

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ**  
**СУМСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**  
**Факультет агротехнологій та природокористування**  
**Кафедра біотехнології та хімії**

До захисту допускається  
Зав. кафедрою, доцент

---

Владислав КОВАЛЕНКО

" \_\_\_\_ " \_\_\_\_\_ р.

**КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА**

за першим (бакалаврським) рівнем вищої освіти

на тему: «**Біосинтез Бактерію *Bacillus subtilis***»

Виконав (-ла):

Євген ВЛАСЕНКО

---

*Ім'я ПРИЗВИЩЕ*

Група:

БІО 2101

Науковий керівник

Ольга ДУБОВИК

---

*Ім'я ПРИЗВИЩЕ*

Рецензент

Наталія КАНДИБА

---

*Ім'я ПРИЗВИЩЕ*

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ  
СУМСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

**Факультет** *агротехнологій та природокористування*

**Кафедра** *біотехнології та хімії*

**Ступень вищої освіти** – *бакалавр*

**Спеціальність** – *162 «біотехнології та біоінженерія»*

**ЗАТВЕРДЖУЮ:**

**Завідувач кафедри біотехнології та хімії**

\_\_\_\_\_  
**Владислав КОВАЛЕНКО**

« \_\_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 202\_ р.

**ЗАВДАННЯ**

**НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ**

**Власенку Євгенію Миколайовичу**

Тема роботи: **Біосинтез Бактофіту *Bacillus subtilis***

1. Керівник кваліфікаційної роботи **Дубовик Ольга Олексіївна, к. с.-г. н.**

2. Строк подання здобувачем закінченої роботи \_\_\_\_\_

3. Вихідні дані до кваліфікаційної роботи – \_\_\_\_\_

4. Зміст розрахунково-пояснювальної записки (перелік питань, які необхідно опрацювати) \_\_\_\_\_

5. Перелік графічного матеріалу (з точною вказівкою обов'язкових креслень) \_\_\_\_\_

Керівник кваліфікаційної роботи \_\_\_\_\_ / Ольга ДУБОВИК  
*підпис* *Ім'я, ПРИЗВИЩЕ*

Завдання прийняв до виконання \_\_\_\_\_ / Євген ВЛАСЕНКО  
*підпис* *Ім'я, ПРИЗВИЩЕ*

Дата отримання завдання « \_\_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 20\_\_ р.

## КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№ п/п	Назви етапів кваліфікаційної роботи	Строк виконання етапів роботи	Примітки
1.	Вибір теми і об'єкта досліджень	5-й семестр	
2.	Розробка завдання до кваліфікаційної роботи; складання календарного плану; формування змісту розрахунково-пояснювальної записки (формування переліку питань, які необхідно опрацювати в роботі). Підбір методик для проведення досліджень	5-й семестр	
3.	Виконання кваліфікаційної роботи	8-й семестр	
3.1.	Підбір та аналіз літературних джерел з теми кваліфікаційної роботи	5-й семестр	
3.2.	Збір вихідних даних (проведення польових досліджень) для написання експериментальної частини кваліфікаційної роботи	6-й семестр	
3.3.	Підготовка загального варіанту кваліфікаційної роботи (розділ 1-3, висновки)	7-й семестр	
3.4.	Апробація результатів дослідження	За 40 днів до дати захисту	
4.	Перевірка роботи науковим керівником і допуск до попереднього захисту	За 35 днів до дати захисту	
5.	Перевірка кваліфікаційної роботи на унікальність	За 30 днів до захисту	
6.	Рецензування	За 15 днів до захисту	
7.	Попередній захист кваліфікаційної роботи	За 10 днів до захисту	
8.	Прилюдний захист кваліфікаційної роботи перед екзаменаційною комісією	Відповідно наказу ректора	

Керівник кваліфікаційної роботи \_\_\_\_\_ / Ольга ДУБОВИК  
*підпис* *Ім'я, ПРИЗВИЩЕ*

Здобувач \_\_\_\_\_ / Євген ВЛАСЕНКО  
*підпис* *Ім'я, ПРИЗВИЩЕ*

## АНОТАЦІЯ

Власенко Євген Миколайович

### БІОСІНТЕЗ БАКТОФІТУ *BACILLUS SUBTILIS*

162 Біотехнології та біоінженерія

### СУМСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Суми – 2025

Представлена кваліфікаційна робота містить технологію отримання бактофіту за допомогою бактерій *Bacillus subtilis*. Об'єкт дослідження є технологія виробництва бактофіту за допомогою штама бактерії *Bacillus subtilis* ІМП -21.

Щоб забезпечити високі врожаї доцільним є застосування фунгіцидів. Вони мають профілактичні та лікувальні властивості. Тому ми рекомендуємо використовувати бактофіт. Це є один із факторів успіху під час виробництва сільськогосподарських культур.

Для досягнення поставленої мети, нами було проаналізовано біологічні властивості штаму *Bacillus subtilis* ІПМ-215, оцінено доцільність використання меляси, як основного ростового субстрату, досліджено та виявлено переваги використання сучасного обладнання при очищенні біомаси. В результаті надано пропозиції щодо масштабування виробництва даного препарату.

Технологічна схема містить допоміжні роботи (підготовка мийних засобів, повітря, виготовлення й стерилізація культурального середовища) і основні процеси (отримання інокулята в колбі на качалці, в інокуляторі й посівному апараті, біосинтез цільового продукту, центрифугування культуральної рідини, сушіння ), які представлені у технологічній і апаратурній схемах.

Ключові слова: *Bacillus subtilis*, бактофіт, меляса, біосинтез, виділення, біомаса, центрифугування, сушіння.

## **ABSTRACT**

**Vlasenko Yevhen Mykolayovych**

### **BIOSYNTHESIS OF THE BACTOPHYTE BACCILYS SUBTILIS**

**162 Biotechnology and bioengineering**

**SUMY NATIONAL AGRARIAN UNIVERSITY**

**Sumy - 2025**

The presented qualification work contains the technology of obtaining bactophyte using *Bacillus subtilis* bacteria. The object of the study is the technology of producing bactophyte using the *Bacillus subtilis* strain IMP-21.

To ensure high yields, it is advisable to use fungicides. They have preventive and curative properties. Therefore, we recommend using bactophyte. This is one of the factors of success during the production of agricultural crops.

To achieve the set goal, we analyzed the biological properties of the *Bacillus subtilis* strain IPM-215, assessed the feasibility of using molasses as the main growth substrate, investigated and identified the advantages of using modern equipment for biomass purification. As a result, proposals were made for scaling up the production of this drug.

The technological scheme contains auxiliary work (preparation of detergents, air, production and sterilization of culture medium) and main processes (obtaining inoculum in a flask on a rocking chair, in an inoculator and inoculating apparatus, biosynthesis of the target product, centrifugation of the culture liquid, drying), which are presented in technological and equipment schemes.

**Keywords:** *Bacillus subtilis*, bactophyte, molasses, biosynthesis, isolation, biomass, centrifugation, drying.

## **ЗМІСТ**

<b>ВСТУП</b>	6
<b>РОЗДІЛ 1. БІОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ БАКТОФІТУ BACILLUS SUBTILIS ( Огляд літератури )</b>	9
<b>РОЗДІЛ 2. БІОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ БІОАГЕНТА</b>	14
2.1. Таксономічні показники біологічного агента	14
2.2. Фізіолого-біохімічні та морфолого-культуральні властивості біологічного агента та вибір середовища.	15
<b>РОЗДІЛ 3. ВИРОБНИЦТВО БІОЛОГІЧНОГО АГЕНТА</b>	19
3.1. Розрахунок потреби у цільовому продукті	19
3.2. Розрахунок виробничих потужностей	20
3.3. Розрахунок кількості циклів при виробництві і об'єму ферментера	20
3.4. Розрахунок етапів підготовки матеріалу для посіву	21
3.5. Особливості підготовки середовища і розрахунок виробничого обладнання	24
3.6. Матеріальний баланс, специфікація обладнання та контроль виробництва Бактофіту	32
<b>ВИСНОВКИ ТА ПРОПОЗИЦІЇ</b>	36
<b>СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ</b>	37
<b>ДОДАТКИ</b>	40

## ВСТУП

**Фунгіциди** – це спеціалізовані засоби, призначені для боротьби зі збудниками хвороб у рослин. Вони ефективно знищують або стримують розвиток грибів та їх спор, які можуть завдавати значної шкоди урожаю, знижуючи його кількість і якість [1].

**Захисні фунгіциди** використовуються, головним чином, для профілактики. Це, здебільшого, контактні препарати, які залишаються на поверхні листків без проникнення всередину. Їх дії достатньо лише на початковій стадії інфікування грибком. Оскільки вони не впливають на патогени, що вже встигли проникнути в рослинну тканину, важливо забезпечити рівномірне нанесення препарату на всю рослину. Молоді пагони, які виростають пізніше, не будуть захищені, а дощові опади можуть змивати залишки засобу, скорочуючи відведений період між обробками [1].

**Лікувальні фунгіциди** діють по-іншому. Вони спрямовані на боротьбу з хворобами після проникнення збудника в тканини рослини, пригнічуючи або зовсім зупиняючи його розвиток. До таких препаратів належать ті, що мають трансламінарну або системну властивість [1].

**Трансламінарна дія** означає здатність препарату проникати через кутикулу листка, накопичуватися в його внутрішніх тканинах і стримувати розвиток збудників хвороби. Засоби з цією властивістю поєднують у собі як захисний, так і лікувальний ефект [1].

**Системна дія** характеризується здатністю проникати через кутикулу листка та розповсюджуватися в тканинах рослини, рухаючись у напрямку наростання пагонів [1]. Ці препарати забезпечують потужний терапевтичний ефект і набули популярності завдяки можливості комбінації системної та контактної дії. Для максимально ефективного захисту рослин і розкриття їхнього потенціалу врожайності рекомендується застосовувати фунгіциди переважно профілактично. Це потрібно робити до появи симптомів захворювання або при перших ознаках ураження [1].

**Актуальність теми.** Зміни кліматичних умов провокують збільшення кількості збудників основних хвороб на полях сільськогосподарських культур. Щоб забезпечити високі врожаї доцільно є застосування фунгіцидів. Вони мають профілактичні та лікувальні властивості. Тому ми рекомендуємо використовувати бактофіт. Це є один із факторів успіху під час виробництва сільськогосподарських культур.

**Мета і завдання дослідження.** Препарат бактофіту на основі штаму *Bacillus subtilis* ІМП- 21 та оптимізувати умови його виробництва. Для досягнення поставленої мети, нами було проаналізовано біологічні властивості штаму *Bacillus subtilis* ІІМ-215, оцінено доцільність використання меляси, як основного ростового субстрату, досліджено та виявлено переваги використання сучасного обладнання при очищенні біомаси В результаті надано пропозиції щодо масштабування виробництва даного препарату.

**Об'єкт досліджень.** Процес біосинтезу фунгіцидного препарату на основі штаму *Bacillus subtilis* ІІМ-215.

**Предмет досліджень.** Технологічні процеси отримання та очищення препарату «Бактофіт» з використанням сучасного обладнання, а саме сепаратора-очищувача BIOSTAT® Cplus та сажувальної центрифуги.

**Методи досліджень.** Мікробіологічні (посів, культивування, підрахунок колоній). Біохімічні (визначення титру та активності препарату). Фізико-хімічні (аналіз складу середовища, якість очищення). Технологічні (вивчення ефективності обладнання).

**Наукова новизна отриманих результатів.** Біологічний агент *Bacillus subtilis* ІІМ-215, є основним продуктивним продуцентом – в результаті концентрація цільового продукту становить БА- 10000 ОД / г, а титр не менше 2,0 млрд. В якості ростового субстрату використовували дешеву сировину - меляса.

Під час виробництва було використано більш ефективне обладнання, зокрема, сепаратор-очищувач фірми «BIOSTAT® Cplus». Завдяки чому відбулося зменшення втрати біомаси у порівнянні з фільтруванням та флотацією. А також використання у виробництві саджувальної центрифуга у яка має автоматичне управління. Здатність ефективно обробляти суспензії з широким діапазоном концентрацій твердої фази та розмірів частинок, забезпечуючи якісне промивання твердої фази.

Елемент новизни є удосконалення технології отримання препарату «Бактофіт» в умовах виробництва шляхом впровадження новітнього обладнання. Це забезпечило вищу якість очищення біомаси та покращує якість кінцевого продукту.

#### **Практичне значення дослідження:**

Розроблено підхід, який дозволить виробляти ефективний біофунгіцид з високою концентрацією активної речовини на основі доступної сировини (м'яса). А за рахунок автоматизації процесу відбуватимуться мінімальні втрати біомаси. Це сприятиме зменшенню витрат на виробництво препарату.

**Особистий внесок.** Автор був учасником в проведенні досліджень а також у зборі та обробці його результатів.

Кваліфікаційна робота викладена на 39 сторінках друкованого тексту, містить 8 таблиць, 2 рисунка і складається з вступу, трьох розділів, списку використаних джерел (41 джерело).

## РОЗДІЛ 1

### БІОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ПРОДУКТУ БАКТОФІТУ BACCILUS SUBTILIS ( Огляд літератури )

Бактофіт є мікробіологічним препаратом із фунгіцидною та ростостимулювальною дією, який застосовується як альтернатива хімічним засобам, зокрема мідному купоросу та пестицидам, що містять мідь. Це біологічний фунгіцид, що виявляє антифунгальну й антимікробну активність, а також сприяє стимуляції рослинного росту. Ефективно використовується проти таких захворювань, як борошниста роса, коренева гниль, фузаріоз та бактеріози. Особливістю препарату є його безпечність для людства, тварин і корисної фауни [2].

**Склад та механізм дії.** Основу Бактофіту становлять спори бактерій роду *Bacillus* та живі клітини із титром не менше  $2,0 \cdot 10^9$  КУО/см<sup>3</sup>. Його застосовують при захисті овочів, плодово-ягідних насаджень, зернових і декоративних культур. Препарат пригнічує такі шкідливі об'єкти, як парша, фітофтороз, фузаріоз та різні види гнилі [2].

Особливості використання. Бактофіт підходить для обробки на всіх фазах розвитку рослин і застосовується кожні 8–15 днів. Робочий розчин готується шляхом розведення препарату у воді в пропорції 1:100.

Норми витрат:

- Передпосівна обробка насіння (за 1–2 доби до посіву): 1,5–2,5 л/т.
- Обробка вегетуючих рослин: 3,0–5,0 л/га.
- Полив рослин: 150–250 мл розчину на 10 літрів води.

Ефективність застосування препарату на рівні 84%–88% [2].

**Поєднання з іншими препаратами для захисту рослин.** Бактофіт сумісний із біологічними фунгіцидами, інсектицидами, стимуляторами росту та бактеріальними добривами. Також його можна використовувати разом із гербіцидами, такими як Кортекс, Гепард або Елантпремія [2].

Оптимальна температура зберігання препарату – від +4°C до +10°C протягом трьох місяців.

Застосування Бактофіту рекомендовано в галузі рослинництва для боротьби з бактеріальними і грибними хворобами зернових, овочевих культурах, плодово-ягідних, квітах та лікарських рослинах. Препаративна форма препарату - порошок ( рис. 1.1.) або рідка [3, 41].



**Рис 1.1. Бактофіт (рідкий) [41].**

Система захисту зернових культур. Бактофіт рекомендовано для боротьби із захворюваннями зернових, зокрема фузаріозною та

гельмінтоспороною кореневими гнилями, пліснявінням насіння, борошнистою росою, септоріозом, бурю та жовтою іржею, вертицильозним в'яненням, ринхоспоріозом, а також бактеріозами. Для досягнення найкращих результатів перед посівом слід проводити протруювання насіння за 1-5 днів [3]. Обробка насіння Бактофітом забезпечує ефективний захист від корневих гнилей на початкових етапах розвитку посівів. У період вегетації рекомендується поєднувати використання препарату з хімічною прополкою гербіцидами. Це забезпечує не лише захист від захворювань, але й має антистресову дію на рослини, сприяючи підвищенню врожайності зернових до 15%.

Система захисту плодкових культур. Бактофіт рекомендується для інтегрованої системи захисту плодово-ягідних культур від таких хвороб, як парша, борошниста роса та моніліоз. Застосування слід починати в другій половині вегетації, виконуючи 4-5 послідовних обробок у залежності від погодних умов, рівня стійкості сорту до хвороб та ступеня розвитку інфекції.

Система захисту овочевих культур. Для захисту овочів у теплицях від корневих гнилей рекомендовано передпосівне замочування насіння в розчині Бактофіта. Препарат також ефективний для профілактики та лікування борошнистої роси на овочевих культурах закритого ґрунту, а також фітофторозу та альтернаріозу картоплі. Обприскування проводять у період вегетації з інтервалом у 6-10 днів або при перших проявах хвороби. Замочування насіння капусти і обробка коріння розсади перед висадкою забезпечують надійний захист від бактеріозів та вилягання [3].

Система захисту виноградників. Бактофіт ефективний у боротьбі з оїдіумом і сірою гниллю на винограді. Рекомендовано застосовувати препарат у період дозрівання ягід (до 6-8 обробок за сезон). Ефективність проти оїдіуму сягає 99%, а від сірої гнилі – до 92% [3]. До того ж Бактофіт не впливає негативно на процес бродіння винних матеріалів і покращує

органолептичні та біохімічні характеристики вина порівняно з повністю хімічним захистом.

### **Цільове призначення препарату:**

- Обробка насіння й бульб.
- Захист кореневої системи під час пересадки рослин.
- Обприскування у фазі вегетації або полив під корінь.
- Спільне застосування із гербіцидами.
- Борці зі збудниками грибних і бактеріальних хвороб зернових, овочевих, плодових і лікарських культур, квітів [3].

### **Характеристика Бактофіта:**

- Виготовляється на основі природного штаму *Bacillus subtilis* ПІМ-215.
- Термін очікування складає 1 день після обробки.
- Не спричиняє стійкість фітопатогенів і може використовуватись у будь-якій фазі розвитку рослин.
- Пропонується у формах суспензійного концентрату та змочувального порошку [3].

Культура *Bacillus subtilis* має здатність цілеспрямовано знищувати окремі види шкочочинних організмів. При цьому *Bacillus subtilis* не завдаючи шкоди людуству, теплокровним тваринам, птахам і корисним комахам. Під час своєї діяльності вона забезпечує захист без негативних наслідків для цих істот. В процесі своєї життєдіяльності вона виробляє комплекс ферментів, серед яких найбільше значення має хітиназа. Відомо, що клітинна оболонка більшості фітопатогенних грибів має вміст хітину, саме на це направлена дія цього ферменту. Навіть у невеликих концентраціях хітиназа пошкоджує клітинні стінки грибів і це провокує загибель або знижує їх патогенність. Іншими антимікробними компонентами штаму-продуцента досліджуваного

препарату є антибіотики, які гальмують розвиток фітопатогених бактерій і грибів. Встановлено, що Бактофіт сприяє збереженню вологості у рослинах.

Дія препарату Бактофіт.

- Ефективно пригнічує збудників хвороб рослинності уже на наступний день застосування.

- Не втрачає біологічну активність до 7–20 днів у залежності від виду збудника.

- Забезпечує захист проти широкого спектра патогенів рослин.

- Має імуномодуляторний, рістстимулюючий і антистресовий ефект.

- Діє навіть за умов недостатньої вологості.

- Абсолютно нешкідливі людині, теплокровним тваринам, птахам, риbam, бджолам і навколишньому середовищу.

- Зручний для застосування на будь-якій стадії розвитку рослин.

- Термін очікування становить лише 1 день, що дозволяє використовувати препарат навіть під час дозрівання овочів та фруктів, бо він не накопичується ані в рослинах, ані у ґрунті.

- Допомогає розвиватися корисній мікрофлорі ґрунту.

- Не викликає резистентності у фітопатогенів, тому можливе багаторазове використання до досягнення позитивного результату.

- За дотримання рекомендованих норм застосування препарат не токсичний та цілком безпечний для людей, теплокровних тварин, риб, водних організмів, бджіл і корисних комах [4].

Переваги препарату.

- Покращення живлення рослин завдяки збалансованому складу.

- Ефективна профілактика та захист від хвороб рослин.

- Зміцнення імунітету рослин.
- Зменшення наслідків стресу від використання хімічних пестицидів.
- Підвищення врожайності на 10–20% [3].

Препарат повністю безпечний для людини, тварин, птахів, комах і довкілля. Не має фітотоксичної дії [3].

## РОЗДІЛ 2

### БІОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ БІОАГЕНТА

#### 2.1. Таксономічний показники біологічного агента

Визначник Бергі було опубліковано ще у 1923 році. Дев'яте видання систематизації бактерій *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (4 томи) побачило світ у період 1984–1989 років за участі Американського товариства мікробіологів разом із провідними вченими з 14 країн. У цьому виданні детально висвітлено інформацію о мікроорганізмах, їх числову таксономію, генетичні, серологічні та хемотаксономічні методи дослідження різноманітних бактеріальних видів. Також висвітлено основу номенклатури та ідентифікації бактерій, а також екологічні властивості прокаріотів. Завдяки своєму високому авторитету "Визначник Бергі" отримав широке визнання у світі [6].

На основі першого видання *Bergey's Manual*, заснованого на фенотиповій систематиці, *Bacillus subtilis* класифікується таким чином:

- Царство: Archaea
- Відділ: Firmicutes
- Клас: Bacilli
- Порядок: Bacillales
- Родина: Bacillaceae
- Рід: Bacillus
- Вид: Subtilis

У 10-му виданні *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* описано новітні здобутки у сфері бактеріології та таксономії, будучи повністю реорганізованим відповідно до філогенетичної класифікації. Ця версія значно

розширена ніж попереднє видання за 1984 рік,: більше ніж 2200 нових видів та 390 нових родів додано у цьому виданні. 10-те видання має з п'ять томів:

- Перший том присвячений археям та бактеріям фототрофним.
- Другий том охоплює грамнегативні бактерії (Proteobacteria).
- Третій том містить опис грампозитивних бактерій із низькою наявністю ГЦ у ДНК.
- Четвертий том продовжує розгляд грампозитивних бактерій, але з високим вмістом ГЦ у ДНК.
- П'ятий том включає планктоміцети, спірохети, фузобактерії тощо.

Згідно з філогенетичною класифікацією, рід *Bacillus* належить до бактерій грампозитивних, які створюють дві підгрупи. *Bacillus* знаходиться у першій підгрупі – "*Clostridium*".

Рід *Clostridium* – це велика група бактерій грампозитивних типу Firmicutes, які є анаеробами облігатними і здатні утворювати ендоспори. Клітини мають паличкоподібну форму, що й дало назву роду від латинського слова "closter" – веретено. Ця ознака хоч і визначає рід *Clostridium*, однак не завжди відповідають філогенетичній групі, тому багато видів було перекласифіковано в інший рід [6].

## **2.2. Фізіолого-біохімічні та морфолого-культуральні властивості біологічного агента**

Фізіолого-біологічні ознаки біологічного агента штаму *Bacillus subtilis* 65 демонструють, що цей мікроорганізм є строгим аеробом із оптимальною температурою росту 50 °С у межах рН 5,3–6,4. Культура утилізує фруктозу, глюкозу, сахарозу, розщеплює крохмаль, арабінозу, пептонізує молоко, розріджує желатин і відновлює нітрати до нітритів. На середовищі Кларка спостерігається утворення ацетилметилкарбонілу [5].

Морфолого-культуральна характеристика: штам *Bacillus subtilis* 65 має вигляд паличок розміром  $1,7-3 \times 4,0-0,6$  мкм ( рис. 2.1.). На багатих поживних середовищах ці бактерії формують товсті й великі палички, які іноді розташовані у вигляді ланцюжків. Вони рухливі завдяки наявності перитрихіальних джгутиків і є грампозитивними. Культура утворює еліпсоїдні або циліндричні спори розміром  $1,0-1,5 \times 0,6-0,9$  мкм [5].



**Рис 2.1. Зовнішній вигляд клітини під мікроскоп *Bacillus subtilis* [41].**

Штам росте на середовищах МПБ і МПА, і на субстратах із рослинними залишками чи на простому живильному синтетичному середовищі для гетеротрофів. Його класифікують як хемоорганогетеротрофа, здатного амоніфікувати білки і розщеплювати вуглеводи, такі як крохмаль і глікоген. Штами *Bacillus subtilis*, які не виявляють патогенності для людини і тварин, мають статус *Generally Regarded As Safe*, відповідно до класифікації Управління яке контролює якість продовольчих та медичних продуктів у США, що було підтверджено даними К. Харвуда у 1992 році [5].

Одним із ключових етапів промислового виробництва є правильний вибір біологічного агента та ПС для культивування.

Під час вибору біоагента а також поживного середовища, з метою культивування продукту типу «Бактофіт» на основі *Bacillus subtilis*, важливо враховувати кілька ключових факторів. Передусім варто орієнтуватися на біологічні особливості штаму бактерій та економічну ефективність. Такі

показники допомагають обрати найбільш економічно вигідне та технологічно ефективне середовище для культивування *Bacillus subtilis* з урахуванням витрат і продуктивності.

У таблиці 2.1 показано вартість різних поживних середовищ для двох штамів *Bacillus subtilis* (ІМВ В-7023 і ІМВ В-7349). Як бачимо поживне середовище для штаму ІМВ В-7023 є дорожчим (5,6219 грн), але має багатший склад. А середовище для ІМВ В-7349 дешевше (1,552 грн), але містить менше компонентів.

Таблиця 2.1

**Оціночна вартість поживного середовища для штамів *Bacillus subtilis***

Штам бактерії	Склад живильного середовища	Кількість, г/л	Маса, кг/дм	Ціна 1 кг, грн	Вартість, грн	Загальна ціна середовища, грн
ІМВ В-7349	м'яса	15	0,13	17	2,13	5,62
	CaCO <sub>3</sub>	3	0,03	3,5	0,09	
	екстракт кукурудзяний	2	0,03	55	1,36	
	NaCl	0,3	0,03	12	0,96	
	MgSO <sub>4</sub> *7H <sub>2</sub> O	0,3	0,001	7	0,02	
	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0,2	0,001	72	0,08	
	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> *3H <sub>2</sub> O	0,2	0,01	192	1,08	
ІМВ В-7023	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	6	0,01	72	0,07	1,55
	MgSO <sub>4</sub> *7H <sub>2</sub> O	2	0,001	15	0,01	
	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	2	0,1	12	0,65	
	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	1,2	0,001	20	0,83	

Обрання поживного середовища залежить від мети культивування — нарощування біомаси, продукування спор чи вторинних метаболітів (антибіотиків, ферментів). У таблиці 2.2. наведено склад поживних середовищ та умови за яких повинно відбуватися культивування. Ця таблиця характеризує якісний склад ПС та параметри культивування для різних штамів бактерій.

Таблиця 2.2

## Характеристика складу поживних середовищ до біологічного агенту

Штам бактерії	Склад живильного середовища	Кількість, г/л	Вміст продукту, г/л	Час культивування, год	Параметри культивування
ІМВ В-7349	меляса	15	$2 \cdot 10^{10}$	24	рН 7, t 29°C, 240 об./хв <sup>-1</sup>
	CaCO <sub>3</sub>	3			
	екстракт кукурудзяний	2			
	NaCl	0,3			
	MgSO <sub>4</sub> *7H <sub>2</sub> O	0,3			
	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0,2			
	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> *3H <sub>2</sub> O	0,2			
ІМВ В-7023	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	6	$4 \cdot 10^9$	48	рН 7, t 28°C, 220 об./хв <sup>-1</sup>
	MgSO <sub>4</sub> *7H <sub>2</sub> O	2			
	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	2			
	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> S0 <sub>4</sub>	1,2			
6- М	меляса бурякова	30	$1,3 \cdot 4$	12	рН 6, t 30°C, 220 об./хв <sup>-1</sup>
	екстракт кукурудзяний	15			
	крейда	1			
	вода				
5- РК	глюкоза	10	$1,8 \cdot 10^8$	48	рН 7, t 28°C, 240 об./хв <sup>-1</sup>
	Са <sub>3</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>	2			
	екстракт дріжджовий	2			
	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> S0 <sub>4</sub>	0,5			
	K <sub>2</sub> S0 <sub>4</sub>	0,2			
	MgSO <sub>4</sub>	0,2			



## РОЗДІЛ 3

### ВИРОБНИЦТВО БІОЛОГІЧНОГО АГЕНТА

#### 3.1. Розрахунок потреби у цільовому продукті

Препарат Бактофіт є біологічним фунгіцидом, що застосовується для захисту широкого спектра культур від грибкових і бактеріальних хвороб. Його розроблено на основі штаму ПІМ-215 *Bacillus subtilis*, виділеного з природного середовища. За специфічністю впливу цей штам вражає лише патогенні організми без шкоди для людей, тварин або корисної фауни. Основним компонентом його біологічної активності є фермент хітиназа, який руйнує клітинні стінки грибів. До додаткових ефектів належать антибіотики, що інгібують фітопатогенні бактерії та гриби [7].

Препарат є ефективним у боротьбі з такими захворюваннями винограду, як оїдіум та сіра гниль. Рекомендується обробка в період дозрівання ягід. При застосуванні до 6–8 разів за сезон ефективність контролю оїдіуму сягає 99%, а сірої гнилі — до 92%. Використання препарату позитивно впливає на якість урожаю та його здатність до переробки, включаючи покращення характеристик вина [7].

Для розрахунку будемо базуватися на обробці ділянки площею 100 га виноградників (табл. 3.1).

Таблиця 3.1

#### Дані для розрахунку річної необхідності препарату Бактофіт на основі штаму ПІМ-215

	Норма витрати, л/га	Кількість обробок за сезон, штук	Сезонна потреба, л/га	Площа, га	Загальна потреба в препараті, л
Виноград	0,7	сім	4,9	100	490

### 3.2. Розрахунок виробничих потужностей

Визначивши синтезувальну здатність штаму-продуцента (ШМ-215) за 48 годин культивування, визначаємо об'єм потрібної культуральної рідини для виробництва необхідних обсягів продукції.

Для обробки 4,9 літрів рідини знадобиться на 1 га; отже, для 100 га – 490 літрів. З урахуванням втрат при виділенні продукту (20%) необхідно отримати (Коефіцієнт запасу  $K_1$ ) :

$$V_{кр} = 490 / 0,2 = 2450 \text{ літрів культуральної рідини.}$$

### 3.3. Розрахунок кількості циклів при виробництві і об'єму ферментера

Рахуємо об'єм культуральної рідини, який необхідно отримати за один цикл процесу ферментації. Для того аби визначити кількість етапів під час приготування ПМ. Беремо при розрахунку 90 робочих днів трудоднів (Трд), об'єм культуральної нашої рідини на 1 день ( $V_d$ ) становитиме:

$$V_d = V_{кр} / \text{Трд} = 2401 \text{ л} / 90 \text{ днів} = 27 \text{ л/день.}$$

Обсяг за цикл ферментації дорівнюватиме:

$$V_{ц} = (K_1 \times V_e \times T_{цф}) / 24 = (1,1 \times 27 \text{ л} \times 130 \text{ год}) / 24 = 161 \text{ л} / \text{цикл,}$$

де  $T_{цф}$  — це є тривалість циклу ферментації (120 год біосинтез + 10 год підготовки).  $K_1$  —це є коефіцієнтом запасу. Його враховують на випадок можливих нестерильних операцій ( $K_1=1,1 - 1,5$ ).

$$V_{ц} = (K_1 \times V_d \times T_{цф}) / 24 = (1,1 \times 27 \times 130) / 24 = 161 \text{ л за 1 цикл.}$$

До процесів підготовки ферментера входить: миття ( 2 години), перевірка герметичності (2 год), процес стерилізації (2 год), процес

охолодження ( 1 год), процес завантаження середовища у ферментер становить 1,5 години, засів відбувається найшвидше і триває лише 30 хвилин і останній етап це вивантаження готової рідини - 1 година.

Загальна кількість циклів:

$$N_{\text{ц}} = 2450 \text{ л} / 30 \text{ л} = 82 \text{ цикли.}$$

А це значить, що для приготування 82 літрів культуральної маси нам підходить для використання ферментер об'ємом:

$$V_{\text{Г}} = V_{\text{цк}} / K_{\text{зап}} = 2450 \text{ л} / 0,6 = 4 \text{ м}^3,$$

де  $K_{\text{зап}}$  — це є коефіцієнт заповнення.

Ми обрали ферментер з об'ємом  $V_{\text{Гф}} = 6,3 \text{ м}^3$ . По своєму об'єму він нам підходить найбільше.

підтверджуємо коефіцієнт заповненості ферментера:

$$K_{\text{зап}} = V_{\text{ф}} / V_{\text{Гф}} = 4 \text{ м}^3 / 6,3 \text{ м}^3 = 0,6, \text{ що відповідає вимогам (0,5–0,65).}$$

#### 3.4. Розрахунок етапів підготовки матеріалу для посіву

Нам відомо, що за цикл виробничого процесу ми отримаємо  $V_{\text{кр}} = 2450$  літрів культуральної маси.

Слід нам врахувати втрати за краплевиносом через колектор після відпрацьованого повітря, зазвичай це 15-20%. Потрібний обсяг становитиме:

$V_{\text{роб.1}} = V_{\text{кр}} / (1 - E_{\text{ф}}) = 4 \text{ л} / (1 - 0,1) = 3,6 \text{ л}$ , де  $E_{\text{ф}}$  — це є витрати під час процесу біосинтезу.

Етапи ми проводимо у ферментерах з об'ємом -  $V_{\text{роб.1}} = 3,6 \text{ л}$ .

Тому при розрахунку можливого об'єму ферментера, встановлено, що :  
 $V_{\text{ф1}} = V_{\text{роб.1}} / K_{\text{зап}} = 3,6 \text{ л} / 0,6 = 6 \text{ м}^3$ .

Посівний матеріал становить 10% ПС. При розрахунку поживного середовища його кількість у ферментері буде:  $V_{пс1} = V_{роб.1} / (1+Xф) = 3,6 \text{ л} / (1+0,1) = 3,7 \text{ л}$ , де  $Xф$  у формулі означає кількість посівного матеріалу.

Кількість матеріалу в такому випадку буде дорівнювати:  $V_{пм1} = V_{роб.1} - V_{пс1} = 3,7 \text{ л} - 0,6 \text{ л} = 3,1 \text{ л}$ .

Обираємо ферментер з найближчим об'ємом  $V_{сф} = 4 \text{ м}^3$ , уточнюючи коефіцієнт заповнення:  $K_{зап1} = V_{роб.1} / V_{сф} = 3,6 \text{ л} / 4 \text{ л} = 0,9$ , що відповідає критеріям (0,15 – 1).

Слід врахувати, що при одержанні літра інокуляту слід враховувати витрати після процесу краплевиносу, який відбувається через колектор повітря яке вже було відпрацьоване, які є від 15 до 20%.

Отримуємо, що кількість ПС і ПМ для посівного апарату становитиме:

$$V_{роб.2} = V_{пм1} / (1-E_{па}) = 3,1 \text{ л} / (1-0,1) = 3,4 \text{ л}.$$

Кількість необхідного посівного матеріалу визначена як 10% від загального об'єму нашого поживного середовища. Тому ми розуміємо, що в апараті обсяг поживного середовища буде  $V_{пс2} = V_{роб.2} / (1 + X_{па}) = 3,4 / (1+0,1) = 2,8 \text{ л}$ , де  $X_{па} = 0,1$  є дозою інокуляту.

Отже, для посівного апарату знадобиться посівний матеріал об'ємом  $V_{пм2} = V_{роб.2} - V_{пс2} = 3,4 - 2,8 = 0,6 \text{ л}$ .

Щоб отримати кількість інокуляту  $V_{роб.2} = 0,1 \text{ л}$ , використовують посівний апарат з ємністю:  $V_{па2} = V_{роб.2} / K_{зап} = 3,4 / 0,6 = 5,6 \text{ л}$ .

На основі цього вибирається стандартний ферментер з об'ємом  $V_{сф} = 5 \text{ м}^3$ , і тоді коефіцієнт заповнення  $K_{з2}$  уточнюється як  $V_{роб.2} / V_{сф} = 3,4 / 4 = 0,85 \text{ л}$ .

Цей коефіцієнт заповнення відповідає заданим межам від 2 до 3. Враховуючи втрати через краплинонос, які в середньому становлять 15 - 20%. В такому випадку кількість ПС перед культивуванням в інокуляторі буде:

$$V_{роб.3} = V_{пм2} / (1 - E_{ін}) = 0.6 / (1-0,1) = 0.67 \text{ л.}$$

Для інокулятора доза посівного матеріалу встановлена на рівні 10% від об'єму ПС,:

$V_{пс3} = V_{роб.3} / (1 + X_{ін}) = 0.67 / (1+0,1) = 0.61 \text{ л,}$  де  $X_{ін} = 0.1$  є дозою для інокулятора.

Визначається кількість ПМ, відповідно це буде такий вираз -  $V_{пм3} = V_{роб.3} - V_{пс3} = 0.67 - 0.61 = 0.06 \text{ л.}$

Цей об'єм можна отримати при культивуванні продуцента в інокуляторі:  $V_{ін3} = V_{роб.3} / K_{зап} = 0.06 / 0.6 = 0.1 \text{ л.}$

Вибираючи найближчий стандартний ферментер об'ємом  $V_{сф} = 4 \text{ л,}$  а коефіцієнт заповнення уточнюється як  $K_{з3} = V_{роб.3} / V_{сф} = 0.06 / 4 = 0.015.$

На початку культивування в малому інокуляторі, враховуємо ймовірні втрати через краплинонос (15 до 20% ). А також ще враховуємо кількість необхідного нам ПС та ПМ:

$$V_{роб.4} = V_{пм3} / (1 - E_{м.ін}) = 0.1 / (1-0.1) = 0.11 \text{ л.}$$

Для малого інокулятора кількість ПМ визначена як 20% від об'єму середовища. Обсяг ПС для малого інокулятора визначаємо як:  $V_{пс4} = V_{роб.4} / (1 + X_{м.ін}) = 0.11 / (1+0,1) = 0.1 \text{ л,}$  де  $X_{м.ін} = 0,1$  — кількість посівного матеріалу.

Отже, кількість ПМ рахуємо за такою формулою:  $V_{пм4} = V_{роб.4} - V_{пс4} = 0.11 - 0.1 = 0.01 \text{ л.}$

Обсяг інокуляту  $V_{роб.4} = 0.11$  можна отримати при культивуванні продуцента в малому інокуляторі об'єм якого -  $V_{ін4} = V_{роб.4}/K_{зап} = 0.11/0.6 = 0.18$  л.

Для цього підходить найближчий стандартний ферментер об'ємом 4 л, уточнюючи коефіцієнт заповнення:  $K_{з4} = V_{роб.4}/V_{сф} = 0.11/4 = 0.027$ .

Для отримання **в колбах** 1.47 літрів посівного матеріалу ми повинні врахувати можливі втрати на рівні 1%:  $V_{роб.5} = V_{пм4}/(1-E_{кол}) = 0.01/(1-0.01) = 0.010$  л.

Посівний матеріал для колб на качалках 10% від загального об'єму поживного середовища:  $V_{пс5} = V_{роб.5}/(1+X_{кол}) = 0.010/(1+0,1) = 0.009$  л, де  $X_{кол} = 0,1$  — доза ПМ для колб.

Тому, кількість ПМ буде становити:  $V_{пм5} = V_{роб.5} - V_{пс5} = 0.010 - 0.009 = 0.001$  л.

Посівний матеріал обсягом  $V_{роб.5} = 0.010$  л можна отримати в колбах качалочних об'ємом 750 мл з коефіцієнтом заповнення  $K_{зк} = 0.2$ . Необхідна кількість колб розраховується як:  $N_{колб} = V_{пм4}/(V_{колб} \times K_{зк}) = 0.01/(750 \times 0.2) = 6.6$ , тобто необхідно 14 колб.

Згідно з оцінками, для біосинтезу «Бактофіту» передбачається використання одного ферментера об'ємом 40 м<sup>3</sup> (та ще один у резерві), одного посівного апарата об'ємом 4 м<sup>3</sup> (запасний), одного інокулятора на 400 л (запасний) та одного малого інокулятора на 40 л (запасний).

### **3.5. Особливості підготовки середовища і розрахунок виробничого обладнання**

Особливості підготовки і процес стерилізації ПС для максимальної ефективності процесу синтезу бактофіту (648 од/мл за 120 годин) при

культивуванні *Bacillus subtilis* штаму ППМ-215 полягають у наступному:  
Композиція поживного середовища включає:

Меляса - 15.0

Кукурудзяний екстракт - 2.0 К

$2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  – 0.2

$\text{KH}_2\text{PO}_4$  – 0.2

$\text{MgSO}_4 - 7\text{H}_2\text{O}$  – 0.3

NaCl – 0.3  $\text{CaCO}_3$  – 3.0

Процес підготовки включає кілька важливих етапів, таких як одержання інокуляту, що здійснюється в чотирьох стадіях: у колбах на качалці, водночас у малих і великих інокуляторах (з об'ємом 0,04 та 0,40 м<sup>3</sup>) та посівній системі об'ємом 4 м<sup>3</sup>. Поживне середовище для вирощування в колбах вимагає 1,76 л середовища та підлягає стерилізації в автоклаві.

Склад ПС ділиться на дві окремі композиції для стерилізації:

- Композиція А (кукурудзяний екстракт та меляса): стерилізація при 112°C протягом 30 хвилин.

- Композиція Б ( $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ,  $\text{MgSO}_4$ ,  $\text{NaCl}$ ,  $\text{CaCO}_3$ ): стерилізація при 131°C протягом 40 хвилин під тиском 0,15 МПа.

Середовище для біологічного синтезу в ферментері має об'єм, що вимагає стерилізації — 20 м<sup>3</sup>. Для цього доцільно використовувати установку безперервної стерилізації з економічних міркувань.

Розрахунки матеріального балансу та потужностей вказують на потребу у виготовленні 490 м<sup>3</sup> бактофіту на рік протягом 38 робочих днів (умовами замовника). Середовище *Bacillus subtilis* має у складі:

Меляса - 15.0

Кукурудзяний екстракт - 2.0

$K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$  – 0.2

$KH_2PO_4$  – 0.2

$MgSO_4 - 7H_2O$  – 0.3

NaCl – 0.6

$CaCO_3$  – 3.3

$C_{\Sigma ф}$  = 18.3

Згідно з нормативно-технічною документацією, готовий продукт повинен містити не менше 95% сухих речовин. Виходячи з цього, початкові дані для розрахунків такі:

$$T_{цф} = T_{ф} + T_{по} = 120 + 10 = 130 \text{ год,}$$

де  $T_{ф}$  – період культивування, год;

$T_{по}$  – період підготовчих операцій, год;

Отже загальний час роботи ферментера (цикл) складає 130 годин, включаючи 120 годин на культивування і 10 годин на підготовчі операції. Застосовується коефіцієнт запасу  $K_1 = 1$ , коефіцієнт заповнення ферментера  $K_{ф} = 0,7$ , а також інші коефіцієнти для посівних апаратів, інокуляторів та колб. Заповнення збірника враховується з коефіцієнтом  $K_{зб} = 0,7$ .

Загальні втрати при виділенні готового продукту складають 15%, а кількість ПМ для різних стадій процесу визначено в межах від 0,1 до 0,02. Розрахунок партій продукту проводиться із значенням для об'єму ферментера, де процес заповнюється водночас з дотриманням нормативних втрат на біосинтезі.

Розрахунки продукту (виробничий цикл) виглядає так:

$$\text{Об'єм дозування: } V_{д} = V_{кр} / T_{рд} = 490 / 38 = 13 \text{ м}^3$$

Кількість літрів продукту, який можливо отримати за один цикл виробництва:

$$V_{\text{ц}} = (V_{\text{д}} \times T_{\text{цф}}) / 24 = (38 \times 490 \times 130) / 24 = 70 \text{ л/цикл}$$

$$\text{Кількість циклів: } N_{\text{ц}} = 490 / 70 = 7 \text{ циклів}$$

$$\text{Об'єм готового продукту: } V_{\text{г}} = V_{\text{цк}} / K_{\text{зап}} = 70 / 0,6 = 116 \text{ л,}$$

де  $K_{\text{зап}}$ , це є коефіцієнт наповнення ферментера.

Визначаємо та обираємо підходящий ферментер за його геометричним об'ємом. Найбільша нам підходить -  $V_{\text{гф}} = 0,100 \text{ м}^3$ .

Визначаємо допустимий коефіцієнт заповненості ферментара:  $K_{\text{зап}} = V_{\text{ф}} / V_{\text{гф}} = 490 / 100 = 0,49$  або  $\sim 0,5$ . Це значення не перевищує допустимих меж (0,5–0,65).

Об'єм вже готового ПС у процесі виробництва, з урахуванням втрат ( $E_{\text{ф}} = 0,1$ ), становить 78 літрів. Розрахунок провели за формулою.  $V_{\text{ф}} = V_{\text{кр}} / (1 - E_{\text{ф}}) = 70 / (1 - 0,1) = 78 \text{ л}$

Оскільки поживне середовище у ферментері визначається з втратою в 0,1, об'єм вихідного продукту становить 71 літр.  $V_{\text{пс}} = V_{\text{ф}} / (1 + X_{\text{ф}}) = 78 / (1 + 0,1) = 71 \text{ л}$ .

Витрати посівного матеріалу на виробництво складають 17 літрів. Розраховано за формулою  $V_{\text{пмф}} = V_{\text{ф}} - V_{\text{псф}} = 180 - 163 = 17 \text{ л}$ .

Розміри ферментера становлять 160 літрів при коефіцієнті заповнення 0,5, що встановлено для всіх стадій.  $V_{\text{гф}} = V_{\text{ф}} / K_{\text{зф}} = 78 / 0,5 = 160 \text{ л}$ .

З урахуванням того, що кількість ПМ становить  $X_{\text{ф}} = X_{\text{колб}} = 0,1\%$  від поживного середовища, визначаємо кількість матеріалу для інших стадій.

Посівний матеріал з інокулятора з герметичним об'ємом  $V_{\text{ін}} = 0,16 \text{ м}^3$ : Тобто для виробництва обираємо інокулятор з геометричним об'ємом  $0,16 \text{ м}^3$ .

$$V_{\text{пмф}} = V_{\text{ін}} \times (V_{\text{пмф}} / K_{\text{з}}) = 7 / 0,6 = 14 \text{ л}$$

Посівний матеріал з інокулятора має герметичний об'єм  $V_{ін} = 20$  л. Розраховуємо  $V_{пін1}$  як  $V_{пмф} \cdot X_{ін}$ , що дорівнює  $70 \cdot 0,1 = 0,7$  л. Для визначення геометричного об'єму інокулятора  $V_{ін}$  використовуємо формулу  $V_{пін1}/K_3$ , отримуючи результат  $7/0,6 = 12$ . Відповідно до таблиці обираємо інокулятор з геометричним об'ємом 20 л.

Посівний матеріал який з колб качалочних розраховується за формулою  $V_{пін2} = V_{пін1} \cdot X_{ін}$ , тобто  $7 \cdot 0,1 = 0,7$  л.

Всього необхідно 5 колб, що розраховується за формулою  $n_{колб} = V_{пмк}/(V_{колб} \cdot K_{зколб}) = 0,7/(0,75 \cdot 0,2)$ .

Підготовка і процес стерилізації ПС при виробничому біосинтезу у **ферментерах** здійснюється за відповідним складом. Нами нижче описано склад та необхідні витрати на компоненти. Наведено вже на визначений об'єм ПС  $V_{пс}$  складають

$G_{заг} = V_{пс} \cdot C_{\Sigma} = 71 \cdot 18,3 = 1,3$  кг, з урахуванням кожного компоненту окремо, кг:

$$\text{меляса} \quad G_1 = G_{заг} \cdot C_1/C_{\Sigma} = 1,3 \cdot 15,0/18,3 = 1$$

$$\text{Кукурудзяний екстракт} \quad G_1 = G_{заг} \cdot C_1/C_{\Sigma} = 1,3 \cdot 2,0/18,3 = 0,14$$

$$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} \quad G_1 = G_{заг} \cdot C_1/C_{\Sigma} = 1,3 \cdot 0,3/18,3 = 0,02$$

$$\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O} \quad G_1 = G_{заг} \cdot C_1/C_{\Sigma} = 1,3 \cdot 0,2/18,3 = 0,01$$

$$\text{KH}_2\text{PO}_4 \quad G_1 = G_{заг} \cdot C_1/C_{\Sigma} = 1,3 \cdot 0,2/18,3 = 0,01$$

$$\text{NaCl} \quad G_1 = G_{заг} \cdot C_1/C_{\Sigma} = 1,3 \cdot 0,3/18,3 = 0,02$$

$$\text{CaCO}_3 \quad G_1 = G_{заг} \cdot C_1/C_{\Sigma} = 1,3 \cdot 3,3/18,3 = 0,23$$

Оскільки об'єм  $K_{кон}$  у ферментері становить 0,2, то вся кількість конденсату, який утвориться під час процесу стерилізації ПС, буде:  $V_k = V_{пс} \cdot K_{кон} = 71 \cdot 0,1 = 7,1$  літрів.

Загальна кількість потрібної води, яка нам потрібна для розведення компонентів ПС, розраховується як:  $V_B = V_{псф} - G_f - V_{фк} = 71 - 1,3 - 71 = 62,6$  літрів.

Для полегшення розрахунків слід допускати, що густина всіх компонентів буде дорівнювати густині води, тоб то  $1 \text{ л} = 1 \text{ кг}$ . Рахуємо потрібну кількість води, що нам розвести кожен компонент, починаємо з меляси.

меляса	$G_{1B} = V_B \cdot (C_1/C_\Sigma) = 62.6 \cdot (15/18.3) = 50$
Кукурудзяний екстракт	$G_{1B} = V_B \cdot (C_1/C_\Sigma) = 62.6 \cdot (2.0/18.3) = 7$
MgSO <sub>4</sub> •7H <sub>2</sub> O	$G_{1B} = V_B \cdot (C_1/C_\Sigma) = 62.6 \cdot (0.3/18.3) = 1$
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> • 3H <sub>2</sub> O	$G_{1B} = V_B \cdot (C_1/C_\Sigma) = 62.6 \cdot (0.2/18.3) = 0.6$
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	$G_{1B} = V_B \cdot (C_1/C_\Sigma) = 62.6 \cdot (0.2/18.3) = 0.6$
NaCl	$G_{1B} = V_B \cdot (C_1/C_\Sigma) = 62.6 \cdot (0.3/18.3) = 1$
CaCO <sub>3</sub>	$G_{1B} = V_B \cdot (C_1/C_\Sigma) = 62.6 \cdot (3.3/18.3) = 11$

Таблиця 3.2

### Компоненти та їх кількість для стерилізації ПС ( ферментер )

Склад ПС	Маса, г/л	Потреба для приготування 71 л ПС, кг	Маркування композиції	V, л
меляса	15	1	А	58
вода		57		
екстракт кукурудзяний	2	0,15		
CaCO <sub>3</sub>	3,3	0,23	Б	6,1
MgSO <sub>4</sub> *7H <sub>2</sub> O	0,3	0,02		
NaCl	0,3	0,02		
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0,2	0,01		

K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> *3H <sub>2</sub> O	0,2	0,01		
Вода		5,8		
Конденсат		7,1		7,1
Загалом		71		71

Підготовка та процес стерилізації ПС для вирощування ПМ в посівному апараті на 70 одиниць включає визначення об'ємів. Загальний об'єм ПС та ПМ в посівному апараті розраховуємо за формулою:  $V_{па} = V_{пмф} / (1 - E_{па})$ . Підставивши значення, отримаємо об'єм 7.8 літрів.

$$V_{па} = V_{пмф} / (1 - E_{па}) = 7 / (1 - 0,1) = 7.8 \text{ л.}$$

Об'єм лише поживного середовища розраховується як  $V_{псп} = V_{па} / (1 + X_{па})$ , що дорівнює 7.09 літрів.

$$V_{псп} = V_{па} / (1 + X_{па}) = 7.8 / (1 + 0,1) = 7.09 \text{ л.}$$

Щоб визначити об'єм посівного матеріалу, який потрібно додати до апарата, використовуємо формулу  $V_{пмп} = V_{па} - V_{псп}$ , в результаті отримали 0.71 л.

$$V_{пмп} = V_{па} - V_{псп} = 7.8 - 7.09 = 0.71 \text{ л.}$$

Відповідно до встановленого складу ПС при виробничому біосинтезі, всі витрати компонентів, які є на обраний об'єм ПС  $V_{пс}$  будемо визначати окремо, враховуючи специфікації та потреби процесу.

$$G_{заг2} = V_{пс} \cdot C_{\Sigma} = 7.09 \cdot 18,3 = 1,297 \text{ кг, в тому числі покомпонентно, г:}$$

меляса	$G_1 = G_{\text{зар2}} \cdot (C_1/C_{\Sigma}) = 1,297 \cdot (15/18.3) = 1,06$
Кукурудзяний екстракт	$G_{1\text{в}} = G_{\text{зар2}} \cdot (C_1/C_{\Sigma}) = 1,297 \cdot (2.0/18.3) = 0,14$
MgSO <sub>4</sub> •7H <sub>2</sub> O	$G_{1\text{в}} = G_{\text{зар2}} \cdot (C_1/C_{\Sigma}) = 1,297 \cdot (0.3/18.3) = 0,0212$
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> • 3H <sub>2</sub> O	$G_{1\text{в}} = G_{\text{зар2}} \cdot (C_1/C_{\Sigma}) = 1,297 \cdot (0.2/18.3) = 0,014$
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	$G_{1\text{в}} = G_{\text{зар2}} \cdot (C_1/C_{\Sigma}) = 1,297 \cdot (0.2/18.3) = 0,014$
NaCl	$G_{1\text{в}} = G_{\text{зар2}} \cdot (C_1/C_{\Sigma}) = 1,297 \cdot (0.3/18.3) = 0,002$
CaCO <sub>3</sub>	$G_{1\text{в}} = G_{\text{зар2}} \cdot (C_1/C_{\Sigma}) = 1,278 \cdot (3.3/18.3) = 0,2$

Отримуємо загальну кількість конденсату, який утворився під час стерилізації ПС і становитиме:

$$V_k = V_{\text{пс}} \cdot K_{\text{кон}} = 0,71 \cdot 0,1 = 0,71$$

При цьому потреби води які, нам необхідно для того, щоб розбавити компоненти поживного середовища рахуємо за формулою:

$$V_{\text{в}} = V_{\text{пс}} - V_k - G_{\text{зар}} = 7.1 - 0.71 - 1,297 = 5.093 \text{л.}$$

При розрахунку візьмемо, що густина компонентів дорівнює густоті води, тобто 1л = 1 кг

Рахуємо кількість води, яка нам буде потрібна для розчинення. Рахуємо по кожному компоненту окремо, л

меляса	$G_{1\text{в}} = V_{\text{в}} \cdot (C_1/C_{\Sigma}) = 5.093 \cdot (15/18.6) = 4.1$
Кукурудзяний екстракт	$G_{1\text{в}} = V_{\text{в}} \cdot (C_1/C_{\Sigma}) = 5.093 \cdot (2.0/18.6) = 0.54$
MgSO <sub>4</sub> •7H <sub>2</sub> O	$G_{1\text{в}} = V_{\text{в}} \cdot (C_1/C_{\Sigma}) = 5.093 \cdot (0.3/18.6) = 0.08$
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> • 3H <sub>2</sub> O	$G_{1\text{в}} = V_{\text{в}} \cdot (C_1/C_{\Sigma}) = 5.093 \cdot (0.2/18.6) = 0.082$
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	$G_{1\text{в}} = V_{\text{в}} \cdot (C_1/C_{\Sigma}) = 5.093 \cdot (0.2/18.6) = 0.054$
NaCl	$G_{1\text{в}} = V_{\text{в}} \cdot (C_1/C_{\Sigma}) = 5.093 \cdot (0.3/18.6) = 0.08$
CaCO <sub>3</sub>	$G_{1\text{в}} = V_{\text{в}} \cdot (C_1/C_{\Sigma}) = 5.093 \cdot (3.3/18.6) = 0.9$

Склад композиції під час стерилізації компонентів

при вирощуванні в апараті 14 л.

Склад ПС	Маса, г/л	Потреба для приготування 71 л ПС, кг	Маркування композиції	V, л
меляса	15	1,1	А	5,7
вода		4,6		
екстракт кукурудзяний	2	0,15		
CaCO <sub>3</sub>	3	0,2	Б	0,7
MgSO <sub>4</sub> *7H <sub>2</sub> O	0,3	0,02		
NaCl	0,3	0,02		
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0,2	0,01		
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> *3H <sub>2</sub> O	0,2	0,01		
Вода		0,4		
Конденсат		0,7		0,7
Загалом		7,1		7,1

Стерилізація ПС та його приготування для вирощування на качалках в колбах. Формування композицій складається з певної кількості поживного середовища і посівного матеріалу буде :

$$V_{\text{псм}} = V_{\text{кол}} = 0.71 \text{ л}$$

Тому в колбах самого поживного середовища буде:

$$V_{\text{пск}} = V_{\text{псм}} / (1 + X_{\text{кол}}) = 0.71 / (1 + 0,1) = 0.64 \text{ л.}$$

В такому випадку ПМ в колбах повинно бути :

$$V_{\text{пмк}} = V_{\text{псм}} - V_{\text{пск}} = 0.71 - 0.64 = 0,07 \text{ л} = 70 \text{ мл.}$$

Відповідно до складу визначеного об'єму поживного середовища витрати на компоненти  $V_{\text{пс}}$  складають:

$$G_{\text{заг}} = V_{\text{пс}} \cdot C_{\Sigma} = 0.64 \cdot 18.3 = 11.7 \text{ г,}$$

Нижче наведена кількість по кожному компоненту окремо:

меляса	$G_{1\text{в}} = V_{\text{в}} \cdot (C_1/C_{\Sigma}) = 11.7 \cdot (15/18.3) = 9.6$
Кукурудзяний екстракт	$G_{1\text{в}} = V_{\text{в}} \cdot (C_1/C_{\Sigma}) = 11.7 \cdot (2.0/18.3) = 1.28$
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	$G_{1\text{в}} = V_{\text{в}} \cdot (C_1/C_{\Sigma}) = 11.7 \cdot (0.3/18.3) = 0.2$
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> · 3H <sub>2</sub> O	$G_{1\text{в}} = V_{\text{в}} \cdot (C_1/C_{\Sigma}) = 11.7 \cdot (0.2/18.3) = 0.13$
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	$G_{1\text{в}} = V_{\text{в}} \cdot (C_1/C_{\Sigma}) = 11.7 \cdot (0.2/18.3) = 0.13$
NaCl	$G_{1\text{в}} = V_{\text{в}} \cdot (C_1/C_{\Sigma}) = 11.7 \cdot (0.3/18.3) = 0.2$
CaCO <sub>3</sub>	$G_{1\text{в}} = V_{\text{в}} \cdot (C_1/C_{\Sigma}) = 11.7 \cdot (0.3/18.3) = 0.21$

З метою розведення компонентів ПС потрібна вода – 628,3 л.

$$V_{\text{в}} = V_{\text{пс}} - G_{\text{заг}} = 640 - 11.7 = 628.3 \text{ л.}$$

При розрахунку візьмемо, що густина компонентів дорівнює густоті води, тобто 1л це 1 кг. Нижче розраховано та наведено кількість води, яка необхідна щоб розчинити компоненти.

Меляса	$G_{1\text{в}} = V_{\text{в}} \cdot (C_1/C_{\Sigma}) = 628.3 \cdot (15/18.6) = 515$
Кукурудзяний екстракт	$G_{1\text{в}} = V_{\text{в}} \cdot (C_1/C_{\Sigma}) = 628.3 \cdot (2.0/18.6) = 69$
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	$G_{1\text{в}} = V_{\text{в}} \cdot (C_1/C_{\Sigma}) = 628.3 \cdot (0.3/18.6) = 10$
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> · 3H <sub>2</sub> O	$G_{1\text{в}} = V_{\text{в}} \cdot (C_1/C_{\Sigma}) = 628.3 \cdot (0.2/18.6) = 7$
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	$G_{1\text{в}} = V_{\text{в}} \cdot (C_1/C_{\Sigma}) = 628.3 \cdot (0.2/18.6) = 7$
NaCl	$G_{1\text{в}} = V_{\text{в}} \cdot (C_1/C_{\Sigma}) = 628.3 \cdot (0.3/18.6) = 10$
CaCO <sub>3</sub>	$G_{1\text{в}} = V_{\text{в}} \cdot (C_1/C_{\Sigma}) = 628.3 \cdot (3.3/18.6) = 110$

Склад композиції під час стерилізації компонентів при вирощуванні на качалках в колбах.

Склад ПС	Маса, г/л	Потреба для приготування 71 л ПС, кг	Маркування композиції	V, л
меляса	15	9,6	А	595
вода		584		
екстракт кукурудзяний	2	1,3		
CaCO <sub>3</sub>	0,3	0,2	Б	6,1
MgSO <sub>4</sub> *7H <sub>2</sub> O	0,3	0,2		
NaCl	0,3	0,2		
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0,2	0,1		
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> *3H <sub>2</sub> O	0,2	0,1		
Вода		44		
Загалом		640		640

### 3.6. Матеріальний баланс, специфікація обладнання та контроль виробництва Бактофіту

Матеріальний баланс розрахований на один виробничий цикл є ключовим аналітичним інструментом для відстеження кількісних показників використаних та отриманих речовин на всіх етапах біотехнологічного процесу. Цей баланс необхідний для точного планування і обліку ресурсів, а також для забезпечення якості та ефективності виробництва біопрепаратів. У додатку А представлено детальний матеріальний баланс, що показує співвідношення між кількістю вхідної сировини, проміжними продуктами та кінцевим результатом на кожному етапі технологічного циклу.

Додаток А містить основну інформацію, зокрема найменування сировини та продуктів, їх кількість у відповідних одиницях вимірювання (кг, дм<sup>3</sup> або мл), а також втрати, що виникають у процесі. Вона охоплює всі етапи:

1. Приготування ПС для інокуляту
2. Знезараження середовища
3. Отримання ПМ в колбах
4. Виготовлення середовища для малого інокулятора
5. Стерилізація цього середовища
6. Культивування в інокуляторі малого розміру
7. Підготовка ПС для процесу біосинтезу
8. Його стерилізація
9. Безпосередньо виробничий біосинтез

Такий докладний підхід дозволяє точно визначити ефективність процесу, кількість утворених відходів і забезпечити дотримання стандартів. Це важливий елемент у роботі біотехнолога, технолога чи аналітика в галузі виробництва мікробіологічних препаратів.

При визначенні етапів вирощування ПМ слід враховувати підходящий геометричний об'єм ферментера для ферментації. При цьому слід враховувати заданий коефіцієнт заповнення ферментера, цей коефіцієнт потребує уточнення. Деталізований розрахунок кількості, місткості та геометричних об'ємів є необхідним, і він базується на продуктових розрахунках та матеріальному балансі для коригування коефіцієнту заповнювання обладнання. Устаткування та обладнання для допоміжних процесів та виробництва бактофіту наведена в Додатку Б.

Додаток Б містить перелік основного обладнання, що використовується на всіх етапах виробництва біопрепаратів. Він містить назви приладів, їх кількість, технічні характеристики та виробників. У таблиці представлені як загальне лабораторне та промислове обладнання (наприклад, інокулятори, ферментери, центрифуги, сушарки), так і допоміжне – фільтри, насоси, теплообмінники, компресори, дозатори тощо.

Такий опис дозволяє точно визначити технічні засоби, оцінити їх функціональність та відповідність потребам технологічного процесу. Специфікація також корисна для складання технічного завдання або розробки матеріально-технічного забезпечення.

**Метод отримання бактофіту з культуральної рідини включає такі етапи:** культуральну рідину в обсязі 50 мл забирають з ферментера та переміщують у центрифужні пробірки та після цього проводять процес центрифугування при 1500 об/хв впродовж 15-20 хвилин. Отриману суміш витримують близько 10 годин при температурі 4 °С, осад відокремлюють шляхом центрифугування при 1200 об/хв протягом 5 хвилин. До супернатанту додають 10 г активованого вугілля і тримають 24 години при температурі 4 °С. Водну фракцію відокремлюють методом фільтрування, а до твердої фази додають 20 мл 50% етанолу та 25% аміаку у співвідношенні 1:1. Розчин підігрівають до 60 °С. Через 2-3 години суміш фільтрують і випарюють за тиску 10 мм рт. ст. Отриманий продукт екстрагують буфером NH<sub>4</sub>-форміату із рН = 8,9, промивають ацетоном (2 × 10 мл). Аналітичний аналіз проводиться на хроматографічних пластинках розміром 150 × 150 мм із закріпленим шаром флуоресцентного носія, елюювання плям проводиться за допомогою 0,1 н. HCl [31].

Визначення рівню бактофіту в культуральній рідині відбувається за допомогою рефрактометра один раз за зміну [33].

Мікробіологічний контроль якості включає забезпечення умов для нормальної діяльності мікроорганізмів-виробників, контроль процесу

виробництва і продукції, яка вже готова. Також до мікробіологічного контролю відносять вчасне виявлення контамінації і її джерело походження [30]. Впродовж вирощування ПМ і біосинтезу необхідно через кожні 8 годин відбирати для аналізу декілька проб культуральної рідини. Такі проби досліджують під мікроскопом і візуально. Для того, щоб виявити можливі зараження проби періодично висіюються на агарові середовища у чашках Петрі.

Культуральна рідина розсіюється бактеріологічною петлею для виявлення бактерій до ізольованих колоній на МПА, на сусло-агарі або агарі Чапека, в склад якого повинна вводитися глюкоза для ідентифікації дріжджів та /або грибів. Якщо контамінації немає, то колонії *B. Subtilis* матимуть діаметр 2.8-4.0 см. Колонії складчасті з рівними краями колір сірий, а зворотний бік має кремові радіальні складки [30].

Для мікроскопічного огляду використовуються препарати типу «роздавлена крапля». Щоб приготувати такий препарат, на середину продезинфікованого предметного скла наносять краплю води, додають трохи культуральної рідини, перемішують, накривають покривним склом та досліджують під мікроскопом із збільшенням 8х та 40х. У полі зору видно багатоклітинний та безбарвний міцелій. [36].

У додатку Г наведено об'єкти контролю, методи перевірки, періодичність та нормативні значення показників. Це важливий інструмент для забезпечення якості продукції та дотримання технологічних стандартів.

Контроль охоплює якість хімічних розчинів (каустична сода, Гембар), чистоту приміщень та обладнання, герметичність систем, умови стерилізації (тиск, температура, час), очищення та фільтрацію повітря, стерилізацію поживних середовищ та компонентів.

Кожна контрольна точка має встановлений норматив, метод контролю та інструкцію з відбору проб і частоти перевірок. Це сприяє дотриманню стандартів і дозволяє швидко виявляти та усувати технологічні відхилення.

## **ВИСНОВКИ ТА ПРОПОЗИЦІЇ**

1. Бактофіт є мікробним препаратом з фунгіцидними та стимулюючими ріст властивостями. Він безпечний для навколишнього середовища і може замінити препарати, що містять мідь.

2. Для синтезу препарату використовується біологічний агент *Bacillus subtilis* ІПМ-215, що демонструє високу продуктивність з титром не менше 2 млрд.

3. Найкращим ростовим субстратом є меляса, яка є доступною і недорогою сировиною.

4. Для підвищення ефективності та зменшення втрат біомаси рекомендовано використовувати сепаратор-очищувач фірми «**BIOSTAT® Cplus**» та автоматичну осаджувальну центрифугу.

5. Визначено, що обсяг необхідної культуральної рідини становить 2450 л, для чого потрібні один ферментер на 40 м<sup>3</sup>, посівний апарат на 4 м<sup>3</sup>, інокулятори на 400 л і 40 л.

## **ПРОПОЗИЦІЯ ВИРОБНИЦТВУ**

При виробництві Бактофіту рекомендується використовувати мелясу як ростовий субстрат. Технологічна лінія повинна включати сепаратор-очищувач фірми «**BIOSTAT® Cplus**» та осаджувальну центрифугу для оптимізації процесів.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. ЗЗР та агрохімікати [Електронний ресурс]:  
<https://www.syngenta.ua/products/search/crop-protection/type/biofungicidi-7331>
2. Бактофіт БТ [Електронний ресурс]:  
<https://biotekhnika.od.ua/uk/produksiia/mikrobiolohichni-preparaty/baktofit-bt>
4. Фунгіциди [Електронний ресурс]: <https://vpoli.ua/product-category/zasoby-zahystu-roslyn/fungicidi/>
5. Вікіпедія [Електронний ресурс]: Режим доступу:  
<https://uk.wikipedia.org/wiki/>
6. Пат.5061178/13 Штамм бактерий *bacillus subtilis* - продуцент бактофіт Казаринова Л.А., Шакулов Р.С., Марков Р.Ф., Шипанов Н.П., Савіна Н.Н. // Оpub.25.07.2010.
7. Пирог Т.П. Загальна мікробіологія: Підручник. К.: НУХТ, 2004. С. 102-354.
8. Пирог Т.П., Ігнатова О.А. Загальна біотехнологія: К: НУХТ, 2009. С. 25-99.
9. Біологічні фунгіциди для захисту рослин від хвороб [Електронний ресурс]: <https://agro.enzim.biz/biofungicides.html#info>
11. Глюкоза [Електронний ресурс] Режим доступу:  
<https://prom.ua/p12930165-glyukoza-pishevaya-dekstroza.html>
12. Технологія мікробного синтезу лікарських засобів: Метод. Рекомендації до викон. курс. роботи для студ. Напряму 6.051401 «Біотехнологія» ден. форм. навч. / Уклад.: Т. П. Пирог, Ю.М Пенчук. К.: НУХТ, 2011. С. 17-19.
13. Технололія мікробного синтезу лікарських засобів: Метод. рекомендації до викон. курс. роботи для студ. Напряму 6.051401

«Біотехнологія» ден. форм. навч. / Уклад.: Т. П. Пирог, А. П. Софілканич, К.: НУХТ, 2011. С. 1-23.

14. Метод Коха [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://studfiles.net/preview/6052473/page:3/>

15. Концентрація біомаси [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://studfiles.net/preview/5194349/page:18/>

16. Горюшкіна Т. Б, О. В. Остроухова. В. О, Солдаткін.О .П, Дзядевич С. В. Оптимізація методики визначення вмісту глюкози у виноматеріалі ензимним амперометричним біосенсором// УДК 577.15:573.6. БІОТЕХНОЛОГІЯ. 2009. Т 2 , N 1. С. 89-93.

18.[Електронний ресурс]: Режим доступу: <http://www.radsad.com/history/history.html>

19. Наказ від 14.12.2001 № 502 Про затвердження методичних рекомендацій щодо виконання санітарно-гігієнічних вимог та проведення мікробіологічного контролю у виробництві нестерильних лікарських засобів.

20.[Електронний ресурс]. Режим доступу: [http://www.moz.gov.ua/ua/portal/dn\\_20011214\\_502.html](http://www.moz.gov.ua/ua/portal/dn_20011214_502.html).

23.[Електронний ресурс]. Режим доступу: <http://www.ngpedia.ru/id20748p1.html>

25. Андріанова Т.В., Бобир В.В., Виноград Н.О. та ін. Медична мікробіологія, вірусологія: підручник для студ. вищ. мед. навч. заклад / За редакцією В.П. Широбокова / Видання 2-е. Віння: Нова Книга, 2011. 952 с.

26. Пирог. Т.П. Загальна мікробіологія: Підруч. - 2-е вид., доп. І перероб. К.: НУХТ, 2010. 632 с.

27. Загальна мікробіологія і вірусологія: Метод. Рекомендації до викон.курс.роботи для студентів напряму 6.051401 Біотехнологія

ден.форм.навч. / Уклад: Т.П.Пирог, А.П.Софілкавич, А.Д.Конон. К.: НУХТ, 2011. 26 с.

29. Процеси і апарати харчових виробництв: Підручник / За ред. проф. І. Ф. Малежика. К.: НУХТ, 2003. 400с.

30. Єресько В.М .Технологічне обладнання молочних виробництв [Електронний ресурс]. Режим доступу: <http://lib.lntu.info/book/knit/auvp/2011/11-88/page5.html>

33. Процеси і апарати харчових виробництв. Курсове проектування: Навч. посіб./ За ред. проф. І.Ф. Малежика. К.: НУХТ, 2012. 543 с.

37. Загальні технології харчових виробництв: підручник / А. І. Українець, М. М. Калакура, Л. Ф. Романенко, В. А. Домарецький, Л. М. Мельник, О. О. Василенко, П. Л. Шиян, Л. М. Хомічак. К.: Університет "Україна", 2010. 814 с.

38. Технічні засоби автоматизації: Методичні вказівки до виконання курсової роботи для студентів спеціальностей 6.092502 всіх форм навчання/ Уклад. С.А. Киричук; Ю.Б. Беляєв. К.: НУХТ, 2005

40. Електронний ресурс]:  
[https://www.google.com/search?q=%D0%B1%D0%B0%D0%BA%D1%82%D0%BE%D1%84%D1%96%D1%82&rlz=1C1CHBD\\_UA853UA853&source=lnms&tbn=isch&sa=X&sqi=2&ved=2ahUKEwix6OSpx8npAhXnDrkGHd58D1wQ\\_AUoAnoECAwQBA&biw=1366&bih=657#imgsrc=THL-HF3u5eILYM](https://www.google.com/search?q=%D0%B1%D0%B0%D0%BA%D1%82%D0%BE%D1%84%D1%96%D1%82&rlz=1C1CHBD_UA853UA853&source=lnms&tbn=isch&sa=X&sqi=2&ved=2ahUKEwix6OSpx8npAhXnDrkGHd58D1wQ_AUoAnoECAwQBA&biw=1366&bih=657#imgsrc=THL-HF3u5eILYM)

41. Електронний ресурс]:  
[https://www.google.com/search?q=%D0%B1%D0%B0%D0%BA%D1%82%D0%BE%D1%84%D1%96%D1%82&rlz=1C1CHBD\\_UA853UA853&source=lnms&tbn=isch&sa=X&sqi=2&ved=2ahUKEwix6O](https://www.google.com/search?q=%D0%B1%D0%B0%D0%BA%D1%82%D0%BE%D1%84%D1%96%D1%82&rlz=1C1CHBD_UA853UA853&source=lnms&tbn=isch&sa=X&sqi=2&ved=2ahUKEwix6O)

Spx8npAhXnDrkGHd58D1wQ\_AUoAnoECAwQBA&biw=1366&bih=657#i  
mgrp=CVLYs9ckVllRnM