

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ**

Інститут (факультет) біотехнології та екологічного контролю
Кафедра біотехнології і мікробіології

«До захисту в ЕК»
Директор інституту(декан факультету)

Грегірчак Н.М.
(підпис) (прізвище та ініціали)

« ___ » _____ 2021 р.

«До захисту допущено»
Завідувач кафедри

Пирог Т.П.
(підпис) (прізвище та ініціали)

« ___ » _____ 2021 р.

**КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА
НА ЗДОБУТТЯ ОСВІТНЬОГО СТУПЕНЯ МАГІСТРА**

зі спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія»
(код та назва спеціальності)
освітньо-професійної програми «Промислова біотехнологія»

на тему: Особливості біотехнологій біопалива із
використанням ціанобактерій

Виконав: здобувач 2 курсу, групи 1

Гайдай Ярослав Олегович
(прізвище, ім'я, по батькові повністю) (підпис)

Керівник Слободян Ольга Петрівна
(прізвище, ім'я та по батькові повністю) (підпис)

Консультанти _____
(прізвище та ініціали) (підпис)

_____ (прізвище та ініціали) (підпис)

_____ (прізвище та ініціали) (підпис)

Рецензент _____
(прізвище та ініціали) (підпис)

Засвідчую, що в цій кваліфікаційній
роботі немає запозичень із праць
інших авторів без відповідних
посилань.

Здобувач _____
(підпис)

Київ – 2021 р.

НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ

Інститут (факультет) біотехнології та екологічного контролю

Кафедра біотехнології і мікробіології

Освітній ступінь магістр

Спеціальність 162 «Біотехнології та біоінженерія»
(код і назва)

Освітньо-професійна програма «Промислова біотехнологія»

(назва)

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри біотехнології і мікробіології

Пирог Т.П.

“ 28 ” жовтня 2020 року

З А В Д А Н Н Я НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ ЗДОБУВАЧА

Гайдая Ярослава Олеговича

(прізвище, ім'я, по батькові)

1. Тема роботи Особливості біотехнологій біопалива
із використанням ціанобактерій

керівник роботи Слободян Ольга Петрівна, ктн., доцент,
(прізвище, ім'я, по батькові, науковий ступінь, вчене звання)

затверджені наказом закладу вищої освіти від “26” жовтня 2020 року №868-к

2. Строк подання здобувачем роботи _____

3. Вихідні дані до роботи Ферментер об'ємом 30.5 м³

4. Зміст пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно розробити) Вступ; Розділ 1: Літературний огляд; Розділ 2: Техніко-економічне обґрунтування; Розділ 3: обґрунтування вибору технологічної схеми; Розділ 4: специфікація технологічної схеми; Розділ 5: Опис технологічної схеми; Розділ 6: контроль виробництва біодизелю.

5. Перелік графічного матеріалу
Апаратурна схема (2 аркуші), технологічна схема

РЕФЕРАТ

Представлено проект експериментальної технології біосинтезу жирних кислот і одержання біодизелю штамом ціанобактерій *Synechococcus sp. HS01*. Штам *Synechococcus sp. HS01* має продуктивність 56.5 мг/л/д жирних кислот.

Розрахована потужність виробництва біодизелю становить 186 л за 300 трудоднів. Технологічний процес біосинтезу ліпідів включає допоміжні роботи (підготовка аераційного повітря, підготовка та стерилізація поживних середовищ) та основні роботи: підготовка посівного матеріалу в колбах на качалці та в інокуляторах об'ємом 5, 45, 312 і 3088 л, виробничий біосинтез у 7 трубчастих фотобіореакторах суммарним об'ємом 30.5 м³, центрифугування, сушіння, пряма трансетерифікація, випарювання метанолу, фільтрування.

Кваліфікаційний проект складається зі вступу, літогляду(1 розділ), технологічної частини(5 розділів), списку використаної літератури (94 найменування), технологічної (формат А1) та 2 апаратурних схем(А1). Загальний обсяг роботи – 139 сторінок, 19 таблиць, 9 рисунків.

Ключові слова: біопаливо, біодизель, жирні кислоти, біосинтез, *Synechococcus sp. HS01*, середовище BG-11.

ЗМІСТ

Реферат.....	2
Вступ.....	4
Розділ 1. Літогляд.....	6
1.1 Виробництво біодизелю за допомогою ціанобактерій.....	6
1.2 Виробництво біоетанолу за допомогою ціанобактерій.....	21
1.3 Виробництво біобутанолу за допомогою ціанобактерій.....	25
Технологічна частина	
Розділ 2. Техніко-економічне обґрунтування.....	28
2.1.Розрахунок потреби у цільовому продукті.....	28
2.2. Розрахунок етапів культивування і об'ємів інокуляту.....	29
Розділ 3. Обґрунтування вибору технологічної схеми.....	33
3.1. Вибір біологічного агента та поживного середовища.....	33
3.2. Обґрунтування способу культивування.....	41
3.3. Обґрунтування вибору фотобіореактора.....	47
3.4. Обґрунтування стадій виділення і очищення цільового продукту...	53
3.5. Розрахунок розмірів фотобіореакторів для кожного етапу одержання культуральної рідини і виробничої ферментації.....	63
3.6. Обґрунтування розподілу поживного середовища на композиції і умов стерилізації.....	66
3.7.Розрахунок об'ємів ємнісних апаратів.....	67
Розділ 4. Специфікація технологічної схеми	74
Розділ 5. Опис технологічної схеми одержання.....	82
Розділ 6. Контроль виробництва біодизелю.....	98
6.1. Методики контролю.....	98
6.2. Карта постадійного контролю біосинтезу ліпідів.....	111
Висновок.....	120
Апробації.....	121
Перелік літератури.....	122

ВСТУП

На даний момент через поступовий ріст цін на традиційне паливо на основі нафти та забруднення вихлопними газами, з'явилося питання переходу на альтернативні джерела енергії, такі як біопаливо. Дана проблема є актуальною і для України. Поступове введення біопалива зменшить залежність України від експорту нафтопродуктів.

Основними видами моторного біопалива є біодизель, біоетанол та біобутанол. Сировиною для виробництва даних видів біопалива можуть бути кукурудза, олія, цукор та інші продукти та відходи сільськогосподарської промисловості. Але, при широкому застосуванні, даний метод виробництва сировини має ряд недоліків. По-перше, потреба у великій площі родючих полів, добрива, пестициди. По-друге, конкуренція за великі площі родючої землі призведе до вирубки лісів та знищення екосистем, посилить ерозію ґрунтів, вимагатиме великого об'єму водних ресурсів для зрошування[1,2].

Альтернативною сировиною для виробництва біодизелю, біоетанолу та біобутанолу можуть бути ціанобактерій та мікродорості. Даний напрямок активно досліджується, експериментальні установки для виробництва біопалив за допомогою фотосинтезуючих мікроорганізмів є в Клотзе(Німеччина), Вагенінський Університет(Нідерланди), Байарг (Франція); Університет Альмерії (Іспанія), Кадіс (Іспанія), Кайлуа Кона (Гаваї)[3, 4, 5].

Метою даного проекту є розробка технології одержання жирних кислот та виробництва біодизелю шляхом культивування штаму *Synechococcus sp. HS01* на середовищі BG-11 з додаванням страусового жиру і натрію хлориду, при цьому продуктивність біосинтезу жирних кислот *Synechococcus sp. HS01* досягає 56.5 мг/л/д[5].

					<i>НУХТ БТЕК 02. 02. 01 КП ПЗ</i>			
<i>Зм</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ документа</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>		<i>Літера</i>	<i>Аркуш</i>	<i>Аркушів</i>
<i>Розробник</i>		Гайдай Я.О.			Вступ			
<i>Керівник</i>		Слободян О.П..						
<i>Н. контр</i>								
<i>Консульт</i>								
<i>Зав. Каф.</i>		Пирог Т. П.						
						<i>Кафедра БТМ</i>		

Актуальність: в даній роботі розроблено експериментальну біотехнологію одержання жирних кислот штамом ціанобактерій *Synechococcus sp. HS01* та виробництва біодизелю, як перспективного замітника традиційного способу виробництва біодизелю з продуктів сільсько-господарських технологій.

Новизна: в даній роботі розроблено експериментальну технологію отримання біодизеля культивуванням штаму *Synechococcus sp. HS01* у горизонтальному трубчастому фотобіореакторі.

РОЗДІЛ 1. ЛІТОГЛЯД

1.1. Виробництво біодизелю за допомогою ціанобактерій

Ключовою проблемою виробництва біодизелю шляхом культивування ціанобактерій є недостатня інтенсивність біосинтезу жирних кислот. Тому, наукові дослідження направлені на розроблення, пошук і дослідження штамів з більшою продуктивністю.

У ряді робіт[5 – 10] наведені дослідження потенціальних продуцентів, виділених з природних та техногенних джерел. Так, вчені з Університету Сан-Пауло повідомили про виділений із очисних споруд штам *Microcystis aeruginosa* NPCD-1. При культивуванні на середовищі ASM-1 при температурі 25 °С при постійному флуоресцентному освітленні (109 моль/м²/с), продуктивність біомаси 46.9 вміст ліпідів склав 28.10±1.47% маси клітини концентрація насичених жирних кислот (50%), пальмітинової (24.34%) та лауринової (13.21%) кислот будучи основними складовими. Решта 50%, що складають ненасичені жирні кислоти, виявилися вищими концентрації олеїнової (26.88%) та лінолевої (12.53%) кислот. Цетанове число одержаного біодизелю - 59.5[6].

Інший перспективний штам, *Leptolyngbya* sp. ISTCY101 дослідники виділили з гірської породи(мармурова шахта Джхірі). При культивуванні на середовищі BG-11(з додаванням 10, 50 і 100 мМ NaHCO₃) та на середовищі, яке імітує морську воду(25 і 35 г/л NaCl), штам показав продуктивність біомаси 78.9 і 75.74 мг/л/день. В складі жирних кислот переважають пальмітинова, стеаринова, олеїнова, ліноленова, лінолева кислоти[7].

При культивуванні на стічній воді у напівперервному фотобіореакторі на основі мармурових плит розвивати біоплівку та використовувати бікарбонат як джерело неорганічного вуглецю. інтенсивність росту біомаси *Leptolyngbya* sp. ISTCY101 склала 85 мг/л/день у періодичному режимі

					НУХТ БТЕК 02. 02. 01 КП ПЗ			
Зм	Арк.	№ документа	Підпис	Дата				
Розробник	Гайдай Я.О.				Розділ 1. Літогляд	Літера	Аркуш	Аркушів
Керівник	Слободян О.П..							
Н. контр						Кафедра БТМ		
Консульт								
Зав. Каф.	Пирог Т. П.							

культивування, штам продукував 25% (% мас/дВ) ліпідів, що складаються переважно з насичених і мононенасичених (C16: 0, C16: 1, C18: 0, C18: 1) жирних кислот (N65%). Максимальні показники видалення азоту та фосфору у напівперервному режимі становило 4.37 мг/л/д і 1.01 мг/л/д[8].

Вчені з Університету Альзари дослідили штами ціанобактерій, виділені з п'яти різних водойм Ірану. Ізольовані ціанобактерії були ідентифіковані як *Pseudanabaena* sp. SK01, *Pseudanabaena* sp. SK02, *Synechococcus* sp. HS01, *Pseudanabaena* sp. SK03, *Nodosilinea* sp. AK01. Серед ізолятів найбільшу ефективність виявив штам *Synechococcus* sp. HS01. Для збільшення виходу ліпідів дослідники оптимізували склад поживного середовища, додавши до середовища BG-11 0.5 г/л NaNO₃, 3% розчину NaCl, 3% і 3% страусового масла. За результатами дослідження, найвища продуктивність (56.5 мг/л/день) може бути досягнута при додаванні до середовища BG-11 1% страусового жиру і 0.009% NaCl. Серед жирних кислот переважають пальмітолеїнова і пальмітинова (сукупно 42.7%), лінолева, олеїнова та ліноленова кислоти (сукупно 42.8%), що робить штам *Synechococcus* sp. HS01 ефективним продуцентом жирних кислот[5].

Штам ціанобактерій, ідентифікований як *Cyanobacterium* sp. IPPAS B-1200, був виділений та очищений із соляного озера Балхаш (Казахстан) групою вчених з Казахстану та Росії. За результатами, при культивуванні на середовищі Заррука, освітленні потужністю 50 μмоль, досліджений штам показав вихід жирних кислот 60 мг/г (сухої маси). Загальна кількість C14 жирних кислот складає 40%, C16 - 60%, що робить штам придатним для одержання біодизелю[9].

Також, дослідженням потенціалу біосинтезу жирних кислот ізолятами ціанобактерій займалися вчені з Університету Риму. Ізоляти одержали з біоплівки в водосховищі Дель'Есаро, лагуні Кабрас і аеропорті Фьюмічіно (Італія). Ізоляти були культивовані глибинним напівбезперервним способом у експериментальному кільцевому фотобіореакторі призначеному для підвищеного утворення біоплівки. Найбільшу продуктивність ліпідів

продемонстрував ізолят VRUC 164 (Фьюмічіно) – кількість жирних кислот склала 18.4% маси клітини[10].

Ряд досліджень[11 - 16] присвячено порівнянню продуктивності штамів ціанобактерій і складу жирних кислот в клітині.

Вчені з Федерального Університету Паро(Бразилія) визначили ліпідний склад в клітинах трьох штамів ціанобактерій виділених з Амазонки: *Cyanobium* sp(Озеро Болона), *Limnothrix* sp(водосховище Тукуруй). і *Nostoc* sp(Озеро Болона). Дані штами було культивовано у двох поживних середовищах, ASM-1 та BG-11, для оцінки. Продуктивність штамів становила(мг/л/д): *Cyanobium* sp - 23.00(BG-11), 35.00(ASM-1), *Limnothrix* sp - 30.00(BG-11), 38.10(ASM-1), *Nostoc* sp - 35.40(BG-11), 46.80(ASM-1). За результатами, штам *Nostoc* sp на середовищі ASM-1 показав найбільшу продуктивність біосинтезу жирних кислот(46.80 мг/л/д), але штам *Limnothrix* sp. синтезував більшу кількість пальмітинової кислоти, а також мав кращі параметри якості біодизеля: окислювальна стабільність - 34.90 год, цетанове число – 58.06[11].

Патрісія С. М. да-Рос та співавтори, визначили продуктивність росту біомаси, ліпідів, та якісний склад ліпідів у ізолятах штамів *Synechococcus*(колекція культур Пастера, Франція), *Trichormus CENA77* (затоплене рисове поле, Бразилія), *Microcystis aeruginosa* NPCD-1(станція очистки води Сідаде де Деус, Бразилія), *Leptolyngbya CENA104*(станція очистки води, Бразилія) та *Chlorogloea CENA104*(Грунт острова Кардосо, Бразилія). Штами були культивовані на середовищах BG-11, ASM-1 та SWBG-11 і в умовах постійної аерації, інтенсивність світла еквівалентна 100 мкмоль/м/с і температурі 24 ± 1 °C. Найбільшу продуктивність показали штами *Synechococcus* sp. PCC7942(14.2 мг/л/день) і *M. aeruginosa* NPCD-1(13.1 мг/л/день). *Synechococcus* sp. PCC7942 показав 29.6% насичених ФА та 69.4% ненасичених ФА, з більшою часткою олеїнової (31.5%), лінолевої (30.9%) та пальмітинової (23.5%) кислот. Біомаса *M. aeruginosa* NPCD-1 мала

приблизно 50% насиченого ФАС з більшою часткою пальмітинової (24.3%) та лауринової (13.2%) кислот[12].

Вчені з Федерального Університету Паро визначили продуктивність штамів *Microcystis*, *Synechocystis* sp. CACIAM05, *Lyngbya* sp. CACIAM07, *Cyanobium* sp. CACIAM14, *Leptolyngbya* sp. CACIAM18, *Limnothrix redekei* CACIAM25, *Planktothrix pseudoagardhii* CACIAM27. Найоптимальніший для виробництва біодизелю склад жирних кислот мають штами *Synechocystis* sp. CACIAM05 та *Microcystis aeruginosa* CACIAM03, культивовані на середовищі BG-11, в той час як штам *Cyanobium* sp. CACIAM14 має найвищу продуктивність біомаси. Усі досліджені штами мали подібний якісний склад жирних кислот: пальмітинова кислота (C16:0) (вміст 7.43 - 38.37%), стеаринова кислота (C18: 0) (1.44-13.82%), капронова кислота (C6:0), (0,82-78.84%) та олеїнова кислота (C18:1), (1,13 – 46/76%). Параметри якості біодизеля розраховували на основі профіль жирної кислоти. Штами, які показали найкращі значення та забезпечили кращу якість біодизеля, були *Synechocystis* sp. CACIAM05 та *Microcystis aeruginosa* CACIAM03, вирощені в середовищі BG-11[13].

Антонірай Анахас і Гангатхаран Муралітхаран(Університет Братхідасану) порівняли показники продуктивності штамів *Camptylonomopsis minor* MBDU 013, *Calothrix marchica* MBDU 602, *Calothrix* sp. MBDU 013, *Nostoc* sp. MBDU 009, *Nostoc* sp. MBDU 013, *Anabaena sphaerica* MBDU 105, *Calothrix dolichomeres* MBDU 013, *Calothrix linearis* MBDU 005, *Nostoc piscinale* MBDU 013, *Anabaena* sp. MBDU 006, *Nostoc* sp. MBDU 007. Найвищу продуктивність ліпідів та швидкість росту(2.358 мг/л/день і 20.67 мг/л/день) вміст ліпідів - 11.221 ± 0.137 продемонстрував штам *Calothrix* sp. MBDU 013. Даний штам має такий склад жирних кислот: лауринова (6.92), міристинова (0.69), пальмітинова (23.52), стеаринова (5.27), олеїнова (1.02) лінолева (7.54) [14].

У іншій праці вчені дослідили штами ціанобактерій, виділені з кількох місць навколо міста Тіруччираппаллі(Індія): *Dolichospermum spiroides* MBDU

607, *Anabaena variabilis* MBDU 013, *Anabaena anomala* MBDU 629, *Nostoc punctiforme* MBDU 009, *Nostoc calcicola* MBDU 602, *Nostoc carneum* MBDU 709, *Nostoc carneum* MBDU 013, *Nostoc entophytum* MBDU 679, *Desmonostoc muscorum* MBDU 105, *Calothrix brevissima* MBDU 613, *Tolypothrix tenuis* MBDU 609, *Nostoc sp.* MBDU 013, *Nostoc sp.* MBDU 005, *Nostoc commune* MBDU 707, *Nostoc sp.* MBDU 303. Дані штами було культивовано на середовищі BG-11N0 на протязі 24 днів при температурі 28 °C освітленні потужністю 50 мікромоль/с і циклі освітлення/темряви 14:10 год. За вмістом ліпідів ($18.921 \pm 0.096\%$ сухої біомаси), продуктивністю біосинтезу ліпідів (3.259 ± 0.211 мг/л/день), складом жирних кислот (57.78% C16-C18 жирних кислот) найперспективнішим є штам *Nostoc calcicola* MBDU 602. Даний штам має такий склад жирних кислот: лауринова(5.2), пальмітинова (38.3), стеаринова(22.3), олеїнова(8.3) лінолева(3.7)[15].

Франциска Стейнхофф і співавтори(Норвежський Університет Науки і Технологій) дослідили три штами ціанобактерій з Балтійського моря (*Aphanizomenon flos-aquae*, *Dolichospermum lemmermannii* та *Nodularia spumigena*). Дані штами було культивовано за трьох різних умов: недостатчі азоту, недостатчі фосфору, і при нормальному складі поживного середовища f/2. Штам *D. lemmermannii* досяг максимальної кількості вільних жирних кислот через 7 днів культивування на середовищі з нестачею фосфору (427.0 мкг/мм), штамм *A.flos-aquae* за 14 днів на середовищі з нестачею азоту (119,4 мкг/мм). Штам *N. spumigena* мав найвищий рівень ТФА після 14 днів на середовищі з нормальним складом. Вчені зазначають, що посилений біосинтез жирних кислот в умовах недостатчі поживних речовин може бути пояснюватись потребою у зберіганні вуглецю в несприятливих умовах[16].

Альтернативою пошуку ефективних продуцентів є підвищення продуктивності добре вивчених штамів шляхом застосування методів генної модифікації ціанобактерій[17 - 25].

Ana F. Ruffing та колеги дослідили вихід жирних кислот у штамів *Synechocystis sp.* PCC 6803 та PCC *Synechococcus elongatus* 7942. В обох

штамів біосинтез жирних кислот обмежений негативним впливом вільних жирних кислот на фізіологію клітин. У порівнянні з *S. elongatus* PCC 7942, *Synechococcus* sp PCC 7002 продукував вільні жирні кислоти у тих самих концентраціях, але без згубного впливу на фізіологію. Було виявлено, що PCC 7002 при більш високій температурі, спостерігається зменшення продуктивності фотосинтезу і зниження кількості фотосинтезуючих пігментів. Також були здійснені генетичні маніпуляції для збільшення біосинтезу жирних кислот: додавання тіоестерази та рибулозу-1,5-бісфосфат-карбоксілази і оксигенази (RuBisCO). Надмірна експресія RuBisCO (rbcLS) від промотору psbAI призвела до збільшення кількості вільних жирних кислот втричі (130 мг/л) [17].

В Державному Університеті Арізони створили генетично модифікований штам *Synechocystis* sp. PCC 6803, здатний до надвиробництва жирних кислот за рахунок послаблення S-шару і шарів пептидоглікану клітинної стінки. Штами SD вирощували при 30 °C на середовищі BG-11 при безперервному освітленні потужністю 140 мкмоль/м²/с та подачі повітря збагаченого 1% CO₂ повітрям. Хоча клітини рекомбінантних штамів часто пошкоджували клітинні мембрани в умовах низької щільності клітин, при високій щільності вони швидше зростали клітин в кінці експоненційної і стаціонарної фаз, виявляла менше пошкодження клітин, ніж клітини в культурах дикого типу. Кінцева концентрація жирних кислот у найпродуктивнішого штаму - досягла 197 мг/л [18].

Також зі штамом *Synechocystis* sp. PCC 6803 працювали вчені Інституту Біоенергетики і Технологій Біопереробки Хіньдао (Китай). Вони дослідили зміни в продуктивності жирних спиртів *Synechocystis* sp. PCC 6803 при внесенні в геном гену ацил-КоА-редуктази (maq_2220 штаму *Marinobacter aquaeolei* VT8) та делеції генів які кодують ацил-АСР-синтетазу. При культивуванні на середовищі BG11 при 30°C протягом 12 днів продуктивність досягла 2.87 мг/г сухої маси жирних спиртів [19].

Інша група вчених з даного університету сконструювала мутантні штами на основі дикого штаму *Synechocystis sp. PCC6803*, в геномі яких спостерігається надекспресія або делеція гену *slr1609*, який кодує ацил-АСР-синтетазу). За результатами дослідження, надекспресія гену ацил-АСР-синтетази у дикому штамі *Synechocystis sp. PCC6803* призводить до збільшення кількості жирних спиртів на 60% (19.8 ± 2.3 мкг/л/од порівняно з 12.5 ± 2.0 мкг/л/од) при зниженні виходу вільних жирних кислот і алканів. У випадку делеції ацил-АСР-синтетази кількість вільних жирних кислот подвоїлась, а біосинтез алканів знизився на 90% [20].

Han Min Woo і Hyun Jeong Lee з Університету Сункюнкван і Корейського Інституту науки і технологій вбудували в геном штаму *Synechococcus elongatus* PCC 7942 мутантну гетерологічну фосфокетотлазу для прискорення синтезу ацетил-КоА за рахунок підвищення швидкості фотосинтезу і поглинання CO₂. *S. elongatus* PCC 794 був культивуваний при додаванні 5% (об. / об.) CO₂ через барботер і в присутності 20% (об./об.) гексадекану, що дозволило збільшити біосинтез жирних кислот до $10,0 \pm 0,7$ мг/л/OD730 [21].

Бретт Кайзер і його колеги з різних науково-дослідних установ, надекспресія альдегід-дегідрогенази (*synpcc7942_0489* (*orf0489*)) та ацил-АСР-редуктази перенесена на векторі pET22b+ у геном *Synechococcus elongatus*. цього гену дозволяє синтезувати в 50-100 разів більше жирних кислот за рахунок окиснення алканів. Спільна експресія ацил-АСР-редуктази, алкоголь-дегідрогенази та воскової ефіри-синтази призвела до перетворення жирних альдегідів у воскові ефіри, які накопичувались. Перетворення ацил-АСР на жирні кислоти з використанням ендогенних ціанобактеріальних ферментів може дозволити виробництво біопалива без процесу трансестерифікації [22].

Одним зі способів збільшення виходу жирних кислот є гідроліз мембранних ліпідів. З цією метою Сіньяо Лю і Рой Кьортіс (Університет Арізони, США) вбудували в геном *Synechocystis* гени термостабільних ліпаз

таких мікроорганізмів: *Geobacillus sp. strain T1*, *Thermomyces Lanuginosus*, *Streptomyces lividans*, *Fervidobacterium nodosum Rt17-B1*, *Bacillus stearothermophilus P1*, *Bacillus subtilis strain 168*, *Galactomyces geotrichum Y05*. Найбільше жирних кислот ($42,7 \pm 1,5$ мг/л,) рекомбінантному штаму *Synechocystis SD338* вдалось вивільнити за допомогою ліпази *Fervidobacterium nodosum Rt17-B1* за таких умов: 48 год безперервного культивування у ферментері об'ємом 4 л при 47 °C [23].

Вчені з університету Берклі і Коледжу і природничих наук і інженерії Тонгджі експериментували зі змінами генів тіоестераз TE і AAS, FAR (ацил-ACP-синтетаза) та FAD (карбонілаза жирних альдегідів) *Synechocystis 6803*. Надекспресія Ацил-ACP-редуктази і карбонілази жирних альдегідів призвела до значного збільшення концентрації ліпідів і алканів в клітині. Спостерігається зниження біосинтезу полісахаридів та значне підвищення рівня 16:0 та 18:0 жирних кислот. В той час як інактивація ацил-ACP-синтетази запобігає естерифікації жирних кислот в мембранні ліпіди і призводить до біосинтезу жирних кислот іншого складу там зменшення загального виходу алканів та жирних кислот. Але за умови наявності тіоестерази при одночасному пригніченні гену AAS, кількість вільних жирних кислот збільшується з 0.06% до 2% сухої маси [24].

Вчені з університету Нагої модулюючи рівень експресії тіоестерази протеїнового носія ацил-ацил та підвищуючи інтенсивність світла під час культивування збільшили рівень секреції вільних жирних кислот рекомбінантного штаму *Synechococcus elongatus (dAS1T)*. Кінцева концентрація вільних жирних кислот у зовнішньому середовищі навколо клітин також стала вищою. Знищення гідрофобного шару на поверхні клітин додатково зменшує фотоінгібування, і призводить до збільшення секреції вільних жирних кислот і кінцевої щільності клітин на 50 та 45%. Рекомбінантний штам *Synechococcus elongatus PCC7942 Δwzt* було культивовано при температурі 30°C, безперервному флуоресцентному освітленні, аерації повітрям, доповненням 2% (об/об) CO₂. В якості

поживного середовища було використано середовище BG11 доповнене 15 мМ KNO₃ і 3,75 мМ (NH₄)₂SO₄. Продуктивність рекомбінантний штаму *Synechococcus elongatus* PCC7942 Δwzt становить 2.7 мг/л/г[25]

Оптимізація умов та пошук нових способів культивування є іншим шляхом збільшення продуктивності ціанобактерій[26 - 32].

Патрісія С. М. Да-Рос та співавтори оптимізували умови культивування *Synechococcus* sp. PCC7942. Культуру ціанобактерій культивували на рідкому середовищі BG-11 та при температурі $25 \pm 1^\circ \text{C}$, за умов змінної інтенсивності світла (50–150 мкмоль м/с) та концентрації Na₂CO₃ (0,5–1,5 г/л) протягом 10 днів. При найбільш оптимальних умовах інтенсивності світла становить 150 ммоль, а концентрація Na₂CO₃ становить 1.2 г/л. За даних умов швидкість біосинтезу ліпідів становить 35.9 ± 0.5 мг/л/день, вміст ліпідів $29.0 \pm 2.1\%$ [26].

Одним зі способів підвищення продуктивності ціанобактерій може бути підбір режиму культивування. Дане питання було досліджене вченими з Державного Університету Луїзіани. Спільна культура *Chlorella vulgaris* і *Leptolyngbya* sp. при додаванні ацетату натрію показала продуктивність біомаси - 156 г/м³/д, а продуктивність ліпідів – 24.07 мг/м³/д[27].

Також інтенсивність біосинтезу жирних кислот *Lyngbya* sp. і *Synechococcus* sp. в різних середовищах (ASNIII, морській воді, BG11) досліджували вчені з Університету Анни(Індія). Штами було культивовано в плоскому і трубчастому фотобіореакторі об'ємом 5 і 2,5 літрів відповідно. Реактори були освітлені за допомогою люмінесцентної трубки потужністю 850 лм та світлодіодного освітлення потужністю 1000 лм відповідно. За результатами було визначено, що дефіцит азоту мало впливає на вміст хлорофілу, при цьому стимулюючи біосинтез ліпідів у 1.4 та 1.2% у *Lyngbya* sp. і *Synechococcus* sp. відповідно. Збільшення солоності середовища до 0.5-1.0 М показало збільшення вмісту ліпідів до 2.0 та 0.8%, але солоність 1.5 М має гальмуючий ефект. Загальний вихід біомаси у трубчастих фотобіореакторах з світлодіодним освітленням був порівняно більшим, ніж у

пласкому фотобіореакторі з люмінесцентним освітленням. Найбільший біосинтез жирних кислот – 9% маси клітини було виявлено у *Synechococcus* sp.[28].

Вчені з Університету Патрасу(Греція) дослідили можливості виробництва біодизелю *Leptolyngbya* sp при міксотрофному культивуванні на стічних водах виробництв вина та родзинок. За результатами, найбільші показники очищення стічних вод були зафіксовані при застосуванні сумішей вищезазначених стічних вод (тобто 92.8%, 78.1% та 99%). Одержана після культивування в даних умовах біомаса містила близько 13% сухої маси ліпідів (мас/мас). Але максимальна продуктивність жирних кислот(15.5 мг/л/д) була виявлена на стічних водах винного виробництва[29].

В роботах вчених з Університету Анкари, Університету Джавахарал Нехру та Університету Сан-Пауло було досліджено додавання Na_2CO_3 , NaNO_3 , NaHCO_3 до поживного середовища [6, 12, 20]. Вчені з Університету Мадурай Камарадж, визначили продуктивність штамів *Oscillatoria* sp. 50A та *Synechocystis* sp. NN на середовищі BG-11 у яке додатково вводять бікарбонат натрію, речовин для обробки шкіри, кокосової кірки і в умовах легкого стресу. Максимальна продуктивність ліпідів (2.6 ± 0.4 мг/л/добу) була помічена при додаванні кокосової кірки[30].

Група вчених з Університету Мілану дослідили продуктивність ціанобактерії *Limnothrix* sp. при двох змінних умовах: фотобіореактор і концентрації речовин. *Limnothrix* sp. культивували у двох скляних акваріумах об'ємом 3.5 л зі скляними освітлювальними трубками в товщі рідини та без. Культивування здійснювалось при різних концентраціях NO_3 , NO_2 , PO_4 . За результатами, продуктивність ліпідів вища у фотобіореакторі з освітлювальними трубками там при низьких концентраціях NO_3 , NO_2 , PO_4 . Максимальний біосинтез ліпідів становить 2.7 мг/л/д [31].

Вчені з Королівського Мельбурнського Інституту технологій(Канада) вдвічі збільшили продуктивність нижчі рівні секретуючих FFA, однак вони були в 103 рази вище, ніж рівні секретії FFAs для *Synechocystis* PCC 6803

шляхом культивування разом з нитчастим грибом *Aspergillus fumigatus*. Окремим перспективним способом культивування може бути культивування ціанобактерій разом з іншими мікроорганізмами. Вільні жирні кислоти, які виділяються ціанобактеріями, можуть використовуватись клітинами грибів в якості джерела вуглецю для росту та біосинтезу ліпідів. Конгломерати грибів і ціанобактерій мають більший загальний вихід ліпідів, ніж з монокультур грибів або ціанобактерій[32].

Висновок: на даний момент використовуються три основних шляхи для підвищення продуктивності біосинтезу жирних кислот в клітинах ціанобактерій – генетична інженерія, оптимізація умов та поживного середовища, пошук ефективних немодифікованих штамів. Серед досліджень, присвячених пошуку або створенню продуктивних штамів ціанобактерій для одержання жирних кислот слід відзначити дослідження вчені з Університету Альзари, які дослідили штам *Synechococcus sp.* HS01 який при оптимізації поживного середовища (BG-11 з додаванням 1% страусового жиру і 0.009% NaCl) досягає продуктивності (56.5 мг/л/день). Також, Патрісія С. М. Да-Рос та співавтори досягли продуктивності $35.9 \pm 0,5$ мг/л/день штаму *Synechococcus sp.* PCC7942 шляхом оптимізації умов культивування.

Ключові результати досліджень наведені в *таблиці 1.1*:

Порівняння перспективних ціанобактерій-продуцентів біодизелю

Назва штаму	Показник біосинтезу ліпідів	Склад жирних кислот	
<i>Microcystis aeruginosa</i> <i>NPCD-1</i>	Дані відсутні	Олеїнова – 26.88%	6
		Пальмітинова-24.34%	
		Лауринова – 13.21%	
		Лінолева - 12.53%	
<i>Leptolyngbya sp.</i> <i>ISTCY101</i>	Інтенсивність росту біомаси – 78.9 мг/л/день	Олеїнова – 6.71%	7
		Пальмітинова-16.2%	
		Лінолева – 23.1%	
		Ліноленова – 9.43%	
<i>Synechococcus</i> <i>sp. HS01</i>	56.5 мг/л/день	Пальмітинова - 39.6%	5
		Лауринова – 0.24%	
		Лінолева - 11.18%	
<i>Cyanobacterium</i> <i>sp. IPPAS B-1200</i>	20 мг/л/день	Міристинова – 29 %	9
		Міристолеїнова – 9 %	
		Пальмітинова – 20 %	
		Пальмітолеїнова -39 %	
		Стеаринова – 1 %	
		Олеїнова – 2 %	
<i>Phormidium autumnale</i> <i>VRUC164</i>	18.4% маси клітини	Олеїнова – відс.	10
		Пальмітинова - 40.38%	
		Лауринова – 2.34%	
		Лінолева – 6.64%	
		Ліноленова – 4 %	

<i>Synechococcus sp.</i> PCC7942	14.2 мг/л /день	Олеїнова - 31.5%%	11
		Пальмітинова-23.5%	
		Лауринова – 0,7%	
		Лінолева - 30.5%	
		Ліноленова – 2.9 %	
<i>Synechocystis sp.</i> CACIAM05	Дані відсутні	Олеїнова - 31.5%%	11
		Пальмітинова-23.5%	
		Лауринова – 0,7%	
		Лінолева - 30.5%	
		Ліноленова – 2.9 %	
		Стеаринова - 11.76%	
<i>Calothrix sp.</i> MBDU 013	2.358 мг/л/день	Олеїнова - 1.02%%	12
		Пальмітинова-23.52%	
		Лауринова – 6.92%	
		Лінолева - 7.54 %	
		Ліноленова – відс.	
		Стеаринова - 5.27%	
<i>Nostoc calcicola</i> MBDU 602	3.259 ± 0.211 мг/л/день	Олеїнова - 0.18%%	13
		Пальмітинова-2.97%	
		Лауринова – 1.40%	
		Лінолева - 0.46%	
		Ліноленова – 0.46%	
		Стеаринова - 48.48%	
<i>Synechocystis sp.</i> PCC 6803 SD100	9.7 мг/л/д	Олеїнова – 8.3%	14
		Пальмітинова - 38.3%	
		Лауринова – 5.2%	
		Лінолева - 3.7%	
		Стеаринова - 22.3%	

Продовження таблиці 1.1

Dolichospermum lemmermannii	Дані відсутні	Пальмітинова - 60.9%	15
		Лінолева - 14.5%	
		Ліноленова – 66.5%	
		Стеаринова - 15.4%	
		Олеїнова – 28.0%	
<i>Synechocystis sp.</i> PCC 6803	0.2 мг/г/д	Дані відсутні	17
Synechocystis sp. PCC6803	19.8 ± 2.3 мкг/л/од	Олеїнова – 0.2 мкг/л/од	18
		Пальмітинова - 2.3 мкг/л/од	
		Лауринова - 1 мкг/л/од	
		Лінолева – 0.8 мкг/л/од	
		Стеаринова – 1 мкг/л/од	
<i>Synechococcus sp.</i> PCC7942	10.0 ± 0.7 мг / л / OD730	Дані відсутні	19
<i>Synechococcus sp.</i> PCC7942	2.2 мг/л/день	Дані відсутні	21
Synechocystis sp. PCC6803	2% сухої маси	Пальмітинова - 50%	22
		Стеаринова – 30%	
<i>Synechococcus</i> <i>elongatus</i> PCC7942	2.7 мг/л/г	Дані відсутні	23

Продовження таблиці 1.1

<i>Synechococcus sp.</i> <i>PCC7942</i>	35.9 ± 0.5 мг/л/день	Олеїнова - 36.6%	24
		Пальмітинова - 13.7%	
		Лауринова - відс.	
		Лінолева - 40.1%	
		Ліноленова – 2.3%	
		Стеаринова - 13.2%	
<i>Chlorella</i> <i>Vulgaris i</i> <i>Leptolyngbya sp.</i>	0.024.1 мг/л/день	Дані відсутні	26
<i>Synechococcus sp.</i>	9%	Дані відсутні	27
<i>Leptolyngbya sp.</i>	15.5 мг/л/д	Дані відсутні	28
<i>Synechocystis</i> <i>sp.NN</i>	2.6 ± 0.4 мг/л/день	Олеїнова – 11%	29
		Пальмітинова - 31%	
		Лінолева - відс.	
		Стеаринова - 7%	
<i>Limnothrix sp.</i>	2.7 мг/л/д	Олеїнова - 26%	30
		Пальмітинова - 17%	
		Лауринова – 12.7%	
		Ліноленова – 11%	
		Стеаринова - 10.5%	

1.2. Виробництво біоетанолу за допомогою ціанобактерій

Для одержання біоетанолу шляхом культивування ціанобактерій застосовують виключно генно-модифіковані штами, оскільки немодифіковані клітини не здатні продукувати етанол. Зокрема, в багатьох дослідженнях застосовуються гени бактерії *Zyotomonas mobilis*[38, 39].

Так, вчені Інституту Біоенергетики і Технологій Біопереробки Хіньдао сконструювали мутантний штам бактерії, *Synechocystis sp. PCC6803*, використовуючи гени катаболізму етанолу *Z. mobilis*(плазмід pHZ23). Продуктивність рекомбінантного *Synechocystis Syn-HZ24* становить 212 мг/л/добу[33]. Також вчені масштабування умови культивування *Synechocystis Syn-HZ24* для біосинтезу етанолу при контамінації *Pannonibacter phragmitetus*. На середовищі BG11(180 мМ NaHCO₃), при рН 11.0 та вище і контамінації *Pannonibacter phragmitetus*, інтенсивність біосинтезу етанолу становить 90 мг/л/д[34].

Гени піруват карбоксилази *Z. mobilis* застосували вчені з Університету Лімеріку(Ірландія). Дослідники модифікували даним геном штами *Synechococcus 7002*, *Synechocystis 6803*, *Synechococcus 7942*, *Cyanobacterium aroninum*. Найвищу продуктивність показав *Cyanobacterium aroninum*(0.5 г/л/день)[35].

Вчені з Університету Насьональ дель Сур(Аргентина) створили рекомбінантний штам *Synechocystis sp. PCC 6803*, геном якого модифікований генами піруват декарбоксилази та алкогольдегідрогенази *Z. mobilis* та генами фосфокетотаз slr2132, sll1299 та sll0542. За результатами, продуктивність біоетанолу становить 1.054 ммоль/гДВ/год[36].

Synechocystis sp. PCC 6803, модифікований геном піруват-декарбоксилазу *Z. mobilis* досліджували вчені з Фрейбурзького Університету. При надекспресії піруват-декарбоксилази *Zyotomonas mobilis* і алкогольдегідрогенази *Synechocystis 6803* інтенсивність біосинтезу досягла 0.0338% об'єму культуральної рідини на день[37].

Вчені з університету Упсалли підвищили продуктивність *Synechocystis* PCC 6803 етанолу шляхом надекспресії піруват-декарбоксілази та алкоголь дегідрогенази разом з такими ферментами: рибулоза-1,5-бісфосфат карбоксілаза, оксигеназа, фруктоза-1,6/седогептулоза- 1,7-бісфосфатазу, транкетолазу та альдолазу. Штамм з надекспресією піруват-декарбоксілази (PDC) та дегідрогеназа алкоголю разом з альдолазою синтезував 27.8 мг/л/д[38].

Юнь Нам Чой і Чонг Мун Парк з Пхоханського університету науки і технології визначили, що збільшення синтезу НАДФГ може покращити інтенсивність біосинтезу етанолу в ціанобактерій *Synechocystis* sp. PCC 6803. Для досягнення надмірного синтезу НАДФГ дослідники вбудували в геном *Synechocystis* sp. PCC 6803 ген *zwf*. Живлення 100 мл середовищем BG11 при 30°C при безперервному освітленні 50 моль фотонів/с/м², а 5 мМ глюкози додавали лише для міксотрофної культивування. Продуктивність біосинтезу біоетанолу *Synechocystis* sp. PCC 6803 досягла 42 мг/л/д[39].

Найпродуктивнішим є штам, який розробили дослідники з Університету Осаки, Японія сконструювали *Synechocystis* sp. PCC 6803. Для покращення виробництва етанолу *Synechocystis* sp. PCC 6803 культивували в умовах азотного голодування, що сприяло накопиченню глікогену. Видалення генів, відповідальних за шляхи біосинтезу глікогену та полігідроксibuтирату інтенсифікувало біосинтез етанолу. *Synechocystis* sp. PCC 6803 було культивовано на середовище BG11 без джерела азоту (NaNO₃), при температурі 34 °C при освітленні потужністю 40 і 80 ммоль/м/с. Показники біосинтезу етанолу штаммом *Synechocystis* sp. PCC 6803 становлять 1.08 і 2.01 г/л/д при освітленні 40 і 80 ммоль/м/с умовах відповідно[40].

Висновок: одержання етанолу шляхом промислового ціанобактерій на даний момент значно менш перспективне ніж шляхом культивування дріжджів, тому даний напрямок досліджується менш активно. Найбільшу прокутивність біосинтезу етанолу(42 мг/л/д) одержали Юнь Нам Чой і Чонг

Мун Парк з Пхоханського університету науки і технології, створивши рекомбінантний штам *Synechocystis* sp. PCC 6803 з підвищеним синтезом НАДФГ.

Ключові результати досліджень наведені в *таблиці 1.2*:

Порівняння перспективних ціанобактерій-продуцентів біоетанолу

Назва штаму	Продуктивність	Джерело
<i>Synechocystis Syn-HZ24</i>	212 мг/л/д	33
<i>Synechocystis Syn-HZ24</i>	90 мг/л/д	34
<i>Cyanobacterium aroninum</i>	0.5 г/л/день	35
<i>Synechocystis sp. PCC 6803</i>	54 ммоль/гДВ/год	36
<i>Synechocystis sp. PCC 6803</i>	0.0338%	37
<i>Synechocystis sp. PCC 6803</i>	27.8 мг/л/д	38
<i>Synechocystis sp. PCC 6803</i>	42 мг/л/д	39
<i>Synechocystis sp. PCC 6803</i>	Кінцева концентрація – 2.01 г/л/д	40

1.3. Виробництво біобутанолу шляхом культивування ціанобактерій

В диких штаммах ціанобактерій відсутні метаболічні шляхи біосинтезу бутанолу, тому штамми ціанобактерій-продуцентів бутанолу можливо отримати лише шляхом генетичної модифікації, отже дослідження направлені на пошук генів і векторів, які надають штаммам високу продуктивність.

Так, Джозефіна Анфельт та її співавтори з Біотехнологічної школи Королівського технологічного інституту(Швеція) ввели гени біосинтезу n-бутанолу з геному *Clostridia* і ген ферменту фосфокетолази в мутантний штам *Synechocystis* (з пригніченим біосинтезом полігідроксибутирату). За результатами, за умов недостачі азоту концентрація ацетил-КоА збільшується вдвічі. Введення фосфокетолази в *Synechocystis* PCC 6803 за достатнього рівню азоту підвищило рівень ацетил-КоА в шість разів та підвищило концентрацію бутанолу. Штам *Synechocystis* sp. PCC 6803 культивували в 24-лункових планшетах, закритих плівкою з метою мінімізації випаровування бутанолу. Умови культивування: BG-11 зі зменшеною кількістю нітратів, BG-11 зі зменшеною кількістю фосфатів, BG-11 доповнене 50 мМ NaHCO₃; температурі 28°C, освітленості 50 мкЕ/с/м² і збагаченні CO₂ 1% об/об. Рівень ацетил-КоА в клітинах підвищився в шість разів, кінцевий титр бутанолу становив 37 мг/л [41].

Інший мутантний штам сконструювали Мега Фатіма та співавтори з Вищої Школи Інженерії(Японія). В цьому дослідженні був використаний новий штам *Synechococcus elongatus* PCC 7942(DC11) з поліпшеною активністю ферменту PduPBUOHSE. Мутантна CoA-ацилюючої пропіональдегіддегідрогеназою(PduPBUOHSE) каталізує перетворення бутаноїл-КоА до бутаналу. Результати показали зниження рівня бутаноїл-КоА та підвищення рівня ацетил-КоА. Для збільшення концентрації ацетил-КоА і 1-бутанолу, в геном *Synechococcus elongatus* PCC 7942(DC11) був введений ген, що кодує субодиницю ACCase з *Yarrowia lipolytica* в сайт aldA, що призведе до надекспресії ацетил-КоА карбоксилази(ACCcase).

Synechococcus elongatus PCC 7942(DC11) було культивовано при 30°C, постійному освітленні потужністю 50 мкмоль/фотон/м². Рідкі культури були вирощені у модифікованому середовищі BG-11, що містить 50 мМ NaHCO₃. Мутантний штам *Synechococcus elongatus* PCC 7942(DC11) досяг кінцевого титру бутанолу 418.7 мг/л за 12 днів[42].

Рекомбінантний штам *Synechocystis* PCC 6803 розробили Ксюфень Лю, Руй Мяо, Пія Ліндберг і Пітер Лінблад(Університет Упсалли). Введенням шляху біосинтезу бутанолу була досягнута кінцева концентрація бутанолу 4,8 г/л при інтенсивності біосинтезу 302 мг/л/день[43].

Вчені з Університету Осаки дослідили шляхи біосинтезу 1-бутанолу рекомбінантного штаму *Synechococcus elongatus* PCC 7942 з метою виявлення обмежувальних факторів при перетворенні ацетил-КоА на 1-бутанол. За результатами, сповільнюючим фактором є відновна реакція перетворення бутаноїл-КоА у бутаналь[44].

Висновок: кількість досліджень з одержання бутанолу шляхом культивування ціанобактерій порівняно невелика. Найбільш продуктивний штам(302 мг/л/день) створили вчені з Університету Упсалли, ввівши в геном *Synechococcus elongatus* PCC 7942 ферменти для біосинтезу бутанолу.

Ключові результати досліджень наведені в *таблиці 1.3*:

Порівняння перспективних ціанобактерій-продуцентів біоетанолу

Назва штаму	Продуктивність	Джерело
<i>Synechocystis sp. PCC 6803</i>	37 мг/л/д	41
<i>Synechococcus elongatus PCC 7942</i>	34.9 мг/л/д	42
<i>Synechocystis PCC 6803</i>	302 мг/л/день	43

ТЕХНОЛОГІЧНА ЧАСТИНА

РОЗДІЛ 2. ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБГРУНТУВАННЯ ВИРОБНИЦТВА

2.1. Розрахунок потреби у цільовому продукті

Найперспективнішими видами біопалив є біодизель, біоетанол та біобутанол. Сировиною для виробництва біопалива можуть бути продукти переробки кукурудзи, олії, цукру. Але, зважаючи на ряд недоліків, замінювати нафтопродукти біопаливом, виробленим з рослинної сировини не ефективно. Альтернативою є виробництво біопалива біотехнологічним шляхом.

Перспективним напрямом біотехнологічного виробництва біопалива є культивування ціанобактерій через відсутність потреби в джерелі вуглецю в складі поживного середовища.

Але, на даний момент в Україні відсутнє виробництво біодизелю з ціанобактерій як сировини, а одержаний з рослинної сировини біодизель майже не споживається. Найбільш перспективним методом впровадження біопалива в Україні можуть бути невеликі виробничі ділянки для забезпечення окремих виробництв установками для культивування ціанобактерій для виробництва біопалива.

За даними державної служби статистики, споживання дизельного палива в Київській області – 314 200 т/рік[45]. Коефіцієнт споживання біопалива в Україні відносно традиційного палива - 0.05%[46]. Отже споживання біодизелю на Київську область становить:

$$314\,200 \times 0.0005 = 157.1 \text{ тонн на рік}$$

Зважаючи на низьку зацікавленість населення і низьку державну підтримку використання біопалива, візьмемо 0.1% від об'єму:

$$157.1 \text{ т} \times 0.001 = 0.157 \text{ т, тобто } 157 \text{ кг}$$

					<i>НУХТ БТЕК 02. 02. 01 КП ПЗ</i>			
<i>Зм</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ документа</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>	<i>Розділ 2. Техніко-економічне обґрунтування виробництва</i>	<i>Літера</i>	<i>Аркуш</i>	<i>Аркушів</i>
<i>Розробник</i>		Гайдай Я.О.						
<i>Керівник</i>		Слободян О.П..						
<i>Н. контр</i>								
<i>Консульт</i>								
<i>Зав. Каф.</i>		Пирог Т. П.				<i>Кафедра БТМ</i>		

Відсоток виходу біодизелю при трансестерифікації жирних кислот - 98%. Отже, кількість жирних кислот, яку необхідно отримати для одержання 157 кг біодизелю становить:

$$157 + (157 \times 0.02) = 160.2 \text{ кг/рік}$$

Кількість культуральної рідини становитиме:

$$160.2 \text{ кг} - x$$

$$0,0000565 \text{ кг/л} - 1$$

$$X = 2835.4 \text{ м}^3 \text{ культуральної рідини на рік.}$$

Приймаємо кількість робочих трудоднів (Трд) 300, тоді кількість продукту на добу (Vд) становитиме:

$$V_d = 2835.4/300 = 9.45 \text{ м}^3.$$

Кількість продукту за цикл (Vкр) буде становити:

$$V_d = 9.45 \times 58/24 = 22,9 \text{ м}^3.$$

Об'єм КР, що зливається за одну ферментацію (цикл) з урахуванням втрат при виділенні Есв, м³

$$V_{кр} = 1.2 \times 22.9 \times 1/1 \times (1) = 27.5 \text{ м}^3/\text{цикл}$$

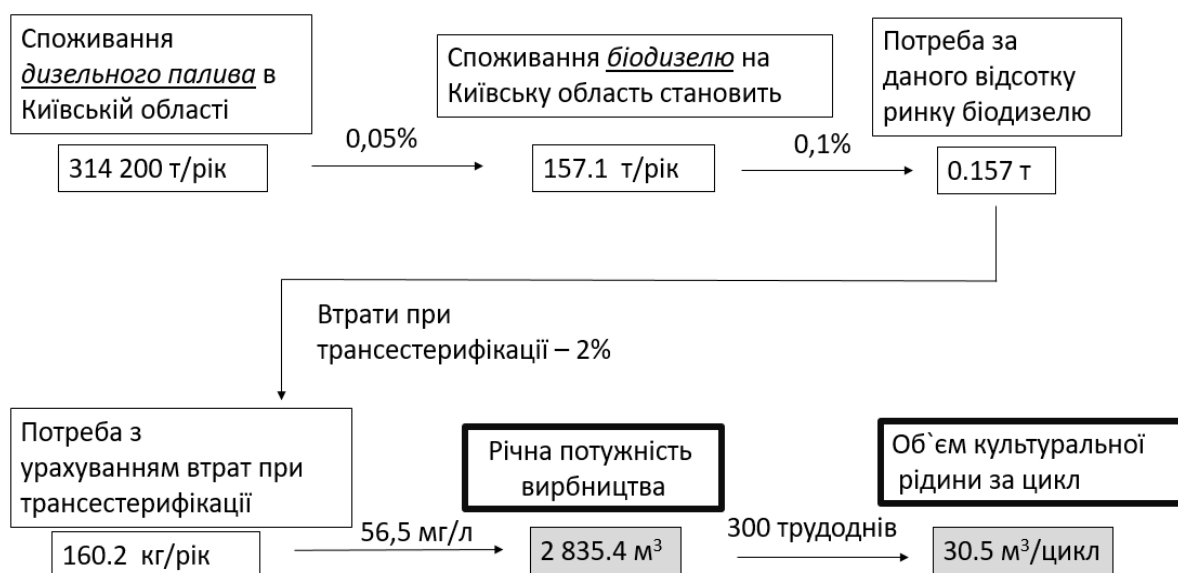


Рис. 2.1. Узагальнена схема розрахунку культуральної рідини для біосинтезу жирних кислот *Synechococcus* sp. HS01

2.2. Розрахунок етапів культивування і об'ємів інокуляту

Отже, за один виробничий цикл буде отримано 27.5 м^3 культуральної рідини. При розрахунку об'єму ферментера потрібно врахувати втрати внаслідок краплевиносу через колектор відпрацьованого повітря. Припустимо, що втрати становлять 10%. У такому разі, кількість поживного середовища та посівного матеріалу перед виробничим біосинтезом становитиме:

$$V_{\text{роб.1}} = 27/(1-0.1) = 30.5 \text{ м}^3$$

Кількість посівного матеріалу для ферментера становить 10 % від об'єму поживного середовища. Тоді кількість поживного середовища в ферментері буде становити:

$$V_{\text{пс1}} = 30.5/(1+0.1) = 27.72 \text{ м}^3$$

Кількість посівного матеріалу становить:

$$V_{\text{пм1}} = 30\ 500 - 27720 = 2780 \text{ л}$$

Для одержання 2780 л інокуляту у посівному апараті враховуємо втрати у результаті краплевиносу через колектор відпрацьованого повітря, які становлять від 11 %. Тоді кількість поживного середовища та посівного матеріалу в посівному апараті становитиме:

$$V_{\text{роб.2}} = 2780/(1-0.10) = 3088 \text{ л}$$

Кількість посівного матеріалу становить 10% від об'єму поживного середовища. Тоді кількість поживного середовища в посівному апараті буде становити:

$$V_{\text{пс2}} = 3088/(1+0.1) = 2807 \text{ л}$$

Кількість посівного матеріалу для посівного апарату становить:

$$V_{\text{пм2}} = 3088 - 2807 = 281 \text{ л.}$$

Для одержання 281 л посівного матеріалу в інокуляторі враховуємо втрати у результаті краплевиносу через колектор відпрацьованого повітря, які становлять від 11%. Тоді кількість поживного середовища та посівного матеріалу перед культивуванням в інокуляторі становитиме:

$$V_{\text{роб.3}} = 281/(1-0.10) = 312 \text{ л.}$$

Кількість поживного середовища в інокуляторі буде дорівнювати:

$$V_{пс3} = 312 / (1 + 0.1) = 284 \text{ л}$$

Кількість посівного матеріалу для інокулятора становить:

$$V_{пм3} = 312 - 284 = 28 \text{ л}$$

Для одержання 28 л посівного матеріалу в малому інокуляторі враховуємо втрати в результаті краплевиносу. Тоді кількість поживного середовища та посівного матеріалу перед культивуванням в малому інокуляторі становитиме:

$$V_{роб.4} = 28 / (1 - 0.10) = 31 \text{ л}$$

Кількість поживного середовища в малому інокуляторі буде становити:

$$V_{пс4} = 31 / (1 + 0.1) = 28,2 \text{ л}$$

Кількість посівного матеріалу становить:

$$V_{пм4} = 31 - 28,2 = 2,8 \text{ л.}$$

Для одержання 2,8 л посівного матеріалу в малому інокуляторі враховуємо втрати в результаті краплевиносу. Тоді кількість поживного середовища та посівного матеріалу перед культивуванням в малому інокуляторі становитиме:

$$V_{роб.5} = 2,8 / (1 - 0.10) = 3,1 \text{ л}$$

Кількість поживного середовища в малому інокуляторі буде становити:

$$V_{пс5} = 3,1 / (1 + 0.1) = 2,8 \text{ л}$$

Кількість посівного матеріалу становить:

$$V_{пм5} = 3,1 - 2,8 = 0,3 \text{ л.}$$

Кількість інокуляту для засіву малого інокулятора $V_{пм4} = 0,3$ л можна одержати культивуванням у колбах на качалці. Об'єм качалочних колб $V_{колб} = 750$ мл, коефіцієнт заповнення $K_{зк} = 0,15$. Кількість колб для отримання посівного матеріалу становитиме:

$$N_{колб} = 300 / 750 \cdot 0,15 = 2,75 \text{ прийmemo } 3.$$

Таким чином, для одержання посівного матеріалу необхідно 3 качалочні колби. Процес одержання посівного матеріалу для забезпечення виробничого біосинтезу ліпідів у виробничому ферментері буде проходити у 4 етапи:

- 1) Одержання 0.3 л культуральної рідини
- 2) Одержання 2.8 л культуральної рідини
- 3) Одержання 31 л культуральної рідини
- 4) Одержання 312 л культуральної рідини
- 5) Одержання 3088 л культуральної рідини

РОЗДІЛ 3. ОБГРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ

3.1. Вибір біологічного агента та поживного середовища

3.1.1. Порівняння біологічних агентів-продуцентів жирних кислот для виробництва біодизеля

Основною проблемою виробництва біодизеля шляхом культивування ціанобактерій є недостатня продуктивність біологічних агентів і як наслідок, низька прибутковість виробництва. З цієї причини вибір продуцента є одним з найважливіших етапів проектування. При виборі вирішальними є два фактори: продуктивність і якісний склад жирних кислот.

З метою вибору найоптимальнішого біологічного агента, необхідно здійснити їх порівняльну характеристику. Порівняння здійснюється у чотири етапи:

- 1) Порівняння основних особливостей одержання біодизелю на основі біомаси ціанобактерій;
- 2) Порівняння вартості компонентів поживного середовища для культивування ціанобактерій;
- 3) Узагальнююче порівняння ціни на 1 одиницю продукції;
- 4) Порівняння складу жирних кислот в клітині.

У таблицях 3.1, 3.2, 3.3, 3.4, наведено основні дані відповідно до чотирьох штамів ціанобактерій – продуцентів ліпідів *Cyanobacterium* sp. *IPPAS B 1200*, *Synechococcus* sp. *PCC7942*, *Synechococcus* sp. *HS01* [9, 24, 5].

Усі наведені штами ціанобактерій культивуються за схожих умов: температура 25 – 35 °С, чергування періодів наявності/відсутності освітлення з інтервалом 12-14 год, поживне середовище - BG-11(при різній концентрації компонентів). Отже, вибір продуцента буде заснованим виключно на продуктивності та якісному складі жирних кислот. Відповідно до даних в табл. 3.3 і найнижчу ціну одного міліграма цільового продукту має штам

					<i>НУХТ БТЕК 02. 02. 01 КП ПЗ</i>			
<i>Зм</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ документа</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>	Розділ 3. Обґрунтування вибору технологічної схеми	<i>Літера</i>	<i>Аркуш</i>	<i>Аркушів</i>
<i>Розробник</i>		<i>Гайдай Я.О.</i>						
<i>Керівник</i>		<i>Слободян О.П.</i>					<i>33</i>	<i>41</i>
<i>Н. контр</i>						<i>Кафедра БТМ</i>		
<i>Консульт</i>								
<i>Зав. Каф.</i>		<i>Пирог Т. П.</i>						

Synechococcus sp. HS01. Відповідно до даних про склад жирних кислот(табл 3.4), *Synechococcus sp. HS01* має більший відсоток необхідних для виробництва біодизелю кислот, ніж інші штами. Зважаючи на усі показники, які враховуються при виборі і культивуванні біологічного агента, перевагу слід надати *Synechococcus sp. HS01*.

Таблиця 3.1

Основні особливості культивування ціанобактерій для одержання жирних кислот

Біологічний агент	Склад поживного середовища, г/л	Тривалість культивування, год	Продуктивність біосинтезу ліпідів мг/л/день	Особливості процесу біосинтезу	Використана література
Cyanobacteriu m сп. IPPAS B-1200	NaHCO ₃ , 16.8; K ₂ HPO ₄ ×3H ₂ O, 1; NaNO ₃ , 2.5; K ₂ SO ₄ , 1; NaCl, 1.0; MgSO ₄ ×7H ₂ O, 0.2; CaCl ₂ × 2H ₂ O, 0.027; H ₃ BO ₃ , 2.86; MnCl ₂ × 4H ₂ O, 1.81; ZnSO ₄ × 7H ₂ O, 0.22; CuSO ₄ × 5H ₂ O, 0.08; MoO ₃ , 0.015; NH ₄ VO ₃ , 0.023; K ₂ Cr ₂ (SO ₄) ₄ × 4H ₂ O, 0.096; NiSO ₄ × 7H ₂ O, 0.048; Na ₂ WO ₄ × 2H ₂ O, 0.018; Ti ₂ (SO ₄) ₃ , 0.040; Co(NO ₃) ₂ × 6H ₂ O, 0.044.1 Fe + EDTA, 1	48	20	30°C.	9

Продовження таблиці 3.1

<p>Synechococcus sp. PCC7942</p>	<p>NaNO₃, 140 K₂HPO₄, 40 MgSO₄×7H₂O, 7.5 CaCl₂×2H₂O, 3.6 Лимонна кислота×H₂O, 0.6 Na₂EDTA×2H₂O, 0.1 Na₂CO₃, 2 H₃BO₃, 2,86 MnCl₂×4H₂O, 1,81 ZnSO₄×7H₂O, 0,22 Na₂MoO₄×2H₂O, 0,39 CuSO₄×5H₂O, 0,079 Co(NO₃)₂×6H₂O, 49,9 л</p>	<p>48</p>	<p>35.9 ± 0.5</p>	<p>25°C, інтенсивність освітлення - 40 мкмоль/м/с</p>	<p>24</p>
------------------------------------------	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----------	-------------------	---------------------------------------------------------------	-----------

<p><i>Synechococcus</i> <i>sp. HS01</i></p>	<p>NaNO₃, 1.5; MgSO₄×7H₂O, 0.075; CaCl₂×2H₂O, 0.036; Лимонна кислота, 0.006; H₃BO₃, 0.00286; MnCl₂×4H₂O, 0.00181; Na₂MoO₄×2H₂O, 0.00039 CuSO₄×5H₂O, 0.000079 ZnSO₄×7H₂O, 0.000222; Co(NO₃)₂×6H₂O 0.000049; Na₂CO₃, 0.020; KH₂PO₄, 0.0305; Na₂-EDTA, 0.010; Страусовий жир, 0.01 NaCl, 0.00009</p>	48	56.5	25–27 °C	5
-------------------------------------------------	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----	------	----------	---

Таблиця 3.2

Ціна компонентів для приготування 1 літру поживного середовища

	Компонент поживного середовища, г/л	Ціна компонента, грн/кг	Вартість компонента (грн.) на 1 л середовища	Джерело
Cyanobacterium sp. IPPAS B-1200	NaHCO ₃ , 16.8,	12	0.33	1
	K ₂ HPO ₄ ×3H ₂ O, 1;	49	0.05	1
	NaNO ₃ , 2.5;	19,65	0.05	1
	K ₂ SO ₄ , 1;	20	0.02	2
	NaCl, 1;	5.20	0.0052	2
	MgSO ₄ ×7H ₂ O, 0.2;	65	0.0013	2
	CaCl ₂ × 2H ₂ O, 0.027;	18,4	0,00005	1
	H ₃ BO ₃ , 2.86;	23	0,7	1
	MnCl ₂ × 4H ₂ O, 1.81;	375	0.67	1
	ZnSO ₄ × 7H ₂ O, 0.22;	80	0.017	1
	CuSO ₄ × 5H ₂ O, 0.08;	67	0.005	1
	MoO ₃ , 0.015:	260	0.04	1
	NH ₄ VO ₃ , 0.023;	900	0.02	
	K ₂ Cr ₂ (SO ₄) ₄ × 4H ₂ O, 0.096;	28	2.7	2
	NiSO ₄ × 7H ₂ O, 0.048;	265	0.12	1
	Na ₂ WO ₄ × 2H ₂ O, 0.018;	390	0.07	2
	Ti ₂ (SO ₄) ₃ , 0.040;	2 542	101	2
Co(NO ₃) ₂ × 6H ₂ O, 0.044;	650	0.28	1	
Fe + EDTA, 1;	169	1.69	1	
Вартість 1 л середовища – 107,8 грн				

Продовження таблиці 3.2

<i>Synechococcus</i> <i>s sp.</i> PCC7942	NaNO ₃ , 140;	19,65	2,3	1
	K ₂ HPO ₄ , 40;	49	1,96	2
	MgSO ₄ ×7H ₂ O, 7.5;	65	0.48	1
	CaCl ₂ ×2H ₂ O, 3.6;	18,4	0.066	2
	Лимонна кислота, 0.6;	22	0.013	2
	Na ₂ EDTA×2H ₂ O, 0.1;	72	0.007	1
	Na ₂ CO ₃ , 2;	10	0.02	1
	H ₃ BO ₃ , 2.86;	23	0.07	1
	MnCl ₂ ×4H ₂ O, 1.81;	375	0.67	1
	ZnSO ₄ ×7H ₂ O, 0.22;	80	0.017	1
	Na ₂ MoO ₄ ×2H ₂ O, 0.39;	550	0.21	2
	CuSO ₄ ×5H ₂ O, 0.079;	67	0.05	1
Вартість 1 л середовища – 5,85 грн				
<i>Synechococcus</i> <i>sp. HS01</i>	NaNO ₃ , 1.5;	19,65	0.029	1
	MgSO ₄ ×7H ₂ O, 0.075;	65	0.0048	2
	CaCl ₂ ×2H ₂ O, 0.036;	18,4	0,0006	2
	Лимонна кислота, 0.006;	22	0,00013	1
	H ₃ BO ₃ , 0.00286;	23	0,000065	1
	MnCl ₂ ×4H ₂ O, 0.00181;	375	0,00067	1
	Na ₂ MoO ₄ ×2H ₂ O, 0.00039	550	0,00021	2
	CuSO ₄ ×5H ₂ O, 0.000079	67	0,0000053	1
	ZnSO ₄ ×7H ₂ O, 0.000222;	80	0,000017	1
	Co(NO ₃) ₂ ×6H ₂ O 0.000049;	650	0,000032	1
	Na ₂ CO ₃ , 0.020;	10	0,00002	1
	KH ₂ PO ₄ , 0.0305;	49	0,00149	1
	Na ₂ -EDTA, 0.010;	72	0,000072	2

	Страусовий жир, 0.01	468	4,9	2
	NaCl, 0.00009	1.1	0,00001	1
	Вартість 1 л середовища – 6,3 грн			

Примітка.* - Ціни наведено станом на листопад 2019 р. Джерела: 1 - -

1 - <https://prom.ua>; 2 - <https://russian.alibaba.com/>; 3 - <http://www.molbase.com>

Таблиця 3.3

Умовна вартість 1 мг ліпідів при культивуванні *Cyanobacterium* sp. IPPAS B1200, *Synechococcus* sp. PCC7942, *Synechococcus* sp. HS01

Біологічний агент	Вартість 1 л середовища, грн	Концентрація ліпідів, мг/л/день	Умовна вартість цільового продукту, грн/г
<i>Cyanobacterium</i> sp. IPPAS B-1200	107.8	20	53.9
<i>Synechococcus</i> sp. PCC7942	5.85	35.9 ± 0.5	1.6
<i>Synechococcus</i> sp. HS01	6.3	56.5	1.1

Таблиця 3.4

Склад жирних кислот штамів *Cyanobacterium* sp. IPPAS B 1200, *Synechococcus* sp. PCC7942, *Synechococcus* sp. HS01

Біологічний агент	Жирні кислоти, % сухої маси				
	пальмітинова	стеаринова	олеїнова	ліноленова	лінолева
<i>Cyanobacterium</i> sp. IPPAS B-1200	7.23%	48.5%	0.18%	0.87%	0.46%
<i>Synechococcus</i> sp. PCC7942	13.2 ± 2.3%	5.9 ± 1.8%	36.6±1.6 %	40.1± 1.9%	2.3±0.8 %

Продовження таблиці 3.4

Synechococcus sp. HS01	38.3%	22.3	8.3%	-	3.7%
-----------------------------------	-------	------	------	---	------

Зважаючи на усі показники, які враховуються при виборі і культивуванні біологічного агента, перевагу слід надати *Synechococcus sp. HS01*.

3.2. Обґрунтування способу культивування

При виборі ферментера, який буде використовуватися для одержання ліпідів культивуванням *Synechococcus sp. HS01*, необхідно визначити ключові умови проведення процесу. Ці умови безпосередньо залежать від способу фізіолого-біохімічних особливостей ціанобактерій.

3.2.1. Освітлення:

Товщу рідини в фотобіореакторі можна умовно послідовно поділити на три зони:

- 1 Зона сильного освітлення, яка поширюється від стіни ферментера до останньої точки, у якій світла достатньо для росту клітин з максимальною швидкістю;
- 2 Слабка зона освітлення, яка закінчується в останній точці, у якій надходження світла відповідає енергетичним потребам клітини.
- 3 Темна зона, в якій доступ світла недостатній для росту клітин[47].

Отже, чим більший діаметр біореактора, тим більше клітин не отримуватимуть достатню для активного фотосинтезу кількість світла. З іншого боку, ціанобактеріям для синтезу НАДФ і запобігання надмірному синтезу оксидантів потрібне чередування періодів освітленості і темряви. Отже, необхідно забезпечити даний цикл в процесі культивування[47].

При виборі фотобіореактора необхідно врахувати явище пригнічення росту фотосинтезуючих організмів надмірною кількістю світла – фотоінгібування. Пошкодження від фотоінгібування можуть бути як оборотними так і незворотними. Але висока швидкість росту клітин спостерігається саме при підвищеному поглинанні світла[48]. Отже,

освітлення має бути інтенсивним, але недостатньо потужним для інгібування клітин, а фотобіореактор має бути сконструйований так, щоб зона сильного освітлення була якнайбільшою, отже потрібне високе відношення площі внутрішньої поверхні реактора до його об'єму[47].

3.2.2 Змішування і масообмін

При культивуванні ціанобактерій, змішування необхідне не тільки для забезпечення рівномірного розподілу речовин і масопередачі у товщі культуральної рідини, а також для запобігання осіданню і нагромадженню клітин на стінках фотобіореактора, забезпечення одержання однакової дози світла кожною клітиною. Одночасно, змішування забезпечує цикл світла/темряви за рахунок переміщення клітин між сильною і слабкою зонами освітлення. Однак надмірна швидкість рідини може призвести до пошкодження клітин[47].

Змішування в фотобіореакторах залежно від конструкції може забезпечуватись барботером, насосом, механічним перемішуванням або комбінацією цих методів[47, 48].

3.2.3. Постачання повітря

Основним джерелом вуглецю для життєдіяльності ціанобактерій є вуглекислий газ, тому його постачання є ключовим фактором при культивуванні ціанобактерій. Системи постачання повітря залежить від типу конструкції фотобіореактора[47].

3.2.4. Кислотність

Стабільний рН в культурі водоростей є одним з найважливіших факторів, який слід враховувати, оскільки різкі зміни рН можуть спричинити пошкодження клітин, зміни складу клітин або забруднення культури іншими видами. Як видно з огляду літератури, основною причиною зміни рН є утворення H_2CO_3 з реакції рівноваги між водою та CO_2 [47].

3.2.6. Температура

Температура є фактором, від якого залежить такі показники, як розчинність речовин всередині фотобіореактора і біохімічні реакції в

клітинах, а отже - максимальна швидкість росту ціанобактерій. Тому фотобіореактор необхідно забезпечити засобами для підтирання сталої температури[47].

Обґрунтування вибору фотобіореактора.

Порівняльну характеристику різних типів фотобіореакторів наведено у табл. 3.5.

Таблиця 3.5.

Порівняння типів фотобіореакторів

	Переваги	Недоліки	Джерела
Вертикальний трубчастий фотобіореактор	<ul style="list-style-type: none"> - Перемішування забезпечується подачею повітря - Порівняно велика доступна площа поверхні для освітлення. 	<ul style="list-style-type: none"> - Проблеми з масообміном; - Градієнти CO₂ і O₂ та pH через недостатньо активний масообмін - Утворення біоплівки на стінках - Потребує значної площі; - Труднощі в підтриманні температури; 	47, 49, 50
Ейрліфтний колонний фотобіореактор	<ul style="list-style-type: none"> - Низька вартість; - Задовільні тепло- і масообмін; - Ефективне вивільнення O₂ та залишкової газової суміші за рахунок барботування газової суміші. - Легкість стерилізації; - Низьке напруження зрізу; 	<ul style="list-style-type: none"> - Обмежене проникнення світла всередину апарату та можливість утворення біоплівки на стінках колонки. - Труднощі в підтриманні температури; 	4, 47, 49, 50

Таблиця 3.5.

<p>Плаский ейрліфтний фотобіореактор</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Висока проникність світлових променів - Порівняно висока продуктивність - Порівняно ефективне перемішування 	<ul style="list-style-type: none"> - Складнощі при масштабуванні; - Складнощі при контролі температури; - Гідродинамічний стрес для деяких штамів водоростей; - Зпінювання поживного середовища 	<p>4, 47, 49, 50</p>
<p>Горизонтальний трубчастий фотобіореактор</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Висока проникність світлових променів - Висока продуктивність - Ефективне перемішування і масообмін - Широкі можливості масштабування 	<ul style="list-style-type: none"> - Зпінювання поживного середовища - Складність контролювання температури - Обмеження доступу світла у великомасштабних апаратах - Різниці у ефективності змішування на різних ділянках 	<p>4, 47, 49, 50, 51</p>
<p>Спіральний трубчастий фотобіореактор</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Відносна дешевизна; - Велика площа освітлення; - Висока проникність світла; - Відносно висока продуктивність 	<ul style="list-style-type: none"> - Утворення плівки на поверхні - Труднощі в масштабуванні - Використання великої площі 	<p>47, 50</p>
<p>Stirred tank photobioreactor</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Порівняно ефективне перемішування - Ефективний контроль температури 	<ul style="list-style-type: none"> - Низька проникність світла - Низька ефективність фотосинтезу 	<p>50</p>

Таблиця 3.5.

Пластикові мішки	- Низька вартість.	- Неможливість ефективного перемішування. - Пластикові мішки можуть розірватись. - Короткий термін служби мішків - Необхідність утилізувати велику кількість пластику	47
------------------	--------------------	--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

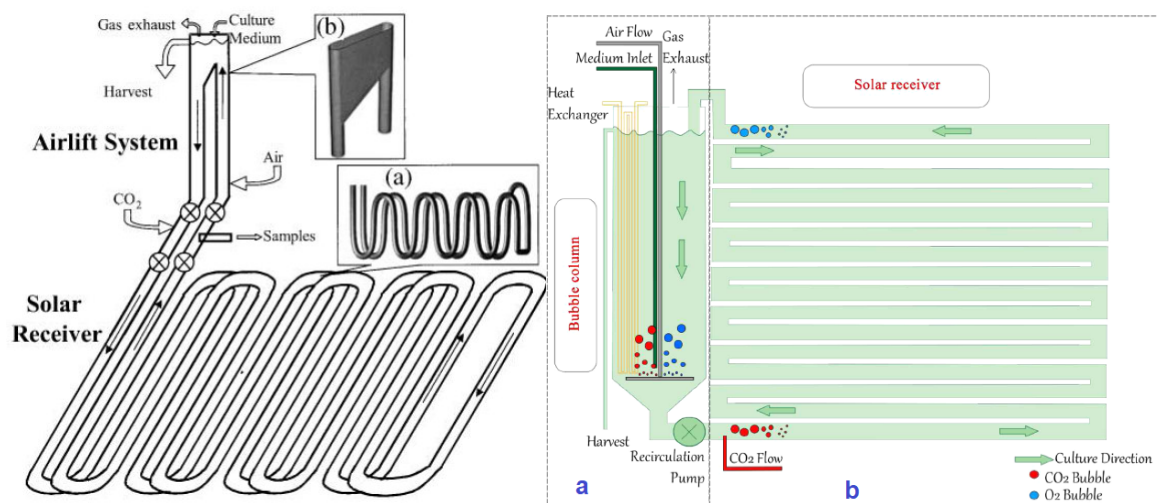
Отже, зважаючи на наведене вище порівняння типів фотобіореакторів, найдоцільнішим буде обрати вертикальний трубчастий ейрліфтний фотобіореактор. Вирішальними при цьому є такі фактори:

- Простота масштабування. При максимальному зменшенні кількості біореакторів простіше забезпечувати дотримання умов біосинтезу, спрощення управління та обслуговування виробництва.
- Можливість забезпечити доступ світла по усій товщі рідини за рахунок високого відношення освітлюваної площі до діаметру трубок реактора.
- Можливість забезпечити ефективне перемішування за рахунок подачі повітря.
- Дешевизна конструкції.

3.3. Обґрунтування конструкції фотобіореактора

3.3.1. Конструкція трубчастого ейрліфтного фотобіореактора

Трубчасті фотобіореактори утворюються циклічною послідовністю скляних труб, яку замикає ейрліфтна колонна. Паралельні труби, об'єднаних у секції, які в свою чергу можуть бути розташовані горизонтально або вертикально. Конструкцію трубчастого ейрліфтного біореактора зображено на *рисунку 3.1.*[52].



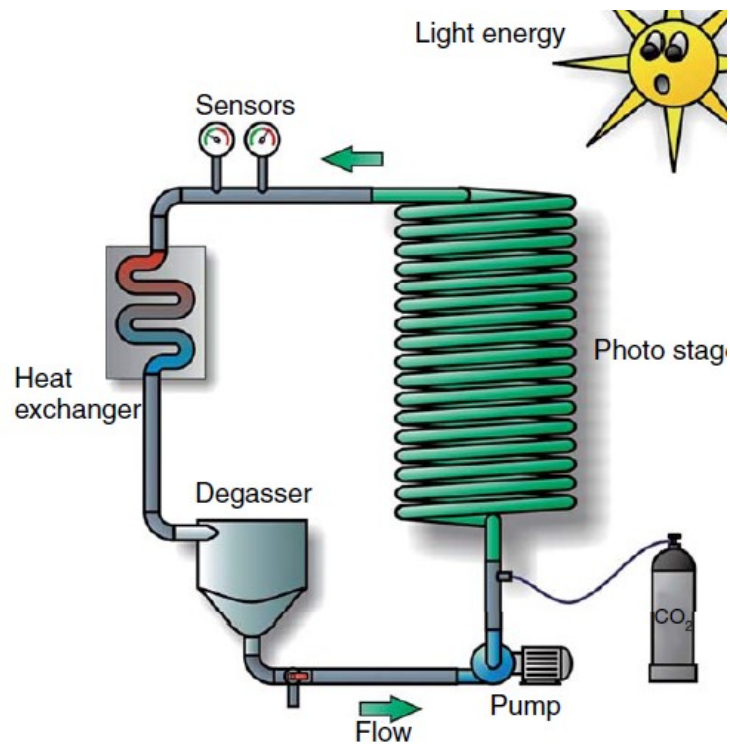


Рис 3.1. Конструкція трубчастого фотобіореактора.

а – прозорі труби, якими циркулює культуральна рідина; б – ейрліфтна колона [49, 52, 53].

У вертикально-розташованому трубчастому фотобіореакторі труби розташовані зверху одна на одній за допомогою вертикальних стійок. Перевага подібної конструкції – можливість збільшити кількість труб на одиницю площі[47].



Рис 3.2. Конструкція трубчастого фотобіореактора[54]

Рідина рухається з нижньої частини колони через секцію труб до верхньої частини колони, у якій знаходиться дегазатор.

Початком-кінцем циклу є ейрліфтна дегазаційна колона. Вона відповідає за циркуляції культури за рахунок подачі повітря. Кисень накопичений в результаті фотосинтезу відділяється через дегазатор, коли рідина повертається до ейрліфтної частини. Басейн з рідиною або суспензією у верхній частині стояка і вниз в трубах, що забороняються, запобігає потрапляння газових бульбашок[4, 55].

Отже, Вертикальний трубчастий ейрліфтний фотобіореактор для культивування *Synechococcus sp. HS01* матиме такі параметри:

1) Діаметр труб:

Зовнішній діаметр труб обраного типу фотобіореактора може складати 2.5 - 14 см. Оберемо $D = 6.74$, зважаючи на необхідність забезпечити проникність світла в товщу культуральної рідини одночасно з необхідністю масштабування ферментера[48].

2) Довжина циклічної частини:

Довжина труб даного типу фотобіореактора – не більше 1200 м[48]. Через необхідність у масштабуванні фотобіореактора обраємо найбільшу довжину труб – 1200 м[4].

3) Аерація:

Відповідно до джерел, швидкість подачі в апараті довжиною 1200 м становить 1 м/с. Для збільшення продуктивності в повітря буде збагачуватись CO₂ у концентрації 2%[48].

4) Регуляція температури:

Для забезпечення температури 26°C на ділянці труби перед дегазаційною колоною встановлено теплообмінник типу труба-в-трубі.

5) Швидкість потоку культуральної рідини:

Ефективне перемішування в трубчастому фотобіореакторі забезпечується швидкість потоку рідини між 0.3 і 0.6 м/с. Отже для більш ефективного перемішування швидкість потоку становитиме – 0.6 м/с[55].

б) Кислотність:

Оптимальна кислотність для культивування *Synechococcus sp. HS01* – рН 7. Регулювання кислотності здійснюватиметься шляхом підкислення або підлужнення за допомогою HCl або NaOH відповідно.

7) Забезпечення освітлення:

Для забезпечення цілодобового процесу фотосинтезу в клітинах *Synechococcus sp. HS01* в темний час доби освітлення фотобіореакторів буде забезпечене світлодіодними лампами потужністю 70 μ моль/м/с[5].

Також для забезпечення ефективного контролю за умовами культивування фотобіореактор буде обладнаний:

1. термометром (для контролю температури);
2. датчиками контролю рО₂;
3. газоаналізатором (для контролю кількості СО₂);
4. датчиком контролю рН;
5. розміщені порти (для відбору проб);

6. датчики контролю рівня піни;
7. датчики контролю тиску;
8. датчики оптичної густини.

Отже, параметри культивування *Synechococcus sp. HS01* у трубчастому ейрліфтному фотобіореакторі наведені у табл. 3.6.

Таблиця 3.6.

Параметри культивування *Synechococcus sp. HS01*

№	Параметр	Показник
1	Аерація	1 м/с
2	Швидкість потоку рідини	0.6 м/с
3	Температура	26°C
4	Час культивування	48 год
5	Кислотність	pH 7

3.3.2. Конструкція колонного фотобіореактора

Для одержання 28 л посівного матеріалу замість трубчастого фотобіореактора доцільно використати колонний ейрліфтний фотобіореактор.

Реактор являє собою скляну вертикально розташовану прозору трубу. В нижній частині труби розташований барботер для перемішування і подачі повітря. У верхній частині – клапан для випуску повітря. Конструкцію колонного ейрліфтного фотобіореактора наведено на рисунку 5.3. Параметри конструкції даного фотобіореактора наведено у табл. 5.3[4].

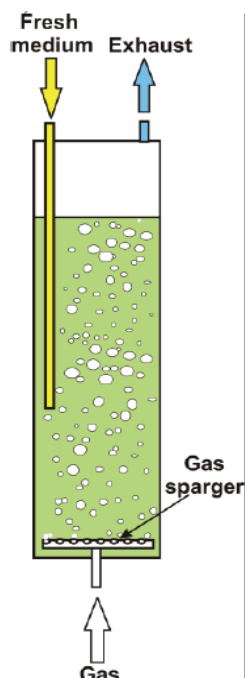


Рис 3.4. Конструкція колонного фотобіореактора[54]

Таблиця 3.7.

**Параметри конструкції і умов роботи колонного фотобіореактора
для культивування *Synechococcus sp. HS01***

№ з.п.	Параметр	Показник
1	Аерація	0.04 м/с
2	Діаметр	13 см
3	Висота	3 м
4	Коефіцієнт заповнення	0.7
5	Температура	26°C
6	Час культивування	48 год
7	Кислотність	pH 7

Також для забезпечення ефективного контролю за умовами культивування фотобіореактор буде обладнаний:

1. термометром (для контролю температури);
2. датчиками контролю рО₂;
3. газоаналізатором (для контролю кількості СО₂);
4. датчиком контролю рН;

5. розміщені порти (для відбору проб);
6. датчики контролю рівня піни;
7. датчики контролю тиску;
8. датчики оптичної густини.

3.4. Обґрунтування стадій виділення і очищення цільового продукту

Продукти метаболізму клітин поділяються на ендометаболіти та екзометаболіти. Ендометаболіти – речовини, які в процесі метаболізму виділяються у внутрішнє середовище клітини. Екзометаболіти – виділяються у зовнішнє середовище клітини. Сировина для виробництва біодизеля - ліпіди є ендометаболітами.

Існує дві технології одержання біодизеля: *традиційна* та з *прямою трансетерифікацією*. Класичний процес отримання біодизеля включає руйнування клітинної стінки, екстракцію ліпідів з біомаси, з наступною трансетерифікацією. В той же час при отриманні біодизеля прямим методом етапи руйнування клітинної стінки, екстракція ліпідів і трансестерифікація відбуваються одночасно. Даний метод дозволяє помітно здешевити виробництво за рахунок зменшення кількості етапів виділення ліпідів[56].

Етапи одержання біодизеля методом прямої трансетерифікації зображені на *рис 3.5*.



Рис. 3.5. Схема одержання біодизеля методом прямої трансетерифікації

3.4.1 Розділення культуральної рідини

3.4.1.1 Центрифугування

Центрифугування - розділення культуральної рідини за допомогою відцентрової сили, яка створюється в наслідок обертання ротора з великою швидкістю (3000 – 7000 об/хв) [37]. Основною перевагою методу центрифугування є можливість ефективно відділяти клітини від культуральної рідини. Центрифуги і сепаратори дозволяють розділяти суспензії з ефективністю 90-100%. Недоліком є порівняно високі витрати енергії [58, 59].

3.4.1.2 Осадження

Основною перевагою цього методу є порівняно низькі операційні витрати. При застосовуванні галуну в якості коагулянту можливо осадити 85% біомаси. Недоліками методу є тривалість процесу і мінімальний для здійснення процесу розмір частинок 3 мкм. При меншому розмірі частинок осадження сповільнюється [59, 60].

3.4.1.3 Флотація

Флотація – явище руху частинок вгору за допомогою бульбашок повітря. Для покращення масообміну у флотатор додається поверхнево-активна речовина. Найпоширенішими ПАР є сульфат алюмінію, ферум (III) сульфат, СТАВ, хітозан та ферум (III) хлорид. Метод флотації може забезпечувати ефективність розділення від 70 до 99%. Перевагами методу є низька вартість і швидкість процесу. Недоліком є токсичність таких ПАР як ферум (III) хлорид. Залишкові іони заліза повинні бути видалені з біомаси через негативний вплив на окислювальну стабільність біодизеля, що ускладнює технологічний процес[59].

3.4.1.4 Флокуляція

Флокуляція дозволяє збільшити розмір частинок суспензії мікродоростей за рахунок агрегації твердих частинок, збільшуючи загальну швидкість осідання. Даний метод можна використовувати одночасно з іншими методами розділення культуральної рідини, такі як коагуляція-флокуляція та флотація-флокуляція. Широко використовуються, такі як автофлокуляція, біофлокуляція, фізична флокуляція та фізико-хімічна флокуляція. Метод дозволяє коагулювати 90% біомаси ціноактерій. Недоліками є довготривалість, ненадійність процесу, потреба у високій кількості біофлокулянтів[59].

3.4.1.5. Флокуляція за допомогою магнітних мікрочастинок

Також, флокуляція може бути здійснена різними типами магнітних частинок: мідь, мідно-вуглецеві композити, залізо(III) нітрат ніагідрат, полівінілпіролідон(ПВП) і оксид заліза (ІОМР). Ці магнітні частинки можуть бути додатково покриті різними матеріалами за допомогою декількох методів, таких як поліольний метод, термічний відновлення та обробка золем-гелем. Процес збирання врожаю проводився із застосуванням зовнішнього магнітного поля, як правило, циліндричного неодиму магніти протягом певного часу. За дослідженнями, ефективність флокуляції при застосуванні даного методу досягати 90-99%. Однак ефективність процесу для кожного конкретного флокулянта буде залежати від дозування.

Відповідно до досліджень, збільшення концентрації флокулянту призводить до зниження ефективності флокуляції[59].

3.4.1.6. Фільтрація

Для розділення культуральної рідини використовуються фільтр-преси періодичної та безперервної роботи або стрічкові чи барабанні вакуум-фільтри. Барабанні вакуум-фільтри являють собою барабан, занурений в ємність, в яку безперервно подається культуральна рідина. Знімання осаду на цих фільтрах здійснюється спеціальним ножом. Конструкції з горизонтальними камерами типу ФПАКМ складаються з розташованих одна над іншою горизонтальних фільтрувальних, між якими натягнута фільтрувальна тканина. Системи ФПАКМ є повністю автоматичними. Листові фільтри складаються з плоских фільтрувальних елементів з жорстким каркасом. Осад може видалятися різними способами: стислим повітрям, парою, вібрацією, або під дією відцентрової сили. Переваги фільтрувальних установок[57]:

- Низькі втрати активності біологічно активних речовин
- Низька енергоємність
- Можливість очищення мембран
- Можливість прискорити процес, змінюючи температуру культуральної рідини або додаючи флокулянти

Недоліки:

- Менша ефективність в порівнянні з центригуванням
- По мірі збільшення шару осаду швидкість фільтрації знижується.
- Неможливість забезпечити асептичні умови

3.4.1.7 Електрохімічні методи

Іншими методами виділення є електрокоагуляція-фільтрація(ЕСФ), магнітно-індукована мембранна фільтрація (ММВ). Перевагами даних методів є екологічна чистота, та ефективність. Ефективність методу збільшується при збільшенні тривалості процесу. Недоліками методу є

порівняна тривалість, необхідність очищувати мембрани та регулювати рН для досягнення максимальної ефективності[59].

Висновок

Отже, зважаючи на переваги і недоліки описаних вище методів, було обрано метод центрифугування на сепараторі через простоту автоматизації і швидкість обробки великих кількостей культуральної рідини.

3.4.2. Вибір сушарки для зневоднення біомаси

Наступним етапом одержання біодизеля є висушування вологої біомаси. Для цього використовують різноманітні методи та обладнання для сушки, вибір якого залежить від фізико-хімічних та біологічних властивостей продукту, зокрема термостійкості. Жирні кислоти витримують довготривалий(8 год.) вплив температур до 160°C [61].

Для сушіння можуть бути застосовані такі типи сушарок:

3.4.2.1. Пневматичні. В процесі сушіння частинки вологого матеріалу знаходяться у завислому стані в початку труби. Довгий вплив нагрітого повітря негативно впливає на властивості кінцевого продукту[50].

3.4.2.2. Аерофонтанні. Дані сушарки являють собою комбіновані апарати. У різних ділянках апарата на висушувану речовину впливають різні гідродинамічні режими потоків гарячого теплоносія. Недолік – довга затримка продукту в зоні високої температури[60].

3.4.2.3. Вакуумні сушарки. У вакуум-сушильних шафах висушування опадів проводиться в тонкому шарі при температурі біля 30°C і залишковому тиску не більше 136 Па. Цей тип сушарок споживає порівняно більшу кількість енергії і є надто дорогим[60].

3.4.2.4. Сублімаційні сушарки. Процес сублімаційного сушіння відбувається при глибокому вакуумі. Матеріал в початкових стадіях сушки віддає частину вологи, охолоджується і самозаморожується. Потім в сушарку подається тепло і лід випаровується, минаючи стан рідини. Волога рухається сушаркою у вигляді пари, не захоплюючи з собою частки продукту. Перевагою даних сушарок є низькі втрати термолабільних речовин під час

процесу сушіння. Недоліком сублімаційних сушок є їх ціна їх експлуатації[60].

3.4.2.5. Розпилювальні сушарки. Конструкція розпилювальних сушарок забезпечує малу тривалість процесу сушіння. Час перебування препарату в сушарці обмежується 5-8 с. При контакті маси з теплоносієм волога миттєво випаровується, частинки охолоджуються і тому, незважаючи на високі температури теплоносія на вході і виході, препарат не нагрівається більше 35-40°C. Одночасно, даний тип сушарок є порівняно економічним[60].

Висновок

Отже, обираємо розпилювальну сушарку через ефективність і порівняно невелику ціну експлуатації.

3.4.3 Пряма трансестерифікація

3.4.3.1 Вибір розчинника, каталізатора та умов трансестерифікації

В процесі прямої трансестерифікації розчинник одночасно дезинтегрує клітинну стінку, екстрагує жирні кислоти та бере участь в процесі трансестерифікації. Найпоширенішими розчинниками є метанол, суміш етанолу та гексану, хлороформ, 2-пропанол та етанол. При використанні в якості розчинника метанолу, гексан, пентан та діетиловий етер можуть застосовуватись в якості допоміжного розчинника[62].

Каталізатори бувають лужними та основними. Вибір гетерогенного каталізатора залежить від його каталітичної активності, вартості та доступності, а також від типу вихідної сировини та умов експлуатації[62].

Найчастіше застосовуються неорганічні каталізатори через їх дешевизну, доступність, стабільність, довговічність та простоту регенерації. Також, окрім каталізатора та розчинника важливими факторами є температура та час. В *таблиці 3.8.* наведені показники найвищого виходу жирних кислот та умови за яких довелось їх довелось досягнути.

Таблиця 3.8.

Порівняння умов найбільшого виходу метилових етерів жирних кислот

№	Розчинник	Вихід межк	Умови трансестерифікації	Література
1	Метанол/Гексан	96	Розчинник/біомаса: 20:1 240 хв 55 °С 4% каталізатора Попередньо дезинтегрується клітинна стінка	63 64
2	Метанол	97	Розчинник/біомаса: 600:1 20 год Каталізатор: H ₂ SO ₄	63 65
3	Метанол	98	Розчинник/біомаса: 868:1 Каталізатор: H ₂ SO ₄	63
4	Хлороформ/метанол	94%	Розчинник/біомаса: 20:1 Каталізатор: 2% H ₂ SO ₄ Попередньо висушена	66
5	Метанол	98	Розчинник/біомаса: 20:1 70 °С Каталізатор: H₂SO₄ 20 год	67
	Метанол/Гексан	97	Розчинник/біомаса: 3:2 Каталізатор: NaOH швидкість, 600 об/хв; 15 хв. Попередньо дезинтегрується клітинна стінка	68

Відповідно до таблиці, найкращих результатів вдалось досягнути при використанні метанолу в якості розчинника при концентрації розчинник/біомаса 20:1, температурі 70°C за 20 год. Процес був каталізований H₂SO₄[67].

3.4.4. Очищення біодизеля

3.4.4.1. Вибір методу видалення розчинника

Очищення сирого біодизелю від розчинників(в даному випадку - метанолу) здійснюється шляхом випарювання. Температура кипіння біодизелю(375°C) значно вище за температуру кипіння метанолу(64.7°C). Для видалення метанолу можна застосувати сушарку або ректифікаційну колонну. Обираємо другу, через можливість регенерації розчинника[69, 70].

3.4.4.2. Вибір методу очищення

Після видалення розчинника залишається сирий біодизель, який необхідно очистити від домішок, які утворюються в наслідок процесу трансетерифікації. Методи очищення сирого біодизеля наведені в таблиці 5.9 [71]:

Таблиця 3.9.

Методи очищення біодизеля

Метод	Переваги	Недоліки
Очищення водою	<ul style="list-style-type: none">- Простота та низька вартість;- Ефективне видалення залишків гліцерину та метанолу;- Ефективне видалення натрієвих мил утворених при катіонно-іонному обміні;	<ul style="list-style-type: none">- Відносно велика витрата води;- Тривалість процесу;- Високе споживання енергії;- Утворення стічних вод- Очищений біодизель може не відповідати стандартам якості

Продовження таблиці 3.9

<p>Абсорбція і катіонообмін</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Простіше і менш жорстке, ніж вологе прання; - Низьке споживання енергії; - Утворюється менше стічних вод; - Швидкість; - Ефективне видалення води; - Може проводитись одночасно з процесом трансетерифікації; - Можливість регенерації іонообмінних смол. 	<ul style="list-style-type: none"> - Неповне видалення метанолу та гліцерину; - Збільшення кислотного числа біодизеля при використанні кислотних смол; - Використання сильноокислих смол не зменшує вміст ацилгліцеринів у неочищеному біодизелі; - Збільшує вміст вільного гліцерину при наявності дигліцероксиду кальцію; - Необхідність утилізації відпрацьованих іонообмінних смол.
<p>Мембранна фільтрація</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Ефективне видалення іонів кальцію - Високий здатність розділяти натрієві мила та спирти; - Утворюється менша кількість стічних вод; - Екологічна чистота; - Простота та гнучкість в експлуатації; - Відносно висока вибірковість та проникність; - Низькі потреби в енергії; - Просте управління та масштабування; 	<ul style="list-style-type: none"> - Неефективне видалення кальцієвих мил; - Необхідність очищення мембран; - Поступове зменшення пропускну здатності; - Збільшення собівартості виробництва біодизеля;

Продовження таблиці 3.9

Осадження	<ul style="list-style-type: none"> - Видалення іонів кальцію; - Високий вихід очищеного біодизеля; - Знижена кількість води, яка використовується в процесі; - Просте видалення осаду фільтруванням; 	<ul style="list-style-type: none"> - Вища в'язкість очищеного біодизеля; - Метод дуже чутливий до умов експлуатації;
Іонообмін з осадженням	<ul style="list-style-type: none"> - Ефективне видалення кальцію; - Легке видалення натрієвого мила; - Можна здійснювати під час трансетерифікації; - Високий ступінь очищення; 	<ul style="list-style-type: none"> - Для видалення натрієвого мила, утвореного іонним обміном, необхідний додатковий етап промивання; - Утворення стічних вод та осаду; - Потрібні подальші дослідження для оптимізації робочих умов;
Утворення комплексів	<ul style="list-style-type: none"> - Ефективне видалення кальцію розчином ЕДТА 	<ul style="list-style-type: none"> - Середня ефективність декальцифікації; - Потрібні подальша оптимізація умов реакції - Шкідливість ЕДТА;

Висновок:

Отже, зважаючи на наведені вище переваги і недоліки різних методів, для очищення біодизеля обираємо метод мембранної фільтрації. За дослідженнями, для очищення біодизелю ефективною є мембрана з полівінілфлюориду[72].

3.5. Розрахунок розмірів фотобіореакторів для кожного етапу одержання культуральної рідини і виробничої ферментації

3.5.1. Розрахунок об'єму виробничого фотобіореактора

При обраних параметрах фотобіореактора, його об'єм становитиме:

$$V = 3.14 \times (6.8^2/2) \times 120000 = \underline{4360 \text{ л}}$$

Отже, для виробничого біосинтезу ліпідів буде використано 7 трубчастих фотобіореакторів об'ємом 4360 м³.

3.5.2. Розрахунок об'єму фотобіореактора для одеражання 3088 л посівного матеріалу

Трубчастий фотобіореактор для одеражання 3088 л посівного матеріалу матиме такі параметри: $V = 6.8 \text{ см}$; $l = 850 \text{ м}$. Тож, його об'єм становитиме:

$$V = 3.14 \times (6.8^2/2) \times 85000 = \underline{3088 \text{ л}}$$

Отже, для одеражання 3088 л посівного матеріалу буде використано 1 трубчастий ейрліфтний фотобіореактор об'ємом 3088 л.

3.5.3. Розрахунок об'єму фотобіореактора для одеражання 312 л посівного матеріалу

Трубчастий фотобіореактор для одеражання 312 л посівного матеріалу матиме такі параметри: $V = 6.8 \text{ см}$; $l = 86 \text{ м}$.

$$V = 3.14 \times (6.8^2/2) \times 8600 = \underline{312 \text{ л}}$$

Отже, для одеражання 312 л посівного матеріалу буде використано 1 трубчастий ейрліфтний фотобіореактор об'ємом 312 л.

3.5.4. Розрахунок об'єму фотобіореактора для одеражання 31 л посівного матеріалу.

Колонний фотобіореактор для одеражання 31 л посівного матеріалу при обраних параметрах матиме такий об'єм:

$$V_{\text{роб}} = 31/0.7 = 45 \text{ л}$$

$$V = 3.14 \times 13^2/4 \times 340 = \underline{45 \text{ л}}$$

Отже, для одеражання 31 л посівного матеріалу буде використано 1 трубчастий ейрліфтний фотобіореактор об'ємом 31 л.

3.5.5. Розрахунок об'єму фотобіореактора для одеражання 3.1 л посівного матеріалу.

Лабораторний фотобіореактор для одеражання 3.1 л посівного матеріалу при обраних параметрах матиме такий об'єм:

$$V_{роб} = 3.1/0.7 = 4.4 \text{ л}$$

Вибираємо найближчий за об'ємом реактор:

$$V_{рт} = 6 \text{ л}$$

Кількість реакторів:

$$N_p = 4.4/6 = 0.73 = 1 \text{ од.}$$

Уточнюємо коефіцієнт заповнення:

$$K_{зр} = 3.1/6 \cdot 1 = 0.51$$

Оскільки дане значення $K_{зф}$ лежить не в прийнятих межах(0.6 – 0.7) обираємо інший об'єм:

$$V_{рт} = 5 \text{ л}$$

Уточнюємо коефіцієнт заповнення:

$$K_{зр} = 3.1/5 \cdot 1 = 0.62$$

Дане значення $K_{зф}$ лежить в прийнятих межах(0,6 - 0,7). Отже, приймаємо до установки 1 реактор та 1 запасний.

Отже, процес одержання посівного матеріалу для забезпечення виробничого біосинтезу ліпідів у 7 фотобіореакторах об'ємом 4.36 м³ буде проходити у чотири етапи:

1) Вирощування інокуляту у лабораторному фотобіореакторі об'ємом 5 л з коефіцієнтом заповнення 0.7.

1) Вирощування інокуляту в колонному фотобіореакторі об'ємом 45 л з коефіцієнтом заповнення 0.7;

2) Вирощування інокуляту в ейрліфтному трубчастому фотобіореакторі об'ємом 312 л;

3) Вирощування інокуляту в ейрліфтному трубчастому фотобіореакторі об'ємом 3088 л;

4) Виробнича ферментація у 7 ейрліфтних трубчастих фотобіореакторах об'ємом 4360 л кожний.

3.6. Обґрунтування розподілу поживного середовища на композиції і умов стерилізації×

3.6.1. Підготовка запасного розчину

В запасний розчин входять такі компоненти: лимонна кислота, H_3BO_3 , $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $(\text{NH}_4)_5[\text{Fe}(\text{C}_6\text{H}_4\text{O}_7)_2]$, NaCl (режим стерилізації: 131 °С, 40 хв).

3.6.1. Вирощування інокуляту в колбах на качалках

Композиція А: NaNO_3 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, Na_2CO_3 , KH_2PO_4 , Na_2 -ЕДТА(режим стерилізації: 131 °С, 40 хв).

Композиція Б: Страусовий жир (режим стерилізації: 112 °С, 30 хв,).

Композиції А і Б, готуються в колбах і стерилізуються в автоклаві.

3.6.2. Вирощування інокуляту в посівному апараті об'ємом 5 л

Композиція А: NaNO_3 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, Na_2CO_3 , KH_2PO_4 , Na_2 -ЕДТА(режим стерилізації: 131 °С, 40 хв).

Композиція Б: Страусовий жир (режим стерилізації: 112 °С, 30 хв,).

Композиції А і Б, готуються в колбах і стерилізуються в автоклаві.

3.6.3. Вирощування інокуляту в посівному апараті об'ємом 45 л

Композиція А: NaNO_3 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, Na_2CO_3 , KH_2PO_4 , Na_2 -ЕДТА(режим стерилізації: 131 °С, 40 хв).

Композиція Б: Страусовий жир (режим стерилізації: 112 °С, 30 хв).

Композиція А готується і стерилізується в реакторі-збірнику, композиція Б - в колбах.

3.6.4. Вирощування інокуляту в посівному апараті об'ємом 306 л

Композиція А: NaNO_3 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, Na_2CO_3 , KH_2PO_4 , Na_2 -ЕДТА(режим стерилізації: 131 °С, 40 хв).

Композиція Б: Страусовий жир (режим стерилізації: 112 °С, 30 хв, крохмаль попередньо заварюється при 70°С на протязі 20 хв.).

Композиція А готується і стерилізується в реакторі-збірнику, композиція Б - в баллоні.

3.6.5. Вирощування інокуляту в посівному апараті об'ємом 3033 л

Композиція А: NaNO_3 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, Na_2CO_3 , KH_2PO_4 , $\text{Na}_2\text{-ЕДТА}$ (режим стерилізації: 131°C , 40 хв).

Композиція Б: Страусовий жир (режим стерилізації: 112°C , 30 хв, крохмаль попередньо заварюється при 70°C на протязі 20 хв.).

Композиції А і Б готуються і стерилізуються в окремих реакторах-збірниках.

3.6.6. Виробнича ферментація

Стерилізація усіх композицій здійснюється в установці безперервної стерилізації при $t = 140^\circ\text{C}$.

3.7. Розрахунок об'ємів ємнісних апаратів

3.7.1. Розрахунок установки безперервної стерилізації

Усі компоненти поживного середовища завантажують безпосередньо в реактор-змішувач УБС і після змішування з завареними компонентами композиції Б стерилізуються.

Об'єм готового поживного середовища у виробничому ферментері становить:

$$V_{\text{псф}} = 27720 \text{ л}$$

Об'єм стерилізованого поживного середовища:

$V_{\text{ст}} = 27720 - 5544 = 22\ 176$ л. Отже, для стерилізації поживного середовища найдоцільніше обрати установку УБС-20.

Час стерилізації становить:

$$\tau_{\text{ст}} = 27720/20000 = 1.4 \text{ год} = 84 \text{ хв.}$$

Стерилізоване поживне середовище з УБС передається безпосередньо в ферментер. Приблизний загальний геометричний об'єм реактора-змішувача при заданому $K_{\text{зб}} = 0,7$:

$$V_{\text{убс}} = 27720/0.7 = 39\ 600 \text{ л.}$$

Вибираємо найближчий за об'ємом реактор $V_{\text{рт}} = 40 \text{ м}^3$

Кількість реакторів:

$$N_{\text{р}} = 39\ 600/40\ 000 = 0.99 = 1 \text{ од.}$$

Уточнюємо коефіцієнт заповнення:

$$K_{\text{зр}} = 27720/40000 \cdot 1 = 0.69.$$

Оскільки дане значення $K_{зр}$ не знаходиться в прийнятих межах(0,6 - 0,7), тому приймаємо до установки одну УБС потужністю 20 м³ з реактором-змішувачем об'ємом 40 м³

3.7.2. Розрахунок кількості реакторів-змішувачів для приготування розчинів HCl і NaOH

Підбираємо геометричний об'єм реактор-змішувача для. $V_{Бг} = 68$ л.
При заданому $K_{зб} = 0,7$ приблизний об'єм реактора-змішувача становитиме:

$$V_{Бг} = 68/0.7 = 97 \text{ л}$$

Вибираємо найближчий за об'ємом реактор:

$$V_{рт} = 100$$

Кількість реакторів:

$$N_p = 100/100 = 1 \text{ од.}$$

Уточнюємо коефіцієнт заповнення:

$$K_{зр} = 68/100 = 0,68$$

Оскільки дане значення $K_{зф}$ лежить в прийнятих межах(0.6 – 0.7) приймаємо до установки 1 реактор та 1 запасний.

3.7.3. Розрахунок кількості реакторів-змішувачів для приготування композицій А і Б для інокулятора об'ємом 3088 л

Композицію А, готують і стерилізують в окремому реакторі з сорочкою. Після стерилізації її подають в інокулятор.

Підбираємо геометричний об'єм реактор-змішувача для композиції А.
При заданому $K_{зб} = 0,7$ приблизний об'єм реактора-змішувача становитиме:

$$V_{Бг} = 2707/0.7 = 3 \text{ 867 л}$$

Вибираємо найближчий за об'ємом реактор:

$$V_{рт} = 4000 \text{ л}$$

Кількість реакторів:

$$N_p = 3 \text{ 867}/4000 = 0,96 = 1 \text{ од.}$$

Уточнюємо коефіцієнт заповнення:

$$K_{зр} = 2707/4000 \cdot 1 = 0,67$$

Оскільки дане значення K_{zf} лежить в прийнятих межах(0.6 – 0.7).
Отже, приймаємо до установки 1 реактор та 1 запасний.

Композицію Б, готують і стерилізують в окремому реакторі з сорочкою. Після стерилізації її подають в інокулятор. При заданому $K_{zb} = 0.7$ приблизний об'єм реактора-змішувача становитиме:

$$V_{БГ} = 100/0.7 = 143 \text{ л}$$

Вибираємо найближчий за об'ємом реактор:

$$V_{рт} = 160 \text{ л}$$

Кількість реакторів:

$$N_p = 143/160 = 0.89 = 1 \text{ од.}$$

Уточнюємо коефіцієнт заповнення:

$$K_{зр} = 100/160 \cdot 1 = 0,63$$

Оскільки дане значення K_{zf} лежить в прийнятих межах(0.6 – 0.7)
приймаємо до установки 1 реактор та 1 запасний.

3.7.4. Розрахунок кількості реакторів-змішувачів для приготування композицій А, Б, для інокулятора об'ємом 312 л

Композицію А, готують і стерилізують в окремому реакторі з сорочкою. Після стерилізації її подають в інокулятор. Підбираємо геометричний об'єм реактор-змішувача для композиції А. При заданому $K_{zb} = 0,7$ приблизний об'єм реактора-змішувача становитиме:

$$V_{БГ} = 277/0.7 = 395 \text{ л}$$

Вибираємо найближчий за об'ємом реактор:

$$V_{рт} = 400 \text{ л}$$

Кількість реакторів:

$$N_p = 395/400 = 0.98 = 1 \text{ од.}$$

Уточнюємо коефіцієнт заповнення:

$$K_{зр} = 277/400 \cdot 1 = 0.69$$

Оскільки дане значення K_{zf} лежить в прийнятих межах(0.6 - 0.7)
приймаємо до установки 1 реактор та 1 запасний.

Композицію Б, готують в баллоні і стерилізують в автоклаві. Після стерилізації її подають в інокулятор. Підбираємо геометричний об'єм баллона. При заданому $K_{зб} = 0,7$ приблизний об'єм реактора-змішувача становитиме:

$$V_{БГ} = 7/0.7 = 10 \text{ л}$$

Уточнюємо коефіцієнт заповнення:

$$K_{зр} = 7/10 \cdot 1 = 0,7$$

Оскільки дане значення $K_{зф}$ лежить в прийнятих межах(0.6 – 0.7) приймаємо до установки 1 реактор та 1 запасний.

3.7.5. Розрахунок кількості реакторів-змішувачів для приготування композицій А, Б, для інокулятора 45 л

Композицію А, готують і стерилізують в окремому реакторі з сорочкою. Після стерилізації її подають в інокулятор. Підбираємо геометричний об'єм реактора-змішувача для композиції А. При заданому $K_{зб} = 0,7$ приблизний об'єм реактора-змішувача становитиме:

$$V_{БГ} = 27.2/0.7 = 38.8 \text{ л}$$

Вибираємо найближчий за об'ємом реактор

$$V_{рГ} = 40 \text{ л}$$

Кількість реакторів:

$$N_p = 38.8/40 = 0,97 = 1 \text{ од.}$$

Уточнюємо коефіцієнт заповнення:

$$K_{зр} = 27.2/40 = 0.68$$

Дане значення $K_{зф}$ не лежить в прийнятих межах(0.6 – 0.7).

Композиції Б готуються в колбах і стерилізують в автоклаві. Стерилізовані композиції подають в інокулятор. Підбираємо кількість колб для композиції Б. Приблизний загальний необхідний об'єм колб при заданому $K_{колб} = 0,6$:

$$V_{Гколб} = 1/0.6 = 1,6 \text{ л}$$

Об'єм 1 колби $V_{нколб} = 1 \text{ л.}$

Кількість колб при заданому $K_{колб} = 0,6$:

$$N_{\text{колб}} = 1.6/1 = 1.6 \text{ колб} \approx 2 \text{ колби}$$

3.7.6. Розрахунок кількості колб для приготування композицій А, Б для одержання 2.8 л інокуляту

Композиції А і Б готуються в окремих колбах і стерилізуються в автоклаві. Стерилізовані композиції подають в інокулятор.

Підбираємо кількість колб для композиції А. Приблизний загальний необхідний об'єм колб при заданому $K_{\text{колб}}=0,6$:

$$V_{\text{гколб}} = 2/0.6 = 3,3 \text{ л}$$

Об'єм 1 колби $V_{\text{нколб}} = 1 \text{ л}$.

Кількість колб при заданому $K_{\text{колб}} = 0,6$:

$$N_{\text{колб}} = 3.3/1 = 3,3 \text{ колби} \approx 4 \text{ колби}$$

Підбираємо кількість колб для композиції Б. Приблизний загальний необхідний об'єм качалочних колб при заданому $K_{\text{колб}}=0,6$:

$$V_{\text{гколб}} = 0.8/0,6 = 1,3 \text{ л}$$

Об'єм 1 качалочної колби $V_{\text{нколб}} = 1 \text{ л}$.

Кількість качалочних колб при заданому $K_{\text{колб}} = 0,6$:

$$N_{\text{колб}} = 1,3/1 = 1,3 \approx 2 \text{ колби}$$

Отже, для стерилізацію композиції А буде здійснено в 4 колбах об'ємом 1 л, а композиції Б – в 2.

3.7.7. Розрахунок кількості колб для приготування композицій А, Б для культивування 0.3 л посівного матеріалу у колбах на качалках.

Композиції А і Б готуються в окремих колбах і стерилізуються в автоклаві. Стерилізовані композиції подають в інокулятор. Підбираємо кількість колб для композиції А. Приблизний загальний необхідний об'єм колб при заданому $K_{\text{колб}}=0.6$:

$$V_{\text{гколб}} = 0.2/0.6 = 0.33 \text{ л}$$

Об'єм 1 колби $V_{\text{нколб}} = 750 \text{ мл}$.

Кількість колб при заданому $K_{\text{колб}} = 0.6$:

$$N_{\text{колб}} = 330/750 = 0.44 = 1 \text{ колба}$$

Підбираємо кількість колб для композиції Б. Приблизний загальний необхідний об'єм качалочних колб при заданому $K_{\text{колб}}=0.6$:

$$V_{\text{гколб}} = 0.08/0.6 = 0.13 \text{ л}$$

Об'єм 1 качалочної колби $V_{\text{нколб}} = 200 \text{ мл}$.

Кількість качалочних колб при заданому $K_{\text{колб}} = 0.6$:

$$N_{\text{колб}} = 0.13/0.2 = 0.6 \approx 1 \text{ колба}$$

Отже, для стерилізацію композиції А буде здійснено в 4 колбах об'ємом 1 л, а композиції Б – в 1.

3.7.8. Розрахунок збірника для культуральної рідини

Об'єм культуральної рідини, одержаної на етапі виробничого біосинтезу становить $V_{\text{кр}} = 30.5 \text{ м}^3$. Отже, при заданому $K_{\text{зб}} = 0.7$ об'єм збірника для культуральної рідини становитиме:

$$V_{\text{БГ}} = 30.5/0.7 = 43.5 \text{ м}^3$$

Вибираємо найближчий за об'ємом реактор:

$$V_{\text{рт}} = 50 \text{ м}^3$$

Уточнюємо коефіцієнт заповнення:

$$K_{\text{зр}} = 30.5/50 = 0.61$$

Дане значення $K_{\text{зф}}$ лежить в прийнятих межах(0.6 – 0.7), отже приймаємо до установки 1 реактор та 1 запасний.

3.7.9. Розрахунок збірника для центрифугованої біомаси

Маса, становить 13.42 кг. Припустимо, що об'єм вологого складає $V = 13 \text{ л}$. Отже, при заданому $K_{\text{зб}} = 0.7$ об'єм збірника для культуральної рідини становитиме:

$$V_{\text{БГ}} = 13.42/0.7 = 19.17 \text{ л}$$

Вибираємо найближчий за об'ємом реактор:

$$V_{\text{рт}} = 25$$

Уточнюємо коефіцієнт заповнення:

$$K_{\text{зр}} = 13.42/25 = 0,53$$

Дане значення $K_{\text{зф}}$ не лежить в прийнятих межах(0.6 – 0.7), обираємо інший об'єм:

$$V_{рт} = 20 \text{ л}$$

Уточнюємо коефіцієнт заповнення:

$$K_{зр} = 13.42/20 = 0.67$$

Оскільки дане значення $K_{зф}$ лежить в прийнятих межах(0.6 – 0.7), отже приймаємо до установки 1 реактор та 1 запасний.

3.7.10. Розрахунок збірника для метанолу

Об'єм метанолу, який необхідний для процесу прямої трансестерифікації становить $V_{метанол} = 268$ л. Отже, при заданому $K_{зб} = 0.7$ об'єм збірника для метанолу становитиме:

$$V_{БГ} = 268/0.7 = 383 \text{ л}$$

Вибираємо найближчий за об'ємом реактор:

$$V_{рт} = 400 \text{ л}$$

Уточнюємо коефіцієнт заповнення:

$$K_{зр} = 268/400 = 0.67$$

Оскільки дане значення $K_{зф}$ лежить в прийнятих межах(0.6 – 0.7), отже приймаємо до установки 1 реактор та 1 запасний.

3.7.11. Розрахунок об'єму реактора для прямої трансестерифікації

Припустимо, що при висушуванні об'єм біомаси зменшується в два рази. Тоді об'єм сухої біомаси становитиме 6.8 л. Об'єм метанолу $V_{метанол} = 268$ л. Отже, при заданому $K_{зб} = 0.7$ об'єм збірника для метанолу становитиме:

$$V_{БГ} = 274.8/0.7 = 392 \text{ л}$$

Вибираємо найближчий за об'ємом реактор:

$$V_{рт} = 400 \text{ л}$$

Уточнюємо коефіцієнт заповнення:

$$K_{зр} = 274.8/400 = 0,69$$

Оскільки дане значення $K_{зф}$ лежить в прийнятих межах(0.6 – 0.7), отже приймаємо до установки 1 реактор та 1 запасний.

РОЗДІЛ 4 СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ

Специфікація обладнання, зображеного на апаратурній схемі (див. графічна частина), наведена у табл. 4.1.

Таблиця 4.1

Специфікація ділянки допоміжних робіт та виробничого біосинтезу ліпідів

Позиція	Найменування	Кількість	Технічна характеристика
1	2	3	4
ПЗ - 1 ПЗ - 48	Пристрій для забору повітря	2	Повітрязабірник, обладнаний металевією сіткою для видалення механічних забруднень.
Ф - 2 Ф - 49 Ф - 57	Фільтр грубої очистки повітря	3	Фільтруючий матеріал – поліестер, швидкість фільтрування – 2 м/с, Е = 80 %. Виробник: «Технофільтр» (Україна). ¹
К - 3	Компресор	1	Компресор ERC-60UAL. Максимальний робочий тиск 1,6 МПа. Виробник: «Elang» (Китай). ²
Т - 4	Теплообмінник-охолоджувач	1	Охолоджувач повітря Systemair PGK. Максимальний робочий тиск 1,6 МПа, вихідна температура повітря 20°C. Виробник: «Systemair» (Швеція). ³
Р - 5	Ресивер	1	Ресивер Р 900.800.01 Об'єм 900 л, робочий тиск 1 МПа. Виробник: «Пневмокомплект» (Україна). ⁴

					<i>НУХТ БТЕК 02. 02. 01 КП ПЗ</i>					
Зм	Арк.	№ документа	Підпис	Дата	<i>Розділ 4 Специфікація обладнання</i>			Літера	Аркуш	Аркушіє
Розробник	Гайдай Я.О.									
Керівник	Слободян О.П..									
Н. контр										
Консульт										
Зав. Каф.	Пирог Т. П.				<i>Кафедра БТМ</i>					

Продовження таблиці 4.1

Т - 6	Теплообмінник-нагрівач	1	Повітренагрівач каналний водяний Systemair VBR. Максимальний робочий тиск 1,6 МПа, при температурі води 100°C. Виробник: «Systemair» (Швеція). ³
Ф - 7	Головний фільтр очистки повітря	1	Фільтр (P)–GSL N. Фільтруючий матеріал – поліпропіленове волокно, швидкість фільтрування – 0.025 м/с, E = 90 Виробник: «Технофільтр» (Україна). ¹
ІН - 8	Інокулятор	1	Лабораторний ферментер об'ємом 5 л. $K_{зап} = 0,7$, оснащений барботером, пробовідбірником, мішалкою, механічним піногасником (50-500 об/хв), $K_{зап} = 0,7$
Ф - 9 Ф - 12 Ф - 20 Ф - 38 Ф - 40	Індивідуальний фільтр очистки повітря	4	Фільтруючий матеріал – скловолокно, швидкість фільтрування – 0.025 м/с, E = 99%. Виробник: «Технофільтр» (Україна). ¹
РЗ - 10	Реактор-змішувач для приготування композиції А поживного середовища	1	Реактор-змішувач об'ємом 40 л, $K_{зап} = 0,7$, оснащений сорочкою та перемішувальним пристроєм (100 об/хв), виготовлений зі сталі 12X18H10T. Виробник: ООО «ГК ЕВРОХИММАШ К.О.» (Україна). ⁶
Н - 11 Н - 37	Насос відцентровий	14	Насос асептичний відцентровий «Centrifugal Pump SLX». Потужність: 1 м ³ /г. Сталь ASME BPE 316L Виробник: «DONJOY» ⁵
ІН - 13	Інокулятор	1	Колонний фотобіореактор об'ємом 45 л. $K_{зап} = 0,7$, оснащений барботером і пробовідбірником 3 ⁷

Продовження таблиці 4.1

РЗ - 14	Реактор-змішувач для приготування 6% р-ну HCl	1	Реактор-змішувач об'ємом 100 л, $K_{зап} = 0,7$, оснащений перемішувальним пристроєм (100 об/хв), виготовлений зі сталі 12Х18Н10Т. Виробник: ООО «ГК ЕВРОХИММАШ К.О.» (Україна). ⁶
РЗ - 16	Реактор-змішувач для приготування і стерилізації 6% р-ну NaOH	1	Реактор-змішувач об'ємом 100 л, $K_{зап} = 0,7$, оснащений перемішувальним пристроєм (100 об/хв), виготовлений зі сталі 12Х18Н10Т. Виробник: ООО «ГК ЕВРОХИММАШ К.О.» (Україна). ⁶
РЗ-18	Реактор-змішувач для приготування композиції А поживного середовища	1	Реактор-змішувач об'ємом 400 л, $K_{зап} = 0,7$, оснащений сорочкою та перемішувальним пристроєм (100 об/хв), виготовлений зі сталі 12Х18Н10Т. Виробник: ООО «ГК ЕВРОХИММАШ К.О.» (Україна). ⁶
Н - 19 Н - 23 Н - 25 Н - 31 Н - 35 Н - 43	Насос відцентровий		Насос асептичний відцентровий « <i>Large flow centrifugal pump MLX</i> ». Потужність: 200 м ³ /г. Сталь ASME BPE 316L Виробник: «DONJOY» ⁵
ІН - 21	Інокулятор	1	Трубчастий фотобіореактор об'ємом 312 л, оснащений барботером, пробовідбірником, діаметр – 7 мм, довжина 86,8 м. Виробник – Schott ⁸ .
РЗ - 22	Реактор-змішувач для приготування поживного середовища	1	Реактор-змішувач об'ємом 40 м ³ , $K_{зап} = 0,7$, оснащений перемішувальним пристроєм (100 об/хв), виготовлений зі сталі 12Х18Н10Т. Виробник: ООО «ГК ЕВРОХИММАШ К.О.» (Україна). ⁶

Продовження таблиці 4.1

УБС - 29	УБС - 20	1	Установка складається з: реактора-змішувача (РЗ-24) теплообмінника-рекуператора (Т-26), колонок для стерилізації поживного середовища (К-27) теплообмінника рекуператора пластинчастого (Т-30).
З - 32	Реактор-змішувач для приготування поживного середовища	1	Реактор-змішувач об'ємом 40 м ³ , $K_{зап} = 0,7$, оснащений перемішувальним пристроєм (100 об/хв), виготовлений зі сталі 12Х18Н10Т. Виробник: ООО «ГК ЕВРОХИММАШ К.О.» (Україна). ⁶
РЗ - 34	Реактор-змішувач для приготування композиції А поживного середовища	1	Реактор-змішувач об'ємом 4000 л, $K_{зап} = 0,7$, оснащений перемішувальним пристроєм (100 об/хв), виготовлений зі сталі 12Х18Н10Т. Виробник: ООО «ГК ЕВРОХИММАШ К.О.» (Україна). ⁶
РЗ - 36	Реактор-змішувач для приготування композиції Б поживного середовища	1	Реактор-змішувач об'ємом 160 л, $K_{зап} = 0,7$, оснащений сорочкою та перемішувальним пристроєм (100 об/хв), виготовлений зі сталі 12Х18Н10Т. Виробник: ООО «ГК ЕВРОХИММАШ К.О.» (Україна). ⁶
ІН – 39	Інокулятор	1	Трубчастий фотобіореактор об'ємом 3033 л, оснащений барботером, пробовідбірником, діаметр – 7 мм, довжина 860 м. Виробник – Schott ⁷ .
ФР - 41	Ферментер	7	Трубчастий фотобіореактор об'ємом 4300 л, оснащений барботером і теплообмінником, діаметр – 7 мм, довжина 1200 м. Виробник – Schott ⁷ .

Продовження таблиці 4.1

З - 42	Збірники	1	Реактор-змішувач об'ємом 50 000 л, $K_{зап} = 0,6$, оснащений перемішувальним пристроєм (100 об/хв), виготовлений зі сталі 12Х18Н10Т. Виробник: ООО «ГК ЕВРОХИММАШ К.О.» (Україна). ⁶
С - 44 С - 63	Сепаратор	2	Сепаратор Tetra Centri VM50, о продуктивність – 40 000 л/год, швидкість обертання – 10000 об/хв. Виробник: «Tetra Centri» ⁸ .
Н - 45 Н - 47 Н - 49 Н - 62 Н - 64 Н - 68 Н - 73	Насос відцентровий	14	Насос відцентровий неасептичний «Centrifugal Pump SLX». Потужність: 1 м ³ /г. Сталь ASME BPE 316L Виробник: «DONJOY» ⁵
З - 46	Збірник	1	Реактор-змішувач об'ємом 20 л, $K_{зап} = 0,6$, оснащений перемішувальним пристроєм (100 об/хв), виготовлений зі сталі 12Х18Н10Т. Виробник: ООО «ГК ЕВРОХИММАШ К.О.» (Україна) ⁶
В - 50 В - 56 В - 58	Вентилятор	3	Вентилятор осьовий ВОГ 12,5 3740/5-5. Номінальна продуктивність – 64600 м ³ /с. Виробник: «"ГРАДВЕНТ".» (Україна) ⁹ .
Т - 51	Теплообмінник-нагрівач	1	Теплогенераторна установка ТГ-0,95(1,9)-200. Температура нагрівання повітря - 190°C. Виробник: ПрАТ «"КАЛИНІВСЬКИЙ МАШИНОБУДІВНИЙ АВОД"» ¹⁰ (Україна)

Продовження таблиці 4.1

CP - 52	Сушарка розпилювальна	1	Роторна розпилювальна сушарка GEA FSD. Максимальна швидкість подачі речовини – 2500 кг/год. Температура на вході в камеру - 190°C. Виробник: «GEA» ¹¹
Цк - 53 Цк - 54 Цк - 55 Цк - 59	Розвантажувальні циклони	4	Циклони СЦН-40. Швидкість подачі повітря 20 м/с Виробник: ОАО «Энергомаш» (Росія) ¹²
PЗ - 60	Реактор-збірник	1	Реактор-змішувач об'ємом 400 л, $K_{зап} = 0,6$, оснащений перемішувальним пристроєм (300 об/хв), виготовлений зі сталі 12Х18Н10Т. Виробник: ООО «ГК ЕВРОХИММАШ К.О.» (Україна) ⁶
PЗ - 61	Реактор-збірник	1	Реактор-змішувач об'ємом 400 л, $K_{зап} = 0.6$, оснащений сорочкою та перемішувальним пристроєм (300 об/хв), виготовлений зі сталі 12Х18Н10Т. Виробник: ООО «ГК ЕВРОХИММАШ К.О.» (Україна) ⁶
PK - 65	Ректифікаційна колонна	1	Ректифікаційна колонна висотою 6 м і діаметром 2 м. До її складу входять теплообмінник-нагрівач (Т - 66) і дефлегматор (Т - 67) Виробник: «Mueller»
Ф – 68	Модуль мікрофільтрації	1	Модуль мікрофільтрації з PVDF-мембранами

Продовження таблиці 4.1

3 – 70	Збірник	1	Реактор-змішувач об'ємом 3 л, $K_{зап} = 0.7$, оснащений перемішувальним пристроєм (100 об/хв), виготовлений зі сталі 12Х18Н10Т. Виробник: ООО «ГК ЕВРОХИММАШ К.О.» (Україна) ⁶
--------	---------	---	---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Примітка: підбір обладнання здійснювався з використанням наступних джерел:

1. <http://tehnofilter.com.ua>
2. <http://www.elangcompressor.com/>,
3. <https://www.systemair.com/ru/CIS/>
4. <http://pnevmo-c.com.ua>
5. <https://www.donjoyvalve.com>
6. <http://euromash.kiev.ua>
7. <https://www.schott.com>
8. <http://pnevmo-c.com.ua>
9. <http://gradvent.org.ua>
10. <http://kmbp.com.ua>
11. <https://www.gea.com>
12. <http://www.energomash-tver.ru>
13. <https://en.paulmueller.com/>

РОЗДІЛ 5. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ

Технологічна схема біосинтезу жирних кислот *Synechococcus sp. HS01* включає допоміжні роботи (підготовка повітря, приготування та стерилізація поживних середовищ) та технологічний процес (підготовка посівного матеріалу і біосинтез цільового продукту).

Технологічну схему біосинтезу жирних кислот *Synechococcus sp. HS01* наведено у графічній частині проекту.

ДР 1. Підготовка аераційного повітря

ДР 1.1. Забір повітря

Необхідний об'єм атмосферного повітря забирають на висоті 11 м (ПЗ-1).

ДР 1.2. Попереднє грубе очищення повітря

Повітря пропускають через набивний фільтр (Ф-2), де відбувається затримка пилу та інших крупних часточок бруду до ступеня очищення $E = 80\%$.

ДР 1.3. Компресування повітря

Відбувається стиснення повітря у компресорі (К-3) до температури 220-250 °С і тиску 0,4 МПа.

ДР 1.4. Охолодження повітря

У теплообміннику (Т-4) температура повітря знижується до 25-30 °С.

ДР 1.5. Видалення зайвої вологи

У ресивері-вологовідділювачі (Р-5) відбувається видалення зайвої вологи до вмісту $W = 60\%$.

ДР 1.6. Нагрівання повітря

Для унеможливлення конденсації пари на волокнах головного та індивідуальних фільтрів охолоджене повітря у теплообміннику (Т-6) нагрівають до температури 35 °С.

					<i>НУХТ БТЕК 02. 02. 01 КП ПЗ</i>			
<i>Зм</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ документа</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>	<i>Розділ 5. Опис технологічної схеми</i>	<i>Літера</i>	<i>Аркуш</i>	<i>Аркушіє</i>
<i>Розробник</i>	<i>Гайдай Я.О.</i>							
<i>Керівник</i>	<i>Слободян О.П..</i>							
<i>Н. контр</i>								
<i>Консульт</i>								
<i>Зав. Каф.</i>	<i>Пирог Т. П.</i>							
						<i>Кафедра БТМ</i>		

ДР 1.7. Головне тонке очищення повітря

Повітря пропускають через головний фільтр (Ф-7), в якому фільтрувальним матеріалом є поліпропіленове волокно. Ступінь очищення становить $E = 90 \%$.

ДР 1.8. Очищення повітря на індивідуальному фільтрі

Перед кожним ферментером встановлюють індивідуальний фільтр (Ф - 14, Ф-18, Ф-20, Ф-40, Ф-42). Фільтрувальним матеріалом є скловолокно. Ступінь очищення становить $E = 99,999 \%$.

ДР 2. Приготування розчинів титрувальних агентів для регуляції рівня кислотності поживних середовищ

ДР 2.1 Приготування 6% розчину HCl для підкислення поживних середовищ

Розрахунок необхідних кількостей компонентів для приготування 6%-го розчину HCl наведений у *табл. 5.1*.

Таблиця 5.1

Розрахунок вмісту компонентів для приготування 6% розчину HCl

Об'єм середовища, яке необхідно підкислити, л	Об'єм 6%-го розчину HCl для нейтралізації, мл	Об'єм 36%-го розчину HCl, мл	Об'єм води дистил., мл	Тара для приготування розчину
33 931	67 900	11 316	56 584	Збірник об'ємом 100 л

ДР 2.1.2 Приготування 6% розчину HCl для підкислення поживного середовища у інокуляторах об'ємом 45, 306, 3033 л і виробничому ферментері

Через об'ємно-ваговий дозатор у збірник(РЗ - 14) подають 11 316 мл 36 %-го розчину HCl, після чого подають 56 584 мл питної води. (див. *табл 5.1*).

ДР 2.2 Приготування 6% розчину NaOH для підлужнення поживних середовищ

Розрахунок необхідних кількостей компонентів для приготування 6%-го розчину наведений *NaOH* у *табл. 5.2*.

Таблиця 5.2

Розрахунок вмісту компонентів для приготування 6% розчину NaOH

Об'єм середовища, яке необхідно підкислити, л	Об'єм 6%-го розчину NaOH для нейтралізації, мл	Маса кристалічного NaOH, г	Об'єм води дистил., мл	Тара для приготування розчину
33 931	67 900	4 074	63 826	Збірник об'ємом 100 л

ДР 2.2.2 Приготування і стерилізація 6 % розчину NaOH у збірнику об'ємом 45, 306, 3033 л і виробничому ферментері

Через об'ємно-ваговий дозатор у збірник(РЗ - 16) подають 4,074 кг кристалічного NaOH, після чого подають 63 826 мл питної води. Приготований 6%-й розчин NaOH стерилізується при 131°C упродовж 40 хв (див. *табл 5.2*).

ДР 3. Приготування та стерилізація поживних середовищ

ДР 3.1 Приготування та стерилізація запасного розчину мікроелементів.

Вміст компонентів для приготування запасного розчину мікроелементів наведено у *табл. 5.3*:

Таблиця 5.3

Розрахунок вмісту мікроелементів в різних об'ємах поживного середовища

Компоненти ПС	Концентрація, г/л	Вміст компонента в 0,28 л середовища	Вміст компонента в в 2,8 л середовища	Вміст компонента в 28,2 л середовища	Вміст компонента в 284 л середовища	Вміст компонента в 2807 л середовища	Суммарно (г)	
Лимонна кислота	0.006	0.0017	0.017	0.15	1.7	16.8	18.7	
H ₃ BO ₃	0.003	0.00084	0.0084	0.085	0.85	8.4	9.3	
MnCl ₂ ×4H ₂ O	0.002	0.0006	0.0056	0.056	0.57	5.6	6.2	
ZnSO ₄ ×7H ₂ O	0.000222	0.00006	0.0006	0.0062	0.063	0.62	0.7	
Na ₂ MoO ₄ ×2H ₂ O	0.000390	0.0001	0.001	0.01	0.11	1.09	1.21	
CuSO ₄ ×5H ₂ O	0.000079	0.00002	0.0002	0.002	0.022	0.22	0.24	
Co(NO ₃) ₂ ×6H ₂ O	0.000049	0.000014	0.000137	0.0013	0.014	0.14	0.15	
(NH ₄) ₅ [Fe(C ₆ H ₄ O ₇) ₂]	0.006	0.0017	0.017	0.17	1.7	16.8	18.69	
NaCl	0.0009	0.000252	0.0025	0.0254	0.2556	2.5263	2.81	
Вода	442 мл							
Разом	500 мл							58

На технічних вагах зважують 18.7 г лимонної кислоти, 9.3 г H_3BO_3 , 6.2 г $\text{MnCl}_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$, 700 мг $\text{ZnSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$, 1.21 г $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$, 240 мг $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$, 150 мг $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$, 18.69 г $(\text{NH}_4)_5[\text{Fe}(\text{C}_6\text{H}_4\text{O}_7)_2]$, 2.81 г NaCl . Наважки поміщають у колбу об'ємом 750 мл, додають 442 мл. дистильованої води і перемішують. Закривають колбу ватно-марлевою пробкою і стерилізують в автоклаві при температурі 131°C упродовж 40 хв.

ДР 3.2 Приготування та стерилізація поживного середовища для вирощування інокуляту об'ємом 0.28 л в колбах на качалках.

Вміст компонентів для приготування 0.28 л поживного середовища наведено у *табл. 5.4*:

Таблиця 5.4

Розрахунок вмісту компонентів для приготування 0.28 л поживного середовища

Компоненти ПС	Концентрація г/л	Вміст компонента в 0.28 л середовища, г (мл)	Композиція	Об'єм композиції, л
1	2	3	4	5
NaNO_3	1.5	0.42	А	0.20
$\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$	0,075	0.021		
$\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$	0,036	0.01		
Na_2CO_3	0.02	0.06		
KH_2PO_4	0.0305	0.008		
$\text{Na}_2\text{-EDTA}$	0.01	0.009		
Вода		147		
Страусовий жир	0.01	0.003	Б	0.08
Вода		79		
Разом	1.69924	0.28		0.28

ДР 3.2.1. Приготування і стерилізація композиції А.

На торсійних вагах зважують 420 мг NaNO_3 , 21 мг $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$, 10 мг $\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$, 6 мг Na_2CO_3 , 8 мг KH_2PO_4 , 9 мг $\text{Na}_2\text{-EDTA}$. Доводять рН розчину до 4.5 6-‰ розчином HCl . Наважки поміщають у колбу об'ємом 300 мл. і додають 196 мл. дистильованої води і перемішують. Закривають колбу ватно-марлевою пробкою і стерилізують в автоклаві при температурі 121°C упродовж 40 хв.

ДР 3.2.2. Приготування і стерилізація композиції Б

Відбирають 3 мл страусового жиру. Наважку вносять в колбу об'ємом 150 мл і додають 79 мл дистильованої води. Закривають колбу ватно-марлевою пробкою і стерилізують в автоклаві при температурі 112°C упродовж 30 хв.

ДР 3.3. Приготування поживного середовища для вирощування посівного матеріалу в інокуляторі об'ємом 5 л

Для вирощування посівного матеріалу у інокуляторі об'ємом 5 л готують 2,8 л поживного середовища. Вміст компонентів, необхідний для приготування 2,8 л поживного середовища наведено у *табл. 5.5*:

Таблиця 5.5.

Розрахунок вмісту компонентів для приготування 2.8 л середовища

Компоненти ПС	Концентрація, г/л	Вміст компонента в 2,8 л середовища, г (л)	Композиція	Об'єм композиції, л
1	2	3	4	5
NaNO_3	1.5	4.2	А	2
$\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$	0.075	0.21		
$\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$	0.036	0.1		
Na_2CO_3	0.02	0.06		
KH_2PO_4	0.0305	0.09		

Продовження таблиці 5.5.

Na ₂ -EDTA	0.01	0.03		
Вода		1995		
Страусовий жир	0.01	0.028	Б	0.8
Вода		799		
Разом	1,69924	2.8		2.8

ДР 3.3.1. Приготування і стерилізація композиції А.

На технічних вагах зважують 4,2 г NaNO₃, 210 мг MgSO₄×7H₂O, 100 мг CaCl₂×2H₂O, 60 мг Na₂CO₃, 90 мг KH₂PO₄, 30 мг Na₂-EDTA. Наважки розподіляють у 2 колби об'ємом 1 л, додають по 499 мл дистильованої води і перемішують. Доводять рН розчину до 4.5 6-% розчином HCl. Закривають колби ватно-марлевими пробками і стерилізують в автоклаві при температурі 131°C упродовж 40 хв.

ДР 3.3.2. Приготування і стерилізація композиції Б

Відбирають 28 мл страусового жиру. Наважку вносять в колбу об'ємом 1.5 л, і додають 799 мл дистильованої води. Закривають колбу ватно-марлевою пробкою і стерилізують в автоклаві при температурі 112°C упродовж 30 хв.

ДР 3.4. Приготування поживного середовища для вирощування посівного матеріалу в інокуляторі об'ємом 45 л

Для вирощування посівного матеріалу у інокуляторі об'ємом 45 л готують 28.2 л поживного середовища. Вміст компонентів, необхідний для приготування 28.2 л поживного середовища наведено у *табл. 5.6:*

Розрахунок вмісту компонентів для приготування 28,2 л поживного середовища

Компоненти ПС	Концентрація г/л	Вміст компонента в 28,2 л середовища, г (л)	Композиція	Об'єм композиції, л
1	2	3	4	5
NaNO ₃	1.5	42.3	А	27.2
MgSO ₄ ×7H ₂ O	0,075	2.14		
CaCl ₂ ×2H ₂ O	0,036	1		
Na ₂ CO ₃	0.02	0.56		
KH ₂ PO ₄	0.0305	0.86		
Na ₂ -EDTA	0.01	0.28		
Вода		27.150		
Страусовий жир	0.01	0.28	Б	1
Вода		0.720		
Разом	1.69924	28.2		28.2

ДР 3.4.1. Приготування і стерилізація композиції А

На аналітичних вагах зважують 42.3 г NaNO₃, 2.14 г MgSO₄×7H₂O, 1 г CaCl₂×2H₂O, 560 мг Na₂CO₃, 860 мг KH₂PO₄, 280 мг Na₂-EDTA і переносять у збірник(РЗ - 10), через об'ємно-ваговий дозатор подають 19.9 л питної води, доводять рН розчину до 4.5 6-% розчином HCl і вмикають перемішуючий пристрій. Після чого розчин при температурі 131 °С упродовж 40 хв.

ДР 3.4.2. Приготування і стерилізація композиції Б

Відбирають 280 мл страусового масла переносять у колбу об'ємом 1.5 л і додають 720 мл питної води. Після чого розчин стерилізують в автоклаві при температурі 112 °С упродовж 30 хв. Стерилізовані розчини подають в інокулятор.

ДР 3.5. Приготування поживного середовища для вирощування посівного матеріалу в інокуляторі об'ємом 312 л

Для вирощування посівного матеріалу у інокуляторі об'ємом 312 л готують 284 л поживного середовища. Вміст компонентів, необхідний для приготування 284 л поживного середовища наведено у *табл. 5.7*:

Таблиця 5.7.

Розрахунок вмісту компонентів для приготування 284 л середовища

Компоненти ПС	Концентрація г/л	Вміст компонента в 284 л середовища, г (л)	Композиція	Об'єм композиції, л
1	2	3	4	5
NaNO ₃	1.5	426	А	277
MgSO ₄ ×7H ₂ O	0.075	21.3		
CaCl ₂ ×2H ₂ O	0.036	10.2		
KH ₂ PO ₄	0.0305	8.6		
Na ₂ -EDTA	0.01	2.84		
NaCl	0.0009	0.25		
Na ₂ CO ₃	0.02	5.7		
Вода		273.5		
Страусовий жир	0.01	2.84		
Вода		4.16		
Разом	1.69924	284		284

ДР 3.5.1. Приготування та стерилізація композиції А

На технічних вагах зважують 426 г NaNO₃, 21.3 г MgSO₄×7H₂O, 10.2 г CaCl₂×2H₂O, 1.7 г лимонної кислоти, 850 мг Н₃ВО₃, 570 мг MnCl₂×4H₂O, 110 мг Na₂MoO₄×2H₂O, 1.7 г (NH₄)₅[Fe(C₆H₄O₇)₂], 5.7 г Na₂CO₃, 8.6 г KH₂PO₄, 2.84 г Na₂-EDTA, 5.7 г Na₂CO₃, переносять у збірник (РЗ - 18), через об'ємно-ваговий дозатор подають 193.5 л питної води, доводять рН розчину до 4.5 6-%

розчином HCl і вмикають перемішуючий пристрій. Після чого розчин при температурі 131 °C упродовж 40 хв.

ДР 3.5.3. Приготування і стерилізація композиції В

Відбирають 2.8 л страусового масла переносять у баллон об'ємом 10 л, через об'ємно-ваговий дозатор подають 4.16 л питної води і вмикають перемішуючий пристрій. Після чого розчин стерилізують при температурі 112 °C упродовж 30 хв. Стерилізовані розчини з баллона подають в інокулятор.

ДР 3.6. Приготування і стерилізація поживного середовища для вирощування інокуляту в інокуляторі об'ємом 3088 л.

Для вирощування посівного матеріалу у інокуляторі об'ємом 3088 л готують 2807 л поживного середовища. Вміст компонентів, необхідний для приготування 2807 л поживного середовища наведено у *табл. 5.8.*

Таблиця. 5.8.

Розрахунок вмісту компонентів для приготування 2807 л середовища

Компоненти ПС	Концентрація , г/л	Вміст компонента в 2807 л середовища, г (л)	Композиція	Об'єм композиції, л
1	2	3	4	5
NaNO ₃	1.12	4210	А	2707
MgSO ₄ ×7H ₂ O	0.075	210		
CaCl ₂ ×2H ₂ O	0.036	101		
KH ₂ PO ₄	0.0305	85.6		
Na ₂ -EDTA	0.01	28		
Вода		2 656		
Страусовий жир	0.01	28.01	В	100
Вода		72		
Разом	1.69924	2807		2807

ДР 3.6.1. Приготування та стерилізація композиції А

На технічних вагах зважують 4210 г NaNO_3 , 210 г $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$, 101 г $\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$, 16.8 г лимонної кислоти, 8.4 г H_3BO_3 , 5.6 г $\text{MnCl}_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$, 620 мг $\text{ZnSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$, 1.09 мг $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$, 220 мг $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$, 140 мг $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$, 16.8 г $(\text{NH}_4)_5[\text{Fe}(\text{C}_6\text{H}_4\text{O}_7)_2]$, 56.1 г Na_2CO_3 , 85.6 мг KH_2PO_4 , 28 мг $\text{Na}_2\text{-EDTA}$, переносять у збірник(РЗ - 34), через об'ємно-ваговий дозатор подають 2656 л питної води, доводять рН розчину до 4.5 6-% розчином HCl і вмикають перемішуючий пристрій. Після чого розчин при температурі 131 °С упродовж 40 хв.

ДР 3.6.3. Приготування і стерилізація композиції Б

Відбирають 28 л страусового масла переносять у збірник(РЗ - 36), через об'ємно-ваговий дозатор подають 72 л питної води і вмикають перемішуючий пристрій. Після чого розчин при температурі 112 °С упродовж 30 хв. Стерилізовані розчини із збірників подають в інокулятор.

ДР 3.7. Приготування і стерилізація поживного середовища для виробничої ферментації

Для вирощування посівного матеріалу у інокуляторі об'ємом 3088 л готують 2807 л поживного середовища. Вміст компонентів, необхідний для приготування 2807 л поживного середовища наведено у *табл. 5.9*.

Таблиця. 5.9.

Розрахунок вмісту компонентів для приготування 27720 л середовища

Компоненти ПС	Концентрація, г/л	Вміст компонента в 27720 л середовища, г (л)	Об'єм композиції, л
1	2	3	5
NaNO_3	1.5	41 580	27 720
$\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$	0.075	2079	

Продовження таблиці. 5.9.

CaCl ₂ ×2H ₂ O	0.036	998
Лимонна кислота	0.006	166
H ₃ BO ₃	0.003	83
MnCl ₂ 4H ₂ O	0.002	55.4
ZnSO ₄ 7H ₂ O	0.000222	6
Na ₂ MoO ₄ 2H ₂ O	0.000390	10.8
CuSO ₄ ×5H ₂ O	0.000079	2.2
Co(NO ₃) ₂ ×6H ₂ O	0.000049	1.4
(NH ₄) ₅ [Fe(C ₆ H ₄ O ₇) ₂]	0.006	166.3
Na ₂ CO ₃	0.02	554
KH ₂ PO ₄	0.0305	845
Na ₂ -EDTA	0.01	277
Страусове масло	0.01	277
Вода		27 673
Разом	1,69924	27 720

ДР 3.7.1. Приготування та стерилізація поживного середовища

Через об'ємно-ваговий дозатор у збірник (РЗ - 22) вносять компоненти поживного середовища, подають 27673 л питної води і вмикають перемішуючий пристрій. За допомогою насоса (Н - 23) суміш надходить у реактор-збірник (РЗ - 24) де відбувається нагрівання поживного середовища.

Поживне середовище за допомогою насоса (Н - 25) надходить в теплообмінник-рекуператор(Т - 26), а потім у колону для стерилізації (К - 27), після чого надходить у витримувач(Т - 28). Після витримування поживне середовище надходить в рекуператор пластинчастий(Т - 29) для охолодження. Після охолодження насос (Н - 31) перекачує стерилізоване поживне

середовище у збірник(З - 32), з якого поживне середовище подається в кожний ферментер(ФР - 41).

ТП 4. Підготовка посівного матеріалу

ТП 4.1. Підтримання колекційної культури

Колекційну культуру *Synechococcus sp. HS01* зберігають у пробірках з рідким середовищем BG-11. Пересіви здійснюють кожні 3-4 місяці. Всі роботи з колекційною культурою проводяться строго в асептичних умовах.

ТП 4.2. Одержання робочої культури на агаризованих середовищах

Колекційну культуру, що зберігається в пробірках з рідким середовищем, пересівають петлею в пробірки зі рідким середовищем того ж складу і вирощують 48 годин при температурі 26 °С.

ТП 4.3. Вирощування культури в колбах на качалках

У пробірці з робочою культурою *Synechococcus sp. HS01*, вирощену на рідкому середовищі, піпеткою відбирають одержану бактеріальну суспензію і переносять у колбу. Колбу закривають ватно-марлевою пробкою. Для засіву однієї колби використовують бактеріальну суспензію, одержану з однієї пробірки.

Для вирощування рідкого посівного матеріалу по 56 мл стерилізованого розчину композицій А (ДР 3.2.1), 26 мл композиції Б (від ДР 3.2.2), 3 мл запасного розчину(ДР 3.1) і вносять в 3 колби об'ємом 750 мл і перемішують усі компоненти.

Бактерії вирощують у колбах на качалці (180 об/хв) упродовж 48 годин під освітленням потужністю. Температура культивування - 26 °С.

ТП 4.4. Вирощування культури в посівному апараті об'ємом 45 л

В посівний апарат з реакторів-збірників подають простерилізовані розчини композиції А (від ДР 3.3.1), композиції Б (від ДР 3.3.2), 100 мл запасного розчину(ДР 3.1) відповідно, після чого через трубу перетискування вносять посівний матеріал (від ТП 4.3.). Температура культивування 26 °С,

повітря подається зі швидкістю 0.4 м/с. Для забезпечення фотосинтезу застосовуються світлодіодні лампи. Тривалість культивування становить 48 год.

Періодично (кожні 4 год) відбирають пробу культуральної рідини для мікробіологічного контролю та визначення кількості життєздатних клітин.

ТП 4.5. Вирощування культури в посівному апараті об'ємом 312 л

В посівний апарат з реакторів-збірників подають простерилізовані розчини композиції А (від ДР 3.4.1), композиції Б (від ДР 3.4.2), 936 мл запасного розчину (ДР 3.1) відповідно, після чого через трубу перетискування вносять посівний матеріал (від ТП 4.4.). Температура культивування 26 °С, повітря подається зі швидкістю 1 м/с, швидкість потоку становитиме – 0.6 м/с. В темний час доби вмикаються світлодіодні лампи для забезпечення фотосинтезу. Тривалість культивування становить 48 год.

Періодично (кожні 4 год) відбирають пробу культуральної рідини для мікробіологічного контролю та визначення кількості життєздатних клітин.

ТП 4.6. Вирощування культури в посівному апараті об'ємом 3088 л

В посівний апарат з реакторів-збірників подають простерилізовані розчини композиції А (від ДР 3.5.1), композиції Б (від ДР 3.5.2) композиції В (від ДР 3.5.3) відповідно, після чого через трубу перетискування вносять посівний матеріал (від ТП 4.5.). Температура культивування 26 °С, повітря подається зі швидкістю 1 м/с, швидкість потоку становитиме – 0.6 м/с. В темний час доби вмикаються світлодіодні лампи для забезпечення фотосинтезу. Тривалість культивування становить 48 год.

Періодично (кожні 4 год) відбирають пробу культуральної рідини для мікробіологічного контролю та визначення кількості життєздатних клітин.

ТП 5. Біосинтез

ТП 5.1. Виробниче культивування у виробничих ферментерах

Для вирощування інокуляту у попередньо простерилізований ферментер (ФР - 44) зі збірника(З - 32) подають 27.72 м³ простерилізованого поживного середовища (від ДР 3.5) і через трубу перетискування вносять посівний матеріал (від ТП 4.6.). Після чого вмикають подачу повітря і вуглекислого газу для циркуляції культуральної рідини. Температура культивування 26 °С, повітря подається зі швидкістю 1 м/с, швидкість потоку становитиме – 0.6 м/с. В темний час доби вмикаються світлодіодні лампи для забезпечення фотосинтезу. Тривалість культивування становить 48 год.

Періодично (кожні 4 год) відбирають пробу культуральної рідини для мікробіологічного контролю та визначення кількості життєздатних клітин. Наприкінці культивування визначають показники біосинтезу.

ТП 6. Відділення клітин

ТП 6.1. Розділення культуральної рідини в сепараторі

Культуральну рідину подають у збірник (З - 42) об'ємом 50 м³. Від збірника біомаса насосом (Н - 43) перекачується у сепаратор(С - 44). Здійснюється центрифугування при 10000 об/хв. Фугат насосом (Н – 45) перекачується у збірник(З - 46) об'ємом 20 л.

ТП 7. Висушування біомаси

ТП 7.1. Випарювання води

Біомаса зі збірника(З - 46) подається у розпилювальну сушарку (СР - 52) і висушується при температурі 190°С за допомогою гарячого повітря.

Повітря з атмосфери з температурою 20°С та вологістю 60-90% забирають вентилятором через забірну шахту висотою 20 – 30 м. Повітря очищається фільтром грубої очистки (Ф - 49), нагрівається у теплообміннику (Т - 51) до заданої температури та подається в апарат одночасно за біомасою зі збірника.

ТП 8. Одержання біодизелю

ТП 8.1. Пряма трансестерифікація

Висушена біомаса від ТП 7.1 і 3.2 л H_2SO_4 через об'ємно-ваговий дозатор подаються у реактор (РЗ - 61). Зі збірника(РЗ - 60) через подають 268 л метанолу. Процес здійснюється при перемішуванні швидкістю 300 об/хв, температурі $90^{\circ}C$ і протягом 2 год.

ТП 9. Відділення біомаси ціанобактерій

ТП 9.1 Центрифугування

Біодизель з домішками від (від ТП 8.1) з реактора (РЗ - 61) насосом (Н - 62) перекачують в сепаратор (С - 63) і центрифугують при 10000 об/хв.

ТП 10. Регенерація розчинників

ТП 10.1. Випарювання суміші гексану і етанолу

Фугат (від ТП 4.1) насосом (Н - 64) суміш завантажується у ректифікаційну колонну (РК - 65), де нагрівається гріючою парою. Пара та летка фаза підіймаються по колонні у дефлегматор (Т - 67). Флегма конденсується й стікає назад у колону, а дистиллят виводиться з установки.

ТП 11. Очищення біодизелю

ТП 11.1. Мікрофільтрування

Сирий біодизель від ТП 5.1 подається у фільтрувальну установку (Ф - 68). Фільтрація відбувається при температурі $60^{\circ}C$, тиску 1.5 мПа і рН = 12. Необхідний рівень рН досягається додаванням NaOH. Фільтрат насосом (Н - 69) перекачується у збірник (З - 70), у якому далі зберігається.

ЗВ 12. Знешкодження відходів

ЗВ 12.1. Знешкодження рідких відходів

Відходи від виробничих етапів від ДР 6.1., ДР 9.1., ДР 11.1 йдуть на очисні споруди.

ЗВ 12.2. Знешкодження повітряних відходів

Відпрацьоване повітря, що надходить з посівного апарату та ферментеру ДР 4.4, ТП 4.5, ТП 4.6, ТП 5, ТП 5.7, ТП 7.1 відправляють у системи знешкодження повітряних.

РОЗДІЛ 6. КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА БІОДИЗЕЛЮ

6.1. Методики визначення

Упродовж культивування періодично (кожні 4 год) відбирають проби культуральної рідини для мікробіологічного контролю, визначення концентрації біомаси і КУО, а також вмісту джерела вуглецю (CO_2) і азоту (NaNO_3 , $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$, $(\text{NH}_4)_5[\text{Fe}(\text{C}_6\text{H}_4\text{O}_7)_2]$). Після закінчення ферментації відбирають пробу для визначення концентрації ліпідів.

6.1.1. Мікробіологічний контроль ферментації

Мікробіологічний контроль здійснюється шляхом розсіву культури на чашки Петрі з агаризованими середовищами і мікроскопіюванням. Культуральну рідину розсівають петлею до ізольованих колоній на чашки Петрі з триптон-соевим агаром (ТСА) або м'ясо-пептонним агаром (МПА) для виявлення бактерій, з сусло-агаром (СА) – для виявлення дріжджів і грибів. Для мікроскопіювання використовують препарати «роздавлена крапля». На чисте предметне скло наносять маленьку краплю культуральної рідини. Протилежним кінцем мікробіологічної петлі або голки злегка притискають покривне скло до предметного. Надлишок води видаляють фільтрувальним папером, підносячи його до граней покривного скла. При перегляді приготовленого препарату під мікроскопом з імерсійною системою зверху на покривне скло наносять краплю імерсійної олії і розглядають з об'єктивом 90x[73].

В пробі має бути відсутня будь-яка мікробіота окрім клітин *Synechococcus sp. HS01*. Клітини *Synechococcus sp. PCC 7202*, за морфологічними ознаками подібні до клітин *Synechococcus sp. HS01* зображені на *Рис. 5.1*[74].

					НУХТ БТЕК 02. 02. 01 КП ПЗ			
Зм	Арк.	№ документа	Підпис	Дата				
Розробник		Гайдай Я.О.			Розділ 6. Контроль виробництва біодизелю	Літера	Аркуш	Аркушіє
Керівник		Слободян О.П..						
Н. контр								
Консульт								
Зав. Каф.		Пирог Т. П.						
						Кафедра БТМ		



Рис. 6.1; Колонії типової культури роду *Synechococcus*;
(збільшення x90)[74]

6.1.2. Концентрація біомаси:

У концентрацію біомаси визначають за оптичною густиною клітинної суспензії з наступним перерахунком на суху біомасу у відповідності з калібрувальним графіком.

У пробірку із 9 мл дистильованої води вносять по 1 мл культуральної рідини. Суміш збовтується, потім вимірюється оптична густина (при 540 нм). Концентрацію біомаси визначають калібрувальним графіком. Концентрація має складати 400 мг/л[5,75].

6.1.3. Контроль джерел азоту

6.1.3.1 Контроль кількості NH_4

Для визначення концентрації нітратного азоту обрано датчик НАСН NH4D sc. Ammonium Sensor (рис.6.2).



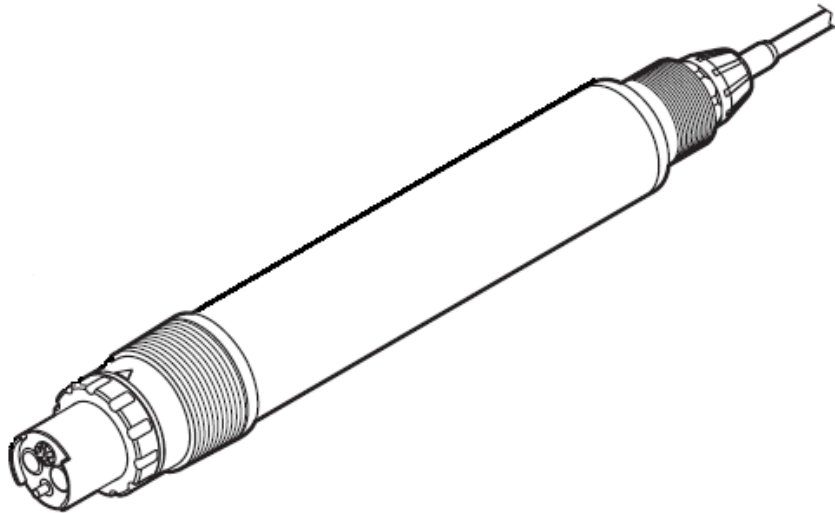


Рис. 6.2. Схематичне зображення датчика HACH NH4D sc. Ammonium Sensor[76]

Даний пристрій призначено для моніторингу вмісту амонію у товщі рідини без попередньої обробки. Іоноселективний датчик HACH NH4D sc. Ammonium Sensor вимірює концентрацію амонію з точність до 0,5 %. Діапазон температури рідини – від 2 до 40 °С. Концентрація NH_4 має складати 0.001 г/л[5, 76].

6.1.3.2 Контроль кількості NO_3

Для визначення концентрації нітратного азоту використано іоноселективний датчик HACH Digital N-ISE sc Nitrate Sensor (рис. 6.3).



Рис. 6.3. Датчик HACH Digital N-ISE sc Nitrate Sensor[77]

Даний пристрій застосовується для моніторингу вмісту і концентрації нітратного азоту безпосередньо у товщі рідини без попередньої обробки. Датчик HACH Digital N-ISE sc Nitrate Sensor вимірює концентрацію нітратного азоту точністю до 0.5 %. Концентрація NO_3 має складати 1.09 г/л [5, 77].

6.1.4. Контроль концентрації жирних кислот

Загальний вміст жирних в клітинах ціанобактерій оцінюється гравіметрично. Клітини відділяють шляхом центрифугування (4500 , 4 мкг, 10 хв) з подальшим заморожуванням при 280 °С і ліофілізацією. Суху біомасу ціанобактерій масою 100 мг змішують з 5 мл суміші хлороформу і метанолу (у пропорції 2:1) і обробляють ультразвуком протягом 30 с. Суміш нагрівають при 65 °С протягом 1 години з подальшим додаванням метанолу та розчину NaCl (1% мас/об.) до кінцевого об'ємного співвідношення хлороформу/метанолу/NaCl 1:1:0.9. Центрифугуванням (4000 г, 4 мкг, 5 хв) відбирають шар ліпідів і хлороформу, після чого переносять у флакон. Висушують на випарнику. Висушений вміст флаконів вимірюють гравіметрично. На основі вмісту ліпідів розраховують концентрацію жирних кислот, вона має становити 113 мг/л [5].

6.1.5. Точка спалаху

У випробувальний тигель апарату Пенскі-Мартенса поміщають випробуваний зразок і нагрівають, щоб температура постійно підвищувалася на 5°С - 6°С на хвилину.



Рис. 6.4. Апарат Пенскі-Мартенса [78]

Випробуваний зразок перемішують зверху вниз зі швидкістю від 90 до 120 об/хв. При досягненні температури 78°C перемішування припиняють, джерело запалювання опускають і далі з інтервалами 1°C підіймають і опускають через отвір в кришці тигля. Як температуру спалаху записують температуру випробуваного зразка за показаннями термометра в той час, коли полум'я запального пристрою викликає чітко виражений спалах всередині випробувального тигля. Відповідно до стандартів, точка спалаху біодизелю має становити 101°C [79, 80].

6.1.6. Концентрація води

Проба об'ємом 1-2 мл вливається в титрувальну посудину кулонометричного апарату Карла Фішера з реактивом Карла Фішера. Кулонометричним способом на аноді утворюється йод, який реагує зі спиртом, водою, оксидом сірки і основою в складі реактиву, утворюючи сполуку. Після титрування всієї води, надмірний йод виявляється за

допомогою електрометричного детектора кінцевої точки і титрування завершується. На основі стехіометрії реакції, один моль йоду вступає в реакцію з одним молем води і таким чином, кількість води пропорційна повному інтегрованому току відповідно до закону Фарадея. Масова частка води у відсотках розраховується за формулою[79, 81]:

$$w = \frac{100m_2}{m_1 \times 10^6}$$

m_1 - маса аналізованої проби, в грамах (г);

m_2 - маса води за показаннями приладу, в міліграмах (мг).

Відповідно до стандартів, концентрація води в готовому біодизелі має становити не більше 500 мг/кг[79].

6.1.7. Кінематична в'язкість

Суть методу полягає у вимірюванні каліброваним скляним віскозиметром часу витікання, в секундах, визначеного обсягу випробуваної рідини під впливом сили тяжіння при постійній температурі.



Рис. 6.4. Віскозиметр[82]

Віскозиметр заповнюють пробєю біодизелю і поміщують в водяну баню. Наповнений віскозиметр витримують в бані до тих пір, поки він не прогріється до температури випробування. Вимірюють час за який вся проба протече через капіляр віскозиметра. Кинематичну в'язкість(мм/с), розраховують по формулі[83]:

$$v = Ct,$$

де С - калібровочна стала віскозиметра, мм/с;

t – час витікання

Відповідно до стандартів, в'язкість готового біодизелю має становити 3.5-5.0 мм²/с[79].

6.1.8. Щільність

Доводять температуру зразка до 15°C і поміщають зразок у циліндр для ареометра(на рис. 6.4.), температура якого приблизно дорівнює температурі зразка. Відповідний ареометр, температура якого також приблизно дорівнює температурі зразка, занурюють в випробуваний зразок так, щоб ареометр вільно плавав. Після досягнення температурного рівноваги зчитують показання ареометра, реєструють температуру випробуваного зразка і зняте показання переводять в відповідне значення щільності при температурі 15°C, використовуючи таблиці вимірювань параметрів нафти [84].



Рис. 6.4. Ареометр[85]

Відповідно до стандартів, щільність готового біодизелю має становити 860-900 кг/м³[79].

6.1.10. Концентрація метилових естерів жирних кислот

Визначення змісту складних метилових ефірів жирних кислот проводять методом газової хроматографії з калібруванням по метілгептодеканоату. Хроматограф має працювати за таких налаштувань: температура інжектора - приблизно 200°C, температура детектора рівна температурі колонки або вище, швидкість потоку носія залежить від діаметру колони (15 - 60 см³/хв), температура колонки залежить від концентрації стаціонарної фази(175 - 185°C), покази хроматографа мають давати не менше 2000 теоретичних тарілок на 1 м і розрішення не менше 1,25. Відповідно до стандартів, концентрація метилових естерів жирних кислот готового біодизелю має становити 860-900 кг/м³[79, 86, 87].

6.1.9. Визначення концентрації сульфатної золи

Поміщають в чашку необхідну масу випробуваного зразка (не більше 80 г) з точністю до 0,1 мг, обчислену за формулою[88]:

$$m_1 = \frac{10}{m_0}$$

де m_0 - передбачувана масова частка сульфатної золи, %;

m_1 - маса досліджуваної проби, г.

Зразок спалюють до перетворення у кіптяву. Після охолодження залишку, по краплям додають сірчану кислоту і прожарюють зразок в печі при температурі 775°C до повного окислення вуглецю. Потім знову охолоджують, додають три краплі води і 10 крапель розчину сірчаної кислоти так, щоб змочити весь залишок і прожарюють при температурі 775°C до постійної маси і обчислюють вміст отриманої сульфатної золи в масових відсотках[88]:

$$A = 100 \frac{m_2}{m_1}$$

де m_1 - маса випробуваного зразка, г;

m_2 - маса сульфатної золи, г.

Відповідно до стандартів, концентрація сульфатної золи має не більше становити 0.02% [79].

6.1.10. Визначення кислотного числа

У конічну колбу місткістю 250 см поміщають 20 г зваженого випробуваного зразка. Випробуваний зразок розчиняють в 100 см попередньо нейтралізованої суміші розчинника, титрують розчином гідроксиду калію до кінцевої точки титрування, коли додавання однієї краплі цього розчину призводить до невеликої зміни забарвлення, що не зникає протягом 15 с. Кислотне число вираховується за формулою[89]:

$$\text{Кислотне число} = \frac{56.1 \times V \times c}{m}$$

де 56.1 - молекулярна маса гідроксиду калію;

V - обсяг витраченого на титрування стандартного розчину гідроксиду калію, см;

c - точна концентрація використаного стандартного розчину гідроксиду калію, моль/дм;

m - маса випробуваного зразка, г.

Відповідно до стандартів, кислотне число готового біодизелю має становити 0.50 мг КОН/г[79].

6.1.11 Розрахунок концентрації метанолу

Зразок нагрівають при 80 ° С в герметично закупореній пробірці, щоб забезпечити десорбції метанолу в газову фазу. Після досягнення рівноваги певну частину газової фази вводять в газовий хроматограф, де метанол визначають з використанням полум'яно-іонізаційного детектора. Умови роботи хроматографа[79, 90]:

- колонка DB1 (довжина - 30 м, внутрішній діаметр – 0.32 мм, товщина плівки - 3 мкм);
- щілинна форсунка (швидкість потоку - 50 см / хв);
- температура інжектора і детектора - 150 ° С;
- температура термостата і колонки - 50 ° С;
- тиск газу-носія (водню) - 40 кПа;
- обсяг введеної проби - 500 мкл.

Зміст метанолу в зразку, %мас., розраховують за такою формулою і округлюють до двох десяткових знаків після коми[79, 90]:

$$C_m = \frac{F S_m C_i}{S_i}$$

де F - коефіцієнт калібрування, отриманий відповідно до 8.1.1;

S_m - площа піку метанолу;

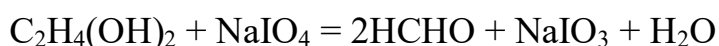
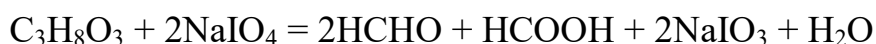
C_i - зміст 2-пропанолу в зразку, %мас. (якщо введено 5 мкл 2-пропанолу в 5,0 г каліброваного розчину, то 0,0785% мас.);

S_i - площа піку 2-пропанолу.

Відповідно до стандартів, концентрація метанолу в готовому біодизелі має становити не більше 0.2%[79].

6.1.12. Вміст гліцерину

Суть методу полягає в тому, що при взаємодії гліцерину, який міститься у біодизельному пальному, з натрію мета-періодатом у присутності 95% етанолу утворюється формальдегід, кількість якого є пропорційною до кількості гліцерину у пробі. Формальдегід, який утворився далі взаємодіє з ацетил-ацетоном з утворенням комплексу 3,5-діацетил-1,4-дигідролутидину жовтого кольору. Рівняння реакцій:



Спектрофотометрично визначають вміст гліцерину у пробі біодизельного пального за інтенсивністю смуги при довжині хвилі 410 нм. Кількісне визначення проводять з використанням спеціально побудованої градуовальної кривої в координатах вміст – інтенсивність поглинання. Концентрація гліцерину в готовому біодизелі має становити не більше 0.25% [79, 91].

6.1.13 Вміст сульфатів

Турбідиметричний метод заснований на визначенні сульфат-іонів у вигляді сірчаноокислого барію в солянокислому середовищі за допомогою гліколевого реагенту. У пробірку наливають 5 мл проби, додають 1-2 краплі соляної кислоти, 5 мл гліколевого реагенту. Перемішують і залишають пробірки на 30 хв. Потім вимірюють оптичну густину розчину на ФЕК (кювета з товщиною шару 20 мл, світлофільтр 364 нм) і концентрацію сульфатів визначають по калібрувальному графіку. Концентрація сульфатів в готовому біодизелі має становити не більше 10.0 мг/кг [79, 92].

6.1.14 Цетанове число

Цетанове число дизельного палива визначають порівнянням характеристик його згоряння в двигуні з характеристиками згоряння н-гексадекану(цетанове число 100) і метил нафталіну(цетанове число 0) в

стандартних робочих умовах. Порівняння проводять на випробувальному чотирикамерному двигуні[79, 93].



Рис. 6.4. Установка ИДТ-90 для визначення цетанового числа[79, 93].

За показаннями, отриманими на маховику, шляхом зміни ступеня стиснення для отримання необхідного кута затримки запалення, що дозволяє провести інтерполяцію цетанового числа в одиниці показань маховика. Швидкість обертання двигуна повинна складати (900 ± 9) об/хв при роботі двигуна в режимі згоряння палива. Максимально допустиме відхилення швидкості обертання двигуна при випробуванні не повинно перевищувати 9 об/хв. Швидкість обертання двигуна в режимі згоряння палива не повинна перевищувати швидкість двигуна при прокручуванні без згоряння палива більш ніж на 3 об/хв[79, 93].

Встановлюють ручної маховик механізму зміни ступеня стиснення так, щоб отримати значення кута затримки запалення $(13.0 \pm 0.2)^\circ$. Важливо забезпечити стабільність показань кута випередження впорскування і затримки займання. Стабілізація показань, досягається за 5-10 хв. Записують значення показань ручного маховика, характерні для згоряння зразка випробуваного палива. Цетанове число розраховується за формулою[79, 93]:

$$CN_s = CN_{LRF} + \left(\frac{HW_s - HW_{LRF}}{HW_{HRF} - HW_{LRF}} \right) \times (CN_{HRF} - CN_{LRF})$$

де CN_{LRF} - цетанове число низькоцетанового еталонного палива;

HW_S - покази маховика для зразка;

HW_{LRF} - покази маховика для низькоцетанового еталонного палива;

HW_{HRF} - показання маховика для високоцетанового еталонного палива;

CN_{HRF} - цетанове число високоцетанового еталонного палива.

Цетанове число готового біодизелю має становити 51[79].

6.1.15. Час окиснення

Для вимірювання використовується апарат Карла-Фішера (рис 4.2). Зразок витримують у реакційній посудині та піддають нагріванню за певних температур (100, 110 і 120 С). Потік повітря(об'ємом 9 л/год) пропускається через зразок, що міститься в герметичній та нагрітій реакційній посудині. Це призводить до окиснення молекул зразка і отримання гідропероксидів. Через деякий час гідропероксиди розкладаються. Продукти розкладу включають низькомолекулярні органічні кислоти і зокрема, леткі органічні сполуки. Вони з потоком повітря потрапляють до другої посудини, що містить дистильовану воду. Визначення кількості органічних кислот здійснюється за рахунок збільшення провідності. Час, що проходить до появи цих вторинних продуктів реакції(час індукції) визначається графічно. Час окиснення біодизелю має становити більше 8 год[79, 94].

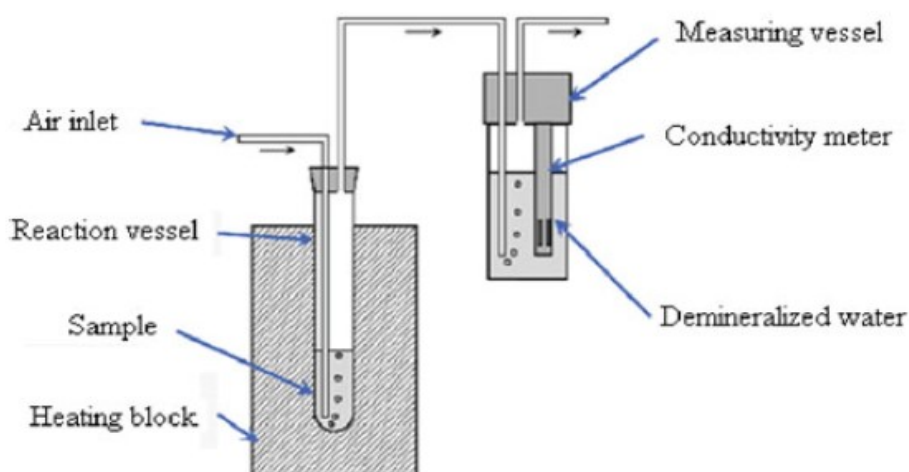


Рис. 8.2. Апарат Карла-Фішера[94].

6.2. Карта постадійного контролю біосинтезу ліпідів

Таблиця 6.1

Карта постадійного контролю біосинтезу ліпідів

Номер контрольної точки та назва стадії	Об'єкт контролю і показник, що визначається	Засоби та методи контролю	Періодичність перевірки та порядок відбору проб	Нормативна характеристика показника, що визначається
1	2	3	4	5
Кт 1.2. Попереднє грубе очищення повітря	Повітря на виході з фільтра грубої очистки, ступінь очищення, перепад тисків	Манометр технічний, перевірка ступеня очищення згідно паспорту фільтра	Після очистки повітря у фільтрі грубого очищення	$E = 80 \%$, тиск згідно паспорту
Кт 1.3. Компресування повітря	Стиснене повітря, температура, тиск	Манометр технічний, термометр	Після компресування повітря	$P = 0.35-0.5 \text{ МПа}$, $t = 220-250 \text{ }^\circ\text{C}$
Кт 1.4. Охолодження повітря	Охоложене повітря, температура	Термометр технічний	Після охолодження повітря	$t = 25-30 \text{ }^\circ\text{C}$
Кт 1.5. Видалення зайвої вологи	Повітря після видалення зайвої вологи	Психрометричний метод	Після видалення зайвої вологи	$W = 60 \%$

Номер контрольної точки та назва стадії	Об'єкт контролю і показник, що визначається	Засоби та методи контролю	Періодичність перевірки та порядок відбору проб	Нормативна характеристика показника, що визначається
1	2	3	4	5
Кт 1.6. Нагрівання повітря	Нагріте повітря, температура	Термометр технічний	Після нагрівання повітря	$E = 90 \%$, тиск згідно паспорту
Кт 1.7. Головне тонке очищення повітря	Повітря на виході з головного фільтра, ступінь очищення, перепад тисків	Манометр технічний, перевірка ступеня очищення згідно паспорту фільтра	Після очистки повітря у головного фільтра	$t = 35 \text{ }^{\circ}\text{C}$,
Кт 1.8. Очищення повітря в індивідуальному фільтрі	Повітря на виході з індивідуального фільтра, ступінь очищення, перепад тисків	Термометр технічний, перевірка ступеня очищення згідно паспорту фільтра	Під час очистки повітря у індивідуальному фільтрі	$E = 99.999 \%$, тиск згідно паспорту
Кх 2.1. Пригот. 6% р-ну HCl	Розчин HCl, концентрація розчину	Хімічний метод	хімічний контроль проводять після приготування розчину	$C = 6 \%$

Номер контрольної точки та назва стадії	Об'єкт контролю і показник, що визначається	Засоби та методи контролю	Періодичність перевірки та порядок відбору проб	Нормативна характеристика показника, що визначається
1	2	3	4	5
Кх 2.2. Пригот. 6% р-ну NaOH	Розчин NaOH, концентрація розчину	Хімічний метод	Хімічний контроль проводять після приготування розчину	C = 6%
Кт, Км 3.1. Приготування і стерилізація запасного розчину	Композиція А, час стерилізації, температура, стерильність	Термометр технічний, годинник, мікробіологічний контроль	Температура визначається під час стерилізації, мікробіологічний контроль після стерилізації	t = 131 ⁰ С, τ = 40 хв, відсутність мікробіоти
Кт, Км 3.2.1. Приготування і стерилізація композиції А	Композиція А, час стерилізації, температура, стерильність	Термометр технічний, годинник, мікробіологічний контроль	Температура визначається під час стерилізації, мікробіологічний контроль після стерилізації	t = 131 ⁰ С, τ = 40 хв, відсутність мікробіоти
Кт, Км 3.2.2. Стерилізація композиції Б	Композиція Б, час стерилізації, температура, стерильність	Термометр технічний, годинник, мікробіологічний контроль	Температура визначається під час стерилізації, мікробіологічний контроль після стерилізації	t = 112 ⁰ С, τ = 30 хв, відсутність мікробіоти

Номер контрольної точки та назва стадії	Об'єкт контролю і показник, що визначається	Засоби та методи контролю	Періодичність перевірки та порядок відбору проб	Нормативна характеристика показника, що визначається
1	2	3	4	5
Кт, Км 3.3.1. Приготування і стерилізація композиції А	Композиція А, час стерилізації, температура, стерильність	Термометр технічний, годинник, мікробіологічний контроль	Температура визначається під час стерилізації, мікробіологічний контроль після стерилізації	t = 131 ⁰ С, τ = 40 хв, відсутність мікробіоти
Кт, Км 3.3.2. Стерилізація композиції Б	Композиція Б, час стерилізації, температура, стерильність	Термометр технічний, годинник, мікробіологічний контроль	Температура визначається під час стерилізації, мікробіологічний контроль після стерилізації	t = 112 ⁰ С, τ = 30 хв, відсутність мікробіоти
Кт, Км 3.4.1. Приготування і стерилізація композиції А	Композиція А, час стерилізації, температура, стерильність	Термометр технічний, годинник, мікробіологічний контроль	Температура визначається під час стерилізації, мікробіологічний контроль після стерилізації	t = 131 ⁰ С, τ = 40 хв, відсутність мікробіоти
Кт, Км 3.4.2. Стерилізація композиції Б	Композиція Б, час стерилізації, температура, стерильність	Термометр технічний, годинник, мікробіологічний контроль	Температура визначається під час стерилізації, мікробіологічний контроль після стерилізації	t = 112 ⁰ С, τ = 30 хв, відсутність мікробіоти

Номер контрольної точки та назва стадії	Об'єкт контролю і показник, що визначається	Засоби та методи контролю	Періодичність перевірки та порядок відбору проб	Нормативна характеристика показника, що визначається
1	2	3	4	5
Кт, Км 3.5.1. Приготування і стерилізація композиції А	Композиція А, час стерилізації, температура, стерильність	Термометр технічний, годинник, мікробіологічний контроль	Температура визначається під час стерилізації, мікробіологічний контроль після стерилізації	$t = 131^{\circ}\text{C}$, $\tau = 40$ хв, відсутність мікробіоти
Кт, Км 3.5.2. Стерилізація композиції Б	Композиція Б, час стерилізації, температура, стерильність	Термометр технічний, годинник, мікробіологічний контроль	Температура визначається під час стерилізації, мікробіологічний контроль після стерилізації	$t = 112^{\circ}\text{C}$, $\tau = 30$ хв, відсутність мікробіоти
Кт, Км 3.6.1. Приготування і стерилізація композиції А	Композиція А, час стерилізації, температура, стерильність	Термометр технічний, годинник, мікробіологічний контроль	Температура визначається під час стерилізації, мікробіологічний контроль після стерилізації	$t = 131^{\circ}\text{C}$, $\tau = 40$ хв, відсутність мікробіоти
Кт, Км 3.6.2. Стерилізація композиції Б	Композиція Б, час стерилізації, температура, стерильність	Термометр технічний, годинник, мікробіологічний контроль	Температура визначається під час стерилізації, мікробіологічний контроль після стерилізації	$t = 112^{\circ}\text{C}$, $\tau = 30$ хв, відсутність мікробіоти

Номер контрольної точки та назва стадії	Об'єкт контролю і показник, що визначається	Засоби та методи контролю	Періодичність перевірки та порядок відбору проб	Нормативна характеристика показника, що визначається
1	2	3	4	5
Кт, Км 3.7.1. Приготування поживного середовища	Склад п.с., температура, час стерилізації, стерильність	Термометр технічний, годинник, мікробіологічний контроль	Температура визначається під час стерилізації, мікробіологічний контроль після стерилізації	$t = 140^{\circ}\text{C}$, $\tau = 2 \text{ с}$, відсутність мікробіоти
Кт, Км 4.1 Підтримання колекційної культури	Посівний матеріал, тривалість вирощування, температура, мікробіологічна чистота культури,	Термометр, мікробіологічний контроль	Температура контролюється постійно. Мікробіологічна чистота контролюється при кожному пересіві	$t = 26^{\circ}\text{C}$, відсутність сторонньої мікробіоти
Кт, Км 4.3. Вирощування інокуляти в колбах на качалках	Посівний матеріал, температура, швидкість перемішування, тривалість культивування, мікробіологічна чистота	Термометр технічний, тахометр, годинник, мікробіологічний контроль	Після вирощування культури в колбах на качалках	$t = 26^{\circ}\text{C}$, $n = 320 \text{ об/хв}$, $\tau = 48 \text{ год}$, відсутність сторонньої мікробіоти

Номер контрольної точки та назва стадії	Об'єкт контролю і показник, що визначається	Засоби та методи контролю	Періодичність перевірки та порядок відбору проб	Нормативна характеристика показника, що визначається
1	2	3	4	5
Кх, Кт, Км 4.4. Вирощування інокуляту в посівному апараті об'ємом 45 л	Посівний матеріал, рН, температура, швидкість перемішування, тривалість культивування, мікробіологічна чистота, концентрація біомаси	Датчик рН та температури, годинник, мікробіологічний контроль	Під час вирощування інокуляту в посівному апараті і в кінці процесу. Відбір проб культуральної рідини – кожні 3-4 год	рН = 7,0 t = 26 °С, τ = 48 год, відсутність сторонньої мікробіоти, C _{біомаси} = 440 мг/л
Кх, Кт, Км 4.5. Вирощування інокуляту в посівному апараті об'ємом 312 л	Посівний матеріал, рН, температура, швидкість перемішування, тривалість культивування, мікробіологічна чистота, концентрація біомаси	Датчик рН та температури, годинник, мікробіологічний контроль	Під час вирощування інокуляту в посівному апараті і в кінці процесу. Відбір проб культуральної рідини – кожні 3-4 год	рН = 7,0 t = 26 °С, τ = 48 год, відсутність сторонньої мікробіоти, C _{біомаси} = 440 мг/л

Номер контрольної точки та назва стадії	Об'єкт контролю і показник, що визначається	Засоби та методи контролю	Періодичність перевірки та порядок відбору проб	Нормативна характеристика показника, що визначається
1	2	3	4	5
Кх, Кт, Км 4.7. Вирощування інокуляту в посівному апараті об'ємом 3088 л	Посівний матеріал, рН, температура, швидкість перемішування, тривалість культивування, мікробіологічна чистота, концентрація біомаси	Датчик рН та температури, годинник, мікробіологічний контроль	Під час вирощування інокуляту в посівному апараті і в кінці процесу. Відбір проб культуральної рідини – кожні 3-4 год	рН = 7,0 t = 26 °С, τ = 48 год, відсутність сторонньої мікробіоти, C _{біомаси} = 440 мг/л
Кх, Кт, Км 5.1. Виробничий біосинтез	Культуральна рідина, рН, температура, швидкість перемішування, тривалість культивування, мікробіологічна чистота, концентрація біомаси і жирних кислот	Датчик рН та температури, годинник, мікробіологічний контроль, ваговий метод	Під час вирощування культури в ферментері і в кінці процесу. Відбір проб культуральної рідини – кожні 3-4 год	рН = 7,0 t = 26 °С, τ = 48 год, відсутність сторонньої мікробіоти, C _{біомаси} = 440 мг/л C _{жк} = 113 мг/л

Номер контрольної точки та назва стадії	Об'єкт контролю і показник, що визначається	Засоби та методи контролю	Періодичність перевірки та порядок відбору проб	Нормативна характеристика показника, що визначається
1	2	3	4	5
Кт 6.1 Центрифуга	Частота обертів, тривалість процесу	Тахометр, годинник	Частота обертів перевіряється безпосередньо перед під час процесу	$\tau = 60$ хв, $n = 10\ 000$ об/хв
Кт 7.1 Розпилювальна сушарка	Тиск, температура, температура	Термометр, барометр, годинник	Температура та час контролюється безпосередньо під час проходження процесу	$t_1 = 190$ °C $t_2 = 90$ °C; $\tau = 2$ години. $V = 0.61$ кг/с
Кт 8.1 Циклони	Частота обертів,	Тахометр	Частота обертів перевіряється безпосередньо перед під час процесу	$V = 20$ м/с
Кт 8.1 Реактор-збірник	Час, температура, швидкість обертів	Термометр, тахометр, годинник	Параметри контролюються безпосередньо під час проходження процесу	$V = 300$ об/хв $t = 90$ °C $\tau = 2$ год

Номер контрольної точки та назва стадії	Об'єкт контролю і показник, що визначається	Засоби та методи контролю	Періодичність перевірки та порядок відбору проб	Нормативна характеристика показника, що визначається
1	2	3	4	5
Кт 9.1 Центрифуга	Частота обертів, тривалість процесу	Тахометр, годинник	Частота обертів перевіряється безпосередньо перед під час процесу	$\tau = 60$ хв, $n = 10\ 000$ об/хв
Кт 10.1. Ректифікаційна колонна	Температура нагрівання	Термометр	Параметри контролюються безпосередньо під час проходження процесу	$t = 80^{\circ}\text{C}$
Кт 11.1. Фільтрація	Тиск, температура, рівень рН	Термометр, барометр, датчик рН	Параметри контролюються безпосередньо під час проходження процесу	$T = 60^{\circ}\text{C}$, $P = 1.5$ мПа $\text{pH} = 12$

ВИСНОВОК

В данному проекті розроблено експериментальну технологію одержання біодизелю шляхом культивування штаму *Synechococcus* HS01 у 7 горизонтальних ейрліфтних трубчастих фотобіореакторах суммарним об'ємом 30.5 м³ на поживному середовищі BG-11. Вирощування поживного матеріалу здійснюється в 6 етапів: підготовка посівного матеріалу в колбах на качалці та в інокуляторах об'ємом 5, 45, 312 і 3088 л. Процес одержання та очищення біодизелю має такі етапи: центрифугування, сушіння, пряма трансетерифікація, центрифугування, ректифікація, мікрофільтрація. Під час процесів культивування і одержання біодизелю контролюються такі параметри: мікробіологічна чистота, концентрація біомаси, контроль кількості NH₄, контроль кількості NO₃, контроль концентрації жирних кислот точка спалаху, вміст води, кінематична в'язкість, щільність, концентрація метилових естерів жирних кислот, концентрація сульфатної золи, кислотне число, концентрація метанолу, вміст гліцерину, вміст сульфатів, цетанове число, час окиснення.

АПРОБАЦІЇ

1) Гайдай Ярослав, Ольга Слободян. Біотехнологія ціанобактерій як продуцентів біопалива// 86 Міжнародна конференція молодих учених, аспірантів і студентів «Наукові здобутки молоді – вирішенню проблем харчування людства у XXI столітті» (2-3 квітня 2020 р., м. Київ, НУХТ).

2) Гайдай Ярослав, Ольга Слободян. Біотехнологія отримання біодизеля шляхом культивування ціанобактерій// X Всеукраїнська науково-практична Інтернет-конференція «Техногенно-екологічна безпека України: стан та перспективи розвитку» (20 – 29 жовтня 2020 р., м. Ірпінь, Університет державної фіскальної служби України).

3) Гайдай Ярослав, Ольга Слободян. Особливості біотехнологій біопалива із використанням ціанобактерій//87 Міжнародна конференція молодих учених, аспірантів і студентів «Наукові здобутки молоді – вирішенню проблем харчування людства у XXI столітті» (подано до друку).

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1	Farrokh P, Sheikhpour M, Kasaeian A, Asadi H, Bavandi R. Cyanobacteria as an ecofriendly resource for biofuel production: A critical review. <i>Biotechnol Progress</i> . 2019; e2835:1 - 16 DOI: 10.1002/btpr.2835 https://aiche.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/btpr.2835
2	Paschalidou A., Tsatiris M., Kitikidou K., Papadopoulou C. Using Energy Crops for Biofuels or Food: The Choice. In: Using Energy Crops for Biofuels or Food: The Choice. Green Energy and Technology. <i>Springer, Cham</i> . 2018; 35 -38 DOI: 10.1007/978-3-319-63943-7_5 https://link.springer.com/chapter/10.1007%2F978-3-319-63943-7_5#citeas
3	J. L. Cuello, T. Hoshino, S. Kuwahara, C. L. Brown. Scale-Up—Bioreactor Design and Culture Optimization. <i>Biotech. for Biofuel Prod. and Opt</i> , 2016; 497-511 https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63475-7.00019-4 .
4	Plączek, Małgorzata & Patyna, Agnieszka & Stanislaw, Witczak. Technical evaluation of photobioreactors for microalgae cultivation. <i>E3S Web of Conferences</i> , 2017; 19; 1 - 10 https://doi.org/10.1051/e3sconf/20171902032
5	S. Modiri, H. Sharafi, L. Alidoust, H. Hajfarajollah, O. Haghghi, A. Azarivand, Z. Zamanzadeh, H. Shahbani Zahiri, H. Vali, K. Akbari Noghabi. Lipid production and mixotrophic growth features of cyanobacterial strains isolated from various aquatic sites. <i>Microbiology</i> , 2015; 161; 662–673 DOI 10.1099/mic.0.000025
6	Patrscia C.M. Da Rysa, Caroline S.P. Silva a, Maria E. Silva-Stenicob, Marli F. Fioreb, Heizir F. de Castro. Microcystis aeruginosa lipids as feedstock for biodiesel synthesis by enzymatic route. <i>Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic</i> . 2012; 84: 177– 182 https://doi.org/10.1016/j.molcatb.2012.04.007 https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1381117712000872

7	<p>Jyoti Singh, Ritu Tripathi, Indu Shekhar Thakur. Characterization of endolithic cyanobacterial strain, <i>Leptolyngbya</i> sp. ISTCY101, for prospective recycling of CO₂ and biodiesel production. <i>Bioresource Technology</i>. 2014; 166:345-352, https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.05.055. https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852414007147</p>
8	<p>Jyoti Singh, Indu Shekhar Thakur. Evaluation of cyanobacterial endolith <i>Leptolyngbya</i> sp. ISTCY101, for integrated wastewater treatment and biodiesel production: A toxicological perspective. <i>Algal Research</i>. 2015; 11: 294-303, https://doi.org/10.1016/j.algal.2015.07.010 https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2211926415300205?via%3Dihub</p>
9	<p>Sarsekeyeva F., Usserbaeva A., Zayadan B., Mironov K., Sidorov R., Kozlova, A., Kupriyanova E., Sinetova M. and Los D. Isolation and Characterization of a New Cyanobacterial Strain with a Unique Fatty Acid Composition. <i>Advances in Microbiology</i> 2014; 4: 1033-1043 doi: 10.4236/aim.2014.415114. https://www.scirp.org/journal/paperinformation.aspx?paperid=51294</p>
10	<p>Bruno L., Di Pippo F., Antonarol, S., Gismondi A., Valentini C., Albertano P. Characterization of biofilm-forming cyanobacteria for biomass and lipid production. <i>J Appl Microbiol</i>, 2012; 113: 1052-1064. doi:10.1111/j.1365-2672.2012.05416.x https://sfamjournals.onlinelibrary.wiley.com/action/showCitFormats?doi=10.1111%2Fj.1365-2672.2012.05416.x</p>

11	<p>Deborah Terra de Oliveira, Cárita Turbay Vasconcelos, Anderson Miguel Teixeira Feitosa, Joseline Barbosa Aboim, Alex de Nazaré de Oliveira, Luciana Pereira Xavier, Alberdan Silva Santos, Evonnildo Costa Gonçalves, Geraldo Narciso da Rocha Filho, Luís Adriano Santos do Nascimento,</p> <p>Lipid profile analysis of three new Amazonian cyanobacteria as potential sources of biodiesel, <i>Fuel</i>, Volume 234, 2018, Pages 785-788, https://doi.org/10.1016/j.fuel.2018.07.080.</p>
12	<p>Patrícia C. M. Da Rós, Caroline S. P. Silva, Maria E. Silva-Stenico, Marli F. Fiore and Heizir F. De Castro. Assessment of Chemical and Physico-Chemical Properties of Cyanobacterial Lipids for Biodiesel Production. <i>Journal of Molecular Catalysis</i>. 2012; 84:177–182 http://dx.doi.org/10.1016/j.molcatb.2012.04.007 https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1381117712000872?via%3Dihub</p>
13	<p>J. E. D. Ferreira, A. S. Siqueira, L. T. Dall'Agnol, G. N. D. Rocha Filho, E. C. Gonçalves and L. A. S. D. Nascimento. Determination of biodiesel properties based on a fatty acid profile of eight Amazon cyanobacterial strains grown in two different culture media <i>RSC Adv.</i> 2016; 6: 109751-109758 DOI: 10.1039/C6RA23268J https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2016/ra/c6ra23268j#!divAbstract</p>

14	<p>Anahas, A.M.P., Muralitharan, G., Isolation and screening of heterocystous cyanobacterial strains for biodiesel production by evaluating the fuel properties from fatty acid methyl ester (FAME) profiles, <i>Bioresource Technology</i>. 2015; 184: 9-17 http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2014.11.003 https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852414016058?via%3Dihub</p>
15	<p>Antonyraj Matharasi Perianaika Anahas, Gangatharan Muralitharan. Characterization of heterocystous cyanobacterial strains for biodiesel production based on fatty acid content analysis and hydrocarbon production <i>Energy Conversion and Management</i>. 2018; 157:423–437 https://doi.org/10.1016/j.enconman.2017.12.012 https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0196890417311639?via%3Dihub</p>
16	<p>Franciska S. Steinhoff, Maria Karlberg, Martin Graeve, Angela Wulff. Cyanobacteria in Scandinavian coastal waters — A potential source for biofuels and fatty acids. <i>Algal Research</i>, 2014; 5: 42-51. https://doi.org/10.1016/j.algal.2014.05.005. https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2211926414000484?via%3Dihub</p>
17	<p>Ruffing AM. Improved Free Fatty Acid Production in Cyanobacteria with <i>Synechococcus</i> sp. PCC 7002 as Host. <i>Front Bioeng Biotechnol</i>. 2014;2:17. Published 2014 May 26. doi:10.3389/fbioe.2014.00017</p>
18	<p>Xinyao Liua, Daniel Bruneb, Wim Vermaasb, and Roy Curtiss III. Production and secretion of fatty acids in genetically engineered cyanobacteria. <i>PNAS</i>. 2010; 107(29): 6899-6904 https://doi.org/10.1073/pnas.1103014108 https://www.pnas.org/content/108/17/6899</p>

19	Lun Yao, Fengxia Qi, Xiaoming Tan, Xuefeng Lu. Improved production of fatty alcohols in cyanobacteria by metabolic engineering. <i>Biotechnology for Biofuels</i> . 2014; 7:94 doi:10.1186/1754-6834-7-94 https://biotechnologyforbiofuels.biomedcentral.com/articles/10.1186/1754-6834-7-94
20	Qianqian Gao, Weihua Wang, Hui Zhao and Xuefeng Lu. Effects of fatty acid activation on photosynthetic production of fatty acid-based biofuels in <i>Synechocystis</i> sp. PCC6803. <i>Biotechnology for Biofuels</i> . 2012, 5:17 doi:10.1186/1754-6834-5-17 https://biotechnologyforbiofuels.biomedcentral.com/articles/10.1186/1754-6834-5-17#citeas
21	Kaiser BK, Carleton M, Hickman JW, Miller C, Lawson D, et al. Fatty Aldehydes in Cyanobacteria Are a Metabolically Flexible Precursor for a Diversity of Biofuel Products. <i>PLoS ONE</i> . 2013; 8(3):1-11 doi:10.1371/journal.pone.0058307 https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0058307
22	Xinyao Liu, Roy Curtiss. Thermorecovery of cyanobacterial fatty acids at elevated temperatures. <i>Journal of Biotechnology</i> . 2012; 161(4): 445-449, https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2012.08.013 https://asu.pure.elsevier.com/en/publications/thermorecovery-of-cyanobacterial-fatty-acids-at-elevated-temperat

23	<p>Ping Hu, Sharon Borglin, Nina A. Kamennaya, Liang Chen, Hanwool Park, Laura Mahoney, Aleksandra Kijac, George Shan, Krystle L. Chavarría, Chunmin Zhang, Nigel W.T. Quinn, David Wemmer, Hoi-Ying Holman, Christer Jansson. Metabolic phenotyping of the cyanobacterium <i>Synechocystis</i> 6803 engineered for production of alkanes and free fatty acids. <i>Applied Energy</i>, 2013; 102: 850-859. https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2012.08.047. https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0306261912006344?via%3Dihub</p>
24	<p>Han Min Woo, Hyun Jeong Lee, Toward solar biodiesel production from CO₂ using engineered cyanobacteria, <i>FEMS Microbiology Letters</i>, Volume 364, Issue 9, May 2017, fnx066, https://doi.org/10.1093/femsle/fnx066 https://academic.oup.com/femsle/article/364/9/fnx066/3605366</p>
25	<p>Kato, A., Use, K., Takatani, N. Modulation of the balance of fatty acid production and secretion is crucial for enhancement of growth and productivity of the engineered mutant of the cyanobacterium <i>Synechococcus elongatus</i> . <i>Biotechnol Biofuels</i>, 2016; 9:91. https://doi.org/10.1186/s13068-016-0506-1 https://biotechnologyforbiofuels.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13068-016-0506-1</p>
26	<p>Caroline Souza Pamplona Silva, Maria Estela Silva-Stenico, Marli Fátima Fiore, Heizir Ferreira de Castro, Patrícia Caroline Molgero Da Rós, Optimization of the cultivation conditions for <i>Synechococcus</i> sp. PCC7942 (cyanobacterium) to be used as feedstock for biodiesel production. <i>Algal Research</i>. 2014; 3: 1-7, https://doi.org/10.1016/j.algal.2013.11.012. https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2211926413001057?via%3Dihub</p>

27	<p>Silaban, A. , Bai, R. , Gutierrez-Wing, M. T., Negulescu, I. I. and Rusch, K. A. Effect of organic carbon, C:N ratio and light on the growth and lipid productivity of microalgae/cyanobacteria coculture. <i>Eng. Life Sci.</i> 2014; 14: 47-56. doi:10.1002/elsc.201200219 https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/elsc.201200219</p>
28	<p>Kalimuthu Jawaharraj, Rathinasamy Karpagam, Balasubramaniam Ashokkumar, Chanda Nagarajan Pratheeba, Perumal Varalakshmi, Enhancement of biodiesel potential in cyanobacteria: using agro-industrial wastes for fuel production, properties and acetyl CoA carboxylase D (accD) gene expression of <i>Synechocystis</i> sp.NN, <i>Renewable Energy</i>. 2016. 98: 72-77 https://doi.org/10.1016/j.renene.2016.02.038. https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0960148116301392?via%3Dihub</p>
29	<p>Selvan, Karpanai & Revathi, M & Piriya, Sobana & Vasana, Thirumalai & Immanuel, D & Gilwax Prabhu, Immanuel & Vennison, John. (2013). Biodiesel production from marine cyanobacteria cultured in plate and tubular photobioreactors. <i>Indian journal of experimental biology</i>. 51. 262-268. <i>Indian Journal of Experimental Biology</i> Vol. 51, March 2013, pp. 262-268</p>
30	<p>Olga N. Tsolcha, Athanasia G. Tekerlekopoulou, Christos S. Akrotas, George Aggelis, Savvas Genitsaris, Maria Moustaka-Gouni, Dimitrios V. Vayenas, Biotreatment of raisin and winery wastewaters and simultaneous biodiesel production using a <i>Leptolyngbya</i>-based microbial consortium. <i>Journal of Cleaner Production</i>, 2017; 148: 185-193. https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2017.02.026. https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0959652617302299?via%3Dihub</p>

31	Economou, C.N., Marinakis, N., Moustaka-Gouni, M. Lipid production by the filamentous cyanobacterium <i>Limnothrix</i> sp. growing in synthetic wastewater in suspended- and attached-growth photobioreactor systems M. . <i>Ann Microbiol</i> (2015) 65: 1941. https://doi.org/10.1007/s13213-014-1032-7 https://link.springer.com/article/10.1007/s13213-014-1032-7#citeas
32	Miranda AF, Taha M, Wrede D, et al. Lipid production in association of filamentous fungi with genetically modified cyanobacterial cells. <i>Biotechnol Biofuels</i> . 2015;8:179. . doi:10.1186/s13068-015-0364-2
33	Zhengxu Gao, Hui Zhao, Zhimin Li, Xiaoming Tan, Xuefeng Lu Photosynthetic production of ethanol from carbon dioxide in genetically engineered cyanobacteria. <i>Energy Environ. Sci.</i> 2012; 5: 9857-9865 doi:10.1039/C2EE22675H https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2012/ee/c2ee22675h#!divAbstract
34	Zhu, Z., Luan, G., Tan, X. <i>et al.</i> Rescuing ethanol photosynthetic production of cyanobacteria in non-sterilized outdoor cultivations with a bicarbonate-based pH-rising strategy. <i>Biotechnol Biofuels</i> 10, 93 (2017). https://doi.org/10.1186/s13068-017-0765-5
35	Dexter J, Armshaw P, Sheahan C, Pembroke JT. The state of autotrophic ethanol production in Cyanobacteria. <i>J Appl Microbiol</i> . 2015;119(1):11-24. doi:10.1111/jam.12821
36	Lasry Testa, R, Delpino, C, Estrada, V, Diaz, SM. In silico strategies to couple production of bioethanol with growth in cyanobacteria. <i>Biotechnol Bioeng</i> . 2019; 116: 2061– 2073. https://doi.org/10.1002/bit.26998
37	Dienst, D., Georg, J., Abts, T. <i>et al.</i> Transcriptomic response to prolonged ethanol production in the cyanobacterium <i>Synechocystis</i> sp. PCC6803. <i>Biotechnol Biofuels</i> 7, 21 (2014). https://doi.org/10.1186/1754-6834-7-21

38	<p>Feiyan Liang, Elias Englund, Pia Lindberg and Peter Lindblad, Engineered cyanobacteria with enhanced growth show increased ethanol production and higher biofuel to biomass ratio, <i>Metabolic Engineering</i>, https://doi.org/10.1016/j.ymben.2018.02.006 https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1096717617304160?via%3Dihub</p>
39	<p>Choi, Y-N., Park, J.M., Enhancing biomass and ethanol production by increasing NADPH production in <i>Synechocystis</i> sp. PCC 6803, <i>Bioresource Technology</i>. 2016;213: 54-57 doi: http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2016.02.056 https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852416301894?via%3Dihub</p>
40	<p>Namakoshi, Katsunori, Nakajima, Tubasa, Yoshikawa, Katsunori, Toya, Yoshihiro, Shimizu, Hiroshi, Combinatorial deletions of glgC and phaCE enhance ethanol production in <i>Synechocystis</i> sp. PCC 6803. <i>Journal of Biotechnology</i>. 2016; 239: 13-19 http://dx.doi.org/10.1016/j.jbiotec.2016.09.016 https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168165616315346?via%3Dihub</p>
41	<p>Anfelt, J., Kaczmarzyk, D., Shabestary, K. <i>et al.</i> Genetic and nutrient modulation of acetyl-CoA levels in <i>Synechocystis</i> for <i>n</i>-butanol production. <i>Microb Cell Fact</i>. 2015; 14:167 doi:10.1186/s12934-015-0355-9 https://microbialcellfactories.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12934-015-0355-9</p>

42	Fathima, A.M., Chuang, D., Laviña, W.A. <i>et al.</i> Iterative cycle of widely targeted metabolic profiling for the improvement of 1-butanol titer and productivity in <i>Synechococcus elongatus</i> . <i>Biotechnol Biofuels</i> . 2018; 11 :188 doi:10.1186/s13068-018-1187-8 https://biotechnologyforbiofuels.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13068-018-1187-8
43	Liu, Xufeng & Miao, Rui & Lindberg, Pia & Lindblad, Peter. Modular Engineering for Efficient Photosynthetic Biosynthesis of 1-Butanol from CO ₂ in Cyanobacteria. <i>Energy Environ. Sci.</i> 2019; 12 : 2765-2777 DOI: 10.1039/C9EE01214A https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2019/ee/c9ee01214a#!divAbstract
44	Noguchi, S., Putri, S. P., Lan, E. I., Laviña, W. A., Dempo, Y., Bamba, T., Fukusaki, E. (2016). Quantitative target analysis and kinetic profiling of acyl-CoAs reveal the rate-limiting step in cyanobacterial 1-butanol production. <i>Metabolomics</i> . 2016. 12(2): 1-10 https://doi.org/10.1007/s11306-015-0940-2 https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs11306-015-0940-2
45	[Електронний ресурс] //Режим доступу: http://www.ukrstat.gov.ua/
46	Shpychak O.M., Bodnar O.V., Pashko S.O. Biofuel production in Ukraine in context of optimal solution of energy problem. <i>Ekonomika APK</i> , 2019; 3; 13 - 27
47	Qingshan Huang, Fuhua Jiang, Lianzhou Wang, Chao Yang. Design of Photobioreactors for Mass Cultivation of Photosynthetic Organisms. <i>Engineering</i> ; 2017; 3, 318-329 https://doi.org/10.1016/J.ENG.2017.03.020
48	Torzillo G., Chini Zittelli G, A., Bajpai R., Zappi M. Tubular Photobioreactors. In: Prokop.(eds) <i>Algal Biorefineries</i> , 2015; 2; 187-212 https://doi.org/10.1007/978-3-319-20200-6_5

49	Roman A. Voloshin, Margarita V. Rodionova, Sergey K. Zharmukhamedov, T. Nejat Veziroglu, Suleyman I. Allakhverdiev, Review: Biofuel production from plant and algal biomass. In. Journ. of Hydr. Energy, 2016; 41(39); 17257-17273 https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2016.07.084 .
50	R.N. Singh, Shaishav Sharma, Development of suitable photobioreactor for algae production – A review. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 2012; 4(16); 2347-2353 https://doi.org/10.1016/j.rser.2012.01.026 .
51	Skjånes, K., Andersen, U., Heidorn, T. et al. Design and construction of a photobioreactor for hydrogen production, including status in the field. J Appl Phycol, 2016; 28; 2205–2223 https://doi.org/10.1007/s10811-016-0789-4
52	Ignacio Fernández, F. Gabriel Acién, Manuel Berenguel, José Luis Guzmán. First Principles Model of a Tubular Photobioreactor for Microalgal Production. Ind. Eng. Chem. Res. 2014, 53(27); 11121-11136 https://doi.org/10.1021/ie501438r
53	Masojídek, J. & Torzillo, Giuseppe. Mass Cultivation of Freshwater Microalgae. Encyclopedia of Ecology 2008; pp.2226-2235 DOI: 10.1016/B978-008045405-4.00830-2
54	Muller-Feuga, A., Lemar, M., Vermel. Appraisal of a horizontal two-phase flow photobioreactor for industrial production of delicate microalgae species. J Appl Phycol, 2012; 24; 349–355 https://doi.org/10.1007/s10811-012-9820-6
55	A Bahadur, M Zubair and M B Khan. Design, construction and evaluation of solarized airlift tubular photobioreactor. Journal of Physics, 2013; 439; 1–15.

56	<p>Ichris Woo Go, Sylviana Sutanto, Lu Ki Ong, Phuong Lan Tran-Nguyen, Suryadi Ismadji, Yi-Hsu Ju. Developments in in-situ (trans) esterification for biodiesel production: A critical review, Renewable and Sustainable Energy Reviews, 2016; 60; 284-305. https://doi.org/10.1016/j.rser.2016.01.070.</p>
57	<p>Карлаш Ю. В. Основи проектування біотехнологічних виробництв: Конспект лекцій для студентів напряму 6.051401 «Біотехнологія» денної та заочної форм навчання / Уклад.: Ю.В.Карлаш - К: НУХТ, 2013. – 143 с.</p>
58	<p>Manoj Kumar Enamala, Swapnika Enamala, Murthy Chavali, Jagadish Donepudi, Rajasri Yadavalli, Bhulakshmi Kolapalli, Tirumala Vasu Aradhyula, Jeevitha Velpuri, Chandrasekhar Kuppam. Production of biofuels from microalgae - A review on cultivation, harvesting, lipid extraction, and numerous applications of microalgae, Renewable and Sustainable Energy Reviews, 2018; 94; 49-68; https://doi.org/10.1016/j.rser.2018.05.012.</p>
59	<p>Azima Syafaini Japar, Mohd Sobri Takriff, Nazlina Haiza Mohd Yasin. Harvesting microalgal biomass and lipid extraction for potential biofuel production: A review. Journal of Environmental Chemical Engineering, 2017; 5(1); 555-563; https://doi.org/10.1016/j.jece.2016.12.016.</p>
60	<p>Сидоров Ю.І., Влязло Р.Й.,Новіков В.П. Процеси і апарати мікробіологічної та фармацевтичної промисловості. Технологічні розрахунки. Приклади і задачі. Основи проектування: Навчальний посібник.- Львів. «Інтелект-Захід», 2008,-736 с.</p>
61	<p>Charuwat P, Boardman G, Bott C, Novak JT. Thermal Degradation of Long Chain Fatty Acids. Water Environ Res, 2018; 90; 278-287. doi: 10.2175/106143017X15131012152825. PMID: 29521623.</p>

62	<p>Vlada B. Veljković, Ivana B. Banković-Ilić, Olivera S. Stamenković, Purification of crude biodiesel obtained by heterogeneously-catalyzed transesterification. <i>Renewable and Sustainable Energy Reviews</i>, 2015; 49; 500-516. https://doi.org/10.1016/j.rser.2015.04.097. https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1364032115003676</p>
63	<p>Kamoru A. Salam, Sharon B. Velasquez-Orta, Adam P. Harvey, A sustainable integrated in situ transesterification of microalgae for biodiesel production and associated co-product-a review. <i>Renewable and Sustainable Energy Reviews</i>, 2016; 65; 1179-1198. https://doi.org/10.1016/j.rser.2016.07.068. https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1364032116304075?via%3Dihub</p>
64	<p>Sivaramakrishnan R, Incharoensakdi A. Production of methyl ester from two microalgae by two-step transesterification and direct transesterification. <i>Environ Sci Pollut Res Int</i>. 2017;24(5):4950-4963. doi: 10.1007/s11356-016-8217-5. https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs11356-016-8217-5</p>
65	<p>S.B. Velasquez-Orta, J.G.M. Lee, A. Harvey. Alkaline in situ transesterification of <i>Chlorella vulgaris</i>. <i>Fuel</i>, 2012; 94; 544-550 https://doi.org/10.1016/j.fuel.2011.11.045. https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S001623611100740X</p>
66	<p>Jiao Liu, Yanan Liu, Haitao Wang, Song Xue. Direct transesterification of fresh microalgal cells. <i>Bioresource Technology</i>, 2015; 176; 284-287. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.10.094. https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0960852414015260</p>
67	<p>Liu, B. and Zhao, Z.(. (2007), Biodiesel production by direct methanolysis of oleaginous microbial biomass. <i>J. Chem. Technol. Biotechnol.</i>, 82: 775-780. https://doi.org/10.1002/jctb.1744 https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/jctb.1744</p>

68	<p>Ching-Lung Chen, Chien-Chang Huang, Kao-Chia Ho, Ping-Xuan Hsiao, Meng-Shan Wu, Jo-Shu Chang. Biodiesel production from wet microalgae feedstock using sequential wet extraction/transesterification and direct transesterification processes. <i>Bioresource Technology</i>, 2015; 194; 179-186, https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.07.021. https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0960852415009748</p>
69	<p>J.W. Goodrum. Volatility and boiling points of biodiesel from vegetable oils and tallow. <i>Biomass and Bioenergy</i>, 2002; 22 (3); 205-211 https://doi.org/10.1016/S0961-9534(01)00074-5. https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0961953401000745?via%3Dihub</p>
70	<p>Yousuf, A., Khan, M.R., Islam, M.A. <i>et al.</i> Technical difficulties and solutions of direct transesterification process of microbial oil for biodiesel synthesis. <i>Biotechnol Lett</i> 39, 13–23 (2017). https://doi.org/10.1007/s10529-016-2217-x https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs10529-016-2217-x</p>
71	<p>Vlada B. Veljković, Ivana B. Banković-Ilić, Olivera S. Stamenković. Purification of crude biodiesel obtained by heterogeneously-catalyzed transesterification. <i>Renewable and Sustainable Energy Reviews</i>, 2015; 49; 500-516; https://doi.org/10.1016/j.rser.2015.04.097. https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1364032115003676?via%3Dihub</p>
72	<p>Torres, J.J., Arana, J.T., Ochoa, N.A., Marchese, J. and Pagliero, C. Biodiesel Purification Using Polymeric Nanofiltration Composite Membranes Highly Resistant to Harsh Conditions. <i>Chem. Eng. Technol.</i> 2018; 41; 253-260. doi:10.1002/ceat.201600257 https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/ceat.201600257</p>

73	Біологія клітин [Електронний ресурс]. Лабораторний практикум для студ. напряму підготовки 6.051401 «Біотехнологія» ден. та заоч. форм навчання/ уклад.: В.О. Красінько, І.М. Волошина. – К.: НУХТ, 2014. – 147 с.
74	[Електронний ресурс]. Режим доступу: https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Synechococcus
75	Загальна мікробіологія і вірусологія: Лабораторний практикум для студентів напрямку 6.051401 «Біотехнологія» денної форми навчання / Уклад. Т.П. Пирог, М.М. Антонюк, С.В. Ігнатенко. – К.: НУХТ, 2010. – 129 с.
76	[Електронний ресурс]. Режим доступу: https://www.hach.com/asset-get.download.jsa?id=7859047608
77	[Електронний ресурс]. Режим доступу: https://www.alibaba.com/product-detail/HACH-Digital-N-ISE-sc-Nitrate_50033911418.html?spm=a2700.7724857.normalList.21.26366469NRy9DE
78	[Електронний ресурс] режим доступу: https://soctrade.ua/upload/shop_3/2/5/2/item_252/item_image252.jpg
79	[Електронний ресурс] режим доступу: https://dieselnet.com/tech/fuel_biodiesel_std.php
80	[Електронний ресурс] режим доступу: http://docs.cntd.ru/document/1200108425
81	[Електронний ресурс] режим доступу: https://files.stroyinf.ru/Data2/1/4293737/4293737269.pdf
82	[Електронний ресурс] режим доступу: https://labdepot.ru/images/cms/thumbs/c5c160d068fb098b6e35c67e3f7ddcd4cd5b3a77/capillar-visco_370_370_jpg.jpg
83	[Електронний ресурс] режим доступу: http://docs.cntd.ru/document/1200019821

84	[Електронний ресурс] режим доступу: http://docs.cntd.ru/document/1200114766
85	[Електронний ресурс] режим доступу: https://pcgroup.ru/image/cache/catalog/products/photos5/product_4540_0-800x600.jpg
86	[Електронний ресурс] режим доступу: http://docs.cntd.ru/document/gost-r-en-14103-2008
87	[Електронний ресурс] режим доступу: http://docs.cntd.ru/document/1200089637
88	[Електронний ресурс] режим доступу: http://docs.cntd.ru/document/1200108429
89	[Електронний ресурс] режим доступу: http://docs.cntd.ru/document/gost-r-en-14104-2009
90	[Електронний ресурс] режим доступу: http://docs.cntd.ru/document/gost-r-en-14110-2010
91	Pisarello, M. & Costa, B. & Veizaga, Natalia & Querini, Carlos. Volumetric Method for Free and Total Glycerin Determination in Biodiesel. Industrial & Engineering Chemistry Research. IND ENG CHEM RES, 2010; 49; 10.1021/ie100725f.
92	Методичні вказівки до виконання лабораторних робіт з дисципліни “Водопід- готовка” студентами спеціальності 6.090500 “Теплоенергетика” всіх форм навчання А.М.Зошук, Т.В.Романенко / Рівне: УДУВГП, 2003 - 16с
93	[Електронний ресурс] режим доступу: http://docs.cntd.ru/document/1200108526
94	Jain, S., Sharma, M.P. Measurement of the Oxidation Stability of Biodiesel Using a Modified Karl Fischer Apparatus. J Am Oil Chem Soc 88, 899–905 (2011). https://doi.org/10.1007/s11746-010-1745-0