

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ АВІАЦІЙНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
НАВЧАЛЬНО-НАУКОВИЙ ІНСТИТУТ
ЕКОЛОГІЧНОЇ БЕЗПЕКИ
КАФЕДРА БІОТЕХНОЛОГІЇ

ДОПУСТИТИ ДО ЗАХИСТУ

Завідувач випускової кафедри

_____ Барановський М.М

« ____ » _____ 20__ р.

ДИПЛОМНА РОБОТА

(ПОЯСНЮВАЛЬНА ЗАПИСКА)

ВИПУСКНИКА ОСВІТНЬОГО СТУПЕНЯ МАГІСТРА

ЗА СПЕЦІАЛІЗАЦІЄЮ «ЕКОЛОГІЧНА БІОТЕХНОЛОГІЯ ТА БІОЕНЕРГЕТИКА»

Тема: «Удосконалення технології кормового антибіотика Теравіт К»

Виконавець: студентка, група ЕТ 203М Мелешко Юлія Павлівна

(студент, група, прізвище, ім'я, по батькові)

Керівник: к.т.н., доцент Решетняк Людмила Расулівна

(науковий ступінь, вчене звання, прізвище, ім'я, по батькові)

Консультант з розділу «Охорона праці»:

(підпис)

Павлиш В. Д.

(П.І.Б.)

Консультант з розділу

«Охорона навколишнього середовища»:

(підпис)

Бовсуновський Є.О.

(П.І.Б.)

Нормоконтролер:

(підпис)

Лазарев В. Г.

(П.І.Б.)

Київ 2020

НАЦІОНАЛЬНИЙ АВІАЦІЙНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Навчально-науковий інститут екологічної безпеки

Кафедра біотехнології

Напрямок (спеціальність, спеціалізація): 162 «Біотехнології та біоінженерія»,
(шифр, найменування)

«Екологічна біотехнологія та біоенергетика»

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри д.б.н., проф.

_____ (М.М. Барановський)

“ ___ ” _____ 20__ р.

ЗАВДАННЯ

на виконання дипломної роботи

Мелешко Юлія Павлівна

1. Тема дипломної роботи: «Удосконалення технології кормового антибіотика Теравіт К» затверджена наказом ректора від «31» жовтня 2018р. №2727/ст.

2. Термін виконання роботи: з 15 жовтня 2019 р. по 04 лютого 2020 р.

3. Вихідні дані до роботи: склад поживного середовища для культивування *Actinomyces aureofaciens*, характеристика біологічного агенту *Actinomyces aureofaciens*, схема основного обладнання (ферментера) для культивування.

4. Зміст пояснювальної записки: ВСТУП. РОЗДІЛ 1. ЛІТЕРАТУРНИЙ ОГЛЯД. РОЗДІЛ 2. ОБ'ЄКТИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ. РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ. РОЗДІЛ 4. ОХОРОНА ПРАЦІ. РОЗДІЛ 5. ОХОРОНА НАВКОЛИШНЬОГО СЕРЕДОВИЩА. ВИСНОВКИ, СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ, ДОДАТКИ.

5. Перелік обов'язкового ілюстративного матеріалу: 8 таблиць, 12 рисунків.

6. Календарний план-графік

№ з/п	Завдання	Термін виконання	Підпис керівника
1	Літературний огляд та збір інформації за темою дипломної роботи	06.09. – 07.10.2019	
2	Виконання експериментальної частини	15.10. – 27.11.2019	
3	Написання основної частини	28.11. – 10.12.2019	
4	Формулювання висновків та рекомендацій	12.12. – 13.12.2019	
5	Перевірка дипломної роботи керівником	14.12. – 30.12.2019	
6	Оформлення роботи	01.01. – 12.01.2020	
7	Захист дипломної роботи	04.02.2020	

7. Консультація з окремих розділів:

Назва розділу	Консультант (посада, П.І.Б.)	Дата, підпис	
		Завдання видав	Завдання прийняв
Охорона праці	ст. викладач Павлиш В.Д.		
Охорона навколишнього середовища	доцент Бовсуновський Є.О.		

8. Дата видачі завдання « 15 » жовтня 2019 р.

Керівник дипломної роботи:

_____ (підпис керівника)

Решетняк Л.Р.

(П.І.Б.)

Завдання прийняв до виконання:

_____ (підпис випускника)

Мелешко Ю.П.

(П.І.Б.)

РЕФЕРАТ

Пояснювальна записка до дипломної роботи «Удосконалення технології кормового антибіотику Теравіт К»: 87 сторінок, 12 рисунків, 8 таблиць, 63 використаних літературних джерел, 2 додатка.

ТЕРАВІТ К, КОРМОВИЙ АНТИБІОТИК, ПОЖИВНЕ СЕРЕДОВИЩЕ, БІОЛОГІЧНИЙ АГЕНТ, АКТИНОМІЦЕТ, *ACTINOMYCES AUREOFACIENS*, ВІДХОДИ, ФЕРМЕНТЕР, АНТИБІОТИКИ, ВЕЛИКА РОГАТА ХУДОБА.

Мета дипломної роботи – удосконалити технологію виробництва кормового антибіотику Теравіт К на відходах промислових підприємств.

Об'єкт дослідження – процес технологічного виробництва кормового антибіотику Теравіт К.

Предмет дослідження – кормовий антибіотик Теравіт К, продуцент Теравіту К *Actinomyces aureofaciens*.

Методи дослідження – технологічні, біохімічні, мікробіологічні.

Завдання роботи:

1. Підібрати активний біологічний агент для процесу культивування;
2. Запропонувати оптимальне поживне середовище для процесу ферментації;
3. Вибрати ефективне обладнання для виробництва препарату Теравіт К на відходах промислових підприємств;
4. Показати значення і роль кормових антибіотиків при відгодівлі сільськогосподарських тварин.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СКОРОЧЕНЬ, ТЕРМІНІВ	7
ВСТУП.....	8
РОЗДІЛ 1 ЛІТЕРАТУРНИЙ ОГЛЯД	10
1.1. Загальна характеристика антибіотиків	10
1.2. Історія відкриття та властивості кормових антибіотиків.....	12
1.3. Використання кормових антибіотиків, та їх класифікація	16
1.4. Механізм дії кормових антибіотиків.....	18
РОЗДІЛ 2. ОБ'ЄКТИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ	25
2.1. Об'єкти досліджень.....	25
2.1.1. Характеристика препарату Теравіт К та його застосування у ветеринарії. 25	
2.1.2. Характеристика поживного середовища	28
2.1.3. Характеристика актиноміцету – продуцента кормового антибіотика Теравіт К	34
2.1.4. Обладнання для виробництва препарату Теравіт К на відходах промислових підприємств.....	38
2.2. Методи дослідження	42
РОЗДІЛ 3 РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	46
3.1. Підбір оптимального складу поживного середовища для отримання препарату Теравіт К.....	46
3.2. Культивування продуценту Теравіт К	49
3.3. Технологічна схема отримання препарату Теравіт К.....	53
3.4. Контроль якості готового продукту	55
3.5. Акредітація виробничих лабораторій для отримання препарату Теравіт К....	59
РОЗДІЛ 4 ОХОРОНА ПРАЦІ	64
4.1. Небезпечні та шкідливі виробничі фактори при отриманні препарату Теравіт К на відходах промислових підприємств	64

4.2. Технічні та організаційні заходи для зменшення рівня впливу небезпечних та шкідливих виробничих факторів при отриманні препарату Теравіт К на відходах промислових підприємств.....	66
4.3. Забезпечення пожежної і вибухової безпеки при отриманні препарату Теравіт К	70
РОЗДІЛ 5 ОХОРОНА НАВКОЛИШНЬОГО СЕРЕДОВИЩА	73
5.1. Утворення відходів фармацевтичного виробництва	73
5.2. Класифікація відходів.....	75
5.3. Шляхи утилізації біологічних матеріалів на виробництві.....	76
5.4. Розрахунок енерговитрат та сировини.....	79
ВИСНОВКИ.....	82
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	83
ДОДАТКИ.....	90

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СКОРОЧЕНЬ, ТЕРМІНІВ

- БСК – біохімічне споживання кисню;
- ВНР – відпрацьований нативний розчин;
- ІУК – калієва сіль індолил-3-оцетної кислоти;
- ІЧС – інфрачервона спектроскопія;
- ПО – перманганатна окиснюваність;
- ППВО – порушення повного внутрішнього відображення;
- ХАССП (англ. Hazard Analysis and Critical Control Points (НАССР) – аналіз ризиків і критичні контрольні точки;
- ХСК – хімічне споживання кисню;
- APLAC (Asia Pacific Laboratory Accreditation Cooperation) – Організація з акредитації лабораторій країн Азіатсько-Тихоокеанського регіону;
- EA (European cooperation for Accreditation) – Європейська асоціація по акредитації;
- IAAC (InterAmerican Accreditation Cooperation) - Міжамериканська асоціація по акредитації;
- ILAC (International Laboratory Accreditation Cooperation) – Міжнародна організація з акредитації лабораторій;
- MRSA – метицилінорезистентний стафілокок *Staphylococcus aureus*.

ВСТУП

Актуальність. В умовах інтенсифікації сільськогосподарського виробництва та його поглибленої спеціалізації збільшення виробництва м'ясної продукції має бути забезпечено за рахунок підвищення продуктивності сільськогосподарських тварин, що неможливо без організації їх повноцінного збалансованого харчування. Тому виникає необхідність використовувати в їх раціонах біологічно активні препарати і кормові антибіотики нехімічного походження, що, з одного боку, дозволяють підвищити резистентність організму тварин, поліпшити ефективність використання кормів, збільшити швидкість росту, істотно підвищити збереження молодняку і дають можливість отримати продукцію з підвищеними споживчими властивостями, з іншого – належить до матеріалів біологічного походження, що сприяють належній екологізації виробництва.

Антибіотики – речовини, що пригнічують ріст живих клітин, найчастіше прокаріотичних або найпростіших. До кормових антибіотиків відносять препарати, при введенні яких в раціони тварин і птиці поліпшується обмін речовин, підвищується коефіцієнт використання кормів, активізується резистентність організму. Внаслідок цього молоді тварини краще розвиваються і швидше ростуть, знижується їх захворюваність.

Численними дослідженнями встановлено, що використання в раціонах тварин антибіотиків кормового призначення забезпечує імунomodulatory та проти інфекційну дію, сприяє регулюванню стану кишкового мікро біоценозу, оптимізації процесу травлення і функції кишківника (Кігель Н., 1999; Тарадій Г.К., 2001; Пентилюк С.І., 2012; Юдина Н.А., 2015; Бондаренко В.М., 2007; Ghafoor A., 2005; Кочер Э., 2006; Вернер А., 2008; Roberfroid M.B., 1998; Бетин А., 2016; Субботин В.В., 2008; Фисинин В.И., 2017; Юлевич О.І., 2017).

Важливою задачею виробництва продуктів біотехнологічного виробництва в умовах ринкової конкуренції є отримання готового продукту бажаної якості, гарантовано безпечного для споживачів. Все це неможливо без застосування

промислової біотехнології. Промислова біотехнологія є однією з основних розділів біотехнології, інтегральною областю науки і техніки, яка спирається на теоретичні та методичні положення молекулярної біології і генетики, мікробіології, біохімії, фізіології і цитології, а також використовує прогресивні хімічні технології.

Показано, що антибіотики необхідно розробляти з урахуванням специфіки систем травлення та способів годівлі кожного виду сільськогосподарських тварин, беручи за основу мікроорганізми, вилучені від здорових тварин.

Тому актуальним є удосконалення існуючої технології виробництва кормового антибіотику Теравіт К з метою підвищення обсягів виробництва та покращення його якості.

Мета дипломної роботи – удосконалити технологію виробництва кормового антибіотику Теравіт К на відходах промислових підприємств.

Об'єкт дослідження – процес технологічного виробництва кормового антибіотику Теравіт К.

Предмет дослідження – кормовий антибіотик Теравіт К, продуцент Теравіту К *Actinomyces aureofaciens*.

Методи дослідження – технологічні, біохімічні, мікробіологічні.

Завдання роботи:

1. Підібрати активний біологічний агент для процесу культивування;
2. Запропонувати оптимальне поживне середовище для процесу ферментації;
3. Вибрати ефективне обладнання для виробництва препарату Теравіт К на відходах промислових підприємств;
4. Показати значення і роль кормових антибіотиків при відгодівлі сільськогосподарських тварин.

РОЗДІЛ 1. ЛІТЕРАТУРНИЙ ОГЛЯД

1.1. Загальна характеристика антибіотиків

Антибіотики (від грец. Ἄντι «проти» + βίος «життя») – речовини, що пригнічують ріст живих клітин, найчастіше прокаріотичних або найпростіших. У сучасній науці і в документах (ВООЗ та інших організацій) назва «антибіотики» не використовується, замість нього використовується більш коректне назву цієї групи лікарських речовин – «протимікробні препарати» [14].

Антибіотики природного походження найчастіше продукуються актиноміцетами, рідше – неміцеліальними бактеріями. Так само можуть бути отримані з вищих рослин (фітонциди) і живих організмів. Деякі антибіотики – бактерициди (бактерії + лат. Caedo «вбиваю») – роблять сильну переважну дію на ріст і розмноження бактерій і при цьому відносно мало пошкоджують або зовсім не ушкоджують клітини макроорганізму, і тому застосовуються в якості лікарських засобів. Повністю синтетичні препарати, що не мають природних аналогів і надають подібне з антибіотиками переважна вплив на ріст бактерій, традиційно було прийнято називати не антибіотиками, а антибактеріальними хіміопрепаратами [19]. Зокрема, коли з антибактеріальних хіміопрепаратів відомі були тільки сульфаніламідів, прийнято було говорити про все класі антибактеріальних препаратів як про «антибіотиків і сульфаніламідів». Однак в останні десятиліття в зв'язку з винаходом багатьох вельми сильних антибактеріальних хіміопрепаратів, зокрема фторхінолонів, що наближаються чи перевищують за активністю «традиційні» антибіотики, поняття «антибіотик» стало розвиватися і розширюватися і тепер часто вживається не тільки по відношенню до природних і напівсинтетичних сполук, але і до багатьох сильних антибактеріальним хіміопрепаратів [27].

Деякі антибіотики використовуються в якості протипухлинних препаратів при лікуванні онкологічних захворювань. Антибіотики зазвичай не впливають на віруси

і тому не приносять користі при лікуванні захворювань, що викликаються вірусами (наприклад, грип, гепатити А, В, С, вітряна віспа, герпес, краснуха, кір). Однак ряд антибіотиків, в першу чергу тетрацикліни, діють також і на великі віруси [20, 43].

Класифікація. Величезна різноманітність антибіотиків і видів їх впливу на організм людини стало причиною класифікування і поділу протимікробних препаратів на групи. За характером впливу на бактеріальну клітину антибіотики можна розділити на дві групи:

- бактеріостатичні (бактерії залишаються живі, але не в змозі розмножуватися),
- бактерицидні (бактерії гинуть, а потім виводяться з організму).

Класифікація за хімічною структурою, яку широко використовують в медичному середовищі, складається з наступних груп:

- Бета-лактамі антибіотики, що діляться на три підгрупи:
 - Пеніциліни – виробляються колоніями цвілеві грибки *Penicillium*;
 - Цефалоспорини – мають схожу структуру з пеніцилінами. Використовуються по відношенню до пеніциліностійких бактеріям.
 - Карбапенеми – структура більш стійка до лактамазам, ніж у пеніцилінів і цефалоспоринів, що значно розширює спектр дії.
- Макроліди – антибіотики зі складною циклічною структурою. Дія – бактеріостатична.
- Тетрацикліни – використовуються для лікування інфекцій дихальних і сечовивідних шляхів, лікування важких інфекцій типу сибірської виразки, туляремії, бруцельозу. Дія - бактеріостатичну.
- Аміноглікозиди – мають високу токсичність. Використовуються для лікування важких інфекцій типу зараження крові або перитонітів. Дія – бактерицидна.

- Левоміцетин – використання обмежене через підвищення небезпеки серйозних ускладнень – ураження кісткового мозку, який виробляє клітини крові. Дія – бактеріостатична.
- Глікопептидні антибіотики порушують синтез клітинної стінки бактерій. Надають бактерицидну дію, проте відносно ентерококів, деяких стрептококів і стафілококів діють бактеріостатично.
- Лінкозаміди надають бактеріостатичну дію, що обумовлено пригніченням синтезу білка рибосомами. У високих концентраціях відносно високочутливих мікроорганізмів можуть проявляти бактерицидний ефект.
- Фторхінолони – ципрофлоксацин, норфлоксацин, офлоксацин, пефлоксацин, ломефлоксацин, спарфлоксацин, левофлоксацин, моксифлоксацин, геміфлоксацин, гатифлоксацин, сітафлоксацин, тровафлоксацин, делафлоксацин.
- Антибіотики різних груп – Рифаміцин, Фузидин-натрій, Поліміксину М сульфат, поліміксину В сульфат, Граміцидин, Геліоміцин [25, 34].

Сьогодні існують фітобіотики – препарати, які використовуються на практиці замість кормових антибіотиків і забезпечують або той же ефект, або менш виражений, але в будь-якому випадку зводять нанівець всі негативні моменти, які пов'язані з антибіотиками. Весь світ відмовляється від антибіотиків в їх користь, тому що іншого виходу немає.

1.2. Історія відкриття та властивості кормових антибіотиків

Багато стародавніх цивілізацій, в тому числі стародавні єгиптяни і греки, використовували цвіль і деякі рослини для лікування інфекцій, так як ті містили антибіотики. Наприклад, в Давньому Єгипті, Китаї і Індії пліснявий хліб використовували для дезінфекції, прикладаючи його до ран і гнійників. Згадки про використання цвілі в лікувальних цілях зустрічаються в працях стародавніх вчених і

філософів. У 1963 році фахівець з етноботаніка Енріке Облітас Поблете дав опис застосування цвілі індіанськими знахарями в XV-XVI століттях.

На початку 1870-х років дослідженням цвілі одночасно займалися медики Олексій Герасимович Полотебнов і В'ячеслав Авксентійович Манасеїн, який вивчивши грибок *Penicillium glaucum*, докладно описав основні, зокрема бактеріостатичні, властивості зеленої цвілі [29]. Полотебнов, з'ясувавши лікувальну дію цвілі на гнійні рани і виразки [35], рекомендував використовувати цвіль для лікування шкірних захворювань. Його робота «Патологічна значення зеленої цвілі» вийшла в 1873 році. Але ідея на той момент не отримала подальшого практичного застосування.

У 1896 році італійський лікар і мікробіолог Бартомелео Гозіо виділив з *Penicillium мікофенолову* кислоту, яка була активна проти збудника сибірської виразки.

Пеніцилін був виявлений в 1897 році французьким військовим лікарем Ернест Дюшен. Він зауважив, що арабські конюхи використовували цвіль з сідел, щоб обробити рани на спинах коней. Працюючи з грибами роду *Penicillium*, він випробував цвіль на морських свинках і виявив її руйнівну дію на паличку черевного тифу. Але його робота не привернула уваги наукової спільноти.

У 1904 році російський вчений М.Г. Тартаковський повідомив, що речовина, яка виділяється зеленою цвіллю, пригнічує розвиток збудника курячої холери.

У 1913 році американські вчені Карл Альсберг і Отіс Фішер Блек отримали з *Penicillium ruberulum* токсичну субстанцію, що володіє антибактеріальними властивостями (в 1936 році, коли встановили її хімічну структуру, з'ясувалося, що це була пеніцилова кислота) [36].

У 1928 році Олександр Флемінг проводив рядовий експеримент в ході дослідження хвороботворних бактерій. Виростивши колонії стафілококів, він виявив, що деякі з них заражені звичайної цвіллю *Penicillium*, яка росте на хлібі, роблячи його зеленим. Навколо кожної колонії цвілі була область, в якій бактерії були відсутні. Флемінг зробив висновок, що цвіль виробляє речовину, що вбиває бактерії, яке він назвав «пеніцилін». Це і був перший сучасний антибіотик, про який

Флемінг доповів 13 вересня 1929 на засіданні Медичного дослідницького клубу при Лондонському університеті. Однак навіть після опублікування статті повідомлення не викликало в медиків ентузіазму. Справа в тому, що пеніцилін виявився дуже нестійкою речовиною, він руйнувався навіть при короткочасному зберіганні.

Тільки в 1938 році двом ученим з Оксфордського університету, Говарду Флорі і Ернсту Чейні вдалося виділити пеніцилін в чистому вигляді. У зв'язку з великими потребами в медикаментах під час Другої світової війни масове виробництво цих ліків почалося вже в 1943 році. У 1945 році Флемінгу, Флорі і Чейні за їх роботу було присуджено Нобелівську премію.

Приблизно з кінця шістдесятих років ХХ століття до 2017 року фармакологи модифікували вже відомі препарати слідом за появою резистентності бактерій до існуючих, весь цей час нові антибіотики не були знайдені, і травнем 2017 року було оголошено про синтез препарату, що є принципово новим антибіотиком, а в 2018 році вчені оголосили про створення нового класу антибіотиків на його основі [27, 38].

Кормові антибіотики. До кормових антибіотиків відносять препарати, при введенні яких в раціони тварин і птиці поліпшується обмін речовин, підвищується коефіцієнт використання кормів, активізується резистентність організму. Внаслідок цього молоді тварини краще розвиваються і швидше ростуть, знижується їх захворюваність і скорочується відхід.

Після того, як у тваринницькій промисловості почали використовувати препарати на основі антибіотиків, стало зрозуміло, що вони здатні не тільки боротися з різними захворюваннями, але істотно прискорювати ріст і розвиток тварин, впливати на набір їх маси. Кормові антибіотики також називають стимуляторами росту, завдяки тому, що їх застосування дозволяє домогтися істотного поліпшення засвоюваності поживних речовин з їжі і як наслідок збільшувати швидкість приросту і маси тіла тварини до 50%. Наприклад, поросята двомісячного віку, які отримують в своєму раціоні добавки кормових антибіотиків, важать на 1.6-1.8 кг. більше, ніж ті, які не отримували їх з кормом.

Історичні хроніки. Кормові антибіотики (стимулятори росту) покращують засвоюваність їжі, збільшують приріст ваги до 50% за рахунок поліпшення апетиту і більш повного використання поживних речовин корму. Двомісячні поросята, які отримують корм з антибіотиками, важать на 1,5-1,7 кг більше своїх побратимів, які споживають «чисту» їжу. На кожну тисячу тварин, які отримують кормові антибіотики, виробник має додатково 100-120 тон свинини. Відповідно витрати кормів скорочуються, продуктивність збільшується, зростають доходи тваринників. До того ж антибіотики знижують падіж молодняку. Сьогодні звичайне виживання курчат на українських птахофабриках, що не застосовують антибіотики, становить 92-93%. Причому 90% виживання дає можливість окупити витрати, а 2-3% – це прибуток птахофабрики від одного виробничого циклу (до забою курчати вирощують 45 днів). У році сім циклів, відповідно, прибуток становить 14% на рік. Якщо застосовувати антибіотики, то можна домогтися 97-98% виживання, підвищивши прибуток в два-три рази, тобто до 50-55%.

Першими додавати антибіотики в корми стали американські фермери в 50-ті роки минулого століття з метою інтенсифікувати виробництво. Корів і курей більше не випускали пастися на полях і галявинах, а тримали в тісних загонах. В таких умовах підвищувалася ймовірність розвитку інфекційних захворювань, але з недугами тепер легко можна було впоратися за допомогою антибіотиків. Бентежив лише один нюанс: разом з їжею – м'ясом, молоком, яйцями – ліки відтепер потрапляли в людський організм. Проте прикладом американців пішли європейські фермери, а потім і радянські колгоспи і радгоспи, які за допомогою антибіотиків могли частково вирішити перманентну проблему нестачі кормів.

Кілька років тому в Євросоюзі була введена заборона на використання антибіотиків в кормах для тварин. Однак, фактично, мало хто цієї заборони слідує. Практично всі зарубіжні компанії, які постачають продукти для приготування комбикормів, використовують за замовчуванням різні антибіотики. Тим самим, в першу чергу, вони домагаються ростостимулюючого ефекту, знижують конверсію корму і скорочують термін відгодівлі. Дуже часто ветеринарні лікарі, що працюють на тваринницьких підприємствах, самі поняття не мають, які лікарські препарати

потрапляють з кормом тваринам чи птиці, що перебувають під їх контролем. При цьому існує ризик, що наявність в комбікормі різних препаратів (не визначена у якісному посвідченні), при взаємодії між собою викличе різного роду порушення життєдіяльності організму тварин.

Протягом ряду років протимікробні засоби використовуються також як стимулятори росту, особливо, в свинарстві та птахівництві. З метою підвищення ефективності відгодівлі практикують введення в корми антибіотиків у відносно малих дозах протягом тривалого періоду часу. Застосовувані в годівлі тварин антибіотики надають стимулюючу дію на їх ріст, продуктивність та відтворення, що призводить в середньому до 4-5% збільшення приросту живої маси тварин в порівнянні з контрольними групами, витрати корму на одиницю приросту знижується на 5-8%, активізується резистентність організму, скорочується період відгодівлі тварин. Антибіотики підвищують біологічну повноцінність білків і здатні знижувати потребу в білках тваринного походження. Значною мірою на цьому ґрунтується використання заміників цільного молока при вирощуванні молодняку тварин.

Потрібно сказати, що випуск мікробіологічних засобів вимагає забезпеченості енергоресурсами і спеціальним обладнанням, в тому числі установками для обробки продукту паром під високим тиском, володіння технологіями роботи в асептичних умовах, нарешті, наявності кваліфікованих фахівців.

1.3. Використання кормових антибіотиків, та їх класифікація

На сучасному етапі розвитку тваринництва і комбікормової промисловості все частіше застосовують такі стимулюючі компоненти, що полягають у основу класифікації кормових антибіотиків як: пробіотики, пребіотики, синбіотики, фітобіотики, натуральні стимулятори росту, імуностимулятори, специфічні ферментні препарати, підкислювачі (див. рис. 1.1).

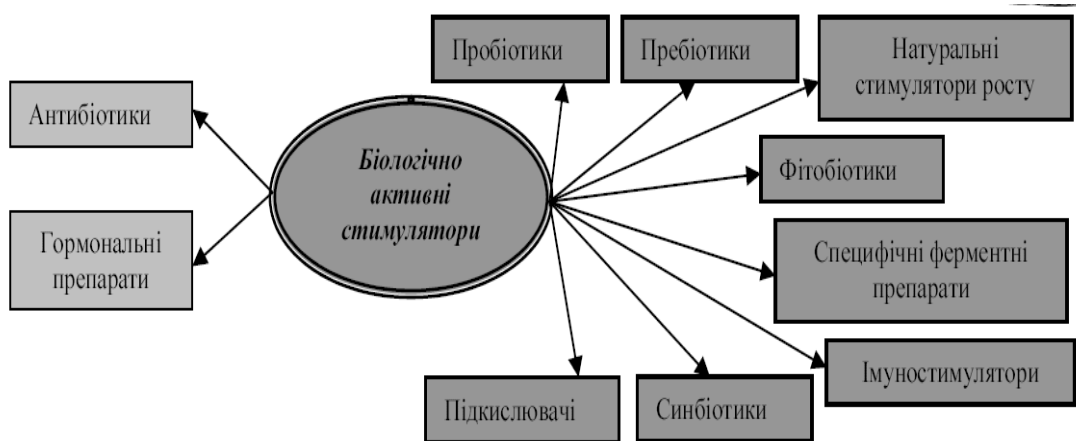


Рис. 1.1. Класифікація біологічно активних стимуляторів.

Сьогодні біля 61 % за межами ЄС або 70 % в ЄС компаній надають перевагу саме цим препаратам. У відповідності до постанови ЄС № 1831/2003, пробіотики входять до класу «зоотехнічних добавок» в якості стабілізаторів флори травної системи [26, 38].

Пробиотики – препарати біологічної дії на основі корисних мікроорганізмів та/або їх метаболітів, які не завдають шкоди організму тварин і дозволяють виробляти безпечні харчові продукти. Вважається, що основний механізм дії пробіотиків полягає у нормалізації складу та біологічної мікрофлори шлунково-кишкового тракту, тобто його заселенні конкурентоспроможними штамми бактерій-пробіонтів, які здійснюють неспецифічний контроль над чисельністю умовно-патогенної мікрофлори шляхом витіснення її з кишкового біоценозу [29, 32]. Кормові пребіотики – компоненти у виді речовини або комплексу (ди-, трисахариди, оліго-, полісахариди, жирні ненасичені кислоти, ферментні комплекси, екстракти), які забезпечують оптимізацію мікроекологічного статусу організму тварини за рахунок вибіркової стимуляції росту або біологічної активності нормальної мікрофлори травного тракту.

Синбіотики – комбінація кормових пробіотиків і пребіотиків, яка підсилює фізіологічні функції та метаболізм в організмі в наслідок ефекту синергізму.

Фітобіотики – природні специфічні екстракти рослин (фітокоректори або фітогеники), які модифікують роботу травних залоз, забезпечують умови конкурентного росту корисної мікрофлори, стабілізують кислотність та посилюють

процес всмоктування поживних речовин, наприклад, Екстракт, Дігестаром, Ломан [20, 41]. До фітогенних добавок також відносять продукти рослинного походження, які містять фрукто-олігосахариди, рослинні екстракти та ефірні масла, отримані з трав або спецій, які мають ароматичні і функціональні властивості, які є вигідними для тварини. Фітогеники зазвичай не представляють жодної харчової цінності для тварин, але володіють цілим діапазоном властивостей, які потенційно поліпшують конверсію корму, таким чином вносячи свій вклад до підвищення продуктивності тварин і якості корму. Екстракти часнику, хрину і гірчиці можуть мати позитивний вплив на травлення із за їх відповідних активних речовин алліцину і аллілізотіоціонату, які збільшують кількість слини і шлункових кислот, а ті у свою чергу сприяють виділенню певних травних ферментів [42].

Імуностимулятори – це синтетичні, біотехнологічні та природні речовини, здатні впливати на різні ланки імунної системи, змінюючи силу, характер і спрямованість імунних реакцій [22]

1.4. Механізм дії кормових антибіотиків

Біотрансформація антибіотиків. Метаболізм пеніцилінів, інгібіторів β лактамаз в печінці. Клінічно значущої біотрансформації в печінці можуть піддаватися оксацилін (до 45%) і уреїдопеніциліни (до 30%), інші пеніциліни практично не метаболізуються і виводяться з організму в незміненому вигляді. Серед інгібіторів β -лактамаз найбільш інтенсивно метаболізується клавуланат (близько 50%), а в меншій мірі – сульбактам (близько 25%), ще слабше – тазобактам [26, 40].

Метаболізм цефалоспоринів, карбапенемів і монобактамамів в печінці дещо інший. Більшість цефалоспоринів і карбапенемів практично не метаболізується, метаболічно нестабільними є лише цефалотин, цефотаксим, цефтриаксин. Цефотаксим біотрансформується з утворенням активного метаболіту дезацетилцефотаксиму.

Більшість антибіотиків виводиться з сечею в незмінному вигляді, тому при нирковій недостатності можливе значне уповільнення їх елімінації. Однак

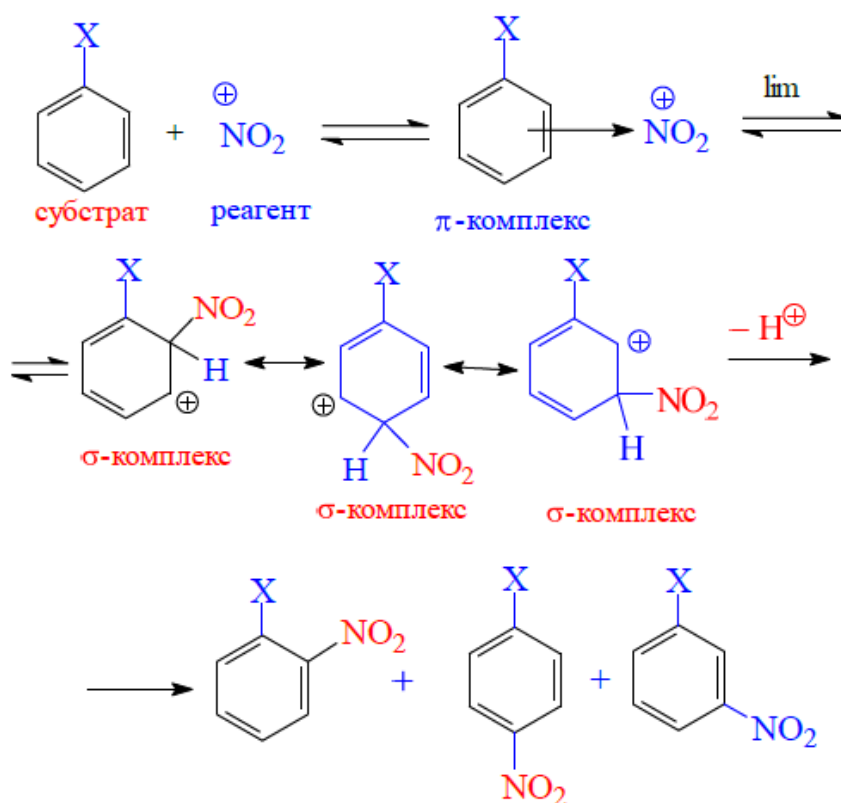
оксацилін, уреїдопеніциліни, цефтриаксон мають подвійний шлях виведення - нирками і через біліарну систему, саме тому їх період напіввиведення в меншій мірі змінюється при порушенні функції нирок. Період напіввиведення пеніциліну становить в середньому близько 1 години (крім депо-пеніцилінів), а більшості цефалоспоринів - 1-2 години. Більш тривалий період напіввиведення мають цефіксим, цефтибутен, цефотетан (3-4 год) і цефтриаксон (до 8,5 год) , що забезпечує можливість їх призначення 1-2 рази на добу [21, 34].

Все різноманіття хімічних перетворень антибіотиків можна об'єднати в кілька груп, кожна з яких характеризується загальними прийомами проведення хімічних реакцій:

- 1) перетворення наявних в молекулі замісників;
- 2) введення нових замісників;
- 3) елімінування замісників;
- 4) циклізація;
- 5) перегрупування;

Також слід пам'ятати, що у межах кожної групи зазвичай використовують кілька типових процесів:

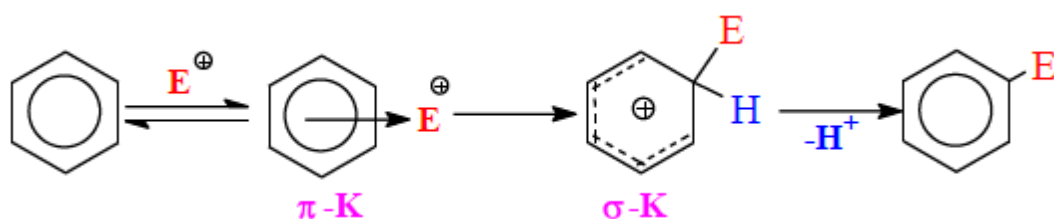
1. Нітрування. Нітросполуками називають органічні речовини, що містять в молекулі нітрогрупу. Розрізняють С-, О- і N-нітрування. Субстратом в реакціях нітрування служать карбоциклічні і гетероциклічні ароматичні сполуки. Процес нітрування можна зобразити наступною схемою [31, 40]:



2. Сульфювання – процес введення в молекулу органічного з'єднання сульфогрупи SO_3H з утворенням сульфінних кислот. Розрізняють С-, N- і О-сульфування. Сульфокислоти гігроскопічні кристалічні речовини, добре розчинні у воді. За силою близькі до мінеральних. У розбавлених водних розчинах вони практично повністю дисоційовані. Сульфювання сполук є реакцією електрофільного заміщення і зазвичай протікає за схемою [14]:



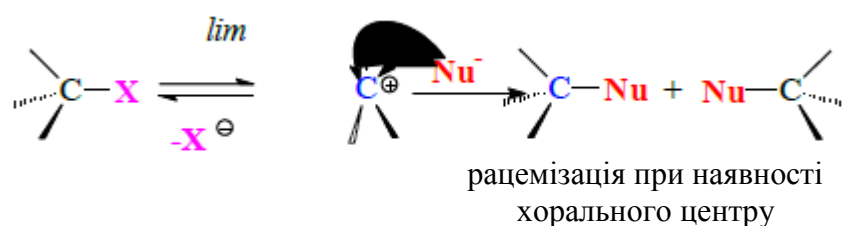
3. Галогенування. Галогенування аренив це, як правило, електрофільне заміщення атома водню SE:



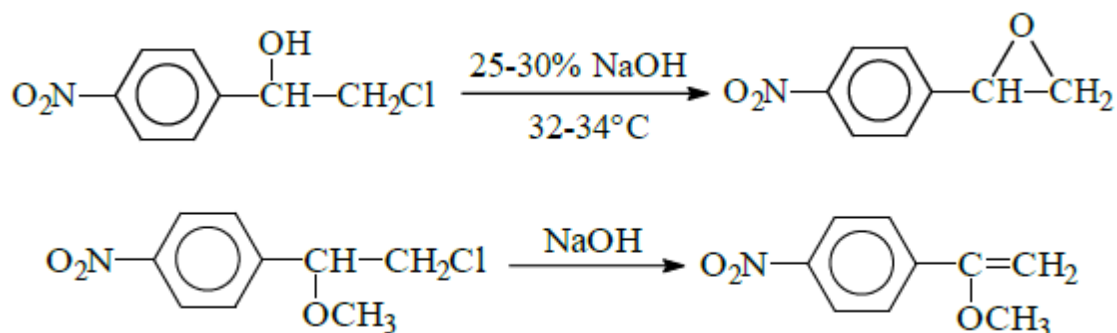
Практичне значення в основному мають реакції прямого хлорування і бромовання аренів. Пряме фторування не використовується внаслідок дуже високої екзотермічності процесу. Йодування йде дуже повільно і вимагає активації [18, 23].

4. Процеси заміщення функціональних груп в молекулі органічної сполуки.

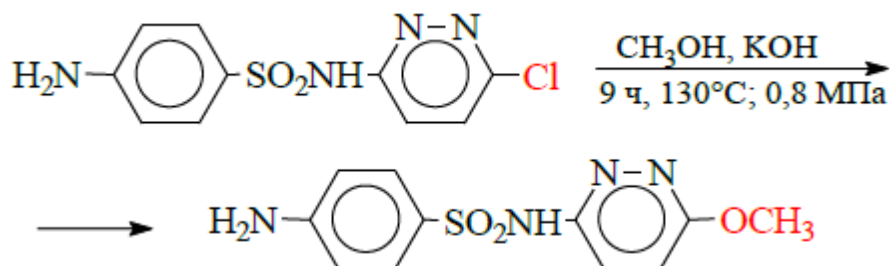
4.1. Нуклеофільне заміщення галогену



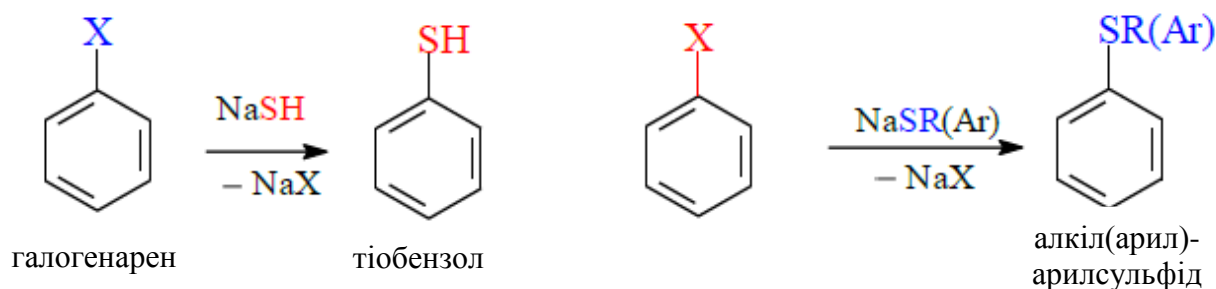
4.2. Заміщення атома галогену на гідроксильну групу



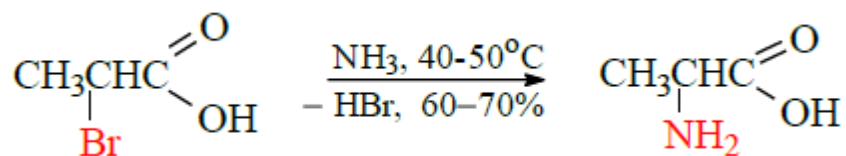
4.3. Заміщення атома галогену на алкокси- або феноксігрупу (-OR, OAr)



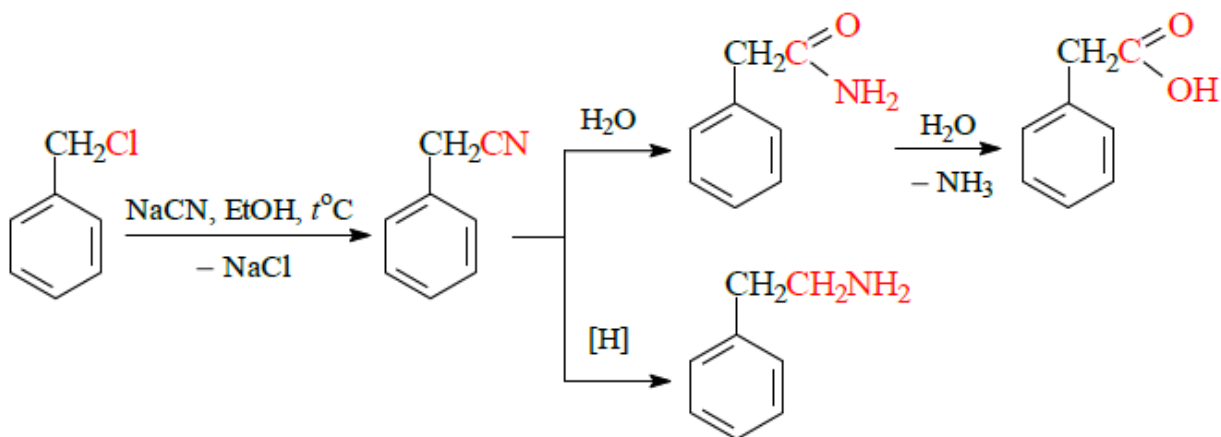
4.4. Заміщення атома галогену на меркапто- і алкіл (арил) тіо-групи



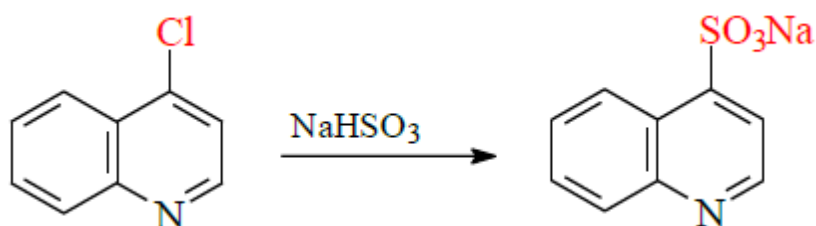
4.5. Заміщення атома галогену на аміногрупи -NH₂, -NHR, -NR₂



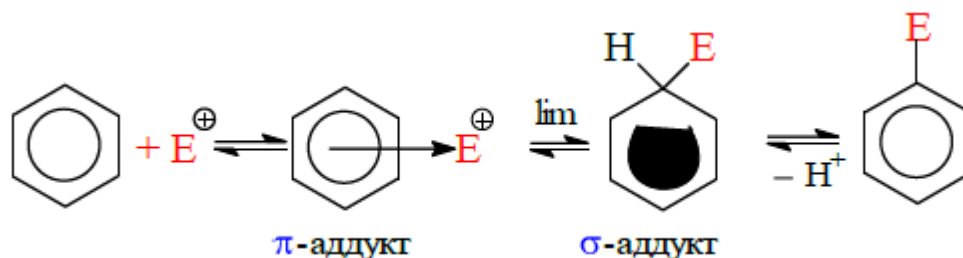
4.6. Заміщення атома галогену на CN-групу



4.7. Заміщення атома галогену на -SO₃Na групу (реакція Штреккера).

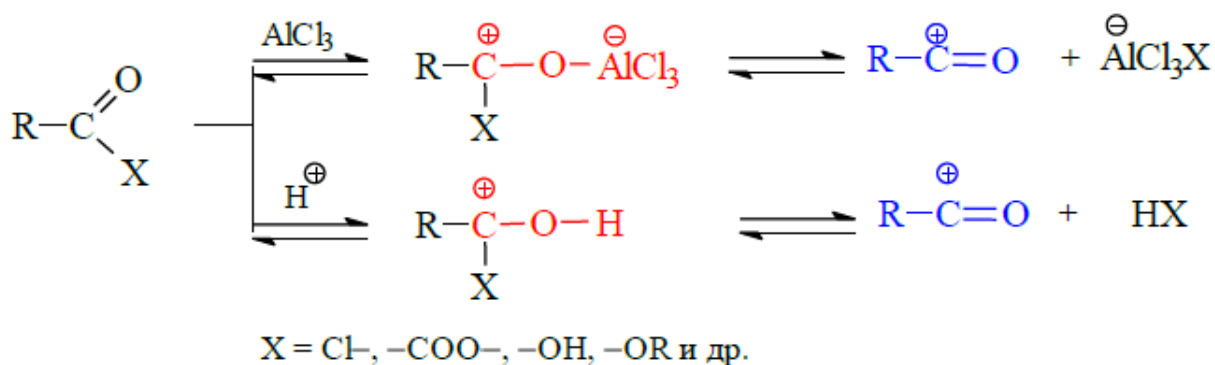


5. Алкілювання. Процес заміщення атома водню або металу в молекулі реагенту на алкільні радикали. Розрізняють С-, N- і О-алкілювання, які відрізняються за умовами проведення. Якщо в молекулу вводиться арил, реакція називається арилювання [14].



6. Ацилювання. Процес введення ацильної групи в молекулу органічної сполуки замість атома водню або іона металу. Розрізняють С-, N- і О-ацилювання.

Ацилюючими агентами є галогенангідриди кислот, ангідриди, кислоти, складні ефіри, амідни. Ацильна група вводиться в молекулу органічної речовини як з метою тимчасового захисту лабільною групи (найчастіше $-\text{NH}_2$), так і з метою зміни вуглецевого скелета молекули і додання речовині нових властивостей [25, 36].



Таким антибіотики піддаються інтенсивній біотрансформації в печінці людини. Основними метаболітами, які визначаються в плазмі крові, є лактамні похідні (Ro 12-8095), що утворюється в процесі окислення частини молекули, і N-оксид (Ro12-5637), який має слабку фармакологічну активність як інгібітор MAO-A. Два метаболіти, які утворюються після розкриття лактамного циклу, проявили фармакологічну активність щодо MAO-B [5].

Антибіотики метаболізуються в печінці в ході окислювальних реакцій ізоферментами CYP2 C19, CYP2 D6 і CYP1 A2. Основними метаболітами є N-оксид (Ro 12-5637) і лактамне похідне (Ro 12-8095). Як приклад приведемо біотрасформацію β -лактамних антибіотиків (див. рис. 1.2)[38].

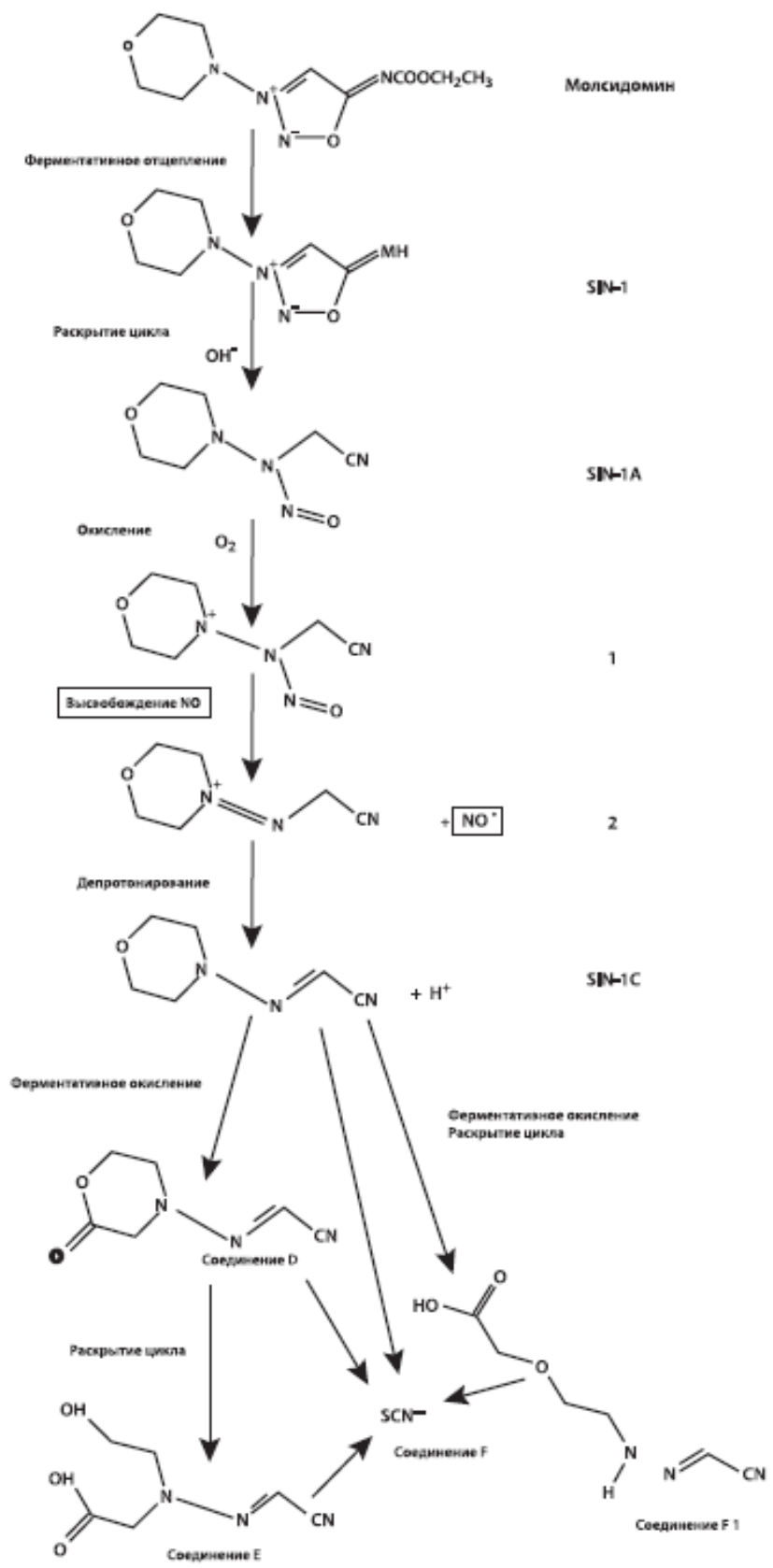


Рис. 1.2. Біотрасформація β-лактамічних антибіотиків

РОЗДІЛ 2. ОБ'ЄКТИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1. Об'єкти досліджень

2.1.1. Характеристика препарату Теравіт К та його застосування у ветеринарії

Кормовий антибіотик Теравіт К, призначений для застосування при вирощуванні і відгодівлі сільськогосподарських тварин і птиці як лікувально-профілактичний засіб.

Діючі речовини. Антибіотик тетрациклінового ряду і вітамін В12. Хлортетрациклін 8%, білків до 35-40%, жирів 8-10%, мінеральні речовини, ферменти, вітаміни (в тому числі до 20 мг / кг вітаміну В12), що мають ростостимулюючі властивості.

Фармакологічні властивості:

- пригнічує розвиток патогенних і умовно-патогенних грам позитивних мікроорганізмів шлунково-кишкового тракту. Антибіотик запобігає розвитку позахромосомної резистентності бактерій до антибактеріальних лікарських засобів, підвищуючи їх ефективність;
- практично не всмоктується з шлунково-кишкового тракту, не накопичується в органах і тканинах тварин; виводиться з організму в незміненому вигляді з калом;
- стимулює ріст і підвищує продуктивність тварин, покращує використання кормів, сприяє профілактиці шлунково-кишкових захворювань;
- переноситься тваринами, включаючи сільськогосподарських птахів;

- сумісний з відомими лікарськими засобами (сульфаніламидами, антибіотиками) і кормовими добавками, що застосовуються в тваринництві та птахівництві

Для лікування. Тетрациклін – антибіотик широкого спектру дії, ефективний при лікуванні пастерельозу, колібактеріозу, бронхопневмонії, гастероентероколітів телят, поросят, хутрових тварин, собак, а також колісептицемії молодняка птиці.

Для профілактики. У стимулюючих дозах Теравіт К позитивно впливає на обмінні процеси в організмі тварин, збільшуючи енергію росту, що сприяє підвищенню стійкості до шлунково-кишкових захворювань і різкого зниження падежу, збільшення приросту і підвищення репродуктивності тварин і птиці.

Застосування у ветеринарії. Антибіотики тетрациклінової і бацитрацинової груп згодують з кормами (концентрати, молочні відвійки, замінювачі незбираного молока) для прискорення росту і підвищення м'ясної продуктивності тварин. Антибіотики дуже ефективні для птиці. Поросятам їх призначають через 7 днів після народження і закінчують давати за 6 діб до забою. Дійним коровам, козам, племінним тваринам антибіотики не застосовують. Корми з антибіотиками не можна запарювати і дріжджувати. До 1 т концентратів додають речовини тетрациклінової групи і бацитрацину з розрахунку 20 г чистого антибіотику і 2 г гризину.

Під впливом зазначених препаратів підвищується стійкість мікрофлори шлунку й кишок, більше утворюється вітамінів і поліпшується травлення, що позитивно впливає на відгодівлю.

Показання до застосування: З метою прискорення росту, підвищення продуктивності, поліпшення використання кормів і профілактики шлунково-кишкових захворювань:

- поросят, свиням на відгодівлі;
- телятам, великій рогатій худобі на відгодівлі;
- сільськогосподарської птиці;
- кроликам;
- хутровим звірам.

Теравіт К ефективний при дотриманні певних умов – суворе дозування препарату, рівномірний розподіл в кормі, регулярна видача його тварині в період використання запорука вдалого використання препарату.

Дози і спосіб застосування: Теравіт К вводять в корм при ретельному двоступеневому перемішуванні на комбікормових заводах і безпосередньо в кормоцехах господарств при наявності відповідного обладнання. Препарат використовують з добового віку до кінця періоду продуктивності з розрахунку грам на тонну комбікорму в наступних дозах:

- Поросята, телята 75 – 200 г / т;
- Відгодівельні свині 37,5 – 60,5 г / т;
- Кури-несучки, індички 37,5 – 60,5 г / т;
- Бройлери, гуси, качки 37,5 – 60,5 г / т;
- Кролі, хутрові звірі 37,5 – 60,5 г / т;
- ВРХ на відгодівлі 37,5 – 200 г / т.

Побічних явищ і ускладнень при застосуванні препарату відповідно до цієї інструкції, як правило, не спостерігається. При підвищеній індивідуальній чутливості і прояві алергічних реакцій застосування препарату припиняють і призначають тварині десенсибілізуючі засоби.

Не слід застосовувати Теравіт К одночасно з тіамфеніколом, хлорамфеніколом, антибіотиками групи пеніциліну, цефалоспаринами і фторхінолонами, а також спільно з лікарськими засобами та кормовими добавками, що містять катіони магнію, алюмінію і кальцію, які, зв'язуючись з активними компонентами препарату, перешкоджають їх адсорбції.

Форма випуску: 25 кг крафт-мішки.

Термін придатності: 3 роки з дати виготовлення. Препарат слід зберігати в упаковці виробника, сухому, захищеному від прямих сонячних променів і вологи місці при температурі від 0 ° до 30 ° С.

2.1.2. Характеристика поживного середовища

Склад поживних середовищ і умови культивування найважливіші критерії як для виробництва продуктів різного мікробного походження, будь-то дріжджі, бактерії, так і для виробництва плодових тіл сапрофітних грибів. Поживне середовище, яке використовується, повинне бути повноцінним за своїм складом бюджетне. Отже, поживне середовище повинне містити в своєму складі необхідні джерела живлення: вуглець, азот, фосфор, вітаміни, неорганічні сполуки, що містять в своєму складі калій, натрій, кальцій, магній, залізо, сірку, фосфор, марганець, цинк, кобальт, молібден, мідь, бор і ін. Присутність вітамінів в поживному середовищі позитивно впливає на ростові якості культури, тобто вітаміни є стимуляторами росту культури. Ще однією важливою вимогою до поживного середовища є його стерильність [2].

Вимоги, що пред'являються до поживних середовищ:

- бути поживними, тобто містити в легко засвоюваному вигляді всі речовини, необхідні для задоволення харчових і енергетичних потреб. При культивуванні мікроорганізмів в середовища вносять фактори росту – вітаміни, деякі амінокислоти, які клітина не може синтезувати.
- мати оптимальну концентрацію водневих іонів – рН, так як тільки при оптимальній реакції середовища, що впливає на проникність оболонки, мікроорганізми можуть засвоювати поживні речовини.
- бути ізотонічними для мікробної клітини; тобто осмотичний тиск в середовищі повинно бути таким же, як всередині клітини.
- бути стерильними, так як сторонні мікроби перешкоджають росту досліджуваного мікроба, визначенню його властивостей і змінюють властивості середовища.
- володіти певним окислювально-відновним потенціалом, тобто співвідношенням речовин, які віддають і приймають електрони, що

виражається індексом RH_2 . Наприклад, анаероби розмножуються при RH_2 не вище 5, а аероби – при RH_2 не нижче 10.

- бути по можливості уніфікованим, тобто містити постійне кількість окремих інгредієнтів.

Для того, що б виробляти антибіотики потрібні макроелементи (азот, вуглець), а так само мікроелементи (залізо, калій і солі кальцію). Дослідження оптимальних умов для виробництва ускладнюються тим, що багато факторів впливає на ріст і синтез речовин. При підборі поживного середовищі важливо враховувати співвідношення вуглецю і азоту, а так же сам джерело азоту. Температура і рН при яких відбувається ферментація, так само дуже впливають. Це пов'язано з активацією ферментів, які діють в процесі синтезу продукту. Рівновага реакції анаболізму і катаболізму зміщується в залежності від рН середовища. Оптимальними умовами для росту *Actinomyces aureofaciens* вважається нейтральна реакція поживного середовища. Оптимальна температура для росту біомаси – 25 °С, а для синтезу екзополісахариду – 30 °С. При збільшенні температури знижується вміст піруватів, який перешкоджає синтезу продукту [7].

Швидкість перемішування поживного середовища так само позначається на зростанні і синтезі. При 800 оборотах в хвилину, різко знижується ріст клітин і вихід екзометаболітів, ймовірно через пошкодження клітин. А при 100 оборотах в хвилину синтез екзометаболітів і зростання культури інгібується через обмеження доступу кисню. Оптимальною швидкістю перемішування є 500 оборотів в хвилину.

Кисень. Так це аеробний організм, вміст кисню в поживному середовищі про важливий фактор для нормального росту *Actinomyces aureofaciens*, так і для синтезу екзометаболітів. Під час культивування кисень доступний тільки в розчинній формі, тому вміст розчиненого кисню в бульйоні не повинно бути менше 6% від всього обсягу. Високий рівень аерації необхідний в експоненційної фазі росту, спочатку стаціонарній фазі росту високий рівень буде надавати інгібуючу дію на синтез екзометаболітів [12].

Вуглець. Кінцевими продуктами трансформації вуглецю є полісахариди, які продукують мікроорганізмами. При цьому зростання сповільнюється, але вони

здатні до переробки субстрату і виділенню екзометаболітів. Як джерело вуглецю можна використовувати: амінокислоти, вуглеводні, вуглеводи, карбонові кислоти і ін. Серед вуглеводів найбільш часто використовують глюкозу, сахарозу, гліцерин, бурякову мелясу і крохмаль [8]. Так само переривчасте додавання вуглеводу запобігає інгібуванню клітинного росту і припинення виробництва екзометаболітів. Використання глюкози, як і сахарози значно збільшує вартість поживного середовища і вартість самого продукту, що не вигідно при масштабному виробництві екзометаболітів.

Сахароза. Концентрація сахарози може бути від 10 до 100 г / л. Якщо в поживному середовищі концентрація сахарози менше концентрації глюкози, то зростання культури і синтез екзометаболітів при цьому не зменшиться. Сахароза є дисахаридом, тому для мікроорганізму вона більш поживна. У поєднанні з калієм фосфорнокислим двузамісного вихід екзометаболітів збільшується. Калій фосфорнокислий двозамісний створює певні буферні умови, сприятливі для ферментації. Так само виникають проблеми з адаптацією штамів до високої концентрації вуглеводів в середовищі. Однак, вихід продукту значно нижче, ніж при використанні сахарози [17].

Гліцерин. Побічний продукт біодизельної промисловості, дешевий у використанні. Однак, не всі штами *Actinomycetales* здатні використовувати його в якості джерела вуглецю [3].

Азот. При засвоєнні азоту можуть виникнути метаболічні блоки на рівні включення сполуки азоту в клітку. Джерело азоту може бути як органічного так і неорганічного походження. При порівнянні впливу мінеральних і органічних джерел азоту в поживному середовищі на ріст біомаси та синтез екзометаболітів дозволяє зробити висновки, що найбільш зручним є використання органічних джерел, наприклад – сечовини, дріжджових препаратів, молочної сироватки [12]. З неорганічних джерел добре засвоюються: двозамісний фосфат амонію, глутамат натрію і нітрат натрію [4]. Надлишок азоту може призвести до зменшення продукції ксантану, проте зростання культури збільшиться. Це пояснюється тим, що інтенсивне зростання, є більш енергоємним процесом, і призводить до швидкого

виснаження поживного середовища внаслідок чого, сповільнюється біосинтез екзометаболітів [7]. Амоній є хорошим джерелом азоту в поживних середовищах для накопичення біомаси, однак виробництво екзометаболітів збільшується при додаванні нітратів. Важливо враховувати співвідношення вуглецю до азоту, як правило, низькі концентрації вуглецю і азоту сприяють виробництву екзометаболітів. Гідролізат казеїну призводить до утворення неупорядкованої структури, що сильно послаблює його реологічні властивості [13].

Органічні кислоти. Без присутності в складах поживних середовищ органічних кислот синтез екзометаболітів і зростання біомаси неможливий. Найпоширенішою кислотою використовуваною при синтезі антибіотиків є лимонна кислота, але так само використовують і її аналоги такі як fumarova і бурштинова кислоти [15]. У різних джерелах літератури відзначається, що бурштинова кислота надає інтенсифікуючу дію на синтез екзометаболітів, а присутність fumarovoї кислоти в поживному середовищі значно збільшує приріст біомаси. Наявність в середовищі fumarату призводить до утворення ксантану, який сильно розгалужений і має щільну оболонку, обумовлену сильними міжмолекулярними зв'язками [17].

У деяких джерелах так само відзначається вплив магнію і фосфору на ріст культури, а вміст сірки в поживному середовищі на синтез полісахариду [11]. Отже, таким вимогам відповідає безперервне культивування у ферментері об'ємом 5 м. куб.

Стерилізувати середовище необхідно при 121 ° С, 30 хв. Необхідна температура для культивування 28 ° С. Поживні середовища є основою мікробіологічних робіт, і їх якість нерідко визначає результати всього дослідження. Склад середовища для культивування наведений нижче (див. табл. 2.1):

Склад поживного середовища для культивування продуценту кормового
антибіотика Теравік К

Компоненти поживного середовища	Стандартне поживне середовище	Удосконалене поживне середовище
Кукурудзяне борошно	12,0	-
Крейда	1,4	1,7
Риб'ячий жир	3,6	2,5
Хлорид кобальту	0,0003	0,0003
Лапрол	0,06	-
Соя	-	10,0
NaCl	-	4,0
Меляса	-	5,0

Для приготування поживного середовища для виробничих ферментерів передбачається роздільна стерилізація з застосуванням установки безперервної стерилізації (УБС) вуглеводовмісних компонентів (1 партія) та азотовмісних компонентів (2 партія) для розчинення використовують окремі ємності, і стерилізуються водні суміші цих компонентів послідовно у УБС.

1. Об'єм поживного середовища, що треба приготувати, дорівнює корисному об'єму ферментера (V_1)

$$V_1 = V \times 0,5, \text{ м}^3 \quad (2.1)$$

де V – повний об'єм ферментера;

0,5 – коефіцієнт заповнення.

2. Під час стерилізації поживного середовища в УБС відбувається її розбавлення конденсатом (орієнтовно на 15-20%), в зв'язку з цим, об'єм води, що використовується для приготування середовища (V_2), повинен бути зменшений на 20% і складе:

$$V_2 = V_1 - (V_1 \times 0,2\text{м}^3) \quad (2.2)$$

де V_1 – корисний об'єм ферментера;

0,2 – коефіцієнт, що враховує розбавлення середовища конденсатом.

3. Об'єм води для приготування I партії середовища (V_3) становить 65-70% від загального об'єму води:

$$V_3 = V_2 \times 0,7\text{м}^3.$$

а для приготування II партії середовища об'єм води (V_4) складе:

$$V_4 = V_2 \times 0,3\text{м}^3.$$

Повний об'єм реактора (V_5) для I партії середовища з коефіцієнтом заповнення 0,7 складе:

$$V_5 = V_3 / 0,7\text{м}^3,$$

а для II партії середовища:

$$V_6 = V_4 / 0,7 \text{ м}^3.$$

Вибираємо реактори з мішалкою згідно з отриманими по розрахунку об'ємами і встановлюємо розрахункову кількість реакторів і один запасний, габарити, мм.

4. Стерилізація поживного середовища в установці безперервної стерилізації (УБС).

Кількість середовища, що поступає на стерилізацію за добу (Q_8):

$$Q_8 = V_2 \text{ м}^3.$$

Час стерилізації середовища не повинен перевищувати 3 години.

Відповідно до цього, продуктивність (q_1) УБС повинна складати:

$$q_1 = Q_8 / 3 \text{ м}^3/\text{год},$$

По розрахованій продуктивності вибирається або розраховується УБС.

Загальний час зайнятості УБС складається з часу на стерилізацію середовища і часу підготовки УБС до роботи. Час підготовки УБС складається з ряду допоміжних робіт :

- миття апаратури – (0,5 – 1,0) година;
- ревізії арматури – (0,5 – 1,0) година;
- перевірки на герметичність – (0,5 – 1,0) година;

- стерилізації УБС – (0,5 – 1,0) година.

Встановлюють УБС потрібної продуктивності і одну запасну, габарити, мм.

Умови культивування наведені у таблиці нижче (див. табл. 2.2.)

Таблиця 2.2

Умови культивування культури *Actinomyces aureofaciens*.

	Стандартне поживне середовище	Удосконалене поживне середовище
Час, год.	216	196
t, °C	27	27
pH	5,6	5,6
Кількість об/хв.	200	180

2.1.3. Характеристика актиноміцету – продуцента кормового антибіотика

Теравіт К

Термін «актиноміцети» об'єднує широке коло грампозитивних бактерій. У сучасній систематиці актиноміцети відносяться до прокаріотичних мікроорганізмів: царство *Bacteria*, відділ *Actinobacteria*, клас *Actinobacteria*, підклас *Actinobacteridae*, порядок *Actinomycetales*, що включає 30 родин, більше 100 родів, 700 видів (Stackebrandt et al, 1997).

Колишня назва актиноміцетів – «променисті грибки» пов'язане з зовнішньою схожістю цієї групи бактерій з мікроскопічними грибами: талом більшості актиноміцетів має форму тонких розгалужених ниток (гіф), що складають в діаметрі 0,2 - 2 мкм. Основна відмінність актиноміцетів від мікроскопічних грибів – це відсутність ядра в клітинах, клітинна стінка містять пептиди-глікани і не містять хітин і целюлозу.

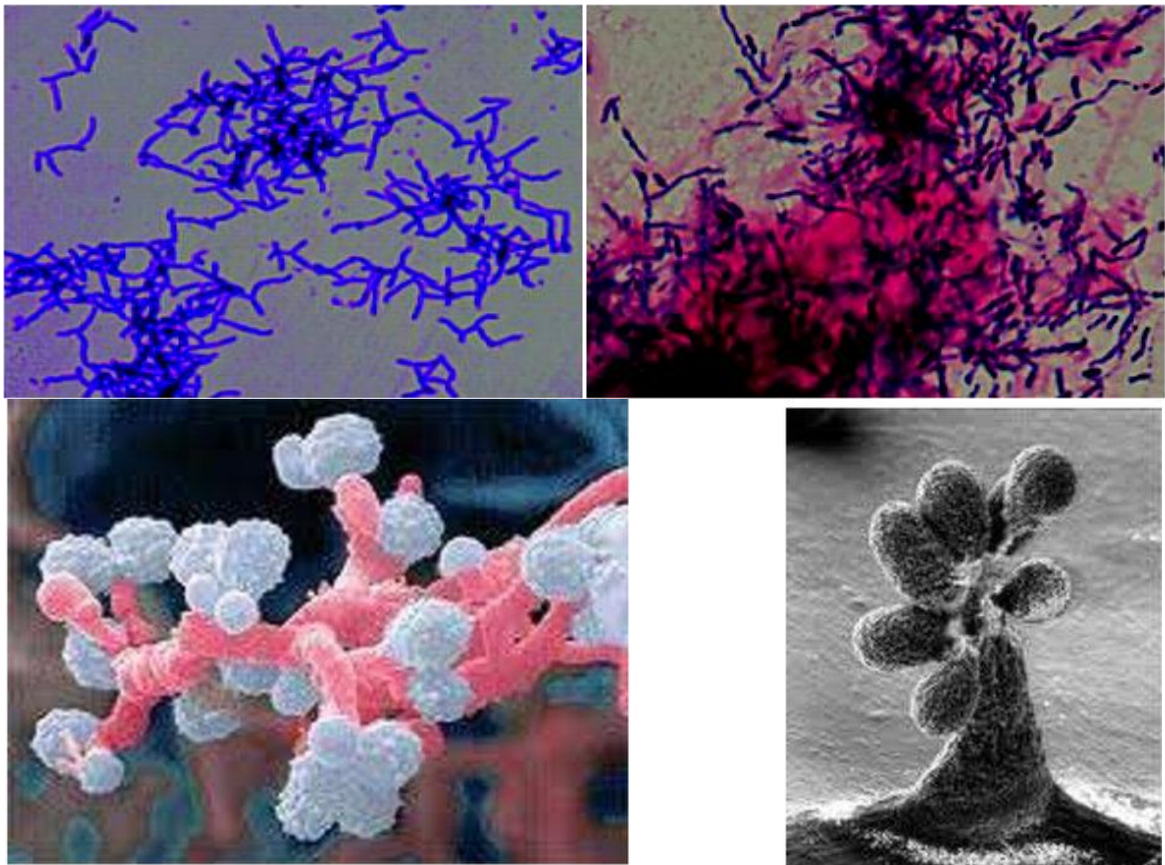


Рис. 2.1. Загальний вигляд *Actinomyces aureofaciens* під збільшенням x900, x1300

Актиноміцети – порядок бактерій, що мають здатність до формування на деяких стадіях розвитку розгалуженого міцелію, який проявляється у них в оптимальних для існування умовах. Деякі дослідники, підкреслюючи бактеріальну природу актиноміцетів, називають їх аналогом грибного міцелію тонкими нитками; їх діаметр 0,4-1,5 мкм. Актиноміцети мають кислотостійкий (англ. *Acid fast*) тип клітинної стінки, яка забарвлюється за Грамом як грампозитивна, однак за структурою вони ближче до грамнегативних. Характеризуються високим (60-75%) вмістом ГЦ пар в ДНК.

Найбільш поширені в ґрунті: в ній виявляються представники майже всіх родів актиноміцетів. Актиноміцети зазвичай складають чверть бактерій, що виростають на традиційних середовищах при посівах їх розлучених ґрунтових суспензій і 5-15% прокариотної біомаси, яка визначається за допомогою люмінесцентної мікроскопії. Їх екологічна роль полягає найчастіше в розкладанні

складних стійких субстратів; імовірно вони беруть участь в синтезі і розкладанні гумінових речовин. Можуть виступати симбіонтами безхребетних та вищих рослин.

Непрямі дані дозволяють припустити у актиноміцетів апікальний ріст. Диференціація міцелію – процес ускладнення в процесі розвитку колонії *Actinomyces aureofaciens*. Перш за все вона проявляється в розподілі на первинний (субстратний) і вторинний (повітряний) міцелій. Повітряний він гідрофобний, містить більше ДНК і ферментів, на поверхні його клітин є різні структури (паличкоподібні, фібрили).

Міцелій з рідкісними перегородками, практично ценоцитний у споро утворюючих форм *Actinomyces aureofaciens*, з частими перегородками (септами) у форм *Actinomycetales*, для яких міцелій розпадається і близьких до них. Вегетативні клітини більшості форм діляться поперечними перегородками, *Geodermatophilus* і *Dermatophilus* – у взаємно перпендикулярних напрямках, деякі актиноміцети містять клітини з септах, що проходять в абсолютно різних напрямках (спорангії *Micromonospora*, везикули *Frankia*). Розгалуження відбувається за механізмом брунькування.

Часто диференціація проявляється в утворенні аміцеліарних структур:

- корем – тісне переплетення гіф, що злилися, склеєних слизом з оксидами заліза;
- агрегати клітин;
- кристали вторинних метаболітів;
- «сірчані гранули»;
- склероції – потовщені гіфи з вакуолями, заповненими ліпідами, можуть проростати як спори;
- везикули – інкапсульовані азотфіксуючі утворення у *Frankia*.

В процесі старіння цитоплазма клітин набуває нерівномірну електронну щільність, в ній перестають відрізнятися рибосоми, кордон нуклеоїда розпливається, клітинна стінка стає тонкою і рихлою, утворюється мікрокапсула. При автолізисі в цитоплазмі утворюються великі світлі ділянки, нуклеоїд розпадається, в клітинній

стіни утворюються отвори, клітина заповнюється мембранними структурами, що руйнуються останніми.

Нокардіоформні актиноміцети рідко утворюють спори і розмножуються переважно фрагментами міцелію, який швидко розпадається. Актиноміцети, що мають тривалі міцеліальні стадії, розрізняються за типом спороутворення.

Спороутворення. За кількістю спор актиноміцети ділять на моно- (наприклад, *Saccaromonospora*, *Micromonospora*), оліго- (*Actinomadura*) і полі спорові форми (*Streptomyces*), виділяючи особливо ті, які утворюють спорангії. Спороутворення переважно екзогенне (*Thermoactinomyces* утворює справжні ендоспори, проте в даний час цей рід на підставі хемотаксономічних і генетичних ознак, незважаючи на виражену міцеліальну стадію, схильні відносити до бацили), рідше псевдоендогенне (*Planomonospora*, *Dactylosporangium*).

У *Streptomyces* і спорулюючих *Actinomyces* спори утворюються в два етапи:

1. Апікальна ділянка повітряної гіфи відділяє септ, нуклеоїд витягується.
2. Майже одночасно клітина ділиться септами на ділянки, нуклеоїд ділиться в тих же місцях, клітинна стінка стає в 2 рази товще, спори округлюються і їх стінка стає в 7 разів товщі стінки гіфи.

У олігоспорових септи закладаються базипітально. У монспорових септи можуть утворюватися за механізмом брунькування. Спороутворення викликається так званим фактором А ($C_{13}H_{22}O_4$).

Проростання відбувається в наступні стадії:

- Инактивна спора гідрофобна, термостійка, не проявляє дихальної активності
- Змочена активована спора проявляє активність ферментів, починається дихання
- Спора набухає, починається синтез РНК
- Вихід 1-3 (рідше 4) ростових трубок, починається синтез ДНК. Ця стадія незворотна, інші три – оборотні.

Утворюють друзди – скупчення переплетених ниток з колбоподібними стовщеннями на кінцях. Пігменти можуть бути відсутніми через мутації або деградації колонії. *Actinomyces aureofaciens* мають аеробні тип дихання. Оптимальною температурою для росту колоній вважається 25-30 ° С.

У переважній більшості випадків окремі види актиноміцетів синтезують не один, а кілька вторинних метаболітів (антибіотики, пігменти). Деякі ж варіанти популяції (крім основного) синтезують лише один вторинний метаболіт із загального комплексу біологічно активних речовин, що виділяються типовим штамом.

2.1.4. Обладнання для виробництва препарату Теравіт К на відходах промислових підприємств

Проведення біосинтезу відноситься до найбільш важливої та відповідальної ділянки виробництва біотехнологічної продукції. Спосіб проведення біосинтезу необхідно проводити так, щоб максимально зменшити затрати та отримати максимальну кількість цільової продукції, враховуючи усі особливості біологічного агенту, його потреби для надсинтезу цільової продукції.

Проведення біосинтезу можна реалізовувати різними шляхами, як технічними так і технологічними. Особливості обраних способів впливатимуть на хід усього процесу. Технологічна схема, яка обирається повинна забезпечувати оптимізацію усіх виробничих заходів з точним дотриманням оптимальних умов на кожній стадії, необхідних для синтезу кінцевої продукції [17].

Продукенти біологічно активних сполук можна культивувати двома способами: поверхневим, коли культуру вирощують в тонкому шарі сипучого або пористого середовища з аерацією; глибинним, коли продуцент вирощують на рідкому середовищі при перемішуванні і аерації.

Вибір того чи іншого методу залежить від кінцевої мети культивування. Кінцевою метою може бути або накопичення біомаси, або виділення продукту життєдіяльності метаболізму. Поверхнєве культивування полягає у вирощуванні

культури гриба на поверхні рідких, сипучих і щільних неагаризованих поживних середовищах. При цьому культура отримує кисень безпосередньо з повітря. Відповідно, що культура, яка вирощується, є аеробним мікроорганізмом. При вирощуванні на рідкому середовищі на поверхні утворюється плівка міцелію. Однак при такому способі вирощування міцелій продукує не тільки ферменти, а й органічні кислоти, які в свою чергу інгібують дані ферменти. Тому найбільш вигідним є використання щільних субстратів, що складаються з висівків, тирси або стружок, картопляної мезги, дробини барди і багато чого іншого [4]. В якості найбільш використовуваної поживного середовища використовуються зволожені пшеничні висівки, як основний компонент середовища, з додаванням різних солей, що містять кальцій, фосфор, магній, а також основні поживні елементи – вуглець і азот у співвідношенні 7: 1, що забезпечують інтенсивний розвиток культури і біосинтез кінцевого продукту.

Поверхневий спосіб вирощування грибів має перевагу: під час зростання гриба перемішування субстрату не відбувається, отже, якщо і є якесь забруднення, то інфікування спостерігається лише на ділянці з забрудненням, тобто місцеве інфікування.

Недоліки:

1. Стерилізація середовища, повітря і обладнання;
2. Складність механізації процесу;
3. Собівартість культури-продуцента;
4. Може бути тільки періодичним.

Тобто, метод поверхневого культивування має ряд недоліків, серед яких велика трудомісткість робіт, громіздкість обладнання, трудомісткість в контролюванні процесу, його основних параметрів, внаслідок чого кінцевий продукт може мати незадовільну якість і активність. В зв'язку з цим кращим методом є глибинний.

Глибинне культивування це вирощування культури, зануреної в рідку поживне середовище. Глибинне культивування є найбільш перспективним у порівнянні з поверхневим. Для того щоб поживні речовини і кисень надходили до

всіх клітин міцелію, необхідно механічне перемішування і безперервна аерація, які одночасно створюють сприятливі умови для зростання і накопичення біомаси продуктів метаболізму.

Глибинне культивування відбувається строго в певних умовах, відповідних фізіологічним потребам гриба, з дотриманням стерильності на всіх етапах ферментаційного процесу. Глибинний процес вирощування є більш економічним, оскільки скорочується термін ферментації і збільшується кількість одержуваного продукту [6].

Однак глибинний метод потребує спеціального дорогого обладнання з високою регулюванням ферментаційного процесу, з подачею великої кількості стерильного повітря. Безперервне культивування в 3-4 рази прискорює адаптацію в порівнянні зі стаціонарною культурою і сприяє селекції більш активних рас. Для вирощування грибів, які є аеробами, в глибинних шарах рідкої культури потрібна додаткова аерація, так як гриби використовують тільки розчинений кисень. Швидкість переходу кисню в розчин збільшується зі збільшенням поверхонь розділу між газовою і рідкою фазами, а також з підвищенням парціального тиску O_2 в газовій фазі.

Для збільшення поверхонь розділу вдаються до таких способів, як культивування в тонкому шарі, перемішування рідини шляхом струшування (прямого або кругового), обертання судин навколо їх поздовжньої осі, механічне перемішування, пропускання повітря через рідину під тиском за допомогою газорозподільні.

У лабораторних умовах зазвичай використовують вирощування наступними способами:

- зі струшуванням;
- на поступальної або обертальної гойдалці;
- в судинах різної ємності з відбійниками;
- з барботажем через середовище повітря без додаткового перемішування середовища;

- в ферментерах невеликої ємності (1 - 10 л) з продуванням повітря і механічним перемішуванням.

У промислових умовах вирощування виробляють в ферментерах або системі ферментерів, що досягають в обсязі від декількох тисяч до декількох десятків тисяч літрів.

За глибинного методу вирощування легко контролювати оптимальні умови середовища, активність продуценту, накопичення кінцевого продукту. Обладнання для глибинної ферментації має менші об'єми, габарити та оптимізовані таким чином, щоб зменшити трудомісткість процесу біосинтезу [13, 20].

Отже, таким вимогам відповідає безперервне глибинне культивування у ферментері об'ємом 5 м. куб. Схема такого культивування наведена нижче:

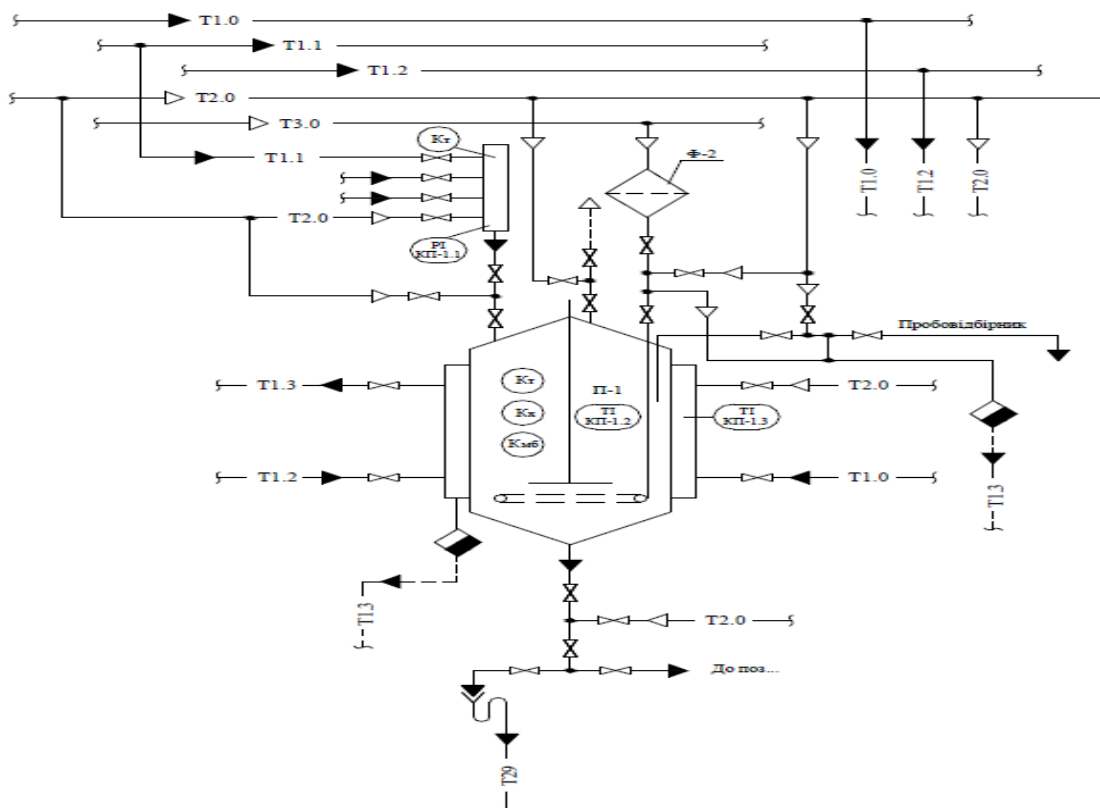


Рис. 2.2. Апаратна схема процесу культивування *Actinomyces aureofaciens* з використанням ферментера з нижнім випуском рідини

T1.0 - Вода технічна холодна; T1.1- Вода питна; T1.2- Вода технічна гаряча; T1.3- Вода оборотна; T2.0- Пара P=0,2 Мпа; T3.0 - Стиснене технологічне повітря. П-1 Посівний апарат; Ф-2 Індивідуальний фільтр стерилізації повітря.

2.2. Методи дослідження

Визначення біомаси в культуральній рідині. Метод широко застосовують для оцінки зростання мікроорганізмів в рідких поживних середовищах. Можна використовувати його і для визначення маси клітин, вирощених на щільному поживному середовищі, однак в цьому випадку мікроорганізми необхідно попередньо ретельно змити з поверхні середовища фізіологічним розчином або водою і перевести в суспензію. Метод не може бути використаний при культивуванні мікроорганізмів на середовищах, до складу яких входять з'єднання, нерозчинні у воді [17].

Визначення біомаси складається з трьох послідовних операцій доведення маси центрифужних пробірок або фільтрів до постійного значення, відділення клітин мікроорганізмів від культуральної рідини, визначення їх маси. Найчастіше визначають масу сухих клітин, хоча іноді можна обмежитися визначенням сирої біомаси. В останньому випадку перший етап відпадає досить тільки зважити центрифужну пробірку (фільтр), але не доводити її масу до постійного значення. Біомасу зазвичай висловлюють в грамах або міліграмах на літр культуральної рідини.

Визначення вмісту загального білку у культуральній рідині. Метод базується на виникненні пігментованих продуктів ароматичних амінокислот з реактивом Фоліна в сукупності з реакцією на пептидні зв'язки (біуретовою реакцією).

Метод визначення загального білку методом Лоурі є високо чутливим (10 - 100 мкг білка в пробі). Розвиток пігментації обумовлюється великою кількістю речовин, серед яких: компоненти буферних систем (трис-буфер в концентрації 0,2 мМ, гліцилгліцин), відновники (цистеїн, дітіотреїтол в концентрації 0,01 - 0,4 мМ, аскорбінова кислота), комплексопи (ЕДТА в концентрації 0,5 мМ), детергенти (тритон X100 в концентрації 0,1 - 0,2% викликає випадання осаду), сірчаноокислий амоній в концентрації 0,15%, сахароза в концентрації 10% та ін. Через наявність цих речовин, в розчинник для стандартного білку необхідно включати всі складові, що містяться в досліджуваних пробах за для побудови калібрувального графіку [5].

Кількість білка в досліджуваній пробі пропорційна інтенсивності пігментації комплексу, яка вимірюється спектрофотометричним методом.

Послідовність роботи по визначенню концентрації речовини в розчині:

- 1) для даної речовини будують калібрувальну криву;
- 2) вимірюють оптичну щільність досліджуваного розчину та визначають концентрацію речовини у розчині за допомогою калібрувальної кривої.

Реактиви.

- Реактив А: 2% -й розчин Na_2CO_3 в 0,1 н. розчині NaOH .
- Реактив Б: 0,5% -й розчин $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ в 1% -му цитрат натрію.
- Реактив В: готується безпосередньо перед роботою: 49 мл реактиву А + 1 мл реактиву Б.
- Реактив Г: Реактив Фоліна - Чокальтеу:

10 г $\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (перекристалізований) і 2,5 г $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ поміщають в колбу з круглим дном об'ємом 200 - 250 мл, додають 70 мл води, ретельно перемішують. До отриманого розчину додають 5 мл 85% -го розчину фосфорної кислоти і 10 мл концентрованої соляної кислоти. Колбу з'єднують зі зворотнім холодильником, поміщують на сітку і кип'ятять протягом 10 годин. Після чого до розчину додають 15 г Li_2SO_4 , 5 мл води і одну краплину бром. Розчин інтенсивно розмішують і проводять нагрівання з метою видалення бром. Потім охолоджують і доводять об'єм до 100 мл водою, фільтрують і розбавляють водою, розраховуючи об'єм води так, щоб в результаті отримати 1 н розчин кислоти (приблизно вдвічі). Для визначення кислотності титрують розведений в 10 разів реактив 0,1 н лугом за присутністю фенолфталеїну. Реактив може зберігатися в темній склянці тривалий час.

- Реактив Д: стандартний розчин білку, що містить 0,25 мг в 1 мл розчину.
- Реактив Е: розчин білка концентрації Х.

Обладнання: Пробірки, кювети, спектрофотометр.

Хід визначення. За допомогою дистильованої води і стандартного розчину білку готують розчини білку різної концентрації у 4-х пробірках. Також, готують контрольну пробу, що не містить білку. Шоста пробірка повинна містити 0,4 мл розчину білку невизначеної концентрації – X (див. таблицю 2.1).

Таблиця 2.1

№ проби	Концентрація білка, мг/мл	Об`єм стандартного розчину білка, мл	Об`єм дистильованої води, мл	Загальний об`єм досліджуваної проби, мл
1	0,063	0,1	0,3	0,4
2	0,120	0,2	0,2	0,4
3	0,183	0,3	0,1	0,4
4	0,250	0,4	0	0,4
5(K)	0	0	0,4	0,4
6(X)	X	0,4(мг x)	0	0,4

По 2 мл реактиву В додають до кожної з пробірок, після чого інтенсивно перемішують суміш. Після 10 хвилинної витримки додають 0,2 мл реактиву Г Фоліна-Чокальтеу. Реакційну масу розмішують і дають витримку при кімнатній температурі протягом 30 хв.

Інтенсивність забарвлення вимірюють спектрофотометричним методом (довжина хвилі має становити 650 нм).

Побудова калібрувальної кривої. Після виміру оптичної щільності кожного з розчинів будують графік (калібровану криву), таким чином, щоб горизонтальна ось (вісь абсцис) містила відомі концентрації, а вертикальна ось (вісь ординат) містила значення оптичної щільності відповідні відомим концентраціям.

За допомогою калібрувальної кривої розраховують невизначену концентрацію білку у досліджуваному розчині, відповідну виміряному значенню оптичної щільності [58].

Визначання активної кислотності. Активна кислотність вимірюється на рН-метрі по методиці, викладеній в паспорті, що додається до прибору. Правильність роботи рН-метра перевіряється по буферному розчину з рН 4,0, приготованим з фіксаналів, призначених для приготування образцових буферних розчинів, наприклад 0,05 моль / дм³ розчину гідрофталату калію (КС₈Н₅О₄). Активну кислотність визначають рН-метром у суслі, що отримують при фільтруванні затору через паперовий фільтр.

Визначення антибактеріальної дії. Антагоністичну активність штамів досліджують методом лунок – на тверде середовище із колонією мікроорганізмів акуратно поміщають паперові диски, що змочені у розчині із можливою антибактеріальною дією. Культивують мікроорганізми встановлений термін та оцінюють діаметр зони пригнічення росту навколо паперового диску [15]

Статистична обробка результатів. Отримані результати обробляли статистично, використовуючи параметричний метод (t-критерій Стьюдента). Обробка результатів проводилася за допомогою програми Excel.

РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ

3.1. Підбір оптимального складу поживного середовища для отримання препарату Теравіт К

Поживні середовища є основою мікробіологічних робіт, і їх якість нерідко визначає результати всього дослідження. Оскільки в нашій роботі були використані мікроорганізми *Actinomycetales* декількох родин, за для отримання кормового антибіотику на відходах виробництва, то першою ланкою виробництва стає отримання достатньої кількості продуцентів.

Культивування *Actinomyces aureofaciens* проводять на рідких поживних середовищах, представлених в табл. 3.1 [32]. Культури вирощувалися в колбах Ерленмейера об'ємом 750 мл, що містять 150 мл рідкого поживного середовища, при постійному хитанні при 180 об / хвилини і температурі 28 °С.

Таблиця 3.1

Склад рідких поживних середовищ, які використовуються в виробництві антибіотиків

Назва поживного середовища	Склад
1	2
Органічне середовище 2 гауз з крейдою	Тритон – 3,0 г; NaCl – 5,0 г; пептони – 5,0 г; CaCO ₃ – 2,5 г; глюкоза – 10,0 г; вода – 1000 мл; pH 7,2 - 7,4
Середовище А4	Соя – 10,0 г; NaCl – 5,0 г; глюкоза – 10,0 г; CaCO ₃ – 2,5 г; вода – 1000 мл; pH 7,2-7,4
Середовище 330	Крохмаль – 20,0 г; NaCl – 0,5 г; горох – 0,5 г; CaCO ₃ – 5,0 г; сахароза – 0,5 г; вода – 1000 мл; NaNO ₃ – 5,0 г; pH 7,0
Середовище 6613	KaNO ₃ – 4,0 г; NaCl – 0,5 г; CaCO ₃ – 5,0 г; дріжджовий екстракт – 2,5 г; крохмаль – 20,0 г; вода – 1000 мл; pH 7,0

Продовження таблиці 3.1

1	2
Середовище 2663	Соя – 15,0 г; NaCl – 2,0 г; гліцерин – 30,0 г; CaCO ₃ – 5,0 г; вода – 1000 мл; pH 7,0
Середовище 5339	Соя – 5,0 г; NaCl – 3,0 г; гліцерин – 20,0 г; CaCO ₃ – 2,0 г; (NH ₄) ₂ SO ₄ – 1,5 г; вода – 1000 мл; pH = 6,8
Середовище 11654	Соя – 20,0 г; NaCl – 3,0 г; глюкоза – 30,0 г; CaCO ₃ – 3,0 г; вода – 1000 мл; pH 7,4
Середовище «САХ»	Сахароза – 20,0 г; NaCl – 3,0 г; соя – 10,0 г; CaCO ₃ – 3,0 г; KNO ₃ – 2,0 г; вода – 1000 мл; pH 7,0
Середовище «ТОБРЕКС»	Глюкоза – 40,0 г; KCl – 0,5 г; пептони – 10,0 г; NaNO ₃ – 3,0 г; MgSO ₄ – 1,5 г; FeSO ₄ – 10,0 мг; KH ₂ PO ₄ – 2,0 г; вода дистильована – 1000 мл; pH 5,2

2. Накопичувальне середовище для культивування *Actinomyces aureofaciens* (середовище №1) [45]. Для культивування *Actinomyces aureofaciens* використовують поживне середовище, наступного складу:

- кукурудзяне борошно – 12 %,
- крейда – 1,4 %,
- риб'ячий жир – 3,6 %,
- хлорид кобальту – 0,0003 %,
- лапрол – 0,06%.

Приготоване поживне середовище розливають по колбам Ерленмейера об'ємом 250 см³, закривають ватно-марлевими пробками, пергаментним папером і стерилізують в автоклаві при 121 °С (1 атм) протягом 20 хв.

Нашим вимогам відповідає безперервне культивування у ферментері об'ємом 5 м. куб.

Склад удосконаленого середовища:

- соя – 10 %,
- крейда – 1,4 %,
- риб'ячий жир – 3,6 %,

- хлорид кобальту – 0,0003 %,
- NaCl- 4,0%,
- Меляса- 5,0%.

Стерилізувати середовище необхідно при 121 °С, 30 хв. Необхідна температура для культивування 27 °С (див. рис. 3.1):

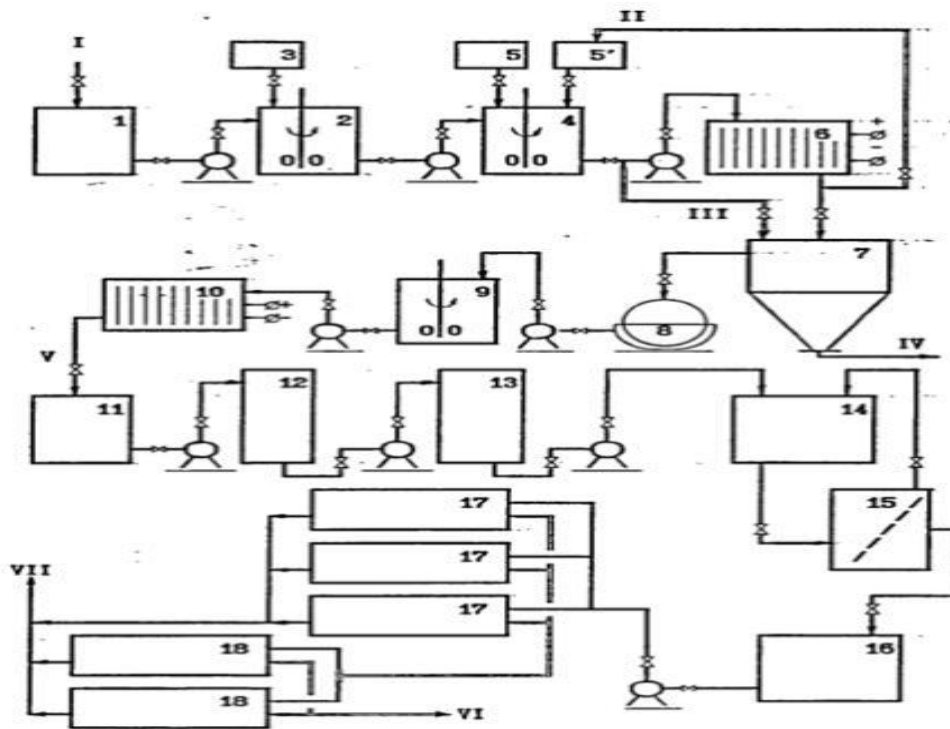


Рис. 3.1. Технологічна схема локальної очистки стічних вод у виробництві антибіотиків.

На цій схемі:

1 – ємність для СВ; 2 – реакторзмішувач для відпрацювання відпрацьованого нативного розчину (ВНР) H_2O_2 ; 3 – ємність для H_2O_2 ; 4 – реактор змішувач для підготовки ВНР до електрокоагуляції; 5 – ємності для HCl, NaOH, розсілу чи оксосульфату алюмінію; 6 – електрокоагулятор; 7 – реакторвідстійник; 8 – вакуум-барабанний фільтр; 9 – приймальна ємність-реактор; 10 – електродеструктор; 11 – приймальна ємність для очищеного ВНР; 12 – пісчаний фільтр; 13 – фільтр з БАУ; 14 – ємність-зосереджувач; 15 – установка ультрафільтраційної очистки; 16 – приймальна ємністьзосереджувач; 17, 18 – установки зворотнього осмосу 1-го та 2-го ступеню.

Потоки:

I – ВНР; II – розчин оксосульфату алюмінію; III – ВНР, відпрацьований оксосульфатом алюмінію; IV – осад; V – очищений ВНР; VI – розсільний концентрат; VII – очищена вода.

3.2. Культивування продуценту Теравіт К

Біосинтез антибіотиків при глибинному культивуванні проводився у 15 штамів актиноміцетів (6 штамів ґрунтових і 9 штамів ендofітних актиноміцетів), які належали до культурам рідкісних родів порядку *Actinomycetales* – *Nonomuraea spp.*, *Nocardiosis spp.* і *Actinoplanes spp.* на підставі вивчення антибіотичних властивостей на накопичувальних середовищах відібрані штами були активні щодо грампозитивних тест-бактерій, включаючи метицилінорезистентного стафілококу *Staphylococcus aureus* ІНА 00761 (MRSA). Порівняння запропонованого нами середовища для культивування антибіотику та стандартного середовища показало, що вміст у культуральній сировині кінцевого продукту вище майже на 25 відсотків та становить у середньому 24 мг/мл речовини у культуральній рідині в порівнянні із 20 мг/мл речовини при культивування на стандартному середовищі (див. рис. 3.2):

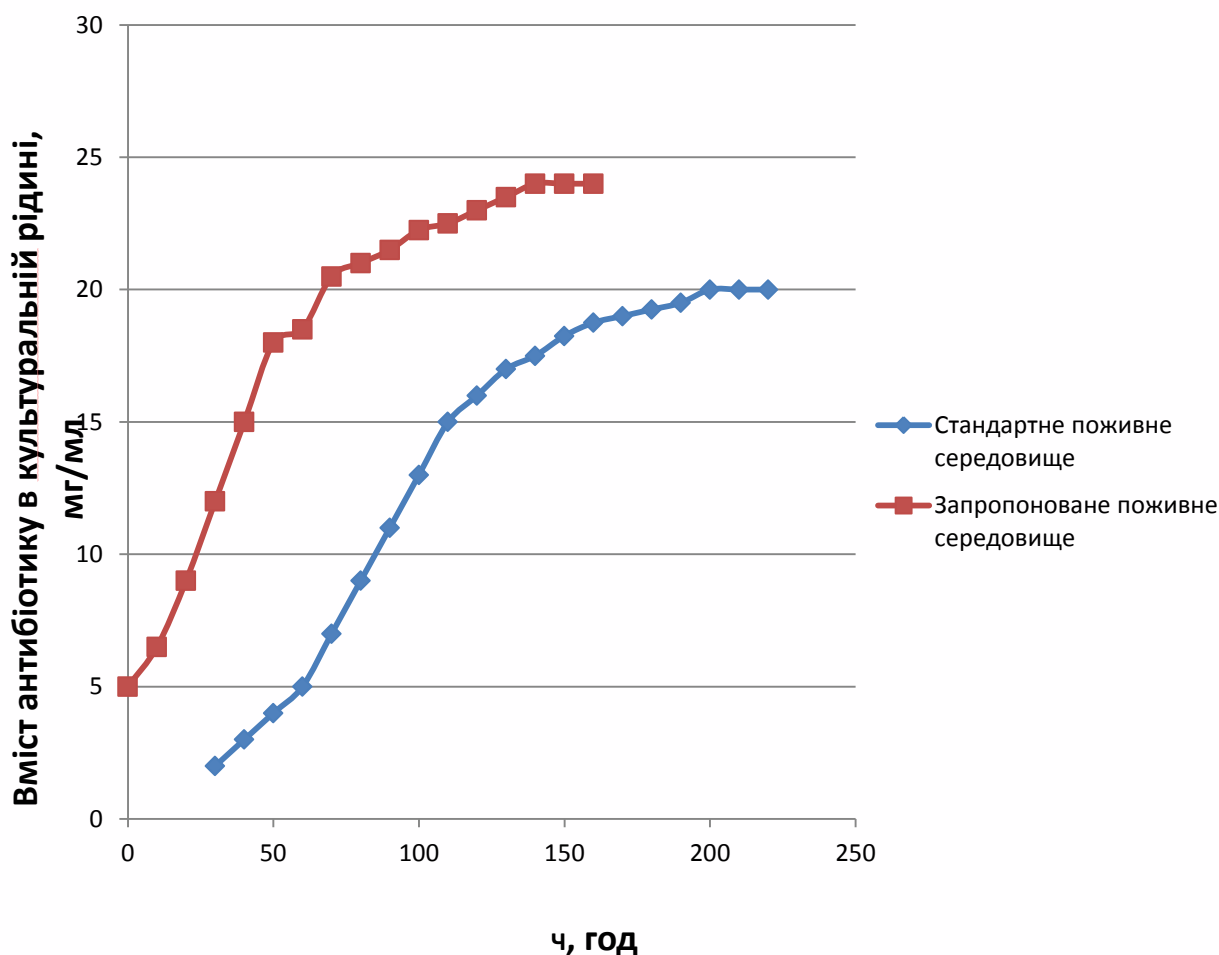


Рис. 3.2. Вміст антибіотику при культивуванні на стандартному та запропонованому поживному середовищі

Визначення антибіотичного спектра дії культуральної рідини досліджуваних штамів проводять кожні 48 годин методом дифузії в органічний агар 2 гауз (триптон – 3,0 г; NaCl – 5,0 г; пептони – 5,0 г; агар – 20,0 г; глюкоза – 10,0 г; вода – 1000 мл; рН 7,2-7,4) [44] по відношенню до грампозитивних тест-бактерій – *Staphylococcus aureus*.

У якості індукторів можуть бути використані адреналін і калієва сіль індолил-3-оцетної кислоти (ІУК). Відомо, що адреналін і ІУК представляють собою біологічно активні сполуки тваринного (адреналін) і рослинного (адреналін, ІУК) походження, які активізують біохімічні процеси, регулюють метаболічні та енергетичні процеси в клітинах [33, 44].

Відомо, що індукування у *Actinomyces aureofaciens* можливо за допомогою ауторегуляторів – фізіологічно активних сполук різної хімічної природи. Ці сполуки відіграють сигнальну роль у зміні кількісного (швидкість росту) або якісного стану мікробної культури [35, 56]. Також відомо, що біомедіатори впливають на біохімічні і метаболічні процеси в клітинах [43].

У раніше проведених дослідженнях щодо впливу адреналіну і калієвої солі ІУК на проростання спор *Actinomyces aureofaciens* встановлено, що дані сполуки надають стимулюючу дію на проростання спор *Actinomyces aureofaciens* при виділенні їх з ґрунтових і рослинних зразків, а також сприяють виділенню більшої кількості антибіотичну активність *Actinomyces aureofaciens* з природних джерел [37, 48].

Якщо припустити, що розчини біогенних амінів можуть ініціювати біосинтез антибіотиків за допомогою впливу на експресію генів і метаболічні шляхи антибіотикоутворення у *Actinomyces aureofaciens*, то провівши серію експериментів по підборі їх діючих концентрацій при глибинному культивуванні штамів на рідкому поживному середовищі 2 гауз з крейдою в відношенні *M. luteus* ATCC 9341 можна це підтвердити.

Після культивування досліджуваних *Actinomyces aureofaciens* на рідких середовищах з біологічно активними речовинами в концентраціях адреналіну – 0,001, 0,0015 і 0,002 мг / л, калієва сіль індолил-3-оцетної кислоти (ІУК) – 0,015 і 0,02 мг / л на 5-9-а доба у деяких культур спостерігається поява антибактеріальної дії щодо тест-бактерії (див. рис. 3.3).

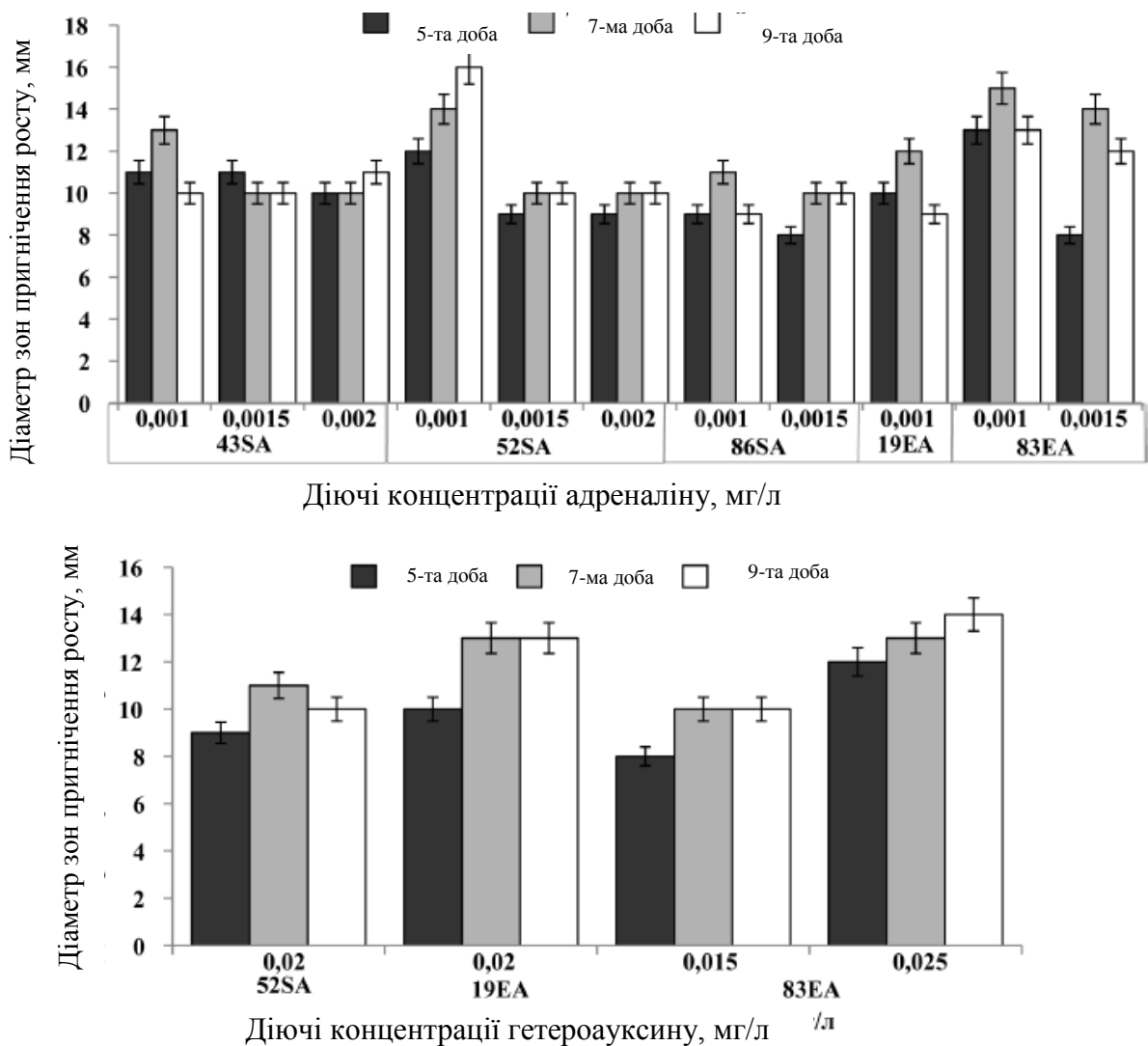


Рис. 3.3. Зони пригнічення росту екзометаболітами штамів актиноміцетів, культивованих на рідкому поживному середовищі.

Примітка. SA – ґрунтові актиноміцети; EA – ендоефітні актиноміцети. Неактивні культури були виключені з діаграм. Достовірність відмінностей відповідає $p < 0,05$

В контролі досліджувані штами не активні. В результаті проведених експериментів було встановлено оптимальних концентрації дії адреналіну – 0,001 мг/л і калієва сіль індолил-3-оцетної кислоти (ІУК) – 0,02 мг / л. Поява антибактеріальної дії у досліджуваних штамів при культивуванні на рідких поживних середовищах з додаванням біогенних амінів може бути пов'язано з двома факторами – чутливістю тест-бактерій до розчинів адреналіну і / або ІУК або індукцією утворення антибіотиків біогенними амінами.

3.3. Технологічна схема виробництва кормового антибіотика Теравіт К

Біотехнологічний процес виробництва кормового антибіотика Теравіт К можна зобразити у вигляді наступної схеми:



Рис. 3.4. Схема виробництва антибіотиків в процесі мікробіологічного синтезу.

Подрібнене зерно, яке використовують зазвичай як основну частину корму, замочують до вологості 40-50% і розкладають по 5-10 кг на алюмінієвий лист шаром близько 5 см. Зерно на аркушах стерилізують в автоклаві протягом 6 години при температурі 105-110°C. Потім поверхню зерна засівають посівним матеріалом

відповідного продуцента – *Actinomyces aureofaciens*. На рисунку нижче (див.рис. 3.5) показана класична схема виробництва кормового антибіотика.

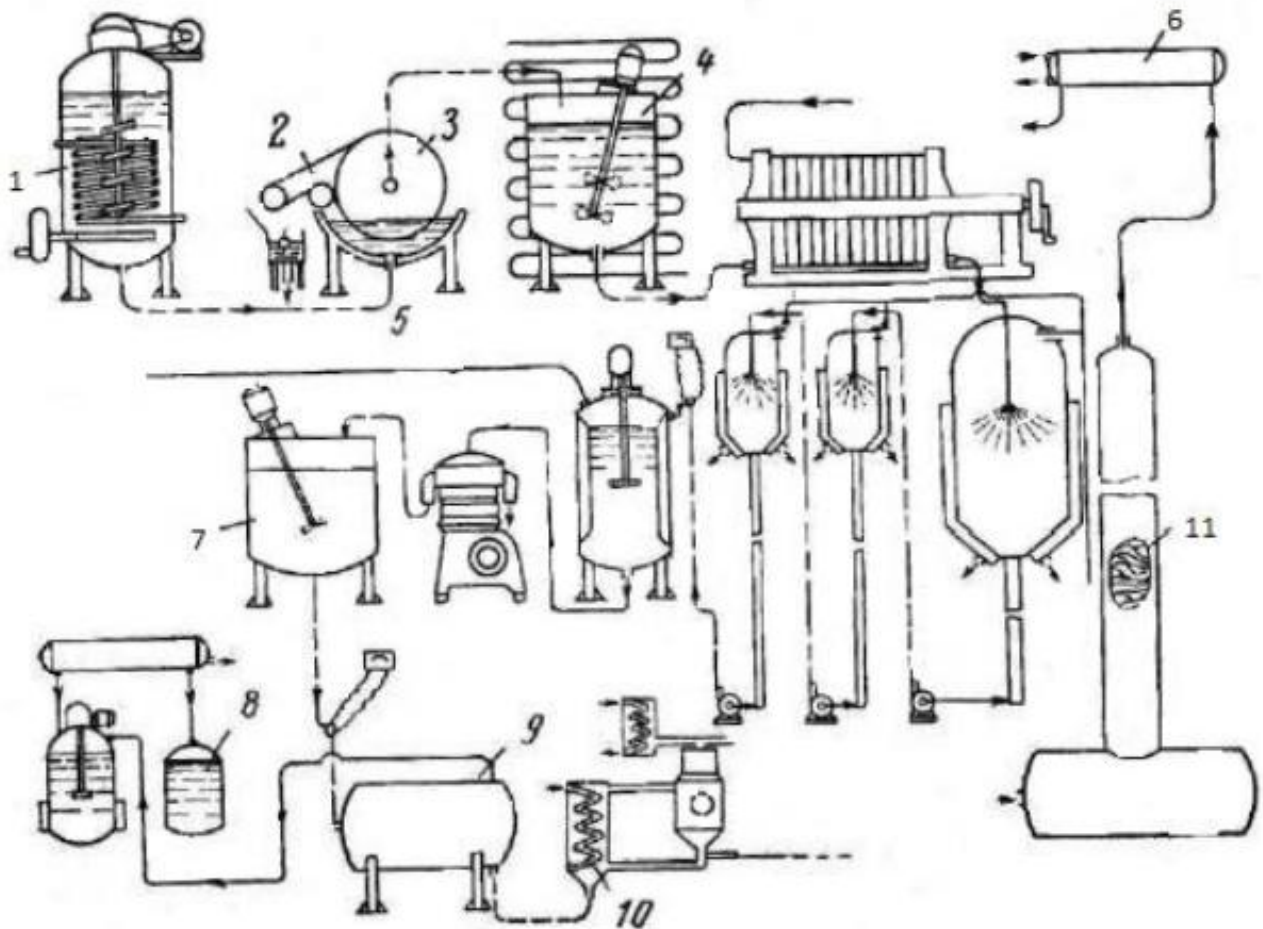


Рис. 3.5. Класична технологічна схема виробництва кормового антибіотика
1 – бродильний чан; 2 – направляючий рукав; 3 – обертаючий барабан; 4 – холодильник; 5 – вакуум-фільтр; 6 – згущувач; 7 – зміщувач; 8 – приймач; 9 – відстіювач, 10 – вакуумвипарник; 11 – фракційна колонка.

На поверхню засіяного зерна насипають перероблені відходи виробництва шаром 0,5–1 см. Всі ці операції виконують в стерильних умовах, а подальше пророщування протягом кількох днів здійснюється в термостатних камерах з температурою 26-30 градусів. Через 8-10 днів утворюється маса вологістю 50%, що містить в залежності від застосовуваного штаму і субстрату 200–400 мг/кг антибіотика Теравіт К і 0,1–0,4 мг вітаміну В12.

Отриманий препарат змішують з кормами у співвідношеннях залежних від його активності. При удосконаленні цієї схеми додали процес сушки препарату в шафових, парових або інших сушарках. При сушінні в шафових сушарках вологий збагачений матеріал розкладають тонким шаром на 10-18 годин при температурі 40–50°C. Після висушування для визначення активності беруть проби матеріалу.

В основі промислового виробництва антибіотиків лежить ряд послідовних етапів: отримання високопродуктивних штамів-продуцентів, розробка найбільш сприятливих умов культивування продуцента антибіотика з максимальним біосинтезом цієї речовини, підбір і впровадження в практику відповідних методів виділення і очищення антибіотика, створення готових препаратів та контроль їх якості. Кожен з цих етапів має забезпечуватися відповідними фахівцями (генетиками, мікробіологами, технологами тощо).

3.4. Контроль якості готового продукту

Мікробіологічний контроль. Дотримання підприємствами санітарно-гігієнічних вимог на всіх етапах виробничого процесу від сировини до готового продукту є гарантією випуску високоякісної та безпечної продукції. Це досягається за рахунок організації системи заходів щодо контролю критичних точок та їх ретельного виконання. Ці вимоги набувають актуальності саме для підприємств біотехнологічної промисловості, де внаслідок специфіки сировини, технологічного процесу, особливостей готової продукції та умов її зберігання особливо важливий мікробіологічний контроль всього технологічного ланцюга. У світовій практиці випуск гарантовано безпечної та якісної біотехнологічної продукції забезпечується впровадженням у практику внутрішніх систем контролю безпеки та якості, інтегрованих у процес виробництва, зокрема, системи ХАССП, що функціонує відповідно до міжнародних стандартів.

В Україні для організації та проведення мікробіологічного контролю керуються настановами, викладеними в нормативній документації на сировину та готову продукцію, санітарними правилами, інструкціями з миття та дезінфекції

обладнання, а також інструкцією з мікробіологічного контролю виробництва на підприємствах біотехнологічної промисловості.

Нині відсутній єдиний сучасний керівний документ, який містив би всю необхідну інформацію щодо заходів, принципів, методів, засобів аналізування, мікробіологічних норм та періодичності контролювання як заквашувальної мікрофлори, так і технічно шкідливих та потенційно небезпечних бактерій та ілюстративний матеріал для їхньої ідентифікації, з урахуванням вимог чинних законів та підзаконних документів, міждержавних і національних стандартів.

Мікробіологічний контроль дозволяє своєчасно виявити джерела і причини мікробного обмінення сировини, напівфабрикатів і готової продукції. Чітко організований мікробіологічний контроль забезпечує випуск доброякісної продукції, безпечної в епідемічному відношенні і стабільної при зберіганні. В разі виготовлення неякісної продукції відповідальність за це несуть керівники відповідних структурних підрозділів заводу.

Мікробіологічними методами контролюють санітарний режим при виготовленні харчових і медичних продуктів, а останнім часом визначають також вміст вітамінів і амінокислот в продуктах.

Визначення концентрації джерела азоту та вуглецю. Для визначення загального органічного вуглецю та азоту сьогодні використовують декілька показників, які побічно характеризують їхній вміст.

Використовується параметр «окиснюваність», який характеризує вміст у воді й органічних і неорганічних речовин, що можуть окиснюватися за певних умов. Найпоширеніші методи визначення окиснюваності: біохімічне споживання кисню (БСК), перманганатна окиснюваність (ПО) і хімічне споживання кисню (ХСК) [8].

Для визначення концентрації загального органічного вуглецю та азоту застосовується методика [16]. Стандарт передбачає використання аналізаторів вуглецю, принцип дії яких оснований на високотемпературному каталітичному окисненні сполук вуглецю у пробі води до оксиду вуглецю і визначенні його надалі з використанням або детектора інфрачервоного випромінювання, або полум'яно-іонізаційного детектора (див. рис. 3.6).



Рис. 3.6. Аналізатор для визначення вмісту вуглецю та азоту у біотехнологічному продукті

Для вимірювання величини загального органічного вуглецю та азоту існує велика кількість аналітичних методик і приладів. Процедуру аналізу можна розділити на кілька етапів. Спочатку проба фільтрується і з неї видаляють нерозчинний органічний вуглець (переважно у вигляді карбонатів і гідрокарбонатів, які в разі підкислення проби виділяються у вигляді діоксиду вуглецю). Далі усі органічні речовини слід окиснити до діоксиду вуглецю. Цей процес можна виконати декількома способами: хімічне окиснення (використовується сильний окиснювач – персульфат); ультрафіолетове окиснення; високотемпературне окиснення [8].

Методи високотемпературного окиснення можуть застосовуватися ширше, ніж хімічні або УФ-обробка. Це пов'язано з тим, що вони простіші в реалізації, уможливають аналіз проб складного складу і, крім того, мають кращі відтворення. Метод термічного окиснення вирішує завдання окиснення як летких, так і нелетких органічних сполук, тоді як методи «мокрого» окиснення придатні лише для нелетких речовин.

Завершальним етапом є реєстрація вуглекислоти – застосовується недисперсійний інфрачервоний детектор (NDIR).

Визначення концентрації цільового продукту

Для визначення антибіотику, як цільового продукту найчастіше використовують наступні методики:

1. Методика дослідження методом ІЧ-спектроскопії

Інфрачервона спектроскопія (ІЧ-спектроскопія, ІКС) – розділ спектроскопії, заснований на взаємодії інфрачервоного випромінювання з речовинами. Хімічні речовини поглинають інфрачервоне випромінювання паралельно з порушенням коливань молекул. ІК – випромінювання являє електромагнітну хвилю, яка характеризується довжиною хвилі, хвильовим числом і частотою.

Аналізований зразок розтирають в агатовій ступці до дрібнодисперсного стану ручним способом до стану «пудри» (при розтиранні між пальцями не відчувається «жорсткості» порошку). Зразок рівномірно розподіляли в приставці порушеного повного внутрішнього відображення (ППВО) ІЧ-спектрометра.

Реєстрація спектрів. Включення, настройку і приладу проводять строго по інструкції до приладу. Реєстрація спектрів на ІЧ-спектрометрі з однопроменевий схемою попередньо знімають фоновий спектр, потім реєструють ІК-спектр аналізованого зразка. Спектрограму записують в інтервалі частот 4000-400 см⁻¹. Обробляють отримані спектрограми, розраховуючи точне положення максимумів поглинання. Інтерпретацію спектрів проводять, використовуючи літературу [25].

2. Методика визначення мономерного складу у фракціях.

Пробопідготовка зразків:

До 200 мкл зразка додають 800 мкл води для хроматографії, перемішують при 3000 хв⁻¹ на вібро-шейкері протягом 5 хвилин. Після чого центрифугують при 15 000 об / хв протягом 10 хвилин. Аліквоту супернатанта поміщають в Віален Автосемплер.

Аналіз: Хроматографічна система: Ultimate 3000 (Dionex, USA), що включає насос LPG-3400SD зі вбудованим дегазатором, Автосемплер WPS-3000SL; термостат колонок TCC-3000SD, детектор RI-101

Нерухома фаза: колонка PROGEL TSK GMPWXL 300 x 7,6mm, 13 μ m

Рухома фаза: вода деіонізована

Умови аналізу: швидкість потоку 1 мл / хв, об'єм проби 20 мкл, температура колоночного відділення – 30 °С, температура осередку рефрактометричних детектора – 40 °С.

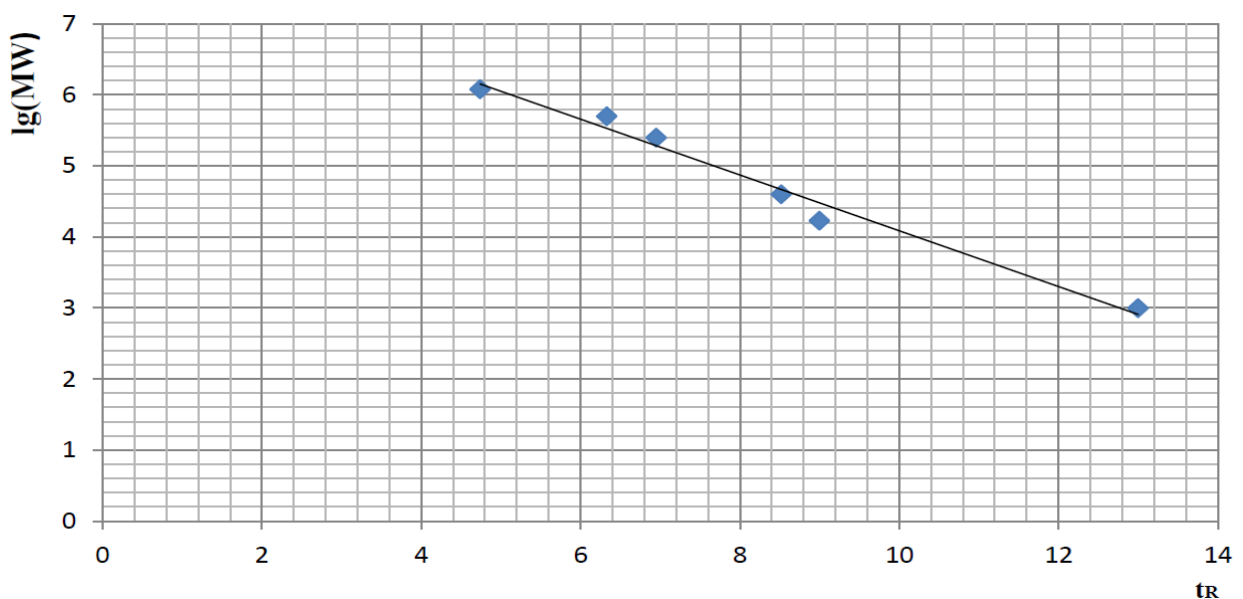


Рис. 3.7. Калібрувальна залежність колонки

3.5. Акредитация виробничих лабораторій для отримання препарату Теравіт К

Акредитация виробничих лабораторій, згідно з заявленою сферою акредитації, здійснюється у відповідності до вимог таких нормативних документів:

- випробувальні та калібрувальні лабораторії – ДСТУ ISO/IEC 17025:2006, ДСТУ ISO/IEC 17025:2017;
- органи з сертифікації продукції, процесів та послуг – ДСТУ EN ISO/IEC 17065:2014;

- органи з сертифікації систем менеджменту – ДСТУ EN ISO/IEC 17021-1:2015 (та інших стандартів серії ISO/IEC 17021 – ДСТУ ISO/IEC TS 17021-2:2014, ДСТУ ISO/IEC 17021-3:2014 тощо) та додаткових стандартів:
 - для органів з сертифікації систем менеджменту харчової продукції – ISO/TS 22003:2013,
 - для органів з сертифікації систем менеджменту інформаційної безпеки – ДСТУ ISO/IEC 27006:2015,
 - для органів з сертифікації систем енергетичного менеджменту – ДСТУ ISO 50003:2016;
- органи з сертифікації персоналу – ДСТУ EN ISO/IEC 17024:2014;
- органи з інспектування – ДСТУ EN ISO/IEC 17020:2014;
- медичні лабораторії – ДСТУ EN ISO 15189:2015;
- провайдери перевірки кваліфікації – ДСТУ EN ISO/IEC 17043:2017 [14].

Під час акредитації НААУ керується відповідними рекомендаціями міжнародних (ILAC та IAF) та регіональних (EA) організацій з акредитації.

Залежно від цілей і області діяльності, акредитація лабораторії може проводитися в одній або декількох системах акредитації. Акредитація лабораторії проводиться на рівні регіональних, національних або міжнародних систем акредитації. Це дає можливість визнання результатів роботи лабораторії в більш широких областях економічної діяльності. У кожній з систем акредитації існують свої вимоги, критерії та порядок акредитації лабораторії. Однак більша частина систем акредитації використовує єдині міжнародні стандарти з акредитації лабораторій. Це спрощує процедуру визнання результатів роботи лабораторій.

Між національними системами акредитації багатьох країн існують угоди про визнання результатів акредитації, що дозволяє лабораторіям здійснювати свою діяльність на міжнародному рівні. Найбільш відомими і визнаними організаціями з акредитації лабораторій на міжнародному та регіональному рівнях є:

- ІЛАС (International Laboratory Accreditation Cooperation) – Міжнародна організація з акредитації лабораторій. Дана організація є угода, підписана органами з акредитації більш ніж сімдесяти країн світу. Мета даної угоди – забезпечити визнання результатів акредитації лабораторій країн – учасниць угоди;
- АРЛАС (Asia Pacific Laboratory Accreditation Cooperation) – Організація з акредитації лабораторій країн Азіатсько-Тихоокеанського регіону. Це регіональна організація з акредитації лабораторій. До складу учасників цієї організації входить велика кількість країн південно-східної Азії. Метою даної угоди є визнання результатів акредитації лабораторій країн – учасниць угоди;
- ЕА (European cooperation for Accreditation) – Європейська асоціація по акредитації. Ця організація забезпечує визнання результатів акредитації лабораторій країн ЄЕС. Дана організація є регіональною. Учасниками угоди є національні організації з акредитації європейських країн.
- ІААС (InterAmerican Accreditation Cooperation) - Міжамериканська асоціація по акредитації. Дана організація створена на основі угод органів з акредитації країн Американських континентів. Акредитація лабораторії в одній з країн учасниць угоди визнається акредитованою у всіх інших країнах, що беруть участь в угоді [13].

Як правило, учасниками цих організацій (угод) є національні органи з акредитації або уповноважені організації. Акредитація лабораторії в одній з національних систем може означати визнання в зазначених міжнародних і регіональних угодах, але не завжди. Іноді потрібно акредитація з боку уповноважених організацій, які мають право проводити акредитацію від імені цих асоціацій.

Хімічні методи отримання антибіотиків дуже складні і не можуть конкурувати з їх біосинтезу методами біотехнології. Існує кілька способів отримання як природних, так і напівсинтетичних антибіотиків:

- ферментація мікроорганізму-продуцента з відповідним попередником, що індукує синтез антибіотиків в ідіофазі;
- використання для біосинтезу блокованих мутантів. У таких мутантів блокований синтез антибіотиків. Використовуючи низьку субстратну специфічність ферментів вторинного метаболізму і вводячи аналоги попередників антибіотиків, їх переводять в аналоги самого антибіотиків. Цей процес називається біосинтез.

В основі промислового виробництва антибіотиків лежить ряд послідовних етапів: отримання високопродуктивних штамів-продуцентів, розробка найбільш сприятливих умов культивування продуцента антибіотика з максимальним біосинтезу цієї речовини, підбір і впровадження в практику відповідних методів виділення і очищення антибіотиків, створення готових препаратів та контроль їх якості. Кожен з цих етапів має забезпечуватися відповідними фахівцями (генетиками, мікробіологами, технологами та ін.) які повинні пройти акредитацію.

Акредитація лабораторії виробництва антибіотиків в різних системах має в основному схожий порядок. Це обумовлено прагненням виробити єдині правила для всіх учасників цього виду діяльності. Для проведення акредитації в кожній з систем встановлюються певні критерії, стандарти і порядок акредитації.

Основні критерії акредитації лабораторії можуть бути розділені на три групи:

- критерії, пов'язані з технічною оснащенням і компетентністю лабораторії. Ці критерії акредитації лабораторії визначають мінімально необхідний рівень оснащення для проведення випробувань, досліджень або перевірок в певній галузі діяльності (галузі акредитації). Крім того, ця група критеріїв встановлює порядок організації і проведення робіт з випробувань, перевірки або дослідженню. Сукупність вимог по оснащеності лабораторії і організації робіт задає рівень технічної компетентності лабораторії;

- критерії, пов'язані з компетентністю персоналу. Дана група критеріїв встановлює мінімально необхідні вимоги до складу, чисельності та кваліфікації персоналу лабораторій;
- критерії, пов'язані з системою якості лабораторії. Вимоги цієї групи критеріїв визначають правила і норми виконання основних процесів лабораторії, за рахунок яких можна гарантувати стабільну роботу і отримання достовірних результатів досліджень, випробувань або перевірок. Також ці критерії акредитації лабораторії включають в себе вимоги по внутрішнім і зовнішнім взаємодій лабораторії.

Конкретний склад критеріїв встановлюється в кожній з систем акредитації. Крім того, в залежності від виду акредитації лабораторії (виробнича, аналітична або перевірна) критерії акредитації в одній і тій же системі акредитації можуть змінюватися.

Порядок акредитації лабораторії в різних системах акредитації, в основному, уніфікований. Дії, які повинні зробити заявники в ході отримання акредитації, а також акредитив орган, розрізняються в деталях і встановлені в кожній конкретній системі акредитації.

Порядок акредитації лабораторії, як правило, включає в себе наступні дії:

- підготовка заявки і надання вихідних документів;
- перевірка заявки і вихідних документів;
- оцінка лабораторії;
- підготовка висновку;
- надання акредитації;
- періодична перевірка лабораторії.

Даний порядок є узагальненим. У кожній системі акредитації вищевказані кроки деталізуються і можуть містити додаткові дії [2].

РОЗДІЛ 4. ОХОРОНА ПРАЦІ

4.1. Небезпечні та шкідливі виробничі фактори при отриманні препарату Теравіт К на відходах промислових підприємств

Охорона праці спрямована на створення безпечних та нешкідливих умов праці на кожному підприємстві. Проводячи отримання інтерферонів на фармацевтичному виробництві важливо не тільки знати вимоги з техніки безпеки, але й розуміти їх суть, вміти застосовувати їх в різних стандартних та нестандартних умовах [1].

Безпечні і здорові умови праці – це такі умови, при яких виключений вплив на працюючих небезпечного і шкідливого виробничого факторів. Безпека того чи іншого технологічного процесу може бути визначена за кількістю або ступенем небезпеки [2].

Відповідно до ГОСТ 12.0.003-74 небезпечні і шкідливі фактори за своєю дією підрозділяються на наступні групи: фізичні, хімічні, біологічні, психофізичні. На фармацевтичному виробництві можуть впливати такі шкідливі і небезпечні виробничі фактори:

- реактиви, токсичні та хімічні речовини, які входять до складу застосовуваних субстанцій;
- підвищені значення напруги в електричному ланцюзі, замикання якої може пройти через тіло людини;
- підвищена температура повітря в робочій зоні.
- хиткі конструкції, які можуть руйнуватися у процесі виробництва;
- підвищений рівень шуму на робочому місці;
- підвищений рівень вібрації [1].

Небезпека дії хімічних речовин пов'язана з тим, що при проведенні лабораторних досліджень виникає тісний контакт зі шкідливими, небезпечними, а

також токсичними речовинами, які використовуються в якості індикаторів та реактивів [10]. Мікроклімат визначається температурою повітря в приміщенні, °С; відносною вологістю повітря, %; рухливістю повітря, м/с; тепловим випромінюванням, Вт/м².

Таблиця 4.1

Оптимальні та допустимі норми мікроклімату у робочих цехах
фармацевтичних підприємств

Виробничі ділянки	Період року			Оптимальні		Допустимі	
		t, °С	W, %	V, м/с	t, °С	W, %	V, м/с
Автоклавувальний відділ	Теплий	20 - 25	60	<0,3	27	до 75%	<0,4
	Холодний	18 - 21	60	< 0,2	23	до 75%	<0,3
Ферментаційний відділ	Теплий	20 - 25	60	< 0,3	25	до 75%	<0,2
	Холодний	18 - 21	60	< 0,2	20	до 75%	<0,2
Приготування поживного середовища	Теплий	20- 25	60	< 0,3	26	до 75%	<0,4
	Холодний	18 -21	60	< 0,2	22	до 75%	<0,3
Сушильний відділ	Теплий	20 - 25	60	< 0,3	24	до 75%	<0,3
	Холодний	18 - 21	40-60	< 0,2	20	до 75%	<0,2
Пакувальний Відділ	Теплий	20 - 25	60	< 0,3	24	до 75%	<0,3
	Холодний	18 - 21	40-60	< 0,2	21	до 75%	<0,2

На виробництві шум створюють таке обладнання: ферментер та посівний апарат, ліофільна сушка, насоси, пакувальне обладнання. Вібрацію спричиняють: сепаратор, ліофільна сушка.

При виробництві у повітря можуть потрапляти: компоненти поживного та захисного середовища; компоненти миючих засобів; напівфабрикати під час проведення ліофілізації; готова продукція під час пакування [12].

На фармацевтичному виробництві створюються виробничі теплові випромінювання під час роботи автоклава[1].

4.2. Технічні та організаційні заходи для зменшення рівня впливу небезпечних та шкідливих виробничих факторів при отриманні препарату Теравіт К на відходах промислових підприємств

Для захисту від шкідливої дії хімічних речовин необхідно дотримуватися правил техніки безпеки на фармацевтичному виробництві. Ефективним захистом людини від шкідливих домішок та речовин у повітрі являється раціональна вентиляція, якою обладнуються всі цехи підприємства. У якості додаткового профілактичного заходу використовують засоби індивідуального захисту [27].

Основним методом захисту працюючих від впливу пилу є дотримання установлених гранично допустимих концентрацій (ГДК). При неможливості дотримання ГДК користуються організаційними, медико-профілактичними та технічними заходами й засобами захисту працюючих. Для уникнення шкідливого впливу хімічних речовин на організм, потрібно дотримуватися таких заходів з охорони праці [26]:

1. перед початком роботи проводити обов'язковий інструктаж на кожному робочому місці;
2. спостерігати за повною герметичністю систем та підсистем виробництва;
3. систематичний нагляд за роботою вентиляційних систем;
4. роботи проводити в спеціальному одязі та спеціальному взутті з обов'язковим використанням засобів індивідуального захисту відповідно до класу чистоти кімнати;
5. контроль за дотриманням вимог нормативних документів;
6. нагляд за обладнанням підвищеної небезпеки;
7. всі робочі місця забезпечити необхідною кількістю води та нейтралізуючих речовин.

До організаційних заходів відносяться: обмеження мінімального віку працюючих (20 років) в умовах, що характеризуються підвищеною запиленістю повітря; введення скороченого робочого дня; додаткові відпустки, більш ранній

вихід на пенсію. Серед медико-профілактичних заходів є необхідним контроль за станом здоров'я працюючих при вступі й під час роботи. Це виконується шляхом періодичних медичних оглядів [24-27].

Заборонено використовувати на роботі, пов'язаною з підвищеною запиленістю повітря, персонал з хронічним захворюванням органів дихання, серцевосудинної системи. Медичні огляди повинні проводитися І раз у 12 або 24 місяці.

Всі роботи з їдкими, отруйними, легкозаймистими й вибухонебезпечними речовинами проводяться в ізольованих і забезпечених належною вентиляцією приміщеннях або у витяжних шафах. Не допускається використання хімічного посуду для харчових цілей та не дозволяється пробувати на смак чи нюхати невідомі речовини на підприємстві [21-24].

Для забезпечення допустимих параметрів шуму передбачено:

- Встановлення перегородок, які можуть ізолювати звук.
- Використання захисних кожухів та екранів.
- Вчасна заміна зношених деталей обладнання, яке може створювати шум.

Найбільш шумні цехи виробництва розташовані в окремих приміщеннях, що відділені від основних виробничих підрозділів стінами, які виготовлені зі звукопоглинаючих матеріалів. Працівники, що працюють в шумних приміщеннях, повинні бути споряджені засобами індивідуального захисту, а саме навушниками, згідно з ГОСТ 12.1.050-86 [24].

Для зменшення дії вібрації передбачено: встановлення віброізолюючого фундаменту під сепаратор та ліофільну сушку [24].

Основні методи захисту від теплового випромінювання:

1. встановлення вентиляційних систем;
2. додаткова ізоляція джерела випромінювання.

Під час виконання робіт з ПК у виробничих цехах показники вібрації не повинні перевищувати допустимих значень, згідно ДСН 3.3.6.039-99. Для зниження вібрації обладнання, лабораторне обладнання слід встановлювати на спеціальні амортизуючі прокладки, передбачені нормативними документами [25].

Відповідно до вимог ГОСТ 12.1.019-79 та ГОСТ 12.1.038-79 захист від

небезпечного впливу електричного струму при експлуатації і ремонті устаткування, комп'ютерів забезпечується шляхом виконання наступних умов [24-27]:

- застосування електричного, електромагнітного і механічного блокувань, знаків безпеки;

- фарбування в різні кольори монтажних елементів і проводів, за допомогою яких виключається переплутування при ремонті та регулюванні;

Порушення зору у користувачів комп'ютерів пов'язані, в основному, з трьома групами факторів: параметрами освітлення робочого місця; характеристиками дисплея; специфікою роботи за комп'ютером.

Щоб запобігти захворюванню очей, потрібно, звернути увагу на забезпечення правильного освітлення в робочій зоні, використання сучасних дисплеїв з покращеними характеристиками, дотримання режимів праці та відпочинку, а також необхідно щоб центр екрана був нижчий від кута зору.

Згідно ДСН 3.3.6.042-99 роботи, що проходять у виробничих лабораторіях відносяться до легких (категорія Іб) та середньої важкості (категорія Іа). З метою захисту від пилу технологічне обладнання повністю герметизується [26].

На ділянках приготування розчинів передбачаються витяжні шафи. Технологічне обладнання та трубопроводи є джерелом виділення тепла, тому треба, обов'язково, ізоляція.

Якість повітря робочої зони потрібно підтримувати у три етапи. На першому етапі запропонуються - осередкові фільтри типу ФЯВ, на другому - сухі рулонні фільтри типу ФРП, на третьому - осередкові фільтри типу ФЯЛ, ЛАІК, НЕРА [25].

Висока температура повітря робочого цеху, як правило, посилює токсичну дію шкідливих речовин. Головною показником цього ефекту є зміна функціонального стану організму, підвищення терморегуляції, обміну речовин, підвищення тиску.

Отже, підвищена температура повітря веде до збільшення інтенсивності потрапляння отрут в організм [25].

На даному підприємстві з виробництва препарату Теравіт К, головними небезпечними факторами є підвищення температури та завислі в повітрі шкідливі речовини. Тому що, при отриманні інтерферонів застосовується найрізноманітніше

технологічне обладнання, яке нагріває повітря. Водопроводи, паропроводи, поверхні ферментерів, сушарок, автоклавів мають високу температуру, яка впливає на повітря робочих зон. А також використовується безліч видів хімічних речовин, суспензій, які забруднюють повітря виробничого цеху. Ці фактори несуть найбільший вплив на здоров'я працівників.

Верхня межа показника температури на постійному робочому місці (де працівник проводить більше половини свого робочого часу або не менше 2-х годин поспіль), є температура +28 °С.

Для запобігання цього, необхідно надлишкове тепло видаляти за допомогою вентиляції, систематичного провітрювання приміщення, згідно затверджених вимог.

Кількість повітря, яка необхідна для видалення надлишкового тепла з виробничого приміщення за формулою [69-73]:

$$Q = \frac{Q_{зб}}{C_n (t_{вид} - t_{пр}) \cdot \rho_{пр}},$$

де $Q_{зб}$ – кількість виділеного надлишкового тепла за годину, ккал/год;

C_n – питома теплоємність повітря, ккал/(кг·°С);

$t_{вид}$ – температура видаленого повітря, °С;

$t_{пр}$ – температура припливного повітря, °С;

$\rho_{пр}$ – густина припливного повітря, кг/м³.

Вихідні дані по виробничому цеху фармацевтичного підприємства:

$Q_{зб} = 44$ ккал/год; $C_n = 0,25$ ккал/(кг·°С); $t_{вид} = 32$ °С;

$t_{пр} = 21$ °С; $\rho_{пр} = 1,206$ кг/м³.

$$Q = \frac{44}{0,25 \cdot (32 - 21) \cdot 1,206} = 13,27 \text{ м}^3/\text{год}$$

Для видалення надлишкового тепла на виробництві необхідно 13,27 м³/год повітря забезпечуватиме відповідні нормативні показники мікроклімату на фармацевтичному виробництві.

Кількість повітря у виробничому цеху, яка потрібна для зниження концентрації шкідливих речовин, визначається за формулою [69-73]:

$$Q = \frac{G_{iz} \cdot 10^6}{C_{здк} - C_{инр}}, \quad \text{м}^3 / \text{год},$$

де $C_{здк}$ – гранично-допустима концентрація шкідливих речовин в повітрі робочого цеху ($C_{здк_{ац}}=200 \text{ мг/м}^3$);

G_{iz} – кількість шкідливих випаровувань в цеху, яку треба зменшувати загальнообмінною вентиляцією, кг/год;

$C_{инр}$ – концентрація шкідливих парів у припливному повітрі ($G_{анр}=20 \text{ мг/м}^3$).

$$G_{iz} = G_i - G_{im}, \quad \text{кг} / \text{год},$$

Отже, $G_a=1,9 \text{ кг/год}$,

$$G_{im} = Q_m \cdot C_{im}, \quad \text{кг} / \text{год},$$

$C_{ам}=9 \text{ мг/м}^3$.

Q_m - кількість повітря прокачаного місцевою вентиляцією:

$$Q_m = F \cdot V \cdot 3600, \quad \text{м}^3 / \text{год},$$

де F – площа поперечного перетину отвору місцевої витяжки ($F=15 \text{ м}^2$);

V – швидкість відкачування, ($V=0,6 \text{ м/с}$).

$$Q_m = 32400 \text{ м}^3 / \text{год};$$

$$G_{ам} = 0,136 \text{ кг/год};$$

$$G_{iz} = 1,9 \text{ (кг/год)} - 0,136 \text{ (кг/год)} = 1,764 \text{ кг/год};$$

$$Q = 1,764 \cdot 10^6 / (200 - 20) = 9800 \text{ м}^3 / \text{год}.$$

Отже, щоб знизити концентрацію шкідливих речовин на виробництві при отриманні препарату Теравіт К, необхідно $9800 \text{ м}^3 / \text{год}$ повітря.

4.3. Забезпечення пожежної і вибухової безпеки при отриманні препарату Теравіт К

До джерел запалювання, які можуть призвести до загорання належать: відкрите полум'я, електричні розряди, теплові процеси хімічного, електричного та механічного походження, іскри несправного обладнання, сонячна радіація, електромагнітні та інші випромінювання [4-5].

Причини пожеж на фармацевтичному виробництві:

- неправильний пристрій, порушення режиму роботи систем опалення, вентиляції;
- несправність або перевантаження електричних мереж;
- іскроутворення статичної електрики;
- самозаймання речовин і матеріалів при неправильному збереженні;
- необережне поводження з вогнем;

Всі працівники підприємства повинні отримати знаннями та навички про властивості реактивів, які використовують для роботи, а також знати їх вибухотапожежонебезпечні властивості.

У виробничому приміщенні повинні знаходитись засоби пожежогасіння: ручний вогнегасник, вода, пісок. Відповідальний за протипожежний стан службових приміщень призначається наказом керівником установи.

Після закінчення роботи потрібно зробити прибирання на робочому місці, вимкнути усі електроприлади, вентиляцію вимкнути не раніше ніж через 20 хвилин після закінчення роботи [4-5].

Для попередження виникнення пожежі в лабораторії забороняється:

- палити у виробничих приміщеннях;
- залишати та зберігати папір, спирт та інші легкозаймісті речовини та матеріали на шафах поблизу палаючих пальників, електричних проводів і приладів;
- проносити та зберігати легкозаймісті, вибухові та вогненебезпечні речовини без дотримання правил безпеки;
- залишати включені електроприлади, електричне освітлення, запалені газові пальники, коли не має нагляду [26-27].

При виникненні пожеж рекомендовано такі дії:

- негайно повідомити пожежну охорону за телефоном «101», вказати при цьому адресу, кількість поверхів, місце пожежі, наявність людей, а також своє прізвище;

- повідомити про виникнення пожежі адміністрацію, дирекцію та охорону;
- вивести людей з небезпечної зони;
- вжити заходи щодо локалізації пожежі;
- по можливості вжити заходи щодо гасіння пожежі.

Після прибуття на пожежу, пожежних підрозділів, необхідно забезпечити безперешкодний доступ до місця загорання для того, щоб спеціалісти локалізували небезпечну ситуацію на даному підприємстві [4-5].

РОЗДІЛ 5. ОХОРОНА НАВКОЛИШНЬОГО СЕРЕДОВИЩА

5.1. Утворення відходів фармацевтичного виробництва

Проблема профілактики негативного впливу біологічних чинників, внаслідок виробничого процесу, на організм людини та навколишнє природне середовище набуває все актуальнішого соціально-етичного й медико-біологічного значення.

На кожному фармацевтичному виробництві відбувається утворення відходів. Відходи фармацевтичної продукції утворюються упродовж усього життєвого циклу фармацевтичної компанії: виробництва, приготування поживного середовища, культивування, фільтрування, ліофілізація, транспортування. Поводження з небезпечними відходами повинно супроводжуватись ліцензіями, які мають правове регулювання [5].

Останнім часом велика увага науковців зосереджена на негативному впливі хімічного забруднення на навколишнє середовище існування. До них належать отруйні речовини, стійкі органічні забруднювачі, пестициди, свинець, ртуть, діоксин, які несуть шкідливий вплив та гостро виражену токсичність. Проблема поведження з фармацевтичними відходами для України є новою і вирішеною лише частково. На даний час немає напрацьованої системи поведження з цими відходами, налагоджена лише утилізація відходів.

Нині поведження з фармацевтичними відходами в Україні відбувається відповідно до таких нормативних актів: Закону України «Про відходи» від 05.03.1998 р. № 187-98-ВР, Закону України «Про загальнодержавну програму поведження з токсичними відходами» від 14.09.2000 р. № 1947-III, Наказу МОЗ України від 19.03.1999 р. № 67/59 «Про затвердження Правил проведення утилізації та знищення неякісних лікарських засобів, наркотичних та психотропних речовин», Наказу № 349 від 08.07.2004 р. «Про затвердження Правил проведення утилізації та знищення неякісних лікарських засобів».

Також потрібно розробити методики для проведення моніторингу лікарських засобів у компонентах довкілля. І за допомогою даної інформації, визначити головні джерела надходження фармацевтичних відходів у природні системи [6-8].

Після споживання ліки частково зазнають дії метаболізму споживачів, потім продукти метаболізму плюс деякі незмінні початкові компоненти потрапляють у каналізацію і надходять у довкілля, водні об'єкти та ґрунти. Деякі з них можуть виявляти ефекти справжніх стійких полютантів, тому що швидкість трансформації й видалення компенсована швидкістю заміщення. Одні з вчених називають їх «псевдо стійкими» органічними забруднювачами довкілля [2].

Окремими дослідженнями з'ясовано, що для деяких відходів характерні сповільнені процеси біодеградації в довкіллі. Накопичення значної кількості фізіологічно активних речовин у відходах становить небезпеку для здоров'я людини та довкілля. Їхнє неконтрольоване надходження у навколишнє середовище може негативно впливати на живі організми та призвести до непередбачуваних наслідків в екологічній системі.

За законодавством, місця зберігання небезпечних відходів визнаються об'єктами поводження з небезпечними відходами. Для суб'єктів господарювання, у власності яких є хоча б один такий об'єкт, вимагається, окрім ліцензії:

- наявність плану локалізації та ліквідації аварії на об'єкті, декларації безпеки;
- страхування відповідальності за шкоду, яка може бути заподіяна аваріями на такому об'єкті;
- забезпечення доступу лише особам, які мають професійну підготовку, підтвержену свідоцтвом на право роботи з небезпечними речовинами.
- обмеження провадження на такому об'єкті будь-яких видів діяльності, що не пов'язані з розміщенням небезпечних відходів.

Частина вилучених з обігу лікарських препаратів залежно від їх властивостей та утворення, може набувати статусу «небезпечних відходів» (якщо вони належать до вибухових, вогнебезпечних, окислювальних, отруйних, корозійних, токсичних

речовин або таких, які самозаймаються, інфікують суб'єкти господарювання у разі виявлення таких небезпечних фармацевтичних відходів мали б підпадати під правове регулювання 6 ч. 3 ст. 34 закону «Про відходи» [5].

Для уникнення ризиків визнання зберігання суб'єктами господарювання небезпечних фармацевтичних відходів «поводженням з небезпечними відходами», а місць їх зберігання — «об'єктами поведження з небезпечними відходами» з усіма відповідними наслідками, необхідно передавати їх на утилізацію протягом року з моменту утворення [6]. Отже, треба шукати доцільних способів утилізації небезпечних відходів для навколишнього середовища та здоров'я людей.

5.2. Класифікація відходів

До фармацевтичних відходів, відносяться відходи виробництва та переробки фармацевтичної продукції, неякісні фармацевтичні препарати або такі, у яких вийшов строк придатності, фармацевтичні препарати контрабандного походження, відходи технологічного виробництва, мікроорганізми.

Відповідно до положень Базельської конвенції усі фармацевтичні відходи відносяться до класу небезпечних. На фармацевтичних підприємствах спостерігається безліч різноманітних відходів. У процесі виробництва й споживання лікарських препаратів утворюються викиди в атмосферу, як тверді так і газоподібні та рідкі викиди в стічні води. Всі відходи можуть на нести значний вплив на навколишнє середовище [6-8].

Тверді фармацевтичні відходи утворюються на основних стадіях виробництва:

- змішування, зволоження, грануляція, сушіння, таблетування, наповнення капсул, знепилювання;
- подрібнення, фільтрування, просів, приготування зволожувача;
- фасування, пакування і маркування лікарських засобів.

Всі вони підлягають знищенню та знезараженню відповідно до визначених вимог на фармацевтичному виробництві.

Фармацевтичні відходи належать до небезпечних і потребують конкретних методів вибору знищення. На даний час не існує чітко сформованої класифікації відходів фармацевтичної галузі. На підставі проведених досліджень інженерами екологами запропоновано класифікацію відходів з урахуванням специфічних властивостей фармацевтичної галузі, вважаючи за доцільне відходи фармацевтичної галузі поділяти на промислові фармацевтичні відходи, відходи споживання лікарських засобів та відходи, що утворилися в результаті технологічних процесів [6].

Здебільшого фармацевтичні відходи утворюються в процесі технологічного виробництва лікарських речовин до яких належать: відбраковані субстанції і матеріали; мікроорганізми; залишки поживних середовищ; випари; відбраковані ЛЗ, які не прийняв відділ технічного контролю; відходи пакувальних матеріалів; ампули, флакони, фільтрувальні матеріали [7].

До побутових відходів фармацевтичних підприємств відносять: лампи відпрацьовані; металобрухт (комп'ютерна електронна техніка, технологічне обладнання); відпрацьовані хімічні речовини; відпрацьовані фільтрувальні матеріали з залишками МО; побутове сміття з території фармацевтичного підприємства.

Класифікація фармацевтичних відходів дозволить вибрати відповідні методи їх знищення з урахуванням фізико-хімічних властивостей, класу небезпеки й умов утворення. Знешкодження цих відходів дозволить не нанести шкоду екології [5].

5.3. Шляхи утилізації біологічних матеріалів на виробництві

На фармацевтичних підприємствах для забезпечення зменшення відходів даних підприємств, повинен бути підрозділ, який займається розподілом відходів на класи, створення відповідних засобів, які дозволять знайти новітні методи знешкодження, знезараження відходів.

До фармацевтичних відходів відповідно до рекомендацій ВООЗ відносять:

1. Фармацевтичні препарати, термін придатності яких закінчився.
2. Прострочені препарати.

3. Фармацевтичні препарати, умови зберігання яких було порушено (інсулін, гормональні препарати, антибіотики, вакцини, інтерферони).
4. Запаковані таблетки та капсули без оригінальних блістерних упаковок або запаковані без відповідного маркування [5].

До лікарських засобів, які потрібно знищувати за допомогою спеціальних методів, відносять:

- контрольовані субстанції (наркотичні та психотропні речовини);
- протиінфекційні;
- протипухлинні ;
- цитотоксичні протипухлинні лікарські засоби;
- дезінфекційні речовини.

Одним з наднебезпечних відходів, які підприємства мікробіологічної галузі викидають в атмосферу, є білковий пил та патогенні мікроорганізми, які можуть викликати захворювання органів дихання [6-8].

Із загального об'єму водокористування в країні на підприємства фармацевтичної промисловості припадає лише 0,4%. Економія свіжої води за рахунок оборотних систем становить 64% і тому у стічних водах містяться завислі дезінфекційні речовини, луги, кислоти, залишки органічних речовин, мікроорганізми. Водні ресурси, які піддаються очистці:

1. Вода, що використовувалася в теплообмінниках повертається в оборотній цикл.
2. Вода після миття технологічного обладнання – піддається очищенню від нерозчинних і від деяких розчинних забруднень та після очистки повертається в цикл.
3. Вода, забруднена в технологічних процесах внаслідок контакту з хімічними та органічними речовинами потребує глибокого очищення, здебільшого із застосуванням деструктивних біологічних методів [8].

Заходи захисту атмосферного повітря від викидів фармацевтичних підприємств:

- у технологічних регламентах потрібно вказувати всі речовини, що використовуються у виробництві та виділяються в атмосферу та ступінь їх впливу на склад повітря, для того, щоб зменшити загрози.
- визначити допустимі максимальні концентрації шкідливих речовин;
- контроль за ефективністю роботи газо очищувального та пило вловлюваного обладнання;
- інвентаризація всіх джерел викидів;
- дотримання нормативних актів, щодо кількості викидів в атмосферу;
- очищення та зниження рівня забрудненості [7].

Фармацевтичне виробництво повинно мати такі відповідні системи: водоспоживання та водовідведення в який встановлено споруди для знешкодження залишків різних матеріалів. У разі утворення токсичних відходів на даних виробництвах слід піддавати похованню на спеціальних полігонах (речовини 1-3-го класів небезпечності) або вивозити на полігони побутових відходів (речовини 4-го класу небезпечності). Перелік та характеристика всіх відходів мають бути наведені в технологічному регламенті виробництва затвердженому вимогам держави [6-8].

Решту препаратів сортують за різними категоріями відповідно до лікарських форм:

1. Тверді, напівтверді та порошки: таблетки, капсули, гранули, порошки для ін'єкцій, супозиторії
2. Рідини: розчини, суспензії, сиропи та ампули.
3. Аерозольні балончики.

Сортування проводять у приміщеннях, у яких добрі вентиляція й опалення.

Утилізацію фармацевтичних відходів проводять лише на підставі відповідно затверджених дозволі держаного органу управління. Методи знищення або утилізації неякісних лікарських препаратів визначають з урахуванням ступеня їх небезпечності для здоров'я людини та довкілля. Перед утилізацією ЛЗ попередньо виймають з пакувального матеріалу. Частину такого матеріалу (картон, напір,

вироби з поліетилену, фольга, скло) передають для вторинної переробки в спеціалізовані підприємства.

Дезінфекційні речовини потрібно розбавляти та зливати в каналізацію в протягом усього робочого дня в кількості не більше 50 л. Після проведення робіт з утилізації фармацевтичних відходів складають акт, у якому зазначають: найменування неякісного ЛЗ, який було знищено, його фармакотерапевтичну групу, номер серії, дату виготовлення, лікарську форму, партію [8].

5.4. Розрахунок енерговитрат та сировини

Енерговитрати – питомий показник граничного значення витрачання енергії (електричної, теплової, мобільного палива), віднесеного до виробничого показника, що характеризує технологічний процес виробництва (кВт · год / гол .; кВт · год / 1000 шт. Яець; кал / год; кал / т км). Енерговитрати - пряма складова повної енергоємності виробництва продукції. Існують відмінності у вказівці поголів'я на підприємствах і в статистичній звітності. У зв'язку з цим для I-III рівнів пропонуються питомі енерговитрати на одиницю виробничої потужності.

Інвестиційні витрати енергії складаються з витрат палива і енергії на:

- будівництво виробничих і допоміжних об'єктів;
- виробництво машин та устаткування для біотехнологічного виробництва

Таким чином, питомий показник сумарної енергоємності дорівнює:

$$e = e_1 + e_2 = \frac{E_{zi} + E_{oi}}{B} \quad (1)$$

де e_1 та e_2 – показники енергоємності – відповідно експлуатаційний і інвестиційний;

E_{ei} – експлуатаційні енерговитрати i виду;

E_{oi} – упередметнені енерговитрати i виду;

V – кількість продукції, обсяг робіт.

Величину e_1 слід визначати за такою формулою:

$$e_1 = \frac{1}{E_1} \cdot \sum_1^{n_1} (E_{1i}^* + E_{1i}^{**}) \quad (2)$$

де E_{1i}^* – витрата палива, електроенергії та інших видів енергії обладнанням і машинами на аналізованому об'єкті (прямі);

E_{1i}^{**} – витрата енергоресурсів на виробництво матеріалів, кормів, сировини, насіння і т.д., необхідних для нормального функціонування єдиного технологічного циклу (непрямі);

n – кількість послідовних процесів або операцій.

У загальному випадку питомий показник енерговитрат визначається:

$$\omega_i = \frac{P_{\text{потр.}i} \cdot T_i}{N} = \frac{P_{\text{уст.}i} \cdot K_{\text{исп.}i}}{N \cdot n_i} \cdot \frac{Q_i}{q_i} = \frac{P_{\text{уст.}i} \cdot Q_i \cdot K_{\text{исп.}i}}{N \cdot q_i \cdot n_i} \quad (3)$$

де $P_{\text{потр.}i}$ – споживана потужність агрегату;

$P_{\text{уст.}i}$ – встановлена потужність агрегату;

n_i – ККД установки;

Q_i – річна кількість переробляється продукції;

q_i – годинна продуктивність обладнання;

$K_{\text{исп.}i}$ – коефіцієнт невідповідності встановленої потужності при номінальній її продуктивності;

N – обсяг виробництва (поголів'я, валова продукція та ін.).

Використовуючи вищенаведені залежності, отримують послідовність розрахунку енерговитрат (електричної і теплової енергії) для процесів опалення, вентиляції, освітлення тощо.

Розрахунок виробничих потужностей

Добова потужність станції виробництва продукту (кормового антибіотика Теравіт К) складає:

$$Q = 325 \text{ кг/добу.}$$

Річний випуск виробництва продукту (кормового антибіотика Теравіт К) становить:

$$Q_{\text{річн}}=325 \cdot 365=118625 \text{ кг/рік}=118,6 \text{ т/рік}$$

Розрахунок вартості сировини та матеріалів

Розрахунок витрат сировини, матеріалів базується на нормах витрат, встановлених галузевими нормативами, стандартами та технологічними регламентами підприємств, обраним технологічним рішенням. Результати розрахунків представлені в таблиці 5.1.

Таблиця 5.1.

Розрахунок вартості сировини та матеріалів

Сировина та матеріали, грн..	Витрати на рік		Витрати на одиницю продукції		
	Кількість, од.	Сума, грн.	Кількіст ь, од.	Ціна, грн./м ³	Сума, грн..
1. Основна сировина: Органічна складова виробництва кормового антибіотику	17,75 т.	15000	1,4 кг	1,20	150
2. Допоміжні матеріали:					
Вода водопровідна	36500 м ³	573050	0,02 м ³	15,7	0,35
Барда	857 т	1285500	0,48 кг	1500	0,72
Активний мул	325580 м ³	2930220	0,18 м ³	90	16,2

ВИСНОВКИ

1. Показано, що для біосинтезу Теравіт К рекомендується використовувати культуру *Actinomyces aureofaciens*.
2. При культивуванні *Actinomyces aureofaciens* на запропонованому поживному середовищі вміст антибіотика становив на 8% більше, ніж у стандартному, а час скоротився на 20 год порівняно із контролем.
3. Використання ферментера з нижнім випуском рідини дозволяє зменшити кількість електроенергії на 10-15%.
4. Кормовий антибіотик Теравіт К, який отриманий на удосконаленому поживному середовищі із вмістом сої та м'яса, успішно застосовується при відгодівлі птиці та худоби.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Наказ Державного комітету України з нагляду за будівництвом охорони труда № 30 від 4.04.1994 р «Про затвердження типового положення про навчання, інструктаж і перевірку знань працівників з питань охорони праці»
2. Наказ МІН України від 15.05.2006 N 275 «Про затвердження Інструкції з санітарно-протиепідемічного режиму аптечних закладів»
3. Закон України «Основи законодавства України про охорону здоров'я»
4. Закон України «Про охорону навколишнього природного середовища»;
5. Закон України: «Про відходи»;
6. Постанова Кабінету Міністрів України № 421 від 5.05.1997 р «Про затвердження Положення про розслідування та облік нещасних випадків невиробничого характеру і порядку реєстрації трудового договору між працівником і фізичною особою»
7. Постанова Кабінету Міністрів України № 1100 від 3.10.1997 р «Про внесення змін і доповнень до правил відшкодування власникам підприємства, установи та організації або уповноваженим ним органом шкоди, заподіяної працівникові ушкодженням здоров'я, який пов'язаний з виконанням трудових обов'язків»
8. Постанова Кабінету Міністрів України № 59 від 23.05.2001 р зі змінами відповідно до Постанови Кабінету Міністрів України № 170 від 15.02.2002 р «Про затвердження переліку професій, виробництв та організацій, працівники яких підлягають обов'язковим профілактичним медичним оглядам, порядку проведення цих оглядів та видачі особистих медичних книжок «
9. ПКМУ від 3.08.1999 р. №1218 «Про затвердження Порядку розроблення, затвердження и перегляду лімітів на Утворення та розміщення відходів» (Із змінами, внесеними згідно з ухвалами КМ №1518 (1518-2002-п) від 11.10.2002 та КМ №289 від 11.04.2012 р.;

10. ДСанПіН 2.2.7.029-99 «Гігієнічні вимоги відносно поводження з промисловими відходами та визначення їх класу небезпеки для здоров'я населення»;
11. Державний класифікатор відходів України ДК 005-96;
12. СанПіН 2.1.7.728-99 «ПРАВИЛА ЗБОРУ, ЗБЕРІГАННЯ ТА ВИДАЛЕННЯ ВІДХОДІВ ЛІКУВАЛЬНО-ПРОФІЛАКТИЧНИХ ЗАКЛАДІВ»;
13. АКРЕДИТАЦІЯ ЛАБОРАТОРИИ
http://kpms.ru/Akkreditation/Akkreditation_laboratory.htm
14. Порядок акредитації (Витяг з Настанови з управління від 25.02.2019 № 261-Я)
<https://naau.org.ua/dokumenti-dlya-akreditaciyi/poryadok-akreditaciyi/>
15. Бирюков В. В. Основы промышленной биотехнологии. М. : КолосС, 2004.- 296 с.
16. Брюханов В. М. Лекции по фармакологии для высшего медицинского и фармацевтического образования / В. М. Брюханов, Я. Ф. Зверев, В. В. Лампатов, А. Ю. Жариков, - Барнаул : изд-во Спектр, 2014
17. Валагурова Е. В. Актиномицеты рода Streptomyces, описание видов и компьютерная программа их идентификации / Валагурова Е. В., Козырицкая В. Е., Иутинская Г. А. – К. : Наукова думка, 2013. – 618 с
18. Векірчик К. М. Мікробіологія з основами вірусології: Підручник. – К. : Либідь, 2011. – 312 с.
19. Виглинская А. О. Экспериментальное изучение фармакокинетики и метаболизма оригинального селективного анксиолитика афобазола. Дис. ... канд. мед. наук. М., 2007. 123 с.
20. Гарда С. О. Особливості біотехнології комплексного лактобіфідопробіотику: визначення впливу раціональної дози на продуктивність курчат-бройлерів. / С. О. Гарда, С. Г. Даниленко, Т. М. Рижкова, Г. С. Литвинов // Наукові вісті НТУУ «КПШ» 2017. – № 3. – С. 12-18.
21. Гарда С. О. Визначення стійкості до антибіотиків перспективних штамів для пробіотиків / С. О. Гарда, С. Г. Даниленко, Г. С. Литвинов. // Наукові вісті НТУУ «КПШ». – 2013. – № 3. – с.24-27

22. Гарда С. О. Пробиотичні властивості мікроорганізмів / С. О. Гарда, С. Г. Даниленко, І. В. Панасюк. // Матеріали ІХ Міжнародної науково-практичної конференції «Наука в інформаційному просторі» (10–11 жовтня 2013 р.) – Д. : Біла К. О. – С. 28-31
23. Герасименко В. Г. Біотехнологія: Підручник / Герасименко В. Г., Герасименко М. О, Цвіліховський М. І. – К. : Фірма «ІНКОС», 2006. – 647 с.
24. ГОСТ 12.1.050-86. Система стандартів безпеки праці. Общие требования.
25. ГОСТ 12.1.012-90. Система стандартів безпеки праці. Вибрационная безопасность. Общие требования.
26. ДСН 3.3.6.039-99. Державні санітарні норми виробничої загальної та локальної вібрації.
27. ГОСТ 12.1.004-91. ССБТ. Пожарная безопасность. Общие требования.
28. НАПБ А.01.001-2004. Правила пожежної безпеки в Україні.
29. Глік Б. Молекулярна біотехнологія / Глік Б, Пастернак Дж. – М. : Мир, 2012.
30. Грегірчак Н. М. Мікробіологія харчових виробництв : Лабораторний практикум / Грегірчак Н. М. – К. : НУХТ, 2019. – 302 с.
31. Даниленко С. Г. Вплив преміксів на розвиток штамів молочнокислих та біфідобактерій / С. Г. Даниленко. // Продовольча Індустрія АПК – 2014. - № 1. – с. 28-32
32. Даниленко С. Г. Біотехнологія бактеріального препарату ЛЛР / С. Г. Даниленко // Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького. – 2013. – т.15. - № 3 (57), частина 4. – с. 55-62 Технічні науки Серія «Харчові технології»
33. Егоров Н. С. Основы учения об антибиотиках / Н. С. Егоров. – М. : Наука, 2004. – 525 с.
34. Егорова Т. А. Основы биотехнологии / Т. А. Егорова, С. М. Клунова, Е. А. Живухина. - М. : Издат. центр «Академия», 2003. – 208 с.
35. Елинов Н. П. Основы биотехнологии / Н. П. Елинов. – С.-Пб: Наука, 1995. – 553 с.

- 36.Инженерная энзимология / В. К. Османов, О. В. Бирюкова, А. В. Борисов, Г. Н. Борисова, Ж. В. Мацулевич: Учеб. пособие. – Нижний Новгород : Изд-во Нижегородской гос. мед. акад., 2015. – 75 с.
- 37.Клиническая фармакология в практике врача-терапевта: учебное пособие/ под ред. В. И. Петрова.-Волгоград : Издательство ВолГМУ, 2017.-471с.
- 38.Конспект лекцій з дисципліни «Технологія антибіотиків та лікарських препаратів» освітньо-професійної програми першого (бакалаврського) рівня вищої освіти зі спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія» усіх форм навчання / Укладач: Головей О. П. – Кам'янське : ДДТУ, 2017. – 121 с.
- 39.Кочубей О. В. Загальна технологія харчових виробництв та технологія галузі / О. В. Кочубей. – К. : НУХТ, 2017. – 170 с
- 40.Краснюк И. И. Практикум по технологии лекарственных форм : учеб. / И. И. Краснюк, Г. В. Михайлова, О. Н. Григорьева. – М. : Академия, 2016 – 432 с.
- 41.Лубенцов В. Ф. Методы динамической идентификации биотехнологических объектов: Монография / В. Ф. Лубенцов, Д. В. Болдырев; Сев.-Кав. гос. техн. ун-т. Ставрополь : СевКавГТУ, 2005. - 84 с.
- 42.Микробиологическое производство биологически активных веществ и препаратов. Биотехнология. Кн. 6 : учеб. пособие для вузов / [В. А. Быков и др.]. – М. : Высш. шк. – 1987. – 143 с.
- 43.Мікробіологічне виробництво кормів та кормових добавок : курс лекцій з дисципліни для здобувачів вищої освіти ступеня «бакалавр» спеціальності 162 «Біотехнологія та біоінженерія» денної форми навчання / Ю. Ф. Дехтяр. – Миколаїв : МНАУ, 2017. – 99 с.
- 44.Мороз В. М., Сергета І. В .. Фещук Н. М., Олійник М. П. Охорона праці в медицині і фармації. - Вінниця., НОВА КНИГА, 2005. -544 с.
- 45.Определитель актиномицетов. Роды Streptomyces, Streptoverticillum, Chainia / [Гаузе Г.Ф., Преображенская Т. П., Свешникова М. А. и др.]. – М. : Наука, 1983. – 248 с .
- 46.Пирог Т. П. Загальна мікробіологія / Пирог Т. П. –К. : НУХТ, 2010.–632 с.

47. Поздеев О. К. Медична мікробіологія / Поздеев О. К. – М. : ГЕОТАР-мед, 2002. – 357 с.
48. Потемська О. І. β - галактозидазна активність бактерій як критерій відбору штамів до складу бактеріальних препаратів / О. І. Потемська, Н. Ф. Кігель, С. Г. Даниленко, К. В. Копилова // Харчова наука і технологія. – 2017. –V. 11 № 3 – С. 35-41
49. Сагайдак-Нікітюк Р. В. Управління відходами в умовах фармацевтичної галузі на підставі логістичного підходу: метод. рек. / Р. В. Сагайдак-Нікітюк, О. В. Посилкіна, Я. Г. Оніщенко. – Х. : НФаУ, 2012. – 21 с.
50. Саруханов А. В. Оборудование микробиологических производств : справочник / А. В. Саруханов, В. А. Быков. – М. : Колос, 1993. – 384 с.
51. Сичевський М. П. Дослідження впливу функціональної добавки БК Птиця на фізико-хімічні показники м'язової тканини курчат бройлерів / М. П. Сичевський, С. Г. Даниленко // Технологічний аудит та резерви виробництва. – 2016. - №4/4 (30). – С. 56-60.
52. Скибіцький В. Г., Козлова Г. В., Ібатулліна Ф. Ж., Волосянко О. В., Мельник М. В., Столюк В. В., Постой В. В., Ушаков В. О., Акименко Л. І., В'юник О. С., Кігель Н. Ф., Даниленко С. Г. Методичні рекомендації з конструювання пробіотиків та застосування їх у практиці ветеринарної медицини. – Національний університет біоресурсів і природокористування України. Український ННІ якості біоресурсів та безпеки життя. – Київ, 2011, 38 с.
53. Фармацевтическая биотехнология : [учебное пособие для студ., обуч. по специальности 060108 - «Фармация»] / [В. А. Быков и др.] ; под общ. ред. В. А. Быкова .— Воронеж : Изд-во Воронеж. гос. ун-та, 2009 .— 429, [1] с.
54. Федоренко В. О., Остап Б. О., Гончар М. В., Ребець Ю. В. Великий практикум з генетики, генетичної інженерії та аналітичної біотехнології мікроорганізмів. Львів: Видавн. центр ЛНУ імені Івана Франка, 2007. 277 с.

55. Федоренко В. О., Осташ Б. О., Гончар М. В., Ребець Ю. В. Великий практикум з генетики, генетичної інженерії та аналітичної біотехнології мікроорганізмів. Львів: Видавн. центр ЛНУ імені Івана Франка, 2017. 277 с.
56. Харкевич Д. А. Фармакологія: Учебник. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2016. — 736 с.
57. Харчові технології / Л. Л. ТОВАЖНЯНСЬКИЙ, С. І. БУХКАЛО, П. О. КАПУСТЕНКО [та ін.]. — К. : Центр учбової літератури, 2018. — 576 с.
58. Шалугін В. С. Процеси і апарати промислових технологій / Шалугін В. С. — К. : Центр учбової літератури, 2007. — 392 с.
59. Шлейкин А. Г. Основы биоконверсии: Учеб.-метод. пособие. — СПб.: Университет ИТМО, 2015. — 57 с.
60. Anderson A. S. The taxonomy of *Streptomyces* and related genera / A. S. Anderson, E.M.H. Wellington // Int. J. Syst. Evolu. Microbiol. — 2011. — Vol. 51. — P. 797–814.
61. George R. Bailie, Curtis A. Johnson, Nancy A. Mason, Wendy L. St. Peter. MEDfacts, Pocket Guide Of Drug Interactions. — 2 ed. — NPA. — P. 69.
62. Bentley SD, et al. (2012). Complete genome sequence of the model actinomycete *Streptomyces coelicolor* A3(2). Nature 417: 141–147.
63. Genome Sequence of the Streptomycin-Producing Microorganism *Streptomyces griseus* IFO 13350 — Ohnishi et al. 190 (11): 4050 — The Journal of Bacteriology
64. Ikeda H; Ishikawa J; Hanamoto A; Shinose M; Kikuchi H; Shiba T; Sakaki Y; Hattori M; Omura S (2013). Complete genome sequence and comparative analysis of the industrial microorganism *Streptomyces avermitilis*. Nat. Biotechnol. 21: 526–531.
65. Hopwood D. A. *Streptomyces* // Genetics and breeding of ind D. A. Hopwood, K. F. Chater. — Rosa Raton: CRC, Inc, Fla, 1984. — P. 7–42.
66. Lancini G. Biotechnology of antibiotics and other bioactive microbial metabolites / G. Lancini, R. Lozansetti. — L.: Plen. Press, 2013. — 236 p.
67. Madigan M; Martinko J (editors). Brock Biology of Microorganisms, Spp. 11th ed., 2015, Prentice Hall. ISBN 0-13-144329-1.

68.Panasiuk I. Screening strains for fermentation of meet raw material / I.Panasiuk, S. Danylenko, G. Cherednichenko // Ukrainian Food Journal – 2014. –v. 2,№ 1. – P. – 29-34

ДОДАТКИ