

менших об'ємів, створити сприятливі санітарно-гігієнічні умови праці, знизити ступінь забруднення довкілля, здешевити процес. Крім цього, використання сульфатної кислоти розширяє асортимент деацильовальних реагентів для похідних тіосульфокислот.

2. Синтезовано нові флуоровмісні тіосульфоестери і досліджено їхню фунгібактерицидну активність.

3. Здійснено прогнозований скринінг біологічної активності синтезованих сполук з використанням програми PASS, показано перспективні напрямки експериментальних досліджень та способи можливого практичного застосування синтезованих алкілових S-естерів тіосульфокислот.

1. Паращин Ж. Д., Лубенець В.И., Новиков В.П. // *ЖОХ*. – 1998. – Т. 68. – С. 280. 2. Песин В.Г., Халецкий А.М., Лоцманенко И.А. // *ЖОХ*. – 1963. – Т. 33. – С.1096. 3. Лубенець В.И., Лужецька-Швед О.В., Комаровська О.З. та ін. // *Фізіологічно активні речовини*. – 1999. – №2(28). – С.101. 4. Мельников Н.Н. *Пестициды*. – М., 1987. 5. Песин В.Г., Беленькая-Лоцманенко И.А. // *ХГС*. – 1965. – № 3. – С. 354. 6. Болдырев Б.Г., Колмакова Л.Е., Першин Г.Н., Милованова С.Н., Пожарская А.М., Королева Н.А., Микерина А.Л., Данилов Н.Н., Билетченко Т.П. // *Хим. фарм. журн.* – 1968. – Т. 2, № 4. – С.12-16. 7. А.с. №198538 СССР. *Способ лечения грибковых заболеваний кожи "Эсуланом"* / Болдырев Б.Г., Першин Г.М., Милованова С.Н., Пожарская Л.М., Королева М.А., Колмакова Л.Е. (СССР) // *Б.И.*, 1967. – № 14. 8. А.с. №178387 СССР. / Болдырев Б.Г. (СССР) // *Изобр. пром. образцы. Товарные знаки*, 1966. – № 3; 9. Болдырев Б.Г., Стояновская Я.И., Ванчак Л.А. // *Журн. орг. хим.* – 1967. – Т.3. – С. 1073-1075. 10. . Машиковский М.Д. *Лекарственные средства*. – Харьков, 1997. – Т. 1,2. – 543, 592 с. 11. Поройков В.В., Филимонов Д.А. // *Азотистые гетероциклы и алкалоиды*. М., 2001.- Т.1- С.123- 129. 12. Поройков В.В. // *Химия в России*. – 1999. – № 2. – С.8-12. 13. Егоров Н.С. *Микробы-антагонисты и биохимические методы определения антибиотической активности*. – М., 1965. 14. Лабинская А.С. *Микробиология с техникой микробиологических исследований*. – М., 1972.

УДК 573.6.086.83:577.112.3

Ю.І. Сидоров, М.В. Русин

Національний університет “Львівська політехніка”
кафедра технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології

ПРОЕКТНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ ВИРОБНИЦТВА ТРЕОНІНУ З ВИКОРИСТАННЯМ МУТАНТНОГО ШТАМУ *E.COLI* VL2055 CSC

© Сидоров Ю.І., Русин М.В., 2006

Для визначення основних техніко-економічних показників розроблена модель виробництва кормового треоніну за участю мутантного штаму *E.coli* VL2055 Csc потужністю 2700 тонн на рік. Розраховано, що при використанні традиційної періодичної ферментації можна одержувати продукт з відпускною ціною 44,62 грн/кг, а при використанні від'ємно-доливної – 28,44 грн/кг. Зроблений висновок про необхідність подальших досліджень з пошуку ефективніших продуцентів треоніну.

With the purpose of definition of the basic technical and economic parameters the model of manufacture fodder threonine with use mutante stamme *E.coli* VL2055 Csc by capacity of 2700 tons for one year. Is developed, that with traditional periodic fermentation it is possible to receive a product with price 44,62 grn/kgs, and with use of a method "to take away-to add" – 28,44 grn/kgs. The conclusion about necessity of the further researches on search more effective producents of threonine is made.

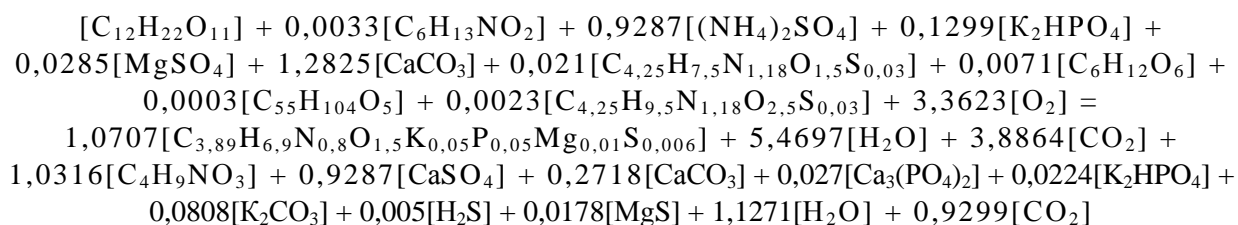
Постановка проблеми. L-треонін є однією з незамінних амінокислот, яку, як і лізін та деякі інші амінокислоти, використовують як добавку до кормового раціону свійської худоби і птахів. В

Україні і у країнах СНД кормовий треонін не випускається і практично не застосовується, оскільки ціна треоніну не може бути вищою за 3,05...4,14 у.о; тільки в такому разі застосування треоніну як кормового амінокислотного препарату має сенс [1]. Сьогодні світове виробництво треоніну фірмами Ajinomoto, Degussa, ADM і CJ сягає 50000 тонн, але наша країна не може собі дозволити закупівлю цього продукту, оскільки ціна на нього перевищує 20...30 у.о. Розроблення і реалізація власних технологій – вихід з ситуації, що склалась. Першим кроком на шляху до цього є створення розрахункових моделей виробництва за різними варіантами.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Сьогодні для синтезу треоніну в промислових масштабах використовують виключно мікробіологічний спосіб з використанням штамів продуцентів таких видів, як *Brevibacterium flavum*, *Escherichia coli*, *Corinebacterium acetoacidophilum*, *Proteus rettgeri*, *Serratia marcescens*, *Aerobacter aerogenes*, *Corenebacterium glutamicum*. Світове виробництво цієї амінокислоти цілком базується на штаммах, створених в ДержНДІгенетиці (Росія). У 1982 році Інститут продав першу ліцензію на штам і спосіб одержання треоніну японській фірмі “Аджиномото”. Власне виробництво треоніну, попри очевидні переваги, не було налагоджено. У 1994 році створений сумісний з Японією науково-дослідний інститут “АГРІ”, який продовжує пошуки нових штамів і технологій на науковому рівні. Найвагомим успіхом дослідників було одержання мутантного штаму кишкової палички *E.coli* VL2055 Csc, який дає змогу одержувати культуральну рідину з вмістом треоніну 27,9 г/л [2]. Технологія ферментації, яка описана в цьому патенті, а також технологія вилучення треоніну з культуральної рідини [3], лягли в основу проектних досліджень.

Мета досліджень. Метою цієї роботи є розроблення розрахункових моделей виробництва кормового треоніну, визначення техніко-економічних показників майбутнього виробництва, масштаб якого повинен був реальним для України.

Розробка розрахункової моделі виробництва. У результаті складання і розв’язання інтегрального стехіометричного балансу ферментації [4] за умови, що половина цукру витрачається на синтез абсолютно сухої біомаси і треоніну, а половина – на енергетичний (дихання), одержали:



Розрахований і неузгоджений з проектною потужністю баланс робочої ферментації *E.coli* VL2055 Csc має такий вигляд (табл.1).

Матеріальний баланс робочої ферментації був основою для усіх подальших розрахунків.

На основі того, що буде використовуватись 15 ферментерів, кожний з яких має повний об’єм 125 м³, пов’язаних між собою за принципом почергового завантаження, встановлено, що річна потужність виробництва дорівнює 2700 тонн треоніну. Тривалість технологічної стадії дорівнює 6 годин при повному циклі ферментації 90 годин.

Для зменшення ціни на готовий продукт проектом передбачено сушіння відділеної біомаси для реалізації її як цінної кормової добавки з високим вмістом білка до раціону худоби з фіксованою ціною 2 грн/кг. Річна потужність відділення за кормовою добавкою становить 5100 тонн.

Блок-схема відділення виробництва треоніну подана на рис. 1. Стадії 1–3, 8 періодичні, решта – безперервні.

Неузгоджений з проектною потужністю робочий баланс ферментації штаму *E.coli* VL2055 Csc

Взято, кг		Одержано, кг	
Поживне середовище (ПС), зокрема Цукор – 342 кг, Ізолейцин – 0,4223 кг, (NH ₄) ₂ SO ₄ – 122,59 кг, K ₂ HPO ₄ – 22,603 кг, MgSO ₄ ·7H ₂ O – 7,011 кг, CaCO ₃ – 128,25 кг, Дріжджовий екстракт – 4,28 кг, Вода на розбавлення – 3554,97 кг	4275	Клітинна маса	304,92
		Треонін	110,484
		CaSO ₄ ·2 H ₂ O	143,763
		CaCO ₃	40,005
		Ca ₃ (PO ₄) ₂	7,533
		K ₂ HPO ₄	6,158
		K ₂ CO ₃	10,035
		MgS	0,897
		Цукор	34,2
		Посівний матеріал (ПМ) з вмістом АСБ 1%	213,75
Аераційний кисень	96,835	(NH ₄) ₂ SO ₄	12,259
		MgSO ₄	0,342
		Білок дріжджового екстракту	0,21
		Вуглеводи дріжджового екстракту	0,128
		Жир дріжджового екстракту	0,025
		Амінокислоти дріжджового екстракту	0,027
		Вода	3723,68
		Разом культуральної рідини	4394,71
Газові викиди (CO₂+ H₂S)	190,88		
Разом	4585,586	Разом	4585,586

Для розташування технологічного обладнання виробництва треоніну спроектований комплекс основних і допоміжних спряжених впритул будівель, до складу якого входять:

1. Одноповерхова будівля “чистої культури”, в якій розташована мікробіологічна лабораторія. Висота будівлі – 3,3 м, прогін – 9 м, довжина – 12 м, крок колон – 6 м.

2. Одноповерхова будівля підготовки ПС для останнього ступеня інокуляції. Висота будівлі – 6 м, прогін – 12 м, довжина – 18 м, крок колон – 6 м.

3. Одноповерхова будівля блока інокуляції. Висота будівлі – 7,2 м, прогін – 12 м, довжина – 30 м, крок колон – 6 м.

4. Одноповерхова будівля складських приміщень, венткамера, трансформаторна. Висота будівлі – 6 м, прогін – 12 м, довжина – 18 м, крок колон – 6 м.

5. Одноповерхова будівля блока підготовки ПС для робочої ферментації. Висота будівлі – 10,8 м, прогін – 12 м, довжина – 18 м, крок колон – 6 м.

6. Триповерхова будівля блока робочої ферментації. Висота першого поверху – 6 м, другого поверху – 4,2, третього поверху 6 м, загальна висота – 16,2 м, ширина – 18 м, сітка колон – 6×6 м, довжина – 54 м.

7. Одноповерхова будівля блока фільтрування. Висота будівлі – 7,2 м, прогін – 18 м, довжина – 18 м, крок колон – 6 м.

8. Одноповерхова будівля блока іонообміну. Тип будівлі – павільйонний. Висота будівлі – 13,2 м, прогін – 18 м, довжина – 18 м, крок колон – 6 м.

9. Одноповерхова будівля блока обробки елюату. Висота будівлі – 6 м, прогін – 18 м, довжина – 18 м, крок колон – 6 м. Об'єм – 1940 м³.

10. Одноповерхова будівля блока фасування треоніну, складські приміщення. Висота будівлі – 6 м, прогін – 18 м, довжина – 24 м, крок колон – 6 м.

11. Одноповерхова будівля блока сушіння біомаси, складські приміщення. Висота будівлі – 6 м, прогін – 18 м, довжина – 18 м, крок колон – 6 м.

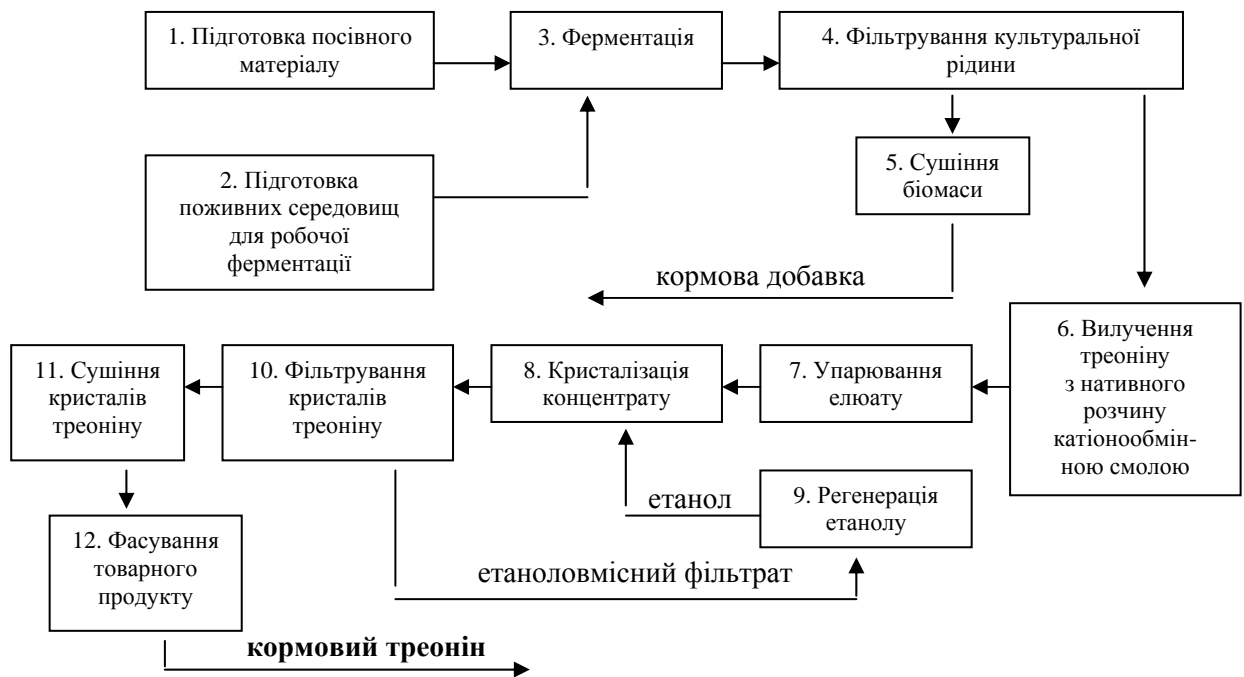


Рис. 1. Блок-схема відділення виробництва кормового треоніну

Капітальні витрати, у які входить гуртова вартість основного і допоміжного технологічного обладнання, вартість контрольно-вимірювальної і регулювальної апаратури, транспортні і монтажні витрати, вартість іонообмінної смоли, дорівнюють близько 38000 тис. грн.

За умови, що індекс прибутковості становить 1,2, а ставка дисконту дорівнює 10%, розраховано, що відпускна ціна кормового треоніну становить 44,62 (\$8,83) грн/кг, а рівень рентабельності – 4,3%. Це можна було б вважати непоганими результатами, але все ж ціна продукту вища від запланованої в 2,13...2,9 рази. Отже, потрібно було внести зміни в технологію, спрямовані на використання дешевшої сировини і зменшення капітальних витрат, наприклад, ферментації безперервним способом, що завжди приводить до зменшення об'єму ферментаційної апаратури. Як вуглецевмісний субстрат доцільно використовувати дешеву мелясу.

Для визначення найдешевшого способу ферментації (найменший об'єм ферментерів) виконані розрахунки з використанням інтегральної форми рівняння логістичної кривої росту біомаси Ферхюльста [5]. Питому швидкість росту прийняли $0,15 \text{ год}^{-1}$, середню для мікроорганізмів класу *Scotobacteria*, порядку *Enterobacteriales*, до яких належить і *E. coli*. Результати розрахунків подано у табл. 2.

Розраховано, що найпридатнішою установкою для безперервної ферментації є триступенева без рециркуляції біомаси з використанням двопоточної схеми і шести ферментерів по 125 м^3 . Доцільне також використання від'ємно-доливного способу з використанням одного ферментера з повним об'ємом 600 м^3 (рис.2). Істотною перевагою останнього способу є можливість заміни старої культури свіжою у будь-який момент роботи установки. Саме цей спосіб ферментації вибраний для подальших розрахунків.

Встановлено, що капітальні витрати за новим способом ферментації різко скорочуються і становлять близько 19200 тис. грн. За рахунок прибутку від продажу кормової добавки навіть при нульовому рівні рентабельності індекс прибутковості залишається 1,2, що свідчить про економічну ефективність виробництва. Відпускна ціна кормового треоніну дорівнює 28,44 грн/кг.

Порівняльні дані різних способів ферментації штаму *E.coli* VL2055 Csc

Тип ферментації	Робочий об'єм ферментерів	Повний об'єм ферментерів	Переваги	Недоліки
Одно-ступеневий безперервний	962 м ³	1282...1603 м ³	Простота установки	Ферментери аерліфтного типу з таким об'ємом не дають змоги зберігати у середовищі асептичні умови, ПМ не поновлюється.
Дво-ступеневий безперервний	2 ферментери з $V_p = 272,2 \text{ м}^3$ Сумарний об'єм 544,6 м ³	Повний об'єм ферментера 389 м ³ сумарний – 778 м ³	Порівняно з одноступеневою установкою сумарний об'єм ферментерів різко скорочується	Ферментери такого об'єму аерліфтного типу не дають змоги зберігати у середовищі асептичні умови, ПМ не поновлюється.
Триступеневий безперервний	3 ферментери з $V_p = 165,5 \text{ м}^3$ Сумарний об'єм 496 м ³	Повний об'єм ферментера 236 м ³ сумарний – 709 м ³	Порівняно з одно- і двоступеневою установкою сумарний об'єм ферментерів різко скорочується	Ферментери з мішалками такого об'єму не випускають. При застосуванні ферментерів по 125 м ³ потрібно проектувати дві поточні лінії з використанням 6 ферментерів. ПМ не поновлюється.
Чотири-ступеневий безперервний	4 ферментери з $V_p = 147,5 \text{ м}^3$ Сумарний об'єм 4590 м ³	Повний об'єм ферментера 210 м ³ сумарний – 840 м ³	Порівняно з попередніми варіантами ферментер має найменший об'єм	Ферментери з мішалками такого об'єму не випускаються. При застосуванні ферментерів по 100 м ³ потрібно проектувати дві поточних лінії з використанням 8 ферментерів, що гірше ніж для триступеневої безперервної установки. ПМ не поновлюється.
Триступенева безперервна установка з екстремальним режимом роботи першого ступеня	3 ферментери з $V_p = 192,4 \text{ м}^3$ Сумарний об'єм 577 м ³	Повний об'єм ферментера 275 м ³ сумарний – 825 м ³	-	Переваг порівняно з попередньою триступеневою немає
Одноступенева безперервна установка з рециркуляцією біомаси	Залежно від циркуляційного потоку робочий об'єм змінюється від 972 до 2000 м ³ і більше	1400...2900 м ³	-	Переваг порівняно з одноступеневою установкою без рециркуляції немає
Триступенева установка з рециркуляцією біомаси	Залежно від рециркуляційного потоку в межах 0,1...1 м ³ робочий об'єм ферментера змінюється від 143 до 351 м ³	Повний об'єм ферментера при рециркуляційному потоці 0,1 м ³ /год 204 м ³ , сумарний об'єм – 612 м ³	Найменший об'єм ферментаційної апаратури для безперервних процесів	Ферментери, обладнані турбінними електроперемішувальними пристроями, такого об'єму не випускають. При застосуванні ферментерів по 100 м ³ потрібно проектувати дві поточні лінії з використанням 6 ферментерів. ПМ не поновлюється. Потрібне встановлення сепаратора для відділення рециркуляційної біомаси
Від'ємно-доливний метод	443,42 м ³	633 м ³	Простота установки при об'ємі, що наближається до об'єму триступеневої установки з рециркуляцією біомаси. Можливість поновлення ПМ.	Ферментери ерліфтного типу такого об'єму не дають змоги зберігати у середовищі асептичні умови, тому потрібно розробляти спеціальну апаратуру

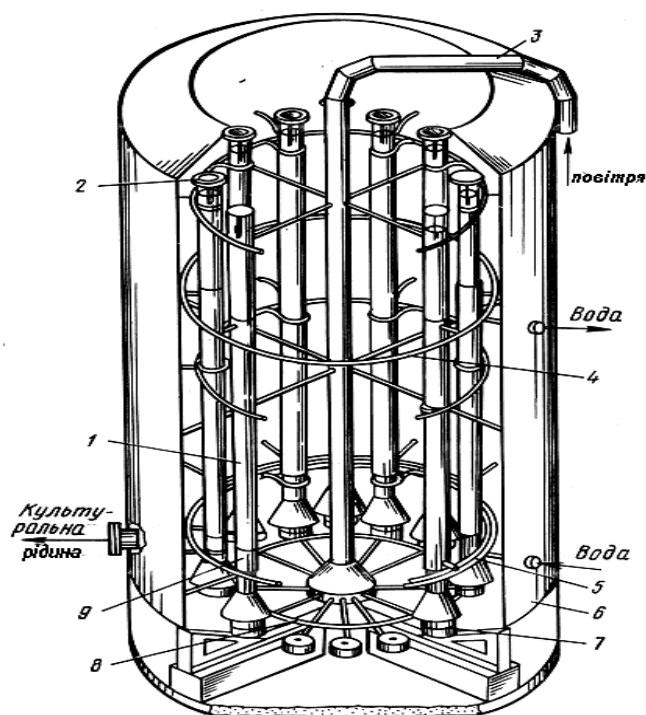


Рис. 2. Ферментер системи УкрНДІСПа об'ємом 600 м³ (автор О.У. Мамуня і співавтори):

1 – циркуляційна труба; 2 – відбивачі; 3 – підведення повітря; 4, 5 – колектори для води; 6 – корпус; 7 – розподільвач повітря; 8 – колектори повітря; колектор середовища

Решта економічних показників подана в табл. 3.

Таблиця 3

**Зведена таблиця основних техніко-економічних показників
виробництва кормового треоніну**

З/п	Показник	Одиниця вимірювання	Значення показника
	Потужність виробництва кормового треоніну		
	- в натуральному вираженні	кг/рік	2700000
	- у вартісному вираженні	тис. грн	76788
	Чисельність працівників, зокрема основних робітників	чол. чол.	48 30
	Продуктивність праці на одного працівника	тис. грн/рік	1811,9
	Середньорічна зарплата на одного робітника	грн	8,053
	Повна собівартість треоніну		
	- одиниці продукції	грн/кг	23,72
	- річного випуску продукції	тис. грн	64065,11
	Гуртова ціна кормового треоніну	грн/кг	23,72
	Відпускна ціна кормового треоніну	грн/кг	28,44
	Валовий прибуток від реалізації треоніну і кормової добавки	тис. грн	5511,69
	Капітальні вкладення	тис. грн	19196,13
	Питомі капітальні вкладення	грн/кг	7,11
	Фондовіддача	грн/грн	4,53
	Термін окупності капітальних вкладень	роки	4,98
	Точка нульового доходу	кг/рік	2700000
	Чиста поточна вартість (NVP)	тис. грн	23035,36
	Індекс прибутковості III		1,2

Висновки. Проектні дослідження виробництва кормового треоніну потужністю 2700 тонн/рік за участю надпродуцента цієї амінокислоти *E.coli* VL2055 Csc, розробленого у ДержНДГенетиці (Росія), показали, що

- при використанні традиційної періодичної ферментації і цукру як вуглецевмісного субстрату можна досягти відпускної ціни товарного продукту 44,62 грн/кг;
- при використанні від'ємно-доливного способу ферментації і меляси як вуглецевмісного субстрату мінімальна відпускна ціна продукту може бути 28,44 грн/кг;
- і в першому, і в другому випадку відпускні ціни треоніну більші від економічно доцільної для сільського господарства, яка встановлена на рівні 15,4...20,9 грн/кг;
- для подальшого зменшення ціни до прийняттого рівня потрібні подальші дослідження з метою пошуку ефективніших продуцентів треоніну.

1. Лемме А. Треонін у раціонах бройлерів – www.uralbiovet.url.ru від 25.04.04. 2. Патент 1149911A2 (ЄС) / Amino acid producing strains belonging to the genus *Escherichia* and method for producing amino acid // Mashko S.V., Akhverdian V.Z., Kozlov Y.I., С 12N 15/52. – 31.10.2001, Bull 2001/44. – 3. А. с. 943282 (СССР) / Способ получения L-треонина // В.Г. Дебабов, Н.И.Жданова, А.К Соколов и др., С 12 Р 13/08. – Оубл. в Б.И. № 26, 1982. 4. Сидоров Ю.І., Новіков В.П., Влязло Р.Й. / Розрахунковий метод складання матеріальних балансів процесів ферментації // Вісник НУ “Львівська політехніка”. – 2002. – №447. – С.165 – 175. 5. Гапонов К.П. Процессы и аппараты микробиологических производств. – М., 1981..

УДК 547.543:547.26.122

Н.Є. Стадницька, В.І. Лубенець, Ю.І. Бичко
Національний університет “Львівська політехніка”

АЦИЛЮВАННЯ ТІОСУЛЬФАНІЛОВОЇ КИСЛОТИ ІЗОЦІАНАТАМИ

© Стадницька Н.Є., Лубенець В.І., Бичко Ю.І., 2006

Описано метод одержання сульфонілтіокарбаматів взаємодією тіосульфокислот з ізоціанатами. Підбрано умови ацилювання тіосульфанілової кислоти різними ізоціанатами, встановлено напрями перебігу реакції.

The method of preparation of sulfonylthiocarbamates by the interaction of thiosulfoacid with isothiocyanates has been propose. The conditions of acylation of thiosulfonic acid by different izocyanates were determined. The directions of course of reactions were investigated.

В наш час перспективними об'єктами досліджень є тіокарбамати, які мають широкий спектр біологічної дії і широко застосовуються як фунгіциди і гербіциди, зокрема тіолові естери тіокарбамінової кислоти. Зручним методом одержання тіокарбаматів та дитіокарбаматів з достатньо високими виходами є взаємодія тіолів, тіофенолів, а також їхніх солей з ізоціанатами та тіоізоціанатами різної будови в присутності каталізаторів третинних амінів або діалкілгалогенідів. Наприклад, в присутності 0.5÷0.8 мас. % триетиламіну реакція нуклеофільного приєднання тіолів до 2-вінілоксиетилізоціанату веде до S-алкіл-N-(2-вінілоксиетил)дитіокарбаматів з кількісним виходом виключно по зв'язку N=C [1, 2, 3]. Тіюлювання ізоціанатів і тіоізоціанатів достатньо вивчено, але використання у цій взаємодії тіосульфокислот як тіюлювальних агентів до цього часу було невідомим. Нами запропоновано одержання сульфонілтіокарбаматів взаємодією тіосульфокислот з ізоціанатами.

Об'єктом дослідження вибрано 4-амінобензолтіосульфокислоту (1), яка містить два можливі центри ацилювання – тіольну та аміногрупу.

В результаті досліджень нами встановлено, що у випадку з тіосульфаніловою кислотою, яка має низьку розчинність реакцію з фенол-, та 3-ізопропеніл- α,α' -диметилбензилізоціанатом необхідно здійснювати в середовищі ДМФА в гетерогенній системі, при високій температурі і за наявності каталізатора. Найкращі результати одержано під час реакції при температурі кипіння