

**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)

_____ **Малишко Анастасія Володимирівна** _____
(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

Ферментні препарати, що володіють високою активністю і специфічністю, є невід'ємною частиною сучасних біотехнологічних процесів, забезпечуючи їх ефективність і екологічну безпеку. Протеїнази є унікальними біологічними каталізаторами, які здатні здійснювати реакції розщеплення молекул. Одну з найважливіших груп індустріальних ферментів представляють протеїнази мікроорганізмів, які широко використовуються в різних галузях промисловості, медицини та молекулярної біології.

Найбільш перспективним джерелом протеаз слід визнати мікроорганізми. Це викликано рядом факторів: необмеженістю джерел виділення, можливістю підбору умов біосинтезу і отримання суперпродуцентів шляхом селекції і генної інженерії, широким спектром субстратної специфічності ферментних комплексів, а також простотою і відносною дешевизною технологій.

Ферменти, що виділені з мікроорганізмів, характеризуються різноманітними фізико-хімічними властивостями і субстратною специфічністю.

Багато представників роду *Bacillus* синтезують ферменти, які проявляють властивість розщеплювати білки, полісахариди, жири та інші макромолекули. Зокрема дані бактерії широко використовуються для отримання протеолітичних ферментів. Бактерії *B. amyloliquefaciens* є відомими продуцентами серинових протеїназ, зокрема, субтилізіноподібних протеїназ, що мають практичну цінність..

Практична цінність протеїназ диктує необхідність отримання високоефективних продуцентів цих ферментів. Рівень синтезу позаклітинних протеїназ сильно залежить від ряду факторів, зокрема, від складу живильного середовища, що дозволяє значно підвищити вихід ферментів за рахунок оптимізації умови біосинтезу.

Протеолітичні ферменти широко використовуються у харчовій промисловості та сільському господарстві, у галузі обробки шкіри, медицині, косметології тощо. Подальше вивчення властивостей субтилізинподібних

протеїназ дасть можливість широко застосовувати їх у якості медичних препаратів.

Метою роботи є розробка технології виробництва ферментного препарату субтилізинподібної протеїнази достатнього ступеню очистки для використання його для дублення та обробки шкіри, в м'ясопереробній галузі, приготування лікувально-профілактичних косметичних засобів.

Відповідно до поставленої мети, є необхідним вирішення наступних завдань:

- 1) Підібрати та охарактеризувати штам-продуцент субтилізинподібної протеїнази;
- 2) Представити короткі відомості про класифікацію, механізм дії та властивості даної протеїнази;
- 3) Навести схему отримання продуценту;
- 4) Розробити технологічну схему отримання ферментного препарату с відповідним ступенем очистки;
- 5) Обґрунтувати вибір конструкції сушарки для ділянки сушіння продукту, провести технологічні та конструктивні розрахунки.

В першому розділі дипломного проекту наведено характеристику штаму-продуценту, що використовується в технології виробництва субтилізинподібної протеїнази, а саме *V.amyloliquefaciens*. Розглянуто основні промислові продуценти, які можуть використовуватися для отримання цільового продукту; наведено морфолого-цитологічні, культуральній 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 субтилізинподібна протеаза (Г10х) у вигляді порошку, розфасованого у поліетиленові пакети по 0,5 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;
 - основних стадій технологічного процесу;
- 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 сублімаційної сушарки. 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. У дипломному проекті в якості продуценту цільового продукту, а саме субтилізинподібної серинової протеїнази було обрано вітчизняний штам *B.amyloliquefaciens* H2. Штам було охарактеризовано, наведено основні морфолого-цитологічні, культуральні, фізіолого-біохімічні ознаки.

2. Штам є природнім і одержаний шляхом штучного добору, а тому підвищення його продуктивності було здійснено за рахунок оптимізації складу поживного середовища, що дало змогу запропонувати більш ефективний штам-продуцент протеолітичних ферментів.

3. Було запропоновано поживне середовище для культивування наступного складу (г / л): глюкоза – 0,1 пептони - 20, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ - 0.1, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - 0.3, NaCl - 3.0, MnSO_4 - 0.1, неорганічний фосфат - в кінцевій концентрації 0.3-0.8 г / л, розчини солей амонію - в кінцевій концентрації 1-5 мМ. рН 8.5

4. З метою забезпечення даним продуктом конкретні галузі промисловості було обрано ступінь очистки ферментного препарату – $\Gamma 10x$.

5. Запропоновано технологічну схему, яка складається з допоміжних робіт і стадій основного технологічного процесу. На основі технологічної схеми створено апаратурну схему виробництва ферментного препарату.

6. Були проведені технологічні та конструктивні розрахунки сублімаційної сушарки, запропоновано апарат продуктивністю 177,8 кг/цикл, з діаметром сушильної камери 1600 мм.