноокислого, 0,00005 кг марганцю сірчаноокислого, 0,015 кг агар-агару та 1 см³ Твін-80.

Після повного розчинення компонентів значення рН середовища регулюють 10 % розчином NaOH зі стадії ДР 4.2 або 10 % розчином HCl зі стадії ДР 4.1 до значення 6,2–6,5 [2].

Підготовлене середовище стерилізують гострою водяною парою при температурі 121 °C та тиску 0,1 МПа протягом 20 хв.

Після завершення стерилізації, отримане поживне середовище розливають у 25 пробірок та охолоджують у похилому положенні для формування скошеного MRS-агару.

Стерильний MRS-агар направляють на стадію ТП 6.1 для відновлення музейної культури.

Утворений конденсат направляють на стадію ЗВ 15.

					ДП БІ-2109.00 ПЗ	Арк.
						45
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат		

Контроль процесу включає визначення значення рН середовища (Кх 5.1.1), контроль температури стерилізації (Кт 5.1.2), тиску під час стерилізації (Кт 5.1.3) та контроль стерильності середовища методом висіву на щільні поживні середовища (Км 5.1.4).

ДР 5.2 Приготування та стерилізація рідкого поживного середовища для посівного матеріалу

ДР 5.2.1 Приготування та стерилізація рідкого поживного середовища в колбах

У реактор-змішувач об'ємом 15 дм³ подають 10 дм³ води очищеної зі стадії ДР 3.4. При постійному перемішуванні зі швидкістю 100 об/хв у реактор послідовно завантажують 0,200 кг глюкози, 0,100 кг пептону, 0,050 кг дріжджового екстракту, 0,050 кг ацетату натрію, 0,020 кг цитрату амонію, 0,002 кг магнію сірчаноокислого, 0,0005 кг марганцю сірчаноокислого та 10 см³ Твін-80.

Після повного розчинення компонентів значення рН середовища регулюють 10 % розчином NaOH зі стадії ДР 4.2 або 10 % розчином HCl зі стадії ДР 4.1 до значення 6,2–6,5.

Підготовлене рідке MRS-середовище розливають у стерильні колби кількістю 20 штук, отримані на стадії ДР 1.5.3, після чого колби закривають ватно-марлевими пробками та стерилізують гострою водяною парою при температурі 121 °С та тиску 0,11 МПа протягом 20 хв.

Після стерилізації колби з рідким MRS-середовищем охолоджують до температури 36–37 °С та направляють на стадію ТП 6.2 для отримання культури І генерації [2, 21].

Утворений конденсат направляють на стадію ЗВ 15.

Контроль процесу включає визначення значення рН середовища (Кх 5.2.1.1), контроль температури стерилізації (Кт 5.2.1.2), тиску під час стерилізації (Кт 5.2.1.3) та мікробіологічний контроль стерильності середовища (Км 5.2.1.4).

ДР 5.2.2 Приготування та стерилізація рідкого поживного середовища в посівному апараті

У посівний апарат об'ємом 100 дм³ подають 63 дм³ води очищеної зі стадії ДР 3.4. При перемішуванні зі швидкістю 80–100 об/хв в апарат послідовно

					ДП БІ-2109.00 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат		46

завантажують 1,260 кг глюкози, 0,630 кг пептону, 0,315 кг дріжджового екстракту, 0,315 кг ацетату натрію, 0,126 кг цитрату амонію, 0,0126 кг магнію сірчаноокислого, 0,00315 кг марганцю сірчаноокислого та 63 см³ Твін-80.

Після повного розчинення компонентів значення рН середовища регулюють 10 % розчином NaOH зі стадії ДР 4.2 або 10 % розчином HCl зі стадії ДР 4.1 до значення 6,2–6,5.

Підготовлене рідке MRS-середовище стерилізують безпосередньо в посівному апараті гострою водяною парою при температурі 121 °C та тиску 0,11 МПа протягом 20 хв. Після завершення стерилізації середовище охолоджують до температури 36–37 °C [2, 21].

Стерильне рідке MRS-середовище в посівному апараті направляють на стадію ТП 6.3 для отримання культури II генерації.

Утворений конденсат направляють на стадію ЗВ 14.1.

Контроль процесу включає контроль швидкості перемішування (Кт 5.2.2.1), визначення значення рН середовища (Кх 5.2.2.2), температури стерилізації та охолодження середовища (Кт 5.2.2.3), тиску під час стерилізації (Кт 5.2.2.4) та мікробіологічний контроль стерильності середовища (Км 5.2.2.5).

ДР 5.3 Приготування та стерилізація поживного середовища для виробничого культивування

У реактор-змішувач об'ємом 1000 дм³ подають 630,797 дм³ води очищеної зі стадії ДР 3.4. При постійному перемішуванні зі швидкістю 100 об/хв у реактор послідовно завантажують 12,615 кг глюкози, 6,311 кг пептону, 3,154 кг дріжджового екстракту, 3,154 кг ацетату натрію, 1,262 кг цитрату амонію, 0,127 кг магнію сірчаноокислого, 0,032 кг марганцю сірчаноокислого та 631 см³ Твін-80.

Після повного розчинення компонентів значення рН середовища регулюють 10 % розчином NaOH зі стадії ДР 4.2 або 10 % розчином HCl зі стадії ДР 4.1 до значення 6,2–6,5.

Підготовлене поживне середовище стерилізують гострою водяною парою при температурі 121 °C та тиску 0,15 МПа протягом 30 хв.

Після стерилізації середовище охолоджують до температури 36–37 °C.

					ДП БІ-2109.00 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат		47

Стерильне поживне середовище направляють на стадію ТП 7.1 для виробничого культивування *Lactiplantibacillus plantarum* [2, 21].

Утворений конденсат направляють на стадію ЗВ 15.

Контроль процесу включає контроль швидкості перемішування (Кт 5.3.1), визначення значення рН середовища (Кх 5.3.2), температури стерилізації та охолодження середовища (Кт 5.3.3), тиску під час стерилізації (Кт 5.3.4) та мікробіологічний контроль стерильності поживного середовища (Км 5.3.5).

ТП 6 Підготовка посівного матеріалу

Метою стадії є отримання активного посівного матеріалу *Lactiplantibacillus plantarum* 8P-A3 для подальшого виробничого культивування.

ТП 6.1 Відновлення музейної культури *Lactiplantibacillus plantarum* 8P-A3

Ліофілізовану музейну культуру *Lactiplantibacillus plantarum* 8P-A3 асептично висівають бактеріологічною петлею на поверхню скошеного MRS-агару в пробірки, отриманих на стадії ДР 5.1. Засів проводять у ламінарному боксі з дотриманням умов асептики.

У флакон з культурою вносять 1 см³ стерильного фізіологічного розчину, ретельно перемішують. Розчинений вміст пересівають на дві пробірки зі скошеним агаром, які інкубують у термостаті при температурі 36–37 °С протягом 24 год. Після завершення інкубування проводять візуальний контроль характеру росту культури та мікробіологічний контроль чистоти шляхом мікроскопії мазків і висіву на щільні поживні середовища [2, 21].

За відсутності сторонньої мікрофлори відновлену культуру з двох пробірок пересівають на всі інші пробірки, інкубують, проводять мікробіологічний контроль та направляють на стадію ТП 6.2 для отримання культури I генерації. Відпрацьовані наконечники та пробірки направляють на стадію ПВ 14. Контаміновані пробірки направляють на стадію ЗВ 15.

Контроль процесу включає контроль температури інкубування (Кт 6.1.1), тривалості інкубування (Кт 6.1.2) та мікробіологічний контроль чистоти культури (Км 6.1.3).

					ДП БІ-2109.00 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат		48

ТП 6.2 Отримання культури I генерації в колбах на орбітальному шейкері

Відновлену культуру зі стадії ТП 6.1 асептично переносять у стерильні колби об'ємом 1 дм³, що містять по 0,5 дм³ стерильного рідкого MRS-середовища, отриманого на стадії ДР 5.2.1.

Культивування проводять на орбітальному шейкері при температурі 36–37 °С протягом 18 год та швидкості обертання платформи 80–120 об/хв.

Після завершення культивування визначають мікробіологічну чистоту культури та концентрацію життєздатних клітин методом висіву серійних розведень на MRS-агар з подальшим підрахунком колонієутворюючих одиниць. Концентрація життєздатних клітин повинна становити не менше 1×10^8 КУО/см³ [2, 21].

Культуру I генерації направляють на стадію ТП 6.3 для отримання культури II генерації в посівному апараті. Відпрацьовані наконечники та колби направляють на стадію ПВ 14. Контаміновані колби направляють на стадію ЗВ 15.

Контроль процесу включає контроль температури культивування (Кт 6.2.1), тривалості культивування (Кт 6.2.2), швидкості обертання шейкера (Кт 6.2.3), визначення концентрації життєздатних клітин методом підрахунку КУО (Кх 6.2.4) та контроль мікробіологічної чистоти культури (Км 6.2.5).

ТП 6.3 Отримання посівної культури II генерації в посівному апараті

Культуру I генерації зі стадії ТП 6.2 в кількості 9,811 дм³ асептично переносять під локальним ламінарним укриттям у посівний апарат об'ємом 100 дм³, який містить 65,068 дм³ стерильного рідкого MRS-середовища, отриманого на стадії ДР 5.2.2.

Культивування проводять у мезофільному режимі при температурі 36–37 °С протягом 16 год. Перемішування здійснюють механічною мішалкою зі швидкістю 80–100 об/хв.

Після завершення культивування визначають мікробіологічну чистоту культури, концентрацію життєздатних клітин та значення рН культуральної рідини. Концентрацію життєздатних клітин визначають методом висіву серійних

					ДП БІ-2109.00 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат		49

розведень на MRS-агар з подальшим підрахунком КУО. Концентрація життєздатних клітин повинна становити не менше 1×10^9 КУО/см³, а значення рН – у межах 5,5–6,5 [2, 21].

Отриманий посівний матеріал направляють на стадію ТП 7.1 для виробничого культивування *Lactiplantibacillus plantarum*. Відпрацьоване культуральне середовище направляють на стадію ЗВ 15.

Контроль процесу включає контроль температури культивування (Кт 6.3.1), тривалості культивування (Кт 6.3.2), швидкості перемішування (Кт 6.3.3), визначення концентрації життєздатних клітин (Кх 6.3.4), визначення значення рН культуральної рідини (Кх 6.3.5) та контроль мікробіологічної чистоти культури (Км 6.3.6).

ТП 7 Виробниче культивування

Метою стадії є накопичення біомаси *Lactiplantibacillus plantarum* 8P-A3 у виробничому ферментері та отримання культуральної рідини з високою концентрацією життєздатних клітин для подальшої стабілізації та ліофілізації.

ТП 7.1 Засів виробничого ферментера об'ємом 1000 л

У виробничий ферментер об'ємом 1000 дм³ з стерильним поживним середовищем об'ємом 625,121 дм³, отриманого на стадії ДР 5.3 через стерильний інокуляційний патрубок вносять 74,879 дм³ посівної культури II генерації, отриманої на стадії ТП 6.3.

Ферментер виготовлений із нержавіючої сталі марки AISI 316 та оснащений механічною мішалкою турбінного типу, теплообмінною сорочкою, датчиками температури, рН та піноутворення. Ферментер повинен мати функціональну можливість автоматичної подачі культуральної рідини на подальшу стадію концентрування в сепаратор на стадії ТП 8.1.

Після внесення інокуляту засіяне поживне середовище направляють на стадію ТП 7.2.

Контроль процесу включає контроль герметичності апарата (Кт 7.1.1), об'єму поживного середовища (Кт 7.1.2) та кількості внесеного інокуляту (Кт 7.1.3).

					ДП БІ-2109.00 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат		50

ТП 7.2 Виробниче культивування *Lactiplantibacillus plantarum* 8P-A3 в ферментері

Культивування проводять у виробничому ферментері періодичним методом у мезофільному режимі при температурі 36–37 °С протягом 18 год. Культивування проводять без подачі повітря. Підтримання однорідності культуральної рідини та вирівнювання температурного поля забезпечується механічним перемішуванням. Перемішування здійснюють механічною мішалкою турбінного типу зі швидкістю 100–150 об/хв.

Значення рН культуральної рідини підтримують у межах 6,0–6,2 шляхом автоматичного дозування стерильного 10 % розчину NaOH зі стадії ДР 4.2, та за потреби 10 % розчину HCl зі стадії ДР 4.1. Контроль температури здійснюють шляхом подачі теплоносія або холодоносія у теплообмінну сорочку ферментера.

У процесі культивування відбувається молочнокисле бродіння глюкози. У результаті процесу відбувається накопичення біомаси *Lactiplantibacillus plantarum* та утворення молочної кислоти.

Через кожні 4 год проводять відбір проб культуральної рідини через стерильний пробовідбірник для визначення значення рН, концентрації життєздатних клітин та контролю мікробіологічної чистоти культури.

Концентрацію життєздатних клітин визначають методом висіву серійних розведень на MRS-агар з подальшим підрахунком колонієутворюючих одиниць. Концентрація життєздатних клітин наприкінці культивування повинна становити не менше 1×10^9 КУО/см³. Контроль відсутності сторонньої мікрофлори проводять методом мікроскопії мазків та висіву на щільні поживні середовища [2, 21].

Після завершення культивування культуральну рідину направляють на стадію ТП 7.3.

Контроль процесу включає контроль температури (Кт 7.2.1), тривалості культивування (Кт 7.2.2), швидкості перемішування (Кт 7.2.3), визначення значення рН культуральної рідини (Кх 7.2.4), концентрації життєздатних клітин (Кх 7.2.5) та контроль мікробіологічної чистоти культури (Км 7.2.6).

ТП 7.3 Охолодження культуральної рідини в ферментері

					ДП БІ-2109.00 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат		51

Культуральну рідину зі стадії ТП 7.2 охолоджують безпосередньо у виробничому ферментері шляхом подачі холодоносія у теплообмінну сорочку апарата. Охолодження проводять до температури 4–8 °С.

Охолоджену культуральну рідину направляють на стадію ТП 8.1 для стабілізації перед ліофілізацією. Відпрацьований холодоносій відправляють на стадію ЗВ 15.

Контроль процесу включає контроль температури культуральної рідини (Кт 7.3.1) та тривалості охолодження (Кт 7.3.2).

ТП 8 Концентрування та стабілізація мікробної біомаси

Метою стадії є концентрування клітин *Lactiplantibacillus plantarum* шляхом сепарації культуральної рідини та підготовка концентрованої мікробної суспензії до процесу ліофілізації.

ТП 8.1 Сепарація культуральної рідини

Охолоджену культуральну рідину зі стадії ТП 7.3 подають у дисковий сепаратор безперервної дії для відокремлення мікробної біомаси від культурального середовища. Сепаратор виготовлений із нержавіючої сталі марки AISI 316 та оснащений системою охолодження продукту.

Сепарацію проводять при температурі не вище 10 °С та частоті обертання барабана 5000–7000 об/хв для запобігання зниженню життєздатності клітин [2, 21].

У процесі сепарації утворюються концентрована мікробна біомаса та відпрацьована культуральна рідина. Відпрацьовану культуральну рідину направляють на стадію ЗВ 15.

Концентровану мікробну біомасу направляють на стадію ТП 8.3.

Контроль процесу включає визначення температури біомаси (Кт 8.1.1), частоти обертання барабана сепаратора (Кт 8.1.2) та концентрації життєздатних клітин методом підрахунку КУО на MRS-агарі (Кх 8.1.3).

ТП 8.2 Приготування захисного середовища

У реактор-змішувач об'ємом 100 дм³ подають 52,582 дм³ води очищеної зі стадії ДР 3.4. При постійному перемішуванні у реактор послідовно

					ДП БІ-2109.00 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат		52

завантажують 7,620 кг сахарози, 0,762 кг желатину та 15,241 кг знежиреного молока.

Перемішування проводять при температурі 40–45 °С та швидкості обертання мішалки 80–100 об/хв до повного розчинення компонентів та утворення однорідного захисного середовища.

Підготовлене захисне середовище стерилізують гострою водяною парою при температурі 121 °С та тиску 0,05 МПа протягом 10 хв, після чого охолоджують до температури 20–25 °С [2, 21, 29].

Захисне середовище направляють на стадію ТП 8.3. Утворений конденсат направляють на стадію ЗВ 15.

Контроль процесу включає контроль температури приготування захисного середовища (Кт 8.2.1), швидкості перемішування (Кт 8.2.2), повноти розчинення компонентів та однорідності захисного середовища (Кт 8.2.3), а також контроль стерильності середовища після стерилізації (Км 8.2.4).

ТП 8.3 Стабілізація мікробної суспензії

Стабілізацію проводять у змішувачі об'ємом 250 дм³, оснащеному механічною якірною мішалкою. Коефіцієнт заповнення апарата становить 0,6–0,7.

Концентровану мікробну суспензію зі стадії ТП 8.1 подають у змішувач, куди також надходить захисне середовище зі стадії ТП 8.2.

Змішування проводять у співвідношенні 1:1 при швидкості перемішування 60–80 об/хв протягом 15–20 хв до утворення однорідної стабілізованої мікробної суспензії.

Отримана стабілізована суспензія характеризується підвищеною стійкістю клітин *Lactiplantibacillus plantarum* до заморожування та сублімаційного сушіння.

Стабілізовану мікробну суспензію направляють на стадію ТП 9.1.

Контроль процесу включає контроль швидкості перемішування (Кт 8.3.1), тривалості змішування (Кт 8.3.2), визначення однорідності стабілізованої суспензії (Кх 8.3.3), концентрації життєздатних клітин (Кх 8.3.4), значення рН

					ДП БІ-2109.00 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат		53

стабілізованої суспензії (Кх 8.3.5) та контроль мікробіологічної чистоти суспензії (Км 8.3.6).

ТП 9 Розлив стабілізованої мікробної суспензії

Метою стадії є асептичне фасування стабілізованої мікробної суспензії *Lactiplantibacillus plantarum* у стерильні флакони перед процесом ліофілізації.

Розлив проводять на автоматичній дозаторно-розливній машині продуктивністю 1000–1500 флаконів/год, виготовлений із нержавіючої сталі марки AISI 316. Установка оснащена перистальтичним дозувальним насосом, системою автоматичного регулювання об'єму наповнення та ламінарним боксом із подачею стерильного вентиляційного повітря зі стадії ДР 2.2.6.

Для фасування використовують стерильні скляні флакони та стерильні гумові пробки, підготовлені на стадії ДР 1.5.3.

Стабілізовану мікробну суспензію зі стадії ТП 8.3 подають у дозаторно-розливну машину та фасують у стерильні флакони. Об'єм наповнення одного флакону становить 5 см³.

Розлив проводять в асептичних умовах при температурі виробничого приміщення 2–6 °С, що знижує метаболічну активність клітин та зменшує ризик втрат життєздатності перед ліофілізацією.

Після наповнення флакони частково закупорюють стерильними гумовими пробками для забезпечення видалення водяної пари під час процесу ліофілізації.

Частково закупорені флакони направляють на стадію ТП 10 для попереднього заморожування. Браковані флакони та відходи розливу направляють на стадію ЗВ 15.

Контроль процесу включає контроль температури у зоні розливу (Кт 9.1), точності дозування суспензії (Кт 9.2), цілісності флаконів (Кт 9.3), герметичності частково закупорених флаконів (Кт 9.4) та контроль стерильності розливу (Км 9.5).

ТП 10 Ліофілізація препарату

Метою стадії є видалення вологи зі стабілізованої мікробної суспензії методом сублімаційного сушіння для забезпечення тривалого збереження життєздатності клітин *Lactiplantibacillus plantarum* 8P-A3.

					ДП БІ-2109.00 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат		54

ТП 10.1 Заморожування препарату

Частково закупорені флакони зі стабілізованою мікробною суспензією зі стадії ТП 9 встановлюють на полиці ліофільної сушарки періодичної дії, оснащеної холодильним агрегатом, вакуумною системою, конденсатором водяної пари та полицями з автоматичним регулюванням температури. Робочий об'єм камери становить 1,54 м³, що забезпечує розміщення 11 касет загальною площею сушильної поверхні 10,78 м² та 27 686 флаконів за один цикл ліофілізації.

Препарат, який має температуру 2–8 °С, охолоджують до -20 °С протягом 5 год і витримують при цій температурі 3 год. Далі температуру знижують до -30 °С протягом 6 год та витримують при цій температурі 4 год. Після цього температуру знижують до -45 °С протягом 4 год і витримують при цій температурі 6 год. Загальна тривалість заморожування становить 28 год [29].

Застосування ступінчастого режиму заморожування обумовлене необхідністю забезпечення високої виживаності клітин *Lactiplantibacillus plantarum* 8P-A3 під час ліофілізації. Поступове зниження температури з проміжними витримуваннями сприяє рівномірному проморожуванню препарату по всьому об'єму флаконів, зменшує ризик утворення внутрішньоклітинного льоду та надмірного осмотичного стресу для мікроорганізмів. Кінцева температура заморожування -45 °С забезпечує повний перехід вологи у твердий стан та створює оптимальні умови для подальшого первинного сублімаційного сушіння.

Після завершення заморожування флакони направляють на стадію ТП 10.2. Відпрацьований холодоносіє направляють на стадію ЗВ 15.

Контроль процесу включає визначення температури препарату (Кт 10.1.1), тривалості заморожування (Кт 10.1.2) та повноти заморожування препарату (Кт 10.1.3).

ТП 10.2 Первинне сублімаційне сушіння

Заморожений препарат зі стадії ТП 10.1 піддають первинному сублімаційному сушінню у ліофільній установці. Первинне сушіння проводять при залишковому тиску в камері 20 Па та температурі полиць -20 °С.

					ДП БІ-2109.00 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат		55

За цих умов відбувається видалення основної кількості вільної вологи шляхом сублімації льоду. Температура препарату протягом стадії не повинна перевищувати -15°C , що запобігає частковому плавленню замороженого продукту та руйнуванню структури ліофілізату. Завершення стадії визначають за припиненням інтенсивного надходження водяної пари до конденсатора та стабілізацією температури препарату.

Тривалість первинного сублімаційного сушіння становить 24 год.

Після завершення первинного сушіння флакони направляють на стадію ТП 10.3. Утворений конденсат та відпрацьований холодоносієй направляють на стадію ЗВ 15.

Контроль процесу включає визначення тиску у камері ліофільної сушарки (Кт 10.2.1), температури полиць (Кт 10.2.2), температури препарату (Кт 10.2.3) та тривалості сушіння (Кт 10.2.4).

ТП 10.3 Вторинне сушіння

Після завершення основної сублімації температуру полиць ліофільної сушарки поступово підвищують від -20°C до $+25^{\circ}\text{C}$. Вторинне сушіння проводять при залишковому тиску в камері протягом 5 год до досягнення залишкової вологості препарату не більше 5 %, що відповідає вимогам до ліофілізованих пробіотичних препаратів. На цій стадії відбувається видалення адсорбційно та капілярно зв'язаної вологи з ліофілізованого препарату.

По завершенню вторинного сушіння та досягненню встановлених показників якості у камеру сушарки подають стерильне аераційне повітря зі стадії ДР 2.2.6 до вирівнювання тиску з атмосферним, після чого камеру відкривають і вивантажують флакони.

Флакони з ліофілізованим препаратом направляють на стадію ТП 11. Утворений конденсат та відпрацьований холодоносієй направляють на стадію ЗВ 15.

Контроль процесу включає визначення температури полиць сушарки (Кт 10.3.1), тривалості вторинного сушіння (Кт 10.3.2), залишкової вологості препарату (Кх 10.3.3), зовнішнього вигляду ліофілізату (Кх 10.3.4) та концентрації життєздатних клітин (Км 10.3.5).

					ДП БІ-2109.00 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат		56

ТП 11 Закупорювання флаконів

Метою стадії є остаточне герметичне закупорювання флаконів із ліофілізованим препаратом після завершення процесу ліофілізації.

Закупорювання проводять на автоматичній машині для остаточного встановлення гумових пробок та обжиму алюмінієвих ковпачків, виготовлених із нержавіючої сталі марки AISI 316. Установка оснащена системою автоматичного центрування флаконів та контролю герметичності закупорювання.

Флакони з ліофілізатором зі стадії ТП 10.3 подають на машину для закупорювання, де проводять остаточний обжим алюмінієвих ковпачків на стерильних гумових пробках.

Після закупорювання проводять візуальний контроль цілісності флаконів, правильності встановлення пробок та герметичності закупорювання [21].

Закупорені флакони направляють на стадію ПМВ 12. Браковані флакони направляють на стадію ПВ 14.

Контроль процесу включає перевірку герметичності закупорювання (Кт 11.1), правильності встановлення пробок та обжиму алюмінієвих ковпачків (Кт 11.2) і цілісності флаконів (Кт 11.3).

ПМВ 12 Пакування, маркування та відвантаження препарату

Метою стадії є маркування, пакування та підготовка готового препарату до зберігання й відвантаження споживачу.

ПМВ 12.1 Маркування та пакування флаконів

Закупорені флакони з ліофілізованим препаратом зі стадії ТП 11 подають на автоматичну етикетувальну машину, виготовлену з нержавіючої сталі марки AISI 316 [30].

На флакони наносять етикетки із зазначенням назви препарату, номера серії, дати виготовлення, терміну придатності та умов зберігання.

Промарковані флакони пакують у картонні пачки разом з інструкцією для застосування. Одна картонна пачка містить 10 флаконів препарату [22–23]

Упакований препарат направляють на стадію ПМВ 12.2. Браковані етикетки та пакувальні матеріали направляють на стадію ПВ 14.

					ДП БІ-2109.00 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат		57

Контроль процесу включає перевірку правильності маркування (Кт 12.1.1), комплектності упаковки (Кт 12.1.2) та цілісності картонних пачок (Кт 12.1.3).

ПМВ 12.2 Фасування пачок та відвантаження коробок

Картонні пачки з препаратом зі стадії ПМВ 12.1 укладають у транспортну тару. Групове пакування проводять у гофрокартонні ящики, які забезпечують захист препарату під час транспортування та зберігання.

Один транспортний ящик містить 50 картонних пачок препарату [30].

Сформовану транспортну тару маркують відповідно до вимог нормативної документації та направляють на склад готової продукції [22–23].

Браковані пакувальні матеріали направляють на стадію ПВ 14.

Контроль процесу включає перевірку комплектності транспортної тари (Кт 12.2.1), правильності маркування транспортної упаковки (Кт 12.2.2) та цілісності упаковки (Кт 12.2.3).

КЯ 13 Контроль якості готової продукції

Метою стадії є підтвердження відповідності готового препарату встановленим вимогам нормативної документації за фізико-хімічними та мікробіологічними показниками.

Готову продукцію зі складу після стадії ПМВ 12.2 подають на ділянку контролю якості, де здійснюють відбір проб препарату для проведення фізико-хімічних та мікробіологічних випробувань.

Контроль якості готового препарату включає:

- визначення зовнішнього вигляду ліофілізату;
- визначення залишкової вологості;
- визначення концентрації життєздатних клітин;
- контроль мікробіологічної чистоти;
- перевірку герметичності флаконів;
- контроль правильності маркування та комплектності упаковки.

Зовнішній вигляд препарату оцінюють візуально. Ліофілізат повинен являти собою суху пористу масу світло-кремового або світло-жовтого кольору без сторонніх механічних домішок та ознак плавлення.

Залишкову вологість визначають гравіметричним методом. Вміст залишкової вологи не повинен перевищувати 5 %.

Концентрацію життєздатних клітин визначають методом висіву серійних розведень на MRS-агар з подальшим підрахунком колонієутворюючих одиниць. В одній дозі препарату повинно міститися не менше 2×10^9 КУО *Lactiplantibacillus plantarum* 8P-A3.

Контроль мікробіологічної чистоти проводять методом висіву на поживні середовища. У препараті не допускається наявність сторонньої патогенної або умовно-патогенної мікрофлори.

Герметичність флаконів перевіряють методом вакуумного контролю.

Контроль правильності маркування та комплектності упаковки проводять візуально відповідно до вимог нормативної документації.

Продукцію, що відповідає встановленим вимогам, направляють на склад готової продукції. Браковану продукцію направляють на стадію ПВ 14.

Контроль процесу включає визначення зовнішнього вигляду ліофілізату (Кх 13.1), залишкової вологості препарату (Кх 13.2), концентрації життєздатних клітин (Кх 13.3), контроль мікробіологічної чистоти (Км 13.4), перевірку герметичності флаконів (Кт 13.5) та контроль правильності маркування і комплектності упаковки (Кт 13.6).

ПВ 14 Переробка відходів

Метою стадії є збір, дезінфекція та підготовка відходів виробництва до подальшого знешкодження або повторного використання.

На стадію надходять відпрацьовані повітряні фільтри, відпрацьовані пробірки, колби та наконечники та відходи пакувальних матеріалів [21].

Відпрацьовані фільтри після оцінки технічного стану направляють на регенерацію або подальше знешкодження на стадії ЗВ 15.

Дезінфікований лабораторний посуд направляють на стадію ДР 1.5 для повторної підготовки. Відпрацьовані розчини та нерегенеровані відходи направляють на стадію ЗВ 15.

Контроль процесу включає перевірку ефективності дезінфекції лабораторного посуду (Кт 14.1) та контроль стану регенерованих матеріалів і фільтрів (Кх 14.2).

ЗВ 15 Знешкодження відходів

Метою стадії є знешкодження рідких та газоподібних відходів, що утворюються під час виробництва препарату.

На стадію надходять відпрацьовані мийні та дезінфекційні розчини, конденсат, відпрацьоване культуральне середовище, промивні води, а також інші рідкі технологічні відходи.

Рідкі відходи збирають у ємності-нейтралізаторі, де шляхом дозування розчинів натрію гідроксиду або соляної кислоти підтримують значення рН у межах 6,5–7,5. Після нейтралізації відходи направляють до системи каналізації відповідно до чинних санітарних вимог.

Газоподібні викиди перед викидом в атмосферу пропускають через фільтр очищення повітря для видалення механічних домішок. Після завершення стерилізації знешкоджені рідкі відходи направляють до каналізації, тверді відходи – на утилізацію відповідно до санітарних вимог, очищене повітря – в атмосферу [21].

Відпрацьовані фільтри для очистки повітря направляють на стадію ПВ 14.

Тверді відходи, контаміновані мікроорганізмами, збирають у спеціальні контейнери та піддають знезараженню в паровому стерилізаторі при температурі 121 °С і тиску 0,1 МПа протягом 20 хв. Після знезараження відходи направляють на утилізацію відповідно до чинних санітарних вимог.

Контроль процесу включає визначення рН нейтралізованих стоків (Кх 15.1), контроль температури стерилізації твердих відходів (Кт 15.2) та контроль тривалості стерилізації (Кт 15.3).

					ДП БІ-2109.00 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат		60

4.4. Контроль виробництва

Контрольні точки технологічного процесу отримання пробіотичного препарату «Лактобактерин» наведені у табл. 4.2.

Таблиця 4.2 – Перелік контрольних точок

Стадії процесу та номер контрольної точки	Об'єкт контролю та параметр, що контролюється	Частота контролю	Норми технологічного режиму	Метод контролю параметра, тип приладу
1	2	3	4	5
ДР 1.1.1 Приготування 1 % розчину натрію гідроксиду. Кт 1.1.1.1	Реактор-змішувач. Температура води очищеної	Кожну операцію	1 %	Термометричний, візуальний
ДР 1.1.1 Приготування 1 % розчину натрію гідроксиду. Кт 1.1.1.2	Механічна мішалка. Частота обертання	Кожну операцію	80–100 об/хв	Тахометричний, візуальний
ДР 1.1.1 Приготування 1 % розчину натрію гідроксиду. Кх 1.1.1.3	1 % розчин натрію гідроксиду. Концентрація та повнота розчинення	Кожну операцію	Концентрація NaOH – 1 %; розчин однорідний, без нерозчинених частинок	Титриметричний, візуальний
ДР 1.1.2 Приготування 6 % розчину перекису водню. Кт 1.1.2.1	Вода очищена. Температура	Кожну операцію	18–25 °С	Термометричний
ДР 1.1.2 Приготування 6 % розчину перекису водню. Кт 1.1.2.2	Механічна мішалка. Частота обертання	Кожну операцію	80–100 об/хв	Тахометричний, візуальний
ДР 1.1.2 Приготування 6 % розчину перекису водню. Кх 1.1.2.3	Розчин перекису водню. Концентрація	Кожну операцію	6,0 ± 0,5 %	Перманганатометричний або титриметричний
ДР 1.1.3 Приготування 70 % розчину етилового спирту. Кт 1.1.3.1	Розчин етилового спирту. Температура	Кожну операцію	18–25 °С	Термометричний
ДР 1.1.3 Приготування 70 % розчину етилового спирту. Кт 1.1.3.2	Механічна мішалка. Частота обертання	Кожну операцію	80–100 об/хв	Тахометричний, візуальний
ДР 1.1.3 Приготування 70 % розчину етилового спирту. Кх 1.1.3.3	Розчин етилового спирту. Об'ємна частка етилового спирту	Кожну операцію	70 ± 2 % об.	Спиртометричний
ДР 1.2 Підготовка персоналу Кт 1.2.1	Персонал. Наявність медичного допуску до роботи	Перед кожною зміною	Медичний огляд пройдений, допуск наявний	Документальний контроль
ДР 1.2 Підготовка персоналу Кт 1.2.2	Персонал. Санітарна обробка рук	Перед входом у виробничу зону	Обробка 70 % етиловим спиртом проведена	Візуальний контроль

Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат

ДП БІ-2109.00 ПЗ

Арк.

61

Продовження таблиці 4.2

1	2	3	4	5
ДР 1.2 Підготовка персоналу Кт 1.2.3	Персонал. Комплектність та правильність одягання стерильного технологічного одягу	Перед кожною зміною	Повний комплект стерильного одягу	Візуальний контроль
ДР 1.3.1 Щоденне прибирання приміщень Км 1.3.1.1	Поверхні виробничих приміщень. Мікробіологічна чистота	Щоденно після прибирання	Відсутність сторонньої мікрофлори або відповідність санітарним нормам підприємства	Метод змивів з подальшим мікробіологічним аналізом
ДР 1.3.2 Генеральне прибирання приміщень Км 1.3.2.1	Повітря виробничих приміщень. Мікробіологічна чистота	Після кожного генерального прибирання	Відповідність санітарно-мікробіологічним вимогам до чистих приміщень	Седиментаційний метод або аспіраційний відбір проб повітря
ДР 1.3.2 Генеральне прибирання приміщень Км 1.3.2.2	Поверхні виробничих приміщень. Мікробіологічна чистота	Після кожного генерального прибирання	Відсутність сторонньої мікрофлори або відповідність санітарним нормам підприємства	Метод змивів з подальшим мікробіологічним аналізом
ДР 1.4.1 Миття обладнання та комунікацій Кт 1.4.1.1	Мийний розчин. Температура миття	Кожну операцію	45–50 °C	Термометричний, термометр
ДР 1.4.1 Миття обладнання та комунікацій Кт 1.4.1.2	Процес миття. Тривалість обробки	Кожну операцію	30 хв	Хронометричний, таймер
ДР 1.4.2 Дезінфекція обладнання та комунікацій Кт 1.4.2.1	Дезінфікуючий розчин. Температура обробки	Кожну операцію	20–25 °C	Термометричний, термометр
ДР 1.4.2 Дезінфекція обладнання та комунікацій Кт 1.4.2.2	Процес дезінфекції. Тривалість обробки	Кожну операцію	30 хв	Хронометричний, таймер
ДР 1.4.2 Дезінфекція обладнання та комунікацій Км 1.4.2.3	Поверхні обладнання. Мікробіологічна чистота	Кожну операцію	Відсутність сторонньої мікрофлори	Метод змивів з подальшим мікробіологічним аналізом
ДР 1.4.3 Ополіскування обладнання та комунікацій Кх 1.4.3.1	Промивні води. Значення рН	Кожну операцію	рН 6,5–7,5	Потенціометричний, рН-метр
ДР 1.4.4 Стерилізація обладнання та комунікацій Кт 1.4.4.1	Стерилізуюча пара. Температура	Кожну операцію	121 °C	Термометричний, термометр

Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат

ДП БІ-2109.00 ПЗ

Арк.

62

Продовження таблиці 4.2

1	2	3	4	5
ДР 1.4.4 Стерилізація обладнання та комунікацій Кт 1.4.4.2	Стерилізуюча пара. Тиск	Кожну операцію	0,11 МПа	Манометричний, манометр
ДР 1.4.4 Стерилізація обладнання та комунікацій Кт 1.4.4.3	Процес стерилізації. Тривалість	Кожну операцію	30 хв	Хронометричний, таймер
ДР 1.4.4 Стерилізація обладнання та комунікацій Км 1.4.4.4	Внутрішні поверхні обладнання. Стерильність	Кожну операцію	Відсутність росту мікроорганізмів	Метод змивів з подальшим мікробіологічним аналізом
ДР 1.5.1 Миття лабораторного посуду та флаконів Кт 1.5.1.1	Мийний розчин. Температура миття	Кожну операцію	45–50 °С	Термометричний, термометр
ДР 1.5.1 Миття лабораторного посуду та флаконів Кх 1.5.1.2	Промивні води. Значення рН	Кожну операцію	рН 6,5–7,5	Потенціометричний, рН-метр
ДР 1.5.1 Миття лабораторного посуду та флаконів Кт 1.5.1.3	Лабораторний посуд і флакони. Чистота поверхні	Кожну операцію	Відсутність видимих забруднень	Візуальний контроль
ДР 1.5.2 Сушіння лабораторного посуду та флаконів Кт 1.5.2.1	Сушильна шафа. Температура сушіння	Кожну операцію	60–70 °С	Термометричний, термометр
ДР 1.5.2 Сушіння лабораторного посуду та флаконів Кт 1.5.2.2	Процес сушіння. Тривалість	Кожну операцію	20 хв	Хронометричний, таймер
ДР 1.5.2 Сушіння лабораторного посуду та флаконів Кт 1.5.2.3	Лабораторний посуд і флакони. Залишкова волога	Кожну операцію	Відсутність видимої вологи	Візуальний контроль
ДР 1.5.3 Стерилізація лабораторного посуду та флаконів Кт 1.5.3.1	Стерилізуюча пара. Температура	Кожну операцію	121 °С	Термометричний, термометр
ДР 1.5.3 Стерилізація лабораторного посуду та флаконів Кт 1.5.3.2	Стерилізуюча пара. Тиск	Кожну операцію	0,11 МПа	Манометричний, манометр
ДР 1.5.3 Стерилізація лабораторного посуду та флаконів Кт 1.5.3.3	Процес стерилізації. Тривалість	Кожну операцію	20 хв	Хронометричний, таймер
ДР 1.5.3 Стерилізація лабораторного посуду та флаконів Км 1.5.3.4	Лабораторний посуд та флакони. Стерильність	Кожну операцію	Відсутність росту мікроорганізмів	Метод змивів з внутрішньої поверхні з подальшим мікробіологічним аналізом
ДР 2.1.1 Забір атмосферного повітря Кт 2.1.1.1	Атмосферне повітря. Температура	Кожну операцію	Відповідно до атмосферних умов	Термометричний, термометр

Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат

ДП БІ-2109.00 ПЗ

Арк.

63

Продовження таблиці 4.2

1	2	3	4	5
ДР 2.1.1 Забір атмосферного повітря Кт 2.1.1.2	Повітрозабірник. Стабільність подачі повітря	Кожну операцію	Безперервна подача повітря	Візуальний контроль
ДР 2.1.2 Грубе очищення вентиляційного повітря Кт 2.1.2.1	Фільтр грубого очищення. Перепад тиску	Кожну операцію	Відповідно до технічних характеристик фільтра	Манометричний, диференційний манометр
ДР 2.1.2 Грубе очищення вентиляційного повітря Кх 2.1.2.2	Повітря після фільтра. Вміст механічних частинок	Кожну операцію	Частинки не більше 5 мкм	Лічильник частинок
ДР 2.1.3 Кондиціонування вентиляційного повітря Кт 2.1.3.1	Повітря. Температура	Постійно	18–22 °С	Термометричний, термометр
ДР 2.1.3 Кондиціонування вентиляційного повітря Кт 2.1.3.2	Повітря. Відносна вологість	Постійно	40–60 %	Психрометричний, гігрометр
ДР 2.1.3 Кондиціонування вентиляційного повітря Кт 2.1.3.3	Повітряний потік. Тиск у системі	Постійно	Відповідно до режиму роботи установки	Манометричний, манометр
ДР 2.2.1 Забір атмосферного повітря Кт 2.2.1.1	Повітрозабірник. Стабільність подачі повітря	Кожну операцію	Безперервна подача повітря	Візуальний контроль
ДР 2.2.2 Грубе очищення технологічного повітря Кх 2.2.2.1	Повітря після фільтра. Вміст механічних частинок	Кожну операцію	Частинки не більше 5 мкм	Лічильник частинок
ДР 2.2.2 Грубе очищення технологічного повітря Кт 2.2.2.2	Фільтр грубого очищення. Перепад тиску	Кожну операцію	Відповідно до технічних характеристик фільтра	Диференційний манометр
ДР 2.2.3 Компресування технологічного повітря Кт 2.2.3.1	Повітря. Робочий тиск	Постійно	2 атм (0,2 МПа)	Манометричний, манометр
ДР 2.2.3 Компресування технологічного повітря Кт 2.2.3.2	Повітря після компресора. Температура	Постійно	Відповідно до режиму роботи компресора	Термометричний, термометр
ДР 2.2.4 Охолодження технологічного повітря та видалення надлишкової вологи Кт 2.2.4.1	Повітря після теплообмінника. Температура	Постійно	18–20 °С	Термометричний, термометр
ДР 2.2.4 Охолодження технологічного повітря та видалення надлишкової вологи Кт 2.2.4.2	Ресивер. Тиск	Постійно	Відповідно до режиму роботи системи	Манометричний, манометр
ДР 2.2.4 Охолодження технологічного повітря та видалення надлишкової вологи Кт 2.2.4.3	Видалення конденсату	Кожну операцію	Конденсат повністю відводиться	Візуальний контроль

Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат

ДП БІ-2109.00 ПЗ

Арк.

64

Продовження таблиці 4.2

1	2	3	4	5
ДР 2.2.5 Очищення технологічного повітря на головному фільтрі Кх 2.2.5.1	Повітря після фільтра. Вміст механічних частинок	Кожну операцію	Частинки не більше 1,5 мкм	Лічильник частинок
ДР 2.2.5 Очищення технологічного повітря на головному фільтрі Кт 2.2.5.2	Фільтр тонкого очищення. Перепад тиску	Кожну операцію	Відповідно до технічних характеристик фільтра	Диференційний манометр
ДР 2.2.6 Стерилізуюча фільтрація технологічного повітря Кх 2.2.6.1	Повітря після НЕРА-фільтрів. Вміст механічних частинок	Кожну операцію	Не більше 3 частинок >3 мкм/м³ повітря*	Лазерний лічильник частинок
ДР 2.2.6 Стерилізуюча фільтрація технологічного повітря Км 2.2.6.2	Повітря після НЕРА-фільтрів. Мікробіологічна чистота	За графіком контролю	Відсутність сторонньої мікрофлори	Аспіраційний відбір проб повітря з подальшим висівом
ДР 2.2.6 Стерилізуюча фільтрація технологічного повітря Кт 2.2.6.3	НЕРА-фільтри. Герметичність	За графіком контролю	Відсутність підсосу неочищеного повітря	Тест цілісності фільтрів
ДР 3.1 Попередня фільтрація води Кт 3.1.1	Вода на фільтрі попереднього очищення. Тиск у системі	Кожну операцію	0,05–0,15 МПа	Манометричний, манометр
ДР 3.1 Попередня фільтрація води Кх 3.1.2	Вода після фільтра. Вміст механічних домішок	Кожну операцію	Відсутність частинок розміром понад 50 мкм	Візуальний контроль / контроль фільтрування
ДР 3.2 Фільтрація води через вугільний фільтр Кт 3.2.1	Вугільний фільтр. Перепад тиску	Кожну операцію	Відповідно до технічних характеристик фільтра	Манометричний, диференційний манометр
ДР 3.2 Фільтрація води через вугільний фільтр Кх 3.2.2	Вода після вугільного фільтра. Якість очищення	Кожну операцію	Відсутність залишкового хлору та частинок понад 10 мкм	Хімічний контроль залишкового хлору, візуальний контроль
ДР 3.3 Зворотно-осмотичне очищення води Кт 3.3.1	Установка зворотного осмосу. Робочий тиск	Кожну операцію	0,4–0,8 МПа	Манометричний, манометр
ДР 3.3 Зворотно-осмотичне очищення води Кх 3.3.2	Вода очищена після УЗО. Питома електропровідність	Кожну операцію	Не більше 10 мкСм/см	Кондуктометричний, кондуктометр
ДР 3.4 Зберігання води очищеної Кт 3.4.1	Збірник води очищеної. Рівень води	Кожну операцію	У межах робочого об'єму ємності	Візуальний контроль / індикатор рівня
ДР 3.4 Зберігання води очищеної Кт 3.4.2	Вода очищена у збірнику. Температура	Кожну операцію	15–20 °С	Термометричний, термометр

Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат

ДП БІ-2109.00 ПЗ

Арк.

65

Продовження таблиці 4.2

1	2	3	4	5
ДР 3.4 Зберігання води очищеної Км 3.4.3	Вода очищена. Мікробіологічна чистота	Кожну серію	Відсутність сторонньої мікрофлори	Мікробіологічний аналіз, висів на поживні середовища
ДР 3.4 Зберігання води очищеної Кх 3.4.4	Вода очищена. Питома електропровідність	Кожну серію	Не більше 10 мкСм/см	Кондуктометричний, кондуктометр
ДР 4.1 Приготування 10 % розчину НСІ Кт 4.1.1	Вода очищена. Температура	Кожну операцію	15–20 °С	Термометричний, термометр
ДР 4.1 Приготування 10 % розчину НСІ Кт 4.1.2	Мішалка. Швидкість перемішування	Кожну операцію	80–100 об/хв	Тахометричний, тахометр
ДР 4.1 Приготування 10 % розчину НСІ Кх 4.1.3	Розчин НСІ. Концентрація	Кожну операцію	10 ± 0,5 %	Титриметричний
ДР 4.1 Приготування 10 % розчину НСІ Кх 4.1.4	Розчин НСІ. Об'єм приготовленого розчину	Кожну операцію	100 ± 2 дм³	Об'ємний, за шкалою ємності
ДР 4.2 Приготування 10 % розчину NaOH Кт 4.2.1	Вода очищена. Температура	Кожну операцію	15–20 °С	Термометричний, термометр
ДР 4.2 Приготування 10 % розчину NaOH Кт 4.2.2	Мішалка. Швидкість перемішування	Кожну операцію	80–100 об/хв	Тахометричний, тахометр
ДР 4.2 Приготування 10 % розчину NaOH Кх 4.2.3	Розчин NaOH. Концентрація	Кожну операцію	10 ± 0,5 %	Титриметричний
ДР 4.2 Приготування 10 % розчину NaOH Кх 4.2.4	Розчин NaOH. Повнота розчинення натрію гідроксиду	Кожну операцію	Повне розчинення, відсутність осаду	Візуальний контроль
ДР 5.1 Приготування та стерилізація твердого поживного середовища Кх 5.1.1	Тверде MRS-середовище. Значення рН	Кожну операцію	рН 6,2–6,5	Потенціометричний, рН-метр
ДР 5.1 Приготування та стерилізація твердого поживного середовища Кт 5.1.2	Поживне середовище. Температура стерилізації	Кожну операцію	121 °С	Термометричний
ДР 5.1 Приготування та стерилізація твердого поживного середовища Кт 5.1.3	Поживне середовище. Тиск стерилізації	Кожну операцію	0,10 МПа	Манометричний, манометр
ДР 5.1 Приготування та стерилізація твердого поживного середовища Км 5.1.4	Тверде MRS-середовище. Стерильність	Кожну серію	Ріст сторонньої мікрофлори відсутній	Мікробіологічний, висів на щільні поживні середовища
ДР 5.2.1 Приготування та стерилізація рідкого поживного середовища в колбах Кх 5.2.1.1	Рідке MRS-середовище. Значення рН	Кожну операцію	рН 6,2–6,5	Потенціометричний, рН-метр

Продовження таблиці 4.2

1	2	3	4	5
ДР 5.2.1 Приготування та стерилізація рідкого поживного середовища в колбах Кт 5.2.1.2	Поживне середовище. Температура стерилізації	Кожну операцію	121 °С	Термометричний
ДР 5.2.1 Приготування та стерилізація рідкого поживного середовища в колбах Кт 5.2.1.3	Поживне середовище. Тиск стерилізації	Кожну операцію	0,11 МПа	Манометричний, манометр
ДР 5.2.1 Приготування та стерилізація рідкого поживного середовища в колбах Км 5.2.1.4	Рідке MRS-середовище. Стерильність	Кожну серію	Ріст сторонньої мікрофлори відсутній	Мікробіологічний, висів на щільні поживні середовища
ДР 5.2.2 Приготування та стерилізація рідкого поживного середовища в посівному апараті Кт 5.2.2.1	Мішалка посівного апарата. Швидкість перемішування	Кожну операцію	80–100 об/хв	Тахометричний, тахометр
ДР 5.2.2 Приготування та стерилізація рідкого поживного середовища в посівному апараті Кх 5.2.2.2	Рідке MRS-середовище. Значення рН	Кожну операцію	рН 6,2–6,5	Потенціометричний, рН-метр
ДР 5.2.2 Приготування та стерилізація рідкого поживного середовища в посівному апараті Кт 5.2.2.3	Поживне середовище. Температура стерилізації та охолодження	Кожну операцію	121 °С; 36–37 °С	Термометричний
ДР 5.2.2 Приготування та стерилізація рідкого поживного середовища в посівному апараті Кт 5.2.2.4	Посівний апарат. Тиск стерилізації	Кожну операцію	0,11 МПа	Манометричний, манометр
ДР 5.2.2 Приготування та стерилізація рідкого поживного середовища в посівному апараті Км 5.2.2.5	Рідке MRS-середовище. Стерильність	Кожну серію	Ріст сторонньої мікрофлори відсутній	Мікробіологічний, висів на щільні поживні середовища
ДР 5.3 Приготування та стерилізація поживного середовища для виробничого культивування Кт 5.3.1	Мішалка реактора. Швидкість перемішування	Кожну операцію	100 об/хв	Тахометричний, тахометр
ДР 5.3 Приготування та стерилізація поживного середовища для виробничого культивування Кх 5.3.2	Поживне середовище. Значення рН	Кожну операцію	рН 6,2–6,5	Потенціометричний, рН-метр

Продовження таблиці 4.2

1	2	3	4	5
ДР 5.3 Приготування та стерилізація поживного середовища для виробничого культивування Кт 5.3.3	Поживне середовище. Температура стерилізації та охолодження	Кожну операцію	121 °С; 36–37 °С	Термометричний
ДР 5.3 Приготування та стерилізація поживного середовища для виробничого культивування Кт 5.3.4	Реактор. Тиск стерилізації	Кожну операцію	0,15 МПа	Манометричний, манометр
ДР 5.3 Приготування та стерилізація поживного середовища для виробничого культивування Км 5.3.5	Поживне середовище. Стерильність	Кожну серію	Ріст сторонньої мікрофлори відсутній	Мікробіологічний, висів на щільні поживні середовища
ТП 6.1 Відновлення музейної культури Кт 6.1.1	Термостат. Температура інкубування	Кожну операцію	36–37 °С	Термометричний
ТП 6.1 Відновлення музейної культури Кт 6.1.2	Культура. Тривалість інкубування	Кожну операцію	24 год	Хронометричний
ТП 6.1 Відновлення музейної культури Км 6.1.3	Культура. Мікробіологічна чистота	Кожну серію	Стороння мікрофлора відсутня	Мікроскопія мазків, висів на щільні поживні середовища
ТП 6.2 Отримання культури І генерації Кт 6.2.1	Культура. Температура культивування	Кожну операцію	36–37 °С	Термометричний
ТП 6.2 Отримання культури І генерації Кт 6.2.2	Культура. Тривалість культивування	Кожну операцію	18 год	Хронометричний
ТП 6.2 Отримання культури І генерації Кт 6.2.3	Орбітальний шейкер. Швидкість обертання	Кожну операцію	80–120 об/хв	Тахометричний
ТП 6.2 Отримання культури І генерації Кх 6.2.4	Культура І генерації. Концентрація життєздатних клітин	Кожну серію	Не менше 1×10^8 КУО/см ³	Мікробіологічний, підрахунок КУО
ТП 6.2 Отримання культури І генерації Км 6.2.5	Культура І генерації. Мікробіологічна чистота	Кожну серію	Стороння мікрофлора відсутня	Мікроскопія, висів на поживні середовища
ТП 6.3 Отримання посівної культури ІІ генерації Кт 6.3.1	Посівний апарат. Температура культивування	Кожну операцію	36–37 °С	Термометричний
ТП 6.3 Отримання посівної культури ІІ генерації Кт 6.3.2	Культура. Тривалість культивування	Кожну операцію	16 год	Хронометричний

Продовження таблиці 4.2

1	2	3	4	5
ТП 6.3 Отримання посівної культури II генерації Кт 6.3.3	Мішалка посівного апарата. Швидкість перемішування	Кожну операцію	80–100 об/хв	Тахометричний
ТП 6.3 Отримання посівної культури II генерації Кх 6.3.4	Посівна культура II генерації. Концентрація життєздатних клітин	Кожну серію	Не менше 1×10^9 КУО/см ³	Мікробіологічний, підрахунок КУО
ТП 6.3 Отримання посівної культури II генерації Кх 6.3.5	Культуральна рідина. Значення рН	Кожну серію	5,5–6,5	Потенціометричний, рН-метр
ТП 6.3 Отримання посівної культури II генерації Км 6.3.6	Посівна культура II генерації. Мікробіологічна чистота	Кожну серію	Стороння мікрофлора відсутня	Мікроскопія, висів на поживні середовища
ТП 7.1 Засів виробничого ферментера Кт 7.1.1	Ферментер. Герметичність апарата	Кожну операцію	Герметичність забезпечена	Візуальний контроль, контроль тиску
ТП 7.1 Засів виробничого ферментера Кт 7.1.2	Поживне середовище. Об'єм у ферментері	Кожну операцію	625,121 дм ³	Об'ємний контроль, індикатор рівня
ТП 7.1 Засів виробничого ферментера Кт 7.1.3	Посівна культура II генерації. Кількість внесеного інокуляту	Кожну операцію	74,879 дм ³	Об'ємний контроль
ТП 7.2 Виробниче культивування Кт 7.2.1	Культуральна рідина. Температура культивування	Постійно	36–37 °С	Термометричний, термометр
ТП 7.2 Виробниче культивування Кт 7.2.2	Культуральна рідина. Тривалість культивування	Кожну операцію	18 год	Хронометричний, таймер
ТП 7.2 Виробниче культивування Кт 7.2.3	Мішалка ферментера. Швидкість перемішування	Постійно	100–150 об/хв	Тахометричний, тахометр
ТП 7.2 Виробниче культивування Кх 7.2.4	Культуральна рідина. Значення рН	Кожні 4 год	рН 6,0–6,2	Потенціометричний, рН-метр
ТП 7.2 Виробниче культивування Кх 7.2.5	Культуральна рідина. Концентрація життєздатних клітин	Кожні 4 год	Не менше 1×10^9 КУО/см ³ наприкінці культивування	Мікробіологічний, підрахунок КУО
ТП 7.2 Виробниче культивування Км 7.2.6	Культуральна рідина. Мікробіологічна чистота культури	Кожні 4 год	Стороння мікрофлора відсутня	Мікроскопія мазків, висів на поживні середовища

Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат

ДП БІ-2109.00 ПЗ

Арк.

69

Продовження таблиці 4.2

1	2	3	4	5
ТП 7.3 Охолодження культуральної рідини Кт 7.3.1	Культуральна рідина. Температура після охолодження	Постійно	4–8 °С	Термометричний, термометр
ТП 7.3 Охолодження культуральної рідини Кт 7.3.2	Процес охолодження. Тривалість	Кожну операцію	До досягнення температури 4–8 °С	Хронометричний, таймер
ТП 8.1 Сепарація культуральної рідини Кт 8.1.1	Концентрат мікробної суспензії. Температура	Кожну операцію	Не вище 10 °С	Термометричний, термометр
ТП 8.1 Сепарація культуральної рідини Кт 8.1.2	Дисковий сепаратор. Частота обертання барабана	Кожну операцію	5000–7000 об/хв	Тахометричний, тахометр
ТП 8.1 Сепарація культуральної рідини Кх 8.1.3	Концентрат мікробної суспензії. Концентрація життєздатних клітин	Кожну серію	Не менше 1×10^9 КУО/см ³	Мікробіологічний, підрахунок КУО на MRS-агарі
ТП 8.2 Приготування захисного середовища Кт 8.2.1	Захисне середовище. Температура приготування	Кожну операцію	40–45 °С	Термометричний, термометр
ТП 8.2 Приготування захисного середовища Кт 8.2.2	Мішалка реактора. Швидкість перемішування	Кожну операцію	80–100 об/хв	Тахометричний, тахометр
ТП 8.2 Приготування захисного середовища Кт 8.2.3	Захисне середовище. Повнота розчинення компонентів та однорідність	Кожну операцію	Середовище однорідне, нерозчинені частинки відсутні	Візуальний
ТП 8.2 Приготування захисного середовища Км 8.2.4	Захисне середовище. Стерильність після стерилізації	Кожну серію	Ріст мікроорганізмів відсутній	Мікробіологічний, висів на поживні середовища
ТП 8.3 Стабілізація мікробної суспензії Кт 8.3.1	Мішалка змішувача. Швидкість перемішування	Кожну операцію	60–80 об/хв	Тахометричний, тахометр
ТП 8.3 Стабілізація мікробної суспензії Кт 8.3.2	Процес змішування. Тривалість	Кожну операцію	15–20 хв	Хронометричний, таймер
ТП 8.3 Стабілізація мікробної суспензії Кх 8.3.3	Стабілізована суспензія. Однорідність	Кожну серію	Суспензія однорідна, без розшарування	Візуальний
ТП 8.3 Стабілізація мікробної суспензії Кх 8.3.4	Стабілізована суспензія. Концентрація життєздатних клітин	Кожну серію	Не менше 2×10^9 КУО/см ³	Мікробіологічний, підрахунок КУО
ТП 8.3 Стабілізація мікробної суспензії Кх 8.3.5	Стабілізована суспензія. Значення рН	Кожну серію	6,0–6,5	Потенціометричний, рН-метр

Продовження таблиці 4.2

1	2	3	4	5
ТП 8.3 Стабілізація мікробної суспензії Км 8.3.6	Стабілізована суспензія. Мікробіологічна чистота	Кожну серію	Стороння мікрофлора відсутня	Мікроскопія, висів на поживні середовища
ТП 9 Розлив стабілізованої мікробної суспензії Кт 9.1	Зона розливу. Температура повітря	Кожну операцію	2–6 °С	Термометричний, термометр
ТП 9 Розлив стабілізованої мікробної суспензії Кт 9.2	Флакон. Об'єм наповнення	Кожну серію	5,0 ± 0,1 см³	Об'ємний, мірний контроль
ТП 9 Розлив стабілізованої мікробної суспензії Кт 9.3	Флакони. Цілісність	Кожну серію	Тріщини та сколи відсутні	Візуальний
ТП 9 Розлив стабілізованої мікробної суспензії Кт 9.4	Частково закупорені флакони. Якість встановлення пробки	Кожну серію	Пробка встановлена правильно, перекося відсутні	Візуальний
ТП 9 Розлив стабілізованої мікробної суспензії Км 9.5	Повітря та продукція в зоні розливу. Стерильність	Кожну серію	Контамінація відсутня	Мікробіологічний контроль повітря та змивів
ТП 10.1 Заморожування препарату Кт 10.1.1	Препарат. Температура заморожування	Постійно	Кінцева температура -45 °С	Термометричний, термодатчик
ТП 10.1 Заморожування препарату Кт 10.1.2	Процес заморожування. Тривалість	Кожну операцію	28 год	Хронометричний, таймер
ТП 10.1 Заморожування препарату Кт 10.1.3	Препарат. Повнота заморожування	Кожну операцію	Повне заморожування вмісту флаконів	Візуальний
ТП 10.2 Первинне сублімаційне сушіння Кт 10.2.1	Камера ліофільної сушарки. Тиск	Постійно	20 Па	Манометричний, вакуумметр
ТП 10.2 Первинне сублімаційне сушіння Кт 10.2.2	Полиці сушарки. Температура	Постійно	-20 °С	Термометричний
ТП 10.2 Первинне сублімаційне сушіння Кт 10.2.3	Препарат. Температура	Постійно	Не вище -15 °С	Термометричний
ТП 10.2 Первинне сублімаційне сушіння Кт 10.2.4	Процес сушіння. Тривалість	Кожну операцію	24 год	Хронометричний, таймер
ТП 10.3 Вторинне сушіння Кт 10.3.1	Полиці сушарки. Температура	Постійно	Від -20 °С до +25 °С	Термометричний
ТП 10.3 Вторинне сушіння Кт 10.3.2	Процес сушіння. Тривалість	Кожну операцію	5 год	Хронометричний, таймер
ТП 10.3 Вторинне сушіння Кх 10.3.3	Ліофілізат. Залишкова вологість	Кожну серію	Не більше 5 %	Гравіметричний

Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат

ДП БІ-2109.00 ПЗ

Арк.

71

Продовження таблиці 4.2

1	2	3	4	5
ТП 10.3 Вторинне сушіння Кх 10.3.4	Ліофілізат. Зовнішній вигляд	Кожну серію	Однорідна пориста маса без ознак плавлення та колапсу	Візуальний
ТП 10.3 Вторинне сушіння Км 10.3.5	Ліофілізат. Концентрація життєздатних клітин	Кожну серію	Не менше 2×10^9 КУО/доза	Мікробіологічний, підрахунок КУО
ТП 11 Закупорювання флаконів Кт 11.1	Флакони. Герметичність закупорювання	Кожну серію	Герметичне закупорювання	Візуальний, контроль герметичності
ТП 11 Закупорювання флаконів Кт 11.2	Флакони. Правильність встановлення пробок та обжиму ковпачків	Кожну серію	Без перекосів та деформацій	Візуальний
ТП 11 Закупорювання флаконів Кт 11.3	Флакони. Цілісність	Кожну серію	Відсутність тріщин та сколів	Візуальний
ПМВ 12.1 Маркування та пакування флаконів Кт 12.1.1	Етикетка. Правильність маркування	Кожну серію	Повнота та відповідність маркування НД	Візуальний
ПМВ 12.1 Маркування та пакування флаконів Кт 12.1.2	Упаковка. Комплектність	Кожну серію	10 флаконів та інструкція в пачці	Візуальний
ПМВ 12.1 Маркування та пакування флаконів Кт 12.1.3	Картонна пачка. Цілісність	Кожну серію	Без пошкоджень	Візуальний
ПМВ 12.2 Фасування пачок та відвантаження коробок Кт 12.2.1	Транспортна тара. Комплектність	Кожну серію	50 картонних пачок у ящику	Візуальний
ПМВ 12.2 Фасування пачок та відвантаження коробок Кт 12.2.2	Транспортна тара. Правильність маркування	Кожну серію	Відповідність НД	Візуальний
ПМВ 12.2 Фасування пачок та відвантаження коробок Кт 12.2.3	Транспортна тара. Цілісність	Кожну серію	Без механічних пошкоджень	Візуальний
КЯ 13 Контроль якості готової продукції Кх 13.1	Ліофілізат. Зовнішній вигляд	Кожну серію	Суша пориста маса світло-кремового або світло-жовтого кольору	Візуальний
КЯ 13 Контроль якості готової продукції Кх 13.2	Ліофілізат. Залишкова вологість	Кожну серію	Не більше 5 %	Гравіметричний
КЯ 13 Контроль якості готової продукції Кх 13.3	Препарат. Концентрація життєздатних клітин	Кожну серію	Не менше 2×10^9 КУО/дозу	Висів серійних розведень на MRS-агар
КЯ 13 Контроль якості готової продукції Км 13.4	Препарат. Мікробіологічна чистота	Кожну серію	Відсутність сторонньої мікрофлори	Мікробіологічний висів

Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат

ДП БІ-2109.00 ПЗ

Арк.

72

Кінець таблиці 4.2

1	2	3	4	5
КЯ 13 Контроль якості готової продукції Кт 13.5	Флакони. Герметичність	Кожну серію	Герметичні	Вакуумний контроль
КЯ 13 Контроль якості готової продукції Кт 13.6	Маркування та упаковка	Кожну серію	Відповідність НД	Візуальний
ПВ 14 Переробка відходів Кт 14.1	Лабораторний посуд. Ефективність дезінфекції	Кожну партію	Відсутність видимих забруднень	Візуальний
ПВ 14 Переробка відходів Кх 14.2	Регеновані матеріали та фільтри. Технічний стан	Кожну партію	Придатні до повторного використання	Візуальний
ЗВ 15 Знешкодження відходів Кх 15.1	Рідкі відходи. Значення рН після нейтралізації	Кожну партію	рН 6,5–7,5	рН-метр
ЗВ 15 Знешкодження відходів Кт 15.2	Тверді відходи. Температура стерилізації	Кожну партію	121 °С	Термометр, датчик температури
ЗВ 15 Знешкодження відходів Кт 15.3	Тверді відходи. Тривалість стерилізації	Кожну партію	20 хв	Таймер, журнал процесу

4.5. Матеріальний баланс

Матеріальний баланс стадій процесу одного виробничого циклу наведено у таблиці 4.3.

В межах даного проекту, кількість виготовленого препарату «Лактобактерин» за один виробничий цикл становить 27686 флаконів по 5 см³ кожна.

Таблиця 4.3 – Матеріальний баланс виробництва

Використано				Отримано			
Назва сировини, матеріалів та напівпродуктів	Кількість			Назва кінцевого продукту або напівпродукту, відходів та втрат	Кількість		
	кг	шт	дм ³		кг	шт	дм ³
1	2	3	4	5	6	7	8
ДР 1.1.1 Приготування 1% розчину натрію гідроксиду							
Натрію гідроксид	0,500			1% розчин натрію гідроксиду (миючий розчин)			45,045
Вода очищена			45,000	Втрати: натрію гідроксид (~1%) вода очищена (~1%)	0,005		0,450
Всього:	0,500		45,000	Всього:	0,005		45,495

Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат

ДП БІ-2109.00 ПЗ

Арк.

73

Продовження таблиці 4.3

1	2	3	4	5	6	7	8
ДР 1.1.2 Приготування 6 % розчину перекису водню							
30 % перекис водню			6,000	6 % розчин перекису водню			99,000
Вода очищена			94,000	Втрати: перекис водню (~1%) вода очищена (~1%)			0,06 0,94
Всього:			100,000	Всього:			100,000
ДР 1.1.3 Приготування 70% розчину етилового спирту							
Етиловий спирт 96 %			73,00	70 % розчин етилового спирту			99,000
Вода очищена			27,00	Втрати: етилового спирту (~1%) вода очищена (~1%)			0,73 0,27
Всього:			100,000	Всього:			100,000
ДР 4.1 Приготування розчину HCl							
Концентрований розчин соляної кислоти			10,000	10 % розчин HCl			99,000
Вода очищена			90,000	Втрати: Концентрований розчин соляної кислоти (~1%) вода очищена (~1%)			0,100 0,900
Всього:			100,000	Всього:			100,000
ДР 4.2 Приготування розчину NaOH							
Натрію гідроксид	10,000			10 % розчин NaOH			99,000
Вода очищена			90,000	Втрати: натрію гідроксиду (~1%) вода очищена (~1%)	0,100		0,90
Всього:	10,000		90,000	Всього:	0,100		99,900
ДР 5.1 Приготування та стерилізація твердого поживного середовища для відновлення культури							
Вода очищена	1,000		1,000	Стерильний MRS-агар	1,052	21	0,99099
Глюкоза	0,020			Втрати: води очищеної (~1%)	0,010		0,010
Пептон	0,010			глюкози (~1%)	0,0002		
Дріжджовий екстракт	0,005			пептону (~1%)	0,0001		
Ацетат натрію	0,005			дріжджового екстракту (~1%)	0,00005		
Цитрат амонію	0,002			ацетату натрію (~1%)	0,00005		
				цитрату амонію (~1%)	0,00002		

Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат

ДП БІ-2109.00 ПЗ

Арк.

74

Продовження таблиці 4.3

1	2	3	4	5	6	7	8
Магній сірчаноокислий	0,0002			магнію сірчаноокислого (~1%) марганцю сірчаноокислого (~1%) агар-агару (~1%) Твін-80 (~1%) пробірки (~1%)	0,000002	1	0,00001
Марганець сірчаноокислий	0,00005				0,0000005		
Агар-агар	0,015				0,00015		
Твін-80	0,00107		0,001		0,000011		
Пробірки		22					
Всього:	1,05331	22	1,001	Всього:	1,05332	22	1,001
ДР 5.2.1 Приготування та стерилізація рідкого поживного середовища в колбах							
Вода очищена	10,000		10,000	Стерильне рідке MRS-середовище	10,329	20	9,9099
Глюкоза	0,200			Втрати: води очищеної (~1%)	0,100		0,100
Пептон	0,100			глюкози (~1%)	0,002		
Дріжджовий екстракт	0,050			пептону (~1%)	0,001		
Ацетат натрію	0,050			дріжджового екстракту (~1%)	0,0005		
Цитрат амонію	0,020			ацетату натрію (~1%)	0,0005		
Магній сірчаноокислий	0,002			цитрату амонію (~1%)	0,0002		0,0001
Марганець сірчаноокислий	0,0005			магнію сірчаноокислого (~1%)	0,00002		
Твін-80	0,0107		0,010	марганцю сірчаноокислого (~1%)	0,000005		
Колби		20		Твін-80 (~1%)			
Всього:	10,4332	20	10,010	Всього:	10,4332	20	10,01
ДР 5.2.2 Приготування та стерилізація рідкого поживного середовища в посівному апараті							
Вода очищена	63,000		63,000	Стерильне рідке MRS-середовище	65,072		65,068
Глюкоза	1,260			Втрати: води очищеної (~1%)	0,630		0,630
Пептон	0,630			глюкози (~1%)	0,013		
Дріжджовий екстракт	0,315			пептону (~1%)	0,006		
Ацетат натрію	0,315			дріжджового екстракту (~1%)	0,003		
Цитрат амонію	0,126			ацетату натрію (~1%)	0,003		
Магній сірчаноокислий	0,0126			цитрату амонію (~1%)	0,001		
				магнію сірчаноокислого (~1%)	0,0001		

Продовження таблиці 4.3

1	2	3	4	5	6	7	8
Марганець сірчаноокислий	0,00315			марганцю сірчаноокислого (~1%)	0,00003		
Твін-80	0,067		0,063	Твін-80 (~1%)	0,0007		0,0006
Всього:	65,729		63,063	Всього:	65,729		63,063
ДР 5.3 Приготування та стерилізація поживного середовища для виробничого біосинтезу в ферментері							
Вода очищена	630,797		630,797	Стерильне поживне середовище для виробничого культивування	651,474		625,121
Глюкоза	12,615			Втрати: води очищеної (~1%)	6,308		6,308
Пептон	6,311			глюкози (~1%)	0,126		
Дріжджовий екстракт	3,154			пептону (~1%)	0,063		
Ацетат натрію	3,154			дріжджового екстракту (~1%)	0,032		
Цитрат амонію	1,262			ацетату натрію (~1%)	0,032		
Магній сірчаноокислий	0,127			цитрату амонію (~1%)	0,013		
Марганець сірчаноокислий	0,032			магнію сірчаноокислого (~1%)	0,001		
Твін-80	0,675		0,631	марганцю сірчаноокислого (~1%)	0,0003		
Всього:	658,128		631,428	Твін-80 (~1%)	0,007		0,006
Всього:	658,128		631,428	Всього:	658,128		631,428
ТП 6.1 Відновлення музейної культури <i>L. plantarum</i> 8P-A3							
Музейна пробірка з культурою <i>Lactiplantibacillus plantarum</i> 8P-A3		1		Пробірки з відновленою культурою		20	
Пробірки зі скошеним MRS-агаром		22		Втрати: відпрацьована музейна пробірка		1	
				контаміновані пробірки (~1%)		1	
				пробірка для повернення в музей		1	
Всього:		23		Всього:		23	
ТП 6.2 Отримання культури I генерації в колбах на орбітальному шейкері							
Пробірки з відновленою культурою		20		Культура I генерації	10,226	19	9,811

Продовження таблиці 4.3

1	2	3	4	5	6	7	8
Стерильне рідке MRS-середовище	10,329	20	9,9099	Втрати: контаміновані колби відпрацьовані пробірки з культурою	0,103	1 20	0,099
Всього:	10,329	40	9,9099	Всього:	10,329	40	9,9099
ТП 6.3 Отримання культури II генерації в посівному апараті							
Культура I генерації	10,226	19	9,811	Культура II генерації	75,298		74,897
Поживне середовище	65,072		65,068	Втрати: Відпрацьовані колби		19	
Всього:	75,298	19	74,879	Всього:	75,298	19	74,879
ТП 7.2 Виробниче культивування <i>L. plantarum</i> 8P-A3 в ферментері							
Посівна культура II генерації	75,298		74,897	Культуральна рідина з біомасою	726,772		700,000
Стерильне поживне середовище	651,474		625,121	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>			
Всього:	726,772		700,000	Всього:	726,772		700,000
ТП 8.1 Сепарація культуральної рідини							
Культуральна рідина з біомасою <i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	726,772	700,000		Концентрат клітинної суспензії	72,677		70,000
				Втрати: відпрацьована культуральна рідина (фугат)	646,827		623,000
				втрати біомаси з фугатом (1%)	7,268		7,000
Всього:	726,772		700,000	Всього:	726,772		700,000
ТП 8.2 Приготування та стерилізація захисного середовища							
Вода очищена	52,582			Захисне середовище	75,443		
Сахароза	7,620			Втрати: води очищеної (~1 %)	0,526		
Желатин	0,762			сахарози (~1 %)	0,076		
Знежирене молоко	15,241			желатину (~1 %)	0,008		
Всього:	76,205			знежиреного молока (~1 %)	0,152		
Всього:	76,205			Всього:	76,205		
ТП 8.3 Стабілізація мікробної біомаси							
Концентрат клітинної суспензії	72,677		70,000	Стабілізована мікробна біомаса	148,120		138,434
Захисне середовище	75,443		68,434				
Всього:	148,120		138,434	Всього:	148,120		138,434

Кінець таблиці 4.3

1	2	3	4	5	6	7	8
ТП 9 Розлив стабілізованої мікробної суспензії							
Стабілізована мікробна біомаса	148,120		138,434	Розлитий напівфабрикат, в тому числі: препарату, флаконів, гумових пробок		27686 27686	138,430
Флакони		27686		Втрати: стабілізована мікробна біомаса			0,004
Гумові пробки		27686					
Всього:	148,120	55372	138,434	Всього:	193,806	55372	138,434
ТП 10 Ліофільне висушування напівфабрикату в флаконах							
Розлитий напівфабрикат	148,120	27686	138,430	Ліофілізат препарату	36,07	27686	29,29
				Конденсат	109,140		109,140
Всього:	148,120	27686	138,430	Всього:	148,12	27686	138,430
ТП 11 Закупорювання флаконів							
Флаконів препарату		27686		Закупорених флаконів, в т.ч. флакони алюмінієві ковпачки		27686 27686	
Алюмінієві ковпачки		27686					
Всього:		55372		Всього:		55372	
ПМВ 12 Пакування, маркування та відвантаження препарату							
Закупорені флакони з препаратом		27686		Розфасований та упакований препарат, в т.ч.: Флакони Етикетки Картонні упаковки та інструкції Картонні коробки		27686 27686 2769 56	
Етикетки для флаконів		27686					
Картонні упаковки та інструкції		2769					
Картонні коробки		56					
Всього:		58197		Всього:	58197		

РОЗДІЛ 5. РОЗРАХУНОК ОБЛАДНАННЯ ДЛЯ ПРОВЕДЕННЯ ТЕХНОЛОГІЧНОГО ПРОЦЕСУ

5.1 Обґрунтування вибраної конструкції та принцип дії. Підбір конструкційних матеріалів для окремих елементів апарату

Видалення вологи є однією з найважливіших стадій виробництва пробіотичних препаратів, оскільки саме спосіб сушіння визначає ступінь збереження життєздатності мікроорганізмів, стабільність препарату під час зберігання та його терапевтичну ефективність. Для висушування біологічних матеріалів у промисловості застосовують конвективні, контактні, інфрачервоні, розпилювальні та сублімаційні сушарки [24, 25].

Конвективне сушіння здійснюється шляхом контакту продукту з потоком нагрітого повітря. Такі установки характеризуються простотою конструкції, високою продуктивністю та відносно низькими експлуатаційними витратами. Проте температура сушильного агента зазвичай становить 50–120 °С, що призводить до денатурації білків, пошкодження клітинних мембран та значного зниження життєздатності пробіотичних культур. Тому конвективні сушарки використовують переважно для термостійких матеріалів і вони практично не застосовуються для виробництва лікарських препаратів, що містять живі мікроорганізми [25].

Інфрачервоні сушарки забезпечують інтенсивне нагрівання матеріалу за рахунок поглинання інфрачервоного випромінювання. Основними перевагами даного способу є висока швидкість сушіння та компактність обладнання. Разом із тим локальне перегрівання поверхневих шарів продукту може викликати незворотне пошкодження клітин мікроорганізмів та нерівномірний розподіл залишкової вологи, що обмежує використання цього методу для сушіння пробіотичних препаратів.

Розпилювальне сушіння широко застосовують у виробництві бактеріальних препаратів, у тому числі пробіотиків. До його переваг належать

					ДП БІ-2109.00 ПЗ				
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата					
Розроб.		Пономаренко О.С.			РОЗДІЛ 5. РОЗРАХУНОК ОБЛАДНАННЯ ДЛЯ ПРОВЕДЕННЯ ТЕХНОЛОГІЧНОГО ПРОЦЕСУ		Стадія	Арк.	Аркушів
Конс.								79	116
							КПІ ім. Ігоря Сікорського ФБТ		
Керівн.		Косова В.П.							

висока продуктивність, безперервність процесу та можливість отримання порошкоподібного продукту за короткий час. Проте під час розпилення суспензії дрібні краплини контактують із гарячим повітрям температурою 120–200 °С. Незважаючи на те, що температура самих частинок є нижчою, значна частина клітин зазнає термічного та осмотичного стресу. У результаті виживаність молочнокислих бактерій після розпилювального сушіння зазвичай становить 50–90 %, тоді як при правильно підібраних режимах ліофілізації вона може перевищувати 90–95 %. Крім того, розпилювальне сушіння не дозволяє проводити висушування безпосередньо у первинній тарі, що потребує додаткових операцій фасування та підвищує ризик вторинної контамінації препарату [24, 28].

Для виробництва препарату «Лактобактерин», діючою речовиною якого є живі клітини *Lactiplantibacillus plantarum* 8P-A3, найбільш доцільним є застосування сублімаційного сушіння. На відміну від інших методів, ліофілізація здійснюється при низьких температурах і в умовах вакууму. Видалення вологи відбувається шляхом сублімації льоду без переходу води через рідку фазу, що мінімізує пошкодження клітинних структур та забезпечує високий рівень збереження життєздатності мікроорганізмів. Ліофілізовані препарати характеризуються низькою залишковою вологістю, тривалим терміном зберігання та високою стабільністю біологічної активності [24, 25].

Сублімаційні сушарки можуть бути камерними, барабанными, тунельними та поличними, а також працювати в безперервному або періодичному режимі. Тунельні та безперервні установки відзначаються високою продуктивністю, однак призначені переважно для великотоннажного виробництва. Для виробництва пробіотичного препарату у флаконах використання такого обладнання є недоцільним через складність забезпечення асептичних умов, необхідність застосування транспортних систем та підвищений ризик контамінації продукту [31].

Барабанні сублімаційні сушарки використовують переважно для висушування пастоподібних або рідких матеріалів у тонкому шарі. Їх

					ДП БІ-2109.00 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат		80

конструкція не дозволяє проводити сушіння безпосередньо у флаконах, тому для фармацевтичних пробіотичних препаратів вони практично не застосовуються.



а



б



в



г

Рисунок 5.1 – Основні типи сублімаційних сушарок: а – камерна вакуум-сублімаційна сушарка RAY® (GEA Group, Німеччина); б – тунельна сублімаційна сушарка CONRAD® (GEA Group, Німеччина); в – барабанна сушарка Drum Dryer (Buflovak LLC, США); г – тунельна сублімаційна сушарка безперервної дії (IMA Life, Італія) [32-35].

У даному проєкті обрано вакуум-сублімаційну сушарку поличного типу періодичної дії. Така конструкція забезпечує проведення заморожування, первинного та вторинного сушіння безпосередньо у флаконах, що дозволяє виключити додаткові операції перевантаження продукту та мінімізувати ризик його контамінації. Поличні сушарки забезпечують рівномірне підведення тепла через теплообмінні плити, можливість точного регулювання температури та тиску на кожній стадії процесу, а також високий рівень асептики виробництва [31].

Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат

ДП БІ-2109.00 ПЗ

Арк.

81

Використання періодичного режиму роботи є оптимальним для виробництва пробіотичного препарату «Лактобактерин», оскільки технологічний процес передбачає ступінчасте заморожування, первинне та вторинне сушіння з індивідуальним контролем параметрів на кожній стадії. Крім того, продуктивність проєктованої дільниці не потребує застосування високопродуктивних безперервних сублімаційних установок. Використання сушарки періодичної дії дозволяє забезпечити стерильність процесу, стабільність режимів ліофілізації та високу виживаність клітин *Lactiplantibacillus plantarum* 8P-A3, що є визначальним фактором якості готового пробіотичного препарату [31].

Основні вузли установки, які контактують із продуктом, виготовляють із корозійностійкої нержавіючої сталі марки AISI 316. Вибір даного матеріалу обумовлений необхідністю забезпечення високої хімічної стійкості обладнання до дії вологи, мийних та дезінфекційних засобів, а також можливістю його експлуатації в умовах вакууму та багаторазових циклів охолодження і нагрівання. Порівняно зі сталлю AISI 304, сталь AISI 316 містить молібден, що підвищує її корозійну стійкість та забезпечує більшу довговічність обладнання в умовах фармацевтичного та біотехнологічного виробництва [24, 31].

Із нержавіючої сталі AISI 316 виготовляють корпус сушарки, теплообмінні полиці, трубопроводи та інші елементи, що контактують із продуктом. Для герметизації вакуумної камери використовують еластомерні ущільнення на основі силіконових або фторкаучукових матеріалів, які зберігають еластичність при низьких температурах та забезпечують надійну герметичність системи в умовах вакууму. Теплоізоляцію апарата виконують із матеріалів з низькою теплопровідністю, що дозволяє зменшити теплові втрати, підвищити енергоефективність процесу та забезпечити стабільність технологічних режимів ліофілізації [26, 31].

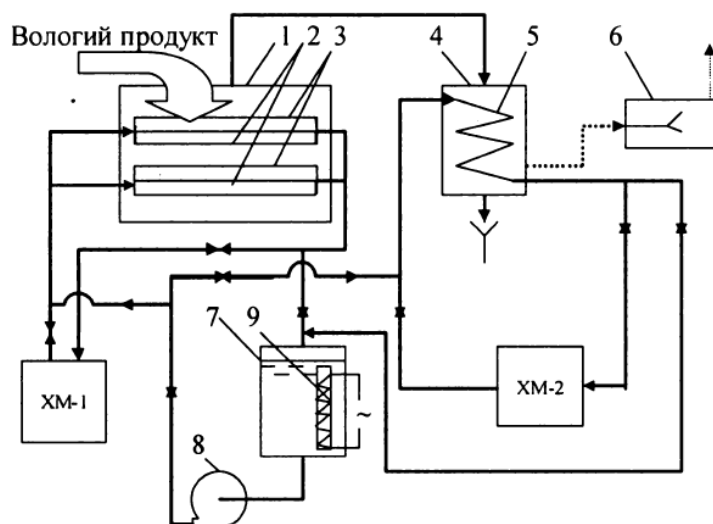


Рисунок 5.2 – Принципова схема вакуум-сублімаційної установки періодичної дії [26]: 1 – сублімаційна камера; 2 – полиці (теплообмінні плити); 3 – флакони з продуктом; 4 – конденсатор водяної пари; 5 – теплообмінний елемент конденсатора; 6 – вакуум-насос; 7 – ємність для теплоносія; 8 – циркуляційний насос; 9 – трубчасті електронагрівачі; ХМ-1 – холодильна машина для заморожування продукту; ХМ-2 – холодильна машина конденсатора.

На рисунку 5.2 представлена принципова схема вакуум-сублімаційної установки, яка працює наступним чином. Усередині сублімаційної камери 1 розміщені металеві полиці 2, на яких встановлюють касети з флаконами 3, заповненими суспензією, що підлягає ліофілізації.

Після завантаження продукту камеру герметично закривають та запускають холодильну установку ХМ-1. Холодоносій циркулює через полиці 2, у результаті чого відбувається поступове заморожування суспензії у флаконах. Для підтримання необхідної температури холодоносій додатково охолоджується у змішувачу, розташованому в ємності 7.

Після завершення етапу заморожування сублімаційну камеру з'єднують із конденсатором 4, всередині якого знаходиться теплообмінний елемент 5 із розвиненою поверхнею теплообміну. Одночасно запускають холодильну машину ХМ-2, яка забезпечує подачу холодоносія з температурою, нижчою за температуру сублімації льоду.

За допомогою вакуум-насоса 6 у системі створюють глибокий вакуум у межах 15–150 Па. Після цього насосом 8 через полиці починають циркуляцію теплоносія з температурою, вищою за температуру замороженого продукту. Підведене тепло витрачається на процес сублімації льоду без переходу води у рідку фазу.

Під час сушіння водяна пара із сублімаційної камери надходить у конденсатор 4. Оскільки температура поверхні теплообмінника 5 нижча за температуру водяної пари, на його поверхні відбувається десублімація з утворенням шару льоду.

Після завершення процесу сушіння температуру теплоносія поступово підвищують для доведення температури висушеного матеріалу до необхідного рівня. Далі вимикають вакуум-насос та холодильну систему ХМ-2. Для видалення льоду з поверхні теплообмінника через систему пропускають теплий теплоносій, у результаті чого лід плавиться, а утворена вода відводиться з конденсатора.

Після вирівнювання тиску в системі із сублімаційної камери вивантажують висушений продукт, а установку готують до проведення наступного технологічного циклу [26, 31].

Основними недоліками сублімаційного сушіння, порівняно з іншими способами, є висока вартість апарату та його установки, складність експлуатації та великі енергозатрати на роботу холодильної установки і вакуум-насосу [25].

Отже, використання вакуум-сублімаційної сушарки поличного типу є найбільш доцільним для виробництва препарату «Лактобактерин», оскільки дозволяє отримати ліофілізований продукт із високою концентрацією життєздатних клітин *Lactiplantibacillus plantarum* та низьким залишковим вмістом вологи.

5.2. Патентно-літературний огляд

Метою патентного пошуку було визначення сучасного рівня технічних рішень у сфері створення та удосконалення сублімаційних сушарок, які можуть бути використані для ліофілізації біотехнологічних і фармацевтичних

					ДП БІ-2109.00 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат		84

препаратів. Особливу увагу приділено конструкціям вакуум-сублімаційних сушарок, поличних систем, конденсаторів, барабанних і безперервних установок, а також вузлів, що забезпечують рівномірне підведення тепла, підтримання вакууму та ефективне видалення водяної пари.

Пошук проводився за ключовими словами: sublimation dryer, freeze dryer, lyophilizer, vacuum freeze dryer, freeze dryer shelf, continuous freeze drying apparatus, rotary drum vacuum freeze dryer, pharmaceutical lyophilizer. Основними джерелами інформації були бази Google Patents, Espacenet та патентні ресурси УКРНОІВІ.

Таблиця 5.1 – Регламент пошуку (форма Б.1 згідно з ДСТУ 3575-97)

Предмет пошуку	Мета пошуку інформації	Держава пошуку	Класифікаційні індекси	Ретро спектр ивність пошуку	Джерела інформації
Сублімаційні сушарки, ліофільні сушарки, вакуум-сублімаційні установки, поличні системи, конденсатори, барабанні та безперервні сушарки	Визначення сучасних технічних рішень у сфері конструкції та роботи ліофільних сушарок для біотехнологічної і фармацевтичної продукції	Україна, США, країни ЄС, Канада, WIPO	F26B5/06, F26B25/00, F26B25/18, F26B25/02, A61J3/00	1990–2026	Google Patents, Espacenet, УКРНОІВІ [36-42]

Таблиця 5.2 – Джерела інформації, використані під час проведення пошуку

Предмет пошуку	Держава пошуку	Класифікаційні індекси	Інформацій на база, використана під час пошуку	Патентна інформація	Інша науково-технічна інформація
Конструкції сублімаційних сушарок, вузли ліофільних установок, поличні системи, конденсатори, вакуумні системи та барабанні ліофілізатори	Україна, США, країни ЄС, Канада, WIPO	F26B5/06, F26B25/00, F26B25/18, F26B25/02, A61J3/00	Google Patents, Espacenet, УКРНОІВІ	Описи винаходів, патентні заявки, міжнародні публікації, патенти на конструкції ліофільних сушарок	Навчальні посібники з процесів і апаратів, технологічного обладнання фармацевтичної та біотехнологічної промисловості, матеріали виробників ліофільного обладнання

Таблиця 5.3 – Патентна документація, відібрана для подальшого аналізу

ОГД, його складові частини	Бібліографічні дані	Відомості щодо чинності
1	2	3
Полиця ліофільної сушарки з каналами для циркуляції теплоносія	Patent US5519946A. Freeze dryer shelf. United States. Published 21.05.1996. International Patent Classification: F26B5/06, F26B25/18	Строк дії патенту закінчився
Конструкція ліофільної сушарки з камерою, конденсатором і вакуумним насосом	Patent US5884413A. Freeze dryer. United States. Published 23.03.1999. International Patent Classification: F26B5/06.	Строк дії патенту закінчився
Полиця ліофільної сушарки, виготовлена методом вакуумного паяння	Patent WO2007085869A1. Freeze dryer shelf. WIPO. Published 02.08.2007. International Patent Classification: F26B5/06, F26B25/18.	Міжнародна заявка; чинність залежить від національних фаз
Безперервна сублимаційна сушарка	Patent EP0546597B1. Continuous freeze drying apparatus. European Patent Office. Published 16.06.1993. International Patent Classification: F26B5/06.	Строк дії патенту закінчився
Обертний барабан для вакуумної сублимаційної сушарки	Patent UA110551C2. Rotary drum for use in a vacuum freeze-dryer. Ukraine. Published 12.01.2016. International Patent Classification: F26B5/06.	Чинність потребує перевірки у національному реєстрі
Спосіб ліофілізації та конструкція апарата з камерою, полицями, конденсатором і вакуумними насосами	Patent WO2018204484A1. Freeze-drying methods and related products. WIPO. Published 08.11.2018. International Patent Classification: F26B5/06.	Міжнародна заявка; чинність залежить від національних фаз
Ліофільна сушарка з окремими контурами охолодження камери продукту та конденсатора	Patent CA3211033A1. A freeze dryer and a method for operating a freeze dryer. Canada. Published 2023. International Patent Classification: F26B5/06.	Патентна заявка

У результаті патентного пошуку встановлено, що технічні рішення у сфері сублимаційного сушіння спрямовані переважно на підвищення рівномірності теплопередачі, скорочення тривалості сушіння, покращення роботи конденсатора, зменшення енерговитрат та забезпечення стабільних умов вакууму. Значна частина патентів стосується конструкції полиць ліофільних сушарок, оскільки саме через полиці відбувається підведення або відведення тепла від продукту під час заморожування, первинного та вторинного сушіння.

Окремий напрям патентних розробок пов'язаний із безперервними та барабанними сублимаційними сушарками. Такі конструкції можуть забезпечувати високу продуктивність і використовуватися для продуктів у вигляді частинок, паст або тонкого шару матеріалу. Водночас для виробництва препарату «Лактобактерин», який фасується у флакони перед ліофілізацією, такі

установки є менш доцільними, оскільки не забезпечують зручного сушіння продукту безпосередньо у первинній тарі.

Для даного проєкту найбільш придатним технічним рішенням є вакуум-сублімаційна сушарка поличного типу періодичної дії. Така конструкція відповідає технологічним вимогам виробництва пробіотичного препарату, оскільки дозволяє проводити заморожування, первинне та вторинне сушіння безпосередньо у флаконах, підтримувати асептичні умови процесу, забезпечувати контроль температури полиць і тиску в камері, а також знижувати ризик вторинної контамінації продукту.

Таким чином, результати патентно-літературного огляду підтверджують доцільність використання поличної вакуум-сублімаційної сушарки періодичної дії для виробництва ліофілізованого пробіотичного препарату «Лактобактерин».

5.3. Технологічний розрахунок сублімаційної сушарки періодичної дії

Вихідні дані:

1. Об'єм напівпродукту:	$V_{\text{сусп}} = 138,43 \text{ л/цикл}$
2. Початкова вологість матеріалу:	$W_{\text{поч}} = 75,0 \%$
3. Кінцева вологість матеріалу:	$W_{\text{кінц}} = 5 \%$
4. Маса води, що випарувалася:	$m_{\text{води}} = 109,14 \text{ кг}$
5. Температура заморожування:	$t_{\text{хол}} = -45 \text{ }^{\circ}\text{C}$
6. Час заморожування:	$\tau_{\text{хол}} = 28 \text{ год}$
7. Температура первинного сушіння:	$t_{\text{субл}} = -20 \text{ }^{\circ}\text{C}$
8. Час первинного сушіння:	$\tau_{\text{субл}} = 24 \text{ год}$
9. Температура вторинного сушіння:	$t_{\text{суш}} = 25 \text{ }^{\circ}\text{C}$
10. Час первинного сушіння:	$\tau_{\text{суш}} = 5 \text{ год}$

5.3.1 Визначення основних розмірів сублімаційної камери

За один технологічний цикл сублімаційного сушіння необхідно переробити 138,43 л стабілізованої біомаси, яка попередньо розливається у скляні флакони місткістю 5 см³. Для фасування зазначеного об'єму препарату необхідно 27 686 флаконів. Відповідно до характеристик обраної тари, зовнішній діаметр одного флакону становить 20,5 мм (0,0205 м), висота – 40 мм (0,04 м)

[43]. При розрахунку площі завантаження касет враховують, що коефіцієнт використання поверхні становить 0,9069 [44].

На підставі цих даних визначаємо необхідну площу поверхні касет для розміщення всіх флаконів під час процесу ліофілізації [26]:

$$S_{\text{п.п.}} = 0,9069 \cdot n \cdot d_{\text{фл}}^2 = 0,9069 \cdot 27686 \cdot 0,0205^2 = 10,58 \text{ м}^2 \quad (5.1)$$

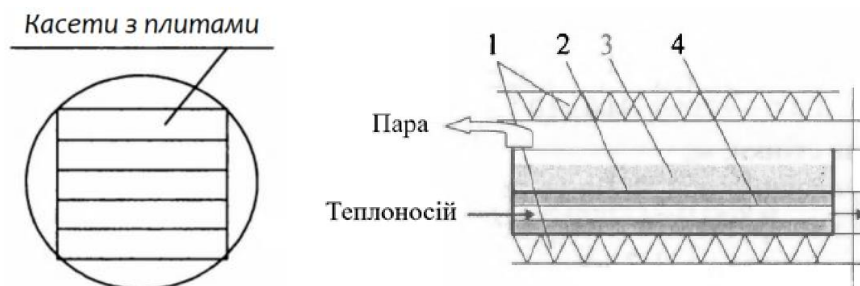


Рисунок 5.2 – Схематичний поперечний переріз сублімаційної камери і повздовжний переріз піддону і плити: 1 - простір для механічно-технологічних пристроїв для виймання піддонів з камери; 2 - піддон;

3 - шар суспензії, що сублімується; 4 - плита з каналом для теплоносія.

Висота флакону становить 40 мм. Висоту плити приймаємо 40 мм, повітряний зазор між флаконом і плитою – 9,5 мм, а зазор між касетою та плитою – 0,5 мм. Отже, загальна висота одного ярусу системи «плита–касета–флакони» становить 90 мм.

Позначимо кількість касет як n , тоді висота пакета касет $h_{\text{п.к.}} = 0,09n$.

Найбільш оптимальним та компактним розташуванням плит є куб, тому висота пакета плит має бути рівною їх ширині (Ш) та довжині (Д) [26].

Оскільки добуток ширини та довжини плити дорівнює її площі, то загальна площа плит може бути виражена наступним чином [31]:

$$S_{\text{плит}} = \text{Ш} \cdot \text{Д} \cdot n = 0,09n \cdot 0,09n \cdot n = 10,58 \text{ м}^2 \quad (5.2)$$

Тоді приймаємо, що $n = 11$ касет.

Таким чином, ширина та довжина плити становитиме $\text{Ш} = \text{Д} = 0,09 \cdot 11 = 0,99$ м. Отже, поверхня однієї касети становить $F_1 = 0,99 \cdot 0,99 = 0,9801 \text{ м}^2$, а загальна площа становитиме $F = 0,9801 \cdot 11 = 10,7811 \text{ м}^2$.

Діаметр кола, яке описане навколо квадрата зі стороною 0,99 м, становить:

$$D_{\text{вн}} = \sqrt{\text{Ш}^2 + \text{Д}^2} = \sqrt{0,99^2 + 0,99^2} = 1,40 \text{ м} \quad (5.3)$$

Приймаємо внутрішній діаметр сублимаційної камери 1,4 м, а довжину приймаємо 1,0 м.

Тоді, робочий об'єм сублимаційної камери становить [31]:

$$V_p = \frac{\pi \cdot D_{\text{вн}}^2}{4} \cdot l = \frac{3,14 \cdot 1,4^2}{4} \cdot 1,0 = 1,54 \text{ м}^3 \quad (5.4)$$

де D – внутрішній діаметр камери;

l – довжина камери.

5.3.2. Розрахунок маси сублимаційної камери

Товщину стінок сублимаційної камери розраховують за формулою:

$$\delta_{\text{стінок}} = 0,47 \frac{D_{\text{вн}}}{100} \left(\frac{p}{10^{-6} \cdot E} \cdot \frac{l}{D} \right)^{0,4} + C + C_i \quad (5.5)$$

де δ – товщина стінки, м;

p – розрахунковий тиск, МПа (зовнішній тиск становить 0,101325 МПа, тому з урахуванням коефіцієнту запасу міцності (1,5) розрахунковий тиск приймаємо $p = 0,101325 \cdot 1,5 = 0,152$ МПа) [26];

D – діаметр апарата, м;

l – розрахункова довжина обичайки, м;

E – модуль повздовжньої пружності, МПа (приймаємо $E = 1,99 \cdot 10^5$ МПа) [26];

C – додаток до розрахункової товщини для компенсації корозії, м;

C_i – додаток до заокруглення до цілого числа міліметрів.

Додаток до розрахункової товщини для компенсації корозії становить [26]:

$$C = \Pi \cdot \tau_a = 10 \cdot 10^{-4} \text{ м} \quad (5.6)$$

де Π – корозійна проникність, м/рік (приймаємо $\Pi = 10^{-4}$ м/рік) [26];

τ_a – амортизаційний термін служби апарата, років (приймаємо 10 років).

$$\begin{aligned} \delta_{\text{стінок}} &= 0,47 \frac{1,4}{100} \left(\frac{0,152}{10^{-6} \cdot 1,99 \cdot 10^5} \cdot \frac{1,0}{1,4} \right)^{0,4} + 10 \cdot 10^{-4} + 0,00083 = \\ &= 0,007 \text{ м} = 7 \text{ мм} \end{aligned} \quad (5.7)$$

Поверхня обичайки камери дорівнює [26]:

$$F_{\text{об}} = \pi \cdot \left(\frac{D_{\text{вн}} + D_{\text{зовн}}}{2} \right) \cdot l = 3,14 \cdot \left(\frac{1,4 + 1,86}{2} \right) \cdot 1 = 4,77 \text{ м}^2 \quad (5.8)$$

Об'єм металу, який пішов на виготовлення обичайки [26]:

$$V_{\text{об}} = F_{\text{об}} \cdot \delta = 4,77 \cdot 0,007 = 0,033 \text{ м}^3 \quad (5.9)$$

					ДП БІ-2109.00 ПЗ	Арк.
						89
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат		

Товщина еліптичних кришок розраховується за формулами [26]:

$$\delta_{\text{кришок1}} = \frac{k_e \cdot R}{300} \sqrt{\frac{p}{E \cdot 10^{-6}}} + C + C_i \quad (5.10)$$

$$\delta_{\text{кришок2}} = \frac{p \cdot R}{2 \cdot \sigma_{\text{доп}}} \cdot \beta_1 + C + C_i \quad (5.11)$$

де R – радіус кривизни у вершині еліптичного днища (приймаємо 3м);

k_e – коефіцієнт, який залежить від відношення висоти кришки до діаметра кришки (приблизно 0,3) і відношення радіуса кривизни до товщини кришки (орієнтовно $3000 / 8 = 375$), при цих значеннях $k_e = 0,99$ [26];

$\sigma_{\text{доп}}$ – нормативна напруга, що допускається (160 МПа) [26];

β_1 – безрозмірний коефіцієнт, що розраховується за формулою [26]:

$$\begin{aligned} \beta_1 &= 0,5 + \sqrt{0,25 + 12 k_e^2 \frac{\sigma_e \cdot \sigma_{\text{доп}}}{E \cdot p}} = \\ &= 0,5 + \sqrt{0,25 + 12 \cdot 0,99^2 \frac{240 \cdot 160}{1,99 \cdot 10^5 \cdot 0,152}} = 4,40 \end{aligned} \quad (5.12)$$

де σ_e – мінімальне значення межі пливності (приймаємо 240 МПа) [26].

Таким чином, розрахуємо товщину еліптичних кришок:

$$\delta_{\text{кришок1}} = \frac{0,99 \cdot 3}{300} \sqrt{\frac{0,152}{1,99 \cdot 10^5 \cdot 10^{-6}}} + 10 \cdot 10^{-4} + 0,00035 = 0,01 \quad (5.13)$$

$$\delta_{\text{кришок2}} = \frac{0,152 \cdot 3}{2 \cdot 160} \cdot 4,4 + 10 \cdot 10^{-4} + 0,00073 = 0,008 \quad (5.14)$$

З отриманих значень обираємо менше, тому товщина кришки становить 8 мм.

Поверхня кришки дорівнює [26]:

$$F_k = \frac{1,1 \cdot \pi \cdot d^2}{4} = \frac{1,1 \cdot 3,14 \cdot 1,4^2}{4} = 1,69 \text{ м}^2 \quad (5.15)$$

де, 1,1 – коефіцієнт, який враховує еліптичність і відбортовку кришки.

Об'єм металу, потрібний на виготовлення кришок, дорівнює [26]:

$$V_{\text{кр}} = 2 F_k \cdot \delta_{\text{кришок2}} = 2 \cdot 1,69 \cdot 0,008 = 0,027 \text{ м}^3 \quad (5.16)$$

Розрахуємо об'єм металу, при товщині сталевих листів 0,001 м, потрібний на виготовлення касет [26]:

$$V_{\text{кас}} = n \cdot \delta_{\text{листів}} \cdot \Pi^2 + n \cdot \delta_{\text{листів}} \cdot 4 \cdot \Pi \cdot h_{\text{п.к.}} =$$

$$= 11 \cdot 0,001 \cdot 0,99^2 + 11 \cdot 0,001 \cdot 4 \cdot 0,99 \cdot 0,09 = 0,015 \text{ м}^3 \quad (5.17)$$

де, $\delta_{\text{листів}}$ – товщина сталевих листів (приймаємо 0,001 м) [26];

$h_{\text{п.к.}}$ – висота пакета касет.

Об'єм металу, при товщині сталевих листів 0,001 м, потрібний на виготовлення плит [26]:

$$\begin{aligned} V_{\text{пл}} &= 2n \cdot \delta_{\text{листів}} \cdot \text{Ш}^2 + n \cdot \delta_{\text{листа}} \cdot 4\text{Ш} \cdot h_{\text{п}} = \\ &= 11 \cdot 2 \cdot 0,001 \cdot 0,99^2 + 11 \cdot 0,001 \cdot 4 \cdot 0,99 \cdot 0,04 = 0,023 \text{ м}^3 \end{aligned} \quad (5.18)$$

де, $h_{\text{п}}$ – висота плити.

Таким чином, загальний об'єм металу для виготовлення апарату [26]:

$$\begin{aligned} V_{\text{м}} &= V_{\text{об}} + V_{\text{кр}} + V_{\text{кас}} + V_{\text{пл}} = \\ &= 0,033 + 0,027 + 0,015 + 0,023 = 0,098 \text{ м}^3 \end{aligned} \quad (5.19)$$

Тоді маса апарату [26]:

$$m_{\text{а}} = 0,097 \cdot 7800 = 764,4 \text{ кг} \quad (5.20)$$

5.3.3 Визначення часу заморожування і охолодження замороженої суспензії

Тепло, що віднімається від суспензії, при охолодженні від 6 °С до 0 °С розраховується за формулою [44]:

$$Q_1 = G \cdot c_p \cdot (T_1 - T_2) \quad (5.21)$$

де G – кількість суспензії, кг;

c_p – питома теплоємність суспензії, кДж/(кг·К) (приймаємо 3,8 кДж/кг·К) [26];

T_1 і T_2 – початкова та кінцева температури відповідно, °С.

Маса стабілізованої біомаси, що надходить на ліофілізацію, становить:

$$m_6 = V \cdot \rho = 138,43 \cdot 1,07 = 148,12 \text{ кг} \quad (5.22)$$

де V – об'єм стабілізованої біомаси;

ρ – густина стабілізованої біомаси, кг/дм³ (для стабілізованої суспензії 1,05 – 1,1 кг/дм³, приймаємо 1,07 кг/дм³) [26].

Тоді, тепло, яке віднімається від суспензії становить:

$$Q_1 = 148,12 \cdot 3,8 \cdot (6 - 0) = 3377,14 \text{ кДж} \quad (5.23)$$

Окрім охолодження суспензії, необхідно охолодити камеру вагою 764,4 кг, виготовлену зі сталі. Витрата тепла на охолодження камери [31]:

$$Q_{1к} = m_a \cdot c_c \cdot (T_1 - T_2) = 764,4 \cdot 0,45 \cdot (6 - 0) = 2063,88 \text{ кДж} \quad (5.24)$$

де m_a – маса апарату, кг;

c_c – питома теплоємність сталі, кДж/(кг·К) (приймаємо 0,45 кДж/(кг·К)) [26];

Отже, загальна витрата тепла на першому етапі на охолодження суспензії та апарату від 6 °С до 0 °С становить [31]:

$$Q_{1\text{заг}} = Q_1 + Q_{1к} = 3377,14 + 2063,88 = 5441,02 \text{ кДж} \quad (5.25)$$

Для охолодження стабілізованої біомаси перед заморожуванням передбачено використання холодильної установки, яка забезпечує охолодження холодоносія до температури -45 °С. Відповідно до технічних характеристик обладнання температура холодоносія, що надходить на вхід холодильної машини, повинна бути не вищою за -15 °С, тому в подальших розрахунках приймаємо $t_1 = -45$ °С та $t_2 = -15$ °С [26].

Для подальших розрахунків визначимо орієнтовний коефіцієнт теплопередачі від холодоносія до стабілізованої біомаси. Коефіцієнт тепловіддачі від холодоносія до поверхні полиці приймаємо рівним 700 Вт/(м²·К). Термічним опором металу полиці, касети та скляного флакону нехтуємо через його незначний вплив на загальний опір теплопередачі. Також не враховуємо додаткові термічні опори, пов'язані із забрудненням теплообмінних поверхонь.

Разом з тим, необхідно врахувати вплив повітряного зазору між полицею та касетою, який обумовлений конструкцією сублимаційної сушарки. Наявність зазору забезпечує можливість встановлення та переміщення касет по поверхні полиць. Величина повітряного зазору становить 0,5 мм, а коефіцієнт теплопровідності повітря приймаємо рівним 0,036 Вт/(м·К) [26].

Стабілізована біомаса розливається у флакони місткістю 5 см³. Висота шару продукту у флаконі становить приблизно 11 мм, а коефіцієнт теплопровідності біомаси приймаємо рівним 0,62 Вт/(м·К).

Тоді, коефіцієнт теплопередачі становить [31]:

$$K = \frac{1}{\frac{1}{\alpha_1} + \frac{\delta_2}{\lambda_2} + \frac{\delta_3}{\lambda_3}} = \frac{1}{\frac{1}{700} + \frac{0,0005}{0,036} + \frac{0,005}{0,62}} = 42,77 \text{ Вт/(м}^2 \cdot \text{К)} \quad (5.26)$$

де α_1 – коефіцієнт тепловіддачі від холодоносія до стінки плити, Вт/(м²·К);

δ_2 – товщина повітряного зазору, м;

λ_2 – теплопровідність повітря, Вт/(м·К);

δ_3 – товщина шару суспензії в ампулі, м;

λ_3 – теплопровідність суспензії, Вт/(м·К);

Оскільки процес охолодження нестационарний, то середня різниця температур розраховується за формулою [26]:

Тому:

$$\Delta t_{\text{сер.ох}} \frac{T_1 - T_2}{\ln\left(\frac{T_1 - t_1}{T_2 - t_1}\right)} \cdot \frac{A - 1}{A \cdot \ln A} = \frac{6 - 0}{\ln\left(\frac{6 + 45}{0 + 45}\right)} \cdot \frac{3 - 1}{3 \cdot \ln 3} = 29,08 \text{ }^\circ\text{C} \quad (5.27)$$

$$A = \frac{T - t_1}{T - t_2} = \frac{0 + 45}{0 + 15} = 3 \quad (5.28)$$

Отже, час охолодження суспензії до 0 °С буде становити [31]:

$$\tau_1 = \frac{Q_{1\text{заг}}}{K \cdot F \cdot \Delta t_{\text{сер.ох}}} = \frac{5441,02 \cdot 10^3}{24,77 \cdot 10,78 \cdot 29,08} = 700,5 \text{ с} = 0,195 \text{ год} \quad (5.29)$$

Витрати теплоти на кристалізацію води [44]:

$$Q_2 = G \cdot r_T = 148,12 \cdot 332,8 = 49\,213,54 \text{ кДж} \quad (5.30)$$

де G – кількість суспензії, кг;

r_T – теплота топлення льоду, кДж/кг (приймаємо 332,8 кДж/кг) [26];

Оскільки теплопровідність шару суспензії при переході від рідкої до твердої фази різко змінюється, то нове значення теплопередачі буде становити [31]:

$$K = \frac{1}{\frac{1}{\alpha_1} + \frac{\delta_2}{\lambda_2} + \frac{\delta_3}{\lambda_3}} = \frac{1}{\frac{1}{700} + \frac{0,0005}{0,036} + \frac{0,005}{(0,62 + 2,33)/2}} = 53,45 \text{ Вт/(м}^2 \cdot \text{К)} \quad (5.31)$$

де λ_3 – теплопровідність льоду, Вт/(м·К) (приймаємо 2,33 Вт/(м·К)) [26];

Температури холодоагента на вході та виході з холодильної машини не змінюються, температура суспензії під час заморожування не змінюється, тому

процес є стаціонарним. Таким чином, середня різниця температур розраховується за формулою [26]:

$$\Delta t_{\text{сер}} = \frac{45-15}{\ln \frac{45}{15}} = 27,3 \text{ }^{\circ}\text{C} \quad (5.32)$$

Час заморожування (мінімальний час відведення теплоти) становить [31]:

$$\tau_2 = \frac{Q_2}{K \cdot F \cdot \Delta t_{\text{сер}}} = \frac{49\,213,54 \cdot 10^3}{53,45 \cdot 10,78 \cdot 27,3} = 3128 \text{ с} = 0,869 \text{ год} \quad (5.33)$$

Процес охолодження шару льоду від температури 0 °С до -40 °С є нестационарним. Кількість тепла, яку потрібно зняти при охолодженні шару льоду, становить [44]:

$$Q_3 = G \cdot c_{\text{рл}} \cdot (T_1 - T_2) = 148,12 \cdot 2,14 \cdot (0 + 40) = 12\,679,1 \text{ кДж} \quad (5.34)$$

де $c_{\text{рл}}$ – питома теплоємність льоду, кДж/(кг·К) (приймаємо 2,14 кДж/(кг·К)) [26];

Тепло, яке потрібно відвести при охолодженні металевих конструкцій камери, становить:

$$\begin{aligned} Q_{3\text{к}} &= m_a \cdot c_c \cdot (T_1 - T_2) = \\ &= 764,4 \cdot 0,45 \cdot (0 + 40) = 13\,759,2 \text{ кДж} \end{aligned} \quad (5.35)$$

Загальна витрата теплоти на охолодження замороженого продукту та апарата від 0 °С до -40 °С [31]:

$$Q_{3\text{заг}} = Q_3 + Q_{3\text{к}} = 12\,679,1 + 13\,759,2 = 26\,438,3 \text{ кДж} \quad (5.36)$$

Прийmemo, що температура нагрітого холодоагента на виході наприкінці охолодження льоду становить -43 °С. Таким чином, за формулами (5.25) і (5.26) середня різниця температур становить [26]:

$$A = \frac{T-t_1}{T-t_2} = \frac{-40+45}{-40+43} = 1,67 \quad (5.37)$$

$$\Delta t_{\text{сер.ох}} \frac{T_1-T_2}{\ln\left(\frac{T_1-t_1}{T_2-t_1}\right)} \cdot \frac{A-1}{A \cdot \ln A} = \frac{0+40}{\ln\left(\frac{0+45}{-40+45}\right)} \cdot \frac{1,67-1}{1,67 \cdot \ln 1,67} = 14,26 \text{ }^{\circ}\text{C} \quad (5.34)$$

Коефіцієнт теплопередачі [31]:

$$K = \frac{1}{\frac{1}{\alpha_1} + \frac{\delta_2}{\lambda_2} + \frac{\delta_3}{\lambda_3}} = \frac{1}{\frac{1}{700} + \frac{0,0005}{0,036} + \frac{0,005}{2,33}} = 57,2 \text{ Вт/(м}^2 \cdot \text{К)} \quad (5.38)$$

Тоді, час охолодження становить [31]:

$$\tau_3 = \frac{Q_{3\text{заг}}}{K \cdot F \cdot \Delta t_{\text{сер.ох}}} = \frac{26\,438,3 \cdot 10^3}{57,2 \cdot 10,78 \cdot 14,26} = 3007 \text{ с} = 0,835 \text{ год} \quad (5.39)$$

Отже, загальний розрахунковий час охолодження суспензії, її заморожування та охолодження льоду (теоретичний час тепловідведення) становить [44]:

$$\tau_{\text{заг}} = \tau_1 + \tau_2 + \tau_3 = 0,195 + 0,869 + 0,835 = 1,90 \text{ год} \quad (5.40)$$

5.3.4 Розрахунок температури теплоносія на вході та на виході з плит

Секундна витрата тепла на усю поверхню сублімації становить [31]:

$$q = \beta(P_m - P_l) \cdot r_c \cdot F =$$

$$= 5 \cdot 10^{-6} \cdot (100 - 15) \cdot 2833 \cdot 10,78 = 12,98 \text{ кВт} \quad (5.41)$$

де β – коефіцієнт масообміну, с/м, фактично становить $10^{-5} \dots 10^{-6}$ с/м;

P_m – тиск насиченої водяної пари, який відповідає температурі сублімації (при $-20 \dots -40$ °С $P_m \approx 100$ Па) [26];

P_l – тиск насиченої водяної пари, який відповідає температурі на поверхні льоду в конденсаторі (при $-35 \dots -40$ °С $P_l = 15 \dots 40$ Па) [26];

r_c – теплота сублімації (приймаємо значення 2833 кДж/кг) [26];

F – площа поверхні випаровування (загальна площа касет), м².

Розрахуємо коефіцієнт теплопередачі [31]:

$$K = \frac{1}{\frac{1}{\alpha} + \frac{\delta_2}{\lambda_2} + \frac{\delta_3}{\lambda_3} + \frac{\delta_4}{\lambda_4}} \quad (5.42)$$

де α – коефіцієнт тепловіддачі від теплоносія до стінки плити, Вт/(м²·К);

δ_2 – товщина стінки плити та касети, м ($4 + 1 = 5$ мм = 0,005 м);

λ_2 – теплопровідність нержавіючої сталі, Вт/(м·К);

δ_3 – товщина повітряного зазору, м;

λ_3 – теплопровідність повітря, Вт/(м·К);

δ_4 – товщина шару льоду в флаконі, м (приймаємо в середньому 0,006 м) [26];

λ_4 – теплопровідність льоду, Вт/(м·К);

При розрахунку коефіцієнта тепловіддачі від теплоносія до поверхні полиці використовуємо теплофізичні характеристики силіконового масла. За температури -20 °С густина масла становить 963 кг/м³, динамічна в'язкість – 290 мПа·с, коефіцієнт теплопровідності – 0,16 Вт/(м·К), а питома теплоємність – 1500 Дж/(кг·К) [31].

Змочений периметр 11 плит буде становити [31]:

$$\begin{aligned} \Pi &= 11 \cdot (2(D - 2h_{\text{п}}) + 2(Ш - 2h_{\text{п}})) = \\ &= 11 \cdot (2(0,99 - 2 \cdot 0,004) + 2(0,04 - 2 \cdot 0,004)) = 22,31 \text{ м} \end{aligned} \quad (5.43)$$

де D – довжина перерізу плити, м;

$Ш$ – ширина перерізу плити, м;

$h_{\text{п}}$ – товщина стінки плити, м.

Площа перерізу отворів 11 плит становить [31]:

$$\begin{aligned} f &= 11 \cdot (D - 2h_{\text{п}}) \cdot (Ш - 2h_{\text{п}}) = \\ &= 11 \cdot (0,99 - 2 \cdot 0,004) \cdot (0,04 - 2 \cdot 0,004) = 0,35 \text{ м}^2 \end{aligned} \quad (5.44)$$

Еквівалентний діаметр для розрахунку критерія Рейнольдса:

$$d_e = \frac{4f}{\Pi} = \frac{4 \cdot 0,346}{22,31} = 0,062 \text{ м} \quad (5.45)$$

Швидкість примусового руху рідини в трубах і каналах перебуває в межах 1–3 м/с. Проте в даному випадку немає необхідності забезпечувати високі значення коефіцієнта тепловіддачі α , оскільки інтенсивність теплопередачі обмежується переважно термічним опором повітряного зазору між полицею та касетою, а також шаром замороженого продукту у флаконах. З огляду на це для подальших розрахунків швидкість руху холодоносія приймаємо рівною 0,01 м/с [26, 31].

Таким чином, об'ємна витрата становить [31]:

$$G_V = w \cdot f = 0,01 \cdot 0,35 = 0,0035 \text{ м}^3/\text{с} \quad (5.46)$$

де w – швидкість теплоносія, м/с;

f – площа перерізу, м².

Масова витрата становить:

$$G = G_V \cdot \rho = 0,0035 \cdot 963 = 3,37 \text{ кг/с} \quad (5.47)$$

де ρ – густина теплоносія, кг/м³.

Критерій Рейнольдса становить [31]:

$$Re = \frac{w \cdot \rho \cdot d_e}{\mu} = \frac{0,01 \cdot 963 \cdot 0,062}{0,29} = 2,06 \quad (5.48)$$

де μ – коефіцієнт динамічної в'язкості, Па·с.

Режим течії – ламінарний.

Критерій Прандтля [31]:

$$Pr = \frac{\mu \cdot c}{\lambda} = \frac{0,29 \cdot 1500}{0,16} = 2718,75 \quad (5.49)$$

де λ – теплопровідність теплоносія, Вт/(м·К);

c – питома теплоємність теплоносія, Дж/(кг·К).

Критерій Нуссельта [31]:

$$\begin{aligned} Nu &= 0,59 Re^{0,47} Pr^{0,38} \\ &= 0,59 \cdot 2,06^{0,47} \cdot 2718,75^{0,38} = 16,73 \end{aligned} \quad (5.50)$$

Коефіцієнт тепловіддачі від теплоносія до стінки плити [26]:

$$\alpha = \frac{Nu \cdot \lambda}{d_e} = \frac{16,73 \cdot 0,16}{0,062} = 43,17 \text{ Вт/(м}^2 \cdot \text{К)} \quad (5.51)$$

Таким чином, коефіцієнт теплопередачі становить [31]:

$$K = \frac{1}{\frac{1}{\alpha} + \frac{\delta_2}{\lambda_2} + \frac{\delta_3}{\lambda_3} + \frac{\delta_4}{\lambda_4}} = \frac{1}{\frac{1}{43,17} + \frac{0,005}{16} + \frac{0,0005}{0,036} + \frac{0,005}{2,33}} = 25,31 \text{ Вт/(м}^2 \cdot \text{К)} \quad (5.52)$$

Температура на вході теплоносія в плити:

$$\Delta t_{\text{сер}} = \frac{q}{K \cdot F} = \frac{12980}{25,31 \cdot 10,78} = 47,57^\circ\text{C} \quad (5.53)$$

У той же час:

$$\Delta t_{\text{сер}} = \frac{t_1 + t_2}{2} + 20 = 47,57 \quad (5.54)$$

$$\Delta t_{\text{сер}} = 47,57^\circ\text{C} = 3,7 \cdot 2,67(t_1 - t_2) \quad (5.55)$$

Звідси, $t_1 = 2,1^\circ\text{C}$, $t_2 = -1,9^\circ\text{C}$.

5.3.5 Розрахунок діаметру вакуумного трубопроводу для відведення пари

Питома масова витрата пари становить [26]:

$$\begin{aligned} V_c &= \frac{q}{r_c} = \beta \cdot (P_m - P_{\text{л}}) = \\ &= 5 \cdot 10^{-6} \cdot (100 - 15) = 0,000425 \text{ кг/(м}^2 \cdot \text{с)} \end{aligned} \quad (5.56)$$

Масова витрата пари з урахуванням коефіцієнта нерівномірності [31]:

$$M_{\text{п}} = \psi \cdot V_c \cdot F = 0,85 \cdot 0,000425 \cdot 10,78 = 0,00399 \text{ кг/с} \quad (5.57)$$

де $\psi = 0,85$ – коефіцієнт нерівномірності [26];

F – площа випаровування, м² (загальна площа касет).

Об'ємна витрата пари становить [31]:

$$V_{\Pi} = \frac{M_{\Pi} \cdot R \cdot (273 + t_{\text{субл}})}{M \cdot P} =$$

$$= \frac{0,00389 \cdot 8,3144 \cdot (273 - 20)}{0,018 \cdot 100} = 4,54 \text{ м}^3/\text{с} \quad (5.58)$$

де R – універсальна газова стала, Дж/(моль·К);

$t_{\text{субл}}$ – температура сублімації, °С;

M – молярна маса води, кг/моль;

P – тиск водяної пари, Па (приймаємо $P = 100$ Па) [26].

У вакуумних трубопроводах швидкість руху пари становить близько 75 м/с. Таким чином, площа перерізу трубопроводу становить $4,54 / 75 = 0,0605 \text{ м}^2$.

Діаметр трубопроводу [31]:

$$d_{\text{труб}} = \sqrt{\frac{4S_{\text{перерізу}}}{\pi}} = \sqrt{\frac{4 \cdot 0,0605}{3,14}} = 0,278 \text{ м} = 278 \text{ мм} \quad (5.59)$$

5.3.6 Розрахунок продуктивності апарату

Кількість вологи, що випаровується в сублімаційній шафі за один цикл роботи $W = 109,14$ кг. За 1 годину випаровується [31]:

$$W' = \frac{W}{\tau_{\text{об}}} = \frac{109,14}{57} = 1,91 \text{ кг/год} \quad (5.60)$$

де $\tau_{\text{об}}$ – загальна тривалість процесу, год.

Годинна продуктивність за вологим продуктом [31]:

$$G'_1 = \frac{G_1}{\tau_{\text{об}}} = \frac{148,12}{57} = 2,6 \text{ кг/год} \quad (5.61)$$

Годинна продуктивність за висушеним продуктом [31]:

$$G'_2 = \frac{G_2}{\tau_{\text{об}}} = \frac{38,98}{57} = 0,684 \text{ кг/год} \quad (5.62)$$

5.4. Вибір допоміжного обладнання сублімаційної установки

5.4.1 Вибір вакуумного насоса

Для забезпечення роботи сублімаційних шаф періодичної дії та ефективного відведення водяної пари у системі ліофілізаційної апаратури встановлюють вакуумний насос [26].

Оскільки в ліофільній сушарці водяна пара, що утворюється під час сублімації, переважно конденсується на поверхні десубліматора, продуктивність

вакуумного насоса не визначали за повним об'ємом утвореної пари. Вакуумний насос призначений для створення та підтримання залишкового тиску в камері на рівні 20 Па, а також для відведення неконденсованих газів. Тому насос підбираємо за паспортною продуктивністю апарата.

З огляду на необхідність забезпечення стабільного вакууму та безперервного відведення водяної пари із сублімаційної камери обрано пластинчато-роторний вакуумний насос марки Busch R5 RA 0040 F [46].

Насоси даного типу характеризуються високою надійністю, простотою експлуатації та можливістю роботи в широкому діапазоні залишкових тисків. Перевагами пластинчато-роторних вакуумних насосів є компактність конструкції, стабільність параметрів відкачування та тривалий термін служби. Насос забезпечує створення та підтримання необхідного залишкового тиску в апараті, а також відведення неконденсованих газів і незначної кількості водяної пари, що не сконденсувалася на поверхні десубліматора. Основна частина водяної пари, яка утворюється під час сублімаційного сушіння, конденсується на поверхні вбудованого десубліматора ліофільної установки.

Відповідно до виконаних розрахунків необхідна продуктивність вакуумного насоса становить не менше 6,20 дм³/с (22,31 м³/год). Продуктивність вакуумного насоса Busch R5 RA 0040 F становить 40 м³/год, що забезпечує необхідний запас продуктивності для стабільного протікання процесу ліофілізації. Граничний залишковий тиск насоса становить 0,1 мбар, а потужність електродвигуна – 1,5 кВт.

Для циркуляції холодоносія в теплообмінних плитах сублімаційної установки використовується відцентровий консольний насос. Насоси цього типу забезпечують надійне перекачування холодоносія та рівномірний розподіл його по каналах плит. Як циркуляційний насос приймаємо насос типу 2К-6, який забезпечує необхідну витрату холодоносія в системі охолодження сублімаційної установки [46].

					ДП БІ-2109.00 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат		99

5.4.2 Оцінка енергоспоживання сублімаційної сушарки

Для оцінки енергоспоживання сублімаційної сушарки враховують основні енергетичні витрати одного технологічного циклу: витрати теплоти на охолодження та заморожування продукту, витрати теплоти на сублімацію вологи, а також електроенергію, що споживається вакуумною системою.

Загальні витрати теплоти на стадії охолодження та заморожування продукту визначають за формулою [44]:

$$Q_{\text{зам}} = Q_{1\text{заг}} + Q_2 + Q_{3\text{заг}} = \\ = 5\,441,02 + 49\,213,54 + 26\,438,3 = 81\,092,86 \text{ кДж} \quad (5.63)$$

де $Q_{\text{зам}}$ – загальна кількість теплоти, яку необхідно відвести під час охолодження, заморожування та охолодження замороженого продукту, кДж;

$Q_{1\text{заг}}$ – загальна витрата теплоти на охолодження суспензії та апарата від $+6\text{ }^{\circ}\text{C}$ до $0\text{ }^{\circ}\text{C}$, кДж;

Q_2 – витрата теплоти на заморожування, тобто кристалізацію води, кДж;

$Q_{3\text{заг}}$ – загальна витрата теплоти на охолодження замороженого продукту та апарата від $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ до $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$, кДж.

Кількість теплоти, необхідної для сублімації вологи, визначають за формулою [44]:

$$Q_{\text{субл}} = W + r_c = 109,14 \cdot 2833 = 309193,62 \text{ кДж} \quad (5.64)$$

де W – маса вологи, що видаляється під час сублімаційного сушіння за один цикл, кг;

r_c – теплота сублімації (приймаємо значення 2833 кДж/кг) [26];

Загальні теплові витрати процесу визначають як суму теплоти, що відводиться під час заморожування, та теплоти, необхідної для сублімації вологи [44]:

$$Q_{\text{заг}} = Q_{\text{зам}} + Q_{\text{субл}} = \\ = 81\,092,86 + 30\,9193,62 = 39\,0286,48 \text{ кДж} \quad (5.65)$$

Отже, сумарні теплові витрати одного циклу ліофілізації становлять $390286,48\text{ кДж}$.

Для забезпечення роботи ліофільної установки обрано вакуумний насос Busch R5 RA 0040 F потужністю 1,5 кВт. Тривалість одного циклу ліофілізації становить 57 год.

Тоді, енерговитрати вакуум-системи становлять [44]:

$$E_{\text{вак}} = N \cdot \tau = 1,5 \cdot 57 = 85,5 \text{ кДж} \quad (5.66)$$

де $E_{\text{вак}}$ – витрати електроенергії вакуумною системою, кВт·год;

N – потужність електродвигуна вакуумного насоса, кВт;

τ – тривалість роботи насоса, год (дорівнює загальній тривалості циклу $\tau_{\text{об}}$).

5.4.3 Вибір циркуляційного насоса холодоносія

Для забезпечення циркуляції холодоносія в теплообмінних плитах сублимаційної установки передбачено використання циркуляційного насоса. Насос забезпечує подачу холодоносія від холодильної машини до теплообмінних плит, підтримання заданого температурного режиму процесу заморожування та рівномірний розподіл температури по поверхні полиць.

Оскільки температура холодоносія під час заморожування досягає -45°C , насос повинен забезпечувати надійну роботу в низькотемпературних системах, мати герметичну конструкцію та бути придатним для роботи в замкненому контурі циркуляції.

Як приклад обладнання, що може бути використане в системі циркуляції холодоносія, розглядаємо герметичний насос типу HERMETIC CNF, призначений для роботи в холодильних та низькотемпературних установках [47]. Насоси даного типу характеризуються високою герметичністю, відсутністю витоків робочого середовища, тривалим терміном експлуатації та можливістю роботи в широкому діапазоні температур.

Перевагою насосів з екранованим двигуном є відсутність сальникових ущільнень, що підвищує надійність роботи обладнання та зменшує витрати на технічне обслуговування. Герметична конструкція також забезпечує безпечну експлуатацію системи охолодження та запобігає втратам холодоносія.

Застосування циркуляційного насоса забезпечує безперервну циркуляцію холодоносія через канали теплообмінних плит, ефективне відведення теплоти від

продукту під час заморожування та підтримання необхідних параметрів процесу ліофілізації протягом усього технологічного циклу.

Таким чином, використання герметичного циркуляційного насоса є необхідною умовою стабільної роботи системи охолодження сублімаційної установки та забезпечення заданого температурного режиму процесу.

					ДП БІ-2109.00 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат		102

РОЗДІЛ 6. ОХОРОНА ПРАЦІ ТА ОХОРОНА ДОВКІЛЛЯ

Дільниця ліофілізації мікробної біомаси є завершальним етапом виробництва пробіотичного препарату «Лактобактерин». На даній стадії здійснюється заморожування стабілізованої суспензії клітин *Lactiplantibacillus plantarum* та подальше видалення вологи методом сублімаційного сушіння у вакуумі. Особливістю процесу є використання вакуумного обладнання, холодильних систем, електротехнічних установок та допоміжних інженерних комунікацій, що обумовлює необхідність дотримання підвищених вимог щодо охорони праці, виробничої санітарії та екологічної безпеки.

Організація безпечних умов праці на дільниці повинна відповідати вимогам Закону України «Про охорону праці», ДСН 3.3.6.042-99 «Санітарні норми мікроклімату виробничих приміщень», ДБН В.2.5-67:2013 «Опалення, вентиляція та кондиціонування», ДСТУ ISO 14698-1:2008 щодо контролю біозабруднень у чистих приміщеннях, а також чинним правилам пожежної безпеки та електробезпеки [60–75].

Техніка безпеки являє собою систему організаційних та технічних заходів, спрямованих на усунення або зменшення впливу небезпечних виробничих факторів на працівників. Під час експлуатації ліофільної сушарки на персонал можуть впливати фізичні, хімічні, біологічні та психофізіологічні фактори виробничого середовища [60, 62].

Виробниче приміщення дільниці ліофілізації повинно бути обладнане припливно-витяжною вентиляцією, яка забезпечує нормативний повітрообмін та підтримання оптимальних параметрів мікроклімату. Для запобігання мікробному забрудненню продукції здійснюється контроль чистоти повітря, його температури, відносної вологості та вмісту механічних домішок. Повітря, що подається до виробничих зон, проходить очищення за допомогою систем фільтрації [50–53].

					ДП БІ-2109.00 ПЗ		
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата			
Розроб.		Пономаренко О.С.			РОЗДІЛ 6. ОХОРОНА ПРАЦІ ТА ОХОРОНА ДОВКІЛЛЯ		
Конс.							
Керівн.		Косова В.П.					
					Стадія	Арк.	Аркушів
						103	116
					КПІ ім. Ігоря Сікорського ФБТ		

Основним технологічним обладнанням ділянки є ліофільна сушарка, вакуумний насос, холодильна установка, конденсатор водяної пари та допоміжне обладнання для завантаження і вивантаження продукції. Експлуатація зазначеного обладнання супроводжується впливом фізичних виробничих факторів. До них належать підвищений рівень шуму та вібрації, які виникають під час роботи вакуумних насосів і холодильних компресорів, рухомі частини механізмів, електричний струм, поверхні обладнання з підвищеною або пониженою температурою, а також робота обладнання під вакуумом.

Під час стадії заморожування температура полиць ліофільної сушарки досягає від'ємних значень, що створює ризик холодових уражень при контакті з поверхнями обладнання. На стадії первинного сушіння додаткову небезпеку становить використання вакууму та можливість розгерметизації системи, що може призвести до порушення технологічного процесу та пошкодження обладнання [54–57].

До хімічних факторів належить контакт персоналу з мийними та дезінфекційними засобами, які застосовуються під час санітарної обробки ліофільної сушарки, лотків, трубопроводів та допоміжного обладнання. Потрапляння таких речовин на шкіру або слизові оболонки може викликати подразнення та хімічні опіки. У зв'язку з цим усі операції з використання мийних розчинів повинні виконуватися із застосуванням засобів індивідуального захисту [60, 62].

Біологічні фактори пов'язані з використанням мікробної біомаси *Lactiplantibacillus plantarum*. Незважаючи на те, що зазначений мікроорганізм належить до непатогенних бактерій, необхідним є суворе дотримання вимог асептики та виробничої санітарії для запобігання контамінації продукції та виробничого середовища [52, 60].

До психофізіологічних факторів належать нервово-емоційне напруження та монотонність праці, що виникають під час тривалого контролю параметрів ліофілізації. Оператор повинен контролювати температуру продукту,

температуру полиць сушарки, рівень вакууму, температуру конденсатора та тривалість окремих стадій процесу, що потребує підвищеної концентрації уваги.

До роботи на дільниці допускаються особи, які досягли 18-річного віку, пройшли медичний огляд, вступний та первинний інструктажі з охорони праці, навчання безпечним методам роботи та перевірку знань правил експлуатації обладнання. Працівник повинен знати технологічну схему дільниці, принцип роботи ліофільної сушарки, вакуумної системи, холодильного обладнання та контрольно-вимірювальних приладів [48, 54, 15].

Перед початком роботи оператор зобов'язаний перевірити справність обладнання, наявність захисного заземлення, герметичність вакуумної системи, справність контрольно-вимірювальних приладів та систем аварійної сигналізації. Забороняється експлуатація обладнання при несправних запобіжних пристроях, відсутності захисних кожухів або порушенні герметичності вакуумної системи [54–57].

Для забезпечення безпечного обслуговування обладнання ширина основних проходів між апаратами повинна становити не менше 1,5–2,0 м. Підлога виробничих приміщень повинна бути рівною, вологостійкою, неслизькою та стійкою до впливу мийних і дезінфекційних засобів. Робочі місця забезпечуються нормативним природним та штучним освітленням, а також засобами пожежогасіння й аварійного оповіщення [50, 51, 55].

Під час роботи персонал повинен використовувати спеціальний одяг, змінне взуття, захисні рукавички та, за необхідності, захисні окуляри. Забороняється прийом їжі у виробничих приміщеннях. Після завершення роботи працівники зобов'язані виконувати вимоги особистої гігієни та санітарної обробки [60, 62].

Важливим елементом забезпечення екологічної безпеки виробництва є поводження з відходами та стічними водами. Основними відходами дільниці ліофілізації є конденсат водяної пари, використані мийні та дезінфекційні розчини, контаміновані витратні матеріали та залишки поживних середовищ. Перед скиданням у каналізаційну систему стічні води підлягають нейтралізації

					ДП БІ-2109.00 ПЗ	Арк.
						105
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат		

та очищенню відповідно до вимог чинного природоохоронного законодавства [58, 59, 64].

Для очищення виробничих стічних вод можуть застосовуватися механічні, фізико-хімічні та біологічні методи очищення. Механічне очищення включає проціджування, фільтрацію, відстоювання та видалення нерозчинних домішок. Для зниження концентрації розчинених забруднювачів можуть використовуватися адсорбційні та мембранні методи очищення. Біологічне очищення забезпечує ефективне видалення органічних речовин та зниження показників біологічного і хімічного споживання кисню [59, 59].

З метою запобігання забрудненню атмосферного повітря технологічне обладнання працює у герметичному виконанні. Повітряні потоки, що відводяться системами вентиляції, проходять очищення через фільтрувальні елементи, після чого викидаються в атмосферу відповідно до встановлених нормативів [51, 58, 64].

Реалізація зазначених організаційних та технічних заходів забезпечує безпечні умови праці персоналу, надійну експлуатацію обладнання дільниці ліофілізації та мінімізацію негативного впливу виробництва на навколишнє природне середовище [48–64].

					ДП БІ-2109.00 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат		106

ВИСНОВКИ

У дипломному проєкті розроблено лінію виробництва пробіотичного препарату «Лактобактерин» та спроектовано дільницю ліофілізації мікробної біомаси *Lactiplantibacillus plantarum* 8P-A3.

1. Наведено характеристику пробіотичного препарату «Лактобактерин» як монокомпонентного лікарського засобу, що містить життєздатні клітини *Lactiplantibacillus plantarum* 8P-A3. Обґрунтовано доцільність використання даного штаму завдяки його високій антагоністичній активності щодо патогенних і умовно-патогенних мікроорганізмів, здатності до інтенсивного накопичення біомаси та стійкості до процесу ліофілізації.

2. Охарактеризовано морфологічні, культуральні, фізіолого-біохімічні та генетичні особливості *Lactiplantibacillus plantarum* 8P-A3 як промислового продуцента. Встановлено, що даний штам є факультативно гетероферментативною молочнокислою бактерією, здатною ефективно використовувати широкий спектр вуглеводів та синтезувати антимікробні метаболіти, які забезпечують його пробіотичні властивості.

3. Розглянуто основні біохімічні процеси, що відбуваються під час культивування продуцента. Показано, що основним шляхом утворення молочної кислоти є гліколіз за схемою Ембдена–Мейєргофа–Парнаса з подальшим відновленням пірувату до лактату. Обґрунтовано склад поживних середовищ та допоміжних компонентів, необхідних для отримання високоякісної біомаси.

4. Розроблено технологічну схему виробництва препарату «Лактобактерин», яка включає стадії підготовки поживних середовищ, отримання посівного матеріалу, культивування продуцента, концентрування біомаси, приготування захисного середовища, розливу, заморожування та ліофілізації препарату. Наведено матеріальний баланс виробництва та визначено основні потоки сировини і допоміжних матеріалів.

					ДП БІ-2109.00 ПЗ		
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата	ВИСНОВОК		
Розроб.	Пономаренко						
Конс.							
Керівн.	Косова В.П.						
					КПІ ім. Ігоря Сікорського ФБТ		
					Стадія	Арк.	Аркушів
						107	116

5. Особливу увагу приділено стадії ліофілізації мікробної біомаси як ключовому етапу виробництва пробіотичного препарату. Визначено основні технологічні параметри процесу, що забезпечують збереження життєздатності клітин та отримання препарату із залишковою вологістю не більше 5 %.

6. Розроблено апаратурну схему виробництва та виконано технологічні й конструктивні розрахунки основного обладнання дільниці ліофілізації. Спроектовано ліофільну сушарку, яка забезпечує ефективне проведення процесу сублімаційного висушування та отримання стабільного препарату із заданими показниками якості.

7. Показано, що запропоновані технологічні рішення відповідають вимогам належної виробничої практики, охорони праці та екологічної безпеки, а їх впровадження сприятиме підвищенню ефективності виробництва та якості пробіотичного препарату «Лактобактерин».

					ДП БІ-2109.00 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат		108

ПЕРЕЛІК ПОСИЛАНЬ

1. Дисбактеріоз [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <https://uk.wikipedia.org/wiki/Дисбактеріоз> (дата звернення: 12.05.2026).
2. Краснопольский Ю. М. Фармацевтическая биотехнология. Технология производства иммунобиологических препаратов : учеб. пособие / Ю. М. Краснопольский, М. И. Борщевская. Харків : НТУ «ХПИ», 2009. 352 с.
3. Лактобактерин : інструкція для медичного застосування [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <https://likicontrol.com.ua> (дата звернення: 12.05.2026).
4. Todorov S. D., Franco B. D. G. M. Lactiplantibacillus plantarum: characterization of the species and application in food production. Food Reviews International. 2010. Vol. 26. P. 205–229.
5. FAO/WHO. Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food. London ; Ontario, 2002.
6. Morgan C. A., Herman N., White P. A., Vesey G. Preservation of micro-organisms by drying; A review. *Journal of Microbiological Methods*. 2006. Vol. 66. P. 183–193.
7. Губський Ю. І. Біологічна хімія. Київ ; Тернопіль : Укрмедкнига, 2000. 508 с.
8. Ouwehand A. C., Salminen S., Isolauri E. Probiotics: an overview of beneficial effects // *Antonie van Leeuwenhoek*. – 2002. – Vol. 82, № 1–4. – P. 279–289.
9. De Vuyst L., Leroy F. Bacteriocins from lactic acid bacteria: production, purification, and food applications // *Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology*. – 2007. – Vol. 13, № 4. – P. 194–199.
10. Servin A. L. Antagonistic activities of lactobacilli and bifidobacteria against microbial pathogens // *FEMS Microbiology Reviews*. – 2004. – Vol. 28, № 4. – P. 405–440.

					ДП БІ-2109.00 ПЗ		
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата			
Розроб.	Пономаренко				СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ		
Конс.							
Керівн.	Косова В.П.						
						Стадія	Арк.
							109
						Аркушів	116
						КПІ ім. Ігоря Сікорського ФБТ	

11. Kleerebezem M., Boekhorst J., van Kranenburg R. et al. Complete genome sequence of *Lactiplantibacillus plantarum* WCFS1 // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. – 2003. – Vol. 100, № 4. – P. 1990–1995.
12. Siezen R. J., van Hylckama Vlieg J. E. T. Genomic diversity and versatility of *Lactiplantibacillus plantarum*, a natural metabolic engineer // Microbial Cell Factories. – 2011. – Vol. 10 (Suppl 1). – P. S3.
13. Holzapfel W. H., Haberer P., Geisen R. et al. Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food and nutrition // American Journal of Clinical Nutrition. – 2001. – Vol. 73, № 2. – P. 365S–373S.
14. Saier M. H., Chauvaux S., Deutscher J. et al. Protein phosphorylation and regulation of carbon metabolism in Gram-negative versus Gram-positive bacteria // Trends in Biochemical Sciences. – 1995. – Vol. 20, № 7. – P. 267–271.
15. De Vuyst L., Leroy F. Bacteriocins from lactic acid bacteria: production, purification, and food applications // Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology. – 2007. – Vol. 13, № 4. – P. 194–199.
16. Bintsis T. Lactic acid bacteria as starter cultures: an update in their metabolism and genetics // AIMS Microbiology. 2018. Vol. 4, № 4. P. 665–684.
17. Broeckx G., Vandenheuvel D., Claes I. J. J. et al. Drying techniques of probiotic bacteria as an important step towards the development of novel pharmabiotics // International Journal of Pharmaceutics. 2016. Vol. 505, № 1–2. P. 303–318.
18. Oluwatosin S. O., Tai S. L., Fagan-Endres M. A. Sucrose, maltodextrin and inulin efficacy as cryoprotectant, preservative and prebiotic — towards a freeze dried *Lactiplantibacillus plantarum* topical probiotic // Biotechnology Reports. 2022. Vol. 33. e00696.
19. Wang G., Huang W., Xia Y. et al. Polysaccharides can improve the survival of *Lactiplantibacillus plantarum* AR113 during freeze-drying and storage // Journal of Dairy Science. 2021. Vol. 104, № 9. P. 9812–9823.

20. Настанова СТ-Н МОЗУ 42–4.0:2020. Лікарські засоби. Належна виробнича практика [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <https://www.dls.gov.ua/> (дата звернення: 15.05.2026).

21. Карлаш Ю. В., Красінко В. О. Основи проєктування біотехнологічних виробництв : навч. посіб. Київ : НУХТ, 2022. 373 с.

22. Про захист населення від інфекційних хвороб : Закон України від 06.04.2000 № 1645-III [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/1645-14#Text> (дата звернення: 12.05.2026).

23. Настанова СТ-Н МОЗУ 42–4.0:2020. Лікарські засоби. Належна виробнича практика [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <https://www.dls.gov.ua/> (дата звернення: 13.05.2026).

24. Стасевич М. З., Милянч А. О., Стрельников Л. С. та ін. Технологічне обладнання біотехнологічної і фармацевтичної промисловості : підручник. Львів : Новий Світ-2000, 2018. 410 с.

25. Ткаченко С. Й., Співак О. Ю. Сушильні процеси та установки : навчальний посібник. Вінниця : ВНТУ, 2007. 76 с.

26. Сидоров Ю. І., Влязло Р. Й., Новіков В. П. Процеси і апарати мікробіологічної та фармацевтичної промисловості. Технічні розрахунки. Приклади і задачі. Основи проєктування : навчальний посібник. Львів : Інтелект-Захід, 2008. 736 с.

27. Конструкція та розрахунки параметрів камерної сушарки : методичні вказівки для студентів спеціальності 8.05050313 «Обладнання переробних і харчових виробництв» ОКР «Бакалавр». Мелітополь : Таврійський державний агротехнологічний університет, 2016. 23 с.

28. Гуріна Т. М., Висеканцев І. П., Устиченко В. Д. Основи сублимаційної сушки : метод. рек. для самостійної роботи аспірантів спеціальності 091 «Біологія» з дисципліни «Технології низькотемпературного консервування». 22 с.

29. Tian Y., He Z., He L., Li C., Qiao S., Tao H., Wang X., Zeng X., Tian Y. Effect of freeze-dried protectants on the survival rate and fermentation performance of

fermented milk's directed vat set starters. Cryobiology. 2024. Vol. 116. Article 105104.
DOI: 10.1016/j.cryobiol.2024.105104. URL:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0011224023003103> (дата
звернення: 13.05.2026).

30. Сучасні матеріали та обладнання для пакування лікарських форм. Практикум [Електронний ресурс] : навч. посіб. для здобувачів ступеня магістр за освіт. програмою «Біотехнології» спец. 162 «Біотехнології та біоінженерія» / КПІ ім. Ігоря Сікорського ; уклад.: Ж. І. Остапенко, М. В. Шафаренко, В. П. Косова. – Електрон. текст. дані (1 файл: 14,58 Мбайт). – Київ : КПІ ім. Ігоря Сікорського, 2025. – 72 с. – Назва з екрана.

31. Кріогенне обладнання та технології у біотехнологічних виробництвах. Домашня контрольна робота [Електронний ресурс]: навч. посіб. для здобувачів ступеня бакалавра за освіт. програмою «Біотехнології» спец. 162 «Біотехнології та біоінженерія» / КПІ ім. Ігоря Сікорського ; уклад.: Мельник В. М., Косова В. П., Остапенко Ж. І., Фесенко С. В. – Електрон. текст. дані (1 файл: 1,07 Мбайт). – Київ : КПІ ім. Ігоря Сікорського, 2026. – 39 с. – Назва з екрана.

32. GEA Group. RAY Freeze Dryers [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <https://www.gea.com/en/products/freeze-dryers/> (дата звернення: 28.05.2026).

33. GEA Group. Continuous Freeze Drying Systems (CONRAD®) [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <https://www.gea.com/en/products/freeze-dryers/continuous-freeze-drying/> (дата звернення: 28.05.2026).

34. Buflovak LLC. Drum Dryers [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <https://buflovak.com/drum-dryers/> (дата звернення: 28.05.2026).

35. IMA Life. Freeze Drying Technologies [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <https://ima.it/pharma/freeze-drying/> (дата звернення: 28.05.2026).

36. Freeze dryer shelf : Patent US5519946A, United States : IPC F26B5/06, F26B25/18 / Richard J. Hemmerich ; applicant and patentee The BOC Group, Inc. –

Publ. 21.05.1996. [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <https://patents.google.com/patent/US5519946A> (дата звернення: 28.05.2026).

37. Freeze dryer : Patent US5884413A, United States : IPC F26B5/06 / Steven M. Rey ; applicant and patentee Hull Corporation. – Publ. 23.03.1999. [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <https://patents.google.com/patent/US5884413A> (дата звернення: 28.05.2026).

38. Freeze dryer shelf : Patent WO2007085869A1 : IPC F26B5/06, F26B25/18. – Publ. 02.08.2007. [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <https://patents.google.com/patent/WO2007085869A1> (дата звернення: 28.05.2026).

39. Continuous freeze drying apparatus : Patent EP0546597B1 : IPC F26B5/06. – Publ. 16.06.1993. [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <https://patents.google.com/patent/EP0546597B1> (дата звернення: 28.05.2026).

40. Rotary drum for use in a vacuum freeze-dryer : Патент України № 110551. МПК F26B5/06. – Опубл. 12.01.2016. [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <https://sis.nipo.gov.ua> (дата звернення: 28.05.2026).

41. Freeze-drying methods and related products : Patent WO2018204484A1 : IPC F26B5/06. – Publ. 08.11.2018. [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <https://patents.google.com/patent/WO2018204484A1> (дата звернення: 28.05.2026).

42. A freeze dryer and a method for operating a freeze dryer : Patent CA3211033A1 : IPC F26B5/06. – Publ. 2023. [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <https://patents.google.com/patent/CA3211033A1> (дата звернення: 28.05.2026).

43. Флакони 5 мл «Файв 20» під алюмінієвий ковпачок К-2-20 [Електронний ресурс] / Аметист Гласс. – Режим доступу: <https://ametistglass.com/steklyannye-flakony/flakon-5-ml-fayv-20-pod-alyuminievyy-kolpachok-k-2-20-1/> (дата звернення: 29.05.2026).

44. Кріогенне обладнання та проектування для біотехніки. Домашня контрольна робота [Електронний ресурс] : навч. посіб. для здобувачів ступеня бакалавра за освіт. програмою «Обладнання фармацевтичних та біотехнологічних виробництв» спец. 133 «Галузеве машинобудування» / КПІ ім.

Ігоря Сікорського ; уклад.: В. М. Мельник, В. П. Косова, Ж. І. Остапенко. – Електрон. текст. дані (1 файл: 1,07 Мбайт). – Київ : КПІ ім. Ігоря Сікорського, 2024. – 44 с. – Назва з екрана.

45. Silicone oil [Електронний ресурс] / Sigma-Aldrich. – Режим доступу: <https://www.sigmaaldrich.com/UA/en/product/aldrich/317667> (дата звернення: 26.05.2026).

46. Busch Vacuum Solutions. R5 RA 0025/0040 F. Technical specifications [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <https://www.buschvacuum.com/> (дата звернення: 30.05.2026).

47. HERMETIC-Pumpen GmbH. Series CN/CNF : Canned Motor Pumps. Technical Catalogue [Електронний ресурс]. – Gundelfingen : HERMETIC-Pumpen GmbH, 2018. – 24 р. – Режим доступу: https://www.starpumpalliance.com/wp-content/uploads/2023/12/14221_Baureihen_Information_CN-CNF_EN_12_2018.pdf (дата звернення: 05.06.2026).

48. Про охорону праці : Закон України від 14.10.1992 № 2694-XII [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/2694-12#Text> (дата звернення: 05.06.2026).

49. Кодекс цивільного захисту України від 02.10.2012 № 5403-VI [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/5403-17#Text> (дата звернення: 05.06.2026).

50. ДСН 3.3.6.042-99. Санітарні норми мікроклімату виробничих приміщень. Київ : МОЗ України, 1999.

51. ДБН В.2.5-67:2013. Опалення, вентиляція та кондиціонування. Київ : Мінрегіон України, 2013.

52. ДСТУ ISO 14698-1:2008. Чисті приміщення та пов'язані контрольовані середовища. Контроль біозабруднень. Частина 1. Загальні принципи та методи. Київ : Держспоживстандарт України, 2009.

53. ДСТУ 4169:2003. Стиснене повітря. Частина 1. Забруднювачі та класи чистоти.

					ДП БІ-2109.00 ПЗ	Арк.
						114
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат		

54. НПАОП 40.1-1.21-98. Правила безпечної експлуатації електроустановок споживачів.

55. Правила пожежної безпеки в Україні : наказ Міністерства внутрішніх справ України від 30.12.2014 № 1417.

56. ДСТУ EN ISO 12100:2016. Безпечність машин. Загальні принципи конструювання. Оцінювання ризику та зниження ризику.

57. ДСТУ ISO 45001:2019. Системи управління охороною здоров'я та безпекою праці. Вимоги та настанови щодо застосування.

58. Білявський Г. О., Фурдуй Р. С., Костіков І. Ю. Основи екології : підручник. Київ : Либідь, 2005. 408 с.

59. Запольський А. К. Водопостачання, водовідведення та якість води : підручник. Київ : Вища школа, 2005. 671 с.

60. Безпека життєдіяльності та охорона праці : підручник / за ред. В. В. Березуцького. Харків : Факт, 2017. 728 с.

61. Кундєєв Ю. І., Нагорна А. М. Професійне здоров'я в Україні. Київ : Авіценна, 2007. 396 с.

62. Основи охорони праці : підручник / за ред. К. Н. Ткачука. Київ : Основа, 2011. 448 с.

63. Державні санітарні правила планування та забудови населених пунктів ДСП № 173-96.

64. Екологічна безпека біотехнологічних виробництв : навч. посіб. / за ред. В. М. Боголюбова. Київ : НУБіП України, 2018. 312 с.

ДОДАТКИ

					ДП БІ-2109.00 ПЗ		
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата	ДОДАТКИ		
Розроб.		Пономаренко О.С.					
Конс.							
Керівн.		Косова В.П.					
					КПІ ім. Ігоря Сікорського ФБТ		
					Стадія	Арк.	Аркушів
						116	116

ДОДАТОК А

CERTIFICATE

is awarded to

Oleksandra Ponomarenko

for being an active participant in
VIII International Scientific and Practical Conference

“INTERNATIONAL EXPERIENCE IN SCIENTIFIC RESEARCH”

***24 Hours of Participation
(0,8 ECTS credits)***

CHICAGO

19-21 March 2026

sci-conf.com.ua



ДОДАТОК Б

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

ГРАФІЧНИЙ ІЛЮСТРАЦІЙНИЙ МАТЕРІАЛ

**до дипломного проєкту
на здобуття ступеня бакалавра
за освітньо-професійною програмою «Біотехнології»
спеціальності 162 Біотехнології та біоінженерія
на тему: «Лінія виробництва пробіотичного препарату «Лактобактерин».
Дільниця ліофілізації мікробної біомаси»**

Виконала:
студентка IV курсу, групи БІ-21
Пономаренко Олександра Сергіївна

Керівник:
Асистент кафедри біотехніки та інженерії
Косова Віра Петрівна



Не для коммерческого использования

[illegible]

