

УДК 681.5

***РАЗРАБОТКА И ИССЛЕДОВАНИЕ АВТОМАТИЗИРОВАННОЙ
СИСТЕМЫ УПРАВЛЕНИЯ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИМ ПРОЦЕССОМ
ПОЛУЧЕНИЯ КИШЕЧНОЙ ПАЛОЧКИ***

Савчиц А.В.

кандидат технических наук, доцент,

Волжский политехнический институт (филиал) ВолгГТУ,

Россия, г.Волжский

Сарипов Д.Н.,

студент,

Волжский политехнический институт (филиал) ВолгГТУ,

Россия, г.Волжский

Аннотация

Статья посвящена рассмотрению технологии получения кишечной палочки. В работе рассмотрен технологический процесс производства *Escherichia coli* и возможность его автоматизации. В настоящее время модифицированная кишечная палочка используется в технологии производства рекомбинантных белков, что определяет актуальность настоящего исследования.

Ключевые слова: *Escherichia coli*, рекомбинантный белок, штамм, производство, биотехнология, автоматизация технологических процессов, биомоделирование, культуральная среда, питательная среда, смесительный аппарат, ферментатор, культивирование.

DEVELOPMENT AND RESEARCH OF AN AUTOMATED CONTROL SYSTEM FOR THE TECHNOLOGICAL PROCESS OF OBTAINING E. COLI

Savchits A.V.,

Candidate of Technical Sciences, Associate Professor,

*Volzhsky Polytechnic Institute (branch) of Volgograd State Technical University,
Russia, Volzhsky*

Saripov D.N.,

Student,

*Volzhsky Polytechnic Institute (branch) of Volgograd State Technical University,
Russia, Volzhsky*

Annotation

The article is devoted to the technology of obtaining E. coli. The paper considers the technological process of Escherichia coli production and the possibility of its automation. Currently, modified E. coli is used in the production technology of recombinant proteins, which determines the relevance of this study.

Keywords: Escherichia coli, recombinant protein, strain, production, biotechnology, automation of technological processes, biomodeling, culture medium, nutrient medium, mixing apparatus, fermenter, cultivation.

Кишечная палочка является одной из самых известных микробов в мире. Escherichia coli – грамотрицательная палочковидная бактерия семейства энтеробактерий факультативных анаэробов. В настоящее время Escherichia coli насчитывает большое количество штаммов, которые могут быть как безвредными и даже полезными для человека, так и условно патогенными, вызывающими заболевание кишечника [1, 5, 6].

Особый интерес, в настоящее время, вызывает процесс производства рекомбинантного белка с использованием модифицированной *E. Coli* [2, 4], что обуславливает необходимость автоматизации процесса получения кишечной палочки, как одного из ключевых биотехнических производственных процессов.

Основная часть

Рекомбинантный белок, получаемый из модифицированной *Escherichia coli*, в промышленных масштабах производится в режиме дозирования. В силу того факта, что очистка и настройка оборудования в большинстве случаев требует значительных затрат, необходимо по возможности стремиться к сокращению количества этих циклов [3]. С другой стороны переход на непрерывное биомоделирование в биотехнологических процессах практически невозможен так как используемые в производстве культуры предусматривает изменение производительности зависимости от времени и стадии процесса.

Технология периодического процесса значительно облегчает использование критически важного оборудования, снижает воздействие окружающей среды и потенциально увеличивает общий объем производства [7]. Удивительно, но исследования по повторяющимся процессам дозирования для производства рекомбинантного белка можно найти только для дрожжей. Знания о технологии многократного периодического культивирования для производства рекомбинантного белка в *E. Coli* до сих пор недоступны [3].

Технологическая схема получения *E. Coli* заключается в следующем. В отдельном цехе необходимо осуществить получение инокулята кишечной палочки в три стадии. На первой стадии *Escherichia coli* выращивают на скошенной среде сусло-агаре в пробирках, на второй и третьей стадии ее размножают на жидкой питательной среде в колбах на качалках. Продолжительность каждой стадии - 24 часа при температуре 37 °С.

Почти во всех технологических процессах необходимо и важно контролировать изменения физических параметров [8].

С целью улучшения качества конечного продукта и повышения уровня автоматизации предлагается следующее решение: составить функциональную схему автоматизации процесса получения кишечной палочки и внедрить программируемый логический контроллер для полного управления технологическим процессом.

Разработанная функциональная схема автоматизации процесса получения *Escherichia coli* приведена на рисунке 1.

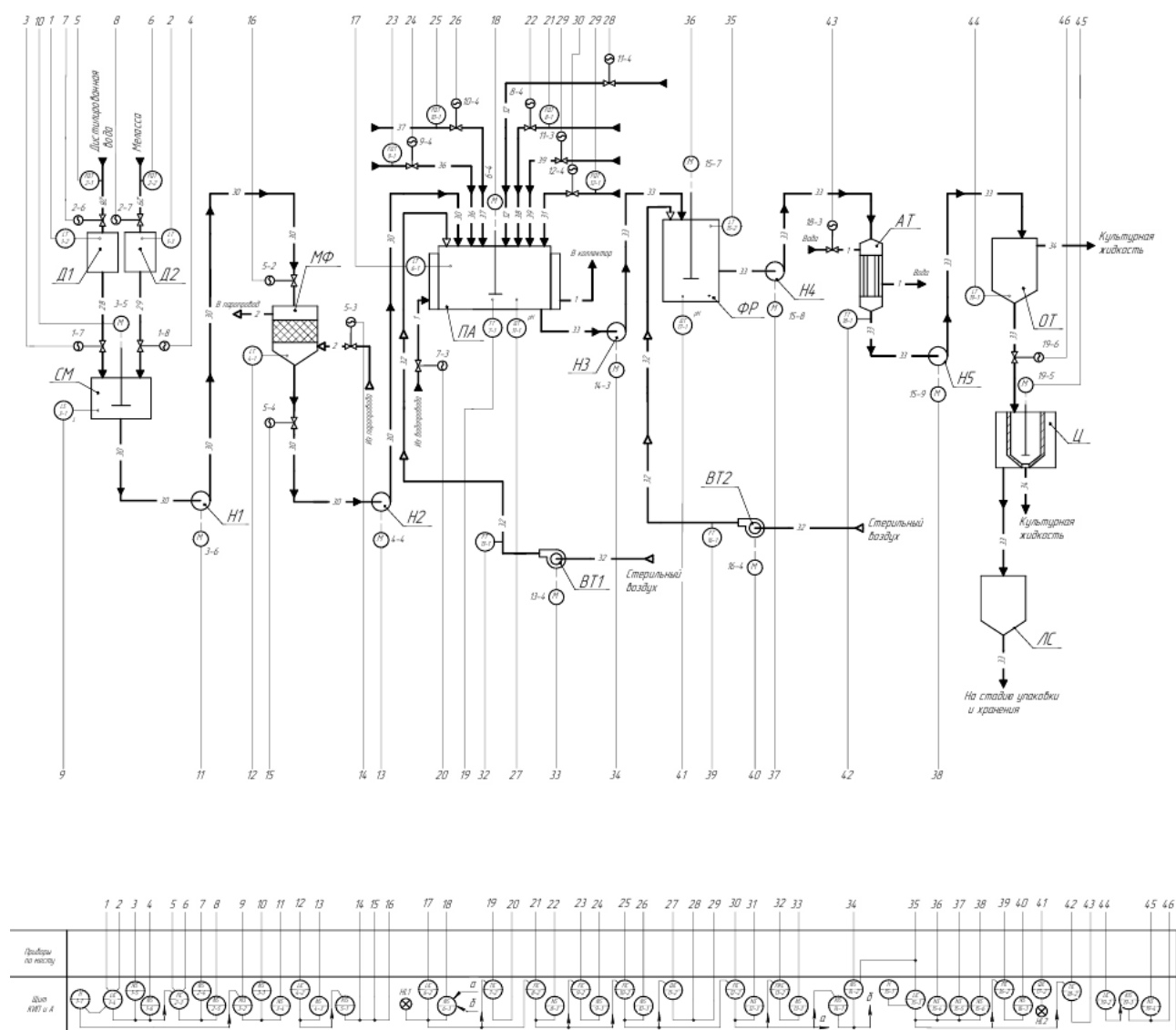


Рис. 1 – Функциональная схема автоматизации процесса получения кишечной палочки (разработка автора)

В смесительный аппарат при работающей мешалке поступает отмеренное с помощью дозирующего устройства количество мелассы и дозирующего устройства дистиллированной воды в соотношении 1:1. Далее питательная среда из смесителя с помощью насоса перекачивается на мембранный фильтр через мелкие поры которого происходит стерилизация питательной среды. Затем питательная среда поступает в посевной аппарат ПА, а мембранный фильтр регенерируется острым паром при температуре 150-170 °С в течении одного часа.

В посевной аппарат при работающей мешалке и температуре 70 – 80 °С вводят антимикробный раствор, охлаждают его через рубашку посевного аппарата водой до 35 – 36 °С и затем вводят стерильные растворы K_2HPO_4 и ZnSO_4 . Контролируют pH готового раствора (6,8 – 7,2) и в необходимых случаях корректируют его добавлением серной кислоты или стерильного раствора соды. В посевной аппарат ПА к подготовленному раствору температурой 36 – 37 °С вводят суспензию бактерий.

После засева в посевной аппарат сразу подают стерильный воздух, и проводят аэрацию и перемешивание при температуре 36 – 37 °С в течении времени приготовления посевного материала.

По истечению некоторого времени происходит сильное вспенивание культуральной среды, поэтому в патрубок для посева вводят 25 – 30 мл стерилизованной технической олеиновой кислоты. Если через некоторое время культуральная жидкость начинает вновь пениться, вводят еще пеногаситель, так как при активном росте мицелия расход воздуха уменьшать нельзя.

По истечении определенного времени подают воздух, когда вырастает значительная масса мицелия, пенообразование обычно прекращается. Объем раствора заметно увеличивается за счет образовавшегося мицелия и мелких пузырьков воздуха, жидкость становится густой.

Затем из посевного аппарата ПА, с помощью насоса, переводят приготовленную посевную культуру в ферментер ФР, перемешивают её и

отбирают пробу для определения рН, концентрации сахара и микробиологической чистоты.

В ферментеры подают сжатый, стерильный воздух с помощью вентилятора. Ферментацию прекращают, когда в среде накапливается максимальное количество биомассы. По окончании процесса, с помощью насоса, культуральную жидкость перекачивают и охлаждают в теплообменнике АТ2 до 5-10 °С для обеспечения стабильности продукта и предотвращения роста других микроорганизмов. Затем, с помощью насоса, суспензия бактерий поступает в отстойник ОТ, где бактериальные клетки оседают на дно осадительной камеры, после чего культуральная жидкость поступает в центрифугу Ц, где происходит более глубокая обработка суспензии. Затем суспензия микроорганизмов поступает в лиофильную сушилку ЛС, где происходит последняя стадия выделения кишечной палочки путем замораживания до температуры от -40 °С до -70 °С после чего готовый продукт поступает на стадию упаковки и хранения.

В рассмотренном технологическом процессе получения кишечной палочки необходимо проводить постоянный контроль таких параметров как:

- дозирование реагентов и среды;
- температура и давление процесса;
- контроль рН среды;
- контроль расхода воздуха;
- контроль пробоотбора.

Все вышеперечисленные точки контроля должны оснащаться специальными датчиками, что позволит значительно сократить роль человеческих ресурсов в процессе контроля процесса, а также исключить риск нарушения технологического режима.

Для управления и контроля параметров состояния всего процесса получения кишечной палочки предлагается внедрить программируемый логический контроллер ОВЕН ПЛК160 [M02].

ПЛК вместе с модулями аналоговых и дискретных вводов и выводов собирает и обрабатывает входные сигналы с приборов контроля и осуществляет управляющие воздействие на элементы управления системы автоматизации.

Функциональная схема автоматизации, представленная на рисунке 1, потенциально может быть использована в технологическом процессе получения биоматериала.

Следует заметить, что предлагаемая схема автоматизации легко может быть модифицирована при изменении технологических параметров процесса, что делает ее достаточно универсальной и мобильной.

Автоматизация процесса получения кишечной палочки позволяет решить такие задачи как:

- снижение себестоимости полученного биоматериала и возможность увеличения производственных мощностей;
- сокращение времени затрачиваемого на ремонт и сведение к минимуму времени простоя технологической линии;
- сокращение материальных и трудовых затрат;

Тем не менее, указанные выше преимущества не свидетельствуют о необходимости автоматизации всех производственных процессов и в каждом конкретном случае следует рассматривать введение автоматического контроля производства с учетом затрат на его реализацию, иногда затраты на внедрение автоматического контроля нецелесообразны с точки зрения ее будущей окупаемости.

Автоматизации в первую очередь должны подвергаться процессы, которые требуют особой точности, стерильности или могут негативно сказываться на работнике в силу наличия вредных и взрывоопасных факторов производства.

В рассматриваемом случае автоматизация линии по производству кишечной палочки целесообразна с точки зрения возможности обеспечить стерильность, которая необходима во всех биотехнических процессах.

Представленную информацию и схему автоматизации функциональную предлагается применить для дальнейшей разработки технической документации и проектирования автоматизированной системы получения кишечной палочки.

Библиографический список:

1. Baeshen, M. N., Al-Hejin, A. M., Bora, R. S., Ahmed, M. M., Ramadan, H. A., Saini, K. S., et al. (2015). Production of Biopharmaceuticals in *E. coli*: Current Scenario and Future Perspectives. *J. Microbiol. Biotechnol.* 25, 953–962. doi: 10.4014/jmb.1412.12079.

2. Baolei Jia and Che Ok Jeon. High-throughput recombinant protein expression in *Escherichia coli*: current status and future perspectives/ Jia B., Jeon C.O. // *Open Biology*. – 2017.

3. Repetitive Fed-Batch: A Promising Process Mode for Biomanufacturing With *E. coli*, J. Kopp, St. Kittler, C. Slouka, C. Herwig, O. Spadiut and D. J. Wurm, *Front. Bioeng. Biotechnol.*, 10 November 2020

4. Rosano G.L. Recombinant protein expression in *Escherichia coli*: advances and challenges/ Rosano G.L., Ceccarelli E.A. // *Frontiers in Microbiology*. – 2014.

5. Панкратова Н.А. Исследование процесса культивирования *E-coli* в реакторе периодического действия / Н.А. Панкратова, Д.А. Табакова, Е.В. Гусева// *Успехи в химии и химической технологии: Сборник научных статей* – 2017. – С.32-33.

6. Решедько Г.К. *Escherichia coli* как возбудитель нозокомиальных инфекций в ОРИТ/ Решедько Г.К., Щебников А.Г., Морозов М.В., Решедько Л.А.// *Болезни и возбудители*. – 2011. – Т.13, № 4. – Стр. 314-321.

7. Схиртладзе А.Г. Автоматизация технологических процессов и производств: учебник / А.Г. Схиртладзе, А.В. Федотов, В.Г. Хомченко. – Электрон. текстовые данные. – Саратов: Вузовское образование, 2015. – 459 с. – 2227-8397.

8. Теория автоматического управления. Ч. 1 и 2 / Под ред. А.А. Воронова.
– М.: Высшая школа, 2008г. –250 с.

Оригинальность 86%