

**НАЦІОНАЛЬНИЙ ТЕХНІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ УКРАЇНИ
“КИЇВСЬКИЙ ПОЛІТЕХНІЧНИЙ ІНСТИТУТ”**

Факультет біотехнології і біотехніки
(повна назва інституту/факультету)

Кафедра промислової біотехнології
(повна назва кафедри)

Дипломний проект

на здобуття ступеня бакалавра

зі спеціальності 6.051401 Біотехнологія
(код та назва напрямку підготовки або спеціальності)

на тему: Технологія виробництва вітаміну В12. Дільниця підготовки
посівного матеріалу

Виконала: студентка 4 курсу, групи БТ-11
(шифр групи)

Колосова Анастасія Костянтинівна
(прізвище, ім'я, по батькові)

Керівник проф., д.ф.-м.н. Литвинов Григорій Сергійович
(посада, науковий ступінь, вчене звання, прізвище та ініціали)

Консультанти Розділ 5 доц., к.т.н. Ружинська Л.І.
(назва розділу) (посада, вчене звання, науковий ступінь, прізвище, ініціали)

Розділ 6 доц., к.т.н. Орленко А.Т.
(назва розділу) (посада, вчене звання, науковий ступінь, прізвище, ініціали)

Рецензент проф., д.т.н. Саблій Л.А.
(посада, вчене звання, науковий ступінь, прізвище та ініціали)

Київ – 2015 року

Вітамін В12 – низькомолекулярне органічне з'єднання, належить до водорозчинних вітамінів групи В.

Його роль в нормальному функціонуванні організмі важко переоцінити. Він необхідний для створення ДНК нових клітин, особливо важливий для виробництва еритроцитів кістковим мозком, має велике значення для утворення мієлінової оболонки нервових волокон. Грає важливу роль в регуляції кровотворних органів: він приймає участь в синтезі пуринових та піримідинових основ, нуклеїнових кислот, які необхідні для еритропоезу. Відкриття вітаміну стало значною подією у вивченні механізму анемії та її лікуванні.

Вітамін В12 людина отримує з їжею тваринного походження. Добова потреба складає 1-3 мкг. Та деяким групам населення бажане додаткове вживання цього вітаміну, так, його призначають вагітним, спортсменам, людям літнього віку, а також для людей з хронічними захворюваннями шлунково-кишкового тракту. Не менш важливе окреме приймання ціанокобаламіну вегетаріанцям – через обмежене чи повністю відсутнє вживання продуктів тваринного походження.

До того ж високий ритм життя, нерегулярне та нездорове харчування, психічне напруження підвищують потреби у цьому вітаміні, а отже і актуальність його біотехнологічного виробництва.

Тому метою моєї роботи була розробка технології виробництва вітаміну В12.

Завданням дипломного проекту було підібрати і охарактеризувати продуцент для виробництва вітаміну В12. Провести аналіз методів створення високопродуктивних промислових продуцентів, обґрунтувати схему отримання продуценту, що використовується у проекті. Розглянути основні фізико-хімічні характеристики кінцевого продукту та біохімічні основи його виробництва. Скласти матеріальний баланс виробництва, обрати технологічну і апаратурну схему. Обґрунтувати вибір конструкції апарату, здійснити технологічний,

конструктивний та тепловий розрахунки. Провести аналіз шкідливих та небезпечних факторів виробництва, методи їх попередження.

В якості продуценту обрано *Propionibacterium freudenreichii* var. *shermanii*, з огляду на його продуктивність та чистоту кінцевого продукту. Він відноситься до 20 групи мікроорганізмів по Берджі – грампозитивні палички неправильної форми. Бактерії нерухомі, не утворюють спор та розмножуються бінарним поділом. Бактерії роду належать до факультативних анаеробів, але вони є варіабельними по аеротолерантності.

Пропіоновокислі бактерії ростуть в межах температури 15-40°C, оптимум температури 30°C. За типом харчування вони відносяться до хемоорганотрофів зі складними потребами в живильних речовинах. Всі вивчені штами потребують пантотенову кислоту та біотин. Рибофлавін стимулює ріст, проте облігатної потреби в ньому немає, вітаміни B2 та B12 бактерії синтезують самостійно.

Кінцевим продуктом виробництва є кристали вітаміну B12, вміст основної речовини складає мінімум 98%, вміст залишкового розчинника - ізопропанолу становить не більше 0,5%. Продукт мікробіологічно чистий, вміст мікроорганізмів складає менше 1000 КУО/г, пліснява та дріжджі відсутні, *E.coli* відсутні.

Важливим етапом розробки технології виробництва є робота по збільшенню здатності мікроорганізмів до синтезу цільового продукту. Цього можна досягти за допомогою різноманітних методів: природнього та штучного добору, індукованого мутагенезу, методів гібридизації та отримання протопластів. Промисловий продуцент отримують селекційним методом та дією мутагенезу.

Технологічна схема виробництва представлена на аркуші формату А1. Технологічна схема містить етапи допоміжних робіт та стадії основного технологічного процесу, стадії пакування, маркування, відвантаження, переробки та знешкодження відходів.

Для реалізації технологічної схеми обрано апаратурну схему виробництва, яка представлена на двох аркушах А1.

Допоміжні роботи представлені: санітарна підготовка виробництва, підготовка вентиляційного та технологічного повітря, підготовка піногаснику пропінолу Б 400 та приготування живильних середовищ для стадій отримання посівного матеріалу і виробничого біосинтезу.

Стадії основного технологічного процесу: підготовка посівного матеріалу, виробничий біосинтез: вирощування культури в анаеробних умовах та синтез вітаміну В12, екстракція вітаміну, відділення біомаси фільтрацією, сорбція на іонообмінній смолі, десорбція ізопропіловим спиртом, випаровування ізопропілового спирту, кристалізація, центрифугування, сушіння кристалів.

Першою стадією отримання посівного матеріалу є розмноження вмісту пробірок з музейною культурою в колбах.

Після цього розмножують культуру спочатку у малому ($0,25 \text{ м}^3$), а потім у великому ($2,5 \text{ м}^3$) інокуляторі.

Виробничий біосинтез проводять у ферментері на 25 м^3 . Після завершення цієї стадії культуральна рідина подається до ректора-змішувача. Відділення біомаси проводять на патронному фільтрі.

Фільтрат поступає на іонообмінні колони з іонообмінною смолою СГ-1, звідки сорбований вітамін десорбують ізопропіловим спиртом.

Випаровують ізопропіловий спирт на випарних плівкових апаратах з висхідною плівкою в умовах вакууму. Випарений спирт через конденсатор йде на регенерацію.

Концентрат вітаміну кристалізують в реакторі-змішувачі, після чого суспензія кристалів йде на центрифугу (вертикальна). Вологі кристали сушать на сушарці псевдозрідженого шару, також на цьому етапі використовується батарея очисних циклонів.

Продукт вивантажується у збірник та поступає на пакування.

У відповідності до стадій технологічного процесу та показників, які необхідно контролювати, наведено перелік контрольних точок для кожного етапу, вказані норми та методи виміру. Охарактеризовано сировину, матеріали та напівпродукти кожної стадії, розрахований матеріальний баланс дільниці підготовки посівного матеріалу.

Оскільки основним завданням дипломного проекту була розробка дільниці підготовки посівного матеріалу, нами було розроблено інокулятор, що задовольняє усі вимоги культивування. Апарат зображено на аркуші формату А1.

Об'єм, м ³	0,25
Коефіцієнт заповнення	0,6

Апарат має перемішувачий пристрій, що представлений лопатевою мішалкою, який був обраний через невисоку швидкість перемішування та малі об'єми середовища, що перемішується. В якості теплоносія використовується гаряча вода, що подається в сорочку апарату та забезпечує оптимальні умови вирощування посівного матеріалу.

Габаритні розміри, мм	808×965×1696
Маса, кг	558

Апарат має всі необхідні штуцери для проведення технологічного процесу, а також для підготовки апарату до роботи.

Перевагами даного пристрою є те, що він дозволяє проводити процес вирощування посівного матеріалу в асептичних умовах, перешкоджає потраплянню повітря, при цьому все ж надаючи необхідного перемішування середовищу для рівномірного культивування. Ці умови є головними при культивуванні анаеробних мікроорганізмів.

Проект виконано з дотриманням умов охорони праці, пожежної та екологічної безпеки виробництва. На основі аналізу шкідливих та небезпечних виробничих факторів проектом передбачено засоби та заходи щодо створення в цеху здорових і безпечних умов праці, пожежної безпеки.

Висновки

1. Вітамін В-12, важливий антианемічного фактор, який бере участь у багатьох процесах життєдіяльності людського організму і потреба в якому постійно зростає, що стимулює пошук нових і вдосконалення діючих технологій виробництва.

Ефективна біотехнологія виробництва вітаміну В-12 використовує метод глибинного культивування продуцента *Propionibacterium freudenreichii* var. *shermanii*, який дає високий вихід цільового продукту.

2. При розробленні біотехнологічного проекту для досягнення максимального виходу В-12 необхідно враховувати біохімічні та культуральні властивості продуцента, його морфолого-фізіологічні особливості, інформацію про генетичну будову, а також про методи отримання високопродуктивних штамів, шляхи біосинтезу цільового продукту, та особливості його очищення і упаковки.

3. Підібрано оптимальну технологічну схему виробництва кристалів вітаміну В12, а також наведений перелік контрольних точок та характеристика сировини, матеріалів і напівпродуктів. Апаратурна схема виробництва, містить поряд з основними, допоміжні стадії проведення процесу виробництва.

4. На основі аналізу літературних даних запропоновано проект конструкції інокулятора для культивування анаеробних мікроорганізмів з механічним перемішуючим пристроєм. Наведено конструктивні, гідравлічні, технологічні розрахунки. Розрахований апарат дозволяє ефективно вирощувати посівний матеріал, конструкція дозволяє підтримувати усі необхідні для процесу параметри: температуру культивування, рН, інтенсивність перемішування, час культивування та анаеробні умови ведення процесу.

5. Важливим обов'язковим моментом проектування є розділ з дотримання вимог охорони праці, пожежної безпеки і виробничої санітарії, аналіз шкідливих виробничих факторів і розроблення заходів і засобів для

поліпшення умов праці, біосумісності та екологічності виробництва в цілому для персоналу і природного довкілля.