

**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

з напрямку підготовки _____ **6.051401 Біотехнологія** _____
(код і назва)

на тему: Технологія виробництва протеїнази. Дільниця біосинтезу продукту _____

Виконав: студент 4 курсу, групи _____ **БТ-21** _____
(шифр групи)

_____ **Грабчук Світлана Миколаївна** _____
(прізвище, ім'я, по батькові) (підпис)

Керівник _____ **доц., к.б.н. Жолнер Лілія Григорівна** _____
(посада, науковий ступінь, вчене звання, прізвище та ініціали) (підпис)

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

Рецензент _____ **ст. викладач, к.т.н. Козар М.Ю.** _____
(посада, науковий ступінь, вчене звання, науковий ступінь, прізвище та ініціали) (підпис)

Київ – 2016 року

На сьогоднішній день ферменти застосовуються у фармацевтичній, харчовій, шкіряній, текстильній та інших галузях промисловості, у медицині, сільському господарстві, хімічному синтезі. Проте ще до недавнього часу широке технологічне застосування ферментів стримували такі причини, як трудомісткість виділення, очищення і отримання ферментів в активному вигляді, їх нестійкість при зберіганні та під дією різних факторів.

Значну частину сучасного виробництва ферментів займають гідролази. До гідролаз відносяться і протеолітичні ферменти, дія яких полягає у прискоренні гідролізу пептидних зв'язків у білках та пептидах. Протеїнази відіграють важливу роль у фізіологічних процесах, що обумовлено їх високою активністю щодо різних білкових субстратів. Надзвичайно перспективним є використання протеїназ у різних галузях промисловості: хімічній, м'ясопереробній, шкіряній (пом'якшення та мацерації шкіри), фармацевтичній, а також для переробки відходів шкіряної промисловості у кормові добавки для птахів та риби.

Протеїнази є однією із найбільших груп промислово важливих ферментів. Серед них велику частку займає лужна протеїназа завдяки тому, що цей фермент здатен розщеплювати білки крові та інші білкові забруднення і широко використовується у виробництві синтетичних миючих засобів, що надзвичайно важливо для прання клінічної білизни, миття хірургічного інструментарію та для створення високоефективних побутових миючих засобів. Лужна протеїназа є одним з основних ферментів, що використовуються у синтетичних миючих засобах, тому її виробництво є актуальним на даний час.

Представники роду *Bacillus* є найбільш ефективними продуцентами лужних протеїназ, оскільки вони швидко ростуть, забезпечують високий вихід ферменту, а для досягнення високої продуктивності штаму не вимагається застосування складних і дорогих поживних середовищ.

Метою роботи є розробка технології виробництва серинової лужної протеїнази для виробництва синтетичних миючих засобів.

Відповідно до поставленої мети, є необхідним вирішення наступних завдань:

- 1) підібрати та охарактеризувати штам-продуцент лужної протеїнази;
- 2) представити короткі відомості про класифікацію, механізм дії та властивості лужної протеїнази;
- 3) навести схему отримання продуценту;
- 4) розробити технологічну схему отримання ферментного препарату лужної протеїнази. У відповідності до технологічної схеми скласти апаратурну схему технологічного процесу;
- 5) обґрунтувати вибір конструкції ферментеру для виробничого біосинтезу, провести технологічний та конструктивний розрахунки.

В першому розділі дипломного проекту наведено характеристику штаму-продуценту, що використовується в технології виробництва лужної протеази, а саме *B. licheniformis*. Розглянуто основні промислові продуценти, які можуть використовуватися для отримання цільового продукту; наведено морфолого-цитологічні, культуральні та фізіолого-біохімічні ознаки продуцента та його поширення в природі.

Другий розділ присвячено біохімічним основам виробництва, в якому охарактеризовано кінцевий продукт, механізм дії серинових протеаз, характеристику компонентного складу біотехнологічного препарату, отриманого в процесі реалізації технології, методи очистки цільового продукту та механізми впливу його на біохімічні процеси.

У третьому розділі розглянуто методи отримання промислових продуцентів, а саме: генетичну вивченість біологічного об'єкту, загальні методи створення високопродуктивного промислового продуценту та наведено схему отримання штаму-продуценту, що використовується у роботі.

Технологічна частина дипломного проекту включає наступні підрозділи:

- 1) характеристика кінцевої продукції виробництва, якою є серинова лужна протеаза (ГЗх) у вигляді гранульованого порошку, розфасованого у ламіновані мішки по 20 кг;
- 2) характеристика сировини, матеріалів та напівпродуктів, що використовуються у виробництві;
- 3) опис технологічного процесу постадійно. Викладено зміст та умови проведення:
 - допоміжних робіт технологічного процесу:
 - ДР 1 Санітарна підготовка виробництва
 - ДР 2. Підготовка повітря
 - ДР 3. Підготовка води
 - ДР4. Підготовка поживного середовища
 - ДР5. Підготовка посівного матеріалу
 - основних стадій технологічного процесу:
 - ТП 6. Виробничий біосинтез
 - ТП 7. Фільтрація культуральної рідини
 - ТП 8. Ультрафільтрація
 - ТП 9. Стандартизація
 - ТП 10. Розпилююча сушка
 - ТП 11. Сухе гранулювання
 - ПМВ 12. Фасування та упаковка продукту, маркування
 - ПВ 13. Переробка відходів
 - ЗВ 14. Знешкодження відходів та викидів;
- 4) матеріальний баланс;
- 5) контроль виробництва;
- 6) технологічна схема виробництва (графічно представлена у вигляді блок-схеми).

П'ятий розділ – розрахунок обладнання для проведення технологічного процесу. В цьому розділі обґрунтовано вибрану конструкцію ферментера для

виробничого біосинтезу об'ємом 10 м³, оснащеного двома турбінними мішалками та барботером. Проведено технологічний та конструктивний розрахунки, що підтверджують надійність та працездатність конструкції, яка забезпечує високий вихід цільового продукту; обрано загальнозаводське обладнання.

Дипломний проект виконано з урахуванням основних правил та вимог охорони праці та промислової безпеки.

ВИСНОВКИ

1. Для розробки технології виробництва серинової лужної протеїнази нами було обрано штам-продуцент *Bacillus licheniformis-60 ВКМ У-2366 Д*, оскільки запропонований штам володіє високою здатністю продукувати лужну протеїназу.

2. Продуцент було отримано з використанням багатоступінчастої генетичної селекції із застосуванням методів ефективного мутагенезу (ультрафіолетового опромінення та хімічного мутагену).

3. У роботі розглянуто і охарактеризовано цільовий продукт – лужну серинову ендopeптидазу - субтилізин.

4. Розроблено технологічну схему отримання ферментного препарату лужної протеїнази. У відповідності до технологічної схеми складено апаратурну схему технологічного процесу.

5. Обґрунтовано вибір конструкції ферментеру для виробничого біосинтезу об'ємом 10 м³, оснащеного двома турбінними мішалками та барботером. Проведено технологічний та конструктивний розрахунки, що підтверджують надійність та працездатність конструкції, яка забезпечує високий вихід цільового продукту.

6. Дипломний проект виконано з урахуванням основних правил та вимог охорони праці та промислової безпеки.