

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

Кафедра біоенергетики, біоінформатики та екобіотехнології

До захисту допущено:

Завідувач кафедри

 Наталія ГОЛУБ

« 6 » серпня 2024 р.

**Дипломний проєкт**

на здобуття ступеня бакалавра  
за освітньо-професійною програмою «Біотехнології»  
спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія»  
на тему: «Технологія отримання стимулятора росту рослин «Фертолан».  
Дільниця виробничого біосинтезу»

**Виконав:**

студент IV курсу, групи БМ-01  
Косоєць Іван Романович



**Науковий керівник:** професор кафедри  
біоенергетики, біоінформатики та  
екобіотехнології, д.б.н., професор  
Горго Юрій Павлович

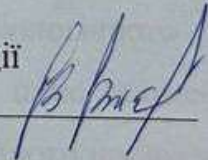


**Консультант з проєктування:**  
професор кафедри біоенергетики,  
біоінформатики та екобіотехнології,  
д.т.н., професор  
Саблій Лариса Андріївна



**Рецензент:**

асистент кафедри промислової біотехнології та біофармації  
Піць Вадим Вікторович



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

Студент



Київ – 2024 року

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

Факультет біотехнології і біотехніки

Кафедра біоенергетики, біоінформатики та екобіотехнології

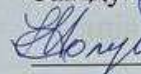
Рівень вищої освіти – перший (бакалаврський)

Спеціальність – 162 «Біотехнології та біоінженерія»

Освітньо-професійна програма «Біотехнології»

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри

 Наталія ГОЛУБ

«15» квітня 2024 р.



**ЗАВДАННЯ**

на дипломний проект студенту

**Косовцю Івану Романовичу**

1. Тема проекту «Технологія отримання стимулятора росту рослин «Фертолан». Дільниця виробничого біосинтезу», керівник проекту Горго Юрій Павлович, професор, д.б.н., затверджені наказом по університету від «27» травня 2024 р. № 2117-с
2. Термін подання студентом проекту 06.06.24
3. Вихідні дані до проекту: продуктивність регулятора росту рослин – 1 т на місяць.
4. Зміст пояснювальної записки: характеристика біологічного агента, біохімічні основи виробництва, контроль виробництва, опис технологічної схеми, розрахунок обладнання для проведення технологічного процесу.
5. Перелік графічного матеріалу (із зазначенням обов'язкових креслеників, плакатів, презентацій тощо): креслення загального виду ферментеру – 1 арк. А1, технологічна схема – 1 арк. А1, апаратурна схема – 1 арк. А1.

6. Консультанти розділів проекту

Розділ	Прізвище, ініціали та посада консультанта	Підпис, дата	
		завдання видав	завдання прийняв
Графічна частина дипломного проекту (проектування)	д.т.н., проф. Саблій Л.А.		

7. Дата видачі завдання 15 квітня 2024

Календарний план

№ з/п	Назва етапів виконання дипломного проекту	Термін виконання етапів проекту	Приміт-ка
1.	Характеристика сировини, біологічного агента, обґрунтування технології	20.05. - 22.05.2024	виконано
2.	Біохімічні основи технологічного процесу	23.05. - 26.05.2024	виконано
3.	Технологічна схема	27.05. - 31.05. 2024	виконано
4.	Характеристика і розрахунок обладнання	01.06 - 03.06.2024	виконано
5.	Складання апаратурної схеми	04.06 - 07.06.2024	виконано
6.	Охорона праці та охорона довкілля	08.06-09.06.2024	виконано
7.	Оформлення пояснювальної записки	10.06.-13.06.2024	виконано
8	Подання дипломного проекту на рецензування	14.06.24	

Студент



Іван КОСОВЕЦЬ

Керівник



Юрій ГОРГО

**Пояснювальна записка**  
**до дипломного проєкту**  
**на тему: «Технологія отримання стимулятора росту рослин «Фертолан».**  
**Дільниця виробничого біосинтезу»**

**Київ – 2024 року**

## РЕФЕРАТ

Пояснювальна записка: 89 с., 9 табл., 10 рис., 44 посилання.

Дипломний проєкт присвячений розробці технології виробництва біотехнологічного стимулятора з високим вмістом цинку для регулювання росту рослин "Фертолан", Запропоновано вибір нового продуценту штаму *Cladosporium cladosporioides* 495, який було виділено з коренів люпину білого сорту Либідь. Цей гриб виділяє значну кількість гормонів рослинного походження, таких як ауксини, цитокініни, гіберліни та абсцизова кислота.

Покращення технології включає оптимізацію виробництва шляхом впровадження глибинного культивування в ферментері з комбінованим перемішуванням та кільцевим барботером а також вибір нового продуценту з більшою композицією фітогормонів необхідних для росту рослин.

У роботі наводяться обґрунтування технологічних і апаратурних схем виготовлення стимулятора росту рослин. Для ділянки біосинтезу біологічного агенту було проведено аналіз продуценту та розрахований ферментер, який задовільняє вимоги культивування та об'єм виробництва, відповідний попиту на продукт і потенційного збільшення обсягів через перспективність виду продукту.

Запропонована технологія відповідає санітарним, екологічним нормам та вимогам охорони праці, забезпечуючи безпечні умови для працівників і мінімальний вплив на навколишнє середовище.

### РЕГУЛЯТОРИ РОСТУ РОСЛИН, ФЕРТОЛАН, *CLADOSPORIUM CLADOSPORIOIDES*, ФІТОГОРМОНИ, ФЕРМЕНТЕР

					<i>ДП БМО1.01.09 ПЗ</i>			
<i>Зм.</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ докум</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>				
<i>Розроб.</i>	<i>Косо́вцев І.Р.</i>				<i>РЕФЕРАТ</i>	<i>Ст</i>	<i>Арк</i>	<i>Аркуші</i>
<i>Конс.</i>						<i>Д</i>	<i>6</i>	<i>89</i>
<i>Керівн.</i>	<i>Горго Ю.П.</i>					<i>КПІ ім. Ізоря Сікорського ФБТ</i>		

## ABSTRACT

Explanatory note: 89 p., 9 tables, 10 figures, 44 references.

The thesis project is devoted to the development of production technology for a biotechnological stimulant with a high zinc content for regulating plant growth "Fertolan", The choice of a new producer of the strain of *Cladospodium cladosporioides* 495, which was isolated from the roots of white lupine variety Lybid, is proposed. This fungus secretes a significant amount of plant-derived hormones, such as auxins, cytokinins, gibberellins and abscisic acid.

Improvement of the technology includes optimisation of production by introducing deep cultivation in a fermenter with combined stirring and ring bubbler, as well as selection of a new producer with a greater composition of phytohormones necessary for plant growth.

The paper provides justification of technological and hardware schemes for the production of a plant growth stimulator. For the biological agent biosynthesis section, the product was analysed and a fermenter was designed to meet the cultivation requirements and production volume corresponding to the demand for the product and potential increase in volumes due to the prospects of the product type.

The proposed technology meets sanitary, environmental and labour protection requirements, ensuring safe conditions for employees and minimal environmental impact.

### PLANT GROWTH REGULATORS, FERTOLAN, *CLADOSPORIUM CLADOSPORIOIDES*, PHYTOHORMONES, FERMENTER

					<i>ДП БМ01.01.09 ПЗ</i>			
<i>Зм.</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ докум</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>				
<i>Розроб.</i>	<i>Касовець І.Р.</i>				<i>ABSTRACT</i>	<i>Ст</i>	<i>Арк</i>	<i>Аркушів</i>
<i>Конс.</i>						<i>Д</i>	<i>7</i>	<i>89</i>
<i>Керівн.</i>	<i>Гарго Ю.П.</i>					<i>КПІ ім. Ігоря Сікорського ФБТ</i>		

## ПЕРЕЛІК СКОРОЧЕНЬ

PPP – регулятор росту рослин

ПС – поживне середовище

ДСТУ – державні стандарти України

БАР – біологічно активні речовини

БА – біологічний агент

PGPM – ризобактерії, що стимулюють ріст рослин

PGPF – гриби, які вступають у симбіотичні стосунки

IAA – індол-3-оцтова кислота

IAM – індол-3-ацетамідний шлях

IPA – шлях індол-3-піровиноградної кислоти

TAM – триптаміновий шлях

IAOX – шлях індол-3-ацетальдоксиму

GA – гіберліни

АБК – абсцизова кислота

					<i>ДП БМ01.01.09 ПЗ</i>			
<i>Зм.</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ докум</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>				
<i>Разроб.</i>		<i>Косоvecь І.Р.</i>			<i>ПЕРЕЛІК СКОРОЧЕНЬ</i>	<i>Ст</i>	<i>Арк</i>	<i>Аркушів</i>
<i>Конс.</i>						<i>Д</i>	<i>8</i>	<i>89</i>
<i>Керівн.</i>		<i>Гарго Ю.П.</i>				<i>КПІ ім. Ігоря Сікорського ФБТ</i>		

## ЗМІСТ

ВСТУП .....	10
РОЗДІЛ 1. ХАРАКТЕРИСТИКА СИРОВИНИ, БІОЛОГІЧНОГО АГЕНТА. ОБГРУНТУВАННЯ ТЕХНОЛОГІЇ .....	12
1.1 Характеристика сировини .....	12
1.2 Обґрунтування вибору технології .....	14
1.3 Характеристика біологічного агента.....	17
РОЗДІЛ 2. БІОХІМІЧНІ ОСНОВИ ТЕХНОЛОГІЧНОГО ПРОЦЕСУ .....	23
2.1 Схема перебігу процесів.....	23
2.2 Характеристика кінцевого продукту .....	35
РОЗДІЛ 3. ТЕХНОЛОГІЧНА ЧАСТИНА .....	38
3.1 Матеріали основні і допоміжні.....	38
3.2 Контроль виробництва.....	41
3.3 Матеріальний баланс .....	46
3.4 Опис технологічної схеми .....	48
РОЗДІЛ 4 ПІДБІР ТА ХАРАКТЕРИСТИКА ОБЛАДНАННЯ.....	59
4.1 Технологічний, конструктивний, гідравлічний розрахунки .....	59
4.2 Вибір загальнозаводського обладнання.....	66
РОЗДІЛ 5. ОХОРОНА ПРАЦІ ТА ОХОРОНА ДОВКІЛЛЯ .....	68
5.1 Охорона праці.....	68
5.1.1 Ідентифікація небезпек, оцінка та управління професійними ризиками на біотехнологічному виробництві.....	68
5.1.2 Заходи з охорони праці на біотехнологічному виробництві.....	74
5.1.3 Розрахунок природного освітлення у виробничому приміщенні.....	77
5.2 Охорона довкілля .....	79
ВИСНОВКИ.....	83
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ТА ЛІТЕРАТУРИ .....	84

					<i>ДП БМО1.01.09 ПЗ</i>		
<i>Зм.</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ докум</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>			
<i>Розроб.</i>		<i>Косоовець І.Р.</i>			<i>Ст</i>	<i>Арк</i>	<i>Аркушів</i>
<i>Конс.</i>					<i>Д</i>	<i>9</i>	<i>89</i>
<i>Керівн.</i>		<i>Горго Ю.П.</i>			<i>ЗМІСТ</i>		
					<i>КПІ ім. Ігоря Сікорського ФБТ</i>		

## ВСТУП

Український вчений, хірург-офтальмолог, професор В.П. Філатов у 1942 році вперше ввів в СРСР термін «біогенні стимулятори». Він припустив, що біологічні речовини, отримані з різних організмів, в тому числі рослин, що піддаються впливу стресорів, можуть впливати на обмінні процеси в організмі людини, тварин і рослин. Він називає такі речовини, які допомагають тканинам зберігати життєздатність під впливом несприятливих умов – біостимуляторами. Його послідовник, біохімік А. В. Благовещенський, продовжив розвивати ці ідеї і досліджував вплив різних біостимуляторів на сільськогосподарські рослини в стресових умовах [1].

Аграрний сектор для України завжди був одним з пріоритетних напрямків як зовнішнього, так і внутрішнього економічного розвитку, оскільки питання організації виробництва і підтримки продовольчого забезпечення окремих держав актуальне в усі часи. Від цього залежить не тільки життєздатність, розвиток, конкурентоспроможність і самодостатність країни і суспільства, а й безліч різних сфер людської діяльності [2].

Сьогодні великі фермерські господарства отримують рекордні врожаї багатьох культур, завдяки збалансованому надходженню поживних речовин і ефективній системі захисту, але подальше зростання врожайності можливе за рахунок включення додаткових стимуляторів, тобто біостимуляторів, в сучасні сорти і технології вирощування, що допоможе підвищити коефіцієнт засвоєння поживних речовин і стресостійкість рослин [3].

Біологічно активні речовини (БАР), в тому числі фітогормони–регулятори (стимулятори) росту і розвитку рослин (РРР), набувають все більшого значення в сучасних умовах, і їх застосування в сільському господарстві, рослинництві та лісовому господарстві потенційно може дати результати, які не можуть бути досягнуті іншими способами. Використання

					<i>ДП БМ01.01.09 ПЗ</i>			
<i>Зм.</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ докум</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>				
<i>Розроб.</i>		<i>Косовець І.Р.</i>			<i>ВСТУП</i>	<i>Ст</i>	<i>Арк</i>	<i>Аркушів</i>
<i>Конс.</i>						<i>Д</i>	<i>10</i>	<i>89</i>
<i>Керівн.</i>		<i>Гарго Ю.П.</i>				<i>КПІ ім. Ігоря Сікорського ФБТ</i>		

РРР дозволяє більш повно реалізувати генетичний потенціал сільськогосподарських культур, підвищити стійкість рослин до стресорів біологічної та абіотичної природи і підвищити врожайність та поліпшити їх якість в кінцевому підсумку [4].

За даними аналітиків (Research and Markets), у 2021 році світовий ринок біостимуляторів досяг 3,2 мільярда доларів США. Прогнозується, що його середньорічний темп зростання складе 12,1%, а до 2026 року обсяг ринку збільшиться майже вдвічі і досягне 5,6 млрд доларів.

Біостимулятори найбільш активно використовуються в Європі, і, за прогнозами, в майбутньому попит на ці продукти буде швидко зростати в країнах ЄС. Сьогодні частка європейських країн у споживанні становить 507 млн дол. Азіатсько-Тихоокеанський регіон на другому місці з 463 млн дол., за ним слідує Латинська Америка з 412 млн дол., США / Канада 370 млн дол. та Близький Схід/Північна Африка з 192 млн дол. За оцінками аналітиків, український ринок можна оцінити приблизно в 25-30 млн дол [1].

Метою дослідження є розробка проєкту автоматизованого виробництва з використанням нового продуценту, стимулятора росту рослин «Фертолан».

Тому, з огляду на перспективи використання РРР, актуальність цієї роботи полягає в застосуванні стимулятора росту рослин «Фертолан» як препарату, що містить біологічно активні речовини різного спектру дії для підвищення врожайності сільськогосподарських культур.

#### **Завдання роботи:**

1. Вивчити біохімічні, культуральні та морфологічні особливості продуценту. Описати механізм синтезу активних сполук і їхню дію на рослини.
2. Навести технологічну схему отримання препарату «Фертолан» з використанням ферментера об'ємом 0,63 м<sup>3</sup> для етапу виробничого біосинтезу, який відповідатиме вимогам виробництва.
3. Розробити апаратурну схему технологічного процесу.
4. Скласти матеріальний баланс виробництва.

					<i>ДП БМО1.01.09 ПЗ</i>	Арк.
						11
<i>Зм.</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>		

# РОЗДІЛ 1. ХАРАКТЕРИСТИКА СИРОВИНИ, БІОЛОГІЧНОГО АГЕНТА. ОБГРУНТУВАННЯ ТЕХНОЛОГІЇ

## 1.1 Характеристика сировини

Для виробництва препаратів повинна використовуватися сировина згідно з чинною нормативною документацією, яка пройшла вхідний контроль згідно з ДСТУ 9027 у порядку, що встановлений підприємством-виробником.

Сировиною є мінеральні і органічні речовини, що безпосередньо використовуються для приготування водного поживного середовища, на якому культивуються гриби-продуценти, а також етиловий спирт, який застосовується як розчинник та екстрагент на стадії десорбції продуктів метаболізму з активованого вугілля (сорбенту), а також солі біогенних мікро- і макроелементів.

- дистильована вода – це вода, очищена абсолютно від всіх органічних і неорганічних речовин. Тобто вона фактично стерильна. При аналізі дистильованої води вона не повинна містити мінеральних солей, мікроорганізмів або інших речовин [5]. Використовується для приготування рідких поживних середовищ, реагентів та миючих засобів;

- спирт етиловий ректифікований – безбарвна, летюча горюча рідина з обпікаючим смаком і різким характерним запахом. Гігроскопічна рідина. Її змішують з водою, метиленхлоридом, ефіром, хлороформом, ацетоном і гліцерином. Він горить світло-блакитним бездимним полум'ям. Температура кипіння становить 78,3°C. У невеликих кількостях викликає інтоксикацію, а у великих – наркотичний стан. В організмі окислюється до оцтового альдегіду, потім до вуглекислого газу і води. В органічному синтезі, знежирювачі, паливі тощо як сировина і широко використовується як розчинник [6]. Має відповідати вимогам ДСТУ 4221:2003 [7]. У даній технології використовується як екстрагент фітогормонів;

					<i>ДП БМО1.01.09 ПЗ</i>			
<i>Зм.</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ докум</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>				
<i>Розроб.</i>		<i>Косовець І.Р.</i>			<i>РОЗДІЛ 1 ХАРАКТЕРИСТИКА СИРОВИНИ, БІОЛОГІЧНОГО АГЕНТА. ОБГРУНТУВАННЯ ТЕХНОЛОГІЇ</i>	<i>Ст</i>	<i>Арк</i>	<i>Аркушів</i>
<i>Конс.</i>						<i>Д</i>	<i>12</i>	<i>89</i>
<i>Керівн.</i>		<i>Горго Ю.П.</i>				<i>КПІ ім. Ізоря Сікорського ФБТ</i>		

- вугілля активоване – цей матеріал має високу пористість та велику площу поверхні, яка може сягати кількох тисяч квадратних метрів на грам. Окрім вуглецю, він може містити інші елементи, такі як водень, азот, сірку та кисень. Ці елементи можуть залишатися з вихідної сировини або зв'язуватися з вуглицем під час виробництва. Використання вуглецевих адсорбентів для очищення рідких та газових фаз від забруднень значно ефективніше, ніж інші методи. Активоване вугілля може адсорбувати органічні та неорганічні сполуки, як у дисоційованій, так і молекулярній формах. Широкий спектр адсорбованих речовин пояснюється наявністю на поверхні мікропор розміром до 2,0 нм різноманітних адсорбційних центрів з різною міцністю. Цей матеріал відповідає вимогам стандарту ДСТУ EN 12903:2004 [8];

- глюкоза - це найпоширеніший моносахарид на землі та схожий на більш важкі амінокислоти за своїм розміром. Здатна перетинати плазматичну мембрану через полегшену дифузію та транспортні білки, глюкоза є основним джерелом палива в культурі клітин. Енергія, що міститься в його хімічних зв'язках, використовується для синтезу аденозинтрифосфату (АТФ) як взаємопов'язаними, так і незалежними способами. АТФ важливий, оскільки він переносить енергію в клітинах і його часто називають енергетичною валютою клітини. Усі відомі живі істоти використовують АТФ, і крім того, що він служить джерелом енергії, він також важливий у шляхах передачі сигналу для клітинного спілкування [9]. В даній технології виступає як основний елемент поживного середовища для росту продуцента;

- мікро та макроелементи – є критичними компонентами поживного середовища для продуцента, забезпечуючи його ріст, розвиток та продуктивність. Гриби, як і інші організми, потребують певного набору елементів для виконання основних фізіологічних та біохімічних процесів. Також, деякі речовини додають окремо для більшої стимуляції росту рослин. Солі калію, міді, марганцю та молібдену є необхідними поживними речовинами для росту рослин;

- Цинк (Zn) – є важливою поживною речовиною для рослин і відомий як

					<i>ДП БМО1.01.09 ПЗ</i>	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		13

мікроелемент через низьку потребу в ньому. Zn залишається в рослинах у вільній іонній формі або у вигляді комплексу з багатьма низькомолекулярними сполуками. Хоча потреба в цинку в рослинах низька, він відіграє важливу роль у загальному рості та розвитку рослин. Zn необхідний для різних біохімічних процесів, включаючи метаболізм ауксину, синтез хлорофілу та активацію різних ферментів. Zn також бере участь у метаболізмі вуглеводів, ліпідів і нуклеїнових кислот [10].

## 1.2 Обґрунтування вибору технології

Технологічна схема біотехнологічного виробництва завжди починається з підготовки приміщень апаратів та персоналу. Персонал має бути підготований до виробництва, знати нормативні вимоги та процеси виробництва продукту, бути ознайомленим з технікою безпеки відповідно до робочого регламенту. Перед початком роботи персонал має дотримуватись всіх санітарних норм, а саме мати індивідуальні комплекти санітарно чистого одягу, зміна якого проводиться щоденно, або по мірі його забруднення. Перед початком роботи працівники вдягають цей одяг, а волосся ховають під головний убір (хустинку, ковпак, тощо), знімають прикраси, миють руки з милом та дезінфікують їх.

Найбільш поширеним методом підготовки приміщень та обладнання для виробництва біомаси є миття миючим засобами та дезінфекція. Для цього використовують різні дезінфікуючі розчини, зазвичай використовують розчин хлораміну Б, який діє як окислювач, розщеплюючи клітинну мембрану мікроорганізмів. Це призводить до загибелі мікроорганізмів. Даний етап забезпечує асептичні умови виробництва і є необхідним для підтримання санітарних норм та роботоздатності всіх приборів і апаратів.

Після цього має відбуватись підготовка повітря, необхідна для отримання стерильних умов для забезпечення достатньої аерації культури під час накопичення біомаси під час культивування.

					<i>ДП БМО1.01.09 ПЗ</i>	Арк.
Зм.	Арк.	№ докum.	Підпис	Дата		14

Повітря забирається з атмосфери та проходить первинну очистку щоб знешкоджувати контамінанти. Це необхідно для швидкої очистки від 99% забрудників та зменшення навантаження і продовження терміну експлуатації головного фільтру, що очищає до 99,999% всіх можливих забрудників [11].

Для вдалого культивування має забезпечуватись джерело живлення для біологічного агенту (БА).

Для забезпечення високих показників біосинтезу біомаси *Cladosporium cladosporioides* необхідно забезпечити гриб всіма необхідними мікро- та макроелементами, а також факторами росту. У зв'язку з цим, було обрано середовище Ролана-Тома, яке забезпечує ріст культури та виділення фітогормонів у культуральну рідину.

Для виробничого біосинтезу має забезпечуватись наявність посівного матеріалу. Відбувається підготовка тих біологічних агентів, які найбільше відповідають вимогам виробництва і забезпечують найвищий вихід біомаси для засівання його у ферментер. Температурні умови культивування –25-28°C. Перемішування необхідне для забезпечення доступу до ПС та кисню [12].

Також, перед виробничим біосинтезом має відбутись підготовка емульсії олеїнової кислоти з метою запобігання утворенню піни під час інокуляції субстрату міцелієм гриба. Олеїнова кислота є природним піногасником, який діє шляхом зниження поверхневого натягу води. Це запобігає утворенню бульбашок повітря, які можуть ускладнити інокуляцію субстрату.

Виробничий біосинтез біомаси є головним етапом даного виробництва. Його мета – накопичення біомаси. Для цього відбувається стерилізація поживного середовища безпосередньо в ферментері.

Типовий спосіб періодичної стерилізації включає приготування композиції (гомогенізація) всіх складових у одному реакторі, а сам процес стерилізації здійснюється безпосередньо у ферментері та передбачає нагрівання поживного середовища до 135°C, для знешкодження непотрібних домішок, витримку його при цій температурі упродовж години, охолодження

					ДП БМ01.01.09 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докum.	Підпис	Дата		15

до 45 – 35 °С [13]. Нагрівання здійснюється водяною парою під тиском  $P = 0,2$  МПа, а охолодження водою температури 15°С.

Кінцевими етапами виробництва є виділення та очистка цільового продукту а саме комплекс фітогормонів, отриманий з культурального середовища.

Теоретично для виділення фітогормонів з культурального середовища можна використовувати наступні методи:

- метод екстракції розчинником: Грибкові клітини можна обробляти органічними розчинниками, такими як метанол, етанол або ацетон, для видалення фітогормонів. Цей метод заснований на розчинності цих рослинних гормонів в органічних розчинниках;

- екстракція кислотою: Використання кислих розчинів для вилучення з грибкових клітин ефективний завдяки здатності кислот руйнувати клітинні структури. Після екстракції отриманий розчин збирають для подальшого аналізу;

- фільтрація: Цей метод особливо ефективний, коли грибкові клітини легко лопаються. Клітинна маса проходить через фільтр, який утримує тверді частинки і може збирати рідини, що містять фітогормони. Метод може бути оптимізований за допомогою ультразвуку або інших методів лізису для знищення грибкових клітин;

- хроматографічний метод: Газова хроматографія або рідинна хроматографія можуть бути використані для розділення та визначення фітогормонів. Ці методи засновані на різних взаємодіях з нерухомою і рухомою фазами, що дозволяє досягти високої точності і чистоти речовин, що виділяються;

- екстракція адсорбентом: Адсорбенти, такі як активоване вугілля, можна використовувати для виділення фітогормонів при низьких рівнях чистоти. Адсорбент поглинає рослинні гормони і дозволяє виділити їх з бульйону для подальшого очищення і аналізу.

					<i>ДП БМО1.01.09 ПЗ</i>	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		16

Кожен із цих методів має свої переваги та недоліки, відповідно вибір конкретного методу залежить від необхідного рівня очищення, доступного обладнання та інших факторів.

На виробництві застосовують метод екстракції розчинником, де розчинником слугує етиловий спирт та екстракцію адсорбентом, а саме порошкоподібним активованим вугіллям. Вони є найефективнішими для промислового виробництва, оскільки є дешевими в питанні ціни сировини та часу і доступності обладнання. Також для цих методів не потрібна висока амортизаційна вартість на відміну від інших методів.

### 1.3 Характеристика біологічного агента

Регуляторами росту рослин можуть бути будь-які мікроорганізми, що містять фітогормони. Використання хімічних добрив створює проблеми для навколишнього середовища та здоров'я населення. Використання корисних мікробів як біодобрива стало надзвичайно важливим у сільськогосподарському секторі через їх неминучу роль у стійкому рослинництві. Екологічно чисті підходи надихають на широкий спектр застосування ризобактерій, які стимулюють ріст рослин (PGPR), ендо- та ектомікоризних грибів, ціанобактерій та багатьох інших корисних мікроорганізмів для покращення поглинання поживних речовин, росту рослин і стійкості рослин до абіотичного та біотичного стресу [14].

PGPR містять азотфіксуючі та симбіотичні бактерії, наприклад, різні види *Rhizobium*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Mycobacterium*, *Bacillus*, *Azobacter*, *Serratia*, *Xanthomonas*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Clostridium* тощо.

До грибів, що стимулюють ріст належать різні види *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Trichoderma* тощо. Ці гриби встановлюють симбіотичні стосунки з корінням рослин у формі мікоризи та допомагають поглинати необхідні поживні речовини з ґрунту та забезпечують їх рослинам, які стимулюють ріст і розвиток рослин.

					ДП БМО1.01.09 ПЗ	Арк.
						17
Зм.	Арк.	№ док.м.	Підпис	Дата		

Ціанобактерії також відомі як «синьо-зелені водорості» (BGA), і приклади включають різні види *Oscillatoria*, *Nostoc*, *Anabaena*, *Tolypothrix*, *Aulosira* тощо. Ці ціанобактерії також допомагають у фіксації азоту та формують симбіотичну асоціацію з водною папороттю *Azolla*, яка допомагає збагачувати ґрунт з поживними речовинами. Крім BGA, червоні та бурі водорості також використовувалися як ймовірні біодобрива. Вони можуть підвищувати пористість ґрунту завдяки своїй ниткоподібній структурі та виробленню адгезивів, секреції фітогормонів (ауксин, гіберелін), вітамінів і амінокислот. Крім того, це збільшує вміст поживних речовин у ґрунті шляхом їх загибелі та розкладання, а також запобігає вторгненню бур'янів та патогенів. Усі ці дії допомагають покращити ріст і розвиток рослин і, зрештою, продуктивність.

Ці мікроби демонструють різноманітні механізми, які прямо чи опосередковано допомагають у сприянні або посиленні росту та розвитку сільськогосподарських рослин і призводять до підвищення продуктивності сільськогосподарських культур [15].

Продуцент, що використовується на виробництві «Агробіотех» є застарим, це є *Neonectria candida* (штам *Cylindrocarpon magnusianum* IMB F-100004). Патент на нього був створений та опублікований ще в 1998 році [16]. Тому для інноваційності виробництва було запропоновано новий штам *Cladosporium cladosporioides* 495, який було виділено з коренів люпину білого сорту Либідь. Патентні заявки на його виробництво відсутні, проте є експериментальна праця, в якій було доведено ауксинову, цитокінінову та гіберелінову активності [17].

#### Систематичне положення виду

У таблиці 1.1 наведено систематичне положення гриба *Cladosporium cladosporioides*.

					ДП БМО1.01.09 ПЗ	Арк.
						18
Зм.	Арк.	№ докum.	Підпис	Дата		

Таблиця 1.1 – Систематичне положення *Cladosporium cladosporioides*

[18]

Таксон	Назва Таксону
Домен	<i>Eukaryota</i>
Царство	<i>Fungi</i>
Підцарство	<i>Dikarya</i>
Тип	<i>Ascomycota</i>
Підтип	<i>Pezizomycotina</i>
Клас	<i>Dothideomycetes</i>
Підклас	<i>Dothideomycetidae</i>
Порядок	<i>Cladosporiales</i>
Родина	<i>Cladosporiaceae</i>
Рід	<i>Cladosporium</i>
Вид	<i>Cladosporium cladosporioides</i>

*Cladosporium cladosporioides* належить до космополітичного роду *Cladosporium*, який охоплює понад 700 видів грибів. *Cladosporium* sp. зазвичай зустрічаються на багатьох видах рослинних і грибкових залишків. Їх можна виділити з ґрунту, їжі, фарби, текстилю та інших органічних речовин. *C.cladosporioides* є одним із кількох багатоїдних видів *Cladosporium*, тоді як більшість видів із цих родів є дещо спеціалізованими.

*Cladosporium* sp. також можуть інфікувати рослини як вторинні загарбники і, таким чином, бути ізольованими від уражень листя, спричинених патогенними грибами. У деяких випадках *C. cladosporioides* також може бути патогенним для людини. Крім того, деякі види *Cladosporium* є звичайними

ендофітами (вони здатні жити всередині рослини, не завдаючи шкоди), а інші є відомими гіперпаразитами (вони є паразитами паразитичних грибів). *Cladosporium* sp. також є одними з найпоширеніших грибів у холодильниках.

*Cladosporium cladosporioides* — це нестатева, широко поширена пліснява, яка зустрічається на різноманітних зовнішніх і внутрішніх поверхнях і матеріалах. Вона є частим сапрофітом і поширеним збудником вторинних інфекцій відмираючих частин рослин. *C. cladosporioides* є одним із найпоширеніших (зовнішніх) грибків, які переносяться по повітрю, але також дуже поширений у приміщеннях, зростаючи на вологих будівельних матеріалах, фарбі, шпалерах, текстилі, плитці та мокрих підвіконнях. Він заражає економічно важливі культури, такі як полуниця, і в рідкісних випадках, викликає інфекції у людей.

### ***Cladosporium cladosporioides* екологія**

*Cladosporium cladosporioides* — ксерофільний, ксеротолерантний і психрофільний організм. Це означає, що він стійкий як до сухих, так і до холодних умов. Він може рости за температури замерзання, а його ферменти можуть залишатися активними за температури від -10 °C до -3 °C. Усі ці можливості ймовірно є причиною того, що *C. cladosporioides* має такий широкий космополітичний ареал. Незважаючи на те, що вид росте майже протягом усього року, він досягає піку спороношення влітку. Це зазвичай виникає як вторинна інфекція на некротичних частинах багатьох різних рослин-господарів. Його спори можна виділити з повітря, ґрунту, текстилю та багатьох інших субстратів.

### **Морфологія та культивування *Cladosporium cladosporioides***

Загалом колонії *C. cladosporioides* виглядають оксамитовими або порошкоподібними та мають колір від оливково-зеленого до оливково-коричневого. Морфологія колонії буде змінюватись залежно від середовища

					ДП БМ01.01.09 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докum.	Підпис	Дата		20

для росту. Під час культивування на середовищі картопляного агару з декстрозою колонії виглядатимуть від оливково-сірого до тьмяно-зеленого, оксамитові, з пучками та пір'ясті краї. На картопляно-декстрозному агарі *C. cladosporioides* дифундує до середовища і рідко росте над поверхнею, лише іноді утворюючи помітні ексудати гіф. Колонії на середовищі агару з солодовим екстрактом стають блідо-оливково-сірими або білуватими через повітряний міцелій, але утворюють темніші краї.

Ріст міцелію вгору може бути рідкісним або рясним і з пучками. Міцелій може бути пухким або щільним і має тенденцію до плоского зростання. *Cladosporium cladosporioides* має рідкісні, нерозгалужені або рідко розгалужені темнопігментовані гіфи, які зазвичай не звужені в перегородках. Зрілі конідієносці деревоподібні і містять багато довгих розгалужених ланцюжків конідій. *Cladosporium cladosporioides* виробляє поодинокі конідієносці від коричневого до оливково-коричневого кольору, які нерегулярно розгалужуються, утворюючи багато розгалужень. Кожна гілка, як правило, має довжину 40–300 мкм (у виняткових випадках до 350 мкм) і 2–6 мкм завширшки. Конідієносці тонкостінні та циліндричні, утворюються на кінці висхідних гіф. Конідії дрібні, одноклітинні, лимоноподібної форми та з гладкими стінками. Вони утворюють довгі, крихкі ланцюжки до 10 конідій завдовжки з характерною затемненою сполучною тканиною між кожною спорою. *C. cladosporioides* оптимально росте між 20 °С і 28 °С і потребує активності води в середовищі. Даний штам культивували поверхнево на рідкому середовищі Ролена-Тома з додаванням гліцерину: сахароза – 60 г, виннокислий амоній – 2 г, гліцерин – 1 г, MgSO<sub>4</sub> – 0,2 г, K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> – 0,2 г, розчин мікроелементів – 1 см<sup>3</sup> (MgSO<sub>4</sub> – 8 мг, CuSO<sub>4</sub> – 40 мг, ZnSO<sub>4</sub> – 880 мг, CoSO<sub>4</sub> – 10 мг, FeSO<sub>4</sub> – 100 мг, H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> – 6 мг, CaCl<sub>2</sub> – 100 мг), вода – 1 дм<sup>3</sup>,

					ДП БМО1.01.09 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ док.м.	Підпис	Дата		21

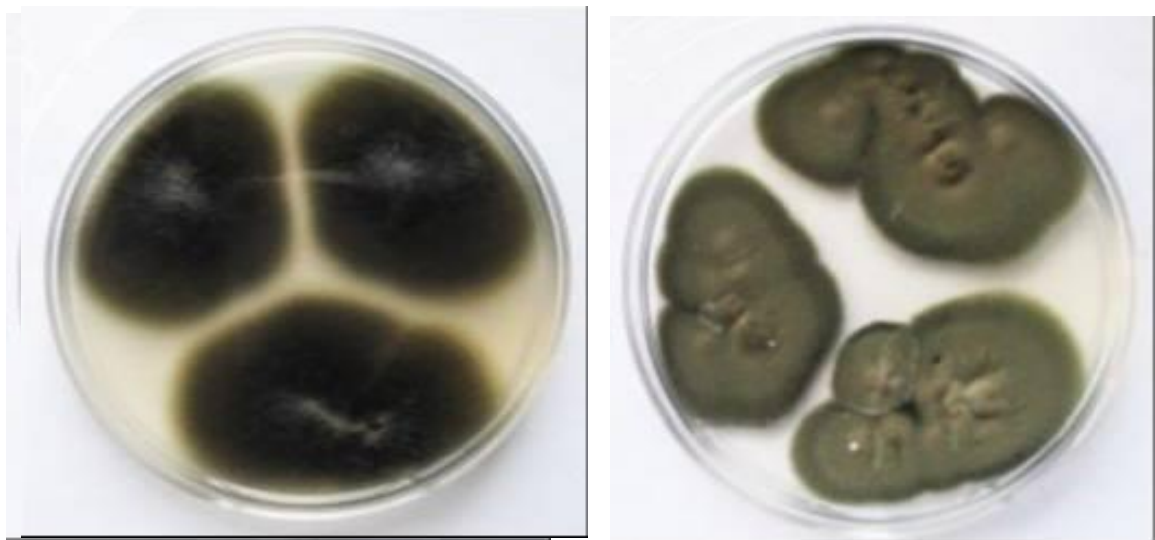


Рисунок 1.1 – Зовнішній вигляд колоній *Cladosporium cladosporioides* на картопляно-декстрозному агарі та на агарі з солодовим екстрактом [19]

### ***Cladosporium cladosporioides* як патоген рослин**

Вид найбільш відомий як один із збудників *Cladosporium* плодової гнилі виноградної лози червоного вина та суничного цвіту. Крім того, відомо, що *C. cladosporioides* заражає такі культури, як пшениця, горох, ожина, малина та шпинат. Як правило, грибок завдає невеликої фактичної шкоди зараженим плодам. Однак, оскільки ріст міцелію непривабливий, плоди стають непридатними для продажу [20].

Зм.	Арк.	№ док.м.	Підпис	Дата

ДП БМО1.01.09 ПЗ

Арк.

22

## РОЗДІЛ 2. БІОХІМІЧНІ ОСНОВИ ТЕХНОЛОГІЧНОГО ПРОЦЕСУ

### 2.1 Схема перебігу процесів

Фітогормони, які також відомі як рослинні гормони, — це невеликі природні органічні сполуки, які суттєво впливають на ріст, розвиток, захист, продуктивність і фізіологічні механізми рослин. Вони також організовують різноманітну клітинну діяльність у рослині. Навіть у мінімальних концентраціях вони активні в рослинних клітинах, тканинах і органах. Вони зустрічаються в усіх судинних рослинах і в значній кількості несудинних видів. Від початкового відкриття ауксину до останнього виявлення стріголактонів 12 груп фітогормонів — ауксини, цитокініни, гібереліни, абсцизова кислота, етилен, брасиностероїди, саліцилова кислота, жасмонати, поліаміни, мелатонін і пептидні гормони — були виявлені в багатьох видах рослин. Різні хімічні структури фітогормонів є ключовими для їх різноманітних біологічних функцій і біосинтезу [21].

Враховуючи, що рослинні гормони виробляються не тільки рослинами, але і багатьма мікроорганізмами (а мікроорганізми утворюють ці речовини в набагато більших кількостях, ніж рослини), гормональна регуляція в даний час визнана одним з ключових компонентів механізму реалізації спадкової програми онтогенезу і філогенезу мікроорганізмів і рослин. Мікроорганізм-продуценти фітогормонів, можуть вступати в асоціативні і симбіотичні відносини з рослиною-господарем або викликати розвиток його патогенезу. Бактерії, мікроміцети і водорості утворюють стимулятори росту рослин — фітогормони ауксинової, цитокінінової і гіберелінової природи. Кількісний та якісний склад фітогормонів, що синтезуються мікроорганізмами, має зазвичай штамову специфічність.

У той же час мікроорганізми синтезують і інші фітогормони і фітогормоноподібні речовини — етилен, абсцизову кислоту, брасиностероїди,

					<i>ДП БМ01.01.09 ПЗ</i>			
<i>Зм.</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ докум</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>				
<i>Розроб.</i>		<i>Косовець І.Р.</i>			<i>Розділ 2 БІОХІМІЧНІ ОСНОВИ ТЕХНОЛОГІЧНОГО ПРОЦЕСУ</i>	<i>Ст</i>	<i>Арк</i>	<i>Аркушів</i>
<i>Конс.</i>						<i>Д</i>	<i>23</i>	<i>89</i>
<i>Керівн.</i>		<i>Горго Ю.П.</i>				<i>КПІ ім. Ізора Сікорського ФБТ</i>		

олігосахарини, саліцилову і жасмонову кислоти. Таким чином, продуценти майже всіх описаних досі рослинних гормонів зустрічаються серед мікроорганізмів, деякі з них (наприклад, гіберелін), що продукуються мікроорганізмами рослинні гормони, відносяться до вторинних метаболітів, що утворюються за участю спеціальних ланок метаболічних ланцюгів організму продуцента. Максимальна кількість фітогормонів синтезується мікроорганізмами в стаціонарну фазу росту, тобто коли в середовищі відбувається викид поживних речовин, а процес ділення клітин різко сповільнюється. Це пов'язано з тим, що виділення рослинних гормонів мікроорганізмами в несприятливих для їх присутності умовах має важливе функціональне значення і підвищує ймовірність утворення асоціацій з рослинами. [22].

Як вже було зазначено, штам що використовується в роботі може мати фітогормони ауксинової, цитокінінової та гіберлінової природи.

### **Ауксини**

Ауксини відіграють вирішальну роль у регуляції різних аспектів росту та розвитку рослин. Вони беруть участь у контролі таких процесів, як поділ клітин, подовження, диференціація, тропізм (реакція на зовнішні подразники), цвітіння, верхівкове домінування (пригнічення росту бічних бруньок), утворення бічних коренів, старіння, осипання (осипання частин рослини), а також відповіді на екологічні стреси. Найбільш добре вивченим ауксином рослин є індол-3-оцтова кислота (ІАА). Процес виробництва ауксинів у рослинах дуже складний, і розуміння цього процесу може значно покращити розуміння біологічної ролі ауксинів і внеску в регуляцію росту та фізіології рослин. Хоча різні види рослин використовують різні стратегії для оптимізації метаболічних шляхів, здається, що можуть існувати спільні механізми біосинтезу ауксину, враховуючи, що ІАА є фітогормоном, необхідним для життя рослин. Ауксини в основному утворюються в апікальних меристемах рослини, молодому листі та квіткових бруньках, а потім вони швидко

					<i>ДП БМО1.01.09 ПЗ</i>	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		24

транспортується по всій рослині через флоему. Тим не менш, деякі дослідження показують, що ауксини також можуть локально синтезуватися в коренях.

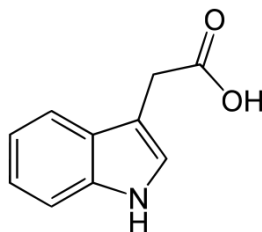


Рисунок 2.1 – Хімічна структура індол-3-оцтової кислоти (ІАА) [23]

Вважається, що два основні шляхи сприяють біосинтезу ІАА у рослинах де пово: триптофан (Трп)-залежний і Трп-незалежний шляхи. Існує кілька шляхів для Трп-залежного біосинтезу ІАА, включаючи:

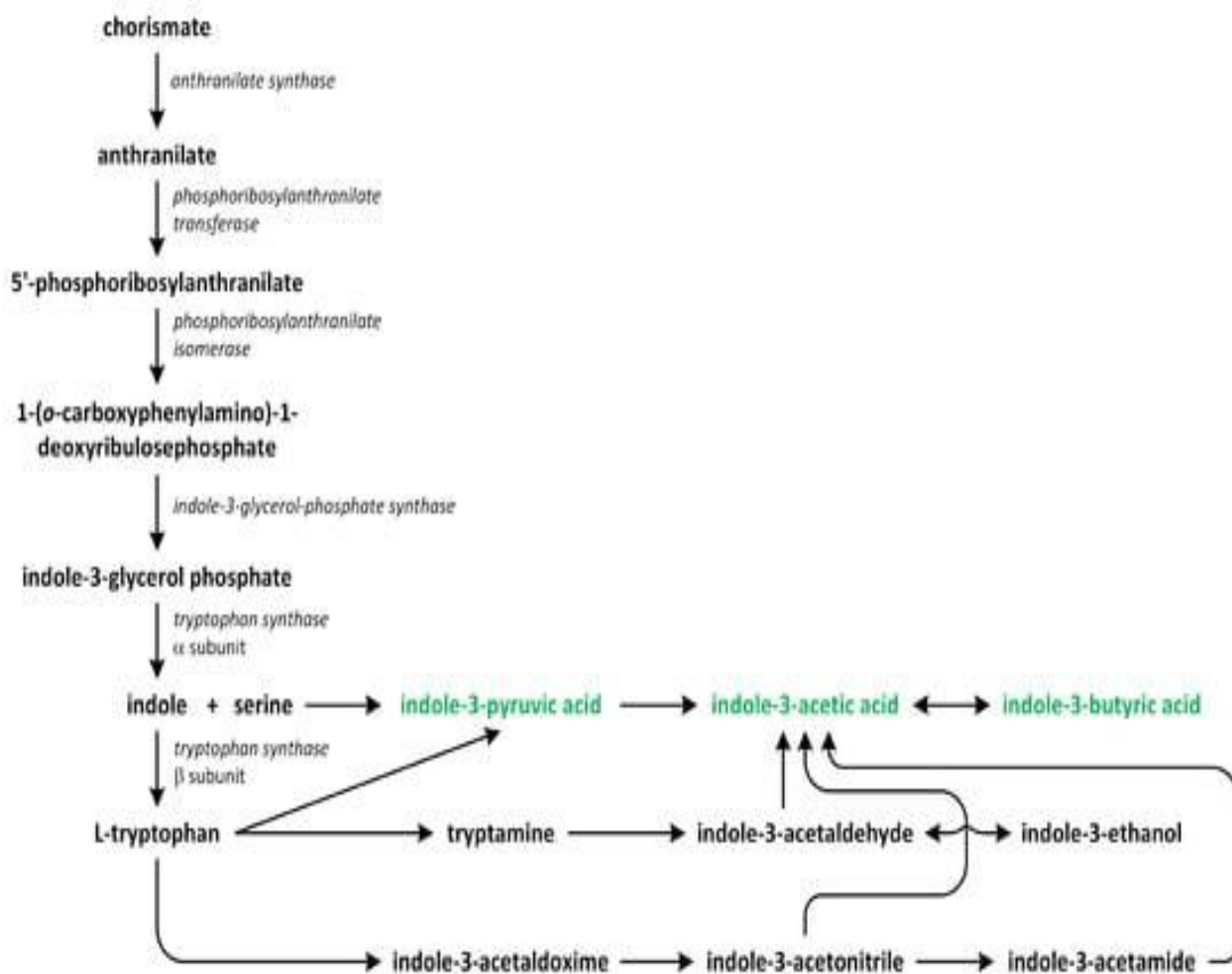


Рисунок 2.2 – Шляхи біосинтезу ауксинів (фітогормони зелені)

- індол-3-ацетамідний шлях (ІАМ);
- шлях індол-3-піровиноградної кислоти (ІРА);
- триптаміновий шлях (ТАМ);
- шлях індол-3-ацетальдоксиму (ІАОХ).

Незважаючи на те, що ІАА був першим ідентифікованим природним ауксином, розуміння генів, які кодують усі ферменти, що беруть участь у біосинтезі ауксину, залишається обмеженим. Також невідомо, чи всі ці шляхи існують у всіх видів рослин.

Триптофан, який є попередником виробництва різних індолвмісних сполук у рослинах, включаючи ІУК, індолглюкозинолати, фітоалексини та похідні триптаміну (ТАМ), синтезується з хоризмату під дією індол-3-гліцеролфосфатсинтази в хлоропласт. Гени *A. thaliana Anthranilate synthase1 (AtASA1)* і *AtASA2* кодують  $\alpha$ -субодиницю ферменту, який відповідає за каталізатор початкової реакції за допомогою шляху синтезу Trp. З іншого боку, індол-3-гліцеринфосфатсинтаза сприяє перетворенню 1-(*O*-карбоксіфеніламіно)-1-дезоксирибулозо-5-фосфату в індол-3-гліцеринфосфат.

У волосистих коренях рослин ІАА синтезується з Trp за допомогою реакції, яка складається з двох стадій. Триптофан спочатку перетворюється на ІАМ за допомогою ферменту Trp-2-монооксигенази, а ІАМ потім перетворюється на ІАА за допомогою індол-3-ацетамід гідролази. Цей шлях біосинтезу ІАА через ІАМ є специфічним для бактерій синтезом, оскільки рослинні патогени, такі як *Pseudomonas* і *Agrobacterium*, мають велику плазмиду, що індукує корені, і здатні індукувати хворобу волосистих коренів, яка характеризується високим коефіцієнтом проліферації коренів від місця інфікування, що виникає внаслідок високої швидкості біосинтезу та накопичення ІУК. *Pseudomonas* і *Agrobacterium* використовують Trp-2-монооксигеназу для перетворення Trp в ІАМ, який потім гідролізується в ІАА. Trp-залежний шлях біосинтезу ІАА є найбільш відомим і вивченим шляхом, який

використовується в цьому процесі. Повідомлялося, що рослини також можуть синтезувати IAA через шлях IAM. Таким чином, ферменти амідази, які здатні гідролізувати IAM в IAA, були ідентифіковані в *A. thaliana*.

Це спостереження свідчить про те, що IAM може бути ключовим субстратом для біосинтезу IAA в рослинах. Крім того, надмірна експресія гена *IAM*, який кодує фермент триптофан-2-монооксигеназа, який бере участь у перетворенні Trp в IAM, збільшує вміст IAA і призводить до появи фенотипів з високим вмістом ауксину в рослинах, що призводить до підвищення подовження гіпокотилу при світлі, сильної розеткової епінастії листя та верхівкового домінування. Таким чином, рослини здатні перетворювати IAM в IAA, як було показано в дослідженнях *in vivo*, проведених з використанням *A. thaliana*. IAM, який є проміжним продуктом біосинтезу ауксину, також може бути виявлений у багатьох інших видів рослин, незалежно від того, чи є вони однодольними чи дводольними.

Шлях індол-3-піровиноградної кислоти (IPA) відбувається з використанням проміжного IPA, який є вирішальним для біосинтезу ауксину та розвитку рослин. Триптофан-амінотрансфераза *Arabidopsis 1* (TAA1) є членом амінотрансфераз, які можуть перетворювати триптофан в IPA. Ці ферменти були виявлені в багатьох рослинах. Це спостереження вказує на те, що цей шлях є висококонсервативним. Мутації в гені *TAA1*, який кодує цей білок, призводять до значного зниження рівня IAA. Таким чином, IPA-залежний біосинтез IAA є важливим шляхом для біосинтезу вільної IAA. Білок TAA1 належить до суперсімейства ферментів, які залежать від  $\alpha$ -класу PLP і виявляють активність Trp амінотрансферази, яка використовує L-Trp, але не D-Trp, як субстрат. Цей фермент також може реагувати з іншими амінокислотами, такими як L-фенілаланін, тирозин, лейцин, аланін, метіонін і глутамін.

Триптофан також може перетворюватися на TAM під дією цитозольної Trp декарбоксилази (TDC). TAM є протоалкалоїдом, який бере участь у ранній стадії біосинтетичного шляху, що впливає на терпеноїдні індольні алкалоїди.

					ДП БМО1.01.09 ПЗ			Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата			27	

Він бере участь у синтезі індолних алкалоїдів і серотоніну в багатьох рослинах. Однак члени TDC, ймовірно, не повністю сприяють біосинтезу IAA. Як показують спостереження, було показано, що надмірна експресія гена TDC у *Catharanthus roseus* створює підвищені рівні TAM, але не IAA, накопичення в тютюні (*Nicotiana tabacum*). Більше того, генетично модифіковані рослини рису з надлишковою експресією гена TDC показали типовий фенотип і містили рівні серотоніну, які були в 25 разів вищими в листі та в 11 разів вищими в насінні, ніж ті, які виявлені в їх еквівалентах дикого типу. У рисі TDC може брати участь у виробництві метаболітів, які є похідними TAM-індукуючого захворювання, відомого як ураження Секігучі, або накопичення серотоніну, який є добре відомим нейромедіатором у ссавців і сигнальною молекулою, присутньою в багатьох рослинах.

Інший можливий шлях синтезу IAA з Trp полягає в перетворенні індол-3-ацетальдоксиму в індол-3-ацетонітрил (IAN). У цій реакції аміноазот видаляється з триптофану шляхом гідролізу нітрилу з утворенням кислоти. Індол-3-ацетальдоксим (IAOX) є попередником шляху біосинтезу IAA та її кон'югатів, і він був запропонований як точка розгалуження між біосинтезом IAA та індол-3-метилглюкозинолату.

Дослідження мутантних ліній *A. thaliana* показують, що IAOX є ключовим проміжним продуктом, який бере участь у біосинтезі IAA. Ця сполука може бути перетворена в IAN шляхом усунення однієї молекули води. IAN згодом перетворюється на IAA сімейством нітрилаз. IAOX може бути гідролізований з утворенням індол-3-ацетальдегіду, а альдегід потім може бути перетворений в IAA за допомогою дії двох ферментів: альдегідоксидази (AO1) або альдегіддегідрогенази. AO1 є важливим ферментом для біосинтезу ауксину. Фермент AO1 виявляє субстратну специфічність до індол-3-ацетальдегіду, і на регуляцію активності цього ферменту не впливає високий рівень IAA. Однак рослинні мутанти, які не здатні здійснювати біосинтез молібдоптерину, який є важливим кофактором усіх альдегідоксидаз, не виявляли фенотипів, характерних для дефіциту ауксину. Цей результат

					ДП БМ01.01.09 ПЗ	Арк.
						28
Зм.	Арк.	№ док.м.	Підпис	Дата		

свідчить про те, що альдегідоксидази, ймовірно, не важливі для біосинтезу ауксину, як вважалося раніше [24].

### **Гіберліни**

Гібереліни (GA) – це фітогормони, які в першу чергу визначають висоту рослин. Перший гіберелін був виділений в Японії з гриба *Giberella fujikuroi*, на честь якого вони і отримали свою назву. Всі гібереліни є природними. Вони є ізопреноїдами з групи дитерпенів. Гібереліни – це велика група подібних речовин, і деякі з них є попередниками активних гормонів.

На відміну від активного ауксину, гібереліни зберігають активність у рослині, а також не спричиняють токсичності, тобто не є шкідливими для рослини навіть у високих концентраціях. Не існує певного ферментативного механізму деградації гіберелінів у рослинах, але вони можуть перетворюватися на неактивні форми, які утворюють кон'югати з вуглеводами. На біогенез гіберелінів впливає світло і контролюється фітохромом. Доведено, що їх синтез відбувається в кінчиках коренів або транспортується до них, а потім розподіляється базипетальним рухом, особливо транспіраційним струмом. Транспортування відбувається деревиною та лаком. Транспортування також може відбуватися акропетально, неполярно. Їхній рух часто орієнтований, незалежно від полярності, за джерелом ІАА. Гібереліни, ймовірно, виробляються в усіх органах рослин. Найвищі концентрації спостерігаються в місцях активного росту і в органах, що формуються. Регуляторні ефекти гіберелінів включають посилення апікального домінування разом з абсцизовою кислотою. Разом з АБК вони також індукують партенокарпію у безнасінних сортів виноградної лози і збільшують ягоди. Вони вказують на утворення квіток у фотоперіодично чутливих рослин, таким чином прискорюючи їх цвітіння і збільшуючи квітки. Вони пригнічують розвиток жіночих квіток і підтримують розвиток чоловічих квіток. Вони також запобігають старінню листя і плодів та стимулюють проростання насіння.

					ДП БМО1.01.09 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ док.м.	Підпис	Дата		29

Біосинтетичний шлях відбувається через певні проміжні продукти. Синтез GA здійснюється за допомогою терпенів з геранілгеранілдифосфату рослинами та грибами. Чотири молекули ізопреноїдів з'єднуються разом, утворюючи лінійну молекулу з 20 атомів вуглецю, відому як геранілгеранілдифосфат (GGPP). Ця молекула перетворюється на ент-копалілдифосфат під дією ент-копалілдифосфатсинтази (КПС), який, у свою чергу, перетворюється на тетрациклічну сполуку, відому як ент-каурен, під дією ент-кауренсинтази (КС). Ент-каурен оксидаза (КО) в рослинах і P450-4 у грибах каталізують поступове окислення енткаурена до C-19 з утворенням ент-каурінової кислоти, яка згодом під впливом оксидази каурінової кислоти (КАО) в рослинах і P450-1 у грибах перетворюється в GA12-альдегід. У рослинах GA12-альдегід спочатку перетворюється на GA12, а потім на GA9 під дією GA20-оксидази, яка відповідає за виробництво C19-GA. Паралельно відбувається 13-гідроксилювання GA12 з утворенням GA53, який під дією C20-оксидази перетворюється на GA20. Потім GA3-оксидаза перетворює GA20 і GA9, додаючи 3β-гідроксильну групу до GA1 і GA4, відповідно. GA3 синтезується шляхом перетворення GA20 в GA5 за допомогою GA3-оксидази.

Ця стадія варіює між видами і залежить від умов навколишнього середовища. У грибах GA12-альдегід 3β-гідроксилюється до GA14-альдегіду, який окислюється з утворенням GA14. Останній знову перетворюється на GA4 шляхом окислення C20. GA4 є першою біологічно активною молекулою, яка утворюється і денатурується з утворенням GA7, який потім перетворюється на GA3 шляхом 13-гідроксилювання. GA1 утворюється шляхом 13-гідроксилювання GA4. Шляхи біосинтезу в рослинах і грибах під час перетворення геранілгеранілдифосфату в енткаурен і подальшого перетворення в GA12-альдегід подібні. Шляхи відрізняються від стадії, на якій GA12-альдегід перетворюється на інші ГА, порядком проходження етапів 3β-гідроксилювання та 13-гідроксилювання в рослинах і грибах.

					<i>ДП БМО1.01.09 ПЗ</i>	Арк.
						30
Зм.	Арк.	№ док.м.	Підпис	Дата		

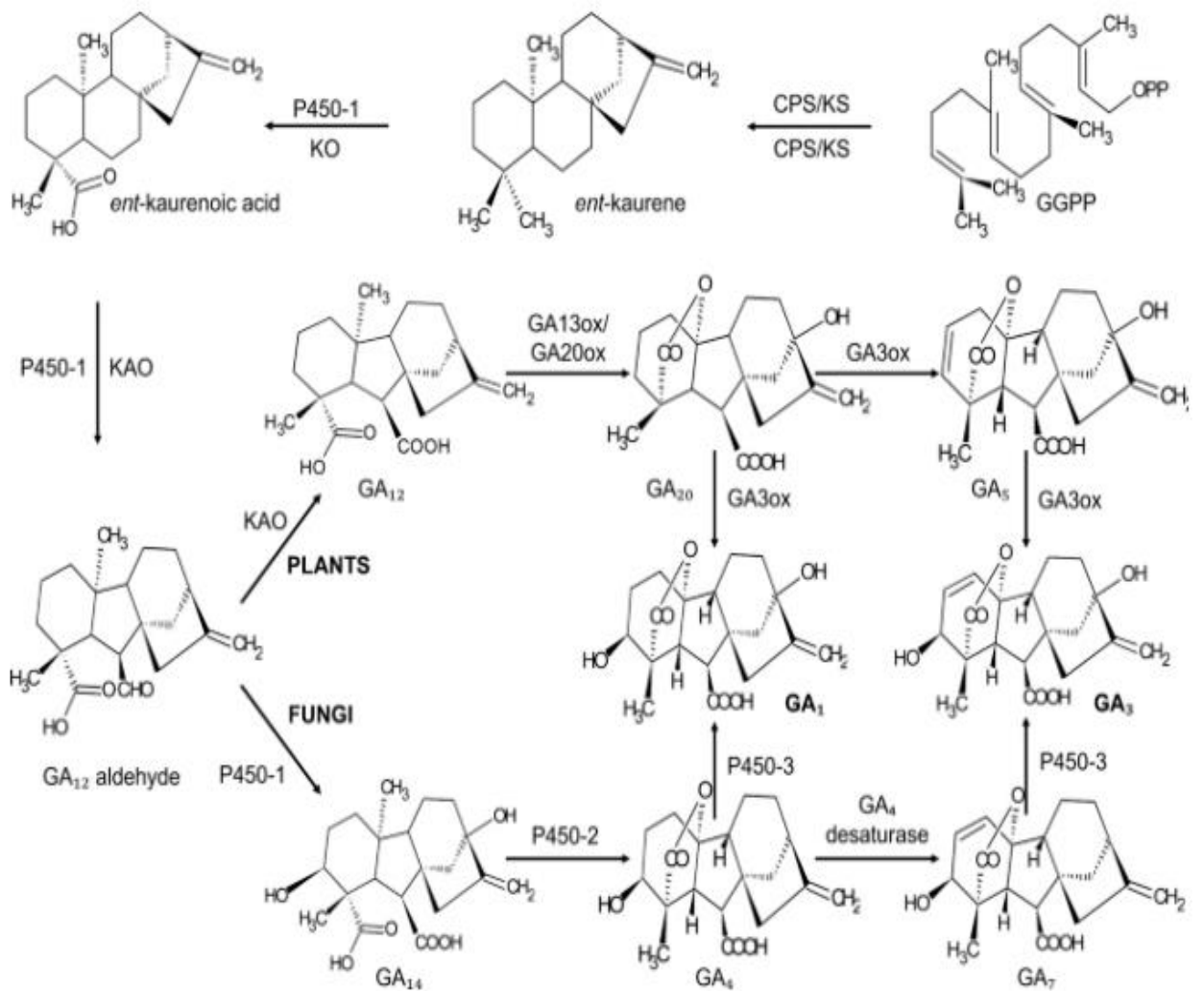


Рисунок 2.3 – Біосинтез гіберлінів в рослинах та грибах [25]

### Цитокініни

Цитокініни - це рослинні гормони, які є похідними пуринового аденіну. Було встановлено, що вони є абсолютно необхідними компонентами середовища, призначеного для вирощування рослинних клітин в культурі. Без цитокінінів рослинні клітини не можуть ділитися шляхом мітозу. Цитокініни відіграють ключову роль у багатьох процесах життєдіяльності рослин, часто у взаємодії з іншими гормонами, такими як ауксини або етилен.

Основні функції цитокінінів включають:

- індукція мітозу;
- розвиток хлоропластів;
- диференціація меристеми пагонів;

- стимуляція розвитку бічних бруньок і, відповідно, розгалуження;
- диференціація тканин кореня;
- формування листя;
- затримка старіння листя [26].

Цитокініни синтезуються в коренях, звідки транспортуються до пагонів тканинами ксилеми. Біосинтез пуринового типу цитокінінів вивчений краще, ніж інших типів. Різні компоненти пурину походять з декількох невеликих молекул, включаючи формілтетрагідро фолату, аспартату, CO<sub>2</sub>, глутаміну, гліцину та метилідинтетрагідрофолату. Біосинтез пуринового нуклеотиду (пуринова основа + цукор рибоза + фосфат) починається з рибозофосфату, а на ньому крок за кроком будується пуринове кільце. Першим нуклеотидом, який синтезується в цьому процесі, є інозинмонофосфат (ІМФ). Потім ІМФ перетворюється на гуанозинмонофосфат (ГМФ) (ГМФ) або аденозинмонофосфат (АМФ). Вільні цитокініни синтезуються з аденозин монофосфату (АМФ) та ізопентенілпірофосфату шляхом реакції конденсації в присутності ферменту ізопентенілтрансферази Утворений продукт – N<sub>6</sub> (Δ 2 ізопентеніл) аденозин 5'-монофосфат. Передбачається, що ця сполука є попередником усіх інших цитокінінів. Вважається, що в його молекулі міститься N 6 (Δ2-ізопентеніл)-аденозин 5' монофосфат перетворюється на N<sub>6</sub> (Δ2-ізопентеніл) – аденозин шляхом видалення фосфату фосфатазою і далі перетворюється на N<sub>6</sub> (Δ2-ізопентеніл) – аденін, який потім гідроксильється з утворенням вільного зеатину. Скорочення подвійного зв'язку в ізопентеніловому бічному ланцюзі зеатину призведе до утворення дигідрозеатину

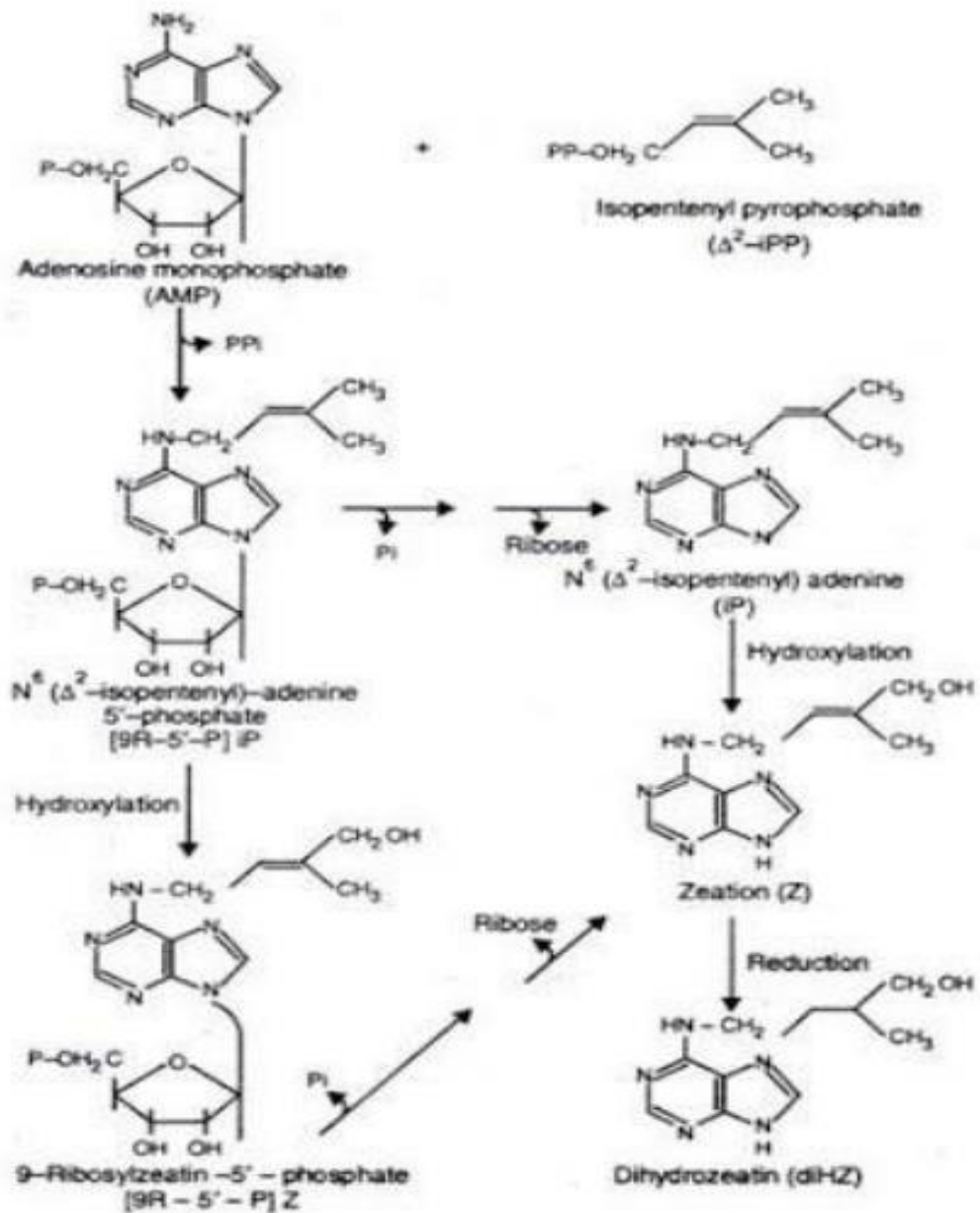


Рисунок 2.4 – Біосинтез природних цитокінінів, зеатину та дигідрозеатину з аденозинмонофосфату та ізопентенілпірофосфату [27]

### Абсцизова кислота

Абсцизова кислота (АБК) – це слабка кислота 15-С, яка була вперше ідентифікована на початку 1960-х років як інгібітор росту, що накопичується в плодах бавовнику, що осипаються («абсцизин II») і листках платана, що фотоперіодично спонукає перейти в стан спокою тих пір було показано, що АБК регулює багато аспектів росту й розвитку рослин, включаючи дозрівання ембріонів, стан спокою насіння, проростання, поділ і подовження клітин,

Зм.	Арк.	№ докum.	Підпис	Дата

ДП БМО1.01.09 ПЗ

Арк.

33

індукцію цвітіння та реакцію на екологічні стреси, такі як посуха, засолення, холод, атака патогенів та УФ-випромінювання. Однак, незважаючи на назву, АБК, здається, не контролює абцизію безпосередньо; наявність АБК в органах, що відпадають, відображає її роль у сприянні старінню та/або стресовим реакціям, процесам, які передують відриву. Хоча АБК історично вважався інгібітором росту, молоді тканини мають високий рівень АБК, а рослини-мутанти з дефіцитом АБК сильно відстають у рості частково через те, що їхня здатність зменшувати транспірацію та встановлювати тургор порушена, а також через надмірне виробництво етилену. Екзогенна обробка АБК мутантів відновлює нормальне розширення та ріст клітин [28].

АБК є повсюдним у рослинах. Він також виробляється деякими фітопатогенними грибами, бактеріями та метазоями, починаючи від морських губок і закінчуючи людьми. Хоча деякі аспекти передачі сигналів зберігаються в різних царствах, існує принаймні два біосинтетичні шляхи: гриби виробляють АБК безпосередньо з фарнезилпірофосфату, тоді як рослини синтезують його опосередковано з каротиноїдів. Як слабка кислота, АБК здебільшого незаряджена, коли присутня у відносно кислому апопластичному відділі рослин, і може легко проникати в клітини через плазматичну мембрану [29].

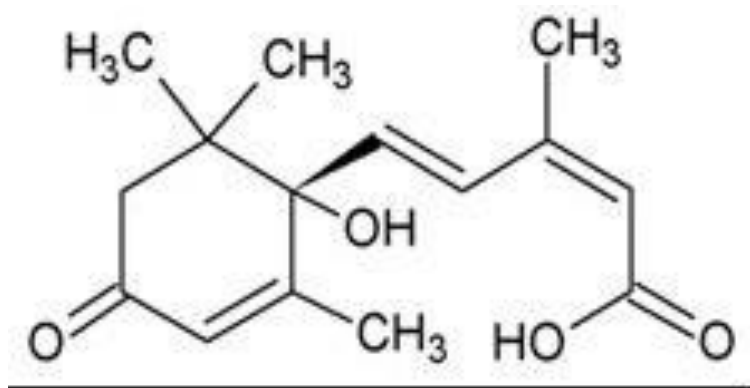


Рисунок 2.5 – Абсцизова кислота [30]

## 2.2 Характеристика кінцевого продукту

Кінцевим продуктом є препарат «Фертолан» – орґано-мікроелементний препарат з високим вмістом цинку [31].

У результаті вибраних рішень ми отримуємо препарат з модифікованою композицією продуктів життєдіяльності ендоефітних грибів штаму *Cladosporium cladosporioides* 495, виділено з коренів люпину білого сорту Либідь – екстракт у водно-спиртовому розчині комплексу ростових речовин та їх ефіри; полісахариди; амінокислоти; фітогормони цитокінінової, ауксинової, абсцизової та гіберлінової природи) і з живильного середовища. У препарат, в залежності від марки, додають згідно рецептурної закладки монокомпоненти, що містять цинк (табл.2.1 ).

Таблиця 2.1 – Характеристика кінцевого продукту

№	Найменування показника	Одиниця виміру	Норма	Фактично
1	Зовнішній вигляд	візуально	Рідина однорідна прозора	Рідина однорідна прозора
2	Колір	візуально	Безбарвний	Безбарвний
3	Запах	візуально	Слабкий, відповідає використаній сировині	Слабкий, відповідає використаній сировині
4	Густина за температури (20±1)°C	г/см <sup>3</sup>	0,950-0,970	0,965
5	Показник заломлення за температури (20±1)°C	Безрозмірні сна	1,340-1,360	1,352
6	Біологічна активність, не менше	%	20	20
7	Вміст сухого залишку	г/л	0-2	1,1
8	pH	-	6,5-7,5	7

Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата

ДП БМ01.01.09 ПЗ

Арк.

35

Фертолан застосовують у вигляді водного розчину разом з іншими препаратами, готуючи суміш безпосередньо перед використанням. Його доза при обробці насіння або посівів на гектар є незначною, тому важливо забезпечити рівномірне розчинення препарату в робочому розчині шляхом ретельного перемішування.

**Обробки насіння:**

*Передпосівна обробка насіння:* Обробка препаратом біолоном насіння зернових культур, цукрових буряків, кукурудзи, технічних та інших культур проводиться на насіннєвих і кукурудзяно-калібрувальних заводах, а також на фермах. Даний агротехнологічний захід проводиться відповідно до специфікацій кожної культури, з дотриманням правил безпеки та гігієнічних норм. Робота повинна бути виконана ефективно і швидко, щоб запобігти набуханню насіння та пошкодженню його оболонки.

*Позакоренева (листова) обробка:* Посіви обприскують водними розчинами регуляторів росту за допомогою штангових обприскувачів або авіатехніки. Найбільш ефективний час для внесення препарату – ранкові години до 10-11 і вечірні години після 17. Не рекомендується обприскувати посіви при швидкості вітру понад 4 м/с.

Обсяги водних розчинів препарату на гектар для польових культур визначаються інструкціями до обприскувачів.

Допускається збільшення концентрації робочого розчину на гектар при малооб'ємних обприскуваннях до 12-25 л/га і до 2,5 л/га при ультрамалій обробці.

Норми внесення для сільськогосподарських виробників:

- передпосівна обробка насіння всіх культур: 25 мл/т (робочого розчину - 10 л/т);
- картопля: 20 мл/т (робочого розчину - 20 л/т);
- обприскування посівів: 20 мл/га;

Норми внесення для приватного сектора:

					<i>ДП БМО1.01.09 ПЗ</i>	Арк.
Зм.	Арк.	№ док.м.	Підпис	Дата		36

- обприскування насіння: Розчиніть 0,25 мл (7-8 крапель) препарату в 100 мл води на 10 кг насіння. Обприскування проводиться перед висадкою в ґрунт;
- обприскування рослин: Розчиніть 0,2 мл (6 крапель) препарату в 3 л води на 1 сотку.

Технологія застосування проста і не вимагає додаткових витрат. Для підвищення ефективності рекомендується використовувати препарат в баковій суміші з пестицидами та елементами живлення [32].

					<i>ДП БМ01.01.09 ПЗ</i>	Арк.
<i>Зм.</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>		37

## РОЗДІЛ 3. ТЕХНОЛОГІЧНА ЧАСТИНА

### 3.1 Матеріали основні і допоміжні

Для виробництва препарату Фертолан необхідні специфічні компоненти, що забезпечують оптимальні умови для росту та розвитку продуцента. Одним з ключових елементів є мікроелементи, які додаються до поживного середовища, забезпечуючи необхідні поживні речовини для продуцента. Після завершення етапу біосинтезу, для виділення кінцевого продукту застосовують активоване вугілля та спирт. Також вносять додаткові мікроелементи. Основну та допоміжну сировину а також матеріали що застосовуються наведено в таблиці 3.1

Таблиця 3.1 – Основні та допоміжні матеріали для виробництва РРР Фертолан

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 Вода очищена питна	ДСТУ 7525-2014	Візуальні та органолептичні характеристики, рН	Приготування поживного середовища та м'яких розчинів
1.2 Д-глюкоза	ДСТУ 4464-2005	Розчинні у воді та відсутність кольорових залишків	Компонент ПС
1.3 Виннокислий амоній	ДСТУ 7274:2012	Масова частка виннокислого амонію $\geq 98\%$	Компонент ПС
1.4 Гліцерин	ДСТУ ISO 1614-2003	Масова частка гліцерину 10%	Компонент ПС

					<i>ДП БМ01.01.09 ПЗ</i>		
<i>Зм.</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ докум</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>			
<i>Разроб.</i>	<i>Косовець І.Р.</i>				Розділ 3 ТЕХНОЛОГІЧНА ЧАСТИНА  КПІ ім. Ігоря Сікорського ФБТ		
<i>Конс.</i>							
<i>Керівн.</i>	<i>Горго Ю.П.</i>						
					<i>Ст</i>	<i>Арк</i>	<i>Архивів</i>
					<i>Д</i>	<i>38</i>	<i>89</i>

Продовження таблиці 3.1

1.5 Залізо (II) сірчаноокисле 7-водне	ДСТУ 6281-94	Масова частка $\geq$ 97%	Компонент ПС
1.6 Магній сірчаноокислий 7-водний	CAS: 7487-88-9	Масова частка $\geq$ 96%	Компонент ПС
1.7 Калій сірчаноокислий	ДСТУ 7949:2015	Масова частка $\geq$ 98%	Компонент ПС
1.8 Мідь сірчаноокисла (II) 5-водна	ДСТУ 8056:2015	Масова частка $\geq$ 97%	Компонент ПС
1.9 Гептагідрат сульфату кобальту (II) 7-водний	CAS: 10026-24-1	Масова частка $\geq$ 96%	Компонент ПС
1.11 Хлорид кальцію	ДСТУ 7258:2012	Масова частка $\geq$ 95%	Компонент ПС
1.10 Борна кислота	ДСТУ 7863:2015	Масова частка $\geq$ 99%	Компонент ПС, Компонент готово продукту
1.11 Цинк сірчаноокислий	CAS: 7446-20-0	Масова частка $\geq$ 98%	Компонент ПС, Компонент готово продукту
1.12 Оксид цинку	CAS: 1314-13-2	Масова частка $\geq$ 96%	Компонент готово продукту
1.13 Калій йодистий	ДСТУ 7274:2012	Масова частка $\geq$ 99%	Компонент готово продукту
1.14 Амоній молібденовокислий	CAS: 57-11-4	Масова частка $\geq$ 98%	Компонент готово продукту
1.15 Марганець (II) хлористий 4-водний	CAS: 7773-01-5	Масова частка $\geq$ 96%	Компонент готово продукту
1.16 Спирт етиловий ректифікований	ДСТУ 4221:2003	Концентрація спирту $\geq$ 96%	Екстракція розчинником

Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата

ДП БМ01.01.09 ПЗ

Арк.

39

Арк.

Продовження таблиці 3.1

1.17 Вугілля активоване порошкоподібне	ДСТУ EN 12903:2004	Максимальний допустимий рівень вологи: 5%  Пористість матеріалу повинна бути не менше 0,8 см <sup>3</sup> /г	Адсорбція
1.18 Олеїнова кислота	ДСТУ 9082:2021	100% чиста олеїнова кислота без домішків та розведень.	Піногасник
2. Допоміжна сировина:			
2.1 Розчин хлораміну	CAS: 10599-90-3	Вміст хлораміну Б 3%	Для миття устаткування.
2.2 Мийний засіб	Відповідно до робочого регламенту	Згідно чинного НТД	Для миття устаткування.
3. Матеріали			
3.1 Комплекти одягу чоловічі та жіночі для чистих приміщень	ДСТУ 64-8-2000	Зовнішній вигляд, цілісність, міцність.	Захисний одяг для персоналу.
3.2 Вата медична нестерильна	ДСТУ EN 1041:2015	Відповідно ДСТУ	Підготовка посівного матеріалу
3.3 Марля медична	ДСТУ EN 14079:2009	Відповідно ДСТУ	Підготовка посівного матеріалу
3.4 Тара пластикова	ДСТУ EN 13974:2007	Зовнішній вигляд, ємність	Для транспортування
3.5 Лабораторний посуд	ДСТУ ISO 1042:2005	Зовнішній вигляд, розмір, форма, ємність, стійкість до тиску.	Підготовка посівного матеріалу

Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата

ДП БМО1.01.09 ПЗ

Арк.

40

### 3.2 Контроль виробництва

Перелік контрольних точок, що забезпечують виконання технологічного режиму, наведено у таблиці 3.2.

Таблиця 3.2 – Точки і параметри контролю виробництва

№ п/п	Найменування стадії процесу, місце заміру параметра або відбору проби	Параметр, що контролюється	Частота контролю	Норми технологічного режиму та допустимі відхилення	Метод контролю параметра, тип приладу
1.	ДР 1.2.1. Приготування 2% розчину хлораміну Б Кт 1.2.1.1. Кх 1.2.1.2. Розчин	Концентрація, температура	Після кожної операції	Концентрація 1-6% Температура $60\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5$	Візуально, мірний посуд, ваги, термометр
2.	ДР 1.2.2 Приготування розчину мийного засобу Кт 1.2.2.1. Кх 1.2.2.2. Розчин	Концентрація, температура	Після кожної операції	Концентрація визначається виробником Температура $60\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5$	Візуально, мірний посуд, ваги, термометр
3.	ДР 1.3.1. Щоденне прибирання Км 1.3.1.1. Приміщення	Кількість МО в $1\text{ м}^3$ повітря	Після кожної операції	500 клітин на $\text{м}^3$	Седиментаційний метод, к-сть колоній на чашці Петрі
4.	ДР 1.3.2. Генеральне прибирання Км 1.3.2.1. Приміщення	Кількість МО в $1\text{ м}^3$ повітря	Після кожної операції	500 клітин на $\text{м}^3$	Седиментаційний метод, к-сть колоній на чашці Петрі

Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата

ДП БМО1.01.09 ПЗ

Арк.

41

Продовження таблиці 3.2

1	2	3	4	5	6
4.	ДР 1.3.2. Генеральне прибирання  Км 1.3.2.1.  Приміщення	Кількість МО в 1 м <sup>3</sup> повітря	Після кожної операції	500 клітин на м <sup>3</sup>	Седимента- ційний метод, к-сть колоній на чашці Петрі
5.	ДР 1.4. Підготовка обладнання  Кт 1.4.1.	Тиск	Після кожної операції	0,05 МПа	Манометр
6.	ДР 2.2. Проходження через фільтр грубої очистки  Кт 2.2.1.	Якість очистки	Кожну операцію	КУО = 0,1	Седимента- ційний метод
7.	ДР 2.3. Проходження через фільтр грубої очистки  Кт 2.3.1.	Якість очистки	Кожну операцію	КУО = 10 <sup>-6</sup>	Седимента- ційний метод
8.	ДР 3 Дистиляція води Кт 3.1 Кмб 3.1	Температура, тиск	Кожну операцію	0,2 МПа, 15 хв, 110 °С	Термометр, манометр

Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата

ДП БМО1.01.09 ПЗ

Арк.

42

Продовження таблиці 3.2

1	2	3	4	5	6
9.	ДР 4.1. Підготовка ПС для колб Кт 3.1.1, Кт 3.1.2.	Температура, тиск	Кожну операцію	120 °С  0,011 МПа	Термометр  Манометр
10.	ДР 4.2. Підготовка ПС для ферментеру Кт 3.2.1.	Температура, тиск	Кожну операцію	120 °С  0,011 МПа	Термометр  Манометр
11.	ДР 5. Підготовка піногасника Кт 4.1., Кт 4.2.	Темпера- тура, тривалість	Кожну операцію	123°С,  30 хв	Термометр,  Годинник
12.	ДР 6.1 Підготовка розчину мінеральних компонентів Кт 6.1.1, Кт 6.1.2.	Кількість обертів, тривалість	Кожну операцію	30 хв  n = 40 об/хв	Годинник,  Тахометр
13.	ДР 6.2 Підготовка розчину цинку Кт 6.2.1, Кт 6.2.2	Кількість обертів, тривалість	Кожну операцію	30 хв  n = 40 об/хв	Годинник,  Тахометр

Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата

ДП БМ01.01.09 ПЗ

Арк.

43

Продовження таблиці 3.2

1	2	3	4	5	6
14.	ТП 7 Підготовка посівного матеріалу Кт 5.1. Кмб 5.2	Температура, контамінація культур	Під час процесу  Кожну добу	28°C  Відсутність контамінації	Термометр,  Візуально
15.	ТП 8. Виробничий біосинтез Кт 6.1 Кт 6.2 Кт 6.3 Кт 6.4 Кх 6.1 Кмб 6.1	Температура, Тиск в ферментері, Тиск в сорочці, Температура теплоносія, рН середовища,  Наявність контамінацій	Під час процесу	28 °C  0,012 МПа  6,5-7,5  Відсутність контамінацій	Датчик температури,  Манометр  рН-метр  Відбір проби
16.	ТП 7 Адсорбція продуктів метаболізму на активованому вугіллі  Кт 7.1., Кт 7.2.	Режим адсорбції.  Час, температура	Кожну операцію	8 год, 22 °C	Термометр,  годинник
17.	ТП 8 Концентрування біомаси на центрифугі  Кт 8.1.	Вологість осаду	Кожну операцію	≤ 97%	Спалювання в тиглі

Кінець таблиці 3.2

1	2	3	4	5	6
18.	ТП 9.1 Екстракція фугату Кх 9.1.1	Вміст спирту	Кожну операцію	40%	Ареометр
19.	ТП 9.2 Екстракція біомаси Кх 9.2.1.	Вміст спирту	Кожну операцію	70%	Ареометр
20.	ТП 10 Фільтрація Кт 10.1 Кт 10.2	Тиск в насосі, прозорість	Кожну операцію	$\leq 0,01$ МПа Прозора рідина	Манометр  Візуально
21.	ТП 11 Додавання мінеральних компонентів Кх 11.1. Кх 11.2. Кмб 11.1	Вміст спирту, вміст компонентів препарату, активність препарату.	Кожну партію	35% Відхилення $\leq 5\%$ Активність $\geq 20\%$	Ареометр  Ваги  Вплив на цільовий продукт
22.	ПМВ 12 Пакування Кт 12.1.	Регуляція розливу	Кожну партію	10 кг, 5 кг	Ваги

Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата

ДП БМ01.01.09 ПЗ

Арк.

45

### 3.3 Матеріальний баланс

Таблиця 3.3 – Матеріальний баланс виробництва

Використано					Отримано				
Ста- дія	Назва сировини, матеріалів та напівпродуктів	Одиниці вимірювання			Ста- дія	Назва сировини, матеріалів та напівпродуктів	Одиниці вимірювання		
		кг	шт	л			кг	шт	л
ТП 8	Вегетативний посівний матеріал з ТП 5			20	ТП 8	Культуральна рідина			351, 63
	Д-глюкоза	20,4				Втрати з виносом повітря (3%)			11,4 6
	Виннокислий амоній	0,68				Взяття проб (1%)			3,82 2
	Цинк сірчаноокислий	0,3				Втрати (4%)			15,2 88
	Мідь сірчаноокисла (II) 5-водна	0,136							
	Залізо (II) сірчаноокисле 7- водне	0,034							
	Магній сірчаноокисли й 7-водний	0,027							
	Калій сірчаноокислий	0,068							
	Сульфат (II) кобальту	0,003 4							
	Борна кислота	0,204							

Зм.	Арк.	№ док.м.	Підпис	Дата

ДП БМО1.01.09 ПЗ

Арк.

46

Продовження таблиці 3.3

	Гліцерин			0,3 4					
	Дистильована вода			34 0					
	Всього	382,2				Всього	382,2		
ТП 9	Культуральна рідина			35 1,6 3	ТП 9	Культуральна рідина			313,5
	Вугілля активоване порошкоподібне	0,703				Біомаса з активованим вугіллям (10%)	35, 23		
						Втрати (1%)	3,5 2		
	Всього	352,3				Всього	352,3		
ТП 10	Культуральна рідина			31 3,5	ТП 10	Культуральна рідина			331,1 5
	Біомаса з активованим вугіллям	35,23				Біомаса з активованим вугіллям (5%)	17, 6		
	Всього	348,73				Всього	348,73		
ТП 11.1	Культуральна рідина			33 1,1 5	ТП 11.1	Екстракт			409
	Спирт 96%			99, 3		Втрати (5%)			21,5
	Всього	430,5				Всього	430,5		

Зм.	Арк.	№ док.м.	Підпис	Дата

ДП БМО1.01.09 ПЗ

Арк.

47

Кінець таблиці 3.3

ТП 11. 2	Біомаса з активованим вугіллям	17,6			ТП 11.2	Екстракт			50,16
	Спирт 96%			35,2		Втрати (5%)			2,64
	Всього	52,8				Всього	52,8		
ТП 12	Екстракт			459	ТП 12	Екстракт фільтрату			344,25
						Втрати (25%)			114,75
	Всього	459				Всього	459		
ТП 13	Екстракт фільтрату			344	ТП 13	Готовий препарат			347,5
	Мінеральні компоненти			7		Втрати (1%)			3,51
	Всього	351				Всього	351		
ТП 14	Готовий препарат			347,5	ТП 14	Фертолан	69		345
	Тара		70			Втрати (1%)	1		3
	Всього	417,5				Всього	415		

### 3.4 Опис технологічної схеми

#### ДР 1 Санітарна підготовка виробництва

##### ДР 1.1 Підготовка персоналу

Перед початком роботи працівники зобов'язані одягати чистий санітарний одяг та ховати волосся під головний убір (хустинку, ковпак тощо), знімати прикраси та ретельно мити руки з милом і в подальшому їх дезінфікувати, забезпечувати постійний контроль за дотриманням гігієнічних

					<i>ДП БМ01.01.09 ПЗ</i>	Арк.
Зм.	Арк.	№ док.м.	Підпис	Дата		48

процедур протягом робочого дня; впроваджувати системи контролю за дотриманням гігієнічних норм та регулярний моніторинг виконання процедур, проводити аудити та перевірки для забезпечення відповідності стандартам санітарно-гігієнічної безпеки.

### **ДР 1.2 Підготовка дезінфекційних розчинів**

Мета операції: приготувати робочі розчини хлораміну Б та мийного засобу для забезпечення стерильності приміщень і апаратів, що будуть використовуватись для належної підготовки приміщень і апаратів виробництва

#### **ДР 1.2.1 Підготовка розчину хлораміну Б**

Здійснюється розбавлення концентрованого розчину хлораміну Б питною водою ( $t=60\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) в реакторі змішувачі Р-2 для отримання 3% дезінфекційного засобу з метою обробки приміщень.

#### **ДР 1.2.2. Підготовка розчину мийного засобу**

Здійснюється розбавлення вихідного мийного засобу з питною водою ( $t=60\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) в реакторі змішувачі Р-1 для отримання мийної суміші для обробки приміщень і обладнання перед початком роботи і після закінчення виробничого процесу.

### **ДР 1.3 Підготовка приміщень**

Приміщення, в якому проходять виробничі процеси повинно мати найвищий рівень чистоти.

Для забезпечення чистоти перед роботою приміщення обробляють протимікробними УФ-лампами, а також раз на тиждень приміщення обробляють парами формаліну, випарюючи 5 г на  $1\text{ м}^3$  приміщення. Поверхні у даному приміщенні миють перед кожною робочою зміною з використанням поверхнево активних речовин (ПАР). Також доцільна періодична обробка хлораміном Б щотижнево.

#### **ДР 1.3.1 Щоденне прибирання**

Відбувається кожного дня, на виробництві приміщення миються спершу мийним розчином, далі його змивають питною водою, потім обробляється

					<i>ДП БМО1.01.09 ПЗ</i>	Арк.
						49
Зм.	Арк.	№ докum.	Підпис	Дата		

розчином хлораміну для дезінфекції, розчин змивають питною водою. Відпрацьовані рідини відправляються на знешкодження відходів, операція триває 1 годину [12].

### **ДР 1.3.2 Генеральне прибирання**

Відбувається раз на 5 днів, або на вимогу технолога, на виробництві приміщення миються спершу мийним розчином, далі його змивають з питною водою, потім обробляється розчином хлораміну для дезінфекції, розчин змивають питною водою. Відпрацьовані рідини відправляються на знешкодження відходів, операція триває 6 годин.

### **ДР 1.4 Підготовка обладнання**

Після кожного робочого циклу відбувається підготовка апаратів до наступного.

Ферментери промивають теплою водою під тиском. Після цього разом із іншою апаратурою стерилізують гарячою насиченою парою  $t = 120$  °С. Перед стерилізацією парою ферментер вручну миють від залишків поживного середовища за участі ПАР, після чого ще раз промивають водою. Разом із ферментером водяну пару пропускають і через його комунікації. Надлишковий тиск – 0,15 МПа, тривалість процесу – 2 години.

Посуд у якому відбувається підготовка посівного матеріалу спочатку миють водопровідною водою з миючими засобами, а потім декілька разів промивають дистилятом, після чого сушать в сушильній шафі. Стерилізація посуду проводиться разом з поживними середовищем.

#### **ДР 1.4.1 Підготовка посуду**

Посуд у якому відбувається підготовка посівного матеріалу спочатку миють водопровідною водою з миючими засобами, а потім декілька разів промивають дистилятом, після чого стерилізують в автоклаві при тиску 0,05 МПа.

#### **ДР 1.4.2 Підготовка виробничого ферментера**

					<i>ДП БМ01.01.09 ПЗ</i>	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		50

Метою операції є миття і стерилізація посівного апарату Р-27 миючими засобами та гострою насиченою парою відповідно, для належного виконання ними роботи.

#### **ДР 1.4.2.1 Ополіскування виробничого ферментера водою**

Виконується операція для видалення матеріалів з посівного апарату Р-27 залишених після попереднього циклу роботи. Споліскування відбувається питною водою температурою 65 °С апарату, відпрацьовану воду на знешкодження відходів. Операція триває 10 хв.

#### **ДР 1.4.2.2 Миття виробничого ферментера мийним розчином**

Виконується операція для видалення матеріалів з посівного апарату Р-27 залишених після попереднього циклу роботи. Споліскування відбувається мийним розчином до апарату, відпрацьований розчин на знешкодження відходів. Операція триває 10 хв.

#### **ДР 1.4.2.3 Ополіскування виробничого ферментера водою**

Виконується операція для видалення залишків мийного розчину з посівного апарату Р-27. Споліскування відбувається питною водою температурою 65 °С апарату, відпрацьовану воду на знешкодження відходів. Операція триває 30 хв.

#### **ДР 1.4.2.4 Стерилізація виробничого ферментера**

Виконується стерилізація посівного апарату Р-27 гарячою насиченою парою  $t = 120$  °С під тиском 0,15-0,2 МПа протягом 30 хв, конденсат на знешкодження відходів.

#### **ДР 1.4.2.5 Перевірка на герметичність виробничого ферментера**

В апарат Р-27 компресують повітря до тиску 0,5 МПа від фільтра Ф-26. Протягом 30 хв це значення тиску повинно дотримуватись у межах допустимого коливання 5%, якщо умова виконується – апарат визнається герметичним і готовим до роботи.

### **ДР 2 Підготовка стерильного повітря**

#### **ДР 2.1 Первинна очистка та стиснення у компресорі**

					<i>ДП БМ01.01.09 ПЗ</i>	Арк.
						51
Зм.	Арк.	№ док.м.	Підпис	Дата		

Розчинність кисню набагато менша ніж розчинність вуглекислого газу і об'єми аерації повинні бути дуже великими для забезпечення киснем культури. Тому повітря з атмосфери перед подачею у виробничий ферментер необхідно стиснути.

Повітрязабірник Пз-3 забирає повітря з атмосфери. Перед стисненням у компресорі К-5 повітря повинно пройти базовий фільтр Ф-4, ефективність очистки = 80% для запобігання потрапляння пилу та інших можливих великих часток.

До температури культивування повітря доводиться за допомогою кондиціонера Кон-6. Пульсації повітря нівелюються на ресивері Р-7.

### **ДР 2.2 Проходження через фільтр грубої очистки**

Подальша очистка від мікробіологічних забруднень проводиться методом пропускання повітря через фільтри грубої очистки Ф-8. Ця конструкція є циліндром, що змазаний машинною олією. 10% мікробіологічних агентів пропускають, але це полегшує подальшу очистку.

### **ДР 2.3 Проходження через фільтр тонкої очистки**

Перед потраплянням безпосередньо у ферментер та трубопровід, повітря проходить через фільтри тонкої очистки Ф-26, які мають питому площу фільтрації  $200 \text{ м}^2/\text{м}^3$  і забезпечують рівень пропуску мікробіологічних агентів на рівні  $10^{-4}$ - $10^{-6}$  %, що є прийнятним для цього типу виробництва [12].

### **ДР 3 Дистиляція води**

Питна вода, яка пересувається через насос Н-9, потрапляє до стерилізаційного елементу Гф-10, де вона піддається процесу стерилізації за температури  $130^\circ\text{C}$  протягом 15 хвилин. Після цього стерилізована вода проходить через подвійну фільтрацію на двох вугільних фільтрах Фв-11 і Фв-12.

### **ДР 4 Приготування стерильного поживного середовища**

#### **ДР 4.1 Підготовка поживного середовища для колб**

					<i>ДП БМ01.01.09 ПЗ</i>	Арк.
Зм.	Арк.	№ докum.	Підпис	Дата		52

До складу основного рідкого поживного середовища (РПС) входять 10 інгредієнтів. В таблиці наведений склад поживного розчину на 1 літр (1 дм<sup>3</sup>) води.

Таблиця 3.4 – Склад рідкого поживного середовища.

Хімічні реактиви	Кількість реактиву, г/дм <sup>3</sup>
1. Д-глюкоза	60,0
2. Виннокислий амоній	2
3. Гліцерин	1
4. Цинк сірчаноокислий	0,88
5. Мідь сірчаноокисла (II) 5-водна	0,4
6. Залізо (II) сірчаноокисле 7-водне	0,1
7. Магній сірчаноокислий 7-водний	0,08
8. Калій сірчаноокислий	0,2
9. Сульфат (II) кобальту	0,01
10. Борна кислота	0,06

Всі компоненти поживного середовища зважують на аналітичних вагах. До культиваторів з посівним матеріалом додають трохи дистильованої води, інтенсивно перемішуючи до повного розчинення кристалів. Додають дистильовану воду до отримання необхідного об'єму поживного розчину, знову ретельно перемішуючи. Розчин розливають у колби Ерленмейєра об'ємом 1 дм<sup>3</sup> по 0,5 дм<sup>3</sup> на кожну. Колби з середовищем стерилізують в

автоклаві Ав-24 протягом 40 хвилин при 120-122°C та тиску 0,11 МПа (1,1 кгс/см<sup>2</sup>).

#### **ДР 4.2 Підготовка поживного середовища для ферментеру**

Для вирощування культур в ферментері Р-27 готують концентроване поживне середовище відповідно до складу, зазначеному в ДР-3.1.

В ферментер подають очищеної (дистильовану) воду із збірника З-14 через насос Н-15 та через люк заливають необхідний об'єм концентрованого розчину компонентів. Додають необхідний до розрахованого об'єм води. Коефіцієнт заповнення ферментера 0,6-0,7. Включають на кілька хвилин мішалку. Люк закривають і приступають до стерилізації поживного середовища.

Поживне середовище стерилізують при температурі (120 – 122)°С і тиску 0,11 МПа (1,1 кгс/см<sup>2</sup>) протягом 40 хвилин. Одночасно стерилізують всі під'єднані комунікації. Після закінчення стерилізації середовища в сорочку реактора закачують холодний теплоносій і охолоджують реактор до температури культивування.

#### **ДР 5 Підготовка піногасника**

Емульсію олеїнової кислоти піногасника стерилізують в спеціальному апараті Р-18 періодичної дії при температурі 123±2°C впродовж 30 хвилин максимум, щоб уникнути внесення з ним інфекції в середовище.

#### **ДР 6 Підготовка мінеральних компонентів**

##### **ДР 6.1 Приготування розчину мінеральних компонентів**

У ректор-змішувач Р-20 з обертанням мішалки 40 хв<sup>-1</sup> перекачують дистильовану воду через насос Н-15 та додають мінеральні компоненти та гомогенізують протягом 30 хв. Мінеральні компоненти, що додаються наведені у таблиці.

Таблиця 3.5 – Список мінеральних компонентів препарату «Фертолан»

					<i>ДП БМ01.01.09 ПЗ</i>	Арк.
Зм.	Арк.	№ докum.	Підпис	Дата		54

<b>Компонент</b>	<b>Кількість компонента, г/дм<sup>3</sup></b>
<i>Борна кислота</i>	<i>0,008</i>
<i>Калій йодистий</i>	<i>0,00006</i>
<i>Амоній молібденовий</i>	<i>0,0004</i>
<i>Марганець (II) хлористий 4-водний</i>	<i>0,005</i>
<i>Мідь сірчаноокисла 5-водна</i>	<i>0,0004</i>

### **ДР 6.2 Приготування розчину мінералів цинку**

У ректор-змішувач Р-22 з обертанням мішалки 40 хв<sup>-1</sup> з вбудованою сорочкою перекачують дистильовану воду через насос Н-15 та додають мінеральні компоненти цинку, гомогенізують протягом 30 хв при температурі 40 °С. Мінеральні компоненти, що додаються наведені у таблиці.

Таблиця 3.6 – Компоненти цинку

<b>Компонент</b>	<b>Кількість компонента, г/дм<sup>3</sup></b>
<i>Цинк оксид</i>	<i>100</i>
<i>Цинк сірчаноокислий</i>	<i>80</i>

### **ТП 7 Підготовка вегетативного посівного матеріалу**

Еталонна культура пересівається з твердого ПС в колби К-25 з рідким стерильним ПС. Для отримання інокуляту мікробіологічним гачком (лопаткою, шпателем) в стерильних умовах відбирають 50 мг культур з твердого зразка агаризованого середовища, переносять в колби Ерленмейера з рідким поживним середовищем, отриманим за ДР-4.1. Колби поміщають в термостатовану кімнату і культивують. Культивування продуцента:  $\tau=7-9$  діб,  $t = 25-28$  °С, денне освітлення, аерація струшуванням колб.

## **ТП 8 Виробничий біосинтез**

В стерильний ферментер Р-27 з 0,63 м3 поживного середовища вручну додають 17% від загального об'єму рідини в ферментері інокуляту з ТП 7. Культивування проводять протягом 9 діб при 28°C, 220 об/хв мішалки, рН 6,5-7,5 та аерації 0,63 л повітря на 1 л поживного середовища за хвилину. Для підтримки стерильних умов у ферментері створюють додатковий тиск 0,012 МПа.

## **ТП 9 Адсорбція продуктів метаболізму на активованому вугіллі**

Вміст ферментеру перекачують у реактор з механічними перемішувачами Р-29. За допомогою люка завантажують зважену кількість активованого вугілля, після чого залюковують реактор. Включають перемішувач (200 об/хв) на 6-8 годин для адсорбції продуктів метаболізму грибів-ендофітів на активованому вугіллі.

## **ТП 10 Концентрування біомаси на центрифугі**

Метою є концентрування біомаси для подальшої екстракції продуктів життєдіяльності гриба з культуральною рідиною для зменшення витрат спирту на інші препарати під час фільтрації та екстракції. Виконується на центрифугі Ц-30, культуральна рідина з біомасою подається по дозатору рідин, операція триває 5-10 хв при 4000 оборотів за хвилину. Фугат подається далі на екстракцію. Відділена біомаса також подається на екстрагування.

## **ТП 11 Спиртова екстракція**

### **ТП 11.1 Екстракція фугату**

Екстракція фугату з ТП-10 проводять в реакторі змішувачі Р-31 з частотою обертання мішалки 1000 об/хв в 40% розчині етилового спирту. Тривалість екстракції 6-8 годин.

					<i>ДП БМ01.01.09 ПЗ</i>	Арк.
Зм.	Арк.	№ док.м.	Підпис	Дата		56

## **ТП 11.2 Екстракція біомаси**

Екстракція біомаси з ТП-10 проводять в реакторі змішувачі Р-32 з частотою обертання мішалки 1000 об/хв в 70% розчині етилового спирту. Тривалість екстракції 6-8 годин. Відбувається десорбція БАР

## **ТП 12 Фільтрація**

Водно-спиртові розчини пропускають через нутч-фільтри Ф-33 та Ф-34, на якому створюється тиск (0,01 МПа) за допомогою вакуумного компресора.

## **ТП 13 Додавання мінеральних компонентів**

Профільтрований водно-спиртовий розчин з ТП 12 перекачують в реактор змішувач Р-39 з обертанням мішалки 40 хв<sup>-1</sup>. У реактор також додають розчини мінеральних компонентів та гомогенізують протягом 30 хв.

## **ПМВ 14 Пакування**

Препарат пакують за допомогою фасувальної машини у полімерні флакони по 10, 50, 100 і 250 см<sup>3</sup>, полімерні пляшки 1дм<sup>3</sup> та полімерні каністри по 5 і 10 дм<sup>3</sup>

Фасувальна машина включає автоматичний дозатор, який регулює кількість фасованого препарату. Фасований продукт потім розміщується в коробках.

Інформація на маркуванні повинна включати:

- Найменування продукту;
- Найменування та адресу виробника;
- Масу нетто або об'єм продукту;
- Дату виготовлення;
- Термін придатності;
- Умови зберігання;
- Код товару.

## **ЗВ 15 Знешкодження відходів**

Стадія включає наступні підстадії: знешкодження рідких відходів, знешкодження твердих відходів, знешкодження газоподібних викидів.

					<i>ДП БМО1.01.09 ПЗ</i>	Арк.
Зм.	Арк.	№ докum.	Підпис	Дата		57

### **ЗВ 15.1 Знешкодження рідких відходів**

До апарату направляють конденсат, стічні води тощо. Стічні води з рН-7 зливають у каналізацію.

### **ЗВ 15.2 Знешкодження твердих відходів**

Відпрацьований технологічний одяг (халати, рукавички, маски, чепчики), бракований лабораторний посуд та ватно-марлеві пробки знезаражують у 3% розчині хлораміну.

### **ЗВ 15.3 Знешкодження газоподібних викидів**

Відпрацьоване повітря очищається у патронних фільтрах. Очищене повітря відводять в атмосферу.

					<i>ДП БМО1.01.09 ПЗ</i>	Арк.
<i>Зм.</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>		58

## РОЗДІЛ 4 ПІДБІР ТА ХАРАКТЕРИСТИКА ОБЛАДНАННЯ

### 4.1 Технологічний, конструктивний, гідравлічний розрахунки

Вихідні дані

Номинальний об'єм,  $V_H, \text{м}^3$  0,63 ;

Температура середовища в апараті,  $t_c, \text{°C}$  28;

Коефіцієнт заповнення апарату,  $\varphi$  0,6;

Тиск,  $P, \text{МПа}$  0,012;

Тривалість змішування,  $\tau, \text{дїб}$  9;

Кількість мішалок,  $Z_M, \text{шт}$  1;

Частота обертання валу мішалки,  $n, \text{с}^{-1}$  3,667;

Тип мішалки лопатева;

Середовище поживне середовище;

Температура води в сорочці:

на вході,  $t_1, \text{°C}$  20;

на виході,  $t_2, \text{°C}$  26;

Теплоємність середовища  $C, \text{кДж/(кг} \cdot \text{град)}$  3461

Густина середовища,  $\rho, \text{кг/м}^3$  1463

Час нагріву  $\tau_H, \text{год}$  2.

Конструктивний розрахунок реактора

Мета – визначення розмірів апарату та його конструктивних елементів.

Робочий об'єм середовища:

$$V_p = V_H \cdot \varphi = 0,63 \cdot 0,6 = 0,378$$

					<i>ДП БМО1.01.09 ПЗ</i>			
<i>Зм.</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ докум</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>				
<i>Розроб.</i>		<i>Косоvecь І.Р.</i>			<i>Розділ 4 ПІДБІР ТА ХАРАКТЕРИСТИКА ОБЛАДНАННЯ</i>	<i>Ст</i>	<i>Арк</i>	<i>Аркушів</i>
<i>Конс.</i>						<i>Д</i>	<i>59</i>	<i>89</i>
<i>Керівн.</i>		<i>Горго Ю.П.</i>				<i>КПІ ім. Ігоря Сікорського ФБТ</i>		

Було обрано апарат з еліптичним днищем і еліптичною знімною кришкою (тип 0). За ГОСТ 20680–86 приймаємо внутрішній діаметр апарату:

$$D = 1 \text{ м}$$

Висота від бортової частини:

$$h_B = 0,04 \text{ м}$$

Оскільки еліптичні днища є стандартними виробами, то за ДСТУ 6533–78 знаходимо решту конструктивних розмірів днища апарату:

Внутрішня поверхня еліптичного днища :  $F = 1,21 \text{ м}^2$

Товщина стінки еліптичного днища :  $S_{\text{дн}} = 10 \text{ мм} = 0,014 \text{ м}$

Об'єм еліптичного днища :  $V_{\text{д}} = 0,162 \text{ м}^3$

Маса днища :  $m_{\text{дн}} = 137 \text{ кг}$

#### Розрахунок перемішуючого пристрою

Отримане значення округлюють до стандартного відповідно до ГОСТ 20680-75.

$$d_M = \frac{D}{1,6} = \frac{1}{1,6} = 0,625 \text{ м}$$

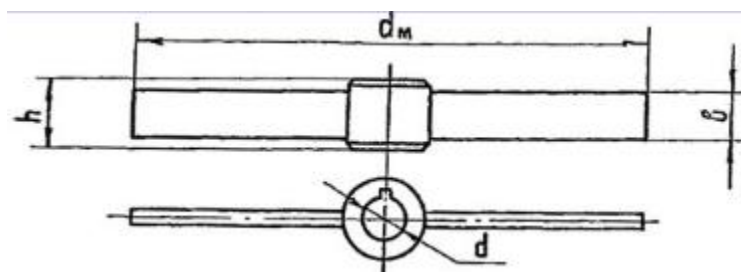


Рисунок 4.1 – Будова лопатевої мішалки

Відстань від днища реактора до мішалки

$$h = 0,4 \cdot d_M = 0,4 \cdot 0,625 = 0,25 \text{ м.}$$

Довжина лопатей:

$$l = 0,25 \cdot d_M = 0,25 \cdot 0,625 = 0,159 \text{ м.}$$

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

Мішалку обираємо згідно АТК 24.201.17-90 «Мішалки типи, параметри, конструкція, основні розміри та технічні вимоги»:

$$d_M = 0,63 \text{ м; } h = 70 \text{ мм; } S_1 = S = 8 \text{ мм, } b = 64 \text{ мм.}$$

					<i>ДП БМ01.01.09 ПЗ</i>	Арк.
Зм.	Арк.	№ док.м.	Підпис	Дата		60

Знаходимо висоту рідини в апараті:

$$H_p = \frac{V_p - V_{дн}}{0,785 \cdot D^2} + H_{дн} = \frac{0,378 - 0,162}{0,785 \cdot 1^2} + 0,04 + 0,25 = 0,565 \text{ м.}$$

Параметр висоти завантаження апарата реактора:

$$\gamma = 8 \cdot \frac{H_p}{D} + 1 = 8 \cdot \frac{0,56}{1} + 1 = 5,5$$

Визначаємо критерій Рейнольдса:

$$Re = n \cdot d_M^2 \cdot \frac{\rho}{\mu} = 3,66 \cdot 0,63^2 \cdot \frac{14363}{5,32 \cdot 10^{-4}} = 4 \cdot 10^6,$$

Параметр гідравлічного опору мішалки:

$$E = \frac{\gamma}{\xi_M \cdot z_M \cdot Re^{0,25}} = \frac{5,5}{0,86 \cdot 1 \cdot (4 \cdot 10^6)^{0,25}} = 0,144,$$

$z_M = 1$  – кількість мішалок. За графіком знаходимо для лопатевою відкритої мішалки  $\psi_1 = 0,2$  та  $B = 10$ .

Для лопатевою мішалки за графіком знаходимо  $K_N = 0,7$ .

Глибина воронки:

$$h_B = \frac{B \cdot n^2 \cdot d_M^2}{2} = \frac{10 \cdot 3,66^2 \cdot 0,63^2}{2} = 27 \text{ м}$$

Гранично допустима глибина воронки:

$$h_{гр} = H_p - h_1 = 0,56 - 0,252 = 0,313 \text{ м}$$

$h_B = 27 > h_{гр} = 0,313$  – в апараті потрібно встановлювати відбивні перегородки.

Товщина відбивної перегородки:

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

Розрахунок потужності перемішування

Потужність, що витрачається на перемішування:

$$N_p = K_N \cdot \rho \cdot n^3 \cdot d_M^5 = 0,7 \cdot 1463 \cdot 3,66^3 \cdot 0,63^5 = 5 \text{ кВт.}$$

$K_N = 0,7$  – критерій потужності.

Розрахунок потужності привода мішалки:

$C_3 = 0,18$  – коефіцієнт для лопатевою мішалки

					ДП БМО1.01.09 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докum.	Підпис	Дата		61

Діаметр валу:

$$d_B = C_3 \cdot d_M = 0,18 \cdot 0,63 = 0,113 \text{ м}$$

Для ущільнення валу мішалки обираємо торцьове ущільнення.

Потужність, що витрачається на тертя в ущільненні:

$$N_{\text{ущ}} = 10440 \cdot d_B^{1,3} = 10440 \cdot 0,113^{1,3} = 616 \text{ Вт,}$$

Коефіцієнт рівня рідини:

$$K_H = \sqrt{\frac{H_p}{D}} = \sqrt{\frac{0,56}{1}} = 0,75.$$

Потужність електродвигуна:

$$N_{\text{ел}} = \frac{K_n \cdot K_H \cdot \sum K_i \cdot N_p + N_{\text{ущ}}}{\eta} = \frac{1,15 \cdot 0,75 \cdot 1 \cdot 5 + 616}{0,6} = 8 \text{ кВт,}$$

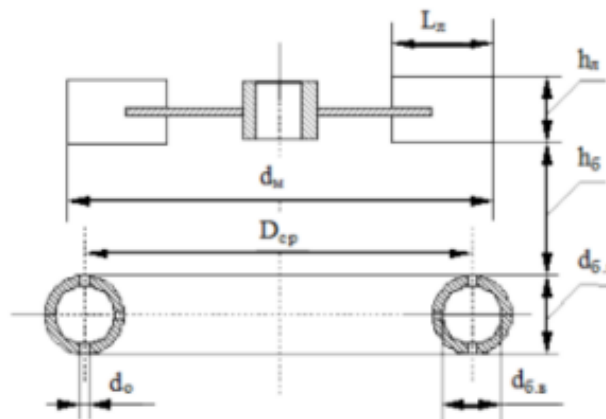
$K_n = 1,15$ - Коефіцієнт, що враховує наявність перегородок,

$\sum K_i = 1$ - якщо в реакторі встановлені гільзи для термопари.

Вибираємо двигун К 18/70 з номінальною потужністю  $N_H = 8$  кВт.

Розрахунок барботеру

Для процесу культивування обираємо барботер кільцевого типу, розміщений під мішалкою.



Висота перемішуючого пристрою над барботером:

$$h_6 = 0,25 \cdot d_M = 0,25 \cdot 0,63 = 0,158 \text{ м.}$$

Середній діаметр барботера:

$$D_6 = 0,5 \cdot d_M = 0,5 \cdot 0,63 = 0,315 \text{ м.}$$

Зм.	Арк.	№ док.м.	Підпис	Дата

ДП БМ01.01.09 ПЗ

Арк.

62

Діаметр отворів:

$$d_o = 0,005 \text{ мм}$$

Питома секунда витрата повітря:

$$V_c = \frac{1}{60} = 0,017 \frac{\text{м}^3}{\text{м}^3 \cdot \text{с}}$$

Для аерації даного об'єму необхідно:

$$V_{\text{заг}} = V_c \cdot V_a = 0,016 \cdot 0,1 = 1,1 \cdot 10^{-2}$$

Внутрішній діаметр труби барботера:

$$d_b = \sqrt{4 \cdot \frac{V_{\text{заг}}}{\pi \cdot w_6}} = \sqrt{4 \cdot \frac{1,1 \cdot 10^{-2}}{3,14 \cdot 25}} = 2,3 \cdot 10^{-2}$$

де  $w_6 = 25 \text{ м/с}$  - швидкість газу на виході з отворів барботера

За стандартом приймаємо  $d_b = 21 \text{ м}$ , товщину стінки  $s = 2 \text{ мм}$ .

Швидкість газу в отворах барботеру

$$w_o = 3,4 \cdot \sqrt{\rho_2 \cdot \frac{d_b}{\rho_{\text{пов}}}} = 3,4 \cdot \sqrt{1463 \cdot \frac{0,21}{1,3}} = 52 \frac{\text{м}}{\text{с}}$$

де  $\rho_{\text{пов}} = 1,3 \text{ кг/м}^3$  – густина повітря за температури культивування.

Загальна кількість отворів у барботері:

$$z_o = \frac{4 \cdot V_{\text{заг}}}{\pi \cdot d_o^2 \cdot w_o} = \frac{4 \cdot 1,1 \cdot 10^{-2}}{3,14 \cdot 0,005^2 \cdot 44} = 1,9$$

Кількість отворів 2:

Кількість отворів в одному ряду

$$z_p = \pi \cdot \frac{D_o}{t} = 3,14 \cdot \frac{0,315}{0,025} = 40$$

$t = 25 \text{ мм}$  – крок між отворами. Кількість рядів 40:

$$n_1 = \frac{z_o}{z_p} = \frac{2}{40} = 0,258$$

Приймаємо  $n_1 = 1 \text{ шт.}$

Тепловий розрахунок

					ДП БМО1.01.09 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		63

Метою теплового розрахунку є визначення необхідної площі теплообміну та перевірка, чи забезпечить стандартна площа теплообміну рубашки та кількість теплоти.

Розрахуємо потрібну кількість теплоти для нагрівання середовища

$$Q_1 = p_2 \cdot V_p \cdot C_{2p} \cdot t = 1463 \cdot 0,378 \cdot 3461 \cdot 28 = 5,36 \cdot 10^7 \text{ Дж.}$$

Теплота, що виділяється в результаті дисипації:

$$Q_3 = N_p \cdot \tau_n = 5011 \cdot 7200 = 3,6 \cdot 10^7 \text{ Дж}$$

Кількість теплоти, витраченої на нагрівання реактора та середовища:

$$\begin{aligned} Q_5 &= (p_2 \cdot V_p \cdot C_{2p} + m_a \cdot C_a) \cdot (t_c) \\ &= (1463 \cdot 0,378 \cdot 3461 + 230 \cdot 1463 \cdot 1^3 \cdot 500) \cdot (28) \\ &= 5,1 \cdot 10^7 \text{ Дж} \end{aligned}$$

$m_a = 230 \cdot p \cdot D^3$ , кг – маса реактора;

$C_a = 500 \frac{\text{Дж}}{\text{кг} \cdot \text{гр}}$  – питома теплоємність матеріалу, з якого виготовлений реактор.

Розрахуємо кількість теплоти на виході середовища:

$$Q_1 = Q_4 = 5,36 \cdot 10^7 \text{ Дж}$$

Тоді кількість теплоти, що віддається теплоносієм:

$$\begin{aligned} Q_2 &= Q_5 + Q_4 - Q_1 - Q_3 = 5,1 \cdot 10^7 + 5,36 \cdot 10^7 - 5,36 \cdot 10^7 - 3,6 \cdot 10^7 \\ &= 1,52 \cdot 10^7 \text{ Дж} \end{aligned}$$

Теплові втрати в навколишнє середовище прийнемо:

$$Q_6 = 0,1 \cdot Q_2 = 0,1 \cdot 1,52 \cdot 10^6 = 1,52 \cdot 10^6 \text{ Дж}$$

З врахуванням теплових витрат кількість теплоти, що віддається теплоносієм (Q):

$$Q = Q_2 - Q_6 = 1,52 \cdot 10^7 - 1,52 \cdot 10^6 = 1,36 \cdot 10^7 \text{ Дж}$$

Розрахунок площі поверхні теплообміну

В якості теплообмінного пристрою обрано сорочку, площа поверхні якої 2,5м<sup>2</sup>.

$$A = \left| \frac{t_c - t_1}{t_c - t_2} \right| = \left| \frac{28 - 20}{28 - 26} \right| = 4$$

					<i>ДП БМО1.01.09 ПЗ</i>	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		64

Середньологарифмічна різниця температур:

$$\Delta t_{cp} = \frac{t_2 - t_1}{\ln\left(\frac{t_c - t_1}{t_c - t_2}\right)} \cdot \frac{(A - 1)}{A \cdot \ln(A)} = \frac{26 - 20}{\ln\left(\frac{28 - 20}{28 - 26}\right)} \cdot \frac{(4 - 1)}{4 \cdot \ln(4)} = 2,3^\circ\text{C}$$

Середня температура води:

$$t_{cp} = \frac{t_1 + t_2}{2} = \frac{26 + 20}{2} = 23^\circ\text{C}$$

Температура стінки:

$$t_{ст} = \frac{t_{cp} + t_c}{2} = \frac{28 + 23}{2} = 25,5^\circ\text{C}$$

Критерій Прандтля для середовища

$$Pr = \frac{\mu_2 \cdot c_2}{\lambda_2} = 5,3 \cdot 10^{-4} \cdot \frac{3461}{0,37} = 4,93$$

Критерій Нуссельта визначаємо з критеріального рівняння:

$$Nu = 0,526 \cdot Re_c^{0,67} \cdot Pr_c^{0,33} = 0,526 \cdot (4 \cdot 10^6)^{0,67} \cdot 4,93^{0,33} = 2,36 \cdot 10^4$$

Коефіцієнт тепловіддачі від середовища у реакторі становить:

$$\alpha_1 = \frac{Nu \cdot \lambda_2}{D} = \frac{2,36 \cdot 10^4 \cdot 0,37}{1} = 8822 (\text{Вт/м}^2 \cdot \text{К}).$$

$\lambda_2$ - теплопровідність середовища при температурі 300С.

$$\beta = \frac{1}{273 + \Delta t_{cp}} = \frac{1}{273 + 2,34} = 3,63 \cdot 10^{-3}$$

Критерій Грасгофа:

$$Gr = \frac{[\beta \cdot (t_2 - t_{ст}) \cdot 9,81 \cdot H_p^3]}{\left(\frac{\mu_1}{\rho_1}\right)} = \frac{[3,63 \cdot 10^{-3} \cdot (28 - 25,5) \cdot 9,81 \cdot 0,56^3]}{\left(\frac{8,6 \cdot 10^{-4}}{996}\right)} = 1,86 \cdot 10^7$$

де  $\mu_1$  – в'язкість води

$\rho_1$  - густина води

Критерій Нуссельта:

$$Nu_2 = 0,15 \cdot (Gr \cdot Pr)^{0,33} = 0,15 \cdot (1,86 \cdot 10^7 \cdot 4,93)^{0,33} = 637$$

Коефіцієнт тепловіддачі від стінки апарата до води:

									ДП БМО1.01.09 ПЗ	Арк.
										65
Зм.	Арк.	№ докum.	Підпис	Дата						

$$\alpha_2 = \frac{Nu_2 \cdot \lambda_2}{H_p} = \frac{637 \cdot 0,63}{0,56} = 712 \frac{\text{Вт}}{\text{м}^2 \cdot \text{К}}$$

де  $H_p = 0,4\text{м}$  – висота рубашки.

$\lambda_2 = 0,63 \frac{\text{Вт}}{\text{м} \cdot \text{К}}$  – теплопровідність води.

Термічний опір стінки реактора:

$$\frac{\delta_{\text{ст}}}{\lambda_{\text{ст}}}, \frac{\text{м}^2 \cdot \text{К}}{\text{Вт}}$$

де  $\delta_{\text{ст}} = 0,02\text{ м}$  – товщина стінки реактора.

$\lambda_{\text{ст}} = 71 \frac{\text{Дж}}{\text{кг} \cdot \text{К}}$  – теплопровідність стінки реактора для нержавіючої сталі.

Коефіцієнт теплопередачі під час нагрівання реактора:

$$K = \frac{1}{\frac{1}{\alpha_1} + r_{\text{заб1}} + \frac{\delta_{\text{ст}}}{\lambda_{\text{ст}}} + r_{\text{заб2}} + \frac{1}{\alpha_2}} = \frac{1}{\frac{1}{8822} + \frac{1}{5800} + \frac{0,02}{17,5} + \frac{1}{2900} + \frac{1}{712}}$$

$$= 431 \frac{\text{Вт}}{\text{м}^2 \cdot \text{К}}$$

Розрахуємо необхідну поверхню теплообміну реактора:

Тоді площа поверхні теплообміну:

$$F = \frac{Q_2}{K \cdot \tau \cdot \Delta t_{\text{ср}}} = \frac{1,52 \cdot 10^7}{431 \cdot 7200 \cdot 2,34} = 2,08 \text{ м}^2.$$

$$F_{\text{д.}} = 2,5 \text{ м}^2.$$

Умова теплообміну виконується, оскільки:

$$F < F_{\text{д.}}$$

$$2,08 \text{ м}^2 < 2,5 \text{ м}^2.$$

Розрахована площа теплообміну, є меншою ніж стандартна, тобто забезпечує необхідну температуру у реакторі протягом його роботи без додаткових теплообмінників.

#### 4.2 Вибір загальнозаводського обладнання

У даній роботі розрахуємо насос, що використовується для подачі середовища до реактору.

					ДП БМО1.01.09 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докum.	Підпис	Дата		66

Вихідні дані:

Середовище поживне середовище;

густина,  $\rho$ , кг/м<sup>3</sup> 1463;

Висота напору,  $H$ , м 5;

Шорсткість поверхні труб:

$$\Delta = 0,0001 \text{ м.}$$

Відносна шорсткість каналу:

$$\varepsilon = \frac{\Delta}{0,089} = \frac{0,0001}{0,089} = 1,1 \cdot 10^{-3}.$$

$$\lambda = 0,11 \cdot \left( \varepsilon + \frac{68}{\text{Re}_2} \right)^{0,25} = 0,11 \cdot (1,1 \cdot 10^{-3} + 999615)^{0,25} = 0,02$$

Потужність:

$$N_n = V_p \cdot 9,81 \cdot H \cdot \rho_2 = 0,378 \cdot 9,81 \cdot 5 \cdot 1463 = 54,2 \text{ Вт}$$

,де  $H = 5$  м - напір

Потужність електродвигуна

$$N_{pe} = \frac{N_n}{\eta_n \cdot \eta_{п}} = \frac{54,2}{0,88 \cdot 0,98} = 63 \text{ Вт}$$

Де  $\eta_n = 0,88$ ,  $\eta_{п} = 0,98$  – коефіцієнти корисної дії (ККД) насосу та передачі від електродвигуна до насосу відповідно.

Висновок: встановлюємо консольний насос марки К 20/1, з наступною характеристикою:

- продуктивність – 0,0001 м<sup>3</sup>/с;
- напор – 5 м;
- номінальної потужності 1кВт [33].

## РОЗДІЛ 5. ОХОРОНА ПРАЦІ ТА ОХОРОНА ДОВКІЛЛЯ

### 5.1 Охорона праці

#### 5.1.1 Ідентифікація небезпек, оцінка та управління професійними ризиками на біотехнологічному виробництві

Задекларований Україною курс на перехід до ринкової економіки та інтеграцію з країнами ЄС вимагає від підприємств усіх форм власності впровадження європейських стандартів у всіх сферах діяльності, в тому числі й у сфері охорони праці. Досвід сучасних підприємств, які змінили свою політику безпеки праці відповідно до міжнародних стандартів, підтверджує, що це сприяє підвищенню кваліфікації співробітників в питаннях безпеки і знижує професійні ризики, травми і захворюваність. Для того, щоб впровадити міжнародні стандарти охорони праці в Україні, в першу чергу, необхідно розробити нормативно-правові акти, що забезпечать функціонування системи управління охороною праці (СУОП) відповідно до вимог цих стандартів.

Діюча СУОП підприємства «Агробіотех» базується на системно-процесному підході, тобто відповідно до стандарту ISO45001:2019 Occupational Health and Safety Management System [34] та згідно з нормативними документами виробництва підприємства вона охоплює всі завдання з охорони праці, що визначаються комплексом діяльності, і побудована на основі вирішення цих завдань за допомогою управління.

З метою формування ризикорієнтовної системи управління охороною праці (СУОП) в «Агробіотех» впроваджено ідентифікацію небезпек, оцінку та управління професійними ризиками у сфері охорони праці. Здійснення оцінки професійних ризиків спрямоване на реалізацію процесу постійного:

– виявлення небезпек, які існують або нових небезпек, які можуть виникнути під час виробничої діяльності, та моніторинг раніше виявлених небезпек;

					<i>ДП БМ01.01.09 ПЗ</i>			
<i>Зм.</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ докум</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>				
<i>Разроб.</i>		<i>Косовець І.Р.</i>			<i>Розділ 5 ОХОРОНА ПРАЦІ ТА ОХОРОНА ДОВКІЛЛЯ</i>	<i>Ст</i>	<i>Арк</i>	<i>Аркуші</i>
<i>Канс.</i>						<i>Д</i>	<i>68</i>	<i>89</i>
<i>Керівн.</i>		<i>Горго Ю.П.</i>				<i>КПІ ім. Ігоря Сікорського ФБТ</i>		

– визначення ймовірності небезпеки та оцінювання можливих наслідків впливу на працівників;

– управління професійними ризиками для мінімізації їх критичності.

Ідентифікація небезпек, оцінка та управління професійними ризиками у сфері охорони праці проводиться:

– за видом роботи;

– на робочому місці.

Проведення ідентифікації небезпек, оцінки та управління професійними ризиками базується на методі «матриці наслідків/ймовірностей» відповідно до ДСТУ ІЕС/ISO 31010 [35].

Рекомендується використовувати отримані результати оцінки професійних ризиків під час:

– навчання, проходження інструктажів з охорони праці, стажування працівників та інформування їх про результати оцінки професійних ризиків на робочих місцях;

– складання технологічних карт;

– підготовки проектів робіт, які необхідно виконати;

– оновлення інструкцій з охорони праці та інструкцій з експлуатації обладнання, устаткування, пристроїв тощо;

– під час складання планів (виробничих, роботи з охорони праці);

– створення заходів щодо поліпшення умов праці;

– аналізу причин, які призводять до нещасних випадків на виробництві.

Ідентифікація, оцінка та контроль професійного ризику на підприємстві «Агробіотех» включає наступні етапи (таблиця 5.1):

Таблиця 5.1 –Етап ідентифікації небезпек, оцінки та управління професійними ризиками

					<i>ДП БМО1.01.09 ПЗ</i>	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		69

Етап	Назва етапу	Відповідальні за виконання	Фіксація результатів етапу	Наступний етап
1	Створення Комісії з ідентифікації небезпек та оцінки професійних ризиків (Комісія)	керівник підрозділу, де проводиться оцінка професійних ризиків	– наказ по підрозділу; – протокол результатів засідання Комісії	2
2	Ідентифікація небезпек та визначення власника небезпеки	Комісія	– картка професійних ризиків; – реєстр професійних ризиків	3
3	Оцінка професійних ризиків	Комісія	– картка професійних ризиків; – реєстр професійних ризиків	4
4	Управління професійними ризиками	– Комісія; – керівництво підрозділу	– картка професійних ризиків; – реєстр професійних ризиків	5
5	Моніторинг небезпек	– керівництво підрозділу; – служба охорони праці підрозділу; – працівники, які виконують роботи, де проводилася оцінка ризиків	– акти перевірок стану охорони праці; – звернення працівника; – аналіз виробничого травматизму; – тощо.	3

Оцінка професійного ризику та управління ним проводяться індивідуально для кожної виявленої небезпеки.

Для проведення ідентифікації небезпек, оцінки та управління професійними ризиками на підприємстві створена постійно діюча комісія з ідентифікації небезпек та оцінки професійних ризиків (далі – Комісія).

					<i>ДП БМО1.01.09 ПЗ</i>	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		70

Ідентифікація небезпеки проводиться з виявлення джерел, ситуацій або дій, які можуть завдати шкоди працівнику чи призвести до погіршення стану його здоров'я під час виконання ним поставлених завдань.

Джерела і заходи, які можуть бути використані для виявлення небезпек на конкретній роботі або робочому місці:

- наслідки розслідування нещасних випадків, що сталися під час виконання цих робіт, або наданих (аналогічних) робіт;
- наслідки сертифікації цих робочих місць відповідно до умов праці;
- аналіз інформації, представленої при реєстрації професійних ризиків, пов'язаних з виконанням цих обов'язків або небезпек, що існують на цих (аналогічних) робочих місцях;
- результати перевірки стану охорони праці на цих робочих місцях;
- результати (внутрішнього / зовнішнього) аудиту захисту працівників при виконанні цих робіт або на цих (аналогічних) робочих місцях;
- аналіз вимог до безпечного обслуговування та експлуатації обладнання, машин і механізмів на робочому місці, а також вимог нормативних правових актів, що стосуються безпеки праці;
- проведення перевірки на робочому місці і контролю співробітників під час роботи;
- спілкування з працівниками, які беруть участь у цих роботах, про потенційні небезпеки, виявлені під час виконання виробничого процесу;
- перевірка обладнання, інструментів та матеріалів, що використовуються в цих процесах або в цьому (подібному) робочому місці. Аналіз їх придатності відповідно до інструкцій виробника;
- застосування інформації, отриманої в результаті попередніх оцінок професійного ризику;
- моделювання ситуацій, в яких співробітники та інші особи можуть піддаватися ризику;
- використання інших ресурсів (Інтернет, обмін досвідом з іншими співробітниками, які беруть участь в оцінці професійних ризиків);

					<i>ДП БМО1.01.09 ПЗ</i>	Арк.
						71
Зм.	Арк.	№ докum.	Підпис	Дата		



- небезпеки, які явно існують;
- потенційні небезпеки (небезпеки, які можуть виникнути за певних обставин);
- приховані небезпеки (можуть бути виявлені шляхом більш детального аналізу);
- небезпеки розслідування (наприклад, вони можуть виникнути в результаті виникнення іншої небезпеки).

Після проведення оцінки професійного ризику та визначення категорії важливості проводиться управління професійним ризиком (вибір та застосування відповідних заходів) для зниження категорії важливості цього ризику.

Першочергово необхідно управляти істотними та помірними професійними ризиками. Управління професійним ризиком реалізується відповідно до ДСТУ ISO Guide 73:2013 Керування ризиком. Словник термінів (ISO Guide 73:2009 IDT) шляхом [36]:

- зміна ймовірності виникнення небезпеки;
- зміна серйозності наслідків впливу небезпеки;
- зміна ймовірності і серйозності наслідків впливу небезпеки;

При виборі заходів з управління професійними ризиками слід враховувати наступні ієрархії і докладати зусиль для зниження ступеня професійного ризику (від більш ефективних заходів):

- повне усунення небезпек: видалення небезпечного устаткування (обладнання, пристроїв тощо), заміна шкідливих речовин нешкідливими; змінити технологію роботи для усунення певних небезпек;
- зниження величини професійного ризику, пов'язаного з небезпекою: зміна технічних процесів (використання менш шкідливих матеріалів, зниження рівня напруги; заміна обладнання, устаткування з більш низьким рівнем небезпеки, шкідливості); заміна існуючих небезпек на інші і зі зниженою категорією небезпеки;

– запобігання контакту співробітників з небезпеками: виведення співробітників з небезпечних зон або використання відповідних технічних рішень (вентиляція ,огорожа, установка ізоляції);

– використання системи для безпечного виконання робіт: використання системи для візуалізації інформації про небезпеку (знаки та позначки безпеки, попереджувальні плакати), використання системи для безпечного виконання робіт;

– застосування захисного спорядження: використання колективного та індивідуального захисного спорядження.

### **5.1.2 Заходи з охорони праці на біотехнологічному виробництві**

Охорона праці на біотехнологічному виробництві є невід’ємною складовою частиною виробничого процесу. Вона включає в себе систему правових, соціально-економічних, організаційних, технічних, санітарно-гігієнічних, лікувально-профілактичних заходів, спрямованих на запобігання впливу шкідливих і небезпечних виробничих факторів на працівників. [37].

Діяльність з охорони праці на підприємстві «Агробіотех» спрямована на створення безпечних і здорових умов праці, запобігання виробничому та невиробничому травматизму, професійним захворюванням і аваріям, неухильне дотримання вимог Закону України «Про охорону праці». З цією метою на підприємстві створена та функціонує служба охорони праці. Служба охорони праці, як одна з основних виробничо-технічних служб та підпорядковується безпосередньо керівнику підприємства.

Психофізіологічні фактори трудового процесу можуть бути пов’язані як з фізичним перевантаженням, так і з нейропсихологічними. Таким чином, лише підтримка цих двох компонентів на правильному рівні може захистити фізичне та емоційне здоров’я працівників. Відповідальність і контроль за дотриманням санітарних норм і правил техніки безпеки на підприємстві несе служба охорони праці.

					<i>ДП БМО1.01.09 ПЗ</i>	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		74

Служба охорони праці здійснює постійний контроль за організацією робіт із забезпечення безпечної експлуатації машин, механізмів та іншого устаткування підвищеної небезпеки. Її основними завданнями є: функціонування ефективної комплексної системи управління охороною праці та сприяння вдосконаленню діяльності окремих структурних підрозділів і працівників у цій сфері; оперативне та методичне керівництво роботою з охорони праці на підприємстві; організація виконання профілактичних заходів.

Один з основних видів профілактичної роботи, яка проводиться на підприємстві «Агробіотех», є навчання та перевірка знань з питань охорони праці. З метою запобігання та зменшення виробничого травматизму та усунення ризику для здоров'я, працівникам на підприємстві відповідно до чинного законодавства проводяться інструктажі та перевірка знань з питань охорони праці [38]. Відповідно до «Положення про проведення навчання та перевірки знань з питань охорони праці» всі працівники підприємства проходять перевірку знань з охорони праці не рідше як один раз на 3 роки.

До роботи на підприємстві допускається персонал, який пройшов інструктажі, навчання, та пройшов перевірку знань з охорони праці та пожежної безпеки. З метою зменшення ризику настання нещасних виробничих випадків на всіх робочих місцях розміщені Інструкції з охорони праці та пожежної безпеки, які є обов'язкові до виконання.

РРР «Фертолан» – пожежонебезпечний препарат, що обумовлено використанням спирту етилового, який є легкозаймистою речовиною, тому при виконанні робіт працівники повинні дотримуватися «Правил пожежної безпеки в Україні» [39]. З метою протипожежної безпеки приміщення, де проводиться робота з «Фертоланом» повинні бути забезпечені вогнегасниками та іншими первинним засобами пожежогасіння. Працівники повинні бути ознайомлені з порядком евакуації з приміщення під час пожежі, а також пройти навчання щодо застосування первинних засобів пожежогасіння [40].

					<i>ДП БМО1.01.09 ПЗ</i>	Арк.
						75
<i>Зм.</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ док.м.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>		

Персонал, який задіяний у виробничому процесі регулятору росту рослин «Фертолан», повинен знати особливості технологічного процесу, властивості речовин, що застосовуються у виробництві, заходи безпеки при роботі з ними, та вміти надавати першу долікарську допомогу постраждалим при нещасному випадку [41].

Крім того, компоненти поживного середовища можуть бути небезпечними для здоров'я при контакті зі шкірою, при попаданні в організм людини або при неправильному використанні миючих засобів. Високий ризик становлять також антисептичні УФ лампи та інше виробниче обладнання, таке як центрифуги, вакуумні фільтри, сушильні шафи, автоклави та їхні комунікації. Травми працівників можуть виникнути через порушення норм і правил безпеки під час транспортування сировини, напівфабрикатів і готової продукції на промислових підприємствах. Щоб мінімізувати ризик, важливо, щоб співробітники пройшли належну підготовку, використовували належні засоби індивідуального захисту та дотримувалися всіх стандартів безпеки.

Мікробіологічні фактори дуже небезпечні для галузей біотехнологічної промисловості, так як вони можуть бути викликати хвороби працівників підприємств та уражати бактерії продуцентів. На виробництві препарату небезпечними є різні контамінуючі організми, плісняві гриби, бактерії і т.д. Їх негативний вплив може виникнути при взаємодії з сировиною або при забрудненні повітря мікроорганізмами. При проведенні робіт з вирощування чистих грибкових культур на поживному середовищі необхідно дотримуватися вимог біологічної безпеки по ДСТУ 7748:2015.99 [42].

Для запобігання ризиків ушкодження при виробництві РРР «Фертолан» працівники повинні дотримуватись вимог техніки безпеки а саме:

- роботи при виробництві препарату необхідно проводити в спецодязі і індивідуальних засобах захисту згідно з чинною нормативною документацією;
- під час роботи забороняється палити, пити воду, вживати їжу на робочому місці;

- при випадковому попаданні препарату у шлунок необхідно промити шлунок, дати сольові послаблюючі препарати;
- після роботи необхідно вимити забруднені ділянки тіла з милом;
- до роботи з препаратом не допускаються особи з хронічними захворюваннями органів дихання, схильні до алергічних реакцій, вагітні жінки та годуючі матері;
- у виробничих приміщеннях передбачені засоби пожежогасіння;
- обладнання захищене від статичної електрики;
- виробничі приміщення мають приточну і витяжну вентиляцію;
- всі ремонтні роботи проводяться з дотриманням правил безпеки, проведення ремонтних робіт у виробництві згідно відповідних інструкцій;
- сировину, включаючи неорганічні та органічні речовини для приготування поживного середовища та комплексу мікроелементів, а також активоване вугілля, зберігають на складі відповідно до інструкцій щодо зберігання хімічних речовин. Етиловий спирт зберігається у спеціально відведеному приміщенні, яке відповідає всім вимогам та стандартам для зберігання етилового спирту.

### 5.1.3 Розрахунок природного освітлення у виробничому приміщенні

Освітлення приміщень промислових підприємств має значний вплив на стан здоров'я, продуктивність праці, якість продукції та рівень частоти нещасних випадків на виробництві. Організація якісного освітлення на робочих місцях, в переробних і виробничих приміщеннях має велике санітарно-гігієнічне значення, що сприяє підвищенню продуктивності праці, зниження травматизму і підвищенню якості продукції. Навпаки ж, недостатнє освітлення ускладнює виконання технічних операцій і може призвести до нещасних випадків і захворювань органів зору.

Основні вимоги до освітлення:

- бути рівномірним і досить сильним;

					<i>ДП БМО1.01.09 ПЗ</i>	Арк.
Зм.	Арк.	№ док.м.	Підпис	Дата		77



$r_1$  – коефіцієнт, що враховує підвищення КПО при бічному освітленні за рахунок світла, відбитого від поверхонь приміщення та підстелюючого шару прилеглого до будівлі;

3. Розраховуємо кількість вікон:

$$n = \frac{S_e}{S_1} = \frac{35}{8} = 4 \text{ вікна.}$$

Отже виходячи з розрахунків, для оптимального та рівномірного освітлення нашого приміщення необхідно наявність 4 вікон, що відповідає вже існуючому плануванню приміщення.

## 5.2 Охорона довкілля

Одним з найважливіших питань сучасності є питання охорони навколишнього середовища. Викиди промислових підприємств, енергосистем, транспорту в повітря, водойми і надра досягають таких показників, при яких рівень забруднення в сучасному розвитку значно перевищує санітарні норми. Особливо небезпечно забруднення атмосфери і гідросфери.

Вступ України до міжнародного співтовариства вимагає впровадження ринкових методів управління як для економіки, так і для окремих підприємств і організацій, знання і дотримання сучасних єдиних норм і правил у сфері природоохоронної діяльності, впровадження методів управління, орієнтованих на навколишнє середовище.

На шляху прямування до Європейського союзу особливо важливо відповідати європейському законодавству, тому перед підприємство «Агробіотех» на даний час стоїть завдання інтегруватися та створити якісну систему управління на підприємстві що відповідатиме сучасним вимогам, зокрема і поводженню та утилізації відходів.

Основними джерелами забруднення навколишнього середовища відходами біотехнологічного виробництва є: стічні води; викиди в атмосферу парів шкідливих речовин та тверді відходи.

В процесі виготовлення «Фертоплану» утворюються відходи, що не є

					ДП БМО1.01.09 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		79

небезпечними. Відповідно до нового Закону України «Про управління відходами» [43] на підприємстві «Агробіотех» запроваджено якісну систему поводження з відходами, що дає можливість зменшити обсяги утворення відходів, використовувати матеріали, які можливо в подальшому повторно використовувати та відправляти їх на рециклінг.

Рециклінг – операція з відновлення, у результаті якої відходи переробляються у продукцію, матеріали або речовини для їх використання за первинною або іншою метою. Ця робота передбачає переробку органічних матеріалів, але не включає виробництво енергії або переробку відходів у матеріали, які можна використовувати як паливо або наповнювач.

Також на підприємстві запроваджено роздільне збирання відходів – збирання відходів окремо залежно від їх виду, характеристики та складу у спосіб, що сприятиме їх подальшому обробленню та зменшенню негативного впливу на навколишнє середовище.

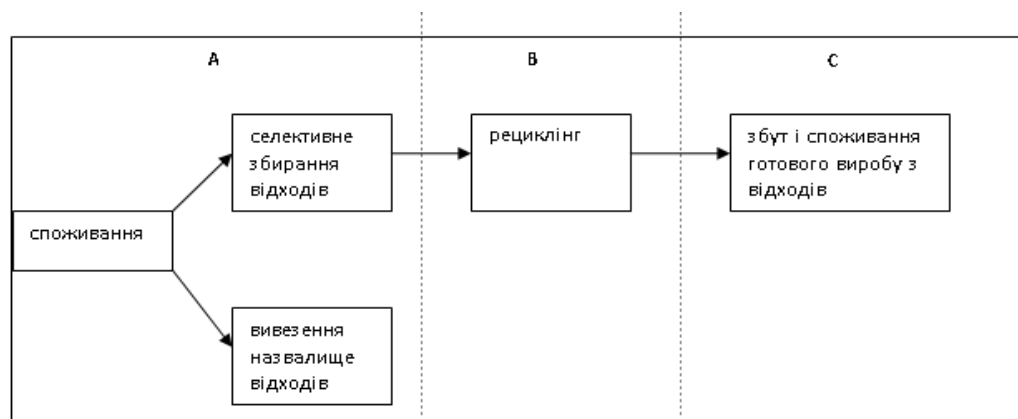


Рисунок 5.1 – Схема процесу рециклінгу

Підприємство «Агробіотех» побудувало ефективну систему екологічного менеджменту шляхом впровадження міжнародного стандарту ISO 14001, що є найвідомішим і найуспішнішим міжнародним стандартом, який встановлює вимоги до системи екологічного менеджменту [44].

Саме тому на підприємстві функціонує замкнутий цикл системи водопостачання і очистки стічних вод, на виходах відпрацьованого повітря встановлені фільтри-сорбенти.



Рисунок 5.2 – Система водопостачання з багаторазовим використанням відпрацьованої води

Основне завдання в області охорони навколишнього середовища – поліпшити і вдосконалити технологічний процес, щоб зменшити викид шкідливих речовин в навколишнє середовище, створити безвідходну технологію і збільшити виробництво високоефективного газу - і пиловловлюючого обладнання, збирального обладнання, обладнання та автоматизованої станції контролю забруднення.

У приміщенні по виготовленню «Фертолану» під час виробничого процесу у повітрі робочої зони виникає концентрація парів хімічних речовин, що не перевищує гранично допустимих концентрацій. Робочі місця та ділянки робіт з хімічними речовинами обладнані місцевою витяжною і загальною припливно-витяжною (загальнообмінною) механічною вентиляцією.

Отже, діяльність з охорони праці на біотехнологічному виробництві спрямована на створення безпечних і здорових умов праці, запобігання нещасним випадкам виробничого і невиробничого характеру, професійним захворюванням і аваріям, забезпечення безумовного виконання вимог Закону України «Про охорону праці». З цією метою на підприємстві створена та функціонує служба охорони праці. Як одна з основних виробничо-технічних служб, ця служба входить до структури управління і підпорядковується безпосередньо начальнику підприємства. До складу служби входять відділ

					ДП БМО1.01.09 ПЗ		Арк.
Зм.	Арк.	№ док.м.	Підпис	Дата			81

охорони праці та відділ нагляду за об'єктами підвищеної небезпеки, які здійснюють постійний контроль за організацією робіт із забезпечення безпечної експлуатації виробничого устаткування підвищеної небезпеки.

Для зменшення ризику виникнення виробничого травматизму на підприємстві варто застосовувати комплексний інноваційний підхід, основою якого має стати науково-технічне прогнозування ризиків, що забезпечить впровадження сучасних систем, які мають функції діагностики, контролю як за станом техніки, так і за діями обслуговуючого персоналу. Окрім цього, підвищення рівня охорони праці на підприємстві може бути досягнутим за рахунок впровадження міжнародних стандартів, таких як ISO 45001:2019 Системи управління охороною здоров'я та безпекою праці, ДСТУ ISO Guide 73:2013 Керування ризиком, ДСТУ ІЕС/ISO 31010.

Також на підприємстві «Агробіотех» створено сучасну та дієву систему екологічного менеджменту відповідно до ISO 14001. Серед першочергових завдань природоохоронної діяльності на підприємстві можна виокремити запобігання негативному впливу господарської діяльності підприємства і на навколишнє природне середовище та створення умов для подальшої екологізації. Зміст природоохоронної діяльності на підприємстві «Агробіотех» визначено як діяльність, направлену на раціональне використання природних ресурсів, зменшення негативного впливу на навколишнє середовище та зменшення викидів та викидів забруднюючих речовин в атмосферу і водні джерела, утилізацію відходів, підвищення ефективності природоохоронних заходів.

					<i>ДП БМО1.01.09 ПЗ</i>	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		82

## ВИСНОВКИ

1. Обґрунтовано вибір найефективнішого продуцента *Cladosporium cladosporioides* для виробництва стимулятора росту рослин «Фертолан» на основі комплексного складу фітогормонів та мікроелементів. На основі аналізу біохімічних, культуральних та морфологічних ознак продуцента *Cladosporium cladosporioides* визначено оптимальні умови культивування, які становлять  $t = 28\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $\text{pH} = 6,5-7,5$  та відповідний склад поживного середовища.

2. Штам *Cladosporium cladosporioides* не використовується на ДП МНТЦ «Агробіотех». У дипломному проєкті запропоновано замінити його на більш новий та ефективніший штам із ширшим спектром дії для підвищення інноваційності.

3. Запропоновано технологічну та апаратурну схему отримання препарату «Фертолан» з використанням культивування у ферментері об'ємом  $0,63\text{ м}^3$ , з подальшою екстракцією продуктів життєдіяльності активованим вугіллям і спиртом та очищенням від великих часток на нутч-фільтрі.

4. За результатами складання матеріального балансу розраховано, що з  $0,380\text{ м}^3$  поживного середовища після культивування отримано  $0,351\text{ м}^3$  культуральної рідини. Після стадій екстракції активованим вугіллям і етиловим спиртом отримано  $0,345\text{ м}^3$  готового препарату, розфасованого по 69 бутлях об'ємом  $5\text{ дм}^3$ .

5. Розроблено реактор об'ємом  $0,63\text{ м}^3$ , що дозволяє культивувати продуцента у  $0,378\text{ м}^3$  поживного середовища. Реактор оснащений барботером, що забезпечує аерацію  $0,63\text{ м}^3$  повітря на  $1\text{ м}^3$  середовища на хвилину, та лопатевою мішалкою з робочою частотою обертів  $220\text{ с}^{-1}$ . Інтенсифікація масообміну при культивуванні продуцента у реакторі зменшує час культивування до 9 діб.

					<i>ДП БМО1.01.09 ПЗ</i>			
<i>Зм.</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ докум</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>				
<i>Разроб.</i>		<i>Косовець І.Р.</i>			<i>ВИСНОВКИ</i>	<i>Ст</i>	<i>Арк</i>	<i>Аркушів</i>
<i>Конс.</i>						<i>Д</i>	<i>83</i>	<i>89</i>
<i>Керівн.</i>		<i>Гарга Ю.П.</i>				<i>КПІ ім. Ігоря Сікорського ФБТ</i>		

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ТА ЛІТЕРАТУРИ

1. Капітанська О., Полянчиков С. Біостимулятори рослин. Стан ринку, види та особливості застосування. *Агроном*, 2022. URL: <https://www.agronom.com.ua/biostymulyatory-roslyn-stan-rynku-vydy-ta-osoblyvosti-zastosuvannya/> (дата звернення: 21.05.2024).
2. Михайлов А. П. Сучасний стан та перспективи розвитку аграрного сектору економіки України. *Науковий вісник УМО*. Серія : Економіка та управління. 2016. Вип. 1. С. 2. URL: [http://nbuv.gov.ua/UJRN/nvumo\\_2016\\_1\\_9](http://nbuv.gov.ua/UJRN/nvumo_2016_1_9) (дата звернення: 21.05.2024).
3. Капітанська О., Полянчиков С. Ринок біостимуляторів: перспективи для розвитку в Україні. 2018. URL: <https://infoindustria.com.ua/rinok-biostimulyatoriv-perspektivi-dlya-rozvitku-v-ukrayini/> (дата звернення: 21.05.2024).
4. Роль фітогормонів у життєдіяльності рослин. *Пропозиція*. URL: <https://propozitsiya.com/ua/rol-fitogormoniv-u-zhyttyediyalnosti-roslyn> (дата звернення: 21.05.2024).
5. Кримець Г. Аналіз дистильованої води. *Укрхіманаліз*. 2019. URL: <https://himanaliz.ua/uk/analiz-distilovanoi-vodi/> (дата звернення 22.05.24).
6. Етиловий спирт технічний. 2023. URL: <https://klebrig.com.ua/ua/a488138-etilovij-spirit-tehnicnij.html> (дата звернення 22.05.2024).
7. ДСТУ 4221:2003. Спирт етиловий ректифікований. Технічні умови [Чинний від 2004-10-01]. Вид. офіц. Київ : Держспоживстандарт України, 2004. 8 с.
8. ДСТУ EN 12903:2004 Матеріали для очищення води, призначеної для споживання людиною. Порошкове активоване вугілля .
9. Understanding the Role of Glucose in Cell Culture Media. URL: <https://www.scientificbio.com/blog/understanding-the-role-of-glucose-in-cell-culture-media/> (дата звернення 22.05.2024).

<i>ДП БМО1.01.09 ПЗ</i>				
Зм.	Арк.	№ докум	Підпис	Дата
<i>Розроб.</i>		<i>Косовець І.Р.</i>		
<i>Конс.</i>				
<i>Керівн.</i>		<i>Горго Ю.П.</i>		
<i>СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ТА ЛІТЕРАТУРИ</i>				
		<i>Ст</i>	<i>Арк</i>	<i>Аркушів</i>
		<i>Д</i>	<i>84</i>	<i>89</i>
<i>КПІ ім. Ігоря Сікорського ФБТ</i>				

10. Zinc Biofortification in Food Crops Could Alleviate the Zinc Malnutrition in Human Health, 2021. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8230286/> (дата звернення 22.05.2024).
11. Смірнов В. А. Харчові кислоти (лимонна, молочна, винна). Легка та харчова промисловості. 1983. 264 с.
12. Поводзинський В. М. Проєктування біотехнологічних виробництв-2. Основи проєктування : конспект лекцій з дисципліни для здобувачів вищої освіти зі спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія». Київ : НТУУ «КПІ», 2022 р.
13. Plant Growth-Promoting Microbes (PGPM) as Potential Microbial Bio-Agents for Eco-Friendly Agriculture, 2018. URL: [https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-981-10-7380-9\\_3](https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-981-10-7380-9_3) (дата звернення 22.05.2024).
14. Plant growth promoting microbes: Diverse roles for sustainable and ecofriendly agriculture, 2022, URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2772427122000882?via%3Dihub> (дата звернення 22.05.2024).
15. Штам гриба *cylindrocarron magnusianum* для одержання препарату, що регулює ріст рослин: пат. 22643 Україна: МПК: А01N 63/04, А01P 21/00, С12N 1/14, С05F 11/08. опубл. 17.03.1998. *База патентів України*. URL: <https://uapatents.com/4-22643-shtam-griba-sylindrosarron-magnusianum-dlya-oderzhannya-preparatu-shho-regulyueh-rist-roslin.html> (дата звернення 22.05.2024).
16. Білявська Л. О. Надкернична О. В. Копилова О. Б. Біосинтез фітогормонів ґрунтовими грибами *Cladosporium cladosporioides*. *Мікробіологічний журнал*. 2017. Т. 79, № 3. С. 3-13. URL: [http://nbuv.gov.ua/UJRN/MicroBiol\\_2017\\_79\\_3\\_2](http://nbuv.gov.ua/UJRN/MicroBiol_2017_79_3_2) (дата звернення 22.05.2024).

					ДП БМО1.01.09 ПЗ		Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата			85



- [https://www.researchgate.net/publication/326055032\\_Phytohormones](https://www.researchgate.net/publication/326055032_Phytohormones) (дата звернення 22.05.2024).
25. Kimball John W. 16.5C: Цитокиніни. Tufts University & Harvard. 2022. URL: <https://ukrayinska.libretxts.org> (дата звернення 22.05.2024).
26. Cytokinins- Discovery, Biosynthesis and Physiological Role. Unit 5. 1. URL: <https://www.teachmint.com/tfile/studymaterial/b-sc/bot-401bot-402/1587179341unit51cytokinins-1pdf/e03a60e2-b2c8-4000-be89-b3172a6b928e> (дата звернення 22.05.2024).
27. Abscisic Acid Synthesis and Response. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3833200/> (дата звернення 22.05.2024).
28. Фітогормони. Моніка Горбова, Альона Вольманнова, Юдіта Лідікова. 2021. URL: [https://www.researchgate.net/publication/356765287\\_Phytohormones](https://www.researchgate.net/publication/356765287_Phytohormones) (дата звернення 22.05.2024).
29. Абсцизова кислота: захист від посухи і не тільки. URL: <https://agrostory.com/uk/info-centr/knowledgelab/abstsizovaya-kislota-zashchita-ot-zasukhi-i-ne-tolko-2/> (дата звернення 22.05.2024).
30. Фертолан. МНТЦ «Агробіотех». URL: <https://www.agrobiotech.com.ua/ua/fertolan> (дата звернення 22.05.2024).
31. Абсцизова кислота: захист від посухи і не тільки. URL: <https://agrostory.com/uk/info-centr/knowledgelab/abstsizovaya-kislota-zashchita-ot-zasukhi-i-ne-tolko-2/> (дата звернення 22.05.2024). дублет з 30
32. Устаткування мікробіологічних виробництв. Калунянц К. А., Голгер Л. І., Елашов В. Е., 1987. 398 с.
33. ДСТУ ISO 45001:2019 Системи управління охороною здоров'я та безпекою праці. Вимоги та настанови щодо застосування (ISO 45001:2018, IDT) [Чинний від 01.01.2021]. Вид. офіц. Київ : ДП «УкрНДНЦ», 2021, 39 с.
34. ДСТУ ІЕС/ISO 31010:2013 Керування ризиком. Методи загального оцінювання ризику (ІЕС/ISO 31010:2009, IDT) [чинний від 11.12.2013]. Вид. офіц. Київ : Мінекономрозвитку України, 2015. 80 с.

					<i>ДП БМО1.01.09 ПЗ</i>		Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата			87

35. ДСТУ ISO Guide 73:2013 Керування ризиком. Словник термінів (ISO Guide 73:2009 IDT). [Чинний від 29.11.2013]. Вид. офіц. Київ : Мінекономрозвитку України, 2014. 17 с.
36. Про охорону праці : Закон України від 21.11.2002 № 229-IV. Дата оновлення 13.12.2022). URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/2694-12#Text> (дата звернення 30.05.2024).
37. Типове положення про порядок проведення навчання і перевірки знань з питань охорони праці та Переліку робіт з підвищеною небезпекою : затв. наказом Державного комітету України з нагляду за охороною праці від 26.01.2005 № 15. *Верховна Рада України*. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z0231-05#Text> (дата звернення 30.05.2024).
38. Правила пожежної безпеки в Україні : затв. наказом Міністерства внутрішніх справ України від 30.12.2014 № 1417. *Верховна Рада України*. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z0252-15#Text> (дата звернення: 30.05.2024).
39. Правила експлуатації та типових норм належності вогнегасників : затв. наказом Міністерства внутрішніх справ України від 15.01.2018 № 25. *Верховна Рада України*. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z0225-18#Text> (дата звернення: 30.05.2024).
40. Порядок надання домедичної допомоги особам при невідкладних станах : затв. наказом Міністерства охорони здоров'я України від 09.03.2022 № 441. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z0356-22#Text> (дата звернення 30.05.2024).
41. ДСТУ 7748:2015 Безпека праці. Біологічна безпека. Загальні вимоги. [Чинний від 01.01.2016]. Вид. офіц. Київ : Державний науково-контрольний інститут біотехнології і штамів мікроорганізмів, 2016. 17 с. URL: [https://online.budstandart.com/ua/catalog/doc-page.html?id\\_doc=80656](https://online.budstandart.com/ua/catalog/doc-page.html?id_doc=80656) (дата звернення 30.05.2024).

					ДП БМО1.01.09 ПЗ		Арк.
							88
Зм.	Арк.	№ док.м.	Підпис	Дата			

42. Про управління відходами : Закон України від 20.06.2022 № 2320-IX. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/2320-20#Text> (дата звернення 31.05.2024).
43. ISO 14001:2015 Environmental management systems — Requirements with guidance for use. URL: <https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:14001:ed-3:v1:en> (дата звернення 31.05.2024).
44. Інноваційні аспекти систем безпеки праці, цивільного захисту та захисту інтелектуальної власності: матеріали VIII Всеукр. наук.-практ. Інтернет-конференції (Полтава, 23-24 березня 2023 р.) / ПДАУ: ред. кол., О.М. Костенко, Н.М. Опара, В.В. Дудник, О.У. Дрожчана. Полтава: ПДАУ, 2023. 232 с. URL: <https://www.pdau.edu.ua/sites/default/files/node/1239/zbirnykkonf2023r.pdf> (дата звернення 31.05.2024).

					<i>ДП БМО1.01.09 ПЗ</i>	Арк.
<i>Зм.</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>		89