

**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 біомаси *Trametes versicolor*. Дільниця біосинтезу

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

Олефіренко Дарина Вікторівна
(прізвище, ім'я, по батькові) (підпис)

Керівник старш. викл. каф. пром. біотехнології, к.т.н. Тітова Л.О.
(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 д.т.н., професор Саблій Л.А.
(посада, науковий ступінь, вчене звання, науковий ступінь, прізвище та ініціали) (підпис)

Київ – 2016 року

Базидіальні гриби набули широкого використання в багатьох галузях, а саме біотехнологічній, фармацевтичній, харчовій та ін. Біологічно активні речовини можуть знаходитися як в плодових тілах, так і в культуральному міцелії, культуральній рідині та виділятися відповідно різними технологічними методами. Найбільшого поширення та значення набули такі сполуки як: полісахариди, терпеноїди, імуномодуючі протеїни (лектини), які володіють широким спектром лікувальних властивостей, включаючи антивірусну, антибактеріальну, протизапальну, тромболітичну, онкостатичну дію, а також антиоксидантну. Лікувальні препарати на основі базидіальних грибів не є токсичними в порівнянні з препаратами, створеними на основі хімічного синтезу.

Джерелом фармакологічних речовин є міцеліальна біомаса, яку можна отримувати сучасним біотехнологічним методом глибинного культивування на рідких природних і синтетичних середовищах.

Базидіальні гриби роду *Trametes* мають широкий спектр лікувальних властивостей – можуть бути використані при розробці біотехнологій одержання препаратів з імуномодуючою, протівірусною та антибактеріальною дією. Міцелій базидіальних грибів *Trametes* містить білки, редукуючі цукри, вітаміни, мікроелементи, що забезпечує функціональну харчову цінність грибів. Створення препаратів на основі міцелію базидіальних грибів роду *Trametes* є досить **актуальним**.

Тому **метою** даного дипломного проекту є вдосконалення технології отримання міцеліальної біомаси базидіального гриба *Trametes versicolor*, на основі якої виробляється препарат в таблетованій формі. Компанія MRL (Mycology Research Laboratory), що розробила біологічно активну харчову добавку, «Coriolus-MRL» використовує технологію поверхневого культивування штаму *T. versicolor* (CV-OH1) на зерновому субстраті. В даному проекті запропоновано глибинний спосіб культивування міцелію *T. versicolor*. Перевагами глибинного культивування є можливість зменшення виробничих площ, високий рівень автоматизації, раціональне використання

поживного середовища. В якості промислового продуценту обрано штам *T. versicolor* 353 з колекції шапинкових грибів Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України. Вибір обумовлений економічною доцільністю, оскільки даний штам є досить розповсюдженим в природі та є невимогливим до умов культивування та не потребує складних технологічних прийомів під час його переробки.

Для досягнення мети були поставлені наступні **завдання**:

1. Обрати штам та підібрати оптимальний склад поживного середовища для біосинтезу цільового продукту.
2. Розглянути основні морфолого-культуральні та фізіолого-біохімічні властивості продуценту.
3. Проаналізувати основні методи отримання промислового продуценту та запропонувати схему отримання продуценту на основі опрацьованих матеріалів.
4. На основі даних фахової літератури запропонувати технологічну та апаратурну схему виробництва біомаси *Trametes versicolor* та скласти матеріальний баланс для стадії ферментації.
5. Обґрунтувати вибір конструкції для здійснення процесу ферментації, підібрати загальнозаводське обладнання та зробити розрахунок ферментера для отримання біомаси базидіального гриба *Trametes versicolor*.

У першому розділі детально розглянуто основні промислові продуценти, на основі яких розроблені технології виробництва функціональних харчових продуктів, харчових продуктів для спеціального дієтичного споживання, дієтичних добавок. Наведено характеристику обраного продуцента – *Trametes versicolor* 353, його морфолого-цитологічні, фізіолого-біохімічні та культуральні особливості. Також зазначено систематичне положення та поширення в природі базидіального гриба *Trametes versicolor*. На основі опрацьованої літератури щодо трофічних потреб продуценту обрано комплексне середовище раціонального складу для накопичення посівного матеріалу та культивування біомаси базидіального

гриба: 35г/дм^3 - меляса, $0,3\text{г/дм}^3$ - дріжджовий екстракт, $2,5\text{г/дм}^3$ - $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 1г/дм^3 - K_2HPO_4 , 1г/дм^3 - KH_2PO_4 , $0,25\text{г/дм}^3$ - $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$. Важливими факторами, що регулюють ріст та метаболізм вищих базидіоміцетів в культурі, є: температура, рН поживного середовища та аерація та співвідношення C/N. Ці фактори впливають на розчинність солей, іонний стан субстратів, обумовлюють фізіологічну активність культури, в тому числі впливають на властивості клітинної стінки, транспорт поживних речовин, швидкість росту, характер метаболізму, а також здатність засвоювати джерела живлення. Тому на основі літературних даних встановлено основні параметри культивування: температура 30°C , рН середовища складає 5,5-6,0, аерація $1\text{м}^3/\text{м}^3 \cdot \text{хв}$, постійне перемішування 120 об/хв.

У другому розділі наведено біохімічні основи виробництва, а саме надано характеристику кінцевого продукту – функціонального харчового продукту «*Trametes versicolor*», хімічні перетворення, що відбуваються в процесі біосинтезу, обґрунтовано методи очистки цільового продукту, показані механізми впливу біомаси базидіального гриба *Trametes versicolor* на біохімічні процеси людського організму. Таким чином було встановлено, що препарат в таблетованій формі на основі біомаси гриба *T.versicolor* можливо застосовувати для зниження побічних ефектів під час хіміо- і променевої терапії, при гепатиті В, при вірусних захворюваннях (ВПЛ, герпес), при виснаженні організму та хронічній втомі, ослабленому імунітеті. Також в даному розділі наведено характеристику компонентного складу біотехнологічного препарату, отриманого в процесі реалізації технології та зазначені показники хімічної та мікробіологічної чистоти препарату. До складу препарату входить: біомаса (порошок) *T. versicolor* та допоміжні речовини: мікрокристалічна целюлоза, діоксид кремнію, стеарат магнію, необхідні для створення таблетованої форми.

У третьому розділі систематизовано літературні дані про загальні методи, які використовуються для створення промислових продуцентів:

індукований мутагенез, гібридизація. Вид *Trametes versicolor*, що використовується в технології виробництва препарату в таблетованій формі на основі міцеліальної біомаси даного гриба генетично вивчений мало. В Україні даний організм з генетичної точки зору взагалі не досліджувався. Механізми експресії генів, які відповідають за синтез білка, цукрів, глюканів, що входить до складу цільового продукту досить вивчені мало. Більш детально вивчено процеси та їх генетичні аспекти, складено генетичні карти даного біологічного об'єкту для синтезу ферментів, зокрема для ферментів лакази та пероксидази. У даному розділі також представлено схему отримання продуценту *Trametes versicolor* за допомогою індукованого мутагенезу. Застосування такої схеми дозволяє збільшити продуктивність даного організму за продукуванням біомаси та вмістом білку в 2,3 рази.

Четвертий розділ присвячений технологічній частині проекту. Надано повну характеристику кінцевого продукту із зазначенням фізико-хімічних показників препарату, а також особливостей пакування, маркування та зберігання продукту. В даному розділі детально відтворена характеристика контрольних точок, матеріалів та напівпродуктів, які використовуються у виробництві. Описано всі стадії технологічного процесу (допоміжні роботи; основні стадії технологічного процесу; пакування, маркування та відвантаження готової продукції). Наведений матеріальний баланс стадії виробничого біосинтезу. Матеріальний баланс складено для стадії культивування *T. versicolor* на один цикл виробництва. Оскільки об'єм ферментера складає $6,3 \text{ м}^3$, а коефіцієнт заповнення – 0,5, об'єм культуральної рідини в апараті складає $3,15 \text{ м}^3$.

У п'ятому розділі обґрунтовано вибір конструкції для здійснення процесу культивування біомаси базидіального гриба *Trametes versicolor*. У даному проекті передбачено використання ферментеру з механічним перемішуванням барботажного типу. Проведення культивування *T. versicolor* передбачає забезпечення інтенсивного перемішування та аерації середовища для кращого доступу кисню. Обраний ферментер

забезпечений пристосуваннями для достатньої аерації і перемішування культури, підтримки необхідної температури, а також контрольно-вимірювальним приладами. Таким чином обрано ферментер з сорочкою та барботером, об'ємом $6,3 \text{ м}^3$ та лопатевою мішалкою. Переваги використання лопатевої мішалки: вирівнювання температур середовища; швидкість перемішування та розчинення, інтенсивне перемішування в повному обсязі апарата; можливість досягнення рідиною найбільш віддалених точок апарату; ефективне перемішування в'язких рідин (у даному випадку міцеліальної біомаси, культивованої на поживному середовищі, основним компонентом якого є м'яса). Здійснено підбір конструкційних матеріалів для окремих елементів апарату та проведено розрахунок ферментеру, а саме конструктивний та тепловий розрахунок, за допомогою яких визначено розмір мішалки, потужність електроприводу, розміри барботеру та теплове навантаження апарату.

Також в роботі представлено технологічну та апаратурну схеми технології виробництва біомаси *Trametes versicolor*. Графічна частина виконана у відповідності до діючої нормативно-технічної документації

Висновки:

1. У даному проекті було вдосконалено технологію виробництва біомаси *Trametes versicolor*, що дає змогу отримувати функціональний харчовий продукт «*Trametes versicolor*» в таблетованій формі.

2. Запропоновано використовувати в якості продуцента базидіальний гриб штаму *Trametes versicolor* 353, який було отримано з використанням індукованого мутагенезу, після чого продуктивність за накопиченням біомаси та вмістом білка збільшилася в 2,3 рази .

3. З урахуванням трофічних потреб продуценту обрано комплексне середовище раціонального складу: 35 г/дм^3 - м'яса, $0,3 \text{ г/дм}^3$ - дріжджовий екстракт, $2,5 \text{ г/дм}^3$ - $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 1 г/дм^3 - K_2HPO_4 , 1 г/дм^3 - KH_2PO_4 , $0,25 \text{ г/дм}^3$ - $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$.

4. Встановлено найбільш сприятливі умови для накопичення міцеліальної біомаси: температура 30°C, рН середовища складає 5,5-6,0, аерація $1\text{ м}^3/\text{м}^3\cdot\text{хв}$, постійне перемішування 120 об/хв.

5. Розраховано та запропоновано конструкцію апарату для проведення процесу ферментації. Було обрано ферменер з сорочкою, об'ємом 6,3 м³, лопатевою мішалкою та частотою обертання мішалки – 2с⁻¹. Технологічні, конструктивні розрахунки та технічна характеристика апарату, наведені в даній роботі, підтверджують правильність вибору технологічного обладнання.