

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ

Інститут (факультет) біотехнології та екологічного контролю

Кафедра біотехнології і мікробіології

«До захисту в ЕК»

«До захисту допущено»

Директор інституту (декан факультету)

Завідувач кафедри

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

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

«___» _____ 2020 р.

«___» _____ 2020 р.

Кваліфікаційна робота

на здобуття освітнього ступеня бакалавра

зі спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія»
(шифр та назва спеціальності)

освітньо-професійної програми «Біотехнологія»

на тему: Культивування *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* для біосинтезу ксантану

Виконав: здобувач IV курсу, групи 1

Пахомова Анастасія Андріївна
(прізвище та ініціали)

Керівник Ключка Лілія Вікторівна
(прізвище та ініціали)

(підпис)

Консультанти Клименко О.М.
(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 – 2020 р.

НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ

Інститут (факультет) біотехнології та екологічного контролю
Кафедра біотехнології і мікробіології
Освітній ступінь бакалавр
Спеціальність 162 «Біотехнології та біоінженерія»
(шифр і назва)

Освітньо-професійна програма _____
(назва)

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри біотехнології і мікробіології

_____ Пирог Т.П.

«17» березня 2020 року

З А В Д А Н Н Я

НА КВАЛІФІКАЦІЙНИЙ ПРОЕКТ (РОБОТУ) ЗДОБУВАЧА

Пахомової Анастасії Андріївни

(прізвище, ім'я, по батькові)

1. Тема проекту (роботи) Культивування *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*
для біосинтезу ксантану

керівник проекту (роботи) Ключка Л. В., асистент,
(прізвище, ім'я, по батькові, науковий ступінь, вчене звання)

затверджені наказом вищого навчального закладу від «16» березня 2020 року № 227-к

2. Строк подання здобувачем проекту (роботи) 01 червня 2020 року

3. Вихідні дані до проекту (роботи) біологічний агент: *Xanthomonas campestris*,
цільовий агент: екзополісахарид ксантан

4. Зміст розрахунково-пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно розробити) РОЗДІЛ 1. Характеристика цільового продукту; РОЗДІЛ 2.

Обґрунтування вибору та характеристика біологічного агенту; РОЗДІЛ 3. Техніко -
економічне обґрунтування; РОЗДІЛ 4. Біосинтез ксантану; РОЗДІЛ 5.

Обґрунтування вибору технологічної схеми виробництва екзополісахариду; РОЗДІЛ

6. Матеріальний баланс та розрахунок обладнання; РОЗДІЛ 7. Специфікація
обладнання; РОЗДІЛ 8. Опис технологічної схеми виробництва ксантану; РОЗДІЛ 9.

Контроль виробництва; РОЗДІЛ 10. Автоматизація ділянки виробництва

5. Перелік графічного матеріалу (з точним зазначенням обов'язкових креслень)

1. Схема біосинтезу цільового продукту (додаток, А3)

2. Технологічна схема (1 лист А1, 1 лист А2)

3. Апаратурна схема (3 листа А1)

4. Схема ділянки автоматизації виробництва (1 лист А3)

6. Консультанти розділів проекту (роботи)

Розділ	Прізвище, ініціали та посада консультанта	Підпис, дата	
		завдання видав	завдання прийняв
10	Клименко Олег Миколайович доцент, к.т.н., кафедра автоматизації та комп'ютерних технологій систем управління	23.03.2020	23.03.2020

7. Дата видачі завдання «17» березня 2020 року

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№ з/п	Назва етапів виконання кваліфікаційного проекту (роботи)	Строк виконання етапів проекту (роботи)	Примітка
1	Опис цільового продукту	20.03.2020	
2	Обґрунтування вибору біологічного агента та характеристика біологічного агента	25.03.2020 - 31.03.2020	
3	Техніко-економічне обґрунтування	01.04.2020 - 07.04.2020	
4	Біосинтез екзополісахариду	08.04.2020	
5	Обґрунтування вибору технологічної схеми	14.04.2020 - 20.04.2020	
6	Матеріальний баланс та розрахунок обладнання	21.04.2020 - 27.04.2020	
7	Специфікація обладнання	28.04.2020	
8	Опис технологічної схеми виробництва	04.05.2020 – 10.05.2020	
9	Контроль виробництва	11.05.2020 – 16.05.2020	
10	Автоматизація ділянки виробництва	17.05.2020	
11	Оформлення пояснювальної записки	21.05.2020 – 31.05.2020	
12	Виконання графічної частини проекту	21.05.2020 – 31.05.2020	
13	Список використаної літератури	29.05.2020	
14	Вступ. Реферат. Зміст	30.05.2020	

Здобува

(підпис)

Пахомова А. А.

(прізвище та ініціали)

Керівник проекту (роботи)

(підпис)

Ключка Л. В.

(прізвище та ініціали)

РЕФЕРАТ

У даному проекті розроблено технологію створення готової продукції екзополісахариду ксантану у вигляді сухої порошкоподібної речовини. Біосинтез БАР проходить культивуванням нового дикого штаму бактерій *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* ATCC 1395, що синтезує значно більшу кількість екзополісахариду (ЕПС) на середовищі з м'ясою та випереджає «конкурентів» за різними біотехнологічними показниками: вихід продукту (53 г/л), час культивування, особливості компонентів поживного середовища та ін. Ксантанова камідь широко застосовується у різних сферах промисловості, і тому в цій роботі розглядається вирішення проблеми створення в Україні власного виробництва полісахариду та продуктів «gluten free». Потужність виробництва ксантану визначали за статистикою хворих людей на целіакію, нормативними потребами людини в тих, чи інших видах продуктів та взагалі з урахуванням різновиду виробів та продукції на ринку світу – це хлібобулочні вироби, макаронні вироби, кондитерські вироби та дитяче харчування. В загальному, ми отримали такі дані: 60 074 кг ксантану або 1 148 643 л культуральної рідини для забезпечення річної потреби.

Технологія виробництва ксантану включає в собі допоміжні роботи (підготовка виробничого приміщення: підготовка миючих та дезінфікуючих засобів, підготовка аераційного повітря та обробка обладнання та приміщень; підготовка титрувальних та підживлюючих розчинів, приготування та стерилізація поживних середовищ) та основний процес (підготовка посівного матеріалу та вирощування інокуляту в колбах на качалці, посівних апаратах, біосинтез екзополісахариду, виділення біомаси, осадження та очищення супернатанту, фільтрування та висушування ксантану, подрібнення та просіювання готового продукту та ПМВ). Всі процеси та етапи наведені в апаратурних та технологічних схемах. В розділі I (Техніко-економічне обґрунтування) підіймається проблеми державного рівня, щодо виготовлення та впровадження на ринок України виробів без глютену.

Робота складається з вступу, 10 розділів, списку використаних джерел (129 найменувань), технологічної схеми (1 лист формату A1, 1 лист формату A2)

та апаратурна схема (3 листа формату A1). Загальний обсяг роботи – 191 сторінок, 35 рисунки, 30 таблиць.

Ключові слова: *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* ATCC 1395, ксантан, екзополісахарид, ксантанова камідь, E415, безглютенові вироби, целиакія.

ЗМІСТ

РЕФЕРАТ.....	3
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ.....	6
ВСТУП.....	7
РОЗДІЛ 1. ХАРАКТЕРИСТИКА ЦІЛЬОВОГО ПРОДУКТУ.....	10
1.1. Фізико-хімічні властивості екзополісахариду ксантану.....	10
1.2. Вплив умов культивування на біосинтез ксантану.....	13
1.3. Вплив компонентів поживного середовища.....	14
1.4. Сфери використання полісахариду.....	15
РОЗДІЛ 2. ОБГРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТА ХАРАКТЕРИСТИКА	
БІОЛОГІЧНОГО АГЕНТУ.....	17
2.1. Обґрунтування вибору біологічного агента та поживного середовища для його культивування.....	17
2.2. Розрахунок складу поживного середовища.....	21
2.3. Морфолого-культуральні та фізіолого-біохімічні ознаки біологічного агента.....	23
2.4. Таксономічний статус біологічного агента.....	27
РОЗДІЛ 3. ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБГРУНТУВАННЯ.....	30
3.1. Потреба у цільовому продукті.....	31
3.2. Розрахунок потужності виробництва.....	35
3.3. Розрахунок об'єму ферментера та кількості виробничих циклів.....	36
3.4. Розрахунок кількості стадій підготовки посівного матеріалу.....	37
РОЗДІЛ 4. БІОСИНТЕЗ ЦІЛЬОВОГО ПРОДУКТУ.....	41
4.1. Шляхи катаболізму ростового субстрату у біологічного агента.....	41
4.2. Біотрансформація ростового субстрату у цільовий продукт.....	45
РОЗДІЛ 5. ОБГРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ.....	46
5.1. Обґрунтування доферментаційних процесів та виробничого біосинтезу.....	46
5.1.1. Обґрунтування способу культивування і типу ферментера.....	46
5.1.2. Обґрунтування вибору стадії підготовки повітря.....	51
5.1.3. Вибір мийних та дезінфікуючих засобів.....	52

5.1.4. Обґрунтування стадії підготовки обладнання та комунікацій.....	63
5.1.5. Особливості підготовки та стерилізації поживного середовища.....	65
5.1.5.1. Обґрунтування способу стерилізації компонентів середовища на всіх стадіях вирощування посівного матеріалу.....	66
5.1.5.2. Обґрунтування способу стерилізації компонентів середовища у ферментері об'ємом 32 м ³	67
5.2. Обґрунтування стадій виділення і очищення цільового продукту.....	68
РОЗДІЛ 6. МАТЕРІАЛЬНИЙ БАЛАНС І РОЗРАХУНОК ОБЛАДНАННЯ..	90
РОЗДІЛ 7. СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ.....	116
РОЗДІЛ 8. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ.....	128
РОЗДІЛ 9. КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА.....	145
РОЗДІЛ 10. АВТОМАТИЗАЦІЯ ДІЛЯНКИ ВИРОБНИЦТВА.....	175
СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ.....	178
ДОДАТОК	

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

ЕПС	екзополісахарид
ПС	поживне середовище
КР	культуральна рідина
ФЕП	фосфоенолпіруват
БАР	біологічно активна речовина

ВСТУП

На сьогоднішній день - біотехнологія, є інноваційною галуззю досягнень людства. З розвитком біотехнології пов'язують вирішення глобальних проблем людства – ліквідацію нестачі продовольства, енергії, поліпшення стану охорони здоров'я і якості навколишнього середовища. Рейтинг цього напрямку обумовлений високим рівнем розвитку технологій, що з часом тільки зростає. У провідних країнах світу вже існує досить потужна біоіндустрія, що ґрунтується на фундаментальних досягненнях у ресурсній та енергетичній базі. В українській економіці застосування біотехнологій є значно скромнішим. Саме тому, досить актуальною для нашої країни є проблема створення належних умов для становлення й функціонування біотехнологічних виробництв на сучасній науковій основі, їх масового поширення в економіці та різних сферах життєдіяльності, розроблення наукових основ створення нових біотехнологій, посилення впливу організаційних, економічних, соціальних, матеріальних чинників на розвиток біотехнологічної промисловості [1].

Полісахариди (ЕПС), включаючи ксантан, виконують ряд важливих біологічних функцій: резервну, захисну та ін. Сьогодні екзополісахариди широко застосовуються в косметології, медицині, харчовій промисловості, нафтовидобувній промисловості та ін. Найчастіше ЕПС ксантан використовують в промисловості як харчова добавка – Е415. Основною функцією є - емульгація, згущення та стабілізація продуктів. В світі цю речовину називають Xantan gum. Полісахариди мікробного походження мають ряд переваг (простота, кліматична незалежність, економічність виробництва та регулювання властивостей) і займають високі позиції на ринку. У зв'язку з цим, у багатьох індустріально розвинених країнах, виробництву полісахариду ксантану приділяють дуже велику увагу. Сфера застосування полісахариду визначається з урахуванням його властивостей, як функціональних – це створювання високов'язких розчинів,

					НУХТ БТЕК 04.01.27 ДП ПЗ				
<i>Змн.</i>	<i>Лист</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>					
<i>Розроб.</i>	<i>Пахомова А.А.</i>				ВСТУП	<i>Літ.</i>	<i>Аркуш</i>	<i>Аркушів</i>	
<i>Перевір.</i>	<i>Ключка Л.В</i>								
<i>Консультан.</i>									
<i>Н. Контр.</i>									
<i>Затверд.</i>	<i>Пирог Т.П.</i>								
						Кафедра БТМ			

здатність розчинятися у воді, гелі тощо, так і біологічних (утворює захисну плівку на поверхні продукту; не змінює запах, колір та смак готових продуктів). На сьогоднішній день отримання і застосування екзополісахариду ксантану, дуже широко розвинене за кордоном (Великобританія, Канада, Франція, Китай і США). В цих країнах ксантан вважається безпечною харчовою добавкою, що дозволена до використання у харчовій, косметичній та фармацевтичній індустрії. Відсутня токсична дія, не засвоюється організмом і легко виводиться природним шляхом. Нажаль, в Україні біосинтезу ксантану не знайшли застосування, тому що виробництво такого типу є великотонажним та високовартнісним [2,3].

Наша країна значно програє зарубіжним конкурентам у розвитку біофармацевтики, зокрема виробництву та удосконаленню методик біосинтезу полісахаридів і суттєво поступається їм на ринку ресурсів та розвитку. Ми не маємо відпрацьованої законодавчої бази щодо умов патентування біотехнологій, ідентифікації та застосування біопрепаратів, регламентації виробництва культур, не здійснюється належний контроль за виробництвом [4,5].

Ксантанова камідь використовується у створенні безглютенових виробів для людей хворих на целиакію, полісахарид грає важливу роль у стабілізації реологічних властивостей готової продукції. Целиакія (глютенова ентеропатія) – це аутоімунне захворювання, яке уражає тонкий кишечник генетично схильних осіб унаслідок споживання токсичного для них протеїну злакових – глютену, що міститься у пшениці, житі, ячмені та вівсі. Таке захворювання стрімко поширюється у світі, наприклад, ще донедавна целиакія була розповсюджена в основному в Європейських країнах, а саму хворобу вважали рідкісним явищем, то нині вона розповсюджується у всьому світі і є виключеною з переліку рідкісних захворювань. Сьогодні в Україні потреба в продуктах харчування для людей із глютенною ентеропатією задовольняється здебільшого продуктами закордонного виробництва. Тому сьогодні існує потреба розроблення безглютенових продуктів харчування з головною складовою – ксантан.

Метою даної роботи є проектування ділянки доферментаційних та післяферментаційних процесів (апаратурна та технологічна схеми) біосинтезу екзополісахариду ксантану бактеріями *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* ATCC 1395 у вигляді сухого білого порошку.

Тому **актуальним** є розробка технологій власного біосинтезу екзополісахариду ксантану з подальшим його виділенням та очищенням. Так як, це вирішить питання проблеми глютенної ентеропатії та порушень обміну амінокислот у дорослих та дітей, що є важливими сьогодні в Україні.

Новизна. Суттєвою проблемою, яка виникає при промисловому синтезі ЕПС ксантану, є підвищенні вимоги продуцента до складу поживного середовища, що впливає на вартість продукту. У зв'язку з цим, дуже важливим є підбір оптимальних поєднань різних компонентів поживного середовища для культивування *X. campestris*, з метою отримання максимальної кількості біополімеру. Тому в даному проекті було розглянуто спосіб утилізації великої кількості відходів промислових виробництв. А саме заміну стандартних вуглеводневих субстратів, такі як сахароза, глюкоза, на мелясу, що є побічним продуктом бурякоцукрового виробництва. Необхідність такої заміни зумовлена тим, що при реалізації біотехнологій у промисловому масштабі перевага віддається дешевим субстратам. Головними умовами сьогодні є високий вихід ЕПС, мінімальна вартість поживного середовища та простота процесу культивування. А меляса для синтезу ксантану не потребує попередньої обробки та багата на різні види мінеральних складових, вітамінів, азотистих речовин та органічних кислот, що також підвищують кінцевий вихід екзополісахариду [6].

РОЗДІЛ І. ХАРАКТЕРИСТИКА ЦІЛЬОВОГО ПРОДУКТУ

Екзополісахариди (ЕПС) - це загальне визначення високомолекулярних вуглеводів, молекули яких складаються з десятків, сотень або навіть тисяч моносахаридів. Для тварин, рослин та інших організмів полісахариди є головним джерелом енергії, що утворюється в результаті обміну речовин в організмі. А у мікроорганізмів полісахариди виконують основні життєві функції, а саме - захисну, резервну та поживну.

ЕПС мікробіологічного походження володіють властивостями як загущувачів, стабілізаторів, так і гелеутворювачів. Головною особливістю цих полісахаридів є наявність в їх складі великої кількості функціональних хімічно активних груп: гідроксильних, карбоксильних, карбонільних, ацетатних та ін. Наявність цих груп дозволяє хімічно модифікувати молекулу, з метою додання їм цінних властивостей [7].

Ксантан — позаклітинний полісахарид, який використовують як стабілізатор для суспензій, емульсій та пін. Випускається під різними назвами: келтрол, ксантанова камідь, ксантан, келцан, родогель. Являє собою порошок білого або сірого кольорів, що не має запаху і смаку [8].

1.1. Фізико-хімічні властивості екзополісахариду ксантану

Ксантан або ксантанова камідь (Е 415) є сумішшю полісахаридів, які утворюються як вторинні метаболіти при аеробній ферментації цукрів (наприклад, кукурудзяного сиропу) бактеріями *Xanthomonas campestris*. За хімічною природою це гетерополісахарид з молекулярною масою від одного до декількох мільйонів дальтон, молекули якого формуються з трьох типів моносахаридів: β -D-глюкози, α -D-манози та α -D глюкуронової кислоти із співвідношенням 2:2:1. Структурною одиницею молекули ксантану є повторюваний пентасхаридний фрагмент, який має наступну будову, що наведена на рисунку 1.1 [8,9].

					НУХТ БТЕК 04.01.27 ДП ПЗ			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Пахомова А.А.			РОЗДІЛ 1. Характеристика цільового продукту		Літ.	Аркуш
Перевір.		Ключка Л.В						Акрушів
Консультан.								
Н. Контр.								
Затверд.		Пирог Т.П.					Кафедра БТМ	

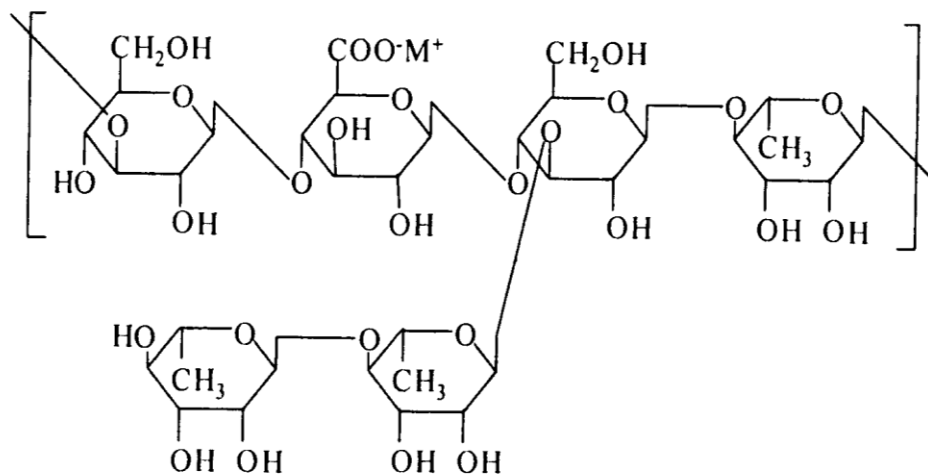


Рис. 1.1. Структурна формула ксантану [7]

Завдяки такій структурі бічних ланцюгів, ксантан надзвичайно міцно захищений від хімічного і ферментативного гідролізу. А в результаті взаємодії бічних ланцюгів між собою і головним ланцюгом, утворюються вищі структури ксантану, що обумовлюють його властивості. Число піруватних груп впливає на в'язкість водного розчину ксантану. Вміст піровиноградної кислоти, що входить до складу полісахариду, варіює від 0 до 9%. У харчовій промисловості кислотні групи нейтралізують, переводячи ксантан в натрієві, калієві або кальцієві солі. Температура плавлення – приблизно 110°C [7].

Молекулярна структура екзополісахариду обумовлює його відносну нечутливість до дії різких температурних змін, він є високоефективним загущувачем в широкому діапазоні температур (оптимальною температурою для росту колоній є 25 – 30°C) і рН (7,0 – 7,5). Сам ксантан добре розчинний у воді та розчинах солей, що ніколи не утворюють осадів.

Також особливістю ксантану є те, що з підвищенням температури, в'язкість розчинів ксантану спочатку збільшується і при температурі близько 40°C досягає максимального значення, а потім різко зменшується. Така поведінка пояснюється зміною структурної організації розчину, що проявляється при підвищенні температури. Проте, слід зазначити, що при екстремальних показниках рН на рівні 12 і вище, молекули ксантану втрачають свою стійкість. Внаслідок цього відбувається різке зниження в'язкості та руйнування системи [10-12].

З водонабухаючими глинами, спостерігається збільшення в'язкості та сумарного граничного напруження вище адитивного. Ксантан сумісний з водними розчинами органічних сполук. Осідає з 80% етиловим спиртом і ізопропанолом. Розчини ксантану стійкі в присутності 30% гліцерину, гліколів, етилового і ізопропілового спирту. Сумісний з органічними і мінеральними кислотами, соляна кислота руйнує ксантан. Витримує тривалу присутність 10% лимонної кислоти, 20% і 10% - оцтової, 5% сірчаної кислот. Розчини зберігають реологічні властивості в присутності гідроксиду натрію і силікату натрію.

Хімічна будова молекул ксантану забезпечує йому різноманіття функціонально-технологічних властивостей: високу розчинність в холодній і гарячій воді; стабільність в розчинах при низьких і високих температурах і широкому діапазоні рН від 1 до 12, до дії ферментів; до запобігання синерезиса (відділення вологи) в продукті та ін [13].

За органолептичними показниками і розчинністю ксантанова камідь повинна відповідати вимогам, що наведені в таблиці 1.1.

Таблиця 1.1.

Органолептичний показник	Характеристика
Зовнішній вигляд та колір	Білий, кремово-білий або сірувато-білий сипучий порошок
Запах	Відсутній
Розчинність	Розчинний в дистильованій воді, не розчинний в спиртах (утворюючи осад)

Ксантан має чудову загущуючу здатність, і тому збільшує термін зберігання готових продуктів, запобігає дерозшаровуванню. Також виявляє синергізм з гуаром та іншими гідроколоїдами. Підсилює желуючу здатність карагінанів і камеді ріжкового дерева. Іноді ксантан поєднують з каміддю ріжкового дерева і іншими загущувачами, і тоді він набуває властивостей гелеутворювача [14].

ЕПС ксантан має високу псевдопластичність, розчини камеді ксантану не тиксотропні, при збільшенні зміщення напруги початкова в'язкість встановлюється практично зразу після її зняття [15].

На даний момент немає даних про будь-який токсичний вплив ксантанової камеді на людський організм. Даній харчовій добавці присвоєно нульовий рівень небезпеки. Вона має низьку алергенність і допускається до застосування при виготовленні дієтичних та дитячих продуктів харчування.

Не існує норм споживання ксантанової камеді, проте надмірне споживання може призводити до шлунково-кишковому розладу (газоутворення, діарея), тому що дана добавка не перетравлюється і не засвоюється в шлунково-кишковому тракті людини.

Існує думка, що споживання продуктів, до складу яких входить ксантанова камедь, можуть знижувати рівень холестерину, мати більшу ситість. Однак, дані про позитивні ефекти споживання ксантану були не доведені [16].

1.2. Вплив умов культивування на біосинтез ксантану

pH поживного середовища. Біосинтез ксантану значно залежить від значення pH у середовищі під час культивування. Саме завдяки значенню pH середовища, можна зміщувати рівновагу реакцій анаболізму і катаболізму (за потреби). Оптимум для росту мікроорганізмів *Xanthomonas campestris* знаходиться в нейтральній області, а саме pH – 6,5 - 7,2, а для максимальної кількості полісахариду – 7,0 – 8,0. Крім того, що в самій молекулі ксантану присутні кислі групи, в процесі синтезу якого, відбувається утворення органічних кислот, і як наслідок це сприяє зниженню pH до 5,0. Тому для контролю за pH в процесі синтезу частіше використовують лужні розчини. А сам pH-ефект позитивно більш впливає на ріст клітин, ніж на виробництво екзополісахариду [17].

Температура. Оптимальна температура для виробництва ксантанової камеді варіюється в діапазоні від 25 до 34°C, а для росту культури - 28 і 30°C. При зменшенні температури поживного середовища від 30 до 25°C або підвищенні від 30 до 35°C, то спостерігається збільшення виходу ксантану в декілька разів, але знижує вміст пірувату в ньому. Тому переважним значенням температури для росту *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* та для утворення самого ЕПС ксантану буде становити – 30°C. Крім цього, при 30°C утворюється ксантан з більшою молекулярною масою, ніж при 35°C. Слід також зауважити, що

оптимальна температура для виробництва ксантану залежить від використовуваного виробничого середовища [17 - 18].

Кисень. *Xanthomonas campestris* це аеробні бактерії, вміст кисню в поживному середовищі є важливим фактором, як для нормального росту мікроорганізму, так і для синтезу ЕПС ксантану. Під час культивування кисень повинен бути доступний тільки в розчинній формі (не менше 6% від всього об'єму). Високий рівень аерації необхідний саме в експоненційній фазі росту, бо на початку стаціонарної фази росту високий рівень кисню буде надавати інгібуючу дію на синтез екзополісахариду [7,19].

Час культивування та швидкість перемішування. Обидва фактори безпосередньо впливають хімічний склад екзополісахариду, його молярну масу, реологічні властивості. В середньому час культивування становить – 72, та варіюється в залежності від штаму та патовару мікроорганізма. Перемішування має більш позитивний вплив на виробництво ксантану, ніж його час культивування. Бо реагую на хімічну структуру ксантану, оскільки вміст пірувату підвищується зі збільшенням швидкості обертів мішалки.

Щодо швидкості перемішування, то при 800 обертах за хвилину, відбувається різке зниження росту клітин і виходу ксантану, ймовірно через те, що це пошкоджує клітину ззовні. А при 100 об/хв синтез ЕПС і зростання культури відбувається інгібування клітин через обмеження доступу кисню. Підвищення рівня перемішування призводить до підвищення темпів виробництва та рівня біомаси, тоді як утворення продукту під час ферментації частково пов'язане з ростом. Оптимальною швидкістю перемішування для одержання полісахариду є 500 обертів за хвилину [17,19].

1.3. Вплив компонентів поживного середовища

Вуглеводи. Для того, щоб рости і бути репродуктивними, клітини повинні поглинати поживні речовини, необхідні для виготовлення мембран, білків, клітинних стінок, хромосом та інших компонентів. Той факт, що різні клітини використовують різні джерела вуглецю та енергії, чітко показує, що всі клітини не мають однакових внутрішніх хімічних механізмів. Мікробний біосинтез ксантану істотно залежить від виду джерела вуглецю. Продуценти екзополісахаридів використовують в якості джерела вуглецю різні сполуки:

амінокислоти, вуглеводи, спирти, карбонові кислоти тощо. Серед вуглеводів найбільш часто використовують глюкозу, сахарозу, гліцерин, бурякову мелясу і крохмаль. Нестача вітамінів і мінеральних компонентів може бути обмежуючим фактором росту культури [7, 17].

Сахароза та глюкоза. Сахароза та глюкоза є основними джерелами вуглецю для культивування різних штамів та патоварів *X. campestris*. Але іноді все ж таки бувають винятки коли цей субстрат не вигідний для максимального виходу полісахариду. Концентрація сахарози повинна становити від 10 до 100 г/л, глюкози – 30 – 40 г/л. Але сахароза як дисахарид є для мікроорганізму більш живильним, ніж глюкоза.

Гліцерин та лактоза. Така сировина, як гліцерин вважається побічним продуктом біодизельної промисловості, і є дуже дешевим у використанні. Однак, не всі штами та патовари *Xanthomonas campestris* здатні використовувати його в якості достатнього джерела вуглецю. Якщо говорити про лактозу, то через низький рівень β -галактозидази, що присутній у бактерій *X. campestris* такий субстрат не може використовувати лактозу як ефективне джерело вуглецю. Отже, бактерія погано росте і виробляє малу кількість ксантану у середовищі, що містить лактозу як єдине джерело вуглецю [17, 20].

Азот. Джерело азоту в поживному середовищі може бути як органічного, так і неорганічного походження. Для оптимального росту біомаси та синтезу екзополісахариду найбільш зручніше та вигідніше використовувати органічні джерела, наприклад - сечовину, дріжджові екстракти або молочну сироватку. З неорганічних джерел добре засвоюються: двозаміщений фосфат амонію, глутамат натрію та нітрат натрію. При біосинтезі ксантану надлишок азоту може призвести до зменшення продукції ЕПС (відбудеться тільки збільшення біомаси). Найчастіше при виробництві ксантанової камеді використовують нітрати. Також позитивно впливає висока концентрація дріжджового екстракту в середовищі. Таке використання застосовують для того, щоб досягти високої клітинної щільності до того, як культура вступить у стаціонарну фазу [7, 20].

Органічні кислоти. Без присутності в складі поживного середовища органічних кислот, синтез полісахариду і зростання біомаси неможливий.

Найчастіше при синтезі ЕПС використовують лимонну кислоту, але так само можуть брати і її аналоги, такі як фумарова або бурштинова кислоти [7,18,20].

1.4. Сфери використання полісахариду

Камідь ксантану в промисловості відіграє велике значення, використовується в усіх сферах життєдіяльності людини. Особливістю для промислового використання камеді ксантана є те, що вона здатна контролювати реологію водного розчину, тому характеризується ксантан, як високоефективний загущувач і стабілізатор.

Харчова промисловість. Ксантанова камідь широко використовується у виробництві соусів, молочних продуктів, морозива, десертів, хлібобулочних виробів, напоїв. Інша область застосування камеді ксантана - це низькокалорійні продукти, де вони використовується в якості заміни жирів і забезпечує густину і текстуру, які часто втрачаються при зменшенні кількості жирів у рецептурі.

В м'ясному виробництві камедь ксантана використовується при виготовленні паштетів і соусів, де також входить до складу в якості стабілізуючих сумішей для ковбас.

Взагалі в харчовій промисловості ксантан як стабілізатор та емульгатор добре поєднується з іншими компонентами продукції. Наприклад, в хлібопекарській промисловості поєднується з пектином, желатином, крохмалем, декстрином та ін. Так само полісахарид використовують для поліпшення смакових властивостей консервованих і заморожених продуктів, приправ і соусів [21 - 22].

Медицина. У сфері медицини ксантан застосовують для капсулювання лікарських препаратів, згущення гелів і широкого спектру суспензій. Наявність в складі протинабрякових гелів ксантан показав позитивну динаміку на зменшення рубців (підвищення епітелізації) і запального процесу. При застосуванні таких гелів спостерігається зволоження вогнищ запалення, верхніх шарів шкіри або слизових оболонок, що захищає рану від пересихання. А також утворюється захисна плівка, що оберігає від механічного пошкодження, поліпшує еластичність рубця, що запобігає їх розтріскування [23].

Нафтовидобувна промисловість. У нафтовій промисловості ксантан використовують як реагент для регулювання реологічних властивостей технологічної рідини на водній основі. Водні розчини ксантану мають незвичайну властивість - при механічному навантаженні (розмішуванні, перекачуванні насосом і т.д.) вони втрачають в'язкість. Як тільки механічна дія закінчується, одразу відновлюється первинна в'язкість. При використанні деацетилованих форм ксантану, відбувається збільшення виходу нафти на 25% [17].

РОЗДІЛ II. ОБГРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТА ХАРАКТЕРИСТИКА БІОЛОГІЧНОГО АГЕНТА

В останні роки дуже велику увагу фахівців різних галузей промисловості привертає тема синтезу мікробних екзополісахаридів. Слід зазначити, що вони можуть синтезуватися при глибинній ферментації і накопичуватися в значних кількостях в культуральній рідині, що зумовлює можливість їх промислового використання.

В даний час мікробні полісахариди застосовуються в медицині, фармацевтичній, харчовій та хімічній промисловості, в таких галузях, як гідрометалургія, при збагаченні руд кольорових металів, а також в нафтовидобутку. Одним з найбільш відомих мікробних ЕПС, що використовують в технічних цілях, є ксантан, що володіє унікальними властивостями, завдяки яким застосування, а, отже, і його виробництво постійно розширюється [24]. Ксантанова камідь, що синтезується бактеріями *Xanthomonas campestris*, є одним з найбільших комерційних біополімерів, що виробляється із щорічним світовим виробництвом 30 000 тон, що відповідає ринку 408 мільйонів доларів.

2.1. Обґрунтування вибору біологічного агента та поживного середовища для його культивування

Зазвичай мікроорганізмом для синтезу екзополісахариду ксантану в

промисловості є вид <i>Xanthomonas campestris</i> . Це грам(-) бактерія з особливим					пептидогліканом, що патогенна для різних видів рослин. В наш час було виділено				
Змн.					Лист				
№ докум.					Підпис				
Дата					Діагност.				
Розроб.					Дуже велику кількість патогенів <i>X. campestris</i> 2. <i>X. campestris</i> pv. <i>campestris</i> , pv.				
Перевір.					Ключка Л.В.				
Контр.					Обґрунтування вибору та				
Затверд.					характеристика				
Пирог Т.П.					біологічного агента				
					якісному складі ЕПС				
					Кафедра БТМ				

у різних патоварів *X. campestris*, відбувається розбіжність у молярному співвідношенні всіх компонентів ксантану (D-глюкоза, D-маноза, D-глюкуронова, піровиноградна та оцтова кислота) [14].

Узагальнюючу характеристику технологічних особливостей одержання ксантану використанням різних продуцентів наведено у табл. 2.1.

Таблиця 2.1

Особливості одержання ксантану за порівняльною характеристикою патоварів та штамів *Xanthomonas campestris*

Біологічний агент	Склад поживного середовища, г/л	Концентр. ЕПС, г/л	Особливості процесу біосинтезу	Виділення цільового продукту	Використана література
<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i> штам ВКМ В-611	Сахароза – 40,0, лимонна к-та – 2,0, KH_2PO_4 – 5,0, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ – 2,0, H_3BO_3 – 0,006, ZnO – 0,006, $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ – 0,0024, CaCO_3 – 0,02 та $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,2.	24,2	Оптимальна температура – 25°C. Тривалість культивування 96 год. Оптимальне значення рН для культивування – 7,0 (доводять до позначки за допомогою HCl). Швидкість перемішування – 150 - 200 об/хв.	Після культивування відбувається осадження етанолом – концентрація від 90%, далі йде процес центрифугування (7000 об/хв протягом 20 хвилин) та висушування при 70°C	<u>Peter Souw, Arnold L. Demain</u> . Nutritional Studies on Xanthan production by <i>Xanthomonas campestris</i> NRRL B1459/ <u>Appl Environ Microbiol.</u> – 2015. Vol. 37, No, 6. – p. 1186 1192
<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i> штам ATCC 13951	Глюкоза – 20,0, дріжджовий екстракт – 3,0, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ – 1,5 та $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,3.	13,24	Біосинтез протікає за $t = 30^\circ\text{C}$. Параметри рН повинні становити $7,0 \pm 0,2$. Тривалість культивування – 48 годин та швидкість обертання мішалки – 150 об/хв.	Осаджують 96% спиртом у присутності KCl . Наступне – центрифугування при 10 000 об/хв (10 хвилин), також зневоднюють 24 години, та знову центрифугують (3 500 об/хв впродовж 15 хвилин). Висушують (60°C)	Bojana Ž. Bajić*, Zorana Z. Rončević, Siniša N. Dodić Glycerol as a carbon source for xanthan production by <i>Xanthomonas campestris</i> / 2015/ - DOI:10.2298/APT1546197B
<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>Campestris</i> штам ATCC 1395	Меляса - 175,0, дріжджовий екстракт – 10,0, KH_2PO_4 – 4,0, Triton 80 – 0,1.	52,3	Культивування продуцента відбувається протягом 24 годин, температура становить – 30°C. рН – $7,0 \pm 0,2$. Швидкість обертів мішалки становить 250 об/хвилину.	Обробляють культуральну рідину ЕДТА. Виділяють біомасу центрифугуванням – 15 000 об/хв (15 хв), осаджують спиртом – 96% 2:1 та висушують при 70°C.	Stavros K., Gesthimani I. Optimization of XGum production by <i>X.c.</i> grown in molasses /Process Biochemistry 39. – 2003. – p.249-256. Doi 10.1016/S0032-9592(03)00067-0

Проаналізувавши склад поживних середовищ для вирощування різних патоварів та штамів *X. campestris*, розрахуємо вартість компонентів для їх культивування (табл. 2.2):

Табл. 2.2.

Вартість компонентів поживного середовища для культивування патоварів та штамів *Xanthomonas campestris*

Продуцент	Компонент поживного середовища г/л	Ціна компонента, грн/кг	Вартість компонента (грн) на 1 л середовища	Джерело інформації
<i>Xanthomonas campestris</i> штам ВКМ В-611	Сахароза, 40,0	60	2,4	1
	Лимонна кислота, 2,0	24	0,048	2
	KH ₂ PO ₄ , 5,0	40	0,24	2
	(NH ₄) ₂ SO ₄ , 2,0	18	0,036	2
	H ₃ BO ₃ , 0,006	117	0,0007	3
	ZnO, 0,006	70	0,42	2
	FeCl ₃ ·6H ₂ O, 0,024	55	0,0013	4
	CaCO ₃ , 0,02	185	0,0037	5
	MgSO ₄ ·7H ₂ O, 0,2	25	0,005	2
	Вартість 1 л поживного середовища - 3,2 грн			
<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i> штам ATCC 13951	Глюкоза, 20,0	60	1,2	2
	Дріжджовий екстракт, 3,0	400	1,32	6
	KH ₂ PO ₄ , 3,0	40	0,25	2
	(NH ₄) ₂ SO ₄ , 1,5	18	0,027	2
	MgSO ₄ ·7H ₂ O, 0,3	25	0,008	2
	Вартість 1 л поживного середовища – 2,805 грн			
<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i> штам ATCC 1395	Меляса, 175,0	безкоштовно	-	2
	Дріжджовий екстракт, 10,0	400	4	2
	KH ₂ PO ₄ , 4,0	40	0,16	2
	Triton 80 – 0,1	200	0,02	2
	Вартість 1 л поживного середовища – 4,18 грн			

Примітка. * - Ціни наведено станом на березень 2019 р. 1. <http://www.ukrboard.com.ua/> 2. <https://flagma.ua/> 3. <https://zakupka.com/> 4. <https://novohim.prom.ua/> 5. <http://mel-ok.com/> 6. <http://mspartner.com.ua/>

Отже, за даними літературних джерел було виявлено 3 різні штами *X. campestris* – ВКМ В-611, ATCC 13951 та ATCC 1395, що синтезують значно велику кількість ЕПС ксантану. За даними таблиці 2.1. найбільшу кількість екзополісахариду синтезує штам ATCC 1395, що становить 52,3 г/л ксантану.

Хоча ПС має найвищу собівартість, такий склад є найоптимальнішим для максимального виходу екзополісахариду.

Умовна вартість 1 г цільового продукту (ксантан) при культивуванні *X. campestris* pv. *campestris* штамів ВКМ В-611, ATCC 13951, ATCC 1395

Таблиця 2.3

Біологічний агент	Вартість 1 л середовища, грн	Концентр. ксантану, г/л	Умовна вартість 1 г цільового продукту, грн/г	Тривалість культивування год	Кількість утв. ЕПС за годину, мг/год
<i>X. campestris</i> pv. <i>campestris</i> ВКМ В-611	3,2	24,2	0,13	96	0,25
<i>X. campestris</i> pv. <i>campestris</i> ATCC 13951	2,805	13,24	0,21	48	0,28
<i>X. campestris</i> pv. <i>campestris</i> ATCC 1395	4,18	52,3	0,08	24	2,18

За кінцевими даними ціна за 1 л середовища для бактерій *X. campestris* pv. *campestris* ATCC 13951 становить 2,8 грн, що порівняно з іншими штамми значно випереджає своїх «конкурентів». Але при такій низькій вартості поживного середовища вихід ЕПС самий низький, в наслідок чого це впливає на ціну цільового продукту. ПС інших штамів на сьогоднішній день теж не вважається дороговартісним, наприклад при біосинтезі *X. campestris* ВКМ В-611 на поживному середовищі з сахарозою буде використано лише 3,2 грн, а компоненти при культивуванні штаму ATCC 1395 коштують 4 грн. Це невеликі суми на сьогоднішній день, але виходячи з даних виходу продукту у різних штамів, я можу сказати, що найдорожче поживне середовище у штаму ATCC 1395. Хоча це новий штам, продуктивність його значно висока - вихід ксантану 52,3 г/л, а це в два рази більше. Характерним саме для цього штаму є і те, що процес культивування продуцента відбувається за найменшу кількість часу – це 24 годин. А біосинтез штаму ВКМ В-611 з низькою ціною на ПС навпаки, культивується довше – 96 год.

Особливості процесу біосинтезу кожного з продуцента майже не відрізняються: рН становить 7,0, температура 30°C, культивування з аерацією, рН рідини доводять до позначки за допомогою HCL. Єдина відмінність присутня у *Xanthomonas campestris pv. campestris* ВКМ В-611, де температура культивування відрізняється – вона дорівнює 25°C, і як згадано вище – негативно впливає на вихід полімеру.

Особливістю виділення та очищення ксантану, є сам процес осадження. Найчастіше осаджують етанолом, метанолом, ізопропіловим спиртом тощо. Саме у обраних мною трьох штамів відбувається осадження етанолом, що збільшує вартість культивування *X. campestris*. Але є одна відмінність у штама ATCC 13951 – осадження відбувається в присутності невеликої кількості KCl. На ринку праці, калій хлорид коштує 35 грн за 1 кг речовини. Тому собівартість продукту при використанні саме цього штаму приблизно підіймається на 3 ± 5 грн.

Отже, проаналізувавши всі особливості біосинтезу, компонентів поживного середовища, собівартість продукції, вихід полісахариду, мінімальна вартість поживного середовища та простота процесу трьох обраних штамів, можна зробити висновок, що найкращим продуцентом ЕПС ксантану є *Xantomonas campestris pv. campestris* штам ATCC 1395.

2.2. Розрахунок складу поживного середовища

Культивування бактеріальних клітин має свої певні особливості, для накопичення достатньої кількості біомаси, поживне середовище повинне містити значну частку джерела азоту та вуглецю. Інші компоненти, наприклад джерело фосфору, сірки, частіше додаються в надлишку на потреби продуцента.

Для культивування певного мікроорганізму необхідно знати, чи вистачає йому компонентів поживного середовища для нормального росту, приросту біомаси і найголовніше – достатнього синтезу продукту. Тому далі буде наведено перевірочний розрахунок складу поживного середовища для культивування *Xanthomonas campestris pv. campestris*:

Склад бактеріальної клітини містить наступні елементи (в % до маси сухої речовини): вуглець – 50; кисень – 20; азот – 10–14; водень – 8; фосфор – 3; сірка, калій, натрій - 1; кальцій, магній, хлор – 0,5; залізо – 0,2; решта елементів – близько 0,3.

Розрахунок вмісту в середовищі джерела вуглецевого живлення.

Тривалість культивування становить 24 год, концентрація ксантану – 52,3.

Потреби для синтезу ксантану. Джерелом вуглецю для синтезу ксантану найчастіше використовують глюкозу або сахарозу. Культивування штаму АТСС 1395 з найвищим виходом ксантану відбувається на середовищі з мелясою.

Розрахуємо, скільки вуглецю (за елементом С) міститься в 52,3 г ксантану. Молекулярна маса ЕПС ксантану ($C_{35}H_{49}O_{29}$)_n становить 933. Отже, у 933 г ксантану міститься 466,5 г вуглецю, а в 52,3 г ксантану $(466,5 \times 52,3) / 933 = 26,1$ г вуглецю.

Далі розрахуємо, у скількох грамах вуглеводів міститься 26,1 г вуглецю, враховуючи, що вміст вуглецю у ЕПС становить 50%. Отже, у 52,3 г вуглеводів міститься 26,15 г вуглецю, а 26,15 г вуглецю міститься у $(26,15 \times 52,3) / 50 = 27,4$ г вуглеводів.

Оскільки у мелясі міститься 50% вуглеводів, то для одержання 52,3 г ксантану, вміст меляси у середовищі повинен бути $27,4 \times 2 = 54,8$ г/л, або $\approx 5,5$ %. Враховуючи, що при вирощуванні мікроорганізмів на вуглеводах, близько 40% субстрату окислюється до CO₂ для одержання енергії, необхідної для конструктивного метаболізму, вміст меляси у середовищі становитиме $(55 \times 0,4) + 55 = 77$ г/л = 7,7 %

Потреби для синтезу біомаси. У біомасі міститься 50 % вуглецю, отже вміст вуглецю у 25,5 г біомаси становить $25,5 \times 0,5 = 12,75$ г. Ця кількість вуглецю міститься у $(12,75 \times 52,3) / 25,5 = 26,1$ г вуглеводів.

У перерахунку на мелясу одержимо 52,3 г/л. Враховуючи 40% втрат субстрату на «холосте окислення», для одержання 25,5 г/л біомаси у середовище необхідно внести $(52,3 \times 0,4) + 52,3 = 73,2$ г/л сахарози (7,3 %)

Отже, загальний вміст меляси у середовищі, необхідний для синтезу біомаси (25,5 г/л) та ксантану (52,3 г/л), становить $77 + 73,2 = 149$ г/л $\approx 14,9$ %.

Розрахунок вмісту в середовищі джерела азотного живлення.

Потреби для синтезу біомаси. Припустимо, що у біомасі міститься 10 % азоту. Таким чином, у 25,5 г біомаси вміст азоту (за елементом N) становить 2,6 г. Для одержання ксантану в промислових умовах використовується середовище, яке містить як джерело азоту дріжджовий екстракт. Розрахуємо кількість азоту

необхідну для одержання 25,5 г/л біомаси. Молекулярна маса невідома, через невизначений склад, але кількість амінного азоту становить 5 %. Отже, у 10 г екстракту містить приблизно 500 мг чистого амінного азоту.

Розрахунок вмісту фосфору у середовищі. У біомасі міститься близько 3 % фосфору (за елементом Р). Отже, для синтезу 25,3 г/л біомаси вміст фосфору у середовищі повинен становити $25,3 \times 0,03 = 0,759$ г/л. Джерелами фосфору у промисловому виробництві ксантану є KH_2PO_4 .

Вміст фосфору у KH_2PO_4 становить $26 / 136 = 19$ %. Концентрація цієї солі у середовищі становить $(136 \times 0,759) / 26 = 3,9$ г/л. Отже, середовище для культивування продуцента ксантану містить 4 г/л KH_2PO_4 .

2.3. Морфолого - культуральні та фізико - біохімічні ознаки біологічного агента

Xanthomonas campestris pv. campestris штам ВКМ В-611 відноситься до сімейства *Pseudomonaceae*. Рід *Xanthomonas* об'єднує фітопатогенні мікроорганізми: *Xanthomonas arboricola*, викликає ураження рослин суниці, ячменю, вівса, пшениці; *Xanthomonas campestris* є патогеном сімейства хрестоцвіті, викликає судинний бактеріоз. Культури збудників володіють високою генетичною мінливістю [25,26].

За морфологічними властивостями *Xanthomonas campestris* є грамнегативною аеробною бактерією, не спороносною, що має розміри 0,4 - 0,7 x 0,7 - 1,8 мкм, вигляд під мікроскопом представлено на рис. 2.1. Клітини паличкоподібні, поодинокі, мають дві мембрани, рухливі за рахунок одного полярно розташованого джгутика. Рухливість зберігається у вузькому діапазоні часу фази розвитку. Чим більше синтезовано ЕПС, тим менш рухливі клітини [27].

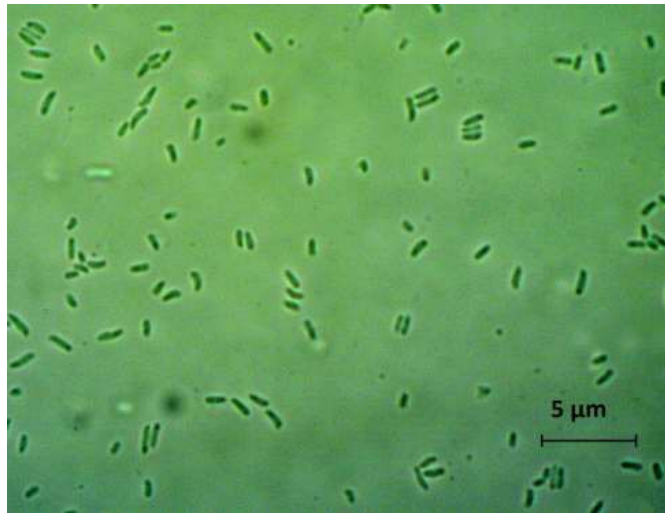


Рис. 2.1. Мікроорганізм *Xanthomonas campestris* під мікроскопом [28]

Зараз описано три типи колоній штамів *Xanthomonas*: -L- (large), -Sm- (small), -Vs- (very small):

- L (large) – великі, яскраво - жовтого кольору колонії (рис. 2.2.), з діаметром 4 - 5 мм, що забезпечують високий відсоток біосинтезу ксантану з високим вмістом піровиноградної кислоти.



Рис. 2.2. Колонії Large [28]

- Колонії Sm (small) мають зеленувато - коричневий колір (рис. 2.3.) і діаметр 2 - 3 мм, які продукують меншу кількість ксантану.



Рис. 2.3. Колонії *Small* [28]

- Vs (very small) - колонії білого кольору (рис. 2.4.), 1 мм в діаметрі, мікроорганізми з яких не виробляють ксантан. Колонії видів Sm і Vs, як правило, утворюються з колоній L-типу, в результаті деградації культури. Найбільш активно ксантан синтезують клітини великих колоній, середні колонії синтезують ксантан тільки на 50%, а дрібні не синтезують взагалі [28].



Рис. 2.4. Колонії *Very Small* [28]

Бактерії *Xanthomonas campestris* як єдине джерело вуглецю використовують різноманітні вуглеводи і солі органічних кислот. Відносяться до хемоорганотрофів зі строгим аеробним типом дихання. Використовують H_2 як донор електронів. Не утворює простеків, стеблинок, чохлів чи газових вакуоль [29].

X. campestris в природних умовах в своєму життєвому циклі використовують ксантан для захисту від вірусів і пересихання. Здатні до виділення специфічних пігментів - «ксантомонадід», які беруть участь в процесах регулювання синтезу позаклітинних ферментів і синтез позаклітинного полісахариду. Пігменти можуть бути відсутніми через мутації або деградації колонії [7].

Ця бактерія є мезофільною з оптимальною температурою при 25 – 30 градусах Цельсія (77 – 85 градусів по Фаренгейту) і є неактивною при температурі нижче 10°C (50 градусів за Фаренгейтом). *X. campestris* є гіперчутливими на реакцію та патогенність, і це допомагає їм переносити специфічні ефекторні білки, щоб знизити захист господаря та ковзати по воді. Вони можуть жити в ґрунті більше року та поширюватися з рухом води, включаючи дощ, зрошення та поверхневі води. Обприскування здорових рослин фунгіцидами міді може зменшити поширення бактерій у полі. Однак після зараження рослини *X. campestris* з часом пошириться на насіннєве стебло, гальмуючи ріст здорового потомства [30 – 31].

X. campestris можна помітити по чорним ураженнях, що розвиваються на поверхні рослини. Спочатку збудник взаємодіє з господарем, виділяючи велику кількість ефекторних білків, включаючи гіперчутливу реакцію. Ці ефектори можуть вести себе авірулентно, маскуючись до себе, щоб виділяти кілька гіперчутливих реакцій та зовнішніх білків, щоб взаємодія відбувалася з клітинами господаря [32]. Потім *X. campestris* націлюється на судинну тканину, викликаючи потемніння та крайовий хлороз листя. Важка інфекція відбувається у молодого саджанця. Оскільки хвороба просувається по всій рослині, головне стебло не може формуватися, затримуючи розвиток. Врешті-решт, бактерія розповсюджується по всій судинній системі та на насіннєвому стеблі, внаслідок чого насіння заражається майбутніми захворюваннями [31].

У ліпідах клітин колекційних штамів *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* виявлено жирні кислоти з довжиною вуглецевого ланцюга C₁₀—C₁₈. Особливістю складу клітин представників роду *Xanthomonas* є велика кількість насичених і ненасичених жирних кислот (iso- й anteiso-форми) з розгалуженими ланцюгами. Серед розгалужених жирних кислот у представників роду

Xanthomonas домінують 13-метилтетрадеканова та 12-метилтетрадеканова кислоти. Ще однією особливістю складу клітинних ліпідів є вміст тетрадеканової кислоти (C14:0), який у представників виду *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* [33, 34].

Бактерії виконують ряд метаболічних шляхів, які однозначно залежать від збудника. Присутні такі вуглеводні метаболізми, які включають: гліколіз/глюконеогенез, цитратний цикл, пентозофосфатний шлях тощо. Отримують джерело енергії за рахунок окисного фосфорилування, фіксації вуглецю, метану, азоту та сірки [35].

X. campestris здобувають вуглець з господаря, перетворюючи його в глюкозу за допомогою глюконеогенезу. В глюконеогенезі містять лише шкідливий особливий фермент – PpsA, який є необхідним для вірулентності. Крім того, цей рослинний збудник містить систему секреції III типу (TTSS), яка необхідна для нападу на господаря [35]. TTSS важливий у патогенезі, оскільки він передає ефекторні білки, щоб знизити захист господаря. Створюючи біоплівку на рослинних поверхнях, *X. campestris* є прикладом зв'язку клітин-клітин через дифузійний фактор сигналу (DSF) [36].

Мікроорганізм здатний до окиснення глюкози за пентозофосфатним циклом. У молоці з бромкрезоловим пурпуровим або з лакмусовим молоком, кислоти не утворюють, ростуть в середовищі з лактатом кальцію, але не глютаміном. Аспаргін в якості єдиного джерела вуглецю і азоту не використовують. Трифенілтеразолійхлорид в концентрації 0,1% (зазвичай вже 0,02%) пригнічує ріст. Як правило, потребують факторів росту, в тому числі метіоніну, глютамінової кислоти і нікотинової кислоти або їх поєднання [37].

Генетичні характеристики штаму ідентифіковано до виду за допомогою аналізу 16S РНК. При секвенуванні змінних ділянок генів, що кодують 16S рРНК, отримана зібрана нуклеотидна послідовність для штамів. Послідовності вирівнюються з відповідними послідовностями найближчих видів бактерій, доступних з бази даних GenBank. За даними аналізу генів, що кодують 16S рРНК, побудовано філогенетичне дерево *Xanthomonas campestris* 2017 з гомологічними штамми [38].

2.4. Таксономічний статус біологічного агенту

Кожен мікроорганізм в культурі характеризується певним набором ознак, які поділяються на морфологічні, фізіологічні та генетичні.

«Визначник бактерій Бергі» - визнана у всьому світі наукова праця, яка об'єднує знання з різноманітності прокаріот. Створено з практичною метою для швидкої ідентифікації бактерій за фенотиповими ознаками: містить концентровану інформацію про всі види бактерій і не претендує на еволюційну побудову.

Згідно з цим виданням усі бактерії об'єднують в Царство – *Procaryotae* і поділяються на чотири відділи: *Gracillicutes*, *Firmicutes*, *Tenericutes* та *Mendosicutes*. Ознаки, за якими здійснюється поділ на групи, легко визначаються і винесені у назви відділів за будовою клітинної стінки та утворені від латинських слів: *cutes* – шкіра, *gracilis* – тонкий, *firmus* – міцний, *tener* – м'який, *mendosus* помилковий. Бактерії об'єднують у штучні групи (35 груп бактерій), які не мають таксономічного статусу [39].

Тому розглянемо класифікацію Бергі за морфолого-культуральними та фізіолого-біохімічними ознаками *X.campestris* за дев'ятим виданням, що наведено в таблиці 2.5.

Таблиця 2.5

Xanthomonas campestris pv. *campestris* за дев'ятим виданням Бергі

Таксономічна група	Класифікація за ознаками
Відділ	<i>Gracillicutes</i>
Клас	<i>Scotobacter</i>
Частини	Грамнегативні аеробні палички та коки
Родина	<i>Pseudomonaceae</i>
Рід	<i>Xanthomonas</i>
Вид	<i>Campestris</i>
Патовар	<i>Campestris</i>

За філогенетичними особливостями бактерій, класифікація відбувається на десятим виданням Бергі, характеристика наведена в таблиці 2.6.

Таблиця 2.6.

Xanthomonas campestris pv. *campestris* за десятим виданням Берги

Таксономічна група	Класифікація за ознаками
Відділ	<i>Gracillicutes</i>
Клас	<i>Scotobacter</i>
Порядок	<i>Pseudomonadales</i>
Родина	<i>Pseudomonaceae</i>
Рід	<i>Xanthomonas</i>
Вид	<i>Campestris</i>

[40].

РОЗДІЛ ІІІ. ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБГРУНТУВАННЯ

3.1. Потреба в цільовому продукті

Серед мікробних полісахаридів у багатьох країнах Європи та Америки найбільш поширеним є – ксантан. По-перше, це обумовлено тим, що ксантанова камідь (Е415) утворює в'язкі розчини у воді, причому їх в'язкість практично не залежить від температури і значення рН. По-друге, завдяки своїм унікальним реологічним та структурним особливостям, він широко застосовується в різних галузях промисловості [41].

Ксантан часто використовують в харчовій промисловості, як гарний загущувач та стабілізатор. Вже приблизно 10 років за кордоном ксантанову камідь використовують в промисловому виготовленні безглютенових продуктів.

Слід зазначити, що асортимент безглютенових виробів на ринку України залишає бажати кращого. Виробництво такої продукції – повністю відсутнє. І тому постає питання «Чому»?

По-перше, головною проблемою є те, що наша країна зовсім не має виробників/виробництва спеціалізованих на безглютенових продуктах. Український ринок формується в основному за рахунок імпортової продукції, яка має досить високу ціну. А для того, щоб досягти зниження ціни на продукти без глютену можливо лише за рахунок налагодження вітчизняного виробництва якісної та безпечної харчової продукції. Крім того, при реалізації даного напрямку вкрай необхідно підвищувати рівень відповідальності виробників харчової продукції без глютену та встановити необхідні документи на законодавчому рівні для дотримання виробником правил створення такого виробництва і такої продукції. Тому людям з непереносимістю клейковини продукція «gluten-free» життєво необхідна у швидкому доступі, на полицях найближчих супермаркетів [42].

По-друге, проблемою є відсутність власного підприємства для біосинтезу екзополісахаридів, що використовуються для створення продукції «gluten-free».

					НУХТ БТЕК 04.01.27 ДП ПЗ			
					РОЗДІЛ 3. Техніко – економічне обґрунтування			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Пахомова А.А.						
Перевір.		Ключка Л.В						
Консультан.								
Н. Контр.								
Затверд.		Пирог Т.П.			Кафедра БТМ			

Тому перед харчовою промисловістю України стоїть завдання випуску високоякісних продуктів для здорових людей та випуск спеціальних дієтичних продуктів для харчування людей з різними патологіями. Існує цілий ряд захворювань, які вимагають дієтичного харчування з пониженим вмістом білка, або виключення окремих видів білоквмісних продуктів. Це, перш за все, спадкові захворювання через порушення обміну амінокислот, такі як фенілкетонурія, гістидинемія та ін. та автоімунне захворювання через непереносимість глютену – целиакія [43].

Фенілкетонурія (ФКУ) – спадкове захворювання, що спричиняє порушення обміну амінокислоти фенілаланіну. При цьому захворюванні людям призначають “безбілкову дієту”, при якій вміст білків в добовому раціоні зменшують до 20 – 50 г. За даними 2016 кількість людей, що страждають на таке захворювання як фенілкетонурія, складає – 1,66% населення України (52,100 тис. людей). Відсутність адекватного лікування і дієтотерапії з раннього дитинства при ФКУ неминує призводить до розумової відсталості. В Європі таких жертв несвоєчасної діагностики – одиниці, в Україні ж лише невелика частина дітей з цим захворюванням має шанс на повноцінне життя [44 – 46].

Целиакія – це системне захворювання, що торкається безлічі органів і систем організму людини і перевершує границі ізольованого харчового несприйняття глютену. Дослідження населення виявляють більше прихованих, ніж явних форм непереносимості глютену [47].

Діагностика цих патологій неможлива в нашій країні через брак спеціального обладнання що з точністю відповість на запитання «Яка кількість хворих на целиакію?». В даний час в Україні виявлено 600 (0,001%) хворих на целиакію, хоча передбачається, що їх кількість – близько 500 тис. [48].

На сьогоднішній день кількість безглютенових продуктів визначається сотнями видами продукції – традиційні хлібобулочні, макаронні, кондитерські вироби, дитяче харчування тощо, які відрізняються від традиційних хімічним складом, фізичними властивостями. Виробництво таких продуктів – складний технологічний процес і вимагає застосування різних особливих прийомів та використання харчових добавок для забезпечення високої якості готових виробів.

Відсутність глютену в продуктах для хворих позначається спеціальним знаком на етикетці (перекреслений колос) чи написом, що продукт не містить глютену.

Зараз асортимент безглютенових продуктів в Україні формується тільки за рахунок імпортованої продукції, яка характеризується високою ціною і не належною доступністю. За кордоном продаж безглютенових продуктів набрав великих обертів вже давно. Хоча такі товари дорожчі на 2-2,5%, але за останні 6 років продаж зріс з 29% (за 2012 р.) до 59% (2018 р.). Сьогодні навіть створені спеціальні кафе, ресторани, підприємства, які спеціалізуються на виробництві безглютенової продукції, що не можна сказати про Україну [41, 43, 44]. Проаналізувавши український ринок безглютенових продуктів, можна виділити декількох виробників:

- Сімейна пекарня «Будьте здорові», що виробляють безглютенове печиво «Смакулі» - середня ціна за 120 г становить 77 грн [49].
- Виробник «Ms. Tally», що виробляє різні види борошна (кукурудзяне, гречане, сочевичне, рисове тощо) та безглютенову суміш для випікання. Середня ціна борошна за 1 кг – 80 грн та суміші – 57 грн [50].

Імпортована безглютенова продукція представлена польським виробником («Alaska», «Amarello», «Balviten», «Rymut»), нідерландським («deBron»), германським («3Pauly»), та італійським («DrSchar») [51].

На сьогодні, технологія отримання виробів без глютену дозволяють лише частково замінити борошно пшеничного сорту на другорядні види борошна, одержуваних з інших злакових або бобових сільськогосподарських культур (гречана, рисова, кукурудзяна, соєва, горохова, нутова, сочевична і т.д.). Але подібна заміна ключового компонента рецептури значно погіршить реологічні властивості тіста, і, в результаті, якість готового продукту. Так відбувається через неможливість білків рису, кукурудзи та сої сформувати клейковину, що відповідає за структуру м'якушки готового виробу. Для деяких видів продуктів, таких як хлібобулочні вироби, повна відсутність клейковини вкрай негативно позначається на споживчих якостях [52].

Але вирішення цієї проблеми є, – це використання екзополісахаридів мікробного походження. Саме застосування таких вуглеводів під час створення безглютенових продуктів, не тільки покращує стан продуктів без глютену, а ще й

підвищує їх енергетичну цінність. І часте вживання глютену чинить руйнівну дію на організм навіть здорової людини.

Таблиця 3.1.

Порівняльна таблиця різних структуроутворювачів для створення безглютенових продуктів

Показник якості	Види структуроутворювачів					
	Контроль 	Альгінат натрію 	Модифікований крохмаль 	Пектин 	Ксантан 	Гуар 
Зовнішній вигляд: форма	Відповідає формі, в якій проводилось випікання, без бокових впливів	Відповідає формі, в якій проводилось випікання, без бокових впливів	Відповідає формі, в якій проводилось випікання, без бокових впливів	Відповідає формі, в якій проводилось випікання, без бокових впливів	Відповідає формі, в якій проводилось випікання, без бокових впливів	Відповідає формі, в якій проводилось випікання, без бокових впливів
Поверхня	Відповідає виду виробу, без забруднення, наявні великі тріщини на поверхні	Відповідає виду виробу, без забруднення, з дрібними тріщинами	Відповідає виду виробу, без забруднення, з великими та дрібними тріщинами	Відповідає виду виробу, без забруднення, наявні тріщини	Відповідає виду виробу, без забруднення, майже без тріщин	Відповідає виду виробу, без забруднення, наявні великі тріщини на поверхні
Колір	Світло-коричневий	Світло-коричневий	Світло-жовтий	Світло-коричневий	Світло-коричневий	Світло-жовтий
Стан м'якушки: пропеченість	Пропечена, не еластична, волога на дотик, без слідів непромісу	Липка, нееластична	Нееластична, липка	Нееластична, липка	Пропечена, еластична, волога на дотик	Пропечена, еластична, трохи волога на дотик, без слідів непромісу
Пористість	Без пустот, присутні дрібні рівномірні пори	Без пустот, наявне стиснення м'якушки, присутні дрібні рівномірні пори	Без пустот, наявне стиснення м'якушки, наявні дрібні, рівномірні пори	Без пустот, присутні дрібні, рівномірні пори	Без явних пустот, присутні дрібні, рівномірні пори	Без пустот, присутні дрібні, рівномірні пори
Смак	Притаманний даному виду виробів, з присмаком крохмалю	Притаманний даному виду виробів, з приємним крохмальним присмаком	Притаманний даному виду виробів, з присмаком крохмалю	Притаманний даному виду виробів, з присмаком крохмалю	Притаманний даному виду виробів, з приємним смаком, крохмаль майже не відчувається	Притаманний даному виду виробів, без стороннього присмаку
Запах	Властивий даному виду виробів, приємний, без стороннього запаху	Властивий даному виду виробів, приємний, без стороннього запаху	Властивий даному виду виробів, без стороннього запаху	Властивий даному виду виробів, без стороннього запаху	Властивий даному виду виробів, приємний, без сторонніх запахів	Властивий даному виду виробів, без стороннього запаху
Титрована кислотність хліба, град Н	1,1	0,65	0,72	0,74	0,85	0,76

Масова частка вологи, %	51,2	44,8	48,2	47,9	48,5	48,1
-------------------------	------	------	------	------	------	------

За результатами таблиці 3.1. найкращим структуроутворювачем у виготовленні безглютенових продуктів є ксантан і гуар. Але порівнявши їх можна з точністю сказати, що ксантан кращий за камідь гуару за декількома остаточними пунктами – це титрована кислотність та масова частка вологи (за стандартами якості харчових добавок). Але деякі літературні дані свідчать про використання камеді гуару з каміддю ксантану в співвідношенні 1:1, що дає найкращий результат і кінцева продукція має якісний склад, зовнішній вигляд та має високу поживну цінність [43, 53].

Тому у даному дипломному проєкті, ми хочемо запропонувати використання екзополісахариду ксантану, що утворюється в результаті ферментативного біосинтезу бактерій *Xanthomonas campestris*. Він застосовується як згущувач навіть в дуже невеликих концентраціях при виробництві хліба та інших продуктів без глютену в якості гарного вологозв'язуючого агента, завдяки своїм відмінним реологічними властивостями, при цьому в'язкість не залежить від зміни рН і температури. Стандартне дозування – 0,5% від маси борошна (в залежно від виду продукції), в рецептурі безглютенового хліба ксантанова камідь збільшує його обсяг, підтримує вологість і покращує структуру виробу.

Використання ксантану в продукції дитячого харчування пов'язане з різними видами злакових в пюре, дитячих сухих сумішах, як загущувач молочних сумішей тощо [55].

Дані підрозділу 3.1. (Потреба у цільовому продукті) наводимо у вигляді узагальнюючої таблиці.

Таблиця 3.2.

Вихідні дані для розрахунку річної потреби у ксантані

Захворювання	Види безглютенових продуктів	Добова норма виробу на добу, одній людині, г	Кількість ксантану в одному виробі, г	Кількість ксантану на одну людину, г	Кількість хворих в Україні на 2016 рік	Загальна кількість ксантану на один рік для всіх хворих, кг
	Хлібобулочні вироби	277 г	1,25 г*	0,866 г		158 045

Целіакія	Макаронні вироби	150 г	$1,75 \text{ г}^{*2}$	0,656 г	500, 000 тис	119 720
	Кондитерські вироби	40 г	$0,9 \text{ г}^{*3}$	0,12 г		21 900
	Дитяче харчування	500 г	$0,15 \text{ г}^{*4}$	0,25 г	7700^{*5}	703
Всього: 300 368 кг						

Примітка: *розрахунок кількості ксантану в одному виробі: в хлібобулочному виробі (400 г), відсоткове значення ксантану становить 0,5% від маси борошна в продукті, за літературними даними на 400 г хлібу використовують 250 г борошна, тому: $0,5 \cdot 250 / 100 = 1,25$ г ксантану;

*²на 400 г макаронних виробів витрачається 250 г борошна, значення ксантану дорівнює 0,7% від кількості борошна, тому маса ксантану дорівнює: $0,7 \cdot 250 / 100 = 1,75$;

*³використання ксантану в кондитерських výroбах становить 0,3% на його масу, середня маса продукту – 300 г. Тому розрахуємо кількість ксантану, що потрібна для виготовлення одного виробу: $0,3 \cdot 300 / 100 = 0,9$;

*⁴добова норма дитячого харчування залежить від віку дитини (200-800 г) на добу, тому обираємо середнє значення – 500 г. Як і в хлібобулочних výroбах, кількість ксантану становить 0,5% від маси борошна в продукті. Дитяча суміш має приблизну вагу (в залежності від виробника) 300 г, а відсоткова частка борошна – 10,0% (30 г), тому маса ксантану в одному виробі становить: $0,5 \cdot 30 / 100 = 0,15$ г.

*⁵проаналізувавши літературні дані, точної кількості хворих дітей на целіакію віком від 1 місяця до 1 року немає, тому за приростом населення (за 2018 рік) приймемо, що відсоток хворих дітей становить 1,54% ($648\ 100 \text{ (дітей)} \cdot 100 / 42\ 177\ 579 \text{ (населення в Україні)}$). Тому за пропорцією отримаємо $1,54 \cdot 500\ 000 / 100 = 7\ 700$ дітей хворих на целіакію;

За даними таблиці 3.2. потреба в ксантані становить – 300 368 кг в рік, для людей що хворіють таким захворюванням, як целіакія. Важливість цієї теми полягає в тому, що на сьогодні в Україні велика кількість людей страждає від таких патологій та не має засобів їх подолання.

3.2. Розрахунок потужності виробництва

Найбільш поширеними на ринку харчових добавок України є екзополісахариди мікробної природи. Але їх виробництво на сьогоднішній день не поширено на українського споживача. Світовий ринок за 2015 р. показав, що приблизна кількість ксантану, що була вироблена за 1 рік становить 343 600 т. Китайський ринок посідає перше місце у цій галузі промисловості: найбільша

частка виробленого екзополісахариду, дешевизна продукту ($1,34\$ + 1\$$ (доставка) = $2,34\$$ за 1 кг) та легкий спосіб її реалізації. Причина цього в тому, що ксантанова камідь, що експортується з Китаю не очищена та має клітини мікроорганізмів. Вона вважається дешевою, порівняно з іншими постачальниками «xanthan gum», і саме для безглютенових продуктів можливе використання «китайського» ксантану (згідно з науковою літературою) [55,56].

Отже, промисловий ринок не дає даних про поставку полісахариду в Україну, але з точністю можна сказати, що 100% екзополісахариду експортують з країн Європи та Китаю. Проаналізувавши дані, в подальших розрахунках ми будемо постачати ксантан на 20% від потреби населення. Адже, існують закордонні виробники та вироби, що стабільно залишаються на ринку України. І тому ми приймемо, що для забезпечення хворих в Україні, кількість ксантану в рік повинна дорівнювати – 60 074 кг.

Кількість культуральної рідини, необхідно для отримання 60 074 кг (60 074 000 г) ксантану становить:

$$52,3 \text{ г} - 1 \text{ л};$$

$$X = 1\,148\,643 \text{ л культуральної рідини}$$

$$60\,074\,000 \text{ г} - x;$$

Враховуючи сумарні витрати цільового продукту при виділенні (30%), необхідно отримати таку кількість культуральної рідини:

$$V_{\text{кр.}} = 1\,148\,643 / (1 - (0,3)) = 1\,640\,919 \text{ л}$$

3.3. Розрахунок кількості виробничих циклів та геометричного об'єму ферментера

Для повного забезпечення безглютенових виробів розчином екзополісахариду ксантану, потрібно одержати (з урахування втрат для виділення) $1\,640,919 \text{ м}^3$ культуральної рідини (див. підрозділ 1.2.).

Розрахуємо, скільки культуральної рідини потрібно отримати за цикл ферментації, аби розрахувати кількість стадій приготування посівного матеріалу. Тому, приймаємо кількість трудоднів – 150 (в інші дні виробництво ксантану буде йти на інші потреби), тоді кількість продукту за добу становить:

$$V_{\text{д}} = V_{\text{гп}} / T_{\text{тр}} = 1\,640,919 / 150 = 10,9 \text{ м}^3$$

Кількість продукту за цикл буде становити:

$$V_{\text{кр}} = (K_1 \cdot V_{\text{д}} \cdot T_{\text{цф}}) / 24 = (1,1 \cdot 10,9 \cdot 34) / 24 = 17 \text{ м}^3 / \text{цикл},$$

де $T_{\text{цф}}$ – цикл роботи ферментера, який включає тривалість виробничого біосинтезу (24 год) та час підготовки ферментера до роботи (10 год). K_1 – коефіцієнт запасу, що враховує можливість нестерильних операцій ($K_1 = 1,1 - 1,5$).

Підготовка ферментатора включає: миття та огляд (2 год), перевірка на герметичність (2 год), стерилізація (2 год), охолодження (1 год), завантаження середовища (1,5 год), засів (0,5 год), вивантаження культуральної рідини (1 год).

Одержані значення культуральної рідини, ми використовуємо для розрахунку геометричного об'єму ферментера:

$$V_{\Gamma} = V_{\text{цк}} / K_{\text{зап}} = 17/0,6 = 28,3 \text{ м}^3.$$

Обираємо за таблицею ферментер з геометричним об'ємом 32 м^3 .

3.4. Розрахунок кількості стадій підготовки посівного матеріалу

За виробничий цикл отримують $V_{\text{кр}} = 17 \text{ м}^3$ культуральної рідини.

При одержанні культуральної рідини потрібно врахувати її втрати в результаті краплевиносу через колектор відпрацьованого повітря, які становлять від 10 – 15%.

Отже, кількість поживного середовища та посівного матеріалу перед виробничим біосинтезом становитиме:

$$V_{\text{роб.1}} = V_{\text{кр}} / (1 - E_{\text{ф}}) = 17 / (1 - 0,1) = 18,9 \text{ м}^3,$$

де $E_{\text{ф}}$ – втрати культуральної рідини під час біосинтезу.

Виробничий біосинтез здійснюється у ферментері з робочим об'ємом $V_{\text{роб.1}} = 18,9 \text{ м}^3$.

При вибраному коефіцієнті заповнення $K_{\text{зап}} = 0,6$ розраховують можливий геометричний об'єм ферментера ($V_{\text{ф}}$), що становить $V_{\text{ф}} = V_{\text{роб.1}} / K_{\text{зап}} = 18,9 / 0,6 = 31,5 \text{ м}^3$.

Приймаємо що найближчий за об'ємом ферментер рівний $V_{\text{сф}} = 32 \text{ м}^3$, та уточнюємо прийнятий раніше коефіцієнт заповнення.

$$K_{\text{зап1}} = V_{\text{роб.1}} / V_{\text{сф}} = 18,9 / 32 = 0,59.$$

Уточнений коефіцієнт заповнення перебуває у вибраних межах, отже геометричний об'єм ферментера обрано вірно.

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

$$V_{\text{пс1}} = V_{\text{роб.1}} / (1 + X_{\text{ф}}) = 18,9 / (1 + 0,1) = 17,2 \text{ м}^3,$$

де $X_{\text{ф}} = 0,1$ – доза посівного матеріалу для ферментера.

Кількість посівного матеріалу становить $V_{\text{пм1}} = V_{\text{роб.1}} - V_{\text{пс1}} = 18,9 - 17,2 = 1,7 \text{ м}^3$.

Для одержання $1,7 \text{ м}^3$ інокуляту в посівному апараті враховуємо втрати в результаті краплевиносу через колектор відпрацьованого повітря, які становлять від 10 до 15%. Тоді кількість поживного середовища та посівного матеріалу в посівному апараті становитиме:

$$V_{\text{роб.2}} = V_{\text{пм1}} / (1 - E_{\text{па}}) = 1,7 / (1 - 0,1) = 1,9 \text{ м}^3.$$

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

$$V_{\text{пс2}} = V_{\text{роб.2}} / (1 + X_{\text{па}}) = 1,9 / (1 + 0,1) = 1,73 \text{ м}^3,$$

де $X_{\text{па}} = 0,1$ – доза інокуляту для посівного апарату.

Кількість посівного матеріалу для посівного апарату становить $V_{\text{пм2}} = V_{\text{роб.2}} - V_{\text{пс2}} = 1,9 - 1,73 = 0,17 \text{ м}^3$ або 170 л.

Кількість інокуляту $V_{\text{роб.2}} = 1,9 \text{ м}^3$ можна одержати під час культивування бактерій у посівному апараті геометричним об'ємом $V_{\text{па2}} = V_{\text{роб.2}} / K_{\text{зап}} = 1,9 / 0,6 = 3,17 \text{ м}^3$. Приймаємо найближчий за об'ємом стандартний ферментер $V_{\text{сф}} = 3,2 \text{ м}^3$, уточнюємо прийнятий раніше коефіцієнт заповнення.

$$K_{\text{з1}} = V_{\text{роб.2}} / V_{\text{сф}} = 1,9 / 3,2 = 0,59.$$

Для одержання 170 л посівного матеріалу в інокуляторі враховуємо втрати в результаті краплевиносу через колектор відпрацьованого повітря, які становлять від 10 до 15%. Тоді кількість поживного середовища та посівного матеріалу перед культивуванням в інокуляторі становитиме:

$$V_{\text{роб.3}} = V_{\text{пм2}} / (1 - E_{\text{ін}}) = 170 / (1 - 0,10) = 188,9 \text{ л}.$$

Кількість посівного матеріалу (доза) становить 10 % від об'єму поживного середовища. Тоді кількість поживного середовища в інокуляторі буде:

$$V_{\text{пс3}} = V_{\text{роб.3}} / (1 + X_{\text{ін}}) = 188,9 / (1 + 0,1) = 171,7 \text{ л},$$

де $X_{ін} = 0,1$ – доза посівного матеріалу для інокулятора.

Кількість посівного матеріалу для інокулятора становить $V_{пм3} = V_{роб.3} - V_{пс3} = 188,9 - 171,7 = 17,2$ л.

Кількість інокуляту $V_{роб.3} = 188,9$ л можна одержати під час культивування бактерій в інокуляторі геометричним об'ємом $V_{ін3} = V_{роб.3}/K_{зап} = 188,9/0,6 = 314,8$ л. Приймаємо найближчий за об'ємом стандартний ферментер $V_{сф} = 320$ л, уточнюємо прийнятий раніше коефіцієнт заповнення.

$$K_{з1} = V_{роб.3}/V_{сф} = 188,9/320 = 0,59.$$

Для одержання 17,2 л посівного матеріалу в інокуляторі враховуємо втрати в результаті крапливиносу через колектор відпрацьованого повітря, які становлять від 10 до 15%. Тоді кількість поживного середовища та посівного матеріалу перед культивуванням в малому інокуляторі становитиме:

$$V_{роб.4} = V_{пм3}/(1-E_{ін}) = 17,2/(1-0,10) = 19,1 \text{ л.}$$

Кількість посівного матеріалу (доза) для малого інокулятора становить 10 % від об'єму поживного середовища в малому інокуляторі. Тоді кількість поживного середовища в малому інокуляторі буде становити:

$$V_{пс4} = V_{роб.4}/(1+X_{ін}) = 19,1/(1+0,1) = 17,4 \text{ л,}$$

де $X_{ін} = 0,10$ – доза посівного матеріалу для інокулятора.

Кількість посівного матеріалу становить $V_{пм4} = V_{роб.4} - V_{пс4} = 19,1 - 17,4 = 1,7$ л.

Кількість інокуляту $V_{роб.4} = 19,1$ л можна одержати під час культивування бактерій в малому інокуляторі геометричним об'ємом $V_{ін4} = V_{роб.4}/K_{зап} = 19,1/0,6 = 31,8$ л. Приймаємо найближчі за об'ємом два стандартних ферментера $V_{сф} = 32$ л, уточнюємо прийнятий раніше коефіцієнт заповнення.

$$K_{з1} = V_{роб.4}/V_{сф} = 19,1/32 = 0,6.$$

Для одержання посівного матеріалу $V_{пм4} = 1,7$ л для засіву малого інокулятора можна культивуванням бактерій в колбах на качалці. Для цього використовують качалочні колби об'ємом $V_{колб} = 750$ мл з коефіцієнтом заповнення $K_{зк} = 0,2$.

Тоді кількість колб становить:

$$N_{колб} = V_{пм5}/(V_{колб} \cdot K_{зк}) = 1700/750 \cdot 0,2 = 11 \text{ колб.}$$

Одже, за результатами розрахунків для біосинтезу ксантанової камеді бактеріями *Xanthomonas campestris* ATCC 1395 необхідно ферментер для біосинтезу об'ємом 32 м³, інокулятор об'ємом 3,2 м³, інокулятори по 320 та 32 л та 11 качалочних колб.

РОЗДІЛ IV. БІОСИНТЕЗ ЦІЛЬОВОГО ПРОДУКТУ

4.1. Шляхи катаболізму ростового субстрату у біологічного агента

Джерелом вуглецю при культивуванні *X. campestris* pv. *campestris* є меляса. Згідно з Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes катаболізм ростового субстрату у *X. campestris* відбувається за шляхом Embden-Meyerhof (гліколіз). Наводимо схему перетворення меляси (рис. 4.1).

На початку метаболічного шляху відбувається взаємоперетворення меляси на сахарозу за допомогою УДФ-вуглеводнів (уридиндифосфатпохідних вуглеводів), як наведено на рис. 4.1. Утворений α -D-глюкозо-6-фосфат під дією *глюкозо-6-фосфат-ізомерази* (КФ 5.4.2.2) трансформується у β -D-фруктоза-6-фосфат. Далі за допомогою ферменту *6-фосфофруктокінази* (КФ 2.7.1.90) переходить у β -D-фруктозо-1,6-дифосфат.

На утворювану проміжну сполуку діє *фруктозодифосфатальдолази* (КФ 4.1.2.13) і спричиняє утворенню нової сполуки – гліцеральдегіду-3-фосфату. Наступним етапом є перетворення гліцеральдегіду-3-фосфату на 3-фосфо-D-гліцеролфосфат за участю фермента *гліцеральдегід-3-фосфатдегідрогенази* (КФ 1.2.1.12). Потім йде перетворення на 3-фосфо-D-гліцерат за допомогою фермента *фосфогліцераткінази* (КФ 2.7.2.3). Далі відбувається ізомеризація у 2-фосфо-D-гліцерату (фермент *фосфогліцератамутази* (КФ 5.4.2.11)), що в подальшому перетворюється на фосфоенолпіруват (ФЕП) за участі *фосфоніруватгідратази* (КФ 4.2.1.11). Кінцевим етапом є утворення пірувату за допомогою фермента *піруваткінази* (КФ 2.7.1.40).

					НУХТ БТЕК 04.01.27 ДП ПЗ				
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата					
Розроб.		Пахомова А.А.			РОЗДІЛ 4. Біосинтез цільового продукту		Літ.	Аркуш	Акрушів
Перевір.		Ключка Л.В							
Консультан.				Кафедра БТМ					
Н. Контр.									
Затверд.		Пирог Т.П.							

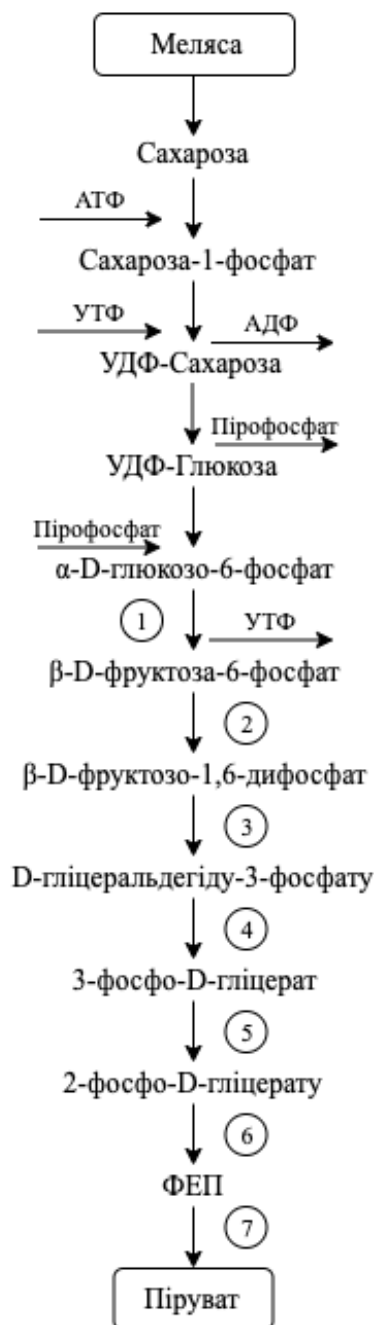


Рис. 4.1. Катаболізм м'яса. Шлях Ембдена-Мейєргофа-Парнаса

Ферменти:

1 – глюкозо-6-фосфат-ізомерази (КФ 5.4.2.2); **2** – 6-фосфофруктокінази (КФ 2.7.1.90); **3** – фруктозодифосфаталядолази (КФ 4.1.2.13); **4** – гліцеральдегід-3-фосфатдегідрогенази (КФ 1.2.1.12); **5** – фосфогліцераткінази (КФ 2.7.2.3); **6** – фосфогліцератамутази (КФ 5.4.2.11); **7** – піруваткінази (КФ 2.7.1.40).

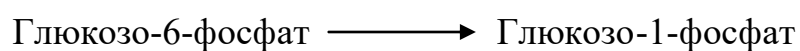
4.2. Біотрансформація ростового субстрату у цільовий продукт

Джерелом вуглецю під час культивування *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* ATCC 1395 є м'яса, що у свою чергу залучається до гліколізу, кінцевим інтермедіатом якого є піруват.

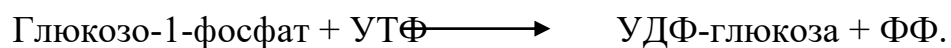
Для *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* ATCC 1395 у Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes не наведено схеми трансформації пірувату до кінцевого продукту – ксантану. Для створення схеми біосинтезу цільового продукту використаємо окремі стандартні схеми синтезу складових частин молекули ЕПС ксантану. Молекула ксантану має такі складові: D-глюкоза, D-маноза, D-глюкуронова кислота, О-ацетильні групи, піровиноградна кислота.

Основним інтермедіатом синтезу є піруват який залучається у цикл трикарбонових кислот та перетворюється на ацетил-КоА, який є одним з основних компонентів молекулярної структури ксантану. Утворення ацетил-КоА з пірувату відбувається за допомогою фермента (КФ 1.2.7.11). Далі ацетил-КоА переходить у цикл трикарбонових кислот: за допомогою *цитрат-синтази* (КФ 2.3.3.1) ацетил-КоА трансформується у цитрат. Далі під дією *аконітатгідратази* (КФ 4.2.1.3) відбувається утворення цис-Аконітата, що в подальшому перетворюється на ізоцитрат (за допомогою фермента *аконітатгідратази* (КФ 4.2.1.3)). Фермент *ізоцитратдегідрогеназа* (КФ 1.1.1.41) діє на ізоцитрат утворюючи 2-оксоглутарат, в подальшому 2-оксиглутарат трансформується у Сукциніл-КоА (КФ 1.2.7.11). Наступним етапом є утворення сукцинату під дією фермента *КоА-трансферази* (КФ 2.8.3.18), потім сукцинат перетворюється на фумарат (*сукцинатдегідрогеназа* (КФ 1.3.5.4)). Утворений фумарат переходить у малат за допомогою фермента *фумаратгідратаза* (КФ 4.2.1.2). Малат в свою чергу трансформується в Оксалоацетат (фермент *малатдегідрогеназа* (КФ 1.1.1.37)), що закриває шлях утворенням Цитрату (*цитрат-синтаза* (КФ 2.3.3.1)).

Безпосереднім попередником глікозильних залишків, що входять до складу ЕПС є нуклеозиддифосфатсахариди. Як правило, нуклеозидна частина у їх складі представлена уридином. Синтез ЕПС ксантану відбувається за участі УДФ-глюкози, що є його попередником. Синтез відбувається за такими реакціями:



(*фосфоглюкомутаза* (КФ 5.4.2.2));



(*УТФ- глюкозо-1-фосфатуридилтрансфераза* (КФ 2.7.7.9)).

Утворення попередника ЕПС УДФ-глюкуронової кислоти відбувається за допомогою – УДФ-глюкози. Трансформація відбувається за допомогою фермента *УДФ-глюкозодегідрогенази* (КФ 1.1.1.22).

Включення манози відбувається у вигляді нуклеотидглікозильного донора – ГДФ-маноза, це відбувається за такими реакціями: перетворення фруктозо-6-фосфат на маноза-6-фосфат за участю фермента *фосфоманознаізомераза* (КФ 5.3.1.8). Утворена маноза-6-фосфат трансформується у маноза-1-фосфат (фермент *фосфоглюкомутази* (КФ 5.4.2.8)). Далі відбувається утворення ГДФ-манози під дією фермента *ГДФ-манозопірофосфорилази* (КФ 2.7.7.13).

Анаплеротичні реакції під час біосинтезу ксантану:

- карбоксилювання ФЕП з утворенням оксалоацетату (фермент *фосфенолпіруваткарбоксилаза*);
- карбоксилювання пірувату з утворенням оксалоацетату (фермент *піруваткарбоксилаза*);
- карбоксилювання пірувату з утворенням малату (фермент *малатдегідрогеназа декарбоксилювальна*).

Ферменти:

1 – *глюкозо-6-фосфат-ізомерази* (КФ 5.4.2.2); 2 – *6-фосфотруктокінази* (КФ 2.7.1.90); 3 – *фруктозодифосфатальдолази* (КФ 4.1.2.13); 4 – *гліцеральдегід-3-фосфатдегідрогенази* (КФ 1.2.1.12); 5 – *фосфогліцераткінази* (КФ 2.7.2.3); 6 – *фосфогліцератамутази* (КФ 5.4.2.11); 7 – *піруваткінази* (КФ 2.7.1.40); 8 – (КФ 1.2.7.11); 9 – *дегідроліпоамід ацетилфераза* (КФ 2.3.1.12); 10 – *цитратсинтаза* (КФ 2.3.3.1); 11 – *аконітатгідратази* (КФ 4.2.1.3); 11 – *ізоцитратдегідрогеназа* (КФ 1.1.1.41); 12 – (КФ 1.2.7.11); 13 – *КоА-трансферази* (КФ 2.8.3.18); 14 – *сукцинатдегідрогеназа* (КФ 1.3.5.4); 15 – *фумаратгідратаза* (КФ 4.2.1.2); 16 – *малатдегідрогеназа* (КФ 1.1.1.37); 17 – *цитрат-синтаза* (КФ 2.3.3.1); 18 – *фосфоглюкомутаза* (КФ 5.4.2.2); 19 – *глюкозо-6-фосфат-1-дегідрогенази* (КФ 1.1.1.49); 20 – (КФ 6.4.1.1); 21 – *малатдегідрогеназа* (КФ 1.1.1.37.); 22 – *фосфоглюкомутаза* (КФ 5.4.2.2); 23 – *УДФ-глюкоза-1-фосфат уроділутрансфераза* (КФ 2.7.7.9); 24 – *УДФ-глюкоза 6-*

дегідрогеназа (КФ 1.1.1.22); 25 – маноза-6-фосфат ізомераза (КФ 5.1.3.8); 26 – фосфоглюкомутаза (КФ 5.4.2.8); 27 – маноза-6-фосфатізомераза (КФ 2.7.7.13).

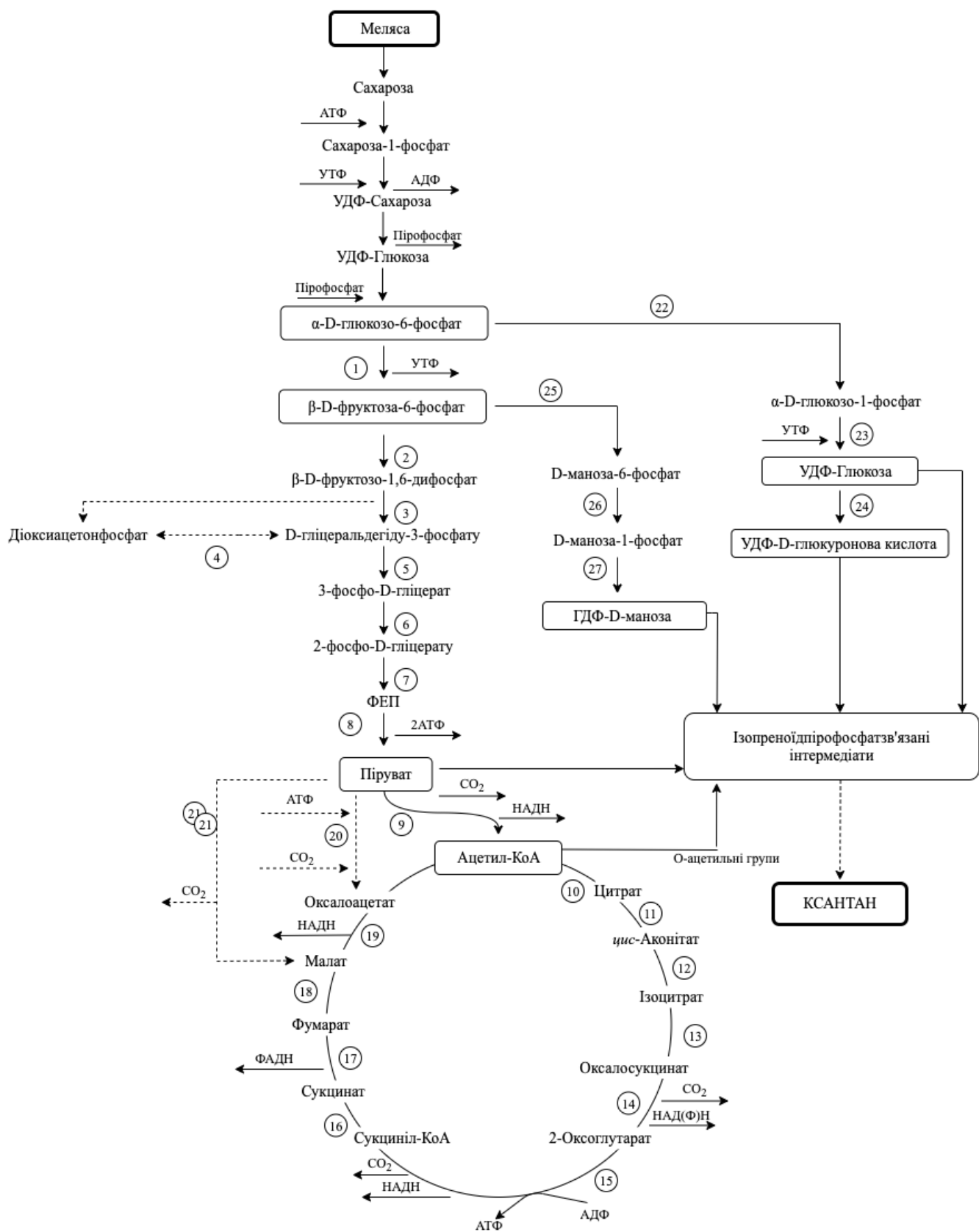


Рис. 4.2. Біотрансформація ростового субстрату у цільовий продукт

РОЗДІЛ V. ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ

5.1. Обґрунтування доферментаційних процесів та виробничого біосинтезу

5.1.1. Обґрунтування способу культивування та вибору ферментера

Об'єктом дослідження є штам бактерії *Xanthomonas campestris* ATCC 1395 - продуцент екзополісахариду ксантану. Рід *Xanthomonas* - це фітопатогенні мікроорганізми, що відносяться до сімейства *Pseudomonaceae*.

За культурально - морфологічними властивостями відноситься до грам-негативних прямих паличок з поперечними розмірами 0,4 - 0,7 × 0,7 - 1,8 мкм, часто поодинокі з наявним полярним джгутиком.

Мікроорганізми цього роду відносяться до хемоорганотрофів, що ростуть лише в аеробних умовах [11].

Обґрунтування вибору ферментера:

Метод глибинного культивування. Метод полягає у вирощуванні мікроорганізмів у рідкому поживному середовищі. Він технічно більш досконалий, ніж поверхневий, оскільки легко піддається механізації і автоматизації. Крім цього, усі клітини культури знаходяться в однакових, легко відтворюваних умовах. В результаті вони рівномірно забезпечуються поживними речовинами і киснем. Глибинне культивування дає можливість чітко дозувати вміст у поживному середовищі різних компонентів. Шляхом зміни складу поживного середовища і умов культивування можна суттєво посилити синтез необхідного продукту.

Весь процес культивування має проводитися в належних асептичних умовах, що, з одного боку, є перевагою методу, а з іншого - призводить до неабияких технічних труднощів, оскільки найменше порушення асептики інколи є наслідком повного припинення утворення ксантану.

Поверхневий метод культивування. При поверхневому методі культура росте на поверхні твердого зволоженого поживного середовища.

					НУХТ БТЕК 04.01.27 ДП ПЗ					
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата						
Розроб.	Пахомова А.А.				РОЗДІЛ 5. Обґрунтування вибору технологічної схеми			Літ.	Аркуш	Акрушів
Перевір.	Ключка Л.В									
Консультан.										
Н. Контр.										
Затверд.	Пирог Т.П.									
					Кафедра БТМ					

Клітини живляться за рахунок поживних речовин середовища і використовують для дихання кисень повітря, тому для нормального забезпечення киснем потрібно проводити рихлення по всій структурі середовища з невеликою висотою шару. Це призводить до необхідності мати велику поверхню контакту рихлого середовища з повітрям, тобто значних виробничих площ, а за відсутності механізації вимагає і великих витрат ручної праці.

Крім того, тверді субстрати, які використовуються у цьому випадку, важко піддавати стерилізації, а поверхневу культуру складно оберігати від забруднення сторонньою мікрофлорою.

- Тому для біосинтезу полісахариду ксантану ми будемо використовувати глибинний метод. Одні з головних принципів вибору – це здатність *Xanthomonas campestris* засвоювати лише розчинений у воді кисень, дотримання асептики та негативний вплив механічних пошкоджень при поверхневому культивуванні. Досягти це можна лише при глибинному культивуванні, тому обираємо саме його.

Безперервний режим культивування. Для безперервного культивування характерна постійна подача свіжих поживних компонентів із швидкістю, що дорівнює швидкості видалення культуральної рідини. Якщо культура добре перемішується, то проби, які відбираються з будь-якої частини ферментера, будуть однакові за біомасою і концентрацією субстрату.

При безперервному культивуванні теоретично бактерії ростуть експоненційно, а тому об'єм культури з часом не змінюється. Такий принцип покладений в основу безперервного культивування в хемостатах і турбідостатах.

Періодичне культивування або стаціонарне. Культивування мікроорганізмів у закритому об'ємі без поновлення поживного середовища. За цих умов популяція мікроорганізмів проходить певний цикл розвитку, для якого притаманна певна зміна фаз або періодів. Послідовна зміна фаз має вигляд S-подібної кривої. Виділяють чотири основні фази росту періодичної культури: лаг-фаза, логарифмічна фаза, стаціонарна фаза та фаза відмирання [57].

- *Біосинтез проводять в періодичному режимі з додаванням субстрату.* Використовується з метою оптимізації процесу біосинтезу ксантану, при культивуванні продуцента *Xanthomonas campestris*. Додавання субстрату, в

нашому випадку підживлення ПС джерелом вуглецю – меляси, призводить до подовження експоненціальної та стаціонарної фаз, а також до збільшення біомаси і як наслідок кількість метаболіту - ксантану. Також синтез ЕПС відбувається до повного використання азоту в середовищі до середини експоненційної фази.

Аерація – один з головних факторів умов культивування культури, що визначає характер розвитку мікроорганізмів та їх продукуючої здатності.

Аерацію проводять трьома методами: шляхом продування певного об'єму кисню через культуральну рідину з паралельним його перемішуванням: шляхом струшування КР, що знаходиться в колбах на качалці; шляхом пророщування продуцента у вигляді плівки на поверхневих поживних середовищах.

Інтенсивність процесу залежить від складу ПС під час біосинтезу. Якщо концентрація поживних елементів для росту біомаси та продукту збільшується, то ступінь аерації необхідно також підвищувати.

- *Тому етап аерацією включається до головного процесу біосинтезу.* Мікроорганізму потрібен постійний доступ кисню, бо від кількості повітря залежить вихідна концентрація ксантану.
- *Контроль за рН.* У випадку полісахариду ксантану, контроль за рН дуже важлива умова. Бо при культивуванні мікроорганізма, початкове значення рН зростає від $7,0 \pm 0,2$ до $9,0 \pm 0,5$. Але в таких умовах, ксантан буде утворюватися в мінімальній кількості. Тому при синтезі ЕПС на ферментерах повинен бути електрод рН для контролю за процесом ферментації.
- *Контроль за температурою.* Також є важливою умовою для синтезу екзополісахариду ксантану. Температура повинна відповідати чітким нормам, для *Xanthomonas campestris* - це $27-30^{\circ}\text{C}$. При високих скачках температури, приріст біомаси може знизитися, а отже і вихідна кількість ЕПС не буде відповідати заданим нормам, тому датчик температур обов'язковий.

Мішалка – це рухомий робочий «орган» перемішуючого пристрою в апараті, що діє на середовище.

Ксантанова камідь дуже в'язка речовина, так як використовується як харчовий загущувач та стабілізатор. А також меляса як компонент поживного середовища також збільшую в'язкість рідини в апараті. Тому вибір типу мішалки – вагомий показник. Врахувавши всі показники, при біосинтезі екзополісахариду можна використати три типи мішалок : рамні, якірні та міцні [58].

Якірні мішалки. Відносяться до тихохідних мішалок із частотою обертання перемішувального пристрою у межах $0,1 - 2,08 \text{ c}^{-1}$. Використовуються для перемішування високов'язких рідин із в'язкістю в інтервалі $100 - 10000 \text{ Па}\cdot\text{с}$ або суспензій, що переміщуються в ламінарному режимі.

У якірних мішалках профіль лопатей повторює внутрішній профіль корпусу апарата і лопаті розміщуються на короткій відстані від корпусу з метою виключення відкладення осаду на поверхні стінок. Таких тип мішалки застосовують для інтенсифікації теплообміну та поперердження випадіння в осад компонентів на стінках і днищі ферментера або інокулятора.

Рамні перемішувальні пристрої. Вони також використовуються для в'язких розчинів у великих об'ємах. І складаються з декількох жорстко скріплених між собою горизонтальних, вертикальних та похилих лопатей, колова швидкість руху щодо діаметра лопаті для таких мішалок складає $0,5 - 3 \text{ м/с}$, відношення $D_a/d_m = 1,05 - 1,3$ [59].

Їх застосовують при необхідності забезпечення інтенсивності перемішування по висоті апарата.

- *Вибір типу мішалки.* Для біосинтезу ксантану ми будемо використовувати рамні мішалки.

Отже, проаналізувавши інформацію можна зробити висновок про особливості культивування *Xanthomonas campestris* – культивування відбувається тільки в періодичному режимі з додаванням субстрату, біосинтез потребує аерації та постійного контролю температури та рН. За цими даними, для біосинтезу цільового продукту – ксантану був обраний ферментера типу Biostat ® D 50/D 100 (рис. 1.6) [60].



Рис. 5.1. Зовнішній вигляд Biostat ® D 50/D 100 [61].

Biostat® D 50/D 100 виготовлений з монтажного блоку, реакторів і блоку управління. "Відкрита" конструкція виконавчого блоку забезпечує швидкий доступ, легке обслуговування і зручну роботу ферментера. Виготовлений з нержавіючої сталі, відношення висоти ємності до діаметра становить 2:1. Biostat® D 50/D 100 має цифрову систему вимірювання і систему управління параметрами процесу, датчиками температури, рН, рО₂, піни і чотири вбудовані перистальтичними насосами.

За допомогою Biostat® D 50 / D 100 можна проводити як безперервні, так і періодичні процеси з подачею живильного середовища. Потужний двигун в комбінації з 3 турбінами забезпечує ефективне змішування і дисперсію газових бульбашок з високим ступенем аерації.

Функціональні можливості програмного забезпечення ферментера дозволяють проводити вимірювання параметрів процесу, автоматичне калібрування і керувати замкнутими робочими циклами. У стандартне оснащення входить система стерилізації реактора, що включає в себе впускні і випускні повітряні фільтри.

Також присутній мультифазний ступінчастий контролер розчиненого кисню, контролер субстрату з кількома опорними точками і температурне блокування з вимиканням нагрівача.

Особливість Biostat® D 50/D 100 – це доступні за спеціальним запитом опції, такі як контролер потоку повітря, витяжний вентилятор, система управління тиском, вимір каламутності [60 - 61].

5.1.2. Обґрунтування вибору стадії підготовки повітря

Xanthomonas campestris pv. *campestris* ATCC 1395 – строгий аероб та потребує культивування в аераційних умовах. Відповідно в технологічній схемі необхідно передбачити стадії підготовки аераційного повітря.

Підготовка аераційного повітря буде здійснюватися в окремих будівлях – компресорних відділеннях, оскільки втрати повітря будуть великі.

Підготовка аераційного повітря складається з таких стадій:

- збір атмосферного повітря здійснюють за допомогою вертикальної труби з повітря забірником у найвищій точці Н ~ 18 м будівлі (висота потолків будівлі – 11 м, висота поверху – 12 м, разом з косим дахом будівлі – 15, відбір повітря повинен відбуватися на 2-3 метри вище найвищої точки), де розміщене обладнання для стиснення та очищення повітря;
- очищення повітря від пилу ($\delta > 50$ мкм) на плоских тканинних фільтрах грубого очищення;
- стиснення повітря в компресорах або турбоповітродувках (при цьому повітря нагрівається до температури 120 – 200°C);
- охолодження стисненого повітря до температури «точки роси», за якої волога повітря конденсується (використовують водяні теплообмінники різного типу: кожухотрубні, «труба в трубі»);
- видалення конденсованої вологи та парів мастила, що потрапили з компресора, у ресивері (ємність великого об'єму); крім того ресивер зменшує пульсації руху повітря, що можуть негативно впливати на роботу подальших фільтрів очищення повітря;
- стабілізація показників (тиск, температура) підігріванням до температури 45 – 50°C парою у відповідних теплообмінниках;
- очищення у головних ємнісних набивних фільтрах до ступеня очищення E = 95%. Головні фільтри, зазвичай, встановлюють поблизу ферментаційних відділень;

- очищення в індивідуальних фільтрах. Повітря від головних фільтрів через трубопроводи (колектори) подається безпосередньо до індивідуальних фільтрів, встановлених на ферментері. При цьому повітря очищають до ступеня очищення Е 99,99%.

Очищення відпрацьованого повітря. Для очищення відпрацьованого повітря ми будемо застосовувати сітчасті фільтри. Вони складаються з циліндричного корпусу з кришкою і днищем, усередині вміщено фільтрувальний елемент, виготовлений з металевих сіток трикотажного сплетіння з дроту діаметром 0,28 мм із нержавіючої сталі. Повітря, проходить через фільтр, звільняється від крапель культуральної рідини з мікроорганізмами.

5.1.3. Вибір мийних та дезінфікуючих засобів

Загальний виробничий біосинтезу екзополісахариду ксантану *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* ATCC 1395 та взагалі біотехнологічне виробництво – це складний механізований процес. І однією з головних завдань на підприємстві є створення якісної та безпечної продукції. Тому для цього розроблено методики для усунення всіх можливих ризиків забруднення (контамінації) кінцевого продукту на всіх стадіях виробничого синтезу.

Виробництво ЕПС ксантану здійснюється протягом 150 днів (див. розділ 1.3). І під час всього процесу необхідно створити максимально асептичні умови. Згідно з ТЕО, виробниче приміщення включатиме: 32 м³ ферментер, три інокулятори – 3,2 м³, 320 л, 32 л, УБС – 16 м³ та збірники для підготовки поживного середовища, качалочні колби та качалки, інше виробниче обладнання. Тому в таблиці 5.1. наведемо розміри всього необхідного обладнання:

Таблиця 5.1.

Розміри основного обладнання для виробництва ксантану

Виробниче обладнання	Геометричний об'єм, л	Діаметр, м	Висота, м
Ферментер	32 000	2,8*	5,6
Реактор-змішувач для приготування композиції А-В	16 000	2,2	4,4
Реактор-змішувач для стерилізації середовища (УБС)	12 500	2	4
Збірник для підживлюючого розчину меляси	8 000	1,7	3,4

Б – цех виробничого біосинтезу: 1 – ферментер об'ємом 32 м^3 , 2 – реактор-змішувач для стерилізації поживного середовища (УБС) об'ємом $12,5 \text{ м}^3$, 3 – реактор-змішувач для приготування та стерилізації підживлюючого розчину меляси об'ємом 8 м^3 , 4 – реактор змішувач для приготування композиції А-В об'ємом 16 м^3 ;

ПМ – цех для вирощування посівного матеріалу: 5 – інокулятор об'ємом $3,2 \text{ м}^3$, 6 – реактор-змішувач об'ємом $1,6 \text{ м}^3$ для приготування композиції А для інокулятора–1, 7 – реактор-змішувач об'ємом 150 л для приготування композиції В для інокулятора–1, 8 – реактор-змішувач об'ємом 150 л для приготування композиції С для інокулятора–1, 9 – інокулятор-2 об'ємом 320 л, 10 – реактор-змішувач об'ємом 160 л для приготування композиції А для інокулятора–2, 11 – реактор-змішувач об'ємом 16 л для приготування композиції В для інокулятора–2, 12 – реактор-змішувач об'ємом 16 л для приготування композиції С для інокулятора–2, 13- інокулятор-3 з робочим об'ємом 32 л, 14 – реактор-змішувач для приготування композиції А для інокулятора-3;

Б/х – біохімічна лабораторія;

М/х – мікробіологічна лабораторія;

К – лабораторія з качалочними колбами.

Кількість та об'єм інокуляторів/збірників див. розділ 3.

Так як, виробництво екзополісахариду ксантану поділено на різні цехи, розрахуємо окремо кожне приміщення:

Загальна площа виробничого цеху «Б» становить $8 \times 12 = 96 \text{ м}^2$. Висота стін становить – 11 м, зважаючи на габарити ферментера (див. табл. 2.1.), стандартними даними щодо відстані між апаратами та стінами та/або вікнами (1 м) та місцем для відкривання кришки ферментера. Тому площа стін дорівнює $((12 \times 11) + (8 \times 11)) \times 2 = 440 \text{ м}^2$. Площа підлоги – 96 м^2 .

Загальна площа цеху «Пм» - $6 \times 10,5 = 63 \text{ м}^2$. Висота стін – 6 м, площа стін $((6 \times 6) + (6 \times 10,5)) \times 2 = 198 \text{ м}^2$. Площа підлоги дорівнює площі приміщення, тобто – 63 м^2 .

Площа лабораторії «М/б» становить $5 \times 4 = 20 \text{ м}^2$, але висота стін має стандартні значення – 2,5 м. Розрахуємо загальну площу стін - $((5 \times 2,5) + (4 \times 2,5)) \times 2 = 45 \text{ м}^2$. Тоді площа підлоги – 20 м^2 .

Вся площа лабораторії «Б/х» становить $6 \times 4 = 24 \text{ м}^2$, площа підлоги має відповідне значення. Висота стін в приміщенні дорівнює 2,5 метри, тому $((6 \times 2,5) + (4 \times 2,5)) \times 2 = 34 \text{ м}^2$.

Загальна площа «К» цеху $6 \times 4 = 24 \text{ м}^2$, а висота стін – 2,5 м. Тому загальна площа стін в цеху дорівнює $((4 \times 2,5) + (6 \times 2,5)) \times 2 = 34 \text{ м}^2$. Площа підлоги – 24 м^2 .

Наведемо узагальнюючу таблицю 5.2.

Таблиця 5.2.

Площа стін та підлоги всіх виробничих цехів

Виробничий цех	Площа підлоги, м^2	Площа стін, м^2	Загальна площа, м^2
Цех «Б»	96	440	536
Цех «Пм»	63	198	261
Лабораторія «М/б»	20	45	65
Лабораторія «Б/х»	24	34	58
«К» цех	24	34	58
Сумарна площа:	227	751	978

За стандартами дезінфекцію підлоги проводять кожний день, за кількістю трудоднів це 150 разів. Тоді загальна площа обробки підлоги дезінфікуючими засобами становить:

$$150 \times 227 = 34\,050 \text{ м}^2$$

Генеральне прибирання, до нього входить миття стін, вікон, дверей, необхідно здійснювати кожен місяць – $150/30 = 5$ разів за весь період виробництва.

$$5 \times 751 = 3\,755 \text{ м}^2$$

Ферментаційне та виробниче обладнання проходить обробку кожен цикл, для біосинтезу ксантанової камеді з урахуванням потужності підприємства, - 106 разів та додаткове миття після останнього циклу (107 разів).

$$74,159 \times 107 = 7\,935 \text{ м}^3$$

Дані наведено в таблиці 5.3.

Таблиця 5.3.

Розрахунок загальної площі миття та/або дезінфекції оброблюваного об'єкту за весь період виробництва

Об'єкт миття та/або дезінфекції	Площа (об'єм) оброблюваного об'єкту, м ² (м ³)	Кількість процесів миття та/або дезінфекції за весь період виробництва	Загальна площа (об'єм) миття та/або дезінфекції об'єкту за весь період виробництва, м ² (м ³)
Обладнання	74,159	107	7 935
Підлога	227	150	34 050
Стіни, двері, вікна	751	5	3 755

При виборі дезінфікуючих засобів, ми враховуємо вартість та витрати на оброблювання необхідної площі виробничого приміщення. Тому на 1 м² витрачається 100 мл мийного або дезінфікуючого засобу (згідно з методичними рекомендаціями щодо підготовки виробничих приміщень, наказ МОЗ України від 14.12.2001 №502).

Для виробництва екзополісахариду ксантану використовується ємнісне обладнання, тому для миття можна обрати автоматичну CIP-мийку.

CIP-мийка або CIP-станція (Cleansing in Place - безрозбірне миття) - обладнання модульного типу (рис. 5.3.), що виконується з корозійностійкої нержавіючої сталі, яке виконує завдання підготовки, нагріву і циркуляції мийочних розчинів всередині технологічного обладнання і трубопроводів, без необхідності їх розбору, з метою автоматизованого видалення забруднень.



Рис. 5.3. Зображення СІП-мийки для стерилізації обладнання [62]

На різних видах виробництва використовується СІП-мийка двох видів, за принципом використання води та розчинів:

- Коли миючий розчин та промивна (питна) вода використовується багаторазово;
- Коли для кожної процедури мийки використовується новий розчин.

В даній курсовій роботі ми будемо використовувати СІП-станцію для багаторазового використання для зменшення витрат миючого засобу під час виробничого процесу. Перевагами такої станції є:

- можливість багаторазового використання миючих засобів;
- підтримання заданої концентрації, температури миючих засобів, часу обробки в автоматичному режимі;
- автоматичний та ручний режим роботи;
- можливість модернізації процесу дезінфекції;
- економічність витрат миючих засобів;
- надійність і простота у використанні.

СІП-станція передбачає окремий «збірник» для нейтралізації миючого засобу за допомогою HCl . Його використовують перед зливом дезінфікуючого

розчину в каналізаційну систему, якщо стоїть питання охорони навколишнього середовища [62].

Витрати мийного засобу при використанні цього способу становить 20% від загального об'єму обладнання. Тому розрахуємо загальну кількість мийного засобу на рік:

$$7\,935 \times 0,2 = 1\,587 \text{ м}^3$$

Ферментер об'ємом 32 м³, УБС об'ємом 12,4 м³, реактор-змішувач 8 м³ та 16 м³ розташовані на валах та мають окремий майданчик для обслуговування. Це майданчик також потребує миття підлоги кожного дня впродовж виробничого синтезу, тобто 150 разів. Обслуговуюча площа складатиме 96 м², тому загальна площа миття майданчика дорівнює:

$$80 \times 150 = 14\,400 \text{ м}^2$$

Тоді загальна площа підлоги, вікон, стін, дверей для дезінфекції буде становити:

$$14\,400 + 34\,050 + 3\,755 = 52\,205 \text{ м}^2$$

Вартість концентратів мийних та дезінфікуючих засобів та їх витрати при виробництві *X. campestris* ATCC 1395 ксантанової камеді наведено в узагальнюючій таблиці 5.4.

Таблиця 5.4.

Узагальнена характеристика витрат мийних та дезінфікуючих засобів для виробництва ксантану

Назва мийного/ дезінфікувального засобу	Об'єкт миття та/або дезінфекції	Конц. робочого розчину, %	Загальна площа (об'єм) миття та/або дезінфекції об'єкту за весь період виробництва, м ² (м ³)	Кількість робочого розчину за весь період виробництва, л	Вартість 1 л/кг мийного або дезінфікувального засобу, грн.	Вартість 1 л робочого розчину, грн	Загальна вартість миття та/або дезінфекції за весь період виробництва, грн
Каустична сода	Обладнання	2,0	7 935	1 587 000	16	0,32*	507 840
Септоклін А12	Обладнання	2,0	7 935	1 587 000	43	0,86	1 364 820
LIV Актив 313	Обладнання	1,0	7 935	1 587 000	80	0,8	1 269 600
ЕКСАН-ПРО-ДЕЗ	Стіни, підлога, вікна, двері	2,0	52 205	5 220	45	0,9	4 698
Blutoxol	Стіни, підлога, вікна, двері	1,6	52 205	5 220	170	2,72	14 198
Універсальний	Стіни, підлога, вікна, двері	2,0	52 205	5 220	43	0,86	4 489

Примітка. Ціни наведено станом на жовтень 2020 р.: <https://prom.ua>

***Приклад розрахунку вартості 1 л робочого розчину дезінфікуючого засобу на прикладі каустичної соди:**
вартість 1 л засобу складає 16 грн, концентрація його робочого розчину – 2 %. Тоді $16 \times 0,02 = 0,32$ грн/л робочого розчину

«Септоклін А12» - лужний засіб зі зниженим піноутворенням для знежирення обладнання. Рідина густиною 1,18-1,22 кг/дм³, концентрація водневих іонів (рН) 10,5. Містить суміш низько пінних ПАР, комплексоутворюючих речовин, спеціальних добавок, інгібіторів корозії, дезінфектантів. ПАР біологічно розкладається.

Термін придатності 1 рік з дня виготовлення. Засіб рекомендується використовувати при видаленні міцних неорганічних і органічних відкладень (жири, масла, дріжджі, цукор, хмільні смоли, денатурований білок) з обладнання, виготовленого з нержавіючої сталі, гуми, кераміки. Засіб підходить як для ручної, так і для машинної мийки. Застосовується для лужної безпінної мийки (CIP-мийка) харчового та біотехнологічного обладнання методом циркуляції, рециркуляції, занурення, розпилення. При використанні персоналом необхідно дотримуватись техніки безпеки: захисні окуляри, рукавички, спец-одяг [63].

«Каустична сода» або натр їдкий. Це безбарвна, без запаху, гігроскопічна, кристалічна (або у вигляді гранул/луски) речовина, що добре адсорбує вологу з повітря і розчиняється у воді з виділенням великої кількості тепла. Використовується для миття забруднених поверхонь біотехнологічного устаткування.

Каустична сода пожежобезпечна та вибухонебезпечна, тобто не схильна до самозаймання, горіння не підтримує, але ємності можуть вибухати при нагріванні. За ступенем впливу на організм людини відноситься до речовин 2-го класу небезпеки, може викликати опіки шкіри, а при тривалому впливі може викликати виразки та екземи. Тому при роботі, персоналу потрібно дотримуватися всіх правил безпеки. Слід пам'ятати, що каустик спричиняє корозію металів. У великих концентраціях та в чистому вигляді він розм'якшує епідерміс та ін. та викликає некроз органічних тканин.

У вигляді 2-3% гарячого (70°C) розчину справляється з великою кількістю інфекцій, спровокованих бактеріями і вірусами. При поєднанні з 5-10% - м хлоридом натрію дезінфікуючий вплив підвищується.

Їдкий натр відповідає основним вимогам до хімічних засобів для дезінфекції:

- добре розчинення у воді;

- отримання ефекту в невеликих концентраціях;
- короткий час для отримання результату;
- забезпечення знезараження навіть при наявності органічних речовин;
- оптимальна стійкість при зберіганні плюс повільне зниження знезаражувальної дії;
- не надмірна токсичність для людей і тварин;
- доступність, дешевизна, зручність транспортування та зберігання.

Гранульований їдкий натр упаковують у клапанні поліетиленові двошарові мішки, в клапанні мішки, вологозахисні, закриті, з тканинним ламінатом. За узгодженням зі замовником, можна використовувати сталеві барабани. Термін зберігання продукту – 1 рік з дати виготовлення [64 - 65].

Миючий засіб LIV Актив 313 - кислотний з низьким піноутворенням і антибактеріальним ефектом. Призначається виключно для професійного використання! Застосовується для видалення мінеральних відкладень і комплексних забруднень органічного походження, зокрема відкладень вапняку, неорганічного фосфату, залишків протеїнів на підприємствах харчової і переробної промисловості (молочної, консервної, м'ясної і рибопереробної, пиво-безалкогольної, лікєро-горілочної, кондитерської, хлібопекарської і т. д.), в закладах торгівлі, громадського харчування, в комунальному господарстві.

Підходить для води будь-якої жорсткості. При попаданні на шкіру та в очі викликає хімічні опіки. Зберігати тільки в промаркованій тарі виробника, під замком. Використовувати спецодяг з кислотостійкої тканини, гумові рукавички і захисні окуляри. Уникати контакту кошти зі шкірою та очима. Мити руки після використання засобу. При попаданні на шкіру, швидко зняти всі бруднить одяг, шкіру промити водою; перед повторним використання забруднений одяг випрати. У разі потрапляння засобу в очі необхідно негайно промити їх великою кількістю води, а в разі необхідності звернутися за медичною допомогою і показати етикетку. Не ковтати! У разі проковтування прополоскати рот. Не викликати блювоту! Терміново звернутися за медичною допомогою. Застосовувати тільки в добре провітрюваних приміщеннях. Не вдихати парів кошти, при вдиханні: свіже повітря, спокій [66].

«Універсал-низькопінний». Це високолужний миючий засіб, що використовується для миття стін, дверей тощо. Склад: вода деіонізована, гідроксиди лужних металів, неіоногенні ПАР, амфотерні ПАР, комплексоутворювачі. Завдяки лужній властивості засобу забезпечує максимальну дезінфікуючу дію. Різниця концентрації залежить від ступеня забрудненості (1,5-3%). Має здатність до біологічного розкладання. Необхідно дотримуватись правил безпеки: використання захисних окулярів та рукавиць.

Термін придатності становить 2 роки з моменту виготовлення. Зберігають в темному місці, тільки в щільно закритій ємності та при температурі від 0°C до + 50°C [67].

«Ексан-Про-Дез» - миючий засіб для видалення жирових забруднень. Слаболужний пінний очисник з антибактеріальною дією, для ручного миття забруднених поверхонь устаткування і приміщень харчової промисловості. Склад: ПАР, гліцерин, етиловий спирт, масло ялицеве, антикорозійні, антибактеріальні добавки. Вигляд: концентрована рідина коричневого кольору; щільністю 1,025 кг/дм³; рН = 8,0 -10,0. Умови та термін зберігання: зберігання проводять в закритих складських приміщеннях при температурі від -10 ° С до +30 ° С. Термін придатності 12 місяців. Після розморожування засіб зберігає свої властивості. Робочий розчин концентрацією 1-2% використовувати при регулярній мийці.

Властивості: мийка забруднених поверхонь обладнання (столів, контейнерів, кришок випарників) і приміщень (підлога, кахельна плитка) в їдальнях, торгових залах і цехах харчової промисловості; препарат придатний для миття жирного посуду як ручним, так і машинним способом; дозволяє очистити чутливі до лугів поверхні (пофарбовані, але водостійкі); ефективний для широкого спектра забруднень (жир, білок), а також мастильних речовин. Препарат застосовується для мийки чутливих до лугів, але стійких до промивання поверхонь. Поверхні, виготовлені з алюмінію, анодованого металу і сплавів легких металів, перед очищенням повинні бути перевірені на придатність препарату [68].

Blutoxol. Швидкодіюче лужну миючо-дезінфікуючий засіб для приміщень з виробництва та переробки харчових продуктів та біотехнологічних продуктів.

Видаляє жирові та білкові забруднення як рослинного, так і тваринного походження, знищує сальмонелу, дезінфікує очищені поверхні. Blutoxol рекомендований для застосування при температурах 20°C і 10°C, що дозволяє чистити їм холодильні камери. Не містить ароматизаторів. Відповідає вимогам Європейських Норм (EN) 1040, 1275, 1276 і 1650. Склад: у 100 мл засобу міститься: 5 г аміачних сполук; інші складові частини (відповідно до 648/2004 / ЄС): неіонні ПАВ <5%, органічні та неорганічні солі, НТА <5%, барвники. Показник рН:

1. У концентраті: 13;
2. У розчині: 12,5.

Галузь застосування:

Застосовується для чищення та дезінфекції водо- і лугостійких підлог, стін і робочих поверхонь на підприємствах різних видів промисловості. Діюча концентрація – 1-3%. Відповідає 3 класу безпеки. Термін придатності – 2 роки.

Отже, за результатами таблиці 2.4. для миття та/або дезінфекції обладнання на виробництві вигідніше буде використання каустичної соди, для миття стін, дверей, вікон та підлоги – «Універсал-низькопінний». Ці засоби є вигіднішими за відсотковою концентрацією розчину та вартістю одного літру за весь період виробничого біосинтезу (150 днів) [69].

Також на виробництві використовують бактерицидні лампи, які вмикають на 2 години для повної очистки повітря після генерального прибирання, тобто раз на тиждень, в попередньо звільнених від персоналу приміщеннях.

5.1.4. Обґрунтування стадії підготовки обладнання та комунікацій

Миття обладнання. Як вже згадано вище, для миття та дезінфекції ємнісного обладнання на виробництві екзополісахариду ксантану ми будемо використовувати циркуляційну СІР-мийку (Cleaning in place) – безрозбірну мийку за допомогою пристроїв високого і низького тиску.

Стадія технічний огляд (ТО). Після миття та ополіскування водою ємнісного обладнання проводять його технічний огляд для виявлення неущільнень в комунікаціях та запірній апаратурі на обладнанні. Для усунення цих проблем проводять підтягування різьбових з'єднань.

Перевірка на герметичність. Наступна стадія підготовки обладнання (інокуляторів, посівних апаратів, ферментера) до стерилізації полягає в перевірці їх на герметичність. Для цього закривають усю запірну арматуру апарата та подають аераційне повітря до набору надлишкового тиску $P = 0,1\text{--}0,2$ МПа. Потім перекривають вентиль подачі повітря, фіксують покази манометра на кришці апарату та час витримки (30–60 хв) в операційному журналі. При падінні тиску, більше ніж на 0,01 МПа, то вважається, що апарат має ущільнення і тому здійснюється їх пошук. В іншому випадку апарат вважається повністю герметичним.

Якщо виявлені ущільнення, то для їх швидкого пошуку використовуються такі методи:

«Найпростіший» - омилування місць з'єднань. Готують мильний розчин і грушою оприскують всі місця з'єднань. При появі дрібних мильних бульбашок спочатку фіксують це місце, а потім здійснюють підтягування різьбового з'єднання. Якщо ця операція не дала позитивного результату, міняють прокладку і операцію «омилування» повторюють. Процес здійснюють до ліквідації усіх виявлених неущільнень.

Проте такий метод є трудомістким та йому притаманні ряд недоліків:

- необхідність створення достатньо високого тиску в апараті;
- неможливість контролю при підвищених температурах поверхонь апарата та вузлів;
- неможливість перевірки важкодоступних вузлів.

Галогеновий метод. Цей метод базується на використанні галогенових течієшукачів. На початку апарат заповнюють хлорвмістним газом (чистим або в суміші з повітрям). Наприклад, фреон (хлорон) або CCl_4 , CF_4 , закривають усю запірну апаратуру, апарат нагрівають до 80°C і збільшують тиск до 0,2 МПа. Вихід парів цих речовин проникають через неущільнення та фіксуються течієшукачем.

Тривалість перевірки одного апарату цим методом – 1,5 – 2 години. У разі виявлення неущільнень фіксують це місце і здійснюють операції з їх ліквідації, як описано вище.

Стерилізація обладнання та комунікації. Застосовують для цього термічну стерилізацію водяною насиченою парою з тиском $P = 0,28 - 0,3$ МПа. Цей процес умовно поділяють на три етапи: нагрів апарата, витримування при температурі стерилізації (суто стерилізація) та охолодження.

Нагрів апарата. Під час стерилізації апарата попередньо в сорочку подають насичену пару і прогрівають апарат до температури $80-90^{\circ}\text{C}$.

Стерилізація. Відкривають усю запірну арматуру на відкритих трубних закінченнях та підведених до апарата комунікаціях і подають гостру пару безпосередньо в апарат через барботер або нижній спуск, попередньо відкривши вентиль виходу відпрацьованого повітря для видалення повітря з апарату. При досягненні в апараті температури стерилізації $t_{\text{ст}} = 130 - 135^{\circ}\text{C}$ закривають усю запірну арматуру на апараті, крім парової, і витримують заданий час стерилізації. При стерилізації апарата паралельно стерилізуються індивідуальні фільтри стерильного та відпрацьованого повітря.

Охолодження. Закривають усю запірну арматуру та арматуру подачі пари в апарат. У сорочку подається холодна вода. Для компенсації падіння тиску (утворення вакууму при конденсації пари в апараті) в апарат подають стерильне повітря. Процес охолодження здійснюють до досягнення температури до $30-40^{\circ}\text{C}$ і надлишкового тиску $P = 0,003-0,005$ МПа.

5.1.5. Особливості підготовки та стерилізації поживного середовища

5.1.5.1. Обґрунтування способу стерилізації компонентів середовища на всіх стадіях вирощування посівного матеріалу

Виробництво екзополісахариду ксантану *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* ATCC 1395 здійснюється на такому середовищі (г/л):

- Меляса – 40 та дробне внесення до концентрації 175 г/л;
- Дріжджовий екстракт – 10;
- K_2HPO_4 – 4;
- Triton 80 – 0,1.

А поживне середовище для вирощування посівного матеріалу на всіх стадія має такий склад (г/л):

- Сахароза – 100;

- Триптон 10 – 10;
- Дріжджовий екстракт – 10;
- NaCl – 5.

Згідно з розрахунків, наведених у розділі 1, виробничий біосинтез ЕПС ксантану ми здійснюємо у ферментері об'ємом 32 м³, що містить 17 м³ поживного середовища. Для одержання інокуляту необхідно провести 4 стадії підготовки (у колбах на качалці, інокуляторах об'ємом, 32 л, 320 л та 3,2 м³).

Слід нагадати, що при виробництві ксантанової камеді в складі поживного середовища використовується меляса, яка найчастіше потребує попереднього освітлення. Але згідно наукової літератури [стаття] було проведено дослідження пов'язані з використанням різної меляси, яка підтверджує що відсутність попередньої підготовки меляси не впливає негативно на кінцевий результат виходу експолісахариду, а навпаки підвищує.

Для внесення 175 г/л (рис. 2.2.) джерела вуглецю – меляси, ми використовуємо дробне підживлення кожні 8 годин по 45 г/л впродовж процесу культивування.

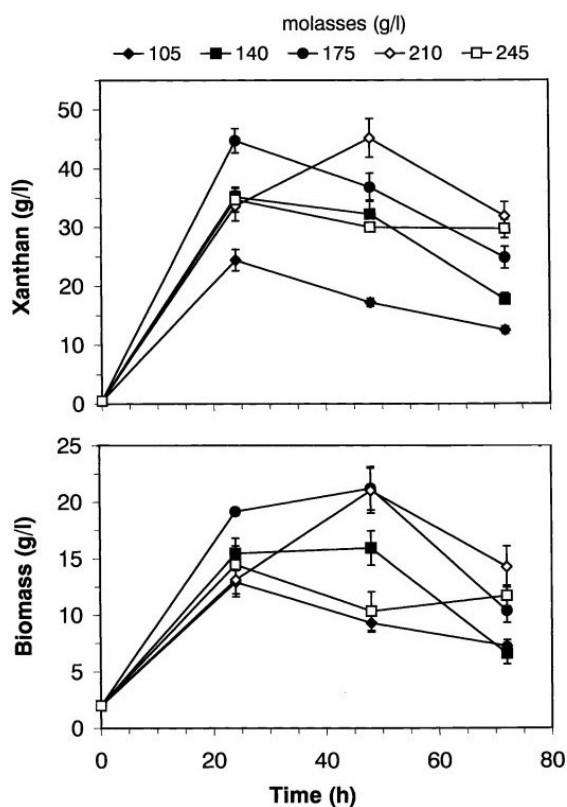


Рис 5.4. Залежність кінцевого виходу біомаси і ксантану від концентрації меляси під час біосинтезу [70]

Так як, використовується дикий штам *Xanthomonas campestris* ATCC 1395, для адаптації бактерії до великої концентрації вуглеводу, для вирощування культури використовується сахароза з концентрацією 100 г/л без підживлення.

За різними літературними даними Triton 80 сприяє покращенню виходу екзополісахариду. Але на цьому поживному середовищі збільшення ксантану, як кінцевого продукту не відбулось. Це пояснюється тим, що меляса вже має речовини, що виступають як поверхнево-активні. Тому постає питання «Навіщо Triton 80?». Відповідь проста - при біосинтезі на мелясі спостерігається виділення великої кількості піни, а ПАР це гарний адгетант та піногасник під час виробничого біосинтезу.

Для вирощування культури *X. campestris* необхідно строго контролювати значення $pH = 7,0$, для цього під час культивування ми стабілізуємо поживне середовище 6%-им розчином NaOH [70].

5.1.5.2. Обґрунтування способу стерилізації компонентів у ферментері об'ємом 32 м³.

Проаналізувавши склад поживного середовища для вирощування посівного матеріалу в колбах, ми умовно ділимо його на такі композиції (в залежності від режиму стерилізації):

Композиція А: сахароза та дріжджовий екстракт (стерилізація при $t = 112^{\circ}\text{C}$, протягом 30 хв).

Композиція Б: триптон ($t = 121^{\circ}\text{C}$ та протягом 15 хв).

Композиція С: NaCl стерилізують при температурі 131°C , 40 хв).

Компоненти композиції А - сахароза та дріжджовий екстракт – термолабільні речовини, тому використовують м'який спосіб стерилізації при температурі 112°C протягом 30 хвилин. Для посівного апарата об'ємом 32 л композицію А ми стерилізуємо в окремому реакторі-змішувачі об'ємом 15 л. Композицію В та С будемо стерилізувати окремо в колбах на качалці, так як загальний об'єм кожної композиції становить 1 л. Стерилізацію проводять у вертикальному автоклаві типу АВ-2.

На стадіях вирощування інокуляту на всіх стадіях підготовки (320 л, 32 л) використовуються саме посівні апарати для стерилізації композицій. Тому перед кожним посівним апаратом будуть встановлені спеціальні збірники (в залежності

від об'єму) для того, щоб приготувати окремі композиції для подальшого внесення в апарат для стерилізації. Так як, кожна композиція має різні режими обробки, то ми не змінюємо склад заданих нами вище композицій. Сіль NaCl та триптон готують в окремих збірниках.

5.1.5.3. Обґрунтування способу стерилізації компонентів в інокуляторі об'ємом 3,2 м³.

Так як, поживне середовище для виробничого біосинтезу відрізняється за складом, то виділяємо такі композиції:

Композиція А: меляса, дріжджовий екстракт, Triton 80 (стерилізація при $t = 121^{\circ}\text{C}$, протягом 15 хв).

Композиція Б: KH_2PO_4 ($t = 131^{\circ}\text{C}$ та протягом 40 хв).

Композиція С: підживлюючий розчин меляси ($t = 121^{\circ}\text{C}$, 15 хв).

Технологічна схема, окрім стадій підготовки посівного матеріалу, матиме ще додаткові стадії:

- приготування миючих та дезінфікуючих засобів, миття стін, дверей, підлоги, вікон та обладнання;
- підготовка аераційного повітря та очистка відпрацьованого;
- приготування та стерилізація 6%-ого розчину NaOH для стабілізації середовища;
- приготування 1 н розчину сульфатної кислоти;
- приготування та стерилізація підживлюючого розчину меляси.

5.2. Обґрунтування стадій виділення і очищення цільового продукту

5.2.1. Попередня обробка культуральної рідини

Одним з головних етапів виділення цільового продукту є відокремлення біомаси в культуральній рідині. Проаналізувавши наукову літературу, було помічено, що під час осадження біомаси, коли мелясу використовували в якості субстрату, частина ксантану спільно осаджується з біомасою, навіть коли зразки розбавляють питною водою до коефіцієнта розведення 1:10. А це вже в подальшому призведе до значних втрат при виробничому біосинтезі. Для запобігання сумісного осадження ксантану та біомаси в культуральну рідину додають розчин етилендіамінтетраоцтової кислоти (ЕДТА) в кінцевій концентрації 4 мМ на 1 л культуральної рідини. При виділенні ЕПС з мембрани

грам(-) бактерій, хелати або (внутрішньокомплексні зв'язки), що знаходяться в ЕДТА заміщають іони Кальцію в зовнішньому шарі та таким чином звільняють молекулу полісахариду, підвищуючи проникність мембрани і чутливість до ефекту комплементу та лізоциму, без впливу на ксантан. На рисунку наведено формулу ЕДТА, що вже пройшов реакцію заміщення на лужно-земельний метал (рис. 1.2.1) [70].

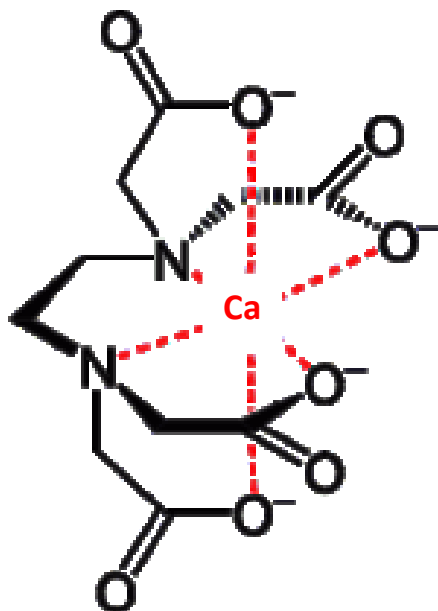


Рис. 5.6. Схематичне зображення заміщення лужно-земельного металу у ЕДТА

Цей метод єдиний та ідеальний при отриманні екзополісахариду ксантану культивуванням *Xanthomonas campestris* ATCC 1395 на м'ясі як джерела вуглеводу.

5.2.2. Зменшення в'язкості культуральної рідини

Для виділення біомаси бактерій від культуральної рідини є купа різних методів. Але згідно характеристик ксантанової камеді в'язкість бульйону після ферментації має дуже високе значення, адже вихід ЕПС під час культивування становить 53 г на 1 л поживного середовища. І через це вплине негативно на оптимальний процес виділення. Проаналізувавши фізико-хімічні властивості ксантану, найкращими методами для вирішення цього питання є два абсолютно різні способи. Перший спосіб пов'язаний з використанням високих температур, а

другий – розведення полісахариду за допомогою NaOH або іншого розчинника у співвідношенні 1:2.

Метод високих температур базується на повільному підвищенні температури розчину екзополісахариду приблизно до 80 - 100°C. Особливість в'язкості розчину камеді ксантану характеризується залежністю яка має максимум при температурі розчину 40°C (рис 5.7).

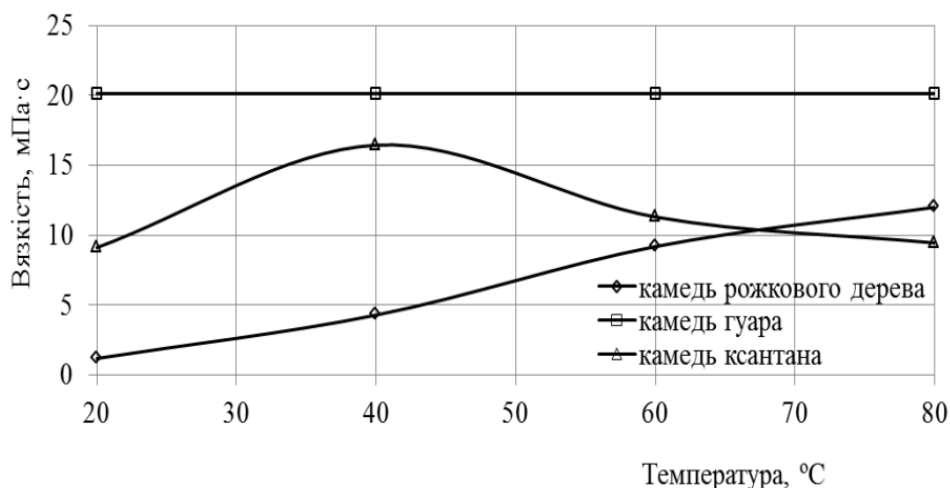


Рис 5.7. Залежність в'язкості ксантанової камеді від температури [71]

Така поведінка пояснюється тим, що при підвищенні температури до 40°C структура, яка утворилась у розчині, поступово зміцнюється, після чого подальше підвищення призводить до зменшення взаємодії між окремими ділянками структури або між окремими ланцюгами камеді, в результаті чого в'язкість такого розчину починає поступово зменшуватися.

Метод розведення. Для зниження в'язкості розчину також використовуються метод розведення (1:3) за допомогою неорганічних та органічних сполук. Ксантан дуже стійкий до дії різних речовин: наприклад, витримує 30% гліцерину, етилового та ізопропілового спирту та витримує малі концентрації (< 20%) різних кислот, окрім соляної. За літературними джерелами було виявлено, що реологічні властивості ЕПС зберігається при використанні NaOH або Na₂SiO₃. За ціною політикою кілограм кожної речовини варіюється від 18-26 грн, тому доцільно використовувати обидва розчини.

Отже, зробивши аналіз двох методів, можна зробити висновок, що більш вигідним методом є – метод високих температур. По-перше, він не потребує зайвих витрат, порівняно з методом розведення: витрати на закупівлю сировини

для розведення, витрати на закупівлю та обслуговування габаритного обладнання, («збільшення» всього промислового обладнання мінімум в 2 рази), витрати на воду для створення 98% розчину NaOH, стерилізація розчину тощо). По-друге, потребує менших зусиль. Тому на виробництві полісахариду ми використовуємо саме зменшення в'язкості за допомогою дії високих температур [72].

5.2.3. Відділення біомаси

Наступним етапом для виділення біомаси є сам процес розділення. В іноземній та українській літературі єдиним способом для виділення біомаси - процес центрифугування. Його використовують саме для в'язких розчинів, так як при високому факторі розділення процес відділення біомаси буде максимальним. Процес поділу за допомогою центрифуги відповідає всім вимогам: має високу продуктивні, компактність обладнання, максимальний фактор розділення та додаткові функції, що необхідні при виділення кінцевого продукту.

Іноді етап виділення біомаси з культуральної рідини пропускають і просто осаджують спиртом ксантан, а рідку фазу видаляють фільтруванням або відстоюванням. Згідно даних використання етанолу або іншого спирту більш вигідне по всім показникам – ціна етанолу в пропорції 1:2 значно нижча, ніж купівля, монтаж, експлуатація центрифуг будь-якого типу. Особливо через те, що виробництво ксантану є великотонажним і обсяги для обслуговування окремих комунікацій не є вигідним і безпосередньо впливатиме на собівартість кінцевої продукції. Але при використанні етанолу на цій стадії виділення не призведе до максимально ідеального результату: втрати ксантану, неповна очистка, залишки біомаси та інших сторонніх речовин. Цей метод базується на використанні ксантану в промисловому, нафто-видобувному та косметологічному виробництві. Для харчової промисловості, а саме використання ксантану в безглютенових продуктах неможливе через токсичну дію бактерій на організм людини. Тому цей метод ми не будемо використовувати для нашого виробничого процесу. Далі розглянемо можливі моделі центрифуг, що будуть оптимально підходити до даного типу процесу [73 - 74].

На сьогоднішній день для високов'язких середовищ використовують центрифуги з обігріванням, що зменшать час процесу відділення біомаси та буде оптимальним вибором для нашого процесу. Але є недоліки в тому, що такі розділюючі апарати в основному лабораторного типу і тому виникає потреба замовлення спеціального обладнання.

Також необхідно зауважити, що біомаса по відношенню до культуральної рідини – зависла частинка, тому для цього нам необхідно використати процес центрифугування з максимально можливим фактором розділення. Швидкість обертання - 12 000 об/хв протягом 5 хвилин (8 000 об/хв упродовж 15 хвилин/ 7 000 об/хв протягом 20 хв) в залежності від потужності центрифуги [7].

Для великотонажного виробництва екзополісахариду ксантану з урахуванням потужності виробництва та в'язкості середовища, ми обираємо трубчасту центрифугу (суперцентрифугу). Саме такий відділяючий апарат використовують для відділення твердих високодисперсних речовин, емульсій та високо в'язких речовин.

Суперцентрифуга. Такі апарати застосовують для розділення висококонцентрованих грубих емульсій. Вони мають значну продуктивність по осаду, при чому осад одержують з порівняно незначною вологістю. Фактор розділення становить до 50 000. Такі апарати призначені для освітлення розбавлених суспензій і поділу емульсій. Такі центрифуги є швидкохідними машинами. Про підігрівання апарату такого типу не повідомляють, але можливе використання спеціальних додаткових нагрівачей компаній «Chromolox» (рис. 5.8.) для підігрівання та контролю температури різних емульсій та суспензій під час процесу розділення.



а)



б)



в)

Рис. 5.8. Компоненти нагріву: а) патронний нагрівач, б) високотемпературний нагрівач, в) гнучкий нагрівач [75]..

Характеристика моделі GQ150 (рис. 5.9.):

- Продуктивність: 3 м³/год;
- Швидкість обертів: до 15 000 об/год;
- Фактор розділення: 17 000;
- Габарити: внутрішній барабан – 142 мм, висота – 730 мм;
- Маса центрифуги: 550 кг
- Ціна: 5 000 \$

Ці установки періодичного відділення, при цьому потужність дуже висока для швидкого відокремлення біомаси [75].



Рис. 5.9. Зображення суперцентрифуги моделі GQ150 [75]

Принцип роботи: в нижню частину ротора поступово подається в'язкий розчин по мірі розділення необхідного розчину. Біомаса проходить через отвір в голові апарата, поступає в нижню частину зливної тарілки та через патрубок виноситься з центрифуги (рис. 5.10) [76 - 77].

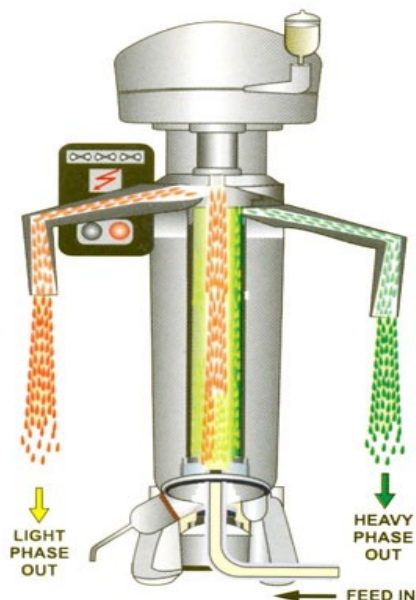


Рис. 5.10. Принцип роботи суперцентрифуги [75]

Незважаючи на низьку продуктивність, використання такої центрифуги зменшить кошти на задрати та знизить собівартість продукції. Так як, послідовність операцій показує вигідне для нас використання апаратів з меншим об'ємом та зменшить кількість розчинників в подальшому виділенні.

Отже, процес відділення біомаси за допомогою центрифугування буде проходити в нас партійно. За цикл ми отримуємо $\approx 18 \text{ м}^3$ культуральної рідини разом к ЕДТА, а потужність суперцентрифуги – 3 м^3 . Тобто очищення рідини від клітин відбуватиметься в 6 послідовних етапів-партій. Приблизний час роботи апарата – 1 година, так як швидкість обертів за хвилину становить 15 000, а розділення при такій потужності максимальне за мінімальний час (10 хв).

5.2.4. Обґрунтування виділення та очищення ксантану

Після всіх етапів виділення біомаси, наступним питанням постає виділення та очищення цільового продукту, тобто ксантану.

Для початку необхідно розуміти, що ксантанова камідь це порошок білого кольору і тому для одержання готового продукту обираємо такі стадії:

- 1) осадження ксантану в супернатанті;
- 2) відділення полісахариду;
- 3) промивання ксантану;
- 4) висушування до 94% сухих речовин.

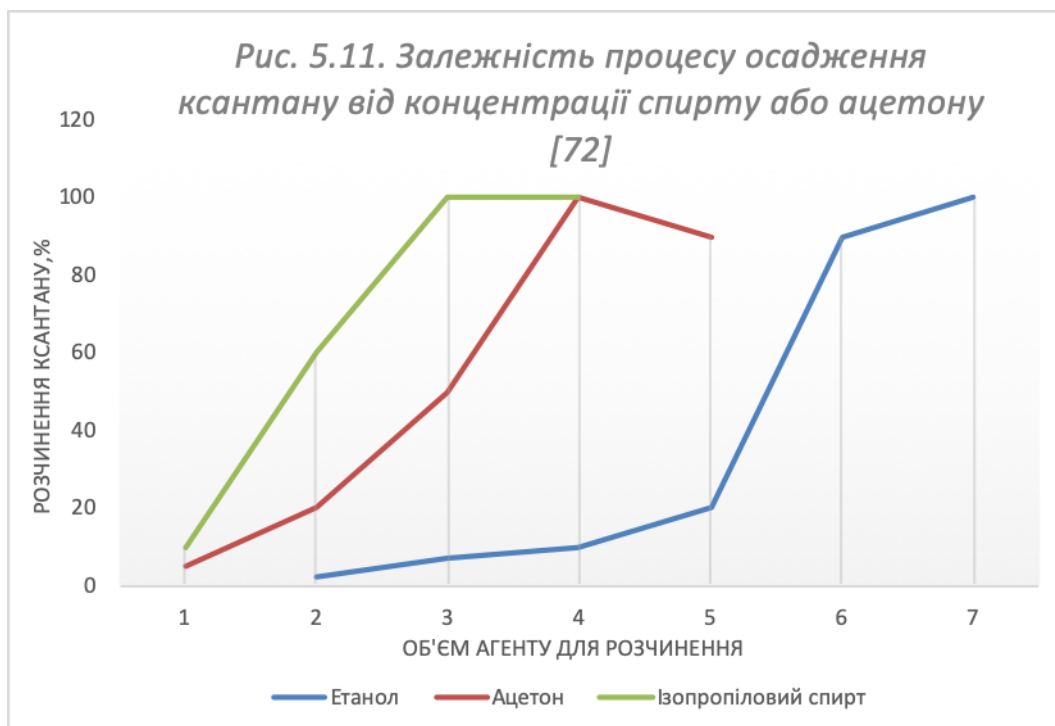
Ксантан у супернатанті можна розглядати як гідрофільний колоїд, що утворює справжній розчин у воді. Осадження полімеру досягається за рахунок

зниження розчинності розчиненого колоїду за допомогою таких методів, як додавання солей, змішуваних з водою розчинників та концентрації випаровування. Варіанти відновлення, які були вивчені, включають осадження органічних розчинників, таких як етанол та ізопропіловий спирт (ІПА); вживання сумішей солей та спирту; і осади тривалентними або чотиривалентними солями. Також можливе використання ультрафільтрації. Найпоширенішою методикою, що використовується для первинної ізоляції та очищення полісахаридів, є осадження з використанням не змішуючих з водою розчинників, таких як спирти.

5.2.5. Осадження та очищення ксантану спиртами

Основними речовинами для осадження екзополісахариду в супернатанті є спирти, але лише при високих концентраціях >80%. Способи осадження саме екзополісахаридів не мають особливої різниці, єдиною відмінністю між ними - це використання різних спиртів, наприклад, метанол, етанол або ізопропіловий спирт. Використання саме органічних розчинників таких як етанол, метанол, бутанол тощо зумовлено тим, що ксантан стійкий до будь-яких середовищ. Ксантанова камідь не піддається різкій зміні температури, рН, витримує перепади тиску та струсу. Також екзополісахарид зберігає свої реологічні властивості при дії високої концентрації різних агресивних кислот (соляна кислота, оцтова кислота, лимонна кислота тощо) та солей. Але при всьому цьому ксантан розчиняється в воді.

Нижчі спирти (метанол, етанол, ізопропанол) та ацетон, які не є розчинниками для полісахариду, можуть бути додані до культуральної рідини не тільки для зменшення розчинності до поділу фаз, але і для вимивання домішок, таких як кольорові компоненти, солі та клітини. На рисунку 5.11. показаний ефект додавання спиртів або ацетону на розчинність ксантану.



Додавання нерозчинного реагенту сприяє осадженню не тільки за рахунок зниження водної спорідненості полімеру, але і шляхом посилення зв'язування присутніх катіонів.

Необхідна кількість спирту залежить від природи реагенту. Повне осадження екзополісахариду ксантану можливе лише тоді, коли на об'єм культуральної рідини додають ІПА або ацетону у співвідношенні 1:2. Якщо використовуються нижчі спирти, такі як етанол, потрібно 6 л на 1 л одержаного супернатанту [72 - 73].

Для виділення екзополісахариду ксантану вигідніше використовувати 96% розчин ізопропілового спирту, тому що ціна за 1 л становить в середньому 27 грн, стосовно інших розчинників: метанол – 1 л за 40 грн та етиловий спирт – 32 грн (1 л). Також доведено, що перевагою використання етанолу або ізопропілового спирту є підвищена ефективність отримання ЕПС ксантану.

Отже, для осадження ксантану в супернатанті ми будемо використовувати ізопропіловий спирт, він дешевший в порівнянні з іншими алкоголями та підвищує продуктивність осадження за меншим об'ємом.

5.2.6. Виділення та висушування кінцевого продукту

Для концентрування продукту можна використати декілька методів:

- фільтрація;

- центрифугування;
- відстоювання.

Фільтрування – це процес відділення твердої фази від рідкої шляхом проходження через фільтруючий матеріал або через полімерну сітку відповідним діаметром отворів. Недоліки процесу фільтрування заключаються в великих втратах біомаси за рахунок проходження частини клітин через пори фільтруючого матеріалу, що засмічується і потребує заміни чи регенерації. Але проблема з біомасою була вирішена раніше, за допомогою центрифугування, і тому використання фільтрів є гарним вирішенням питання: висока швидкість фільтрування, висока питома продуктивність, мала виробнича проща, мала тривалість допоміжних операцій, повна автоматизація процесу.

Центрифугування – процес зневоднення і розділення суспензій на рідку і тверду фази під дією відцентрових сил. Центрифуги підрозділяються на фільтруючі, осаджувальні і комбіновані (осаджувально-фільтруючі). Перевагами процесу центрифугування є висока продуктивність, низька залишкова вологість осаду. Але застосування такого обладнання призведе до значних витрат на закупівлю апаратів, їх обслуговування, що «програє» на фоні інших методів розділення.

Відстоювання – це апарати для розділення неоднорідних систем, що дозволяють порівняно просто при малих енергетичних витратах зробити попереднє розділення пилогазових систем, емульсій та суспензій. Перевагами цих апаратів є проста будова та обслуговування, відсутність деталей і механізмів, що рухаються. Але при таких незначних позитивних сторін, такі апарати дуже громіздкі, мають низьку інтенсивність і ефективність роботи, утруднення, пов'язані з вивантажуванням пилу.

Виділений осад, збирають і висушують при 70°C до постійної ваги та до повного випаровування спирту і рідини.

Для зменшення часу на розділення, промивку, очищення та висушування можна використати барабанний вакуум-фільтр, який вже має форсунок для промивання осаду та вакуум для його просушування. Апарат такого типу для великотонажних виробництв та при виділенні ксантану з супернатанту дає можливість зменшити час на процес виділення, знизить витрати на додаткове

обладнання, комунікації, додаткову сировину, електроенергію, собівартість продукції зменшиться в 3 рази (апарат для розділення твердої і рідкої фази, апарат для промивки осаду та сушарка) та ін [76, 78].

Барабанний вакуум-фільтр. Відносяться до безперервно діючих апаратів, призначених для фільтрування рідких неоднорідних суспензій та емульсій, а також тонкоподрібнених матеріалів. До переваг барабанного вакуум-фільтрів (рис. 5.12.) відносять: можливість ефективного ведення безперервного процесу при низьких витратах при обслуговуванні та ремонту поверхні фільтрування; універсальність; висока швидкість фільтрування; стійких до хімічно активних середовищ; простота обслуговування; до недоліків — великі розміри (необхідна значна площа для установки фільтра), складність монтажу та заміни матеріалу.

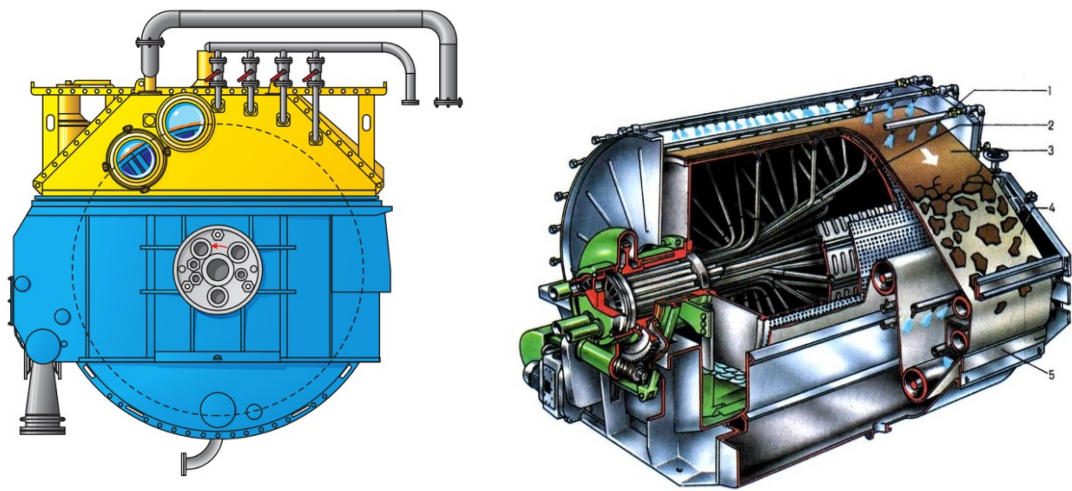


Рис. 5.12. Барабанний вакуум-фільтр [79]

Барабанний вакуум-фільтр - обертовий горизонтально розташований барабан, частково занурений в корито з осадом. Барабан має дві бічні стінки: внутрішню суцільну і зовнішню перфоровану, обтягнуту фільтрувальною тканиною. Простір між стінками розділене на 16 - 32 секції, що не контактують між собою. Кожна секція має відповідний колектор, що входить в торці в цапфу, до якої притиснута нерухома розподільна головка. У зоні фільтрування осад фільтрується під дією вакууму. Потім осад просушується атмосферним повітрям. Фільтрат і повітря відводяться в загальну вакуумну лінію. У зоні знімання осаду в секції подається стиснене повітря, що сприяє відділенню зневодненого осаду від фільтрувальної тканини. Осад знімається з барабана ножем. У зоні

регенерації тканину продувається стисненим повітрям або парою. Для поліпшення функціонування фільтруючої тканини через 8 - 24 години роботи фільтр регенерують - промивають водою, кислотою або розчинами ПАР. Такий апарат є універсальним, при висушуванні продукту після промивки – залишок вологи буде становити приблизно 5 - 7% від загального об'єму, що є оптимальним для готової продукції.

Так як, супернатант складається на 50%, від повного об'єму, із леткої речовини – спирт, необхідно забезпечити повну технологічну та санітарну безпеку на виробництві. Для цього фільтрувальний барабан розміщують у герметичному корпусі заповненому інертним газом під тиском 2 – 4 атм і як наслідок виникає збільшення швидкості фільтрування ксантану.

Характеристика моделі ТС36 (рис. 5.13.):

- Продуктивність: 7 м³/год;
- Площа фільтра: 6 м²;
- Кількість фільтруючих дисків: 12 кругів;
- Кількість фільтрувальних пластин: 144 шт;
- Ширина фільтра: 3000 мм;
- Довжина фільтра: 6600 мм;
- Потужність двигуна: 16 кВт;
- Ціна: 4 000 \$ [79].



Рис. 5.13. Зображення вибухобезпечного барабанного вакуум-фільтра моделі ТС36 [79]

5.2.7. Подрібнення та просіювання кінцевої продукції

Після отримання вже чистого ксантану, постає питання його фасування, пакування та стандартизації. Але необхідно розуміти, що форма випуску екзополісахариду - це білий сипучий порошок. На рисунку 5.14. ми можемо побачити ксантанову камідь після процесу осадження, і тому ми повинні розуміти, що висушена харчова добавка має вигляд волокнистого пластоподібного згустку.

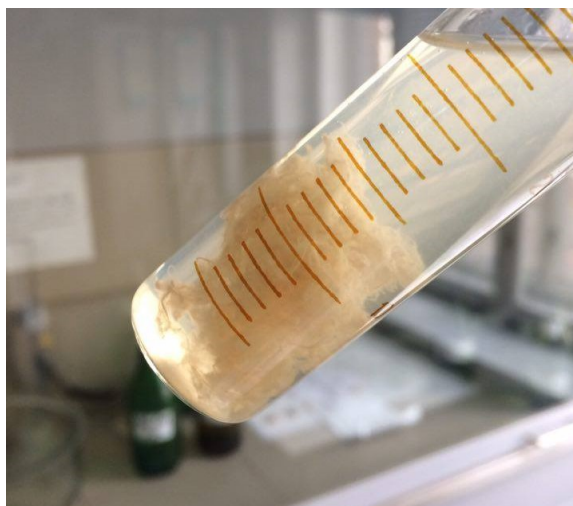


Рис. 5.14. Вигляд ксантану після процесу осадження

Подрібнення також необхідне, коли готовий продукт повинен при використанні швидко розчинятися, так як і з ксантановою каміддю. Тому для досягнення максимально кращого кінцевого результату виробництва, ми додаємо етапи подрібнення та просіювання.

У біотехнологічній промисловості застосовують різні види дробарок: молоткові та ударні, дезінтегратори та дисмембратори, млини кульові та стрижневі, колоїдні, бісерні, ножові та ін. В принципі, для екзополісахариду особливого спеціального обладнання не потрібно, тобто вибір дробарки залежить лише від специфіки продукту, що піддається дробленню та розміру частинок кінцевого продукту.

Якщо розглядати дробарки різних видів за розміром частинок, то найбільш кращим вибором буде слугувати дезінтегратор або дисмембратор. Таке обладнання просте в обслуговуванні, компактне, має високу продуктивність та ступінь подрібнення та надійне в роботі. Дезінтегратори і дисмембратори – це ударно-дискові млини, що відносяться до класу машин вільного ударної дії і

застосовуються для подрібнення крихких і м'яких матеріалів з малою абразивністю (крохмаль, солі, крейда, целюлоза, каолін тощо) [76].

Дисмембратори на відміну від дезінтеграторів мають один обертовий диск. Другий диск нерухомий - його роль виконує кришка млини, на внутрішній поверхні якої укріплені по концентричних колах ряди «пальців». Іноді «пальцям» дисмембратора надають форму ножів для подрібнення волокнистих матеріалів зрізом або розривом. Тому для подрібнення ксантану краще обрати дисмембратор, бо в порівнянні з дезінтегратором перевагами є його більш проста конструкція та одержання продукту більш тонкого помелу [76, 78].

У дисмембратор (рис. 5.15) матеріал надходить через лійку в центральну частину одного з барабанів і потрапляє між рухомими пальцями. Просуваючись від центру до периферії барабанів, частки багаторазово вдаряються і пальці руйнуються, при цьому інтенсивність руйнування наростає, оскільки зменшується крок між пальцями, а окружна швидкість їх зростає. Чим вище швидкість обертання барабанів, чим більше рядів і пальців на дисках, тим вище ступінь подрібнення матеріалу.

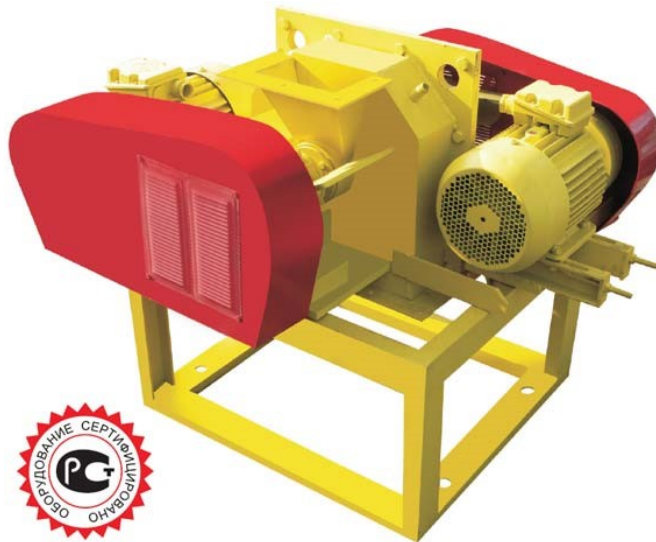


Рис. 5.15. Дисмембратор [76]

Подрібнений матеріал видаляється через кільцеву грати з отворами. Решітка призначена для попереднього відбору цільової фракції. Частинки, які летять при зіткненні з пальцями останнього ряду, вдаряються об грати і додатково руйнуються.

Характеристика моделі ДМ-05 (рис. 5.16):

- Продуктивність: 0,5 т/год;
- Крупність вихідного матеріалу: 0 – 5 мм;
- Крупність отриманого матеріалу: до 100 мкм;
- Потужність установки: 11 кВт;
- Вологість вихідного матеріалу: не більше 5%;
- Габарити: д – 1,2 м, в – 1,1 м, ш – 0,9 м;
- Вага апарату: 620 кг.

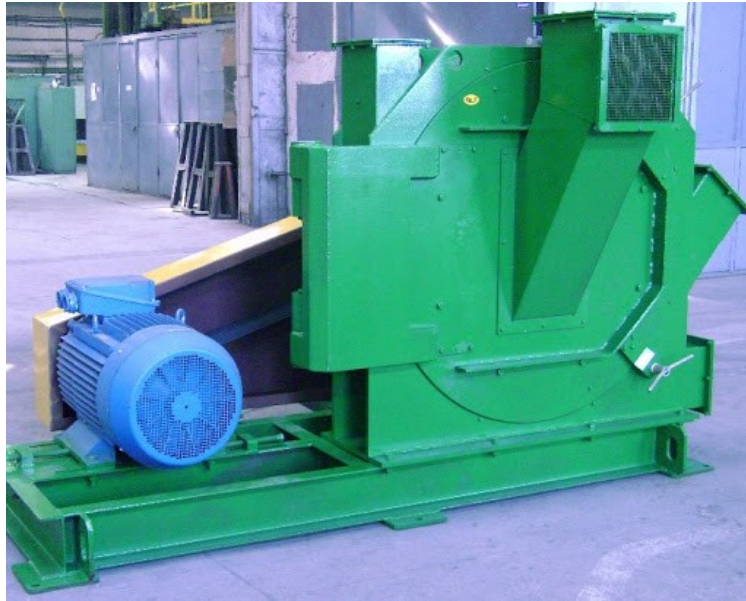


Рис. 5.16. Зображення дисмембратора моделі ДМ-05 [80]

На тонке подрібнення дисмембратора впливає розмір отворів в решітці, тому їх виготовляють змінними. Ґрати не забивається матеріалом, бо їх очищають газові потоки і частки, що рухаються з високою швидкістю [80].

Процес просіювання є кінцевим етапом отримання якісної продукції ксантану, що відповідає всім показникам і готова до фасування/пакування і транспортування на ринок виробництв безглютенових продуктів. Промислові апарати для просіювання є універсальними, особливі відмінності – відсутні, різниця лише в формі сита та його рухливості: рухома, нерухома або вібраційна. Для просіювання екзополісахариду можна використовувати вібраційний просіювач тумблер з плоским ситом (рис. 5.17.) [81].

Принцип роботи полягає в тому, що разом з валом двигуна обертаються дебаланси, які за допомогою пружин зумовлюють коливальний рух робочої

камери. В результаті коливань камери частинки продукту просуваються крізь отвори сита і надходять в розвантажувальний лоток. Амплітуда коливань камери в процесі роботи просіювача не перевищує 1,5...2 мм, а частота коливань дорівнює частоті обертання вала електродвигуна.

Характеристика просіювача моделі YBS1600:

- Площа просіювання: 1,83 м²;
- Потужність: 3 кВт;
- Кількість шарів: 2-6;
- Діаметр: 1580 мм;
- Площа полу: 2,5 м²
- Ціна: 1200 \$.



Рис. 5.17. Вібраційний просіювач тумблер з рухомим ситом моделі YBS1600 [82]

Сито виготовлене з металічного кільця, вкритого гумою, до якого прикріплена сітка. Під час установки на корпус сито гумовою поверхнею впирається на торець корпуса, а зверху на гумовому кільці встановлено завантажувальний бункер [82].

5.2.8. Обґрунтування вибору фасувальних апаратів та пакувальних матеріалів

Після одержання кінцевого продукту, екзополісахарид ксантан подають на фасувальну машину. Упаковка для ЕПС повинна бути водонепроникною, оскільки ксантан гігроскопічний та піддається гідролітичній деградації. Для цього ми будемо використовувати крафт-мішки (рис. 5.18.). Крафт папір вибирають в першу чергу через екологічність, міцність та вологостійкість. Натуральний природний матеріал не містить синтетичних сполук, токсичних речовин та інших шкідливих сполук.



Рис. 5.18. Крафт-мішок для наповнення сипучих речовин [83]

Для упаковки харчових продуктів та харчових добавок гігієнічні компроміси неможливі, непроникність і захист від вологи є важливими факторами, тому мішки з крафт паперу є традиційною упаковкою під сипучі речовини. Такий папір міцний, легко наповнюється, транспортується і відповідають всім екологічним стандартам. Навіть можливе використання мішків з високоякісного крафт паперу до 4 шарів з поліетиленовою вставкою [83].

Для великотонажного виробництва, та з урахуванням експорту товару за кордон, фасування буде здійснюватись по 5 кг в крафт-мішки. Пластикові тари також використовуються для пакування, але дуже рідко та для невеликих партій продукції. Обираємо фасувальну машину, що зображена на рисунку 5.19, для сипучих речовин що заповнюються у відкриті мішки до 50 кг.

Складається фасувальна машина з каркаса, вагового та підвісного бункерів, двох пневматичних заслінок, пневматичного притиску і пульта управління. Продукт гравітаційним методом подається у ваговий бункер. При досягненні потрібної дози подача зерна припиняється і на пульті управління

загоряється відповідна індикація. Оператор встановлює порожній мішок для наповнення на патрубок та закріплює його притискним пристроєм. Зерно з вагового бункера пересипається в мішок. Зафасований мішок розфіксується і падає на приймальний транспортер. Далі цикл повторюється.



Рис. 5.19. Фасувальний апарат для сипучих речовин [84]

Фасувальна машина для сипучих продуктів є легкою в експлуатації, інформація про зважування може передаватись на комп'ютер або програмований логічний транспортер через зручний інтерфейс RS-485. Обладнання для фасування сипучих продуктів забезпечує точний облік зваженої продукції та формує масу дози у ваговому бункері з подальшим пересипанням у відкритий мішок.

Характеристика:

- Маса дози: від 5 до 50 кг;
- Точність дозування: 0,5 – 1%;
- Дозування: вагове;
- Продуктивність: 4 – 6 уп./хв.

Функції пакувального апарату:

- Зважування;
- Дозування;

- Наповнення;
- Підтримка заданої продуктивності;
- Програма обліку Dozator для комп'ютера;
- Автоматичний і ручний режим роботи;
- Індикація ваги дози;
- Лічильники обліку продукції.

Додаткові опції:

- Нержавіюче виконання;
- Завантажувальне обладнання;
- Лінія зашивання мішків
- Монтаж та пусконаладжувальні роботи обладнання [84].

Отже, проаналізувавши всі методи виділення екзополісахариду ксантану, можна дійти до висновку, що сам процес виділення та очистки не є складним, але підбір необхідного обладнання має високе та істотне значення. В кінцевому результаті, відділення ксантану від культуральної рідини складатиме такі етапи: попередня обробка КР, відокремлення біомаси, осадження полісахариду за допомогою алкоголю, фільтрування з промивкою, висушуванням та фасування готової продукції. Не принципова технологічна схема наведена у вигляді узагальнюючого рисунку 5.20.

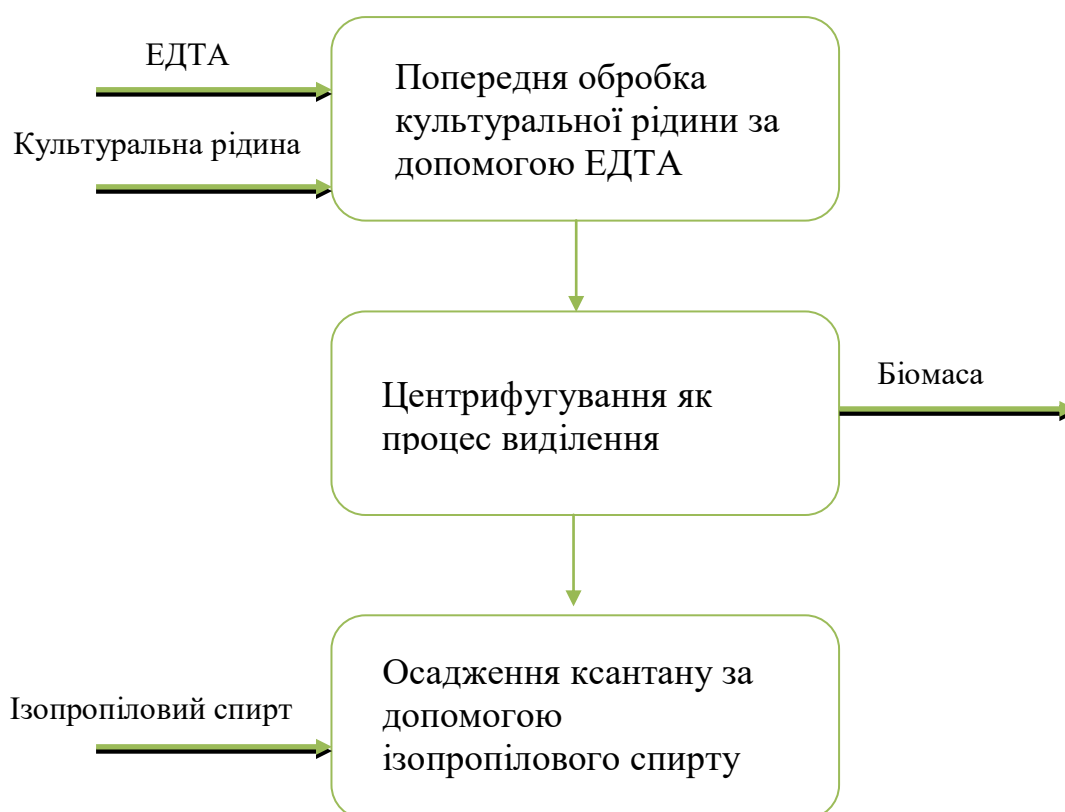




Рис. 5.20. Не принципова технологічна схема

5.2.9. Регенерація спирту для повторного використання

Для запобігання нераціональних втрат на виробництві постає питання щодо повторного використання ізопропілового спирту.

Дистиляція (перегонка) – цей процес в ході якого леткі компоненти (гази) випаровуються з суміші та конденсуються, перетворюючись в очищений спирт. Процес дистиляції простий, температура кипіння залежить від природи спирту.

Для очистки спирту ми будемо використовувати ректифікаційну колону. Ректифікаційна колона (рис. 5.21. та рис. 5.22.) являє собою вертикальний циліндричний апарат, що закритий зверху кришкою і знизу днищем. По висоті колони на певній відстані одна від другої встановлені масообмінні контактні

пристрої - тарілки, або колона заповнена насадкою. Колона безперервної дії звичайно складається із двох частин: верхньої - зміцнювальної (концентраційної) і нижньої - вичерпної (відгінної). Початкова суміш надходить до колони звичайно підігрітою до температури кипіння та подається на тарілку живлення, розташовану в середній частині між нижньою і верхньою колоною. Температура кипіння ізопропілового спирту становить – 82,5°C.

Пара, що утворюється при кипінні, піднімається вгору по колоні та контактує з рідиною, що стікає зверху вниз. Під час руху пари із середньої частини колони у верхню частину відбувається процес поступового збагачення парової фази низькокиплячим компонентом. Висококонцентрована парова фаза виводиться із колони в конденсатор - дефлегматор, отриманий в результаті конденсації конденсат частково виводиться як готовий продукт - дистилят, а частково подається на верхню тарілку колони у вигляді флегми [76].

Подача флегми на верхню тарілку колони забезпечує в колоні сталість складу фаз, що взаємодіють на контактних елементах верхньої колони. При перетіканні флегми з тарілки на тарілку зверху вниз відбувається збідніння рід.

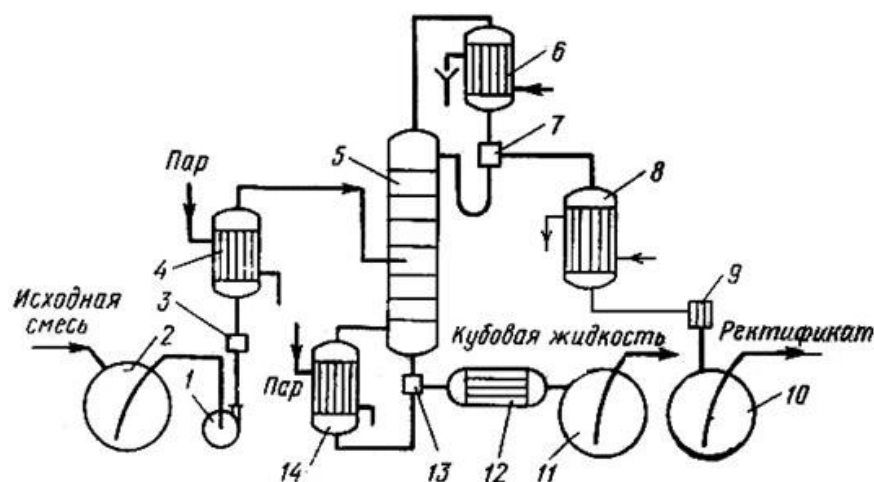


Рис. 5.21. Схематичне зображення ректифікаційної колони [76]

Завдяки такому апарату, регенерація спирту буде відбуватися за невеликий час, зменшить витрати на додаткову сировину та буде екологічно безпечним.

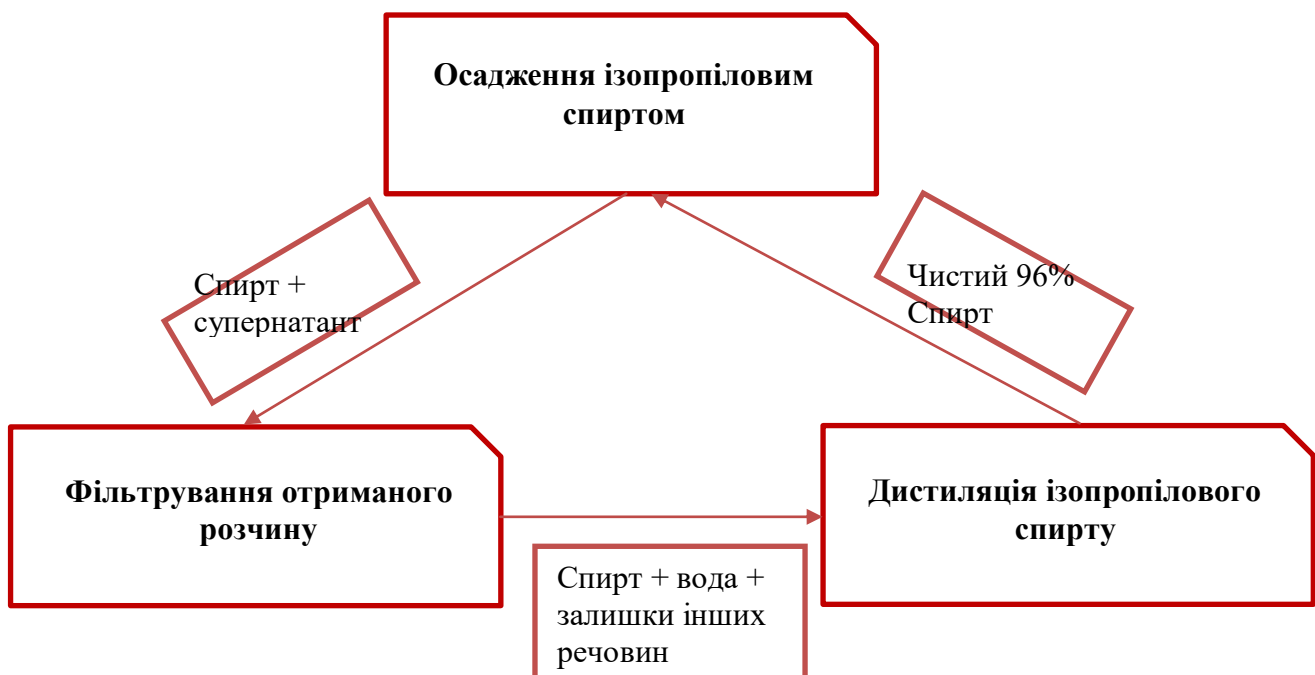


Рис. 5.22. Ректифікаційна колона [85]

Характеристика моделі WIEGAND:

- Продуктивність: 3,4 м³/год;
- Площа конденсації: 40 м²;
- Площа охолодження: 15 м²;
- Концентрування продукту: від 90 – 95%;
- Висота установки: 12 000 мм;
- Ціна: 5 000 \$ [85].

Наведемо не принципову схему застосування ізопропілового спирту під час виділення екзополісахариду ксантану.



РОЗДІЛ VI. МАТЕРІАЛЬНИЙ БАЛАНС ТА РОЗРАХУНОК ОБЛАДНАННЯ

Проаналізувавши потреби цільового продукту в техніко-економічному розрахунку, кількість екзополісахариду ксантану в рік на виготовлення продуктів без глютену складає $G_{нд} = 60\,074$ кг. З огляду на поширене використання ксантану в різних видах галузі, таку кількість ЕПС потрібно необхідно синтезувати за $T_{рд} = 150$. За літературними даними максимальна кількість ксантанової камеді ($P_{кр} = 52,3$ г/л за 24 год) досягається при культивування бактерії *Xanthomonas campestris pv. campestris* ATCC 1395 на заданому середовищі (г/л): меляса – $C_1 = 175$; K_2HPO_4 – $C_2 = 4$; дріжджовий екстракт – $C_3 = 10$; Triton 80 – $C_4 = 0,1$. Всього - $C_{\Sigma\phi} = 189,1$ г/л. Посівний матеріал вирощують на поживному середовищі такого складу (г/л): дріжджовий екстракт – $C_1 = 5$; триптон 10 – $C_2 = 10$; NaCl – $C_3 = 10$; сахароза – $C_4 = 100$. Всього $C_{\Sigma\pi} = 125$ г/л.

Відповідно до нормативно-технічної документації вміст сухих речовин в готовому продукті $CP_{гп}$ повинно складати не менше 94%. Час циклу ферментера становить $T_{цф} = 34$ години, так як $T_{цф} = T_{\phi} + T_{по}$, де T_{ϕ} – час біосинтезу цільового продукту; $T_{по}$ – час підготовки операцій; коефіцієнт запасу (втрати культуральної рідини або посівного матеріалу від нестерильних операцій – 1,1-1,5) $K_1 = 1,1$, коефіцієнт заповнення ферментера, частка, (0,5-0,7), прийmemo $K_{зф} = 0,6$, коефіцієнт заповнення посівного апарату, частка $K_{па} = 0,6$; коефіцієнт заповнення інокуляту, частка – 0,6; коефіцієнт заповнення збірника, частка (0,7-0,8), $K_{зб} = 0,8$.

Сумарні втрати при виділенні готового продукту (сума всіх втрат на стадіях виділення готового продукту), частка $E_{св} = 0,3$; кількість посівного матеріалу для виробничих ферментерів, частка (0,05-0,1) $X_{\phi} = 0,1$; кількість посівного матеріалу для посівних апаратів, частка (0,02-0,1) $X_{па} = 0,1$; кількість посівного матеріалу для інокуляторів, частка (0,02-0,1) $X_{ін} = 0,1$; кількість посівного матеріалу для качалочних колб, частка (0,02-0,1) $X_{кол} = 0,1$;

					НУХТ БТЕК 04.01.27 ДП ПЗ					
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата	РОЗДІЛ 6. Матеріальний баланс та розрахунок обладнання			Літ.	Аркуш	Акрушів
Розроб.	Пахомова А.А.									
Перевір.	Ключка Л.В									
Консультан.										
Н. Контр.										
Затверд.	Пирог Т.П.				Кафедра БТМ					

втрати культуральної рідини при біосинтезі, частка (0,1-0,2) $E_{\phi} = 0,1$; втрати посівного матеріалу у процесі його культивування в посівних апаратах, частка (0,1-0,2) $E_{\text{па}} = 0,1$; втрати посівного матеріалу у процесі його культивування в інокуляторах, частка (0,05-0,1) $E_{\text{ін}} = 0,1$; втрати посівного матеріалу у процесі його культивування в колбах, частка (0,01- 0,02) $E_{\text{кол}} = 0,01$.

6.1. Розрахунок партій продукту (виробничих циклів)

Кількість продукту на добу:

$$G_{\text{нтд}} = G_{\text{нт}}/T_{\text{рд}} = 60\,074/150 = 400,5 \text{ кг/добу.}$$

Кількість екзополісахариду за цикл:

$$G_{\text{цк}} = G_{\text{нтд}} \cdot T_{\text{цф}}/24 = 400,5 \cdot 34/24 = 567 \text{ кг/цикл.}$$

Об'єм культуральної рідини, що зливається за один цикл з урахуванням втрат за виробничий цикл ($E_{\text{св}}$):

$$V_{\text{кр}} = K_1 \cdot G_{\text{цк}} \cdot C_{\text{РГП}}/P_{\text{кр}}(1-E_{\text{св}}) = 1,1 \cdot 567 \cdot 0,94/52,3(1-0,3) = 16 \text{ м}^3.$$

Кількість ферментацій (циклів) на рік:

$$N_{\text{цк}} = G_{\text{нт}}/G_{\text{цк}} = 60\,074/567 = 105,9 \approx 106 \text{ циклів.}$$

6.2. Приготування та стерилізація поживних середовищ для виробничого культивування та вирощування посівного матеріалу

6.2.1. Приготування та стерилізація поживного середовища для виробничого біосинтезу

Кількість поживного середовища (ПС) та посівного матеріалу (ПМ) в ферментері до культивування становить:

$$V_{\phi} = V_{\text{кр}}/(1-E_{\phi}) = 16/(1-0,1) = 17,8 \text{ м}^3.$$

Кількість поживного середовища в ферментері:

$$V_{\text{псф}} = V_{\phi}/(1+X_{\phi}) = 17,8/(1+0,1) = 16,2 \text{ м}^3.$$

Необхідна кількість посівного матеріалу для засіву ферментера:

$$V_{\text{пмф}} = V_{\phi} - V_{\text{пс}} = 17,8 - 16,2 = 1,6 \text{ м}^3.$$

При вибраному коефіцієнті заповнення ферментера $K_3 = 0,6$ його приблизний геометричний об'єм ферментера складе $V_{\text{гф}} = V_{\phi}/K_3 = 17,8/0,6 = 29,7 \text{ м}^3$. За таблицею обираємо ферментер об'ємом 32 м^3 .

Уточнюємо прийнятий коефіцієнт заповнення:

$$K_{\text{запф}} = V_{\phi}/V_{\text{сф}} = 17,8/32 = 0,56$$

Уточнений коефіцієнт заповнення перебуває у вибраних межах, отже геометричний об'єм ферментера обрано вірно.

6.2.2. Визначаємо кількість стадій вирощування посівного матеріалу

Оскільки кількість посівного матеріалу становить $X_{\phi} = X_i = X_{\text{колб}} = 0,1\%$ від кількості поживного середовища визначаємо кількість посівного матеріалу для інших стадій. Приблизна кількість посівного матеріалу для інших стадій становитиме:

Посівний матеріал з інокулятора геометричним об'ємом $V_{\text{ін}} = 3,2 \text{ м}^3$

$$V_{\text{ін}} = V_{\text{пмф}}/K_3 = 1,6/0,6 = 2,7 \text{ м}^3.$$

Обираємо інокулятор геометричним об'ємом $3,2 \text{ м}^3$.

Посівний матеріал з інокулятора геометричним об'ємом 320 л

$$V_{\text{пін1}} = V_{\text{пмф}} X_{\text{ін}} = 1,6 \cdot 0,1 = 0,16 \text{ м}^3$$

$$V_{\text{ін}} = V_{\text{пін1}}/K_3 = 0,16/0,6 = 0,27 \text{ м}^3$$

Обираємо інокулятор геометричним об'ємом 320 л .

Посівний матеріал з інокулятора геометричним об'ємом 32 л

$$V_{\text{пін2}} = V_{\text{пін1}} X_{\text{ін}} = 160 \cdot 0,1 = 16 \text{ л}$$

$$V_{\text{ін}} = V_{\text{пін2}}/K_3 = 16/0,6 = 27 \text{ л}$$

Обираємо інокулятор геометричним об'ємом 32 л .

Посівний матеріал з качалочних колб

$$V_{\text{пмк}} = V_{\text{пін2}} X_{\text{ін}} = 16 \cdot 0,1 = 1,6 \text{ л}$$

Всього качалочних колб – $n_{\text{колб}} = V_{\text{пмк}}/V_{\text{колб}} \cdot K_{3\text{колб}} = 1,6/0,75 \cdot 0,2 = 11 \text{ колб}$.

Отже, підготовка посівного матеріалу включатиме 4 стадії.

6.2.3. Приготування та стерилізація поживного середовища для виробничого біосинтезу в ферментері геометричним об'ємом 32 м^3

Розрахунок кількості компонентів поживного середовища для виробничого ферментера об'ємом 32 м^3 :

Загальні витрати компонентів на визначений об'єм поживного середовища (ПС) $G_{\phi} = V_{\text{псф}} \cdot C_{\Sigma\phi} = 16,2 \cdot 189,1 = 3\,063,4 \text{ кг}$, в тому числі:

$$\text{М'яса} \quad G_1 = G_{\phi} \cdot C_1 / C_{\Sigma\phi} = 3\,063,4 \cdot 40 / 189,1 = 648 \text{ кг};$$

$$\text{K}_2\text{HPO}_4 \quad G_2 = G_{\phi} \cdot C_2 / C_{\Sigma\phi} = 3\,063,4 \cdot 4 / 189,1 = 64,8 \text{ кг};$$

$$\text{Дріжджовий екстракт} \quad G_3 = G_{\phi} \cdot C_3 / C_{\Sigma\phi} = 3\,063,4 \cdot 10 / 189,1 = 162 \text{ кг};$$

$$\text{Triton 80 } G_4 = G_{\text{ф}} \cdot C_4 / C_{\Sigma\text{ф}} = 3\,063,4 \cdot 0,1/189,1 = 1,6 \text{ кг};$$

$$\text{Підживлюючий розчин меляси } G_5 = G_{\text{ф}} \cdot C_{\text{п}} / C_{\Sigma\text{ф}} = 3\,063,4 \cdot 135/189,1 = 2\,187 \text{ кг};$$

Розрахунок кількості води для приготування поживного середовища для виробничого ферментера:

Кількість води, що потрібна для поживного середовища визначають за такою формулою $V_{\text{вф}} = V_{\text{псф}} - G_{\text{ф}} - V_{\text{фк}}$, де $V_{\text{фк}} = V_{\text{псф}} \cdot K_{\text{кон}}$ – розбавлення виробничого поживного середовища конденсатом пари при його стерилізації, $K_{\text{кон}}$ – частка конденсату у загальній кількості води, що йде на приготування поживного середовища.

В залежності від способу та обладнання, яке використовують для стерилізації компонентів, величина $K_{\text{кон}}$:

- якщо стерилізація проходить в колбах на качалці, то $K_{\text{кон}} = 0$;
- у разі стерилізації компонентів поживного середовища у реакторі-змішувачі або у ферментері $K_{\text{кон}} = 0,1 - 0,15$;
- при стерилізації компонентів в УБС $K_{\text{кон}} = 0,2$.

Якщо об'єм поживного середовища у ферментері складає $V_{\text{пс}} = 13 \text{ м}^3$ (без конденсату), приймемо рішення щодо використання для стерилізації УБС потужністю $16 \text{ м}^3/\text{год}$.

$$\text{Тоді кількість конденсату становитиме } V_{\text{фк}} = V_{\text{псф}} \cdot K_{\text{кон}} = 16,2 \cdot 0,2 = 3,24 \text{ м}^3.$$

$$\text{Кількість води для розбавлення компонентів поживного середовища буде } V_{\text{вф}} = V_{\text{псф}} - G_{\text{ф}} - V_{\text{фк}} = 16\,200 - 3\,063,4 - 3\,240 = 9\,896,6 \text{ л}.$$

Формування композиції А, В, С наведено у таблиці 6.1 та 6.2.

Розраховуємо кількість води для розчинення покомпонентно, л:

$$\text{Меляса } V_{1\text{в}} = V_{\text{в}} (C_1/C_{\Sigma\text{п}}) = 9\,896,6(40/189,1) = 2\,093,4$$

$$\text{Дріжджовий екстракт } V_{2\text{в}} = V_{\text{в}} (C_2/C_{\Sigma\text{п}}) = 9\,896,6(10/189,1) = 523,4$$

$$\text{K}_2\text{HPO}_4 V_{3\text{в}} = V_{\text{в}} (C_3/C_{\Sigma\text{п}}) = 9\,896,6(4/189,1) = 209,3$$

$$\text{Triton 80 } V_{4\text{в}} = V_{\text{в}} (C_4/C_{\Sigma\text{п}}) = 9\,896,6(0,1/189,1) = 5,2$$

$$\text{Підживлюючий розчин меляси } V_{5\text{в}} = V_{\text{в}} (C_4/C_{\Sigma\text{п}}) = 9\,896,6(135/189,1) = 7\,065,3$$

$$\text{Всього: } 9\,896,6 \text{ л}$$

Таблиця 6.1.

Композиції для стерилізації поживного середовища в УБС

Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	Кількість для приготування 16,2 м ³ середовища, кг (л)	Композиція	Об'єм композиції, V, л
Меляса	40	648	А	3 433,6
Вода		2 093,4		
Дріжджовий екстракт	10	162		
Вода		523,4		
Triton 80	0,1	1,6		
Вода		5,2		
K ₂ HPO ₄	4	64,8	В	274,1
Вода		209,3		
Конденсат		927		927
Разом:		4 634,7		4 634,7

В таблиці 6.2. наведемо об'єм композиції з підживлюючим розчином для біосинтезу у виробничому ферментері.

Таблиця 6.2.

**Приготування підживлюючого розчину меляси для виробничого біосинтезу
32 м³**

Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	Кількість для приготування 16,2 м ³ середовища, кг (л)	Об'єм композиції, V, л
П/р меляси	135	2 187	9 252,3
Вода		7 065,3	
Конденсат		2 313	2 313
ПС (УБС)		4 634,7	4 634,7
Разом:		16 200	16 200

6.2.4. Приготування та стерилізація поживного середовища для виробничого біосинтезу в ферментері геометричним об'ємом 3,2 м³

Кількість поживного середовища та посівного матеріалу в інокуляторі (3,2 м³) становить:

$$V_{\text{ін}} = V_{\text{пмф}} / (1 - E_{\text{ф}}) = 1,6 / (1 - 0,1) = 1,78 \text{ м}^3 = 1\,780 \text{ л.}$$

Кількість поживного середовища в інокуляторі:

$$V_{\text{псін}} = V_{\text{ін}} / (1 + X_{\text{ф}}) = 1,78 / (1 + 0,1) = 1,62 \text{ м}^3 \text{ або } 1\,620 \text{ л.}$$

Необхідна кількість посівного матеріалу для засіву посівного апарату:

$$V_{\text{пмін}} = V_{\text{ін}} - V_{\text{псін}} = 1\,780 - 1\,620 = 160 \text{ л.}$$

Розрахунок кількості компонентів поживного середовища для інокулятора:

Загальні витрати компонентів на визначений об'єм поживного середовища

$$G_{\text{ін}} = V_{\text{псін}} \cdot C_{\Sigma\phi} = 1\,620 \cdot 125 = 202,5 \text{ кг, в тому числі:}$$

$$\text{Сахароза } G_1 = G_{\phi} \cdot C_1 / C_{\Sigma\phi} = 202,5 \cdot 100 / 125 = 162 \text{ кг;}$$

$$\text{NaCl } G_2 = G_{\phi} \cdot C_2 / C_{\Sigma\phi} = 202,5 \cdot 10 / 125 = 16,2 \text{ кг;}$$

$$\text{Триптон } G_3 = G_{\phi} \cdot C_3 / C_{\Sigma\phi} = 202,5 \cdot 10 / 125 = 16,2 \text{ кг;}$$

$$\text{Дріжджовий екстракт } G_4 = G_{\phi} \cdot C_4 / C_{\Sigma\phi} = 202,5 \cdot 5 / 125 = 8,1 \text{ кг.}$$

$$\text{Визначаємо кількість конденсату } V_{\text{інк}} = V_{\text{псін}} \cdot K_{\text{кон}} = 1\,620 \cdot 0,2 = 324 \text{ л.}$$

Кількість води для розбавлення компонентів поживного середовища буде

$$V_{\text{вф}} = V_{\text{псін}} - G_{\text{ін}} - V_{\text{інк}} = 1\,620 - 202,5 - 324 = 1\,094 \text{ л.}$$

Формування композиції А, В та С наведено у таблиці 6.3.

Розраховуємо кількість води для розчинення покомпонентно, л:

$$\text{Сахароза } V_{1\text{в}} = V_{\text{в}} (C_1 / C_{\Sigma\text{п}}) = 1\,094(100 / 125) = 875$$

$$\text{NaCl } V_{2\text{в}} = V_{\text{в}} (C_2 / C_{\Sigma\text{п}}) = 1\,094(10 / 125) = 87,5$$

$$\text{Триптон } V_{3\text{в}} = V_{\text{в}} (C_3 / C_{\Sigma\text{п}}) = 1\,094(10 / 125) = 87,5$$

$$\text{Дріжджовий екстракт } V_{4\text{в}} = V_{\text{в}} (C_4 / C_{\Sigma\text{п}}) = 1\,094(5 / 125) = 43,8$$

Всього: 1 094

Таблиця 6.3.

Склад композиції для стерилізації середовища для вирощування посівного матеріалу в інокуляторі об'ємом 3,2 м³

Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	Кількість для приготування 1 620 л середовища, кг (л)	Композиція	Об'єм композиції, V, л
Сахароза	100	162	А	1 088,9
Вода		875		
Дріжджовий екстракт	5	8,1		
Вода		43,8		
Триптон	10	16,2	В	103,7
Вода		87,5		
NaCl	10	16,2	С	103,7
Вода		87,5		
Конденсат		323,6		324
Разом:		1 620		1 620

6.2.5. Приготування та стерилізація поживного середовища для виробничого біосинтезу в ферментері геометричним об'ємом 320 л

Кількість поживного середовища та посівного матеріалу в інокуляторі становить:

$$V_{\text{ін}} = V_{\text{пмін}} / (1 - E_{\text{ф}}) = 0,16 / (1 - 0,1) = 0,178 \text{ м}^3 \text{ або } 178 \text{ л.}$$

Кількість поживного середовища в інокуляторі:

$$V_{\text{псін}} = V_{\text{ін}} / (1 + X_{\text{ф}}) = 178 / (1 + 0,1) = 162 \text{ л.}$$

Необхідна кількість посівного матеріалу для засіву посівного апарату:

$$V_{\text{пмін}} = V_{\text{ін}} - V_{\text{псін}} = 178 - 162 = 16 \text{ л.}$$

Розрахунок кількості компонентів поживного середовища для інокулятору об'ємом 320 л:

Загальні витрати компонентів на визначений об'єм поживного середовища

$$G_{\text{ін}} = V_{\text{псін}} \cdot C_{\Sigma\text{ф}} = 162 \cdot 125 = 20,3 \text{ кг, в тому числі:}$$

$$\text{Сахароза } G_1 = G_{\text{ф}} \cdot C_1 / C_{\Sigma\text{ф}} = 20,3 \cdot 100 / 125 = 16,2 \text{ кг;}$$

$$\text{NaCl } G_2 = G_{\text{ф}} \cdot C_2 / C_{\Sigma\text{ф}} = 20,3 \cdot 10 / 125 = 1,62 \text{ кг;}$$

$$\text{Триптон } G_3 = G_{\text{ф}} \cdot C_3 / C_{\Sigma\text{ф}} = 20,3 \cdot 10 / 125 = 1,62 \text{ кг;}$$

$$\text{Дріжджовий екстракт } G_4 = G_{\text{ф}} \cdot C_4 / C_{\Sigma\text{ф}} = 20,3 \cdot 5 / 125 = 0,81 \text{ кг.}$$

$$\text{Визначаємо кількість конденсату } V_{\text{інк}} = V_{\text{псін}} \cdot K_{\text{кон}} = 162 \cdot 0,2 = 32,4 \text{ л.}$$

Кількість води для розбавлення компонентів поживного середовища буде

$$V_{\text{вф}} = V_{\text{псін}} - G_{\text{ін}} - V_{\text{інк}} = 162 - 20,3 - 32,4 = 109,3 \text{ л.}$$

Формування композиції А, В та С наведено у таблиці 6.4.

Розраховуємо кількість води для розчинення покомпонентно, л:

$$\text{Сахароза } V_{1\text{в}} = V_{\text{в}} (C_1 / C_{\Sigma\text{п}}) = 109,3(100 / 125) = 87,4$$

$$\text{NaCl } V_{2\text{в}} = V_{\text{в}} (C_2 / C_{\Sigma\text{п}}) = 109,3(10 / 125) = 8,74$$

$$\text{Триптон } V_{3\text{в}} = V_{\text{в}} (C_3 / C_{\Sigma\text{п}}) = 109,3(10 / 125) = 8,74$$

$$\text{Дріжджовий екстракт } V_{4\text{в}} = V_{\text{в}} (C_4 / C_{\Sigma\text{п}}) = 109,3(5 / 125) = 4,37$$

$$\text{Всього: } 109,3$$

Склад композиції для стерилізації середовища для вирощування посівного матеріалу в інокуляторі об'ємом 320 л

Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	Кількість для приготування 162 л середовища, кг (л)	Композиція	Об'єм композиції, V, л
Сахароза	100	16,2	А	108,9
Вода		87,4		
Дріжджовий екстракт	5	0,81		
Вода		4,37		
Триптон	10	1,62	В	10,36
Вода		8,74		
NaCl	10	1,62	С	10,36
Вода		8,74		
Конденсат		32,4		32,4
Разом:		162		162

6.2.6. Приготування та стерилізація поживного середовища для виробничого біосинтезу в ферментері геометричним об'ємом 32 л

Кількість поживного середовища та посівного матеріалу в інокуляторі становить:

$$V_{\text{ін}} = V_{\text{пмін}} / (1 - E_{\text{ф}}) = 16 / (1 - 0,1) = 17,8 \text{ л.}$$

Кількість поживного середовища в інокуляторі:

$$V_{\text{псін}} = V_{\text{ін}} / (1 + X_{\text{ф}}) = 17,8 / (1 + 0,1) = 16,2 \text{ л.}$$

Необхідна кількість посівного матеріалу для засіву посівного апарату з колб:

$$V_{\text{пмін}} = V_{\text{ін}} - V_{\text{псін}} = 17,8 - 16,18 = 1,6 \text{ л.}$$

Розрахунок кількості компонентів поживного середовища для інокулятору:

Загальні витрати компонентів на визначений об'єм поживного середовища

$$G_{\text{ін}} = V_{\text{псін}} \cdot C_{\Sigma\text{ф}} = 16,2 \cdot 125 = 2\,025 \text{ г, в тому числі:}$$

$$\text{Сахароза } G_1 = G_{\text{ф}} \cdot C_1 / C_{\Sigma\text{ф}} = 2\,025 \cdot 100 / 125 = 1\,620 \text{ г;}$$

$$\text{NaCl } G_2 = G_{\text{ф}} \cdot C_2 / C_{\Sigma\text{ф}} = 2\,025 \cdot 10 / 125 = 162 \text{ г;}$$

$$\text{Триптон } G_3 = G_{\text{ф}} \cdot C_3 / C_{\Sigma\text{ф}} = 2\,025 \cdot 10 / 125 = 162 \text{ г;}$$

$$\text{Дріжджовий екстракт } G_4 = G_{\text{ф}} \cdot C_4 / C_{\Sigma\text{ф}} = 2\,025 \cdot 5 / 125 = 81 \text{ г.}$$

$$\text{Визначаємо кількість конденсату } V_{\text{інк}} = V_{\text{псін}} \cdot K_{\text{кон}} = 16,2 \cdot 0,2 = 3\,240 \text{ мл.}$$

Кількість води для розбавлення компонентів поживного середовища буде
 $V_{\text{вф}} = V_{\text{псін}} - G_{\text{ін}} - V_{\text{інк}} = 16\,200 - 2\,025 - 3\,240 = 10\,935 \text{ мл.}$

Формування композиції А, В та С наведено у таблиці 6.5.

Розраховуємо кількість води для розчинення покомпонентно, мл:

$$\text{Сахароза } V_{1\text{в}} = V_{\text{в}} (C_1/C_{\Sigma\text{п}}) = 10\,935(100/125) = 8\,748$$

$$\text{NaCl } V_{2\text{в}} = V_{\text{в}} (C_2/C_{\Sigma\text{п}}) = 10\,935(10/125) = 874,8$$

$$\text{Триптон } V_{3\text{в}} = V_{\text{в}} (C_3/C_{\Sigma\text{п}}) = 10\,935(10/125) = 874,8$$

$$\text{Дріжджовий екстракт } V_{4\text{в}} = V_{\text{в}} (C_4/C_{\Sigma\text{п}}) = 10\,935(5/125) = 437,4$$

Всього: 10 935

Таблиця 6.5.

Склад композиції для стерилізації середовища для вирощування посівного матеріалу в інокуляторі об'ємом 32 л

Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	Кількість для приготування 16,2 л середовища, г (мл)	Композиція	Об'єм композиції, V, мл
Сахароза	100	1 620	А	10 886,4
Вода		8 748		
Дріжджовий екстракт	5	81		
Вода		437,4		
Триптон	10	162	В	1 036,8
Вода		874,8		
NaCl	10	162	С	1 036,8
Вода		874,8		
Конденсат		3 240		3 240
Разом:		16 200		16 200

6.2.7. Приготування та стерилізація поживного середовища для вирощування в колбах на качалці

Кількість поживного середовища та посівного матеріалу в колбах становить:

$$V_{\text{псм}} = V_{\text{колб}} = 1,6 \text{ л.}$$

Кількість поживного середовища в колбах на качалці:

$$V_{\text{пск}} = V_{\text{псм}} / (1 + X_{\text{колб}}) = 1,6 / (1 + 0,1) = 1,45 \text{ л.}$$

Необхідна кількість посівного матеріалу для засіву колб:

$$V_{\text{пмін}} = V_{\text{ін}} - V_{\text{псін}} = 1,6 - 1,45 = 0,15 \text{ л або } 150 \text{ мл}$$

Розрахунок кількості компонентів поживного середовища для засіву колб:

Загальні витрати компонентів на визначений об'єм поживного середовища

$$G_{\text{заг}} = V_{\text{пск}} \cdot C_{\Sigma\phi} = 1,45 \cdot 125 = 181,25 \text{ г, в тому числі:}$$

$$\text{Сахароза } G_1 = G_{\phi} \cdot C_1 / C_{\Sigma\phi} = 181,25 \cdot 100 / 125 = 145 \text{ г;}$$

$$\text{NaCl } G_2 = G_{\phi} \cdot C_2 / C_{\Sigma\phi} = 181,25 \cdot 10 / 125 = 14,5 \text{ г;}$$

$$\text{Триптон } G_3 = G_{\phi} \cdot C_3 / C_{\Sigma\phi} = 181,25 \cdot 10 / 125 = 14,5 \text{ г;}$$

$$\text{Дріжджовий екстракт } G_4 = G_{\phi} \cdot C_4 / C_{\Sigma\phi} = 181,25 \cdot 5 / 125 = 7,3 \text{ кг.}$$

Враховуючи, що кількість компонентів в колбах невелика, то стерилізація проводиться в автоклаві та конденсат при цьому не утворюється.

Кількість води для розбавлення компонентів поживного середовища буде

$$V_{\text{в}} = V_{\text{пск}} - G_{\text{заг}} = 1\,450 - 181,3 = 1\,269 \text{ мл.}$$

Формування композиції А, В та С наведено у таблиці 6.6.

Розраховуємо кількість води для розчинення покомпонентно, мл:

$$\text{Сахароза } V_{1\text{в}} = V_{\text{в}} (C_1 / C_{\Sigma\text{п}}) = 1\,269(100/125) = 1\,015$$

$$\text{NaCl } V_{2\text{в}} = V_{\text{в}} (C_2 / C_{\Sigma\text{п}}) = 1\,269(10/125) = 101,5$$

$$\text{Триптон } V_{3\text{в}} = V_{\text{в}} (C_3 / C_{\Sigma\text{п}}) = 1\,269(10/125) = 101,5$$

$$\text{Дріжджовий екстракт } V_{4\text{в}} = V_{\text{в}} (C_4 / C_{\Sigma\text{п}}) = 1\,269(5/125) = 50,8$$

Всього: 1 269 мл

Таблиця 6.6.

Склад композиції для стерилізації середовища для вирощування посівного матеріалу в колбах на качалці

Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	Кількість для приготування 1,45 л середовища, г (мл)	Композиція	Об'єм композиції, V, мл
Сахароза	100	145	А	1 218
Вода		1 015		
Дріжджовий екстракт	5	7,3		
Вода		50,8		
Триптон	10	14,5	В	116
Вода		101,5		
NaCl	10	14,5	С	116
Вода		101,5		
Разом:		1 450		1 450

6.3. Розрахунок напівпродуктів та баластних речовин в КР після виробничого біосинтезу

Кількість абсолютно сухих речовин в поживному середовищі для виробничого біосинтезу $G_{\phi} = 3\,063,4$ кг.

Кількість абсолютно сухих речовин в посівному матеріалі з урахуванням втрат під час вирощування в інокуляторі геометричним об'ємом $3,2\text{ м}^3$ $E_{in} = 0,1$ (частка)

$$G_{заг} = 202,5 \text{ кг.}$$

$$G_{загп} = G_{заг} (1 - E_{п}) = 200,5 \text{ кг}$$

Загальна кількість абсолютно сухих речовин у середовищі для виробничого біосинтезу становить:

$$G_{срф} = G_{\phi} + G_{загп} = 3\,063,4 + 200,5 = 3\,264 \text{ кг}$$

Кількість втрат абсолютно сухих речовин у культуральній рідині в процесі виробничого біосинтезу з врахуванням коефіцієнта втрат $E_{бс} = 0,52$ (частка).

$$G_{втб} = G_{срф} \times E_{бс} = 3\,264 \times 0,52 = 1\,697,3 \text{ кг}$$

Кількість абсолютно сухих речовин в КР, що йде на подальшу переробку, становить:

$$G_{сркр} = G_{срф} - G_{втб} = 3\,264 - 1\,697,3 = 1\,567 \text{ кг}$$

Кількість КР після виробничого біосинтезу, кг:

$G_{кр} = V_{кр} \times \rho_{кр} = 14,5 \times 1050 = 15\,225$ кг, враховуючи, що $\rho_{кр}$ – це середня густина культуральної рідини ($\rho_{кр} = 1020 \dots 1050 \text{ кг/м}^3$).

Враховуючи коефіцієнт запасу – K_1 , що використовуються на нестерильні операції під час виробничого процесу, кількість абсолютно сухої біомаси зменшиться:

$$V_{крз} = 16 / 1,1 = 14,5 \text{ м}^3$$

Визначаємо кількість абсолютно сухої біомаси (АСБ) в КР:

$$G_{асб} = V_{кр} \times X_{кр} = 14,5 \times 25,3 = 367 \text{ кг}$$

Визначаємо кількість абсолютно сухого ксантану (АСП) в КР:

$$G_{асфз} = V_{кр} \times P_{кр} = 14,5 \times 52,3 = 759 \text{ кг}$$

Кількість абсолютно сухих баластних речовин в КР відповідно становить:

$$G_{брв} = G_{сркр} - G_{асб2} - G_{асфз2} = 1\,567 - 367 - 759 = 435 \text{ кг}$$

Кількість води, що міститься в КР, складе наступне:

$$G_{води} = G_{кр} - G_{асб} - G_{асфз2} - G_{брв} = 15\,225 - 367 - 759 - 435 = 13\,664 \text{ кг}$$

6.4. Виділення, очищення та фасування готової продукції

6.4.1. Відділення біомаси центрифугуванням

Об'єм суспензії культуральної рідини (КР), котра йде на подальшу переробку становить:

$$V_{сус} = V_{кр} = 14,5 \text{ м}^3$$

Відсотковий вміст абсолютно сухої біомаси (АСБ) в культуральній рідині складає:

$$CP_{АСБ} = G_{загп} / 10 = 200,5 / 10 = 20,1 \text{ мас. \%}$$

Приймаємо, що густина біомаси відповідно становить $\rho_{АСБ} = 1200 \text{ кг/м}^3$.

Тоді, маса АСБ у культуральній рідині складатиме:

$$G_{АСБ} = V_{сус} \cdot \rho_{АСБ} \cdot CP_{АСБ} / 100 = 14,5 \cdot 1200 \cdot 20,1 / 100 = 3\,497 \text{ кг}$$

Вологовміст клітинної маси становить від 65 до 85 %, приймаємо $W_{кліт.} = 0,85$ (частка). Маса вологої біомаси в культуральній рідині становить:

$$G_{вб} = G_{асб} / (1 - W_{кліт.}) = 367 / (1 - 0,85) = 2\,447 \text{ кг}$$

Відомо, що осад культуральної рідини (КР) містить в діапазоні – 10..15 % міжклітинної води. Приймаємо $W_{мв} = 0,1$ (частка).

Загальна кількість вологого осаду, який відділяють із КР становитиме:

$$G_{осв} = G_{ос} / (1 - W_{мв}) = 2\,447 / (1 - 0,1) = 2\,719 \text{ кг}$$

Маса вологого осаду, який отримують під час центрифугування 1 м^3 культуральної рідини складає:

$$m_o = G_{осв} / V_{сус} = 2\,719 / 14,5 = 188 \text{ кг/м}^3$$

Об'єм вологого осаду в суспензії становить:

$$V_{осв} = G_{осв} \cdot 1000 / \rho_{ос} = 2\,719 \cdot 1000 / 1050 = 2\,590 \text{ л}$$

Втрати вологого осаду при центрифугуванні складатиме:

$$V_{втц} = V_{осв} \cdot E_{ц} = 2\,590 \cdot 0,1 = 259 \text{ л,}$$

де $E_{ц} = 0,1$ – коефіцієнт втрат при центрифугуванні (частка)

Об'єм отриманого фугату, з урахуванням втрат при центрифугуванні, становить:

$$V_{фгм} = V_{сус} - V_{осв} - V_{втц} = 16 - 2,6 - 0,259 = 13,1 \text{ м}^3$$

Маса АСП у фугаті з урахуванням втрат при центрифугуванні $E_{\text{ц}} = 0,1$ (частка) складає:

$$G_{\text{фц}} = G_{\text{асфз}} \cdot (1 - E_{\text{ц}}) = 759 \cdot (1 - 0,1) = 683 \text{ кг}$$

6.4.2. Осадження ксантану ізопропіловим спиртом та відділення осаду фільтруванням

Об'єм концентрату, котрий надходить на стадію осадження органічним розчинником і подальше фільтрування становить $V_{\text{кон}} = 13 \text{ м}^3$. Вміст ксантану в концентраті $G_{\text{уп}} = 683 \text{ г}$. Об'єм спирту ізопропілового 96%-го для осадження $V_{\text{ет}} = 26 \text{ м}^3$ (об'ємне співвідношення ферментного розчину до розчинника – 1:2).

Загальний об'єм реакційної суміші складає:

$$V_{\text{рс}} = V_{\text{сус}} = V_{\text{кон}} + V_{\text{ет}} = 13 + 26 = 39 \text{ м}^3$$

Маса осаду після процесу осадження, з урахуванням втрат на фільтрування, ($E_{\text{ос}} = 0,05$) становитиме:

$$G_{\text{ос}} = G_{\text{уп}} \cdot (1 - E_{\text{ф}}) = 683 \cdot (1 - 0,02) = 669 \text{ кг}$$

Втрати об'єму суспензії (водно-спиртової суміші) при фільтруванні складають ($E_{\text{ц}} = 0,05$):

$$V_{\text{втф}} = V_{\text{сус}} \cdot E_{\text{сф}} = 39 \text{ 000} \cdot 0,05 = 1 \text{ 950 л}$$

Об'єм отриманого фільтрату (водно-спиртова суміш), яка надходить після фільтрація, на регенерацію, відповідно, становитиме з урахуванням втрат:

$$V_{\text{фгц}} = V_{\text{сус}} - V_{\text{ос}} - V_{\text{втф}} = 39 \text{ 000} - 669 - 1 \text{ 950} = 36,4 \text{ м}^3$$

6.4.3. Сушіння осаду ксантану

Маса висушеного полісахариду з врахуванням коефіцієнта втрат при сушінні $E_{\text{сш}} = 0,05$ (частка) сухої речовини з повітрям, що виходить з вакуумної сушарки;

$$G_{\text{сш}} = G_{\text{ос}} \cdot (1 - E_{\text{сш}}) = 669 \cdot (1 - 0,1) = 602 \text{ кг}$$

6.4.4. Подрібнення і просіювання ксантану

Маса препарату з урахуванням коефіцієнта втрат на етап подрібнення та просіювання $E_{\text{под}} = 0,01$ (частка):

$$G_{\text{под}} = G_{\text{сш}} \cdot (1 - E_{\text{под}}) = 602 \cdot (1 - 0,02) = 589 \text{ кг}$$

6.4.5. Розрахунок стадій ПМВ: пакування, маркування, відвантаження

Екзополісахарид ксантан у вигляді біологічного порошку фасують у крафтові мішки по 5 кг і подальшим автоматичним запаюванням мішку, а потім фасують у коробки. Коефіцієнт втрат при фасуванні $E_{уп} = 0,01$ (частка).

Кількість порошку ксантану для фасування, з урахуванням втрат, складає:

$$G_{уп} = G_{под} \cdot (1 - E_{уп}) = 589 \cdot (1 - 0,01) = 583 \text{ кг}$$

Кількість пакетів при фасуванні за один цикл при заповненні $N_{п} = 5$ кг, складає:

$$N_{пк} = G_{уп} / N_{п} = 583 / 5 = 117 \text{ крафт-мішків}$$

Механічні втрати порошку при фасуванні становлять:

$$G_{втф} = G_{под} - G_{уп} = 589 - 583 = 6 \text{ кг}$$

Похибка продуктового розрахунку становить:

$$\Delta = (G_{уп} - G_{цк}) \cdot 100 / G_{уп} = (583 - 567) \cdot 100 / 567 = + 2,8 \%$$

Отримане значення знаходиться в межах менше заданого діапазону точності $\pm 10 \%$. Отже, можна зробити висновок про те, що продуктивний розрахунок зроблено вірно.

6.5. Розрахунок матеріального балансу

Таблиця 6.7.

Матеріальний баланс на один цикл виробничого біосинтезу

№ з/п	Використано		Отримано	
	Назва сировини та напівпродукту	Кількість, кг, дм ³	Назва кінцевого продукту, відходів та втрат	Кількість, кг, дм ³
<i>I</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>
1.	ПРИГОТУВАННЯ ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА ДЛЯ ВИРОЩУВАННЯ ПОСІВНОГО МАТЕРІАЛУ В КОЛБАХ НА КАЧАЛЦІ, г (мл)			
1.1.	Сахароза	145	Нестерильне ПС	1 450
1.2.	NaCl	14,5		
1.3.	Триптон	14,5		
1.4.	Дріжджовий екстракт	7,3		
1.5.	Вода	1 269		
	Всього:	1 450	Всього:	1 450
2.	СТЕРИЛІЗАЦІЯ ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА В АВТОКЛАВІ г (мл)			
2.1.	Нестерильне ПС	1 450	Стерильне ПС	1 450
	Всього:	1 450	Всього:	1 450
3.	ВИРОЩУВАННЯ ПОСІВНОГО МАТЕРІАЛУ В КОЛБАХ НА КАЧАЛЦІ, г (мл)			
3.1.	Стерильне ПС	1 450	Посівний матеріал	1 600
3.2.	Посівний матеріал з колб	150		
	Всього:	1 600	Всього:	1 600

4.	ПРИГОТУВАННЯ ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА ДЛЯ ВИРОЩУВАННЯ ПОСІВНОГО МАТЕРІАЛУ В ІНОКУЛЯТОРІ ОБ'ЄМОМ 32 Л, г(мл)			
4.1.	Сахароза	1 620	Нестерильне ПС	12 960
4.2.	NaCl	162		
4.3.	Триптон	162		
4.4.	Дріжджовий екстракт	81		
4.5.	Вода	10 935		
	Всього:	12 960	Всього:	12 960
5.	СТЕРИЛІЗАЦІЯ ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА ДЛЯ ІНОКУЛЯТОРА ОБ'ЄМОМ 32 Л			
5.1.	Нестерильне ПС	12 960	Стерильне ПС	16 200
5.2.	Конденсат	3 240	(втрат немає)	
	Всього:	16 200	Всього:	16 200
6.	ВИРОЩУВАННЯ ПОСІВНОГО МАТЕРІАЛУ В ІНОКУЛЯТОРІ ОБ'ЄМОМ 32 Л г(мл)			
6.1.	Стерильне ПС	16 200	Посівний матеріал	16 020
6.2.	Посівний матеріал	1 600		
6.3.	Втрати (частка)	0,1		1 780
	Всього:	17 800		17 800
7.	ПРИГОТУВАННЯ ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА ДЛЯ ВИРОЩУВАННЯ ПОСІВНОГО МАТЕРІАЛУ В ІНОКУЛЯТОРІ ОБ'ЄМОМ 320 л, кг(л)			
7.1.	Сахароза	16,2	Нестерильне ПС	129,6
7.2.	NaCl	1,62		
7.3.	Триптон	1,62		
7.4.	Дріжджовий екстракт	0,81		
7.5.	Вода	109,3		
	Всього:	129,6	Всього:	129,6
8.	СТЕРИЛІЗАЦІЯ ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА ДЛЯ ІНОКУЛЯТОРА ОБ'ЄМОМ 320 л			
8.1.	Нестерильне ПС	129,6	Стерильне ПС	162
8.2.	Конденсат	32,4	(втрат немає)	
	Всього:	162	Всього:	162
9.	ВИРОЩУВАННЯ ПОСІВНОГО МАТЕРІАЛУ В ІНОКУЛЯТОРІ ОБ'ЄМОМ 320 л кг(л)			
9.1.	Стерильне ПС	162	Посівний матеріал	160
9.2.	Посівний матеріал	16		
9.3.	Втрати (частка)	0,1		18
	Всього:	178	Всього:	178
10.	ПРИГОТУВАННЯ ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА ДЛЯ ВИРОЩУВАННЯ ПОСІВНОГО МАТЕРІАЛУ В ІНОКУЛЯТОРІ ОБ'ЄМОМ 3,2 м ³ , кг(л)			
10.1.	Сахароза	162	Нестерильне ПС	1 296
10.2.	NaCl	16,2		
10.3.	Триптон	16,2		
10.4.	Дріжджовий екстракт	8,1		
10.5.	Вода	1 094		
	Всього:	1 296	Всього:	1 296
11.	СТЕРИЛІЗАЦІЯ ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА ДЛЯ ІНОКУЛЯТОРА ОБ'ЄМОМ 3,2 м ³			
11.1.	Нестерильне ПС	1 296	Стерильне ПС	1 620
11.2.	Конденсат	324	(втрат немає)	
	Всього:	1 620	Всього:	1 620
12.	ВИРОЩУВАННЯ ПОСІВНОГО МАТЕРІАЛУ В ІНОКУЛЯТОРІ ОБ'ЄМОМ 3,2 м ³ кг(л)			
12.1.	Стерильне ПС	1 620	Посівний матеріал	1 600

12.2.	Посівний матеріал	160		
12.3.	Втрати (частка)	0,1		180
	Всього:	1 780	Всього:	1 780
13.	ПРИГОТУВАННЯ ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА ДЛЯ ВИРОЩУВАННЯ ПОСІВНОГО МАТЕРІАЛУ В ФЕРМЕНТЕРІ ОБ'ЄМОМ 32 м ³ , кг(л)			
13.1.	Меляса	648	Нестерильне ПС	3 707,7
13.2.	Дріжджовий екстракт	162		
13.3.	K ₂ HPO ₄	64,8		
13.4.	Triton 80	1,6		
13.6.	Вода	2 831,3		
	Всього:	3 707,7	Всього:	3 707,7
14.	ПРИГОТУВАННЯ ПІДЖИВЛЮЮЧОГО РОЗЧИНУ ДЛЯ ВИРОБНИЧОГО БІОСИНТЕЗУ 32 м ³ кг (л)			
14.1.	П/р меляса	2 187	Нестерильне ПС	9 253
14.2.	Вода	7 065		
	Всього:	9 253	Всього:	9 253
15.	СТЕРИЛІЗАЦІЯ ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА ДЛЯ ВИРОЩУВАННЯ ПОСІВНОГО МАТЕРІАЛУ В ФЕРМЕНТЕРІ ОБ'ЄМОМ 32 м ³ , кг(л)			
15.1.	Нестерильне ПС	12 960	Стерильне ПС	16 200
15.2.	Конденсат	3 240	(втрат немає)	
	Всього:	16 200	Всього:	16 200
16.	ВИРОБНИЧИЙ БІОСИНТЕЗ			
16.1	Стерильне ПС	16 200	КР на виділення	16 020
16.2.	Посівний матеріал	1 600		
16.3.	Втрати (частка)	0,1		1 780
	Всього:	17 800	Всього:	17 800
17.	ЦЕНТРИФУГУВАННЯ КУЛЬТУРАЛЬНОЇ РІДИНИ			
17.1.	Стерильне поживне середовище	16 020	Вологий осад	2 590
17.2.			Фугат	13 150
17.3.	Втрати (частка)	0,1		1 620
	Всього:	16 020	Всього:	16 020
18.	ОСАДЖЕННЯ СУПЕРНАТАНТУ ТА ВІДДІЛЕННЯ ОСАДУ МЕТОДОМ ФІЛЬТРУВАННЯ			
18.1.	Водно-спиртова суміш	39 000	Вологий осад	669
18.2.			Фільтрат	36 281
18.3.	Втрати (частка)	0,05		1 950
	Всього:	39 000	Всього:	39 000
19.	СУШІННЯ ЕКЗОПОЛІСАХАРИДУ			
19.1.	Концентрат	669	Ксантан	602
19.2.	Втрати (частка)	0,1		66,9
	Всього:	669	Всього:	669
22.	ПОДРІБНЕННЯ ТА ПРОСІЮВАННЯ КСАНТАНУ			
22.1.	Гранули ксантану	602	Порошок ксантану	589
22.2.	Втрати (частка)	0,02		12
	Всього:	602	Всього:	602
23.	ФАСУВАННЯ, МАРКУВАННЯ, ВІДВАНТАЖЕННЯ			
23.1.	Готовий порошок ксантану	589	Упакована продукція	583
23.2.	Крафт-мішки			117
23.3.	Втрати (частка)	0,01		6

	Всього:	589	Всього:	589
--	---------	-----	---------	-----

6.6. Розрахунок технологічного обладнання

6.6.1. Розрахунок кількості робочих ферментерів

Приблизний загальний геометричний об'єм ферментерів при заданому $K_{зф}$
 $= 0,6 \text{ м}^3$

$$V_{фг} = V_{ф}/K_{зф} = 17,8/0,6 = 29,7 \text{ м}^3$$

Обираємо найближчий за об'ємом ферментер, м^3

$$V_{фт} = 32 \text{ м}^3$$

Кількість виробничих ферментерів при заданому $K_{з}$, од.

$$N_{фр} = V_{фг}/V_{фт} = 29,7/32 = 0,9 - \text{приймаємо } 1$$

Уточнюємо коефіцієнт заповнення вибраних з таблиці ферментерів,
 частка $K_{зф}$

$$K_{зф} = V_{ф}/V_{фт} \cdot N_{фр} = 17,8/32 \cdot 1 = 0,56$$

Оскільки уточнений коефіцієнт заповнення не перевищує заданих меж
 (0,6) приймаємо до установки кількість ферментерів $N_{фт}$.

6.6.2. Розрахунок кількості посівних апаратів для отримання інокуляту об'ємом $3,2 \text{ м}^3$

Приблизний загальний геометричний об'єм посівного апарата при
 заданому $K_{па} = 0,6$

$$V_{пг} = V_{па}/K_{па} = 1,78/0,6 = 2,97 \text{ м}^3$$

Вибираємо найближчий за номінальним об'ємом апарат: $V_{ппа} = 3,2 \text{ м}^3$.

Кількість посівних апаратів при заданому $K_{з}$:

$$N_{пар} = V_{пг}/V_{ппа} = 2,97/3,2 = 0,9 - \text{приймаємо } 1$$

Уточнюємо коефіцієнт заповнення вибраних з таблиці ферментерів,
 частка $K_{зф}$

$$K_{зпа} = V_{па}/(V_{ппа} \cdot N_{пар}) = 1,78/3,2 \cdot 1 = 0,56$$

Оскільки уточнений коефіцієнт заповнення не перевищує заданих меж
 (0,55-0,65) приймаємо до установки кількість ферментерів $N_{фт} + 1$ запасний.

**6.6.3. Розрахунок кількості посівних апаратів для отримання інокуляту
об'ємом 320 л**

Приблизний загальний геометричний об'єм посівного апарата при заданому $K_{\text{па}} = 0,6$

$$V_{\text{пг}} = V_{\text{па}}/K_{\text{па}} = 178/0,6 = 297 \text{ л}$$

Вибираємо найближчий за номінальним об'ємом апарат: $V_{\text{ппа}} = 320 \text{ л}$.

Кількість посівних апаратів при заданому K_3 :

$$N_{\text{пар}} = V_{\text{пг}}/V_{\text{ппа}} = 297/320 = 0,9 - \text{приймаємо } 1$$

Уточнюємо коефіцієнт заповнення вибраних з таблиці ферментерів, частка $K_{\text{зф}}$

$$K_{\text{зпа}} = V_{\text{па}}/(V_{\text{ппа}} \cdot N_{\text{пар}}) = 178/320 \cdot 1 = 0,56$$

Оскільки уточнений коефіцієнт заповнення не перевищує заданих меж (0,55-0,65) приймаємо до установки кількість ферментерів $N_{\text{фт}} + 1$ запасний.

**6.6.4. Розрахунок кількості посівних апаратів для отримання інокуляту
об'ємом 32 л**

Приблизний загальний геометричний об'єм посівного апарата при заданому $K_{\text{па}} = 0,6$

$$V_{\text{пг}} = V_{\text{па}}/K_{\text{па}} = 17,8/0,6 = 29,7 \text{ л}$$

Вибираємо найближчий за номінальним об'ємом апарат: $V_{\text{ппа}} = 32 \text{ л}$.

Кількість посівних апаратів при заданому K_3 :

$$N_{\text{пар}} = V_{\text{пг}}/V_{\text{ппа}} = 29,7/32 = 0,9 - \text{приймаємо } 1$$

Уточнюємо коефіцієнт заповнення вибраних з таблиці ферментерів, частка $K_{\text{зф}}$

$$K_{\text{зпа}} = V_{\text{па}}/(V_{\text{ппа}} \cdot N_{\text{пар}}) = 17,8/32 \cdot 1 = 0,56$$

Оскільки уточнений коефіцієнт заповнення не перевищує заданих меж (0,55-0,65) приймаємо до установки кількість ферментерів $N_{\text{фт}} + 1$ запасний.

**6.6.5. Розрахунок кількості посівних апаратів для отримання в колбах на
качалках**

Приблизний загальний необхідний об'єм качалочних колб при заданому $K_{\text{колб}} = 0,2$:

$$V_{\text{гколб}} = V_{\text{колб}}/K_{\text{колб}} = 1600/0,2 = 8\,000 \text{ мл}$$

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

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

$$N_{\text{колб}} = V_{\text{гколб}} / V_{\text{нколб}} = 8\,000 / 750 = 10,7 - \text{приймаємо } 11 \text{ колб.}$$

6.7. Розрахунок кількості реакторів-змішувачів для приготування та стерилізації поживного середовища

6.7.1. Уточнюючий розрахунок кількості реакторів-змішувачів для приготування середовища для виробничого біосинтезу в ферментері об'ємом 32 м^3

Композицію В готують в окремому реакторі та після приготування подають в реактор-змішувач УБС. Попередньо приготовану композицію А, вносять у реактор-змішувач УБС. Стерилізація компонентів поживного середовища в об'ємі $V_{\text{ст}} = V_{\text{пс}} - V_{\text{кон}} = 16,2 - 3,24 = 13 \text{ м}^3$ проводять в УБС потужністю 16 м^3 . Час стерилізації становить $t = 13/15 = 0,87$ годин. Стерильне поживне середовище в УБС передається в попередньо простерилізований ферментер.

- Підбираємо геометричний об'єм реактора-змішувача УБС. Приблизний геометричний об'єм реактора-змішувача при заданому $K_{36} = 0,8$:

$$V_{\text{УБС}} = V_{\text{ст}} / K_{36} = 13 / 0,8 = 16,3 \text{ м}^3$$

Обираємо найближчий за номінальним об'ємом реактор: $V_{\text{нр}} = 16 \text{ м}^3$

Кількість реакторів при заданому K_{36} становить:

$$N_{\text{р}} = V_{\text{УБС}} / V_{\text{нр}} = 16,3 / 16 = 1,02 - \text{обираємо } 1 \text{ реактор.}$$

Уточнюємо коефіцієнт заповнення реактора:

$$K_{3\text{р}} = V_{\text{ст}} / (V_{\text{нр}} N_{\text{р}}) = 13 / (16 \cdot 1) = 0,8$$

Оскільки уточнений коефіцієнт заповнення лежить в заданих межах (0,8), то приймаємо до установки кількість реакторів УБС -1.

Композицію підживлюючого розчину м'яси (композиція С) готують в окремому реакторі та після приготування у реактор-змішувач для стерилізації та подають у виробничий ферментер по 45 г/л кожні 8 годин.

- Підбираємо геометричний об'єм реактора-змішувача для композиції А. Приблизний геометричний об'єм реактора-змішувача при заданому $K_{36} = 0,8$:

$$V_{Ar} = V_A / K_{36} = 3,7 / 0,8 = 4,6 \text{ м}^3$$

Обираємо найближчий за номінальним об'ємом реактор-змішувач: $V_{np} = 5 \text{ м}^3$.

Кількість реакторів при заданому K_{36} становить:

$$N_{Ap} = V_{Ar} / V_{np} = 4,6 / 5 = 0,92 - \text{обираємо 1 од.}$$

Уточнюємо коефіцієнт заповнення реактора:

$$K_{3p} = V_A / (V_{np} N_{Ap}) = 3,7 / (5 \cdot 1) = 0,74$$

Оскільки уточнений коефіцієнт заповнення лежить в заданих межах (0,7-0,85), то приймаємо до установки кількість реакторів для приготування композиції А – 1 + 1 запасний.

- Підбираємо геометричний об'єм реактора-змішувача для композиції В. Приблизний геометричний об'єм реактора-змішувача при заданому $K_{36} = 0,8$:

$$V_{Br} = V_B / K_{36} = 274,1 / 0,8 = 343 \text{ л.}$$

Обираємо найближчий за номінальним об'ємом реактор-змішувач: $V_{np} = 400 \text{ л.}$

Кількість реакторів при заданому K_{36} становить:

$$N_{Bp} = V_{Br} / V_{np} = 343 / 400 = 0,87 - \text{обираємо 1 од.}$$

Уточнюємо коефіцієнт заповнення реактора:

$$K_{3p} = V_B / (V_{np} N_{Bp}) = 274,1 / (400 \cdot 1) = 0,7$$

Оскільки уточнений коефіцієнт заповнення лежить в заданих межах (0,7-0,85), то приймаємо до установки кількість реакторів для приготування композиції В – 1 + 1 запасний.

Підбираємо геометричний об'єм реактора-змішувача для композиції С. Приблизний геометричний об'єм реактора-змішувача при заданому $K_{36} = 0,8$:

$$V_{Cr} = V_C / K_{36} = 9,3 / 0,8 = 11,6 \text{ м}^3.$$

Обираємо найближчий за номінальним об'ємом реактор-змішувач: $V_{np} = 12,5 \text{ м}^3$.

Кількість реакторів при заданому K_{36} становить:

$$N_{Cr} = V_{Cr} / V_{np} = 11,6/12,5 = 0,93 - \text{обираємо 1 од.}$$

Уточнюємо коефіцієнт заповнення реактора:

$$K_{зр} = V_C / (V_{np} N_{Cr}) = 9,3 / (12,5 \cdot 1) = 0,74$$

Оскільки уточнений коефіцієнт заповнення лежить в заданих межах (0,7-0,85), то приймаємо до установки кількість реакторів для приготування композиції С – 1 + 1 запасний.

6.7.2. Уточнюючий розрахунок кількості реакторів-змішувачів для приготування середовища для виробничого біосинтезу в ферментері об'ємом 3,2 м³

- Підбираємо геометричний об'єм реактора-змішувача для композиції А. Приблизний геометричний об'єм реактора-змішувача при заданому $K_{зб} = 0,8$:

$$V_{Ar} = V_A / K_{зб} = 1,1/0,8 = 1,4 \text{ м}^3$$

Обираємо найближчий за номінальним об'ємом реактор-змішувач: $V_{np} = 1,6 \text{ м}^3$.

Кількість реакторів при заданому $K_{зб}$ становить:

$$N_{Ar} = V_{Ar} / V_{np} = 1,4/1,6 = 0,88 - \text{обираємо 1 од.}$$

Уточнюємо коефіцієнт заповнення реактора:

$$K_{зр} = V_A / (V_{np} N_{Ar}) = 1,1 / (1,6 \cdot 1) = 0,7$$

Оскільки уточнений коефіцієнт заповнення лежить в заданих межах (0,7-0,85), то приймаємо до установки кількість реакторів для приготування композиції А – 1 + 1 запасний.

Після приготування композиція А передається до інокулятора, де стерилізується.

- Підбираємо геометричний об'єм реактора-змішувача для композиції В. Приблизний геометричний об'єм реактора-змішувача при заданому $K_{зб} = 0,8$:

$$V_{Br} = V_B / K_{зб} = 103,6/0,8 = 129,5 \text{ л}$$

Обираємо найближчий за номінальним об'ємом реактор-змішувач: $V_{np} = 150 \text{ л}$.

Кількість реакторів при заданому $K_{зб}$ становить:

$$N_{Br} = V_{Br} / V_{np} = 129,5/150 = 1 \text{ од.}$$

Уточнюємо коефіцієнт заповнення реактора:

$$K_{зр} = V_B / (V_{нр} N_{Бр}) = 103,6 / (150 \cdot 1) = 0,7$$

Оскільки уточнений коефіцієнт заповнення лежить в заданих межах (0,7-0,85), то приймаємо до установки кількість реакторів для приготування композиції В – 1 + 1 запасний.

Після приготування композиція В стерилізується в реакторі, а потім передається в інокулятор.

- Підбираємо геометричний об'єм реактора-змішувача для композиції С. Приблизний геометричний об'єм реактора-змішувача при заданому $K_{зб} = 0,8$:

$$V_{Cr} = V_C / K_{зб} = 103,6 / 0,8 = 129,5 \text{ л}$$

Обираємо найближчий за номінальним об'ємом реактор-змішувач: $V_{нр} = 150 \text{ л}$.

Кількість реакторів при заданому $K_{зб}$ становить:

$$N_{Cr} = V_{Cr} / V_{нр} = 129,5 / 150 = 1 \text{ од.}$$

Уточнюємо коефіцієнт заповнення реактора:

$$K_{зр} = V_C / (V_{нр} N_{Cr}) = 103,6 / (150 \cdot 1) = 0,7$$

Оскільки уточнений коефіцієнт заповнення лежить в заданих межах (0,7-0,85), то приймаємо до установки кількість реакторів для приготування композиції С – 1 + 1 запасний.

Після приготування композиція С стерилізується в реакторі та передається в інокулятор.

6.7.3. Уточнюючий розрахунок кількості реакторів-змішувачів для приготування середовища для виробничого біосинтезу в ферментері об'ємом 320 л

- Підбираємо геометричний об'єм реактора-змішувача для композиції А. Приблизний геометричний об'єм реактора-змішувача при заданому $K_{зб} = 0,8$:

$$V_{Ar} = V_A / K_{зб} = 108,7 / 0,8 = 135,9 \text{ л}$$

Обираємо найближчий за номінальним об'ємом реактор-змішувач: $V_{нр} = 160 \text{ л}$.

Кількість реакторів при заданому $K_{зб}$ становить:

$$N_{Ap} = V_{Ag} / V_{np} = 108,7/160 = 0,7 - \text{обираємо 1 од.}$$

Уточнюємо коефіцієнт заповнення реактора:

$$K_{зр} = V_A / (V_{np} N_{Ap}) = 1,1 / (1,6 \cdot 1) = 0,7$$

Оскільки уточнений коефіцієнт заповнення лежить в заданих межах (0,7-0,85), то приймаємо до установки кількість реакторів для приготування композиції А – 1 + 1 запасний.

Після приготування композиція А передається до інокулятора, де стерилізується.

- Підбираємо геометричний об'єм реактора-змішувача для композиції В. Приблизний геометричний об'єм реактора-змішувача при заданому $K_{зб} = 0,8$:

$$V_{Br} = V_B / K_{зб} = 10,35/0,8 = 12,94 \text{ л}$$

Обираємо найближчий за номінальним об'ємом реактор-змішувач: $V_{np} = 16 \text{ л.}$

Кількість реакторів при заданому $K_{зб}$ становить:

$$N_{Br} = V_{Br} / V_{np} = 12,94/16 = 0,8 - \text{обираємо 1 од.}$$

Уточнюємо коефіцієнт заповнення реактора:

$$K_{зр} = V_B / (V_{np} N_{Br}) = 10,35 / (16 \cdot 1) = 0,7$$

Оскільки номінальний об'єм реактора співпадає з геометричним об'ємом реактора приймаємо до установки кількість реакторів для приготування композиції В – 1.

Після приготування композиція В стерилізується в реакторі, а потім передається в інокулятор.

- Підбираємо геометричний об'єм реактора-змішувача для композиції С. Приблизний геометричний об'єм реактора-змішувача при заданому $K_{зб} = 0,8$:

$$V_{Cr} = V_C / K_{зб} = 10,35/0,8 = 12,94 \text{ л}$$

Обираємо найближчий за номінальним об'ємом реактор-змішувач: $V_{np} = 16 \text{ л.}$

Кількість реакторів при заданому $K_{зб}$ становить:

$$N_{Cr} = V_{Cr} / V_{np} = 12,94/16 = 0,8 - \text{обираємо 1 од.}$$

Уточнюємо коефіцієнт заповнення реактора:

$$K_{зр} = V_C / (V_{нр} N_{Ср}) = 10,35 / (16 \cdot 1) = 0,7$$

Оскільки номінальний об'єм реактора співпадає з геометричним об'ємом реактора приймаємо до установки кількість реакторів для приготування композиції С – 1.

Після приготування композиція С стерилізується в реакторі та передають в інокулятор.

6.7.4. Уточнюючий розрахунок кількості реакторів-змішувачів для приготування середовища для виробничого біосинтезу в ферментері об'ємом 32 л

- Підбираємо геометричний об'єм реактора-змішувача для композиції А. Приблизний геометричний об'єм реактора-змішувача при заданому $K_{зб} = 0,8$:

$$V_{Аг} = V_A / K_{зб} = 10,9 / 0,8 = 13,6 \text{ л}$$

Обираємо найближчий за номінальним об'ємом реактор-змішувач: $V_{нр} = 15 \text{ л}$.

Оскільки приблизний геометричний об'ємом реактора-змішувача приблизно дорівнює вибраному номінальному об'єму уточнення коефіцієнта заповнення реактора не проводимо.

Приймаємо до установки кількість реакторів для приготування композиції А – 1.

Після приготування композиція А передається до інокулятора, де стерилізується.

- Підбираємо геометричний об'єм реактора для композиції В. Так як, загальний об'єм композиції становить лише 1 л, стерилізацію та приготування будемо проводити в колбах об'ємом 2 л.
- Підбираємо геометричний об'єм реактора для композиції С. Загальний об'єм композиції становить лише 1 л, стерилізацію будемо проводити в автоклаві, а приготування в колбах об'ємом 2 л.

6.8. Розрахунок кількості апаратів на етапі виділення

6.8.1. Розрахунок кількості реакторів-змішувачів для зберігання культуральної рідини в збірнику

Приблизний геометричний об'єм апарата для зберігання при заданому коефіцієнті $K_{\text{па}} = 0,6$

$$V_{\text{пг}} = V_{\text{па}}/K_{\text{па}} = 16/0,6 = 27 \text{ м}^3$$

Вибираємо найближчий за номінальним об'ємом апарат: $V_{\text{ппа}} = 30 \text{ м}^3$.

Кількість посівних апаратів при заданому K_3 :

$$N_{\text{пар}} = V_{\text{пг}}/V_{\text{ппа}} = 27/30 = 0,9 - \text{приймаємо } 1$$

Уточнюємо коефіцієнт заповнення вибраного збірника, частка $K_{\text{зф}}$

$$K_{\text{зпа}} = V_{\text{па}}/(V_{\text{ппа}} \cdot N_{\text{пар}}) = 16/30 \cdot 1 = 0,55$$

Оскільки уточнений коефіцієнт заповнення не перевищує заданих меж (0,50-0,65) приймаємо до установки кількість ферментерів $N_{\text{фт}} + 1$ запасний.

6.8.2. Розрахунок кількості трубчастих центрифуг для відокремлення біомаси

Геометричний об'єм центрифуги при заданому коефіцієнті $K_{\text{па}} = 0,9$

$$V_{\text{птц}} = V_{\text{па}}/K_{\text{па}} = 14,5/0,9 = 16 \text{ м}^3$$

Трубчаста центрифуга має продуктивність – 3 м^3 за годину, тому розрахуємо кількість апаратів при заданому K_3 :

$$N_{\text{парц}} = V_{\text{птц}}/V_{\text{ппа}} = 16/3 = 5,3 - \text{приймаємо } 5.$$

Але, на виробництві таких центрифуг буде лише одна з урахуванням часу на виділення. Достатньо одного апарату на повне відокремлення біомаси від культуральної рідини, тобто партійно (5 партій) процес буде проходити 6 годин.

Уточнюємо коефіцієнт заповнення вибраної центрифуги, частка $K_{\text{зф}}$

$$K_{\text{зц}} = V_{\text{па}}/(V_{\text{ппа}} \cdot N_{\text{пар}}) = 14,5/3 \cdot 6 = 0,85$$

Оскільки уточнений коефіцієнт заповнення не перевищує заданих меж (0,8 - 0,9) приймаємо до установки кількість центрифуг – 1, + 1 запасний.

6.8.3. Розрахунок кількості реакторів-змішувачів для зберігання екстракції в збірнику

Приблизний геометричний об'єм реактора-змішувача при заданому коефіцієнті $K_{\text{па}} = 0,8$

$$V_{\text{рц}} = V_{\text{па}}/K_{\text{па}} = 6,5/0,8 = 8 \text{ м}^3$$

Вибираємо найближчий за номінальним об'ємом апарат: $V_{\text{ппа}} = 8 \text{ м}^3$.

Кількість посівних апаратів при заданому K_3 :

$$N_{\text{пар}} = V_{\text{пг}}/V_{\text{ппа}} = 8/8 = 1 \text{ апарат для екстракції}$$

Уточнюємо коефіцієнт заповнення вибраного збірника, частка $K_{\text{зф}}$

$$K_{\text{зпа}} = V_{\text{па}} / (V_{\text{нпа}} \cdot N_{\text{пар}}) = 6,5/8 \cdot 1 = 0,8$$

Оскільки уточнений коефіцієнт заповнення не перевищує заданих меж (0,75-0,65) приймаємо до установки кількість ферментерів $N_{\text{фт}} + 1$ запасний.

6.8.4. Розрахунок кількості дисмембраторів для подрібнення екзополісахариду ксантану

Приблизний кількість екзополісахариду, що подрібниться на дисмембраторі при заданій продуктивності апарата за одну годину процесу:

$$m_k = \Pi_d / t_{\text{пр}} = 500/60 = 8,3 \text{ кг за 1 хвилину}$$

Задана маса ксантану після етапу сушіння на 1 партію становить $G_{\text{сш}} = 120,4$ кг, тому час подрібнення становить:

$$t_{\text{п}} = (120 \cdot 60)/500 = 14,5 \approx 15 \text{ хвилин.}$$

Кількість дисмембраторів на всі 5 партій на етапі подрібнення:

$$N_{\text{пар}} = \Pi_d / V_{\text{нпа}} = 602/500 = 1,2$$

Оскільки уточнений розрахунок кількості дисмембраторів не задовольняє заданих значень, то час процесу подрібнення збільшується на:

$$t_{\text{п5}} = (602 \cdot 15)/120 = 75,3 \approx 75 \text{ хвилин.}$$

РОЗДІЛ VII. СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ

Специфікація обладнання зображеного на апаратурній схемі, що знаходиться в додатку 1. Характеристика обладнання доферментаційних та післяферментаційних процесів наведено в таблиці 7.1.

Таблиця 7.1

Специфікація обладнання ділянки допоміжних робіт та виробничого біосинтезу екзополісахариду ксантану

Позиція	Найменування	Кількість	Технічна характеристика (виробник)
<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>
Д9 Д15 Д20 Д22 Д28 Д31 Д34 Д40 Д45 Д49 Д57 Д60 Д65	Об'ємно-ваговий дозатор	13	Рецептурний об'ємно-ваговий дозатор періодичної дії. Виробник: ІНТЕР АРГО (Україна, Харків). Складається з дозатора для сипких компонентів ДСП, дозатора для рідких компонентів ДЖК, дозатора-змішувача води волюметричного ДОХ, ДОМІХ та системи управління на базі вагового комп'ютера АГРО КОМП 8. Формування доз з 1...8 компонентів і води заданої температури. Точність зважування – 0,1%. Максимальна кількість автоматичних рецептів – 90. Нержавіюча сталь. Автоматичне обнуління тари [86].
СМ-1	СП-мийка	1	СП-мийка «САТТИ-СП» обладнана: реактор-змішувач для миючого розчину, ємність для відпрацьованого мийного розчину з фільтром для очистки (з корозійностійкої нержавіючої сталі, яке виконує завдання підготовки, нагріву і циркуляції миючих розчинів всередині технологічного обладнання і трубопроводів, без необхідності їх розбору, з метою автоматизованого видалення забруднень). Зручне програмне забезпечення «Сатти-СП» дозволяє оператору самостійно створювати нові маршрути і рецепти мийки зберігаючи їх у пам'яті контролера.

					НУХТ БТЕК 04.01.27 ДП ПЗ		
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата	РОЗДІЛ 7. Специфікація обладнання		
Розроб.	Пахомова А.А.						
Перевір.	Ключка Л.В.						
Консультан.							
Н. Контр.							
Затверд.	Пирог Т.П.				Кафедра БТМ		

			Є насоси с частотним керуванням, підігрівачім, витратомір. Витримується температура до 180°C та виготовлені з нержавіючої сталі, що дає можливість витримати агресивні миючі засоби, що зустрічаються в процесах очищення. Станція СІП включає з 3 до 6 ємностей. Виготовлено на замовлення [87].
Н18	Насос відцентровий	1	Насос багатоступеневий LEO (Aquatica). Чавун з антикорозійною обробкою, нержавіюча сталь AISI 304. Максимальний тиск – 7 БАР, потужність 0,45 кВт, об'єм прокачки рідини – 4,2 м ³ /год. Довжина кабелю – 1 м. Максимальний напір – 33,5 м, діаметр всмоктування патрубку – 1''. Клас захисту – IPX4. Частота – 50 Гц, напруга 220 В. Максимальна температура рідини +60°C. Максимальна висота всмоктування – 8 м [88]. 110 л за 1,5 хв.
Н30	Насос відцентровий	1	Насос багатоступеневий LEO (Aquatica). Чавун з антикорозійною обробкою, нержавіюча сталь AISI 304. Максимальний тиск – 7 БАР, потужність 0,45 кВт, об'єм прокачки рідини – 4,2 м ³ /год. Максимальний напір – 33,5 м, діаметр всмоктування патрубку – 1''. Клас захисту – IPX4. Частота – 50 Гц, напруга 220 В. Максимальна температура рідини +60°C. Максимальна глибина всмоктування – 8 м [88]. 1,1 м ³ за 16 хв.
Н33	Насос відцентровий	1	Насос багатоступеневий LEO (Aquatica). Чавун з антикорозійною обробкою, нержавіюча сталь AISI 304. Максимальний тиск – 7 БАР, потужність 0,45 кВт, об'єм прокачки рідини – 4,2 м ³ /год. Максимальний напір – 33,5 м, діаметр всмоктування патрубку – 1''. Клас захисту – IPX4. Частота – 50 Гц, напруга 220 В. Максимальна температура рідини +60°C. Максимальна глибина всмоктування – 8 м [88]. 110 л за 1,5 хв.
Н36	Насос відцентровий	1	Насос багатоступеневий LEO (Aquatica). Чавун з антикорозійною обробкою, нержавіюча сталь AISI 304. Максимальний тиск – 7 БАР, потужність 0,45 кВт, об'єм прокачки рідини – 4,2 м ³ /год. Максимальний напір – 33,5 м, діаметр всмоктування

			патрубка – 1''. Клас захисту – IPX4. Частота – 50 Гц, напруга 220 В. Максимальна температура рідини +60°C. Максимальна глибина всмоктування – 8 м [88]. 110 л за 1,5 хв.
H42	Насос відцентровий	1	Відцентровий насос Pedrollo NGAm1A. Чугун з нержавіюча сталь AISI 304. Потужність – 750 Вт, продуктивність – 21 м ³ /год. Температура рідини від -10°C до +90°C, максимальний тиск в корпусі – 6 Бар. Манометрична висота всмоктування до 7 м. Максимальний напір – 20 м. [89]. 4 м ³ за 11 хв.
H47	Насос відцентровий	1	Відцентровий насос Pedrollo NGAm1A. Чугун з нержавіюча сталь AISI 304. Потужність – 750 Вт, продуктивність – 21 м ³ /год. Температура рідини від -10°C до +90°C, максимальний тиск в корпусі – 6 Бар. Манометрична висота всмоктування до 7 м. Максимальний напір – 20 м. [90]. 9,2 м ³ за 26 хв.
H51	Насос відцентровий	1	Насос багатоступеневий LEO (Aquatica). Чавун з антикорозійною обробкою, нержавіюча сталь AISI 304. Максимальний тиск – 7 БАР, потужність 0,45 кВт, об'єм прокачки рідини – 4,2 м ³ /год. Максимальний напір – 33,5 м, діаметр всмоктування патрубка – 1''. Клас захисту – IPX4. Частота – 50 Гц, напруга 220 В. Максимальна температура рідини +60°C. Максимальна глибина всмоктування – 8 м [88]. 32,4 л за 1 хв.
H54	Насос кулачковий	1	Насос INOXPA SLR 3-50. Виробник: Іспанія. Чугун з нержавіюча сталь AISI 304. Потужність – 380 - 400 Вт, продуктивність – 29 м ³ /год. Вага – 61 кг. Температура рідини від -10°C до + 120°C, максимальний тиск в корпусі – 12 Бар. Манометрична висота всмоктування до 7 м. Максимальний напір – 20 м. [91]. 16 м ³ за 30 хв.
H59	Насос кулачковий	1	Насос кулачковий БРЕСТМАШ НМ-03 3-х пелюстковий. Виробник: Білорусія. Тип насосу: поверхневий, висота підйому – 50 м. Максимальний тиск в робочій камері – 2,5 БАР, потужність 2,2 кВт, горизонтальний. Напруга - В 380 - 440, максимальна температура - 90°C. Матеріал корпусу та

			вал двигуна – нержавіюча сталь. Продуктивність: 3 м ³ за 15 хвилин [92].
H62	Насос кулачковий	1	Насос кулачковий БРЕСТМАШ НМ-03 3-х пелюстковий. Виробник: Беларусь. Тип насосу: поверхневий, висота підйому – 50 м. Максимальний тиск в робочій камері – 2,5 БАР, потужність 2,2 кВт, горизонтальний. Напруга - В 380 - 440, максимальна температура - 90°C. Матеріал корпусу та вал двигуна – нержавіюча сталь. Продуктивність: 1,5 м ³ за 7 хвилин [92].
H64	Насос кулачковий	1	Насос кулачковий БРЕСТМАШ НМ-02 3-х пелюстковий. Виробник: Беларусь. Тип насосу: поверхневий, висота підйому – 50 м. Максимальний тиск в робочій камері – 2,5 БАР, потужність 1,5 кВт, горизонтальний. Напруга - В 380 - 400, максимальна температура - 90°C. Матеріал корпусу та вал двигуна – нержавіюча сталь. Продуктивність: 3 м ³ за 18 хвилин [93].
H67	Насос кулачковий	1	Насос кулачковий SLR 2-50. Виробник: INOXPA (Іспанія). Тип насосу: поверхневий, висота підйому – 60 м. Максимальний тиск в робочій камері – 7 БАР, горизонтальний. Напруга - В 380 - 400, максимальна температура - 120°C. Матеріал корпусу та вал двигуна – нержавіюча сталь. Продуктивність: 4,5 м ³ за 15 хвилин [94].
H69	Насос відцентровий	1	Насос відцентровий PEDROLLO Plurijet 4/200x1,5 кВт. Виробник: Італія. Тип насосу – поверхневий, висота підйому (максимальна) – 60 м. Максимальний тиск в робочій камері – 10 БАР, потужність 1,5 кВт, трьохфазний. Напруга - В 220, частота 50 Гц. Клас ізоляції – F. Матеріал корпусу та вал двигуна – нержавіюча сталь. Продуктивність: 3 м ³ за 15 хвилин [95].
H75	Насос кулачковий	1	Насос кулачковий БРЕСТМАШ НМ-03 3-х пелюстковий. Виробник: БРЕСТМАШ (Білорусь). Тип насосу: поверхневий, висота підйому – 50 м. Максимальний тиск в робочій камері – 2,5 БАР, потужність 2,2 кВт, горизонтальний. Напруга - В 380 - 440, максимальна температура - 90°C. Матеріал корпусу та вал двигуна – нержавіюча сталь. Продуктивність: 3 м ³ за 15 хвилин [92].

ПЗ2	Повітрозабірник	1	Обладнений металевою сіткою для видалення механічних забруднень [96].
ФЗ	Фільтр грубої очистки	1	Фільтр ФМ 480/10. Виробник: «Уралкомпресормаш», Росія. Продуктивність – 8 000 л, тиск – 10 Бар. Площа фільтрації 3 м ² , корпус нержавіюча сталь, матеріал – волокнистий, швидкість фільтрування 0,1 м/с, Е = 90 %. Габарити 350х250х1040 мм. Маса – 35 кг [97].
К4	Компресор	1	Компресор С412М. Виробник: Бежецький завод АСО, Росія. Тип: поршневий, горизонтальний. Пропускна здатність вхідна 360 л/хв, вихідна – 250 л/хв. Робочий тиск компресора 10 Бар. Потужність – 2,2 кВт. Габарити: 750х400х500 мм. Матеріал: високоякісна нержавіюча сталь. Тип мастила: масляний. Кількість циліндрів – 2, ступінь стиснення – 1. Рівень шуму – 93-100. Маса – 72 кг [98].
Т5	Теплообмінник охолоджувач	1	Осушувач BERG OB 4. Виробник: BERG, Тайвань. Матеріал: високоякісна нержавіюча сталь. Продуктивність - 750 л/хвилину. Робочий тиск - 13 Бар, температура навколишнього середовища – точка роси +3°C. Габарити: 640х380х750 мм, підключення до мережі – 220 В та 50 Гц. Потужність 0,3 кВт, маса – 44 кг [99].
Р6	Ресирвер	1	Ресирвер вертикальний серії РВ 110/10. Виробник: Бежецький завод АСО, Росія. Тип: вертикальний. Продуктивність - об'єм 110 л в хвилину. Робочий тиск 10 Бар. Включає манометр та охоронний клапан. Матеріал: нержавіюча сталь з кольоровим порошковим покриттям. Габарити: 600х600х1000, маса – 70 кг [100].
Т7	Теплообмінник нагрівач	1	Теплообмінник КВ 3000. Виробник: Мануфактур, Україна. Монтажний розмір 1000 на 500 мм, довжина – 200 мм, муфтове приєднання труб. Кількість повітря - 7500 м ³ /годину, робочий тиск - 12 бар. Матеріал: високоякісна антикорозійна сталь. Необхідна теплова потужність 80 кВт (від – 100°C до + 200°C. Маса: 42 кг [101].
Ф8	Фільтр головний	1	Панельний повітряний фільтр грубої очистки G4. Виробник: Україна. Фільтруючий матеріал – целюлоза, ниткові волокна, скло або мікроволокно. Перепад тиску – 250 Па.

			швидкість фільтрування 0,1 м/с, середня утримуюча здатність $E = 99\%$. Габарити: ширина – 490, висота – 592 [102].
P11	Реактор змішувач	1	Збірник середнього тиску об'ємом 15 л. Виробник: виконаний на замовлення Pore Scientific (США). Робочий об'єм - 9 л, габарити 0,2 на 0,4 м. Матеріал: нержавіюча антикорозійна сталь AISI 316 та сплави, титан. Робочий тиск: -1...15 Бар. Кількість фланців: до 9. Внутрішня поліровка – зеркальна. Привід мішалки – зі зміною швидкості перемішування, вибухозахищений двигун. Швидкість обертів – 50...1000 об/хв. Мішалка: якірна, проперлерна. Манометр – аналоговий, тиск – 1 Бар. Датчик температур – pt100, 3-приводний. Оснащений сорочкою, пробовідбірником [103]
P17	Реактор змішувач	1	Збірник середнього тиску об'ємом 160 л. Виробник: виконаний на замовлення в Pore Scientific (США). Робочий об'єм 96 л, габарити 0,46 на 0,92 м. Матеріал: нержавіюча антикорозійна сталь AISI 316 та сплави, титан. Робочий тиск: -1...15 Бар. Кількість фланців: до 9. Внутрішня поліровка – зеркальна. Привід мішалки – зі зміною швидкості перемішування, вибухозахищений двигун. Швидкість обертів – 50...1000 об/хв. Мішалка: якірна, проперлерна. Манометр – аналоговий, тиск – 1 Бар. Датчик температур – pt100, 3-приводний. Оснащений сорочкою, пробовідбірником [103]
P21 P23	Реактор змішувач	2	Збірник середнього тиску об'ємом 16 л. Виробник: виконаний на замовлення в Pore Scientific (США). Робочий об'єм 9,6 л, габарити 0,2 на 0,4 м. Матеріал: нержавіюча антикорозійна сталь AISI 316 та сплави, титан. Робочий тиск: -1...15 Бар. Кількість фланців: до 9. Внутрішня поліровка – зеркальна. Привід мішалки – зі зміною швидкості перемішування, вибухозахищений двигун. Швидкість обертів – 50...1000 об/хв. Мішалка: якірна, проперлерна. Манометр – аналоговий, тиск – 1 Бар. Датчик температур – pt100, 3-приводний. Оснащений сорочкою, пробовідбірником [103]
P29	Реактор	1	Збірник об'ємом 1,6 м ³ . Виробник: завод

	змішувач		«Красный Октябрь», реалізатор ООО «ЭкоХимМаш» (Росія). Робочий об'єм 960 л, габарити 1,0 на 2,0 м. Матеріал: склоемалеве покриття зі сколами. Тип ущільнення валу – сальникове. Швидкість обертів – 50...500 об/хв. Робочий тиск: до 20 Бар. Кількість фланців: до 7. Привід мішалки – зі зміною швидкості перемішування, вибухозахищений двигун. Тип мішалки: якірного типу. Потужність електродвигуна – 3 кВт. Оснащений сорочкою, пробовідбірником, манометром, датчиком температур [104].
P32 P35	Реактор змішувач	2	Збірник середнього тиску об'ємом 150 л. Виробник: виконаний на замовлення в Pore Scientific (США). Робочий об'єм 90 л, габарити 0,46 на 0,92 м. Матеріал: нержавіюча антикорозійна сталь AISI 316 та сплави, титан. Робочий тиск: -1...15 Бар. Кількість фланців: до 9. Внутрішня поліровка – зеркальна. Привід мішалки – зі зміною швидкості перемішування, вибухозахищений двигун. Швидкість обертів – 50...1000 об/хв. Мішалка: якірна, проперлерна. Манометр – аналоговий, тиск – 1 Бар. Датчик температур – pt100, 3-приводний. Оснащений сорочкою, пробовідбірником [103].
P41	Реактор змішувач	1	Збірник об'ємом 12,5 м³. Виробник: виконаний на замовлення ГК ЕВРОХИММАШ К.О. (Україна). Робочий об'єм 7,5 м³, габарити: ширина - 2 м, висота - 4 м. Виготовлений з нержавіючої сталі AISI 316 та покритий емаллю. Привід мішалки – зі зміною швидкості перемішування, швидкість обертів – 50...700 об/хв. Робочий тиск: -1...15 Бар. Кількість фланців: до 5. Маса дорівнює 120 кг. Оснащений сорочкою та перемішуючим пристроєм, швидкість перемішування 200 об/хв, пробовідбірником та датчиком температури [104]
P46	Реактор змішувач	1	Збірник об'ємом 8 м³. Виробник: виконаний на замовлення ГК ЕВРОХИММАШ К.О. (Україна). Робочий об'єм 4 800 л, габарити: ширина - 1,7, висота 3,4 м. Виготовлений з нержавіючої сталі AISI 316 та покритий емаллю. Привід мішалки – зі зміною швидкості перемішування, швидкість

			обертів – 50...700 об/хв. Робочий тиск: - 1...15 Бар. Кількість фланців: до 5. Маса дорівнює 120 кг. Оснащений сорочкою та перемішуючим пристроєм, швидкість перемішування 200 об/хв, пробовідбірником та датчиком температури [104].
P50	Реактор змішувач	1	Збірник середнього тиску об'ємом 50 л. Виробник: виконаний на замовлення в Pore Scientific (США). Робочий об'єм 30 л, габарити: ширина 0,5 м, висота - 1 м. Матеріал: нержавіюча антикорозійна сталь AISI 316 та сплави, титан. Робочий тиск: - 1...15 Бар. Кількість фланців: до 9. Внутрішня поліровка – зеркальна. Привід мішалки – зі зміною швидкості перемішування, вибухозахищений двигун. Швидкість обертів – 50...1000 об/хв. Мішалка: якірна, проперлерна. Манометр – аналоговий, тиск – 1 Бар. Датчик температур – pt100, 3-приводний. Оснащений сорочкою, пробовідбірником [103]
Ф10 Ф12 Ф14 Ф16 Ф19 Ф24 Ф25 Ф22 Ф27 Ф30 Ф37 Ф38 Ф44 Ф48 Ф52 Ф53 Ф73	Індивідуальний фільтр	17	Індивідуальні фільтри F 0460. Виробник: ОМІ (Італія). Габарити: довжина – 485, ширина – 240, висота – 1265. Маса – 125 кг. З'єднання – DN100. Максимальна температура середовища – 25°C, робочий тиск – 7 БАР. Видалення частинок до 1 мікрона – 0,1 мг/м ³ . Швидкість потоку – 46 000 л/хвилину [105].
УБС43	Установка безперервної стерилізації	1	Потужність – 12,5 м ³ . Виробник: виготовлений на замовлення (Україна). Матеріал: виготовлений з антикорозійної сталі. Оснащений інокулятором, компресором, теплообмінником-нагрівачем, 2 додатковими теплообмінниками, індивідуальним фільтром та насосами.
ІН13	Ферментер (інокулятор)	1	NLF – мобільний лабораторний біореактор об'ємом 32 л. Виробник: Bioengineering AG

			(Швейцарія). Робочий об'єм 19,2 л, габарити: ширина - 0,28 м, висота - 0,56 м. Матеріал: посудина - нержавіюча сталь 316 L, внутрішня поверхня Ra 0,5 μm, скло; кришка – нержавіюча сталь 316 L. Оснащена подвійною сорочкою для температурного контролю, оглядовим склом з підсвіткою на кришці. 5 бокових портів, діаметр 25 мм для подачі повітря, 5 портів знизу апарата. Присутній зливний клапан та для пробовідбірника. Встановлена головка для SIP-мийки. Тип мішалки: на замовлення, швидкість обертання 200 об/хв. Тиск – 2 – 7 Бар. Потужність мотора 200 В, 50 Гц. Оснащений манометром, рН-метром, температурним контролером – pt100 (температурний інтервал до 150°C), pO2 контролер, система подачі підживлюючого розчину [106]
ІН26	Ферментер (інокулятор)	1	Р-пілотний ферментер об'ємом 320 л Виробник: Bioengineering AG (Швейцарія). Робочий об'єм 192 л, габарити: ширина - 0,58 м, висота - 1,2 м. Матеріал: посудина - нержавіюча сталь 316 L, внутрішня поверхня Ra 0,5 μm, скло; кришка – нержавіюча сталь 316 L. Оснащена подвійною сорочкою для температурного контролю, оглядовим склом з підсвіткою на кришці. 8 стерильних портів, діаметр 19 мм, посівний порт, 5 портів знизу апарата. Присутній зливний клапан та для пробовідбірника. Встановлена головка для SIP-мийки. Тип мішалки: на замовлення, швидкість обертання 200 об/хв. Тиск – 2 – 7 Бар. Потужність мотора 200 В, 50 Гц. Оснащений манометром, рН-метром, температурним контролером – pt100 (температурний інтервал до 150°C), pO2 контролер, система подачі підживлюючого розчин, станція змішування газів [107].
ІН39	Ферментер (інокулятор)	1	Р-пілотний ферментер об'ємом 3,2 м³. Виробник: Bioengineering AG (Швейцарія). Робочий об'єм 1,92 м³, габарити: ширина - 1,3 м, висота - 2,6 м. Матеріал: посудина - нержавіюча сталь 316 L, внутрішня поверхня Ra 0,5 μm, скло; кришка – нержавіюча сталь 316 L. Оснащена подвійною сорочкою для температурного контролю, оглядовим склом з

			підсвіткою на кришці. 8 стерильних портів, діаметр 19 мм, посівний порт, 5 портів знизу апарата. Присутній зливний клапан та для пробовідбірника. Встановлена головка для СІР-мийки. Тип мішалки: на замовлення, швидкість обертання 200 об/хв. Тиск – 2 – 7 Бар. Потужність мотора 200 В, 50 Гц. Оснащений манометром, рН-метром, температурним контролером – pt100 (температурний інтервал до 150°C), p02 контролер, система подачі підживлюючого розчин, станція змішування газів [108]
ФР-55	Ферментер	1	Р-пілотний ферментер об'ємом 32 м³. Виробник: Bioengineering AG (Швейцарія). Робочий об'єм 19,2 м³, габарити, ширина - 2,2 м, висота - 2,4 м. Матеріал: нержавіюча сталь 316 L зернистість 240, спеціальні сплави, зеркальна поліровка. Робоча температура – макс. 150°C. Робочий тиск – 6 Бар/г, тиск в сорочці – 6 Бар/г. Потужність мотора 18 кВт. Оснащена подвійною сорочкою для температурного контролю, оглядовим склом з підсвіткою на кришці. 8 стерильних портів, діаметр 19 мм, посівний порт, 5 портів знизу апарата. Присутній зливний клапан та для пробовідбірника. Встановлена головка для СІР-мийки. Тип мішалки: на замовлення, швидкість обертання до 750 об/хв. оснащений сорочкою та гвинтовою мішалкою, швидкість обертання 200 об/хв. Оснащений манометром, рН-метром, температурним контролером – pt100, p02 контролер, система подачі підживлюючого розчин, станція змішування газів [108].
356	Збірник для зберігання	1	Збірник для зберігання об'ємом 40 л. Виробник: ГК ЕВРОХИММАШ К.О. (Україна). Габарити (мм): ширина – 500, висота – 530. Маса дорівнює 120 кг. Виготовлений з нержавіючої сталі та покритий емаллю. Сорочка та мішалка – відсутні [109].
363	Збірник для зберігання	1	Збірник для зберігання об'ємом 4,0 м³. Виробник: ТДКрасныйОктябрь (Росія). Габарити (мм): ширина – 1632, висота – 3060. Маса дорівнює 2200 кг. Виготовлений з нержавіючої сталі та покритий емаллю для

			агресивних речовин. Сорочка та мішалка – відсутні [110].
P58	Реактор змішувач	1	Реактор змішувач об'ємом 30 м ³ . Виробник: Diapazon pharm (Китай). Габарити: (мм): ширина – 3200, висота – 4900. Виготовлений з нержавіючої сталі AISI 304. Має антиадгезивні властивості. Коефіцієнт заповнення – 0,7, потужність мотора – 3 кВт. Оснащений сорочкою в яку подається пара або технічна вода та мішалка. Особливі опції: мішалка якірного типу, швидкість обертів за хвилину – до 250 [111].
P66	Реактор змішувач	1	Реактор змішувач об'ємом 6,3 м ³ . Виробник: Diapazon pharm (Китай). Габарити: (мм): ширина – 1750, висота – 3025. Виготовлений з нержавіючої сталі AISI 304. Має антиадгезивні властивості. Коефіцієнт заповнення – 0,7, потужність мотора – 1,7 кВт. Оснащений сорочкою в яку подається технічна вода. Особливі опції: мішалка якірного типу, швидкість обертів за хвилину – до 250 [111].
Ц61	Центрифуга	1	Трубчаста центрифуга GQ150. Виробник: SINOPEL (Китай). Габарити: довжина – 1020, ширина – 600, висота – 1558. Маса: 500 кг. Потужність: 3 м ³ , фактор розділення – 15 570, максимальна швидкість обертів – 15 000 об/хв. Тиск – до 2,4 мПа, потужність – 3 кВт. Виготовлений з антикорозійної сталі. Особливі опції: додатковий нагрівач Cromolox, максимальна температура нагріву – 90°C [112].
Ф68	Барабанний вакуум-фільтр	1	Барабанний вакуум-фільтр герметизований для горючих та легколетучих речовин. Виробник: УРАЛПРОМОБОРУДОВАНИЕ (Росія). Габарити: довжина – 3600, ширина – 2550, висота – 2650. Маса: 4080 кг. Поверхня (площа) фільтрування – 5 м ² , діаметр барабана – 1,8 м. Потужність – 3,0 кВт. Виготовлений з нержавіючої сталі. Діапазон температур: від – 70 до +90°C. Вологість до 5%. Швидкість обертання – до 3 об/хв. Комунікації для води, вакуумного повітря та інертного газу [113].
Дм70	Дисмембратор	1	Дисмембратор Корсар Р-190. Виробник: Укр.АГРО-СЕРВИС (Україна). Габарити: довжина – 1900, ширина – 1250, висота –

			2150. Маса: 600 кг. Продуктивність: 500 кг/год. Діаметр ротора – 190 мм, розміри завантажувального вікна – 280x130 мм. Кількість рухомих ножів – 3 шт., нерухомих – 3. Виконаний з антикорозійної сталі. Частота обертання пальцевого диску – 2500/1600. Потужність приводу обертового диска – 7,5 кВт, шлюзового затвору – 0,55 кВт. Продуктивність вентиляційної системи для пневмовигрузки – 300 м³/годину [114].
ВП71	Вібраційний просіювач	1	Вібраційний тумблер просіювач YBS1600. Виробник: Xinxiang XianFeng (Китай). Габарити: довжина – 2270, ширина – 1600, висота – 1600. Маса: 590 кг. Площа просіювання – 1,82 м², площа пола – 2,5 м². Потужність – 2,2/4 кВт. Матеріал: антикорозійна сталь [115].
ФМ72	Фасувальна машина	1	Фасувальна машина для сипучих продуктів у мішки. Виробник: ТехноВаги (Україна). Габарити: довжина – 4050, ширина – 1035, висота – 2150. Маса: 450 кг. Вироблений з нержавіючої сталі. Складається: фасувального апарату, комп'ютера з інтерфейсом RS-485, стрічковий транспортер. Автоматичний та ручний режим роботи. Присутня лінія зашивання мішків. Маса дози: 5 – 50 кг, точність дозування: 0,5-1,0%. Дозування – вагове, продуктивність – 4-6 упаковок за хвилину [84].
Рк74	Ректифікаційна колона	1	Ректифікаційна колона НТ800. Виробник: Wuxi Nanquan (Китай). Габарити: довжина – 4200, ширина – 1800, висота – 1400. Висота колони – 12 000 мм. Маса: 7800 кг. Матеріал: антикорозійна сталь. Місткість колони (продуктивність) – 3200 л. Площа конденсації – 40 м², площа охолодження – 15 м², площа теплообміну – 30 м². Місткість для відновлення – 600-620 кг/год. Відновна концентрація – більше 90-95% [85].

РОЗДІЛ VIII. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ БІОСИНТЕЗУ КСАНТАНУ

Технологічна схема біосинтезу ЕПС ксантану *X. campestris pv. campestris* АТСС 1935 включає допоміжні роботи – це санітарна підготовка виробництва, підготовка аераційного повітря, та підготовка підживлюючого розчину меляси, приготування та стерилізація допоміжних речовин та всі процеси стерилізації та підготовки поживного середовища, та технологічні процеси - підготовка посівного матеріалу, виробничий біосинтез екзополісахариду та виділення цільового продукту (відокремлення біомаси, екстракція та фільтрування супернатанту, сушіння, подрібнення та просіювання, фасування готової продукції).

ДР 1. Санітарна підготовка виробництва

Для виробничого біосинтезу однією з головних умов є санітарна підготовка виробництва для забезпечення високого ступеня чистоти та для запобігання контамінації.

ДР 1.1. Підготовка миючих засобів

ДР 1.1.1 Приготування 2% розчину каустичної соди для миття виробничого обладнання.

Початковою стадією підготовки виробничого процесу є приготування миючих засобів. Так як для ємнісного обладнання ми використовуємо СІР-мийку (СМ-1), витрати на дезінфікуючих засіб становить лише 20%. З розділу 5 (див. табл. 5.4.) необхідна концентрація їдкого натру становить 2%, тому для повного виробничого процесу – 107 циклів, ми готуємо 1 148,3 м³ миючого засобу. Розрахуємо кількість води на 1 цикл: використовуючи об'ємно-ваговий дозатор ми відміряємо 1 095 кг сипкої каустичної соди та 52,6 м³ питної води для розведення. В процесі внесення води в СІР-мийку (СМ-1), суміш перемішують за допомогою мішалки до повного розчинення каустичної соди до ДР 1.3.1. В сорочку збірника подається вода технічна для охолодження, так як розчинення їдкого натру супроводжується виділенням тепла, тобто проходить екзотермічна реакція.

					НУХТ БТЕК 04.01.27 ДП ПЗ			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.	Пахомова А.А.				РОЗДІЛ 8. Опис технологічної схеми біосинтезу ксантану		Літ.	Аркуш
Перевір.	Ключка Л.В							
Консультан.							Кафедра БТМ	
Н. Контр.								
Затверд.	Пирог Т.П.							

У разі утворення відходів, їх відправляють на етап знешкодження відходів до ЗВ 12.1.

ДР 1.2. Підготовка виробничого приміщення

ДР 1.2.1. Щоденне прибирання виробничого приміщення

Щоденне прибирання включає в себе дезінфекцію підлоги спеціальним засобом кожний день перед початком виробничого біосинтезу. Для всіх цехів (див. розділ 2) необхідна концентрація універсалу-низькопінного становить також 2%, для забезпечення повного виробничого процесу (150 днів), потрібно приготувати 22 л дезінфікуючого засобу. Для цього ми відміряємо 450 мл 100% розчину універсалу-низькопінного і додаємо у відро, до якого додаємо 21,55 л питної води для розведення. Отриманий розчин миючого засобу ми використовуємо для обробки підлоги, також можна використовувати для миття зовнішньої поверхні обладнання, комунікації та трубопроводи. Прибирання проводять у спец-взутті та гумових рукавичка; необхідний інвентар – швабри, відра та ін., що знешкоджують кожні 3 години. Значення КУО повинно становити менше $800/\text{см}^2$. Відпрацьований розчин знешкоджується на етапі ЗВ 12.1.

ДР 1.2.2. Генеральне прибирання виробничих приміщень

Обробка стін, вікон, дверей проводять раз у 30 днів, загалом за весь період біосинтезу це 5 разів. Для генерального прибирання ми відміряємо 15,2 л купленого розчин універсалу-низькопінного, та розводимо у 731,3 л питної води. За 1 день кількість використаного миючого розчину становить – 150 л, для розведення будемо використовувати відра об'ємом 20. На такий об'єм ємності кількість універсалу-низькопінного буде становити – 400 мл, а питної води для розведення – 19,6 л. Під час роботи з цим дезінфікуючим засобом необхідно дотримуватись правил безпеки: використання захисних окулярів, спец-взутті та гумових рукавичках. Після закінчення миття приміщення закривають на 30-50 хвилин, після чого надлишок дезінфікуючого розчину прибирають за допомогою губки. Особливо забруднені місця миють повторно з використанням цієї ж концентрації розчину. КУО $< 300/\text{м}^2$. Рідкі відходи у вигляді відпрацьованого розчину зливається на знешкодження відходів до ЗВ 12.1.

ДР 1.3. Підготовка виробничого обладнання

ДР 1.3.1. Миття та ополіскування виробничого обладнання

Готовим розчином від *від ДР 1.1.1.* для миття всього виробничого обладнання ми промиваємо за допомогою установки СІП-мийки (СМ-1) протягом 10 хвилин при температурі 70 - 80°C. Цей етап створений для видалення білково-жирових забруднень різного походження. Відпрацьований мийучий засіб повертається до спеціального збірника СІП-мийки (СМ-1) через фільтр (Ф) для подальшої обробки/очистки та використання. Після миття все обладнання ополіскується звичайною водою протягом 30 хвилин. Відпрацьована вода після ополіскування зливається в каналізацію і знешкоджується на *ЗВ 12.1.*

ДР 1.3.2. Технічний огляд

Перед процесом стерилізації проводять технічний огляд обладнання на вміст ущільнень, вм'ятин та інших різноманітних пошкоджень, що можуть призвести до негативних наслідків. Всі несправності негайно усувають.

ДР 1.3.3. Перевірка на герметичність

Обов'язковим етапом є перевірка обладнання на герметичність. У апарат подається стиснене повітря, тривалість процесу - 60 хвилин, $P = 0,07$ МПа. Особливість технології стадії 1.3.3. наведені в розділі 5. Фланцові з'єднання перевіряють за допомогою внесення у апарат мильної води, і пропускають повторно повітря. Відпрацьоване стиснене повітря відправляють на знешкодження газоподібних відходів до *ЗВ 12.3*, а мильну воду до *ЗВ 12.1.*

ДР 1.3.4. Стерилізація обладнання

В сорочку апарата подають гостру пару і прогрівають апарат до температури 80 – 90°C. Відкривають усю запірну арматуру на відкритих трубних закінченнях та підведених до апарата комунікаціях і подають гостру пару безпосередньо в апарат через нижній спуск, при цьому обов'язково відкривають вентиль виходу відпрацьованого повітря для видалення повітря з апарату. При досягненні температури стерилізації (131°C, $P = 0,3$) всю запірну арматуру, крім парової, закривають і витримують протягом 60 хвилин. Після завершення витримки парову арматуру закривають, подають в апарат стерильне повітря, а в сорочку холодну воду. Процес охолодження здійснюють до досягнення температури 30 – 40 °C і надлишкового тиску $P = 0,003 - 0,005$ МПа. Процес проходить з утворенням конденсату.

ДР 2. Підготовка аераційного повітря

ДР 2.1. Забір атмосферного повітря

Забір атмосферного повітря здійснюють за допомогою вертикальної труби з повітрезабірником (ПЗ 2) у найвищій точці $H = 18$ м, де розміщене обладнання для стиснення та очищення повітря.

ДР 2.2. Очистка від грубих домішок

Попередню очистку повітря здійснюють на тканинних фільтрах грубої очистки (Ф3). Очистка від грубих домішок проводиться до концентрації не менше $C = 90\%$, забір частинок $\delta > 50$ мкм. Утворені тверді відходи відправляють на знешкодження до ЗВ 12.2.

ДР 2.3. Компресування повітря

Для забезпечення умов аерації культури *Xanthomonas campestris* ATCC 1395 та подолання гідравлічного тиску стовпа рідини в ферментері, інших опорів, а також для інших потреб виробництва, повітря необхідно стиснути. Повітря в компресорах (К4) нагрівають до $t = 250^{\circ}\text{C}$, тиск при цьому становить $0,35$ МПа.

ДР 2.4. Охолодження повітря та видалення вологи

Стиснене повітря, що утворилося при компресуванні необхідно охолодити у водяному теплообміннику (Т5) до температури $25 - 30^{\circ}\text{C}$ для відведення надлишкової вологи. Зайву вологу видаляють за допомогою ресивера (Р6), де зменшують пульсацію руху повітря, що можуть негативно впливати на роботу подальших фільтрів очищення повітря. Головний технологічний показник, що контролюється на цьому етапі це $W = 60 - 70\%$. Після етапу утворюється вода оборотна, що може використовуватися в подальшому, та конденсат.

ДР 2.5. Нагрівання повітря

Повітря нагрівають за допомогою гострої пари до температури $45 - 50^{\circ}\text{C}$ у теплообміннику-нагрівачі (Т7). Вологість повітря повинна становити 50% . В кінцевому результаті, відбувається утворення конденсату.

ДР 2.6. Головна фільтрація

Фільтри (Ф8), що фільтрують підготовлене на попередніх етапах повітря, встановлюють біля ферментаційних відділень. Ступінь очищення повітря повинно становити 95% . Тверді відходи після фільтрації повітря йдуть на знешкодження до ЗВ 11.2.

ДР 2.7. Тонка очистка

Після фільтрації повітря через трубопроводи подається безпосередньо в індивідуальні фільтри (Ф12, Ф14, Ф16, Ф19, Ф24, Ф25, Ф22, Ф27, Ф30, Ф37, Ф38, Ф44, Ф48, Ф52, Ф53) кожного біореактора до ТП 6.5, ТП 6.6, ТП 6.7, ТП 7.1. Ступінь кінцевої очистки повітря становить $E = 99,9999\%$ та КУО – 0. Тверді відходи відправляються на знешкодження відходів до ЗВ 12.2.

ДР 3 Приготування та стерилізація титрувальних розчинів

ДР 3.1. Приготування 6% розчину NaOH для стабілізації рН середовища у виробничому ферментері об'ємом 32 м³.

5,4 л 36% розчину NaOH відміряємо на об'ємно-ваговому дозаторі (Д49), вносимо у реактор-змішувач об'ємом 50 л (Р50) та при постійному перемішуванні через Д49 вносимо 30,3 л води.

ДР 3.2. Стерилізація 6% розчину NaOH для стабілізації рН середовища у виробничому ферментері об'ємом 32 м³.

Отриманий розчин стерилізуємо гострою парою упродовж 40 хвилин при температурі 131⁰С до ТП 7.1. з утворенням та подальшим відведенням конденсату по окремій комунікації.

ДР 4. Приготування та стерилізація підживлюючого розчину

ДР 4.1. Приготування розчину меляси для підживлення

У процесі біосинтезу, кожні 8 годин вноситься 45 г/л підживлюючого розчину меляси до ФР-55. Згідно розділу 5, концентрація меляси становить лише 25%, але згідно всіх норм та стандартів необхідна концентрація меляси дорівнює 50%. Тому в даному розділі необхідно перерахувати об'єми води для кожної з композицій. Для підживлюючого через об'ємно-ваговий дозатор Д46 ми відміряємо 2 128 кг меляси вносимо у збірник (Р-46) і додаємо 7 065 л питної води для розведення 1:1 з урахуванням 10% конденсату (212,8 л) під час стерилізації. Збірники Р-46 з мелясою нагрівають до температури 40⁰С подачею у сорочку апарата глухої пари і включають мішалку (200 об/хв) до повного розчинення меляси.

ДР 4.2. Стерилізація розчину меляси для підживлення

Меляси у збірнику Р-46 стерилізують гострою парою при температурі 112⁰С, час 30 хв з підживленням безпосередньо порціями в ферментер до ТП 7.1. Після стерилізації відбувається утворення конденсату.

ДР 5. Приготування та стерилізація поживних середовищ

ДР 5.1. Приготування і стерилізація поживного середовища для вирощування інокуляту в колбах на качалці

На першій стадії необхідно приготувати 1 450 мл поживного середовища. Вміст компонентів для приготування 1 450 мл середовища наведено в табл. 8.1.

Таблиця 8.1.

Розрахунок вмісту компонентів для приготування 1450 мл середовища

Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	Вміст компонента у 150 мл середовища, г (мл)	Композиція	Об'єм композиції, мл
Сахароза	100,0	145	А	1 218
Дріжджовий екстракт	5,0	7,3		
Триптон	10,0	14,5	В	116
NaCl	0,006	14,5	С	116
			Всього:	1 450

ДР 5.1.1 Приготування і стерилізація композиції А

На аналітичних терезах зважують 145 г сахарози та 7,5 г дріжджового екстракту. Наважки поміщають у колбу об'ємом 1 л та додаємо 110,25 мл питної води, перемішують. Далі закриваємо колбу ватно-марлевою пробкою і стерилізуємо у вертикальному автоклаві типу АВ-2 подачею гострою парою при температурі 112⁰С упродовж 30 хв. Приготований розчин відправляють до ТП 6.4. При стерилізації відбувається утворення конденсату.

ДР 5.1.2 Приготування і стерилізація композиції В

На аналітичних вагах зважують 14,5 г Триптон, наважку переносять у колбу об'ємом 250 мл, та вносять 100 мл питної води, перемішують. Закривають колбу ватно-марлевою пробкою та отриманий розчин стерилізують подачею гострої пари при 121⁰С впродовж 15 хв. Композиція В йде до етапу культивування в колбах на качалці до ТП 6.4. При стерилізації спостерігається утворення конденсату.

ДР 5.1.3 Приготування і стерилізація композиції С

На аналітичних вагах зважують 14,5 г NaCl, розчиняють у 100 мл питної води та стерилізують у вертикальному автоклаві при 131°C протягом 15 хв. При стерилізації відбувається утворення конденсату. Розчини композицій А, В та С зливають в одну колбу і культивують (ТП 6.4.).

ДР 5.2 Приготування і стерилізація поживного середовища в посівному апараті об'ємом 32 л.

Для культивування бактерій необхідно приготувати 16,2 л поживного середовища. Вміст компонентів для приготування 16,2 л середовища наведено в табл. 8.2.

ДР 5.2.1 Приготування і стерилізація композиції А

На об'ємно-ваговому дозаторі (Д9) зважують 1620 г сахарози та 81 г дріжджового екстракту. Наважки поміщають у реактор-змішувач об'ємом 12 л (Р11), додають 9,2 л питної води, перемішують при 120 об/хв і подають глуху пару в сорочку для кращого розчинення компонентів у воді. Компоненти стерилізують гострою парою при температурі 112°C протягом 30 хв і подають самопливом через окремий патрубок в інокулятор об'ємом 32 л (ІН-13) до ТП 6.5.

ДР 5.2.2 Приготування і стерилізація композиції В

На технічних вагах зважують 162 г Триптон, наважку переносять у колбу об'ємом 1,5 л та додають 875 мл питної води, перемішують. Одержаний розчин стерилізують в автоклаві типу АВ-2 при 121°C протягом 15 хв. При стерилізації в автоклаві відбувається утворення конденсату. Приготовану композицію через гребінку подають в інокулятор ІН13 за допомогою факелу до ТП 6.5.

ДР 5.2.3 Приготування і стерилізація композиції С

На технічних вагах зважують 162 г NaCl та розчиняють у 875 мл питної води, перемішуючи. Стерилізують в автоклаві упродовж 15 хвилин при температурі 131°C. Композицію С та В зливають в одну колбу і подають у попередньо простерилізований інокулятор, що має об'єм 32 л (ІН-13) через окремий гребінку під факелом для запобігання контамінації (до ТП 6.5.). При стерилізації відбувається утворення конденсату.

Таблиця 8.2.

Розрахунок вмісту компонентів для приготування 16,2 л середовища

Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	Вміст компонента у 16,2 л середовища, г (мл)	Композиція	Об'єм води, мл	Об'єм композиції, мл
Сахароза	100,0	1 620	А	9 188	1 088,9
Дріжджовий екстракт	5,0	81			
Триптон	10,0	162	В	875	103,7
NaCl	0,006	162	С	875	103,7
			Всього:	10 938	16 200

ДР 5.3. Приготування і стерилізація поживного середовища в посівному апараті об'ємом 320 л.

Для культивування бактерій необхідно приготувати 162 л поживного середовища. Загальний вміст води становить 109,3 л. Вміст всіх компонентів для приготування 162 л середовища наведено в табл. 8.3.

ДР 5.3.1 Приготування і стерилізація композиції А

На об'ємно-ваговому дозаторі (Д15) зважують 16,2 кг сахарози та 810 г дріжджового екстракту. Компоненти поміщають у реактор-змішувач (Р17) об'ємом 20 л, додають 92 л питної води, перемішують за допомогою мішалки при 120 об/хвилину. Та подають глуху пару для розчинення. Далі компоненти стерилізації при температурі 112°C протягом 30 хв. Подають отриманий розчин через насос Н18 в інокулятор (ІН-26) до етапу ТП 6.6. Стерилізація приводить до утворення певного об'єму конденсату, що відводиться через окремий патрубок.

ДР 5.3.2 Приготування і стерилізація композиції В

На об'ємно-ваговому дозаторі (Д20) зважують 1,62 кг Триптону, потім переносять у збірник (Р21) об'ємом 15 л та додають 8,8 л питної води, ретельно перемішують при 120 обертах за хвилину. Нагрівання сорочки за допомогою глухої пари пришвидшить процес розчинення Триптону. Одержаний розчин пептону стерилізують в Р21 при температурі 121°C, час обробки 15 хв з подачею гострої пари (як наслідок, утворення конденсату). Одержану композицію В

самопливом передають до інокулятор ІН26 для культивування бактерій *X. campestris pv. campestris* до ТП 6.6.

ДР 5.3.3 Приготування і стерилізація композиції С

На об'ємно-ваговому дозаторі (Д22) зважують 1,62 кг NaCl та розчиняють у 8,75 л звичайної питної води та перемішуючи при 120 об/хвилину. В сорочку ІН-26 може надходити глуха пара для нагріву апарата, для покращення та прискорення процесу розчинення. Після розчинення подають самопливом у інокулятор (ІН-26) та стерилізують сіль в апараті під гострою парою протягом 15 хв при температурі = 131°C (до ТП 6.6.). Після стерилізації, відбувається утворення конденсату.

Таблиця 8.3.

Розрахунок вмісту компонентів для приготування 162 л середовища

Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	Вміст компонента у 162 л середовища, кг (л)	Композиція	Об'єм води, л	Об'єм композиції, л
Сахароза	100,0	16,2	А	92	108,9
Дріжджовий екстракт	5,0	0,81			
Триптон	10,0	1,62	В	8,8	10,36
NaCl	0,006	1,62	С	8,8	10,36
			Всього:	109,4	162

ДР 5.4. Приготування і стерилізація поживного середовища в посівному апараті об'ємом 3,2 м³.

Для цієї стадії підготовки посівного матеріалу необхідно приготувати 1 620 л поживного середовища. Загальна кількість води, яку необхідно додати для приготування середовища – 1 094 л. Вміст компонентів для приготування 1 620 л середовища наведено в табл. 8.4.

ДР 5.4.1 Приготування і стерилізація композиції А

На об'ємно-ваговому дозаторі (Д28) зважують 162 кг сахарози та 8,1 кг дріжджового екстракту та поміщають у реактор-змішувач (Р29) об'ємом 2 м³. Потім відміряють 918,8 л води та додають до збірника Р29. Включають мішалку – 120 об/хв та подають у сорочку апарата глуху пару, що підігріє отриману суміш та прискорить час розведення. Отриманий вміст стерилізують подачею

гострої пари при температурі 112°C, час - 30 хвилин. Простерилізовану та охолоджену композицію подають насосом Н30 через гребінку в інокулятор ІН-39 на етап *ТП 6.7*. Гостра пара конденсується в апараті з виділенням конденсату.

ДР 5.4.2 Приготування і стерилізація композиції В

На об'ємно-ваговому дозаторі (Д31) зважують 16,2 кг Триптон у та додають 87,5 л питної води у збірнику Р32 та ретельно перемішують за допомогою мішалки (120 – 150 об/хв). Наважку переносять у реактор (Р39) об'ємом 150 л. Для кращого і швидшого розчинення подають глуху пару у сорочку апарата. Одержаний розчин стерилізують при температурі - 121°C, час обробки становить 15 хв. Простерилізований розчин подають через гребінку насосом Н33 до ІН-3 до етапу *ТП 6.7*.

ДР 5.4.3 Приготування і стерилізація композиції С

На об'ємно-ваговому дозаторі (Д-34) зважують 16,2 кг NaCl, подають насосом Н36 у збірник Р-39 об'ємом 150 л, де розчиняють у 87,5 л питної води, ретельно перемішуючи – 120 об/хв. Стерилізують сіль безпосередньо в інокуляторі ІН-39 гострою парою упродовж 15 хвилин при температурі 131°C. Отриманий розчин йде на етап *ТП 6.7*.

Таблиця 8.4.

Розрахунок вмісту компонентів для приготування 1 620 л середовища

Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	Вміст компонента у 1 620 л середовища, кг (л)	Композиція	Об'єм води, л	Об'єм композиції, л
Сахароза	100,0	162	А	918,8	1 088,9
Дріжджовий екстракт	5,0	8,1			
Триптон	10,0	16,2	В	87,5	103,7
NaCl	0,006	16,2	С	87,5	103,7
			Всього:	1 093,8	1 620

ДР 5.5 Приготування і стерилізація поживного середовища в посівному апараті об'ємом 32 м³.

Для культивування необхідно приготувати 4,6 м³ поживного середовища та 9,2 м³ підживлюючого розчину (2,3 м³ конденсат). Вміст компонентів для

приготування такої кількості середовища наведено в табл. 8.5. Загальна кількість води для розбавлення становить $9,8 \text{ м}^3$ з урахуванням підживлюючого розчину.

ДР 5.5.1 Приготування і стерилізація композиції А

На об'ємно-ваговому дозаторі (Д-40) зважують 648 кг меляси для поживного середовища, 162 кг дріжджового екстракту та 1,6 кг Triton 80. Так як стерилізацію проводимо в УБС – сіль композиції готуємо в цьому ж збірнику (Р-41) ($64,8 \text{ кг K}_2\text{HPO}_4$). Наважки поміщають у збірник об'ємом $12,5 \text{ м}^3$, додають $7,8 \text{ м}^3$ питної води, та ретельно перемішують (при 120 об/хв) з паралельною подачею глухої пари для кращого розчинення.

ДР 5.5.2. Стерилізація композицій А та В в УБС

Приготований розчин поживного середовища подають насосом Н42 в установку безперервної стерилізації (УБС-43). Де стерилізують гострою парою при температурі 145°C впродовж 2-5 хвилин, наслідок – утворення конденсату. Після стерилізації, розчин перекачують у ферментер Ф55, до ТП 7.1.

Таблиця 8.5.

Розрахунок вмісту компонентів для приготування $16,2 \text{ м}^3$ середовища

Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	Вміст компонента у $16,2 \text{ м}^3$ середовища, кг (л)	Композиція	Об'єм води, л	Об'єм композиції, л
Меляса	40,0	648	А	2 621	3 433
Дріжджовий екстракт	10,0	162			
Triton 80	0,1	1,6			
K_2HPO_4	4,0	64,8	В	209	274
Пр меляси	125	2 187	С	7 065	9 252
			Всього:	9 895	16 200

ТП 6. Підготовка посівного матеріалу

ТП 6.1. Підтримання колекційної культури

Колекційну культуру *Xanthomonas campestris pv. campestris* ATCC 1395 зберігають при температурі -73°C у пробірках зі скошеним м'ясо-пептонним агаром. Пересіви здійснюють кожні 3–4 місяці. Всі роботи з колекційною культурою проводяться строго в асептичних умовах.

ТП 6.2. Одержання робочої культури на агаризованих середовищах

Колекційну культуру, що зберігається в пробірках з м'ясо-пептонним агаром, розсівають петлею до ізолюваних колоній на чашки Петрі із МПА.

ТП 6.3. Вирощування культури на агаризованих середовищах

Отримані ізолювані колонії (від ТП 6.2) пересівають петлею в пробірки зі скошеним м'ясо-пептонним агаром. Зазначимо, що одна ізолювана колонія використовується для засіву тільки однієї пробірки. А тривалість вирощування – 48 год, при температурі 27-30°C.

ТП 6.4 Вирощування культури в колбах на качалках

Для вирощування *X. campestris* АТСС 1395, у колбу об'ємом 3 л, в асептичних умовах вносять 1,2 л розчину композиції А (від ДР 5.1.1), 116 мл розчину композиції В (від ДР 5.1.2), 116 мл розчину композиції С (від ДР 5.1.3). Перемішують і розливають по 100 мл в стерильні качалочні колби, об'єм яких становить 750 мл кожна.

У пробірку з робочою культурою, вирощену на м'ясо-пептонному агарі, вносять 5 мл фізіологічного розчину, суспендують клітини, піпеткою відбирають одержану бактеріальну суспензію (від ТП 6.3) і вносять у колби з розлитим поживним середовищем. Для засіву однієї колби використовують бактеріальну суспензію, одержану з однієї пробірки. Культивування триває 40 годин при 30°C та швидкість перемішування становить 150 – 220 об/хв.

ТП 6.5 Вирощування культури в посівному апараті об'ємом 32 л.

Після вирощування культури бактерій *Xanthomonas campestris* в колбах на качалці від ТП 6.4, посівний матеріал вносять через окремий патрубок в асептичних умовах у посівний апарат місткість 32 л (ІН13). Подають 11 л композиції А зі збірника Р11 (від ДР 3.3.1), 105 мл композиції В та С (від ДР 5.2.2 та ДР 5.2.3.), що також вносять під факелом з колб в інокулятор - ІН13. Вмикають мішалку - швидкість перемішування становить 250 об/хв. В сорочку подається глуха пара для підтримки необхідної температури: температура - 30°C. Вмикаються датчики температури, манометр, рН-метр та ін. Аерація відбувається з підготовленим повітрям від ДР 2.7. Тривалість культивування становить 48 години. Рідкі та газоподібні відходи відправляються на знешкодження до ЗВ 12.1 та ЗВ 12.3, відповідно.

ТП 6.6 Вирощування культури в посівному апараті об'ємом 320 л.

Вирощування колекційної культури від ІН2 під стиснутим повітрям подається через трубу перетискування подається у інокулятор (ІН26) об'ємом 320 л. Із збірника Р21 через насос Н18 вносять 108,9 л розчину композиції А (від ДР 5.3.1), самопливом розчин компонентів композиції В від збірника Р21 (від ДР 5.3.2), що становить 10,36 л та композицій С – 10,36 л від ДР 5.3.3 (збірник Р23). Вмикають мішалку - швидкість перемішування становить 250 об/хв. В сорочку інокулятора ІН26 подається глуха пара для дотримання певних меж: температура - 30⁰С. Аерація культури проходить вже з підготовленим повітрям від ДР 2.7. Приріст біомаси проводять протягом 48 годин, при $t = 30^0\text{C}$, рН може варіюватися, для синтезу біомаси це не важливо, швидкість перемішування – 250 об/хв. Вмикаються датчики температури, манометр, рН-метр та ін. Рідкі та газоподібні відходи відправляються на етап знешкодження до ЗВ 12.1 та ЗВ 12.3, відповідно.

ТП 6.7 Вирощування культури в посівному апараті об'ємом 3,2 м³.

Нарощування біомаси на останній стадії проходить у посівному апараті (ІН39) об'ємом 3,2 м³. Посівний матеріал з інокулятора Н21 (від ТП 6.6.) через трубу перетискування перекачується у реактор ІН39 об'ємом 3,2 м³. Потім через насос Н36 від збірника Р29 перекачується в гребінку стерильна композиція С (від ДР 5.4.3), насосом Н33 від збірника Р32 додається композиція В (від ДР 5.4.2) та композиція А від Р29 насосом Н30 (від ДР 5.4.1). Контроль за рН не проводиться. В сорочку інокулятора ІН39 подається глуха пара для культивування *X. campestris* АТСС 1395 при температурі 30⁰С. Час культивування – 48 години. Вмикають мішалку, швидкість перемішування – 150 - 220 об/хв. Особливі умови – активна аерація, підготовлене повітря від ДР 2.7. Рідкі та газоподібні відходи відправляються на етап знешкодження до ЗВ 12.1 та ЗВ 12.3, відповідно.

ТП 7. Біосинтез

ТП 7.1 Виробниче культивування

Виробничий біосинтез здійснюється у ферментері з робочим об'ємом 32 м³. У попередньо простерилізований ферментер (ФР-55) в асептичних умовах вносять насосом-УБС 8,7 м³ композиції А від установки безперервної стерилізації УБС43 (від ДР 5.4.1) та посівний матеріал (від ТП 6.7). Кожні 8 годин відбувається підживлення розчином меляси від ДР 4.2., перекачується зі збірника

Р46 насосом Н47. Після введення всіх необхідних, включається якірня мішалка зі швидкістю перемішування 250 обертів/хвилину. Потім необхідно вмикнути датчики температури, манометр, рН-метр та ін. Наступним є підтримка температурного режиму, для цього у сорочку ферментера Ф55 подається глуха пара, що потім конденсується. Тривалість культивування бактерій для досягнення максимального виходу ксантану становить 24 год, $t = 30^{\circ}\text{C}$, $\text{pH} = 7,0$ (контроль проходить за присутності титрувального агента, а саме перекачування насосом Н51 NaOH від ДР 3.2. зі збірника Р50), з постійною аерацією (від ДР 2.7.). Вихід ксантану 53 г/л, а біомаси – 25 г/л. І культуральна рідина, що піде на інші етапи виділення. Рідкі та газоподібні відходи відправляються на етап знешкодження до ЗВ 12.1 та ЗВ 12.3, відповідно.

ТП 8. Виділення біомаси

ТП 8.1. Попередня обробка культуральної рідини

Після культивування, отриману культуральну рідину від ТП 7.1 об'ємом 16 200 л перекачують насосом Н-54 у реактор змішувач Р-58 об'ємом 30 м^3 . Через об'ємно-ваговий дозатор Д-57 відміряємо 21,360 кг трилону Б (ЕДТА), який зберігається у збірнику для сухих речовин З-56 об'ємом 40 л, та вносимо самопливом при постійному перемішування – 120 об/хв в реактор Р-58 з культуральною рідиною. Далі для зниження в'язкості середовища, збірник Р-58 поступово нагрівають до температури $80 - 100^{\circ}\text{C}$ за допомогою глухої пари, що подається в сорочку реактора-змішувача Р-58. Отриману суміш підігрівають та перемішують постійно.

ТП 8.2. Центрифугування культуральної рідини.

Трубчасту центрифугу вмикають і повільно збільшують швидкість обертів до 15 000 об/хв. Після чого із реактора-змішувача Р-56, суміш культуральної рідини та ЕДТА, за допомогою насоса Н-59, перекачують в нижню частину ротора трубчастої центрифуги Ц-61 об'ємом 3 м^3 . Спеціальні вмонтовані нагрівачі підтримують необхідну температуру – $80 - 100^{\circ}\text{C}$. Тверда фаза проходить через отвір апарата, що знаходиться зверху, та поступає в нижню частину зливної тарілки та через патрубок виноситься з центрифуги Ц-61 в спеціальні ємності. Рідка фаза (ксантан з рідиною або супернатант) виводиться через верхній отвір та перекачується насосом Н-62 до ТП 9.1. Біомаса та

залишкові речовини, що відділилися, подаються на знешкодження твердих відходів до ЗВ 12.2.

ТП 9. Виділення та очищення ксантану

ТП 9.1. Екстракція ксантану

Отриманий супернатант, від ТП 8.2. через насос Н-62 подають у реактор-змішувач Р-66 для екстракції ксантану алкоголем. В сорочку збірника Р-66 надходить вода технічна для охолодження, об'єм якого становить 6,3 м³. Зі збірника З-63 об'ємом 4 м³ для зберігання ізопропілового спирту (С=96%) у співвідношенні 1:2 через насос Н-64 перекачують у збірник Р-66 з рідкою фазою для осадження. Тобто на 1,5 м³ супернатанту = 3 м³ спирту. Екстракцію ксантану здійснюють упродовж 15 хвилин при постійному перемішуванні – 200 об/хв. Після чого мішалку вимикають та суміш залишають на 30 хв для повного осадження ксантану.

ТП 9.2. Фільтрація, промивання та висушування ксантану

Після екстракції, отримана волокниста суміш зі спиртом через насос Н-67, перекачується на барабанний вакуум-фільтр Ф-68. Розчин ізопропілового спирту та залишкова рідина відфільтровується в нижній частині барабана та відправляються через насос Н-69 до ТП 10 на регенерацію. Поверхня фільтрування становить – 5 м², а кількість обертів за хвилину – 1,5. Осад ксантану промивається питною водою (тиск води – 0,4 – 0,6 МПа) на дискових пластинах та просушується атмосферним повітрям (40-50 кПа). Процес проходить протягом 40 хвилин до повного зневоднення ксантану – 90 – 95%. Інертний газ – гелій – подають на початку процесу фільтрації для витримки вибухобезпечності, тиск дорівнює 2 – 4 атм. Повітря та газ відводиться в загальну вакуумну лінію для знешкодження газоподібних відходів ЗВ 12.3 .

ТП 9.3. Подрібнення ксантану

Отриманий висушений екзополісахарид ксантан масою 120 кг відправляють на подрібнення на дисмембратор ДМ-70. Потужність апарата становить 500 кг за годину. Безперервний процес дроблення відбувається – до 100 мкм подрібнених частинок. Вологість кінцевого продукту – до 5%. Подрібнений ксантан завантажується потоком повітря у вмонтований в дисмембратор Дм-70 зберігаючу ємність.

ТП 9.4. Просіювання

Після подрібнення ксантану, з ємності дисмембратора ДМ-70 власноруч відправляють на процес просіювання, $m_k = 119$. Тумблерний вібраційний просіювач ВП-71 – працює 30 хвилин. Кінцевий розміри частинок після етапу становлять до 100 мкм. Просіяний ксантан завантажуються у тарілку для зберігання або подають на фасування до *ПМВ 12.1*.

ТП 10. Регенерація спирту

Після фільтрації ксантану, від *ТП 10.2*. з барабанного вакуум-фільтра за допомогою насосу Н-33, розчин спирту, залишкових розчинів та води відправляється на регенерацію до ректифікаційної колони Рк-1. Глуха пара подається одразу, а час процесу відновлення становить – 1 година. Температура кипіння ізопропілового спирту 82,5°C, концентрування продукту до 90 – 95%. Отриманий чистий розчин спирту перекачується насосом Н-36 до *ТП 9.1* у збірник 3-2 для повторного використання. Газоподібні та тверді відходи йдуть на утилізацію до *ЗВ 12.3* та *ЗВ 12.2* відповідно.

ПМВ 11. Пакування, маркування, відвантаження

ПМВ 11.1. Фасування сухого ксантану

Просіяний екзополісахарид від *ТП 9.4* вручну відправляють масою 118 кг до фасувальної машини ФМ-72. Запускають машину, яка автоматично відміряє та відвантажує по 5 кг ксантанової камеді від *ТП 9.4*. у спеціальні крафт-мішки. Продуктивність фасувальної машини ФМ-72 становить 4 – 6 упаковок/хвилину. Виробничі відходи відправляються на знешкодження до *ЗВ 12.2*.

ПМВ 11.2. Маркування готового продукту

Після етапу фасування в крафт-мішки, отриману готову продукцію маркують наклейками, в яких зазначена інформація стосовно виробника, назви продукту, склад речовини, інструкція до застосування, дата виробництва, термін та умови зберігання. Відходи, що утворилися під час цього етапу підлягають утилізації до *ЗВ 13.2*.

ПМВ 11.3. Пакування та відвантаження

Мішки з готовою продукцією ксантану вручну пакують в картонні коробки або дерев'яні ящики на яких міститься інформація про продукт та відвантажується на склад для зберігання. Утворені відходи йдуть на знешкодження до ЗВ 12.2.

ЗВ 12. Знешкодження відходів

ЗВ 12.1. Знешкодження рідких відходів

Відпрацьовану воду та інші рідкі речовини від ДР 1.2.1, ДР 1.2.2, ДР 1.3.3, ДР 1.3.1, ТП 6.5, ТП 6.6, ТП 6.7, ТП 7.1, ДР 8.2.1, ДР 8.2.2, . після використання зливають в окрему комунікацію – каналізацію, де в подальшому стічні води будуть очищені. В основному до рідких відходів відносяться неорганічні та органічні сполуки, залишки поживного середовища або мікроорганізмів. Для очищення використовують механічні, фізико-хімічні та біологічні методи. Для виробництва ксантану, можна використовувати процеси відстоювання та фільтрування або метод агрегації за допомогою коагулянтів та флокулянтів.

ЗВ 12.2. Знешкодження твердих відходів

До твердих відходів відносять фасувальні та пакувальні матеріали від ПМВ 11.1, ПМВ 11.2, ПМВ 12.3. А також тверді залишки від фільтрації ДР 2.2, ДР 2.6, ДР 2.7. В основному такий матеріал утилізують на виробництвах по переробці відходів. Бракований або пошкоджений матеріал зберігається в спеціальних місцях на складі виробництва.

Від ТП 9.2 біомаса відправляється на склад де зберігається, а в подальшому передається на підприємства, що характеризуються створенням біогазу. Саме біогазові комплекси використовують в якості сировини – біомасу, що позбуваються втрат на утилізацію, покращують екологію та отримують додатковий ресурс.

ЗВ 12.3. Знешкодження газоподібних відходів

Аераційне та стерильне стиснене повітря, інертні гази від ДР 1.3.3, ТП 6.5, ТП 6.6, ТП 6.7, ТП 7.1, ТП 9.2, ТП 10 очищують на фільтруючих установках. Після обробки, їх використовують повторно.

РОЗДІЛ IX. КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА ЕКЗОПОЛІСАХАРИДУ КСАНТАНУ

9.1. Технологічний контроль доферментаційних процесів

Під час процесу культивування, процес біосинтезу потребує постійного відбору проб культуральної рідини для мікробіологічного контролю, визначення концентрації біомаси і цільового продукту, а також вмісту джерела вуглецю (глюкоза, лимонна кислота) і азоту (сульфат амонію). Контроль стерильності апаратури визначають посівом конденсату після стерилізації на поживні середовища.

Мікробіологічний контроль культуральної рідини проходить розсівом на чашки Петрі та мікроскопіюванням дослідного зразка.

Технологія: на чисте предметне скло нанести краплю води. Потім прожареною і охолодженою петлею взяти досліджуваний матеріал і розподілити його рівномірно в краплі води. На краплю суспензії покласти чисте покривне скло так, щоб під ним не було пухирців повітря. Надлишок рідини відтягнути смужкою фільтрувального паперу. Розглянути препарат при збільшенні об'єктива 90х та з імерсійною системою.

Промікроскопіювавши зразки бактерій виду *Xanthomonas campestris*, отримані з чашки Петрі, в об'єктиві мікроскопа ми зможемо побачити прямі, рухомі палички, розташовані поодинокі або парами. Вони є грамнегативними, перевірити ми можемо додаванням фуксину, що спричинить появу червоного кольору [116].

Для підтвердження або перевірки забруднення роблять розсіви на середовища МПА (для виявлення бактерій) та Сабуро (для виявлення грибів). Інкубацію проводять 24 год при температурах 30 - 35°C та 20 - 25°C відповідно. На чашці Петрі, ми будемо спостерігати невеликі, округлі, гладкі, блискучі, жовті колонії з рівними краями на МПА (рис. 9.1.), що характерні для роду *Xanthomonas*,

					НУХТ БТЕК 04.01.27 ДП ПЗ						
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата							
Розроб.		Пахомова А.А.			РОЗДІЛ 9. Контроль виробництва екзополісахариду ксантану				Літ.	Аркуш	Аркушів
Перевір.		Ключка Л.В									
Консультан.											
Н. Контр.											
Затверд.		Пирог Т.П.									
					Кафедра БТМ						

з висівів культуральної рідини. В інших випадках не повинні спостерігатись колонії.

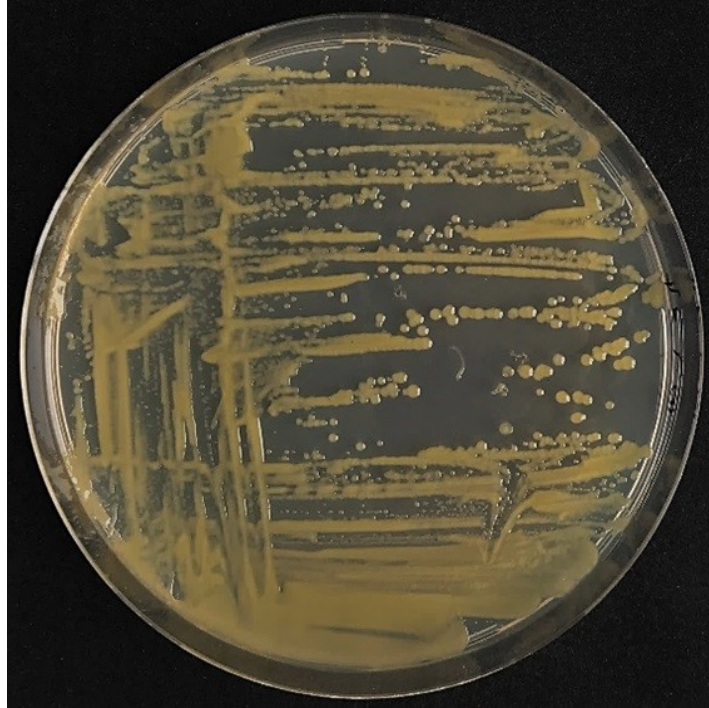


*Рис. 9.1. Колонії Xanthomonas campestris pv. campestris ATCC 1395
на Чашиці Петрі з МПА [116]*

9.2. Показники росту і синтезу

Концентрація біомаси. Моніторинг зростання клітин компанії Optek (т.зв. "Мутномір") (рис. 9.2.) забезпечує швидке вимірювання оптичної щільності в реальному масштабі часу. При цьому немає необхідності у відборі проб. Завдяки цьому виключається втрата обсягу і помилки, пов'язані з розведенням. Крім того, знижується ризик забруднення. Прилад безперервно вимірює збільшення концентрації клітин. Це дозволяє оператору визначити момент, коли зростання припиняється, і отримати найкращі результати. Також прилад може працювати як сигналізація для сповіщення операторів при ненормальних відхиленях у циклі зростання клітин, що дозволяє запобігти втратам продукту.



Рис. 9.2. Моніторинг росту клітин «Optek» [117]

«Optek» - це:

- Контроль росту клітин в реальному масштабі часу
- Скорочення витрат завдяки оптимізації контролю
- Процедури стерилізації та чистки на місці (SIP і CIP) забезпечують довготривалу надійність
- Система калібрування, що відповідає стандартам NIST

В системі передбачені можливості лінеаризації поглинання і настройки відповідно до використовуваних замовником методами лабораторного аналізу для визначення кількості клітин і оптичної щільності. Це значення можна потім відобразити в будь-яких одиницях вимірювання. «Мутномір» можна використовувати в системах різного масштабу, аж до кінцевого виробництва. Це пристрій унікальний, оскільки перевірку можна робити між циклами або безпосередньо в лінії під час виробництва. Вся частина зонда optek, що змочується - може стерилізуватися паровою [117].

Такий пристрій ми використовуємо в інокуляторах для нарощування біомаси, під час біосинтезу в ферментері його неможливо використовувати через те, що компонентом ПС є меляса. Це призведе до похибки при вимірюванні.

Концентрація цільового продукту (ксантану).

Гравіметричний метод. Це метод кількісного хімічного аналізу, який базується на точному вимірюванні маси визначуваної речовини або її складових частин, виділених в хімічно чистому стані або у вигляді сполук відомого постійного складу.

Технологія : Після біосинтезу бактерій *X. campestris pv. campestris* ATCC 1395 (600 мл), відбувається осадження ксантану з культуральної рідини 96% розчином етанолу, для того щоб в кінцевому результаті отримати чистий ксантан. Наступним процесом в одержанні ЕПС – є центрифугування при 7000 об/хв протягом 20 хвилин та висушування кінцевого розчину при 70°C до постійної ваги. Після всіх етапів, чистий ксантан зважують на аналітичних вагах [118].

Концентрація сахарози та меляси. Концентрацію вуглеводу в середовищі не визначають. Вона не є показовою, оскільки цільовим продуктом є екзополісахарид, а вуглевод додається в надлишку.

Визначення концентрації амінного азоту. Джерелом амінного азоту в середовищі для культивування *Xanthomonas campestris pv. campestris* ATCC 1395 є дріжджовий екстракт і пептон, до складу якого входить аміний азот у складі амінокислот.

В основі методу лежить здатність амінокислот утворювати розчинні з'єднання з міддю, кількість якої визначають йодометричним титруванням.

Суть методу полягає в тому, що до слабо лужного розчину амінокислот додають надлишок суспензії ортофосфату міді $\text{Cu}_3(\text{PO}_4)_2$ у боратному буферному розчині. При цьому утворюються розчинні мідні з'єднання. Для їхнього відділення від нерозчинного ортофосфату міді суміш фільтрують. Потім до фільтрату прибавляють оцтову кислоту, яка відщеплює мідь від комплексного з'єднання і перетворюється в ацетат міді [118].

Для визначення кількості міді, яка брала участь в реакції, до розчину додають йодид калію. В результаті реакції виділяється йод в кількості, еквівалентній кількості міді, а відповідно, і азоту амінокислот, який відтитровують розчином тіосульфату натрію.

1 мл 0,01 н розчину тіосульфату натрію відповідає 0,28 мг амінного азоту, оскільки один атом міді реагує з двома молекулами амінокислот, утворюючи з'єднання типу $\text{Cu}(\text{RCHNH}_2\text{COO})_2$.

Техніка визначення. Культуральну рідину у кількості 50 мл відбирають з ферментера, вносять у центрифужні пробірки та центрифугують при 3000 об/хв 15-20 хв, далі суспензію фільтрують через фільтрувальний папір, фільтрат відбирають у окрему ємність для аналізів.

В мірну колбу місткістю 50 мл піпеткою вносять 5 мл культуральної рідини, додають 3-4 краплини індикатору тимолфталейну і по краплям розчин гідроксиду натрію концентрацією 0,1 моль/л до появи блідно-блакитного забарвлення. До слабо лужного розчину із циліндра при перемішуванні порціями обережно приливають 30 мл суспензії ортофосфату міді, вміст колби доводять дистильованою водою до мітки, перемішують і фільтрують через паперовий фільтр. Фільтрат повинен бути прозорим.

10 мл абсолютно прозорого фільтрату піпеткою переносять в фарфорову чашку або конічну колбу, додають 0,5 мл 80 %-ї оцтової кислоти (підкислюють) і 10 мл розчину йодату калію. Після перемішування йод, що виділився, титрують із мікробюретки розчином тіосульфату натрію концентрацією 0,01 моль/л . В кінці титрування до розчину додають 1-2 краплини розчину крохмалю. Кінець титрування визначають по зникненню синього забарвлення від однієї краплі тіосульфату натрію [119].

При прийнятому розбавленні кількість амінного азоту в 10 мл фільтрату отримують множенням маси тіосульфату натрію, витраченого на титрування, на 0,28. З урахуванням розчинення це відповідає 1 мл культуральної рідини. Вміст амінного азоту X розраховують за рівнянням:

$$X = \frac{a \cdot 0,28 \cdot 6 \cdot 10 \cdot 100}{50}$$

де a – кількість розчину тіосульфату натрію концентрацією 0,01 моль/л, витраченого на титрування, л ;

b – об'єм дослідної рідини, взятий на аналіз, л [119]

Іонна хроматографія призначена для визначення якісного та кількісного складу іонних сумішей у вигляді водних розчинів електролітів. Ідентифікація іона проводиться з урахуванням ступеня окислення елементів. Мінімальна кількість аналіту визначають за допомогою стандартного устаткування має приблизно десятків пікограмів. Клас визначених компонентів обмежений тільки їх здатністю утворювати іонні форми у водних розчинах. Це - мінеральні, органічні катіони і катіонні комплекси, мінеральні, органічні аніони і аніонні комплекси. Метод ІХ широко застосовується в аналізі іонного складу розчинів в природних і техногенних об'єктах (стічних і технологічних водах), в хімічній, електронній та харчовій промисловості, в енергетиці, при виробництві питної води, в медицині, наукових дослідженнях.

Суть методу. Визначення концентрації амонію за значенням потенційного методу для аналізу розчинних у воді аніонів (наприклад, хлориду, сульфату, нітрату, нітриту, броміду і фториду) і катіонів (наприклад, літію, кальцію, натрію, калію, амонію) в суспензіях, рідинах [120].



Рис 9.3. Іоннообмінний хроматограф ICS-2100 [120]

Техніка визначення. 50 мл культуральної рідини відбирають з ферментера та переносять у центрифужні пробірки. Цю рідину центрифугують при 3000 об/хв протягом 15 - 20 хвилин. Отриманий супернатант фільтрують через на фільтрі – розмір пор - 0,2 мкм (це роблять перед визначенням концентрації амонію з використанням Іоннообмінний хроматограф ICS-2100 (рис. 9.3)). Катіонний елюент складається з 4 мМ H_3PO_4 та 5 мМ 18 - краун 6 - ефіра. Стовпчастий стовпчик виступає у вигляді ІС УК - 421, а стовпчик охорони – ІС – УК - G. Стандартний розчин амонію готували з $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$; концентрацію доводять до 1000 частин на мільйон (ppm) і розбавляють до відповідних концентрацій для отримання стандартної кривої [121].

9.3. Технологічний контроль післяферментаційних процесів

Готова продукція ксантану широко використовуються в різних галузях виробництва та промисловості, зокрема у виготовленні безглютенових продуктах. Тому заключним етапом є саме контроль якості сировини після процесу виділення та очищення.

За фізико-хімічними показниками ЕПС повинен відповідати таким нормам, дані наведені в таблиці 9.1.

Таблиця 9.1.

Показник	Характеристика/норма
Масова доля основної речовини у висушеному ксантані, %, що відповідає масовій долі діоксиду вуглецю (CO_2), %	91,0 – 98,0 4,2 – 5,0
Масова частка втрат при висушуванні, не більше	15,0
Масова доля піровиноградної кислоти, %, не менше	1,5
Масова частка азота, %, не більше	1,5
Масова частка спирту або суми спиртів, %, не більше	0,005
Гелеутворення	Позитивна реакція
Присутність крохмалю, меляси, гуару та його похідних	Відсутні
Вміст вологи, %, не більше	10

Титрована кислотність, рН	7,1
---------------------------	-----

Визначення органолептичних показників. Для складання сумарної проби харчової ксантанової камеді з різних місць кожної одиниці транспортної тари, відібраної рандомно з різних партій, відбирають миттєві проби. Маса миттєвої проби повинна бути не більше 100 г. Маса миттєвої проби і число миттєвих проб від кожної пакувальної одиниці повинні бути однаковими. Рекомендована маса сумарної проби повинна бути не менше 500 г. Сумарну пробу ділять на дві частини і кожну частину поміщають в чисту, суху скляну ємність.

При проведенні всіх аналізів повинні бути дотримані наступні умови:

- температура навколишнього повітря від 18°C до 25°C;
- відносна вологість повітря від 40% до 75%.

Приміщення, де проводять роботи з реактивами, має бути забезпечено проточно-втяжною вентиляцією. Всі аналізи слід проводити у витяжній шафі.

Зовнішній вигляд і колір харчової ксантанової камеді визначають переглядом аналізованої проби масою не менше 50 г, вміщеній на аркуш білого паперу або на скляну пластинку при розсіяному денному світлі або освітленні люмінесцентними лампами. Ксантан вважають відповідати вимогам стандарту, якщо зовнішній вигляд і колір відповідають вимогам, встановленим у таблиці 1.1.

Для визначення запаху харчової ксантанової камеді готують розчин масовою часткою 1%. Для цього розчиняють аналізовану пробу ксантанової камеді масою 1 г в 99 см³ дистильованої води в склянці місткістю 250 см³. Чистий, без стороннього запаху стаканчик заповнюють на 1/2 об'єму приготованим розчином. Стаканчик закривають кришкою і витримують протягом 1 год при температурі повітря 20 ± 2°C. Запах визначають органолептично на рівні краю стаканчика відразу ж після відкриття кришки.

Екзополісахарид вважають відповідним вимогам, якщо запах відсутній.

Визначення вмісту вологи. Беруть наважку (4 ± 0,01) г ксантану в тарований металевий лоток. Записують масу як *m*. Сушать зразок в печі протягом 2 годин при температурі 70°C. Охолоджують зразок до кімнатної температури в ексікаторі. Знову зважують металевий лоток, що містить просушену ксантанову

камідь. Записують масу як m_2 . Обчислюють масову частку вологи у відсотках за формулою:

$$W = \frac{m - m_2}{m}$$

де, m – маса зразка, г; m_2 – маса залишку, г.

Визначення титрованої кислотності. На терезах відважують (2.0 ± 0.01) г препарату, переносять в конічну колбу для титрування, доливають (50.0 ± 0.001) мл дистильованої води і додають 2-3 краплі розчину фенолфталеїну.

Отриману суміш титрують розчином лугу з молярною концентрацією 0,1 моль/дм³ до появи слабо-рожевого забарвлення, що не зникає через 30 с.

Визначення в'язкості. Приготування штучної морської води. Для загального обсягу 1000 мл беруть наважку 41,95 г морської солі в склянку місткістю 2000 мл. Додають 983 л дистильованої води. Перемішують протягом 15 хв за допомогою занурюваної зверху мішалки, встановленої на низьку швидкість. Вимірюють рН і регулюють до значення від 8,2 до 8.5 за допомогою 0.1 М (0,1 Н) NaOH або HCl.

Приготування полімерного розчину ксантанової камеді. Готують полімерний розчин ксантану шляхом додавання (1.0 ± 0.001) г полімеру до 358 мл штучної морської води при постійному перемішуванні мішалкою з рівномірною швидкістю протягом приблизно 30 с. Полімер ксантанової смоли необхідно додавати в віддаленні від осі крильчатки, щоб звести до мінімуму пилоутворення. Після перемішування протягом (5 ± 0.1) хв виймають контейнер з мішалки і розтирають його лопаткою для видалення частинок, що прилипили до стінок контейнера. Повертають контейнер в мішалку і продовжують перемішувати. Може знадобитися витягувати контейнер з мішалки і очищати стінки неодноразово, щоб зняти всі частинки. Загальний час перемішування після додавання полімеру ксантанової смоли повинен складати (30 ± 1) хв.

Знімають чашку для перемішування і додають 2-3 краплі піногасника в рідину. Перемішують протягом 10- 15 з лопаткою, щоб видалити захоплене повітря або піну. Потім поміщають чашку в охолоджену воду на період часу, що не перевищує 30 хв, щоб знизити температуру рідини до (25 ± 1) ° С. Наливають розчин в чашку віскозиметра з прямою індикацією або у високу склянку

місткістю 400 мл до рівня 250 мл. Рівень розчину повинен чітко збігатися з лінією, проведеної на роторній втулки. Показання шкали при швидкості обертання 600 об/хв встановленої на віскозиметрі, має бути зареєстроване після досягнення постійного значення 600 об/хв. Показання при швидкості 600 об/хв необхідно знімати за нормальної температури розчину $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$. Записують показання шкали при швидкості обертання 600 об/хв. Продовжують вимір в'язкості розчину при швидкості 300. 200, 100. 6 і 3 об/хв чекаючи, поки показання шкали не стабілізується при кожній з швидкостей обертання. Ці послідовні показання повинні зніматися при температурі розчину $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$. Записують показання шкали при швидкості обертання 300. 200.100. 6 і 3 об/хв [122].

Віскозиметри - прилади контролю, призначені для вимірювань реологічних характеристик рідких речовин (рис. 9.4.).



Рис. 9.4. Віскозиметр FANN 35Sa [123]

Комплектування: ротор R1 – діаметр 1,84 см, Боб/балансир В1 – діаметр 1,7 см та довжина 3,8 см, торсіонна пружина F1.

Технічна характеристика:

- діапазон швидкостей – 600, 300, 200, 100, 6, 3 об/хв;
- діапазон часу перевірки, сек, 12-300;
- діапазон температур – 0 – 97°C [123];

Визначення масової частки ксантану в готовому продукті. Метод полягає в розрахунку масової частки основної речовини в ксантановій камеді на основі попереднього розрахунку масової частки діоксиду вуглецю (вуглекислого газу), виділеного з висушеної ксантанової камеді методом декарбоксилювання з подальшим титриметричним визначенням його кількості.

Приготування розчину соляної кислоти – готують в стакані місткістю 100 см³, 10 мл кислоти та 90 см³ дистильованої води.

Приготування розчину гідроксиду натрію – готують в стакані місткістю 100 см³, 10 г кислоти та 90 см³ дистильованої води.

Приготування розчину барію хлорид – готують в стакані місткістю 100 см³, 10 г барію хлорид та 90 см³ дистильованої води.

У стаканчику для зважування з кришкою зважують 3 г аналізованої проби харчової ксантанової камеді із записом результату зважування до другого десяткового знака. Обережним постукуванням розподіляють аналізовану пробу рівномірним шаром по дну стаканчика, поміщають у відкритому вигляді разом з кришкою в сушильну шафу і сушать при температурі $(60 \pm 2)^{\circ}\text{C}$ протягом 4 год. Після цього стаканчик швидко закривають кришкою і охолоджують в ексикаторі над хлористим кальцієм 40 хв.

Збирають апарат для визначення діоксиду вуглецю методом декарбоксилювання.

У реакційну колбу місткістю 100 см³ циліндром додають 25 см³ розчину соляної кислоти, кілька скляних капілярів для забезпечення рівномірності кипіння, приєднують колбу до зворотного холодильника, використовуючи в якості мастила концентровану ортофосфорну кислоту. Решта шліфи змащують вакуумної мастилом.

Потім перевіряють систему на герметичність. Для цього за допомогою триходового запірного крана підключають апарат до вакууму і примусово піднімають рівень ртуті в трубці ртутного затвора приблизно на 5 см, після чого відразу закривають триходовий запірний кран. Якщо рівень ртуті падає, слід перевірити на герметичність всі з'єднання: трубки, шліфи, крани. Якщо через 2 хв рівень ртуті помітно не падає, систему вважають герметичною. Після перевірки

на герметичність продувають через апарат повітря, вільне володіння від діоксиду вуглецю, зі швидкістю від 3 до 6 дм³/ч.

Піднімають колбонагрівач до реакційної колби, нагрівають вміст колби до кипіння і обережно кип'ятять протягом 2 хв. Відключають обігрів, опускають колбонагрівач і залишають колбу охолоджуватися при кімнатній температурі протягом 15 хв. В крапельну воронку наливають циліндром 23 см³ концентрованої соляної кислоти. Від'єднавши абсорбційну колонку від апарату, швидко наливають в неї 25 см³ розчину гідроксиду натрію, додають п'ять крапель нормального бутилового спирту і приєднують колонку назад. Потім починають продувати через апарат повітря, вільне володіння від діоксиду вуглецю, зі швидкістю приблизно 2 дм³/ч. Обережно додають концентровану соляну кислоту з крапельної воронки в реакційну колбу. Потім піднімають колбонагрівач до реакційної колби і нагрівають вміст колби до кипіння. Продовжують нагрівання, не допускаючи надто бурхливого кипіння і не припиняючи продування повітря, вільного від діоксиду вуглецю, зі швидкістю від 3 до 6 дм³/ч протягом 2 годин.

Через 2 год припиняють нагрівання і зменшують швидкість подачі повітря. Використовуючи тиск повітря, що подається, переливають вміст абсорбційної колонки в колбу. Промивають абсорбційну колонку трьома порціями дистильованої води по 15 см, збираючи промивні води в колбу. Припиняють подачу повітря повністю. Від'єднують колбу від апарату і додають в неї 10 см³ розчину барію хлориду. Закривають колбу кришкою, обережно збовтують вміст протягом 2 хв, додають 2-3 краплі розчину індикатора фенолфталеїну і обережно титрують розчином соляної кислоти молярної концентрації $c(\text{HCl}) = 0,1$ моль/дм до повного зникнення рожевого забарвлення. Титрувати слід повільно, додаючи кислоту по краплях. Титрування вважають закінченим, якщо протягом 8 хв при періодичному збовтуванні рожеве фарбування не з'являється.

Відбирають аналізовану пробу масою $(1,2000 \pm 0,0005)$ г з проби, висушеної, і поміщають в реакційну колбу місткістю 100 см додають 25 см розчину соляної кислоти, кілька скляних капілярів і приєднують колбу до зворотного холодильника, використовуючи в якості мастила концентровану ортофосфорну кислоту. Решта шліфи змащують вакуумним мастилом.

Потім перевіряють систему на герметичність. Для цього за допомогою триходового запірного крана підключають апарат до вакууму і примусово піднімають рівень ртуті в трубці ртутного затвора приблизно на см, після чого відразу закривають триходовий запірний кран. Якщо рівень ртуті падає, слід перевірити на герметичність всі з'єднання: трубки, шліфи, крани. Якщо через 2 хв рівень ртуті помітно не падає, систему вважають герметичною. Після перевірки на герметичність продувають через апарат повітря, вільне володіння від діоксиду вуглецю, зі швидкістю від 3 до 6 дм/ч.

Піднімають колбонагрівач до реакційної колби, нагрівають вміст колби до кипіння і обережно кип'ятять протягом 2 хв. Відключають обігрів, опускають колбонагрівач і залишають колбу охолоджуватися при кімнатній температурі протягом 15 хв. В крапельну воронку наливають циліндром 23 см концентрованої соляної кислоти. Від'єднавши абсорбційну колонку від апарату, швидко наливають в неї 25 см розчину гідроксиду натрію, додають п'ять крапель нормального бутилового спирту і приєднують колонку назад. Потім починають продувати через апарат повітря, вільне володіння від діоксиду вуглецю, зі швидкістю приблизно 2 дм³/ч. Обережно додають концентровану соляну кислоту з крапельної воронки в реакційну колбу. Потім піднімають колбонагрівач до реакційної колби і нагрівають вміст колби до кипіння. Продовжують нагрівання, не допускаючи надто бурхливого кипіння і не припиняючи продування повітря, вільного від діоксиду вуглецю, зі швидкістю від 3 до 6 дм³/ч протягом 2 ч.

Через 2 год припиняють нагрівання і зменшують швидкість подачі повітря до мінімальної (менше 1 дм³/ч). Використовуючи тиск повітря, що подається, переливають вміст абсорбційної колонки в колбу. Промивають абсорбційну колонку трьома порціями дистильованої води по 15 см³, збираючи промивні води в колбу. Припиняють подачу повітря повністю. Від'єднують колбу від апарату і додають в неї 10 см³ розчину барію хлориду. Закривають колбу кришкою, обережно збовтують вміст протягом 2 хв, додають 2-3 краплі розчину індикатора фенолфталеїну і обережно титрують розчином соляної кислоти молярної концентрації $c(\text{HCl}) = 0,1$ моль/дм до повного зникнення рожевого забарвлення. Титрувати слід повільно, додаючи кислоту по краплях. Титрування

вважають закінченим, якщо протягом 8 хв при періодичному збовтуванні рожеве фарбування не з'являється.

Масову частку виділеного з ксантанової камеді діоксиду вуглецю, %, обчислюють за формулою:

$$X_1 = \frac{(V_0 - V)K_1 \cdot 0,1 \cdot 0,0055}{0,25mR_c}$$

де, V^0 - обсяг розчину соляної кислоти молярної концентрації $c(\text{HCl}) = 0,1$ моль/дм³, витрачений на титрування в холостому досвіді;

V - обсяг розчину соляної кислоти молярної концентрації $c(\text{HCl}) = 0,1$ моль/дм, витрачений на титрування в досвіді з аналізованої пробою;

K_1 - коефіцієнт поправки розчину соляної кислоти молярної концентрації $c(\text{HCl}) = 0,1$ моль/дм;

0,1 - молярна концентрація розчину соляної кислоти, моль/дм;

0,0055 - маса діоксиду вуглецю, що відповідає 1 см³ розчину гідроксиду натрію молярної концентрації $c(\text{NaOH}) = 0,25$ моль/дм, г;

0,25 - молярна концентрація розчину гідроксиду натрію, моль/дм;

m - маса аналізованої проби, г;

K_2 - коефіцієнт поправки розчину гідроксиду натрію молярної концентрації $c(\text{NaOH}) = 0,25$ моль/дм.

Обчислення проводять до другого десяткового знака. За остаточний результат аналізу приймають середнє арифметичне результатів двох паралельних визначень, %, округлене до першого десяткового знака.

Масову частку основної речовини ксантанової камеді X_2 , %, обчислюють за формулою:

$$X_2 = 21,6X_1$$

Обчислення проводять до першого десяткового знака. Межі абсолютної похибки визначення масової частки основної речовини ксантанової камеді $\Delta X_2 \pm 0,4\%$ при $P = 95\%$ [38-39].

Визначення масової частки ізопропілового спирту. Так як отриманий ксантан в подальшому буде використовуватися у харчовій промисловості, визначення такого показника дуже важливе.

Сумарна проба ксантану відбирається з різних місць кожної одиниці транспортної коробки, відібраної з абсолютно різних партій, відбирають миттєві проби. Маса миттєвої проби повинна бути не більше 100 г. Маса миттєвої проби і число миттєвих проб від кожної пакувальної одиниці повинні бути однаковими.

Суть методу. Масову частку ізопропілового спиртів визначають методом внутрішнього стандарту парофазної газової хроматографії складних ефірів, що утворюються з етилового та ізопропілового спиртів в присутності нітритів, порівнюючи розраховану суму наведених площ піків.

Приготування розчину щавлевої кислоти. У пробірці місткістю 20 см³ на технічних терезах зважують ($0,66 \pm 0,01$) г щавлевої кислоти і розчиняють в 10 см³ дистильованої води. Розчин використовують свіжоприготовлений.

Приготування розчину азотистокислого натрію. У пробірку місткістю 20 см³ додають зважений на технічних терезах ($2,50 \pm 0,01$) г азотистокислого натрію і розчиняють в 10 см³ дистильованої води. Розчин використовують свіжоприготовлений.

Приготування розчину аналізованої проби. У пробірці місткістю 20 см³ додають отриману миттєву пробу $0,100 \pm 0,001$ г харчової ксантанової камеді, додають 2-3 крупинки кухонної солі і розчиняють в 10 см³ дист. води. Розчин використовують свіжоприготовлений.

Приготування розчину внутрішнього стандарту. У мірну колбу місткістю 100 см³ додають зважений ($0,0250 \pm 0,0005$) г спирту пропілового нормального і розчиняють в дистильованої воді, потім доводять об'єм в колбі до 100 см³ і перемішують. Розчин використовують свіжоприготовлений.

Приготування контрольного розчину суміші етилового і ізопропілового спиртів. У мірну колбу місткістю 100 см³ додають зважений ($0,0250 \pm 0,0005$) г етилового спирту, потім додають ($0,0250 \pm 0,0005$) г ізопропілового спирту і розчиняють спирти в дистильованої воді, потім доводять об'єм в колбі до 100 см³ та перемішують. Розчин використовують свіжоприготовлений.

Підготовка хроматографічної колонки. Скляну хроматографічну колонку промивають ацетоном, сушать при температурі (105 ± 5)°C в сушильній шафі і послідовно заповнюють носіями для хроматографії: спочатку на 75 см довжини носієм Порапак, потім на 15 см довжини носієм Хромпак. Для

заповнення хроматографічної колонки один її кінець, який в подальшому буде приєднуватися до детектора, закривають тампоном з склотканини, промитої ацетоном, і приєднують до вакуумного насоса через дрібну капронову сітку. До іншого кінця за допомогою короткої гумової трубки під'єднують скляну воронку. Потім включають насос і заповнюють колонку носієм, додаючи останній невеликими порціями і постукуючи колонку паличкою з гумовим наконечником при постійно працюючому насосі, стежачи за тим, щоб носій заповнював колонку рівномірно, без розривів.

Кондиціювання хроматографічної колонки. Відповідно до інструкції по експлуатації проводять підготовку хроматографа.

Заповнену колонку закривають тампоном з склотканини і поміщають в термостат колонок хроматографа, приєднавши до випарника, але не під'єднуючи до детектора. Кондиціювання колонки доцільно проводити наступним чином. Встановивши витрата азоту через колонку $(80 \pm 5) \text{ см}^3/\text{хв}$, витримують колонку при температурі $(55 \pm 5)^\circ\text{C}$ протягом $25 \pm 5 \text{ хв}$. Потім поступово піднімають температуру термостата колонок до $180 \pm 1^\circ\text{C}$ і при цій температурі кондиціюють колонку протягом 3-4 ч. Потім колонку під'єднують до детектора, встановлюють умови хроматографування, виводять хроматограф на робочий режим і перевіряють стабільність нульової лінії на хроматограмі. Якщо на хроматограмі спостерігаються шуми і дрейф сигналу, від'єднують колонку від детектора і продовжують кондиціювання при температурі $180 \pm 1^\circ\text{C}$ протягом 1 - 2 год. Потім знову під'єднують колонку до детектора, встановлюють умови хроматографування, виводять хроматограф на робочий режим і перевіряють стабільність нульової лінії на хроматограмі. Кондиціювання продовжують до тих пір, поки на хроматограмі не зникнуть шуми і дрейф сигналу.

Проведення аналізу з контрольним розчином суміші етилового і ізопропілового спиртів. У віален темного скла місткістю 25 см^3 поміщають $0,2000 \pm 0,0005 \text{ г}$ карбаміду, продувають віален азотом протягом 5 хв, додають піпеткою 1 см^3 розчину щавлевої кислоти, закривають гумовою пробкою і збовтують. Потім додають в віален шприцом через гумову пробку 1 см^3 контрольного розчину суміші етилового і ізопропілового спиртів по 1 см^3 розчину внутрішнього стандарту. Відразу після цього включають секундомір ($t =$

0). Збовтують вміст віален і закручують кришкою, що нагвинчується, проклавши силіконову септу. Продовжують збовтування до виміри часу 30 с. При показаннях секундоміра 45 з вводять в віален шприцом через септу $0,5\text{ см}^3$ розчину натрію азотистокислого. Потім збовтують вміст віалену до виміри часу 70 с. При показаннях секундоміра 150 з відбирають шприцом через септу 1 см^3 парової фази над рідиною і вводять у випарник хроматографа. Відповідно до інструкції по експлуатації хроматографа проводять хроматографування в умовах і реєструють хроматограму.

Проведення аналізу з розчином аналізованої проби. У віален темного скла місткістю 25 см^3 поміщають $0,2000 \pm 0,0005$ г карбаміду, продувають віален азотом протягом 5 хв, додають піпеткою 1 см^3 розчину щавлевої кислоти, закривають гумовою пробкою і збовтують. Потім додають в віален шприцом через гумову пробку 1 см^3 розчину аналізованої проби і 1 см^3 розчину внутрішнього стандарту. Відразу після цього включають секундомір ($t = 0$). Збовтують вміст віален і закручують кришкою, що нагвинчується, проклавши силіконову септу. Продовжують збовтування до виміри часу 30 с. При показаннях секундоміра 45 з вводять в віален шприцом через септу $0,5\text{ см}^3$ розчину натрію азотистокислого. Потім збовтують вміст віален до виміри часу 70 с. При показаннях секундоміра 150 відбирають шприцом через септу 1 см^3 парової фази над рідиною і вводять у випарник хроматографа. Відповідно до інструкції по експлуатації хроматографа проводять хроматографування в умовах і реєструють хроматограму.

Порівнюють хроматограми, отримані з контрольним розчином суміші спиртів і з розчином аналізованої проби. При виявленні на хроматограмі розчину аналізованої проби піків, які збігаються за часом утримування з піками етилового або ізопропілового спиртів на хроматограмі контрольного розчину суміші спиртів роблять висновок про присутність даних спиртів в аналізованій пробі.

Обробка результатів. За допомогою програм обробки хроматографічних даних із застосуванням комп'ютера, підключеного до хроматографії, або вручну обчислюють площі піків складних ефірів внутрішнього стандарту, етилового і ізопропілового спиртів на хроматограмі

контрольного розчину складних ефірів суміші спиртів і хроматограмі аналізованої проби харчової ксантанової камеді.

Обчислюють суму наведених площ піків $R_k^{\text{прив}}$ складних ефірів етилового та ізопропілового спиртів для хроматограми контрольного розчину складних ефірів суміші спиртів за формулою:

$$R_k^{\text{прив}} = \frac{R_k^e + R_k^i}{R_k^{\text{вн.ст}}}, \text{ де}$$

R_k^e - площа піку складного ефіру етилового спирту на хроматограмі контрольного розчину;

R_k^i - площа піку складного ефіру ізопропілового спирту на хроматограмі контрольного розчину;

$R_k^{\text{вн.ст}}$ - площа піку складного ефіру внутрішнього стандарту на хроматограмі контрольного розчину.

Обчислюють суму наведених площ піків $R_a^{\text{прив}}$ складних ефірів етилового та ізопропілового спиртів для хроматограми аналізованої проби харчової ксантанової камеді за формулою:

$$R_a^{\text{прив}} = \frac{R_a^e + R_a^i}{R_a^{\text{вн.ст}}}, \text{ де}$$

R_a^e - площа піку складного ефіру етилового спирту на хроматограмі аналізованої проби;

R_a^i - площа піку складного ефіру ізопропілового спирту на хроматограмі аналізованої проби;

$R_a^{\text{вн.ст}}$ - площа піку складного ефіру внутрішнього стандарту на хроматограмі аналізованої проби.

Порівнюють числові значення, отримані за формулами визначення контрольного розчину та аналізованої проби.

Масова частка етилового або ізопропілового спиртів або сумарно в аналізованої пробі харчової ксантанової камеді становить не більше 0,05%, якщо $R_a^{\text{прив}}$ не більше $R_k^{\text{прив}}$ [122, 124].

Так як, ксантанова камідь використовується у всіх сферах харчової промисловості, то як харчова добавка має норми санітарної якості та безпечності, таблиця 9.2:

Таблиця 9.2.

Токсичні елементи, мг/кг, не більше:	
Свинець	2,0
Миш'як	3,0
Радіонукліди, Бк/кг, не більше:	
Цезій-137	160
Стронцій-90	90
Мікробіологічні показники:	
КМАФАнМ, КУО/г, не більше	5 · 10 ³
БГКП, не допускається в	1,0
Патогени, не допускається в сумі, КУО/г, не більше	25
Плісняві гриби та дріжджі в сумі, КУО/г, не більше	500

[122].

Фур'є-ІЧ-спектроскопія (Фур'є-ІЧС) - це широко відома і перевірена технологія аналізу для ідентифікації невідомих хімічних речовин в різних видах розчину.

Суть методу. Метод заснований на мікроскопічному взаємодії інфрачервоного світла з хімічною речовиною за допомогою процесу поглинання і в результаті дає набір діапазонів, званий спектром (даний спектр унікальний для хімічної речовини і служить «молекулярним відбитком»). Крім того, що Фур'є-ІЧС - це широко застосовується метод, в ній використовується аналіз властивих властивостей хімічної речовини, завдяки цьому Фур'є-ІЧС дуже підходить для зіставлення з спектральною бібліотекою. За допомогою великої бази даних підхід зіставлення зі спектральною бібліотекою дає можливість швидко ідентифікувати тисячі хімічних речовин на підставі їх унікального «молекулярного відбитка» [125].

Техніка визначення. В даному випадку ІЧ-спектроскопію Фур'є проводять з ціллю підтвердження природи полісахариду. Беруть наважку масою 2 - 4 мг виділеного та очищеного полісахариду та 100 мг KBr (додається до суміші в якості світлоподільника) та переносять повністю в прес - форму для виготовлення таблеток. Пресують за допомогою ручного гідравлічного преса при тиску 210 бар протягом 15 хвилин. [126].

Спектри реєструють на приладі ІЧ-Фур'є спектрометр IR Prestige- 21 – рисунок 9.5.



Рис. 9.5. ІЧ-Фур'є спектрометр IR Prestige- 21 [127]

Процес сканування проходить в режимі пропускання рідини в діапазоні $4000 - 400 \text{ см}^{-1}$ при 32-кратному скануванні з розділенням 4 см^{-1} . Калібрувальну залежність отримують з дев'яти стандартних за вмістом ксантану від 0,2 до 1 мг. Кількісне визначення здійснювали за площею піків в області поглинання карбонільних груп: $1616 - 1619 \text{ см}^{-1}$ (рис. 9.6). Після визначення так званих піків, можна провести залежність площі піку від концентрації полісахариду.

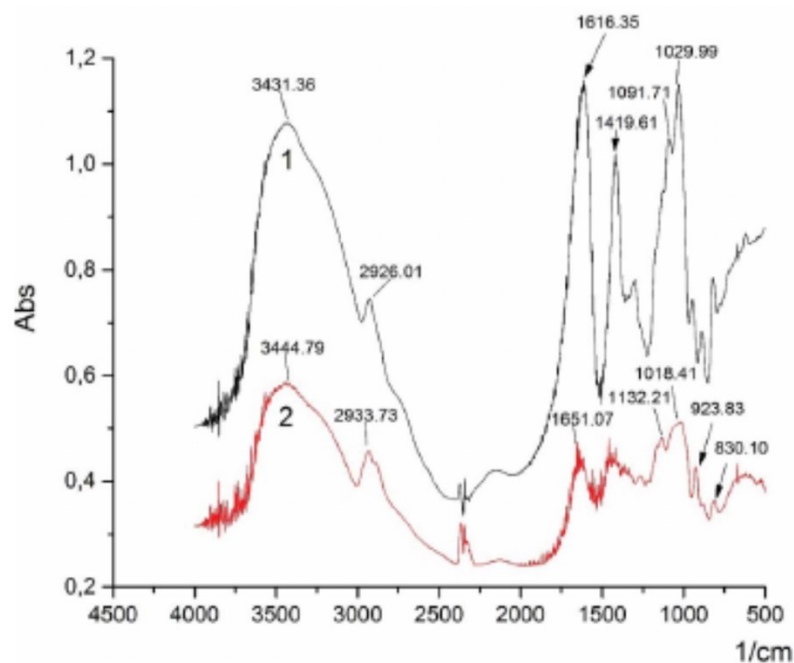


Рис. 9.6. Приклад ІЧ-спектру полісахариду ксантану та досліджуваного полісахариду [126]: крива 1 – стандарт, крива 2 – досліджуваний розчин.

Згідно рисунку ..., можна помітити 3 головні смуги поглинання, що характерні для всіх полісахаридів: $3\ 000 - 3\ 500\ \text{см}^{-1}$ – коливання ОН – групи, $2\ 900 - 2\ 950\ \text{см}^{-1}$ – коливання CH_2 – груп та $1\ 010 - 1\ 050\ \text{см}^{-1}$ – С-О-С-групи цукрів.

Обробка результатів. Проводять за допомогою програми TQ Analyst, використовуючи закон Бера, методом найменших квадратів. Рівняння калібрувальної кривої має вигляд $y = 15,0 \cdot x$, коефіцієнт лінійної регресії $R^2 = 0,9973$ (рис. 9.7.) [126, 128].

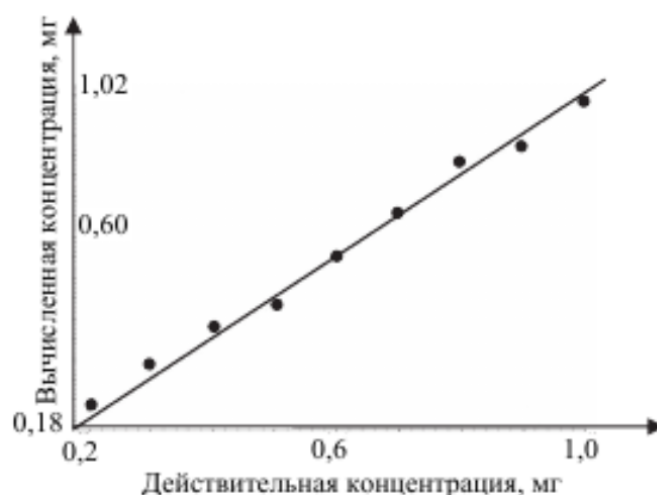


Рис. 9.7. Калібрувальна крива вмісту полісахариду

Такий метод визначення вмісту, як якісного та кількісного складу, може використовуватися для будь яких сполук, молекул тощо: флуорисцентні речовини, білки, амінокислоти, вуглеводні зв'язки, джерела азоту або вуглецю, низькочастотні моди, для визначення реакції в водних розчинах та низькочастотних коливань та ін [129].

9.4. Карта контрольних точок виробництва

Таблиця 9.3.

Карта контрольних точок виробництва екзополісахариду ксантану

<i>Номер контрольної точки та назва стадії</i>	<i>Об'єкт контролю та показник, що визначається</i>	<i>Засоби та методи контролю</i>	<i>Періодичність перевірки та відбору проб</i>	<i>Нормативні значення показника</i>
<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>
Кх Кт ДР 1.1.1 <i>Приготування 2% розчину каустичної соди</i>	Розчин каустичної соди Концентрація розчину	Хімічний метод	Після приготування розчину	C = 2%
Км Кх Кт ДР 1.2.1 <i>Щоденне прибирання виробничого приміщення</i>	Підлога Мікробіологічний контроль, концентрація розчину	Мікробіологічний контроль Хімічний контроль Технічний контроль	Після прибирання	C = 2% КУО < 800/см ²
Км Кх Кт ДР 1.2.2 <i>Генеральне прибирання</i>	Стіни, двері, вікна Мікробіологічний контроль	Мікробіологічний контроль Хімічний контроль Технічний контроль	Після прибирання	C = 2%, КУО < 300/см ²
Кт ДР 1.3.1 <i>Миття та ополіскування виробничого обладнання</i>	Обладнання та комунікації Температура мийного розчину, час обробки	Термометр, годинник	Під час миття	t = 70-80°C, T = 20-40 хв
Кт ДР 1.3.2 <i>Технічний огляд</i>	Обладнання та комунікації	-	-	Візуальна відсутність неущільнень та несправностей
Кт ДР 1.3.3 <i>Перевірка на</i>	Обладнання та комунікації Тиск, час перевірки,	Годинник, манометр	Тиск - безперервно під час перевірки на	P = 0,07 МПа, 60 хв

<i>герметичність</i>	герметичність обладнання		герметичність	
Кт Км ДР 1.3.4 <i>Стерилізація обладнання</i>	Обладнання та комунікації Температура, час стерилізації та тиск, мікробіологічна чистота	Термометр, годинник, манометр	Температура визначається безперервно під час стерилізації	t = 131°C, 60 хв, P = 0,3 МПа, відсутність мікробіоти
Кт ДР 2.1 <i>Забір атмосферного повітря</i>	Повітрозабірник Висота повітрозабірника	-	Під час купівлі та встановлення повітрозабірника	H = 19 м
Кт ДР 2.2 <i>Очищення від грубих домішок</i>	Повітря на виході з фільтру грубого очищення Ступінь очищення	Перевірка ступеня очищення згідно паспорту фільтра	Після проходження через фільтр	E = 80%
Кт ДР 2.3 <i>Компресування повітря</i>	Стиснене повітря Температура, тиск	Термометр, манометр	Вимірюється після компресування	t=125-130°C, P=0,35 МПа
Кт ДР 2.4 <i>Охолодження повітря та видалення вологи</i>	Охолоджене повітря Температура повітря, частка вологи	Термометр, психрометричний метод	Після охолодження та видалення зайвої вологи	t = 25-30°C, w = 60-70%
Кт ДР 2.5 <i>Нагрівання повітря</i>	Нагріте повітря Температура повітря, частка вологи	Термометр, психрометричний метод	Після нагрівання	t = 50°C, w = 50%
Кт ДР 2.6 <i>Очищення повітря на головному фільтрі</i>	Очищене повітря Ступінь очищення	Перевірка ступеня очищення згідно паспорту фільтра	Після проходження через фільтр	E = 95-99%

Кт, Км ДР 2.7 <i>Очищення повітря в індивідуальному фільтрі</i>	Очищене повітря Ступінь очищення, мікробіологічна чистота	Перевірка ступеня очищення згідно паспорту фільтра, мікробіологічний контроль згідно пункту 6.3 цього розділу	Після проходження через фільтр	E = 99,99%, відсутність мікробіоти
Кх 3.1 <i>Приготування 6% розчину NaOH</i>	Розчин їдкого натру Концентрація	-	-	C = 6%
Кт, Км 3.2 <i>Стерилізація 6% розчину NaOH</i>	Розчин їдкого натру Концентрація, стерильність	Мікробіологічний контроль Технологічний контроль	Мікробіологічний контроль після приготування	T = 40 хв, t = 131°C, P = 0,15 МПа, відсутність мікробіоти
Кт, Кх 4.1 <i>Приготування розчину м'яся для підживлення</i>	Розчин м'яся Температура, концентрація, частота обертів мішалки	Термометр, годинник, тахометр технічний	Температура визначається безперервно під час стерилізації	t = 40°C, C = 50%, ω = 200 об/хв
Кт, Км 4.2 <i>Стерилізація розчину м'яся для підживлення</i>	Розчин м'яся Температура, час, стерильність	Термометр, годинник, мікробіологічний контроль	Температура визначається безперервно під час стерилізації, мікробіологічний контроль після стерилізації	t = 112°C, τ = 30 хв, відсутність мікробіоти
Кт, Км 4.2 <i>Стерилізація розчину м'яся для підживлення</i>	Розчин м'яся Температура, час, стерильність	Термометр, годинник, мікробіологічний контроль	Температура визначається безперервно під час	t = 112°C, τ = 30 хв, відсутність мікробіоти

			стерилізації, мікробіологічний контроль після стерилізації	
Кт, Км 4.2 <i>Стерилізація розчину м'яса для підживлення</i>	Розчин м'яса Температура, час, стерильність	Термометр, годинник, мікробіологічний контроль	Температура визначається безперервно під час стерилізації, мікробіологічний контроль після стерилізації	$t = 112^{\circ}\text{C}$, $\tau = 30$ хв, відсутність мікробіоти
Кт, Км 5.1.1, 5.2.1, 5.3.1, 5.4.1 <i>Приготування та стерилізація композиції А</i>	Композиція А Температура, час, стерильність	Термометр, годинник, мікробіологічний контроль	Температура визначається безперервно під час стерилізації, мікробіологічний контроль після стерилізації	$t = 112^{\circ}\text{C}$, $\tau = 30$ хв, відсутність мікробіоти
Кт, Км 5.1.2, 5.2.2, 5.3.2, 5.4.2 <i>Приготування та стерилізація композиції В</i>	Композиція В Температура, час, стерильність	Термометр, годинник, мікробіологічний контроль	Температура визначається безперервно під час стерилізації, мікробіологічний контроль після стерилізації	$t = 121^{\circ}\text{C}$, $\tau = 15$ хв, відсутність мікробіоти

Кт, Км 5.1.3, 5.2.3, 5.3.3, 5.4.3 <i>Приготування та стерилізація композиції С</i>	Композиція С Температура, час, стерильність	Термометр, годинник, мікробіологічний контроль	t визн. безперервно під час стерилізації, мікроб-контроль після стерилізації	t = 131°C, τ = 15 хв, відсутність мікробіоти
Кт 5.5.1 <i>Приготування композиції А та В</i>	Композиція А та В Об'єм композиції	-	-	V = 3 708 л
Кт, Км 5.5.2 <i>Стерилізація композиції А та В в УБС</i>	Композиція А та В Температура, час, стерильність	Термометр, годинник, мікробіологічний контроль	Температура визначається безперервно під час стерилізації, а мікробіологічний контроль після	t = 140°C, τ = 2 хв, відсутність мікробіоти
Кт Км 6.1 <i>Підтримання колекційної культури</i>	Колекційна культура X. campestris ATCC 1395 Температура, мікробіологічна чистота	Термометр, мікробіологічний контроль	Температура визначається безперервно	t = 30°C, відсутність сторонньої мікрофлори
Кт, Км 6.2 <i>Одержання робочої культури на агаризованому середовищі</i>	Колекційна культура X. campestris ATCC 1395 Температура, мікробіологічна чистота культури	Термометр, мікробіологічний контроль	Температура визначається безперервно, мікробіологічний контроль після активації	t = 30°C, відсутність сторонньої мікробіоти
Кт, Км 6.3 <i>Вирощування</i>	Посівний матеріал,	Годинник, термометр,	Температура	t = 30°C, τ = 48 год,

<i>робочої культури</i>	Тривалість вирощування, температура, мікробіологічна чистота культури	мікробіологічний контроль	контролюється і підтримується автоматично, мікробіологічний контроль кожні 4 годин	відсутність сторонньої мікробіоти
Кт, Км 6.4 <i>Вирощування культури в колбах на качалці</i>	Посівний матеріал, тривалість вирощування, температура, частота обертів мішалки, морфологічна однорідність, мікробіологічна чистота культури	Годинник, термометр технічний, тахометр технічний, мікробіологічний контроль	Температура і швидкість обертання контролюються і підтримуються автоматично, мікробіологічний контроль кожні 4 годин,	$t = 30^{\circ}\text{C}$, $\tau = 24$ год, $\omega = 220$ об/хв, відсутність сторонньої мікробіоти
Кт, Кх, Км 6.5 <i>Вирощування культури в посівному апараті об'ємом 32 л</i>	Посівний матеріал, тривалість вирощування, температура, частота обертів мішалки, морфологічна однорідність, мікробіологічна чистота культури	Годинник, термометр технічний, тахометр технічний, мікробіологічний контроль	Температура, швидкість обертання контролюються і підтримуються автоматично, мікробіологічний контроль кожні 4 години	$t = 30^{\circ}\text{C}$, $\tau = 24$ год, $\omega = 220$ об/хв, біомаса, відсутність сторонньої мікробіоти
Кт, Кх, Км 6.5 <i>Вирощування культури в посівному апараті об'ємом 32 л</i>	Посівний матеріал, тривалість вирощування, температура, частота обертів	Годинник, термометр технічний, тахометр	Температура, швидкість обертання контролюються і	$t = 30^{\circ}\text{C}$, $\tau = 24$ год, $\omega = 220$ об/хв, біомаса, відсутність сторонньої мікробіоти

	мішалки, морфологічна однорідність, мікробіологічна чистота культури	технічний, мікробіологічний контроль	підтримуються автоматично, мікробіологічний контроль кожні 4 години	
Кт, Кх, Км 6.6 <i>Вирощування культури в посівному апараті об'ємом 320 л</i>	Посівний матеріал, тривалість вирощування, температура, частота обертів мішалки, морфологічна однорідність, мікробіологічна чистота культури	Годинник, термометр технічний, тахометр технічний, мікробіологічний контроль	Температура, швидкість обертання контролюються і підтримуються автоматично, мікробіологічний контроль кожні 4 години	$t = 30^{\circ}\text{C}$, $\tau = 24$ год, $\omega = 220$ об/хв, біомаса, відсутність сторонньої мікробіоти
Кт, Кх, Км 6.7 <i>Вирощування культури в посівному апараті об'ємом 3,2 м³</i>	Посівний матеріал, тривалість вирощування, температура, частота обертів мішалки, морфологічна однорідність, мікробіологічна чистота культури	Годинник, термометр технічний, тахометр технічний, мікробіологічний контроль	Температура, швидкість обертання контролюються і підтримуються автоматично, мікробіологічний контроль кожні 4 години	$t = 30^{\circ}\text{C}$, $\tau = 24$ год, $\omega = 220$ об/хв, біомаса, відсутність сторонньої мікробіоти
Кт, Кх, Км 7.1 <i>Виробниче культивування у ферментері об'ємом 32 м³</i>	Культуральна рідина, тривалість культивування, температура, значення рН, частота обертів мішалки,	Датчик рН, годинник, термометр технічний, тахометр технічний, мікробіологічний контроль	Температура, рН і швидкість обертання контролюють і підтримують	$t = 30^{\circ}\text{C}$, $\tau = 24$ год, $\omega = 220$ об/хв, рН = 7,0, С ксантану = 52,3 г/л; відсутність сторонньої мікробіоти,

	мікробіологічна чистота культури, морфологічна однорідність, концентрація ксантану, концентрація біомаси		автоматично; концентрація ксантану визначається гравіметричним методом; мікробіологічний контроль кожні 4 години, концентрація біомаси визначається за оптичною густиною	концентрація біомаси = 23,5 г/л,
Кт Кх ТП 8.1 <i>Попередня обробка культуральної рідини</i>	Культуральна рідина Температура розчину, маса речовини, частота обертів мішалки	Термометр, ваги, тахометр технічний	До та під час обробки культуральної рідини	t = 80-100°C, м(ЕДТА) = 21,360 кг, W = 120 об/хв
Кт ТП 8.2 <i>Центрифугування культуральної рідини</i>	Культуральна рідина Температура розчину, частота обертів	Термометр, тахометр технічний	Під час процесу	t = 80-100°C, W = 15 000 об/хв
Кт Кх ТП 9.1 <i>Екстракція ксантану</i>	Супернатант Концентрація розчину, час обробки, об'єм розчину, частота обертів мішалки	Годинник, витратомір, рефрактометр, тахометр технічний	До та під час процесу екстракції	C = 96%, W = 200 об/хв, T = 30 хв, V = 3 м ³
Кт Кх ТП 9.2 <i>Фільтрація, промивання і висушування ксантану</i>	Супернатант Час обробки, частота обертів барабану, тиск, вологість продукту	Годинник, манометр технічний, тахометр технічний, психометричний метод	Після та під час етапу	W = 1,5 об/хв, T = 40 хв, P(г) = 2-4 атм, P(в) = 40-50 кПа, w = 5%
Кт ТП 9.3	Ксантан	Психометричний метод,	Після процесу та під	w = 5%, n - до 100 мкм, T =

<i>Подрібнення ксантану</i>	Вологість продукту, розмір часток, час процесу	годинник	час	12 хв
Кт ТП 9.4 <i>Просіювання ксантану</i>	Ксантан Час процесу, розмір часток	Годинник	Під час процесу та після нього	n - до 100 мкм, Т = 30 хв
Кт Кх ТП 10 <i>Регенерація спирту</i>	Ізопропіловий спирт Температура нагріву, час процесу, концентрація	Годинник, термометр, рефрактометр	Під час та після процесу	t = 82,5°C, Т = 1 година, С = 90-95%
Кт ПМВ 11.1 <i>Фасування сухого ксантану</i>	Ксантан Маса ксантану, час завантаження	Ваги, годинник	Під час процесу	м = 5 кг, Т = 6 хвилин
Кт ПМВ 11.2 <i>Маркування готового продукту</i>	Фасована продукція Час процесу	Годинник	Під час процесу	Т = 5 хвилин
Кт ПМВ 11.3 <i>Пакування та відвантаження</i>	Готова продукція Час процесу	Годинник	Під час процесу	Т = 1 година

РОЗДІЛ X. АВТОМАТИЗАЦІЯ ДІЛЯНКИ ВИРОБНИЦТВА

ЕКЗОПОЛІСАХАРИДУ КСАНТАНУ

10.1. Опис функціональної схеми автоматизації

У першому контурі автоматичного контролю і управління, необхідно контролювати і регулювати температуру розчину перед подачею його у наступні технологічні апарати, яка має регламентоване значення 10°C . Спостереження за зміною передбачається на АРМі оператора-технолога зі збереженням (реєстрацією) цих змін в його архіві. Для регулювання температури передбачається її стабілізація на заданому значенні за рахунок вмикання чи вимикання подачі води у рубашку апарату (1в).

У другому контурі автоматичного контролю і управління, необхідно контролювати рівень рідини у збірнику з сигналізацією досягнення верхнього припустимого рівня і управління клапаном подачі рідини у збірник (2в). У схемі буде використаний тільки один електрод, який встановлюється в точці яка відповідає верхньому припустимому рівню. Сигналізація про досягнення верхнього рівня передбачається на АРМі оператора-технолога.

При натисканні кнопки «Пуск» на моторі М1 відбувається перемішування в речовини в апараті із заданою частотою обертів.

У третьому контурі автоматичного контролю і управління, необхідно контролювати і регулювати температуру розчину під час центрифугування, яка має регламентоване значення $80-90^{\circ}\text{C}$. Спостереження за зміною передбачається на АРМі оператора-технолога зі збереженням (реєстрацією) цих змін в його архіві. Для регулювання температури передбачається її стабілізація на заданому значенні за рахунок вмикання чи вимикання подачі води у рубашку апарату (3в).

При натисканні кнопки «Пуск» на моторі М2 відбувається процес центрифугування із заданою частотою обертів.

					НУХТ БТЕК 04.01.27 ДП ПЗ			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Пахомова А.А.			РОЗДІЛ 10. Автоматизація ділянки виробництва екзополісахариду	Літ.	Аркуш	Акрушів
Перевір.		Ключка Л.В						
Консультан.								
Н. Контр.								
Затверд.		Пирог Т.П.						
						Кафедра БТМ		

Технологічні вимоги до системи автоматизації

№ п/п	Машина, апарат, агрегат	Параметр, місце відбору імпульсу	Значення параметру, допустимі відхилення	Система автоматизації		
				Вид системи автоматизації	Характер контролю, регулювання, управління	Засоби управління та контролю, реалізації управляючої дії
1	Збірник	Температура	10 °С	Контроль Регулювання	Покази, реєстрація, стабілізація	АРМ оператора Вплив на витрату води в рубашку
2		Рівень заповнення	4,5 м ³	Контроль управління	Покази, запис, сигналізація	АРМ оператора Вплив на подачу води у збірник
3		Оберти перемішуючого пристрою	200 об/хв	Контроль, управління	Покази	Керування двигуном (дискретне)
4	Центрифуга	Температура	80-90 °С	Контроль Регулювання	Покази, реєстрація, стабілізація	АРМ оператора Вплив на витрату води в рубашку
5		Частота обертів	15000 об/хв	Контроль, управління	Покази	Керування двигуном (дискретне)

10.2. Специфікація засобів автоматизації

Таблиця 10.2.

Позиція	Параметр	Місце установки	Найменування характеристика приладу	Тип моделі	Завод виготовлювач
1	2	3	4	5	6
1а 3а	Температура	В агрегаті	Датчик термоперетворювач опору діапазон (-40 ...+180)°С, з уніф. вих. сигнал 4...20 мА	TSM-100	ООО "ФІРМА КОНТРАГЕН, Україна
1б 2б 3б	Температура Рівень	На щиті	Електропневмоперетворювач з сигнал 4-20 мА в сигнал 20-100 кПа	Dwyer серія 2700	СВ Альтера м. Київ
1в 2в 3в	Температура	По місцю	Мембранний вимірювач тиску з прямим механізмом дії для управління кранами та заслінками, управляючий сигнал – 20...100 кПа, крутячий момент – 5...30 Нм/бар, кут повороту – 90°	KUP	Kobold
2а	Рівень	В агрегаті	Контактний датчик рівня, з вихідним сигналом по напрузі	SITRNS L Pointek CLS 200	ДП «Сименс Україна» м.Київ
KM1 KM2	Магнітний пускач	На щиті	Магнітний пускач, робочий струм 7А, потужність двигуна 3кВт, управляючий сигнал 220В	3RT2015- 1AP01	SIEMENS
SA1 SA2	Перемикач	На щиті	Перемикач 3-х позиційний (автоматичний-ручний з щита – ручний по місцю) з фіксацією	3SB3210- 2DA11	SIEMENS

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Зайчук Т. О. Маркетингові інструменти забезпечення конкурентоспроможності виробництва екологічно чистих продуктів харчування // Вісник Хмельницького національного університету. — 2009. - 3. № 5. — с. 68
2. Рысмухамбетова Г. Е. Экзополисахариды ксантомонад и клебсиелл: физико-химические, биологические свойства и перспективы применения: дис. ... канд. биол. наук. — Саратов: 2013. — с. 4
3. Клунко Н. Зарубіжний досвід імпортозаміщення у фармацевтичній галузі як приклад для України // Економіка України. — 2012. — № 6. — с. 27 - 29
4. Коваленко С. О. Державний резерв — як головний компонент системи забезпечення національної безпеки України. — 2012. — № 3. - с. 258
5. Федулова Л. І. Тенденції розвитку інноваційної політики та її вплив на економічне зростання // Економіка і прогнозування. — 2011. — № 2. — с. 66
6. Пирог Т.П. Особливості синтезу мікробного полісахариду етаполану на суміші фумарату та меляси // Цукор України. — 2011. - №5 (65). — с. 45-48
7. Сафронова Г.В. Влияние состава питательной среды на продуктивность бактерии *Xanthomonas campestris* в лабораторном глубинном культивировании: автореф. дис. ... канд. биол. наук. — Томск: 2017. — С. 5
8. Дорохович А. М., Оболкіна В. І., Гавва О. О., Кияниця С. Г. Нові види гідроколоїдів і можливість їх використання у виробництві кондитерської продукції // ВІСНИК ДонДУЕТ. — 2004, № 1(21). — с. 36-37
9. Пат. RU 2448243 Уменьшение вязкости / Абад К., Миракян А., Перрис М., Чен И. — Оpub. 24.04.2012.
10. Баранов И. И. Изучение структурно-механических и физико-химических свойств гелевых основ с ксантаном // Запорожский медицинский журнал. — 2008, № 5(50). — с. 106-107
11. Бахмач В. О. Удосконалення технології виробництва майонезів на основі комплексного стабілізатора / Автореф. дис. ... канд. техн. наук. — Харків: 2014. — с. 8

12. Лубан С. В. Підвищення ефективності систем біополімерних безглинистих бурових розчинів / Автореф. дис. ... канд. техн. наук. – Івано-Франківськ: 2016. – с. 29
13. Методичні вказівки до практичних робіт з дисципліни «Технології полісахаридів та їх застосування в харчовій промисловості» для студентів 3 курсу напряму підготовки 6.051701 – Харчові технології та інженерія спеціальності – Технологія жирів та жирозамінників / Укл.: Т.Г Філінська, О.В. Черваков, А.О. Філінська – Дніпропетровськ: ДВНЗ УДХТУ, 2016. – с. 5 – 12.
14. Назарко І. С., Лясота О. М. Технології зберігання, консервування та переробки плодів і овочів // ТНТУ ім. І. Пулюя. - Тернопіль: 2016. – с. 7
15. Макаренко В., Штонда В. Фізико-хімічні властивості м'ясних напівфабрикатів під дією полісахаридів // Вісник НУБІП України: 2016. – с. 2 - 23
16. Медвідь І. М., Шидловська О. Б., Доценко В. Ф., Федоренко Ю. О. Перспективи розширення асортименту хлібобулочних виробів для хворих на целиацію // Київ: НУХТ, 2017. - с. 5-6
17. Худякова Л. И. Получение экзополисахаридов на основе ксантана при совместном культивировании бактерий родов *Xanthomonas Campestris* и *Bacillus Amyloliquefacience*. – М.: 2016. - с. 21 – 22
18. Aarthy Palaniraj, Vijayakumar Jayarman. Production, recovery and application of xanthan gum by *Xanthomonas campestris*. – Journal of Food Engineering 106 (2011). – p. 1-12.
19. Сизенцов А.Н., Мисетов И.А., Каримов И.Ф. Антибиотики и химиотерапевтические препараты. – Оренбург: ОГУ, 2012. – 230 - 231
20. Хисаметдинов М.Р., Гамаюрова В.С., Сагдеева Р.Р. Влияние состава питательной среды на рост культуры *Xanthomonas campestris* и синтез экзополисахарида ксантана // Вестник Казанского технологического университета. – 2009. - с. 104 – 108
21. Пушка О. С, Корецька І. Л. Особливості використання харчових добавок в оздоровлювальних напівфабрикатів. – Київ: НУХТ, 2012. - с. 175

22. Донченко Л.В., Сокол Н.В., Красноселова Е.А. Пищевая химия. Гидроколлоиды: учеб. пособие для вузов; отв. ред. Л. В. Донченко. – 2-е изд. испр. и доп. – М.: Издательство Юрайт, 2018. – с. 166 – 168.
23. Тутельян В.А., Суханов Б.П., Австриевских А.Н., Позняковський В.М. Біологічно активні добавки в харчуванні людини (оцінка якості та безпеки, ефективність, характеристика, застосування в профілактичній та клінічній медицині): Томськ: Изд-во НТЛ, 1999. – с. 14 – 18.
24. Souw P., Arnold L. Demain. Nutritional Studies on Xanthan production by *Xanthomonas campestris* NRRL B1459 // Appl Environ Microbiol. – 2015. - 37, № 6. – P. 1186-1192
25. Гвоздяк Р.И. Влияние источников азота на синтез экзополисахарида штаммом *Xanthomonas campestris* 8162 / Гвоздяк Р. И., Григорьев Е. Ф., Матышевская М. С., // Микробиологический журнал. – 1986. - № 3. – с. 14 -17
26. Ганина В. И., Рожкова Т. В., Тренина М. А., Рыбаков Ю. А. Плазмидный профиль штаммов в молочнокислых бактерий, продуцирующих экзополисахариды // Пищевая технология. – 2005. - №4. – с. 37.
27. Гвоздяк Р.И. Микробный полисахарид ксантан / Р.И. Гвоздяк, М.С. Матышевская. – Киев: Наукова думка, 1989. – с. 2
28. Garcia - Ochoa, F. Nutritional study of *Xanthomonas Campestris* in xanthan gum production by factorial design of experiments / Garcia- Ochoa F, Santos VE, Fritsch AP. // Enzyme Microbiol. Technol. 1992. -14. - P. 991 – 996.
29. De Vuyst, L. Two-step fermentation process for improved xanthan production by *Xanthomonas Campestris* NRRL B-1459 / De Vuyst L, Van L. J, Vandamme E.J. // J. Chem. Technol. Biotechnol. 1987. - 39. - P.263 -273.
30. Amanda Scheer, Inga Meadows, Michelle Henson. Bacterial spot of pepper and tomato [Електронний ресурс] <https://content.ces.ncsu.edu/bacterial-spot-of-pepper-and-tomato>
31. Weber E, Ojanen-Reuhs T, Huguet E, Hause G, Romantschuk M, Korhonen TK, Bonas U, Koebnik R. "The type III-dependent Hrp pilus is required for productive interaction of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* with pepper host plants". Journal of Bacteriology. 2005. Volume 187(7). - p. 2458 - 2469.

32. Wang L, Tang X, He C. «Бифункциональный эффектор AvrXccC из *Xanthomonas campestris* pv. *Campestris* требует закрепления на плазматической мембране для распознавания хозяина». Молекулярная патология растений. 2007. Том 8 (4). – с. 491–501.
33. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* / D.J. Brenner, N.R. Krieg, J.T. Staley, G.M. Garrity. — N.Y.: Springer, 2005. — 2. — 1108 p.
34. Stead D.E. Grouping of plant-pathogenic and some other *Pseudomonas* ssp. by using cellular fatty acid profiles // *Int. J. Syst. Bacteriol*: 1992. — 42, N 2. — P. 281—295.
35. Tang DJ, He YQ, Feng JX, He BR, Jiang BL, Lu GT, Chen B, Tang JL. *Xanthomonas campestris* pv. *Campestris* має єдиний глюконеогенний шлях, необхідний для вірулентності." *Журнал бактеріології*: 2005. Том 187 (17). - p 6231 - 6237.
36. Torres PS, Malamud F, Rigano LA, Russo DM. Controlled synthesis of the DSF cell-cell signal is required for biofilm formation and virulence in *Xanthomonas campestris* // *Environmental Microbiology*: 2007. Volume 9(8). - p. 2101 - 2109.
37. Milas M. Conformational investigation on the bacterial polysaccharide xanthan / M. Milas, M. Rinaudo // *Carbohydr. Res.* 1979. — N.76. — P.189.
38. Ignatov, A., Sechler, A.J., Schuenzel, E., Agarkova, I.V., Vidaver, A.K., Oliver, B., Schaad, N.W. 2007. Genetic diversity in populations of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* in cruciferous weeds in central coastal California // *Phytopathology*: 2007. Volume 97. - p. 803 - 812.
39. Ястремська Л. С. Загальна мікробіологія і вірусологія: навч. посібник / Л. С. Ястремська, І. М. Малиновська. - К: НАУ, 2017. – с. 19 – 26.
40. Ганина В. И., Рожкова Т. В., Тренина М. А., Рыбаков Ю. А. Плазмидный профиль штаммов в молочнокислых бактерий, продуцирующих экзополисахариды // *Пищевая технология*. – 2005. - №4. – С. 37.
41. Смоляр В. І., Петрашенко Г. І. Гігієнічні аспекти біотехнологій харчових продуктів // *Оригінальні дослідження*. – 2012. – с. 55.
42. Наумова О. О., Донцова О. В., Аграмакова Н. В. Перспективи підвищення відповідальності вітчизняних виробників харчової продукції без глютену з

- використанням європейської системи ліцензування // БІЗНЕСІНФОРМ. – 2017, № 12. – с. 326-327.
43. *Луньова О. С., Кучерук З.І.* Наукове обґрунтування технології дієтичних безбілкових хлібобулочних виробів // Харчова наука і технологія. – 2011, № 1(14). – с. 25.
44. *Дробот В. І., Грищенко А. М.* Розробка нових видів безбілкових хлібобулочних виробів // НУХТ. – К: 2010. – с. 1-2.
45. *Volodymyr Pampukha, Maryna Nechyporenko, Ludmila Livshyts.* Analysis of EX5del4232ins268 and EX5del955 PАН gene mutations in Ukrainian patients with phenylketonuria // Genes & Diseases. – К: 2017. № 4. – с. 108-110.
46. *Марушко Р. В., Чернишова Л. И., Бережно В. В.* Фенилкетонурия: прошлое, настоящее и будущее // Современная педиатрия. Украина. – 2014, № 5(61). – с. 133.
47. *Бабіч О. В., Віхоть М. М.* Проблематика забезпечення спеціальними продуктами харчування хворих на целиацію в Україні // Проблемы старения и долголетия // НУХТ. – К: 2016, Т. 25, № 2. – с. 230-234.
48. *Корж М. О., Майборода О. І., Слива Ю. В.* Переваги та недоліки безглютенових продуктів // НУХТ, НуБІП. - К: 2016. – с. 217-218.
49. Продукція «Смакулі» [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://budmozdorovi.com.ua/ua/>
50. Продукція «Ms. Tally» [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://rozetka.com.ua/muka/c4628446/producer=ms.tally/>
51. Імпортована безглютенова продукція [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://diaeta-vita.com.ua/>
52. *Мысаков Д. С., Гращенков Д. В., Чугунова О. В.* Перспективы применения полисахарида микробиологического происхождения ксантановая камедь в производстве безглютеновых продуктов // Вестник ЮУрГУ. Серия «Пищевые и биотехнологии». – Екатеринбург: 2016, Т. 4, № 4. – с. 27.
53. *Парахина О. И.* Совершенствование технологии и ассортимента безглютенового хлеба с применением растительных ингредиентов и заквашенного полуфабриката: дис. канд. техн. наук: НИУТМО. - Санкт-Петербург: 2015. – с. 35.

54. Саванович И. И., Сикорский А. В. Лечебное питание при непереносимости глютена у детей. – Минск: БГМУ, 2013. – с. 3 – 26.
55. Производство пищевой ксантановой камеди (E415) [Электронный ресурс] Режим доступа: [https://www.i-mordovia.ru/startups/project-directory/%D0%9F%D1%80%D0%BE%D0%B8%D0%B7%D0%B2%D0%BE%D0%B4%D1%81%D1%82%D0%B2%D0%BE%20%D0%BF%D0%B8%D1%89%D0%B5%D0%B2%D0%BE%D0%B9%20%D0%BA%D1%81%D0%B0%D0%BD%D1%82%D0%B0%D0%BD%D0%BE%D0%B2%D0%BE%D0%B9%20%D0%BA%D0%B0%D0%BC%D0%B5%D0%B4%D0%B8%20\(%D0%95415\).pdf](https://www.i-mordovia.ru/startups/project-directory/%D0%9F%D1%80%D0%BE%D0%B8%D0%B7%D0%B2%D0%BE%D0%B4%D1%81%D1%82%D0%B2%D0%BE%20%D0%BF%D0%B8%D1%89%D0%B5%D0%B2%D0%BE%D0%B9%20%D0%BA%D1%81%D0%B0%D0%BD%D1%82%D0%B0%D0%BD%D0%BE%D0%B2%D0%BE%D0%B9%20%D0%BA%D0%B0%D0%BC%D0%B5%D0%B4%D0%B8%20(%D0%95415).pdf)
56. Краєвська С., Стеценко Н. Формування вітчизняного ринку безглютенових продуктів // Товари і ринка. – К: 2018, № 8. – с. 36 – 42.
57. Загальна характеристика мікроорганізмів і способи їх культивування [Електронний ресурс] Режим доступа: https://moodle.znu.edu.ua/pluginfile.php?file=/236895/mod_resource/content/1/2.pdf
58. Дмитрієвський Д. І. Технологія лікарських препаратів промислового виробництва / Навч. посібник. Видання друге/ За ред. Д. І. Дмитрієвського. Вінниця: НОВА КНИГА, 2016. - с. 155
59. Механічне перемішування і конструкції мішалок [Електронний ресурс] Режим доступа: <https://dl.sumdu.edu.ua/textbooks/22852/265968/index.html>
- Описова характеристика ферментера BIOSTAT® D DCU [Електронний ресурс] Режим доступа: http://www.sartogasm.ru/biostat_d50_d100.html
61. Біореактор Biostat® D 50/D 100 [Електронний ресурс] Режим доступа: <http://www.sartoros.ru/labbiotech/fermentery-bioreaktory/biostat%C2%AE-d50d100>
62. CIP – станція [Електронний ресурс] Режим доступа: <http://www.milk-system.com/produksiia/cip-stantsiia>
63. Пенное средство для наружной ручной мойки пищевого оборудования A12 [Електронний ресурс] Режим доступа: <https://energomash.net.ua/p13142558-pennoe-sredstvo-dlya.html>
64. Каустична сода [Електронний ресурс] Режим доступа: <https://lost-ltd.if.ua/kaustychna-soda/>
65. Инструкция по мойке и профилактической дезинфекции на предприятиях мясной и птицеперерабатывающей промышленности [Електронний ресурс]

Режим доступа: <http://www.alppp.ru/law/zdravoohranenie--fizicheskaja-kultura-i-sport--turizm/zdravoohranenie/68/instrukcija-po-mojke-i-profilakticheskoj-dezinfekcii-na-predprijatijah-mjasnoj-i-pticepere.html>

66. Моющее средство LIV Актив 313, кислотное с пониженным пенообразованием и антибактериальным эффектом [Электронный ресурс] Режим доступа: <https://officem.com.ua/9616-moyushee-sredstvo-liv-aktiv-313-kislotnoe-s-ponizhenim-penoobrazovaniem-i-antibakt-effektom-201>
67. Высокощелочное моющее средство «Универсал низкопенный» [Электронный ресурс] Режим доступа: <https://vodostek.com.ua/p536561395-vysokoschelochnoe-moyushee-sredstvouniversal.html>
68. Эксан Про Дез моющее средство для удаления жировых загрязнений [Электронный ресурс] Режим доступа: <http://novahim.com.ua/eksan-pro-dez-mojushchee-sredstvo-dlja-udalenija-zhirovyh-zagrzaznenij-2>
69. Blutoxol / универсальное дезинфицирующее средство [Электронный ресурс] Режим доступа: <https://proffline.ru/dezinficirujuschaya-uborka/blutoxol-universalnoe-dezinficiruyushee-sredstvo/>
70. *Stravros Kalogiannia, Gesthimani Iakovidou, Maria Liakopulou-Kyriakides* Optimization of xanthan gum production by *Xanthomonas campestris* grown in molasses. – Process biochemistry 39 (2003). – p. 249 – 256.
71. *Бахмач В. О.* Удосконалення технології виробництва майонезів на основі комплексного стабілізатора / Автореф. дис. ... канд. техн. наук. – Харків: 2014. – С. 8
72. *Aarthy Palaniraj, Vijayakumar Jayarman.* Production, recovery and application of xanthan gum by *Xanthomonas campestris*. – Journal of Food Engineering 106 (2011). – p. 1-12.
73. *Пирог, Т.П.* Двухстадийный способ получения микробного экзополисахарида этаполана с улучшенными реологическими свойствами / Т. П. Пирог, Ю. Р. Малащенко, С. К. Воцелко // Прикладная биохимия и микробиология. – 2001. – 37, № 4. – С.429–431.
74. *Jaffrey G. Southwick, Hoosung Lee, Alexander M. Jameson, and John Blackwell.* Self-Association of xanthan in aqueous solvent-systems//Carbohydrate Research. – 1980. – Vol. 84. – P. 287–295.

75. Трубчатая центрифуга GQ [Електронний ресурс] Режим доступу: http://www.sinoped.net/product/60752757308-806495894/GQ150_Gelatin_Solution_Tubular_Centrifuge.html?spm=a2700.icbuShop.41413.10.1c187ad4k40C1R
76. Данилов І.П. Апарати мікробіологічної промисловості: навч. посібник/І.П. Данилов, С.І. Самійленко. – Харків: НТУ «ХПІ», 2008. – с. 50 – 272.
77. Карлаш Ю.В., Омелчук Є.О. Основи проектування біотехнологічних виробництв [Електронний ресурс]: конспект лекцій для здобування освітнього ступеня «бакалавр» спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерії» освітньо-професійної програми «Біотехнологія» денної та заочної форм навчання/Ю.В. Карлаш, Є.О. Омелчук – К: НУХТ, 2019. – с. 45 – 203.
78. Калунянц К.А., Голгер Л.И., Белашов Оборудование микробиологических производств: Агропромиздат, 1987. – с. 132 – 159.
79. Фильтры барабанные вакуумные герметизированные ячейковые для горючих и легколетучих суспензий [Електронний ресурс] Режим доступу: http://upoural.ru/catalog/401/_aview_b53
80. Измельчитель «Корсар» Р-190 [Електронний ресурс] Режим доступу: <http://ukragrosv.com.ua/ru/%D0%BA%D0%B0%D1%82%D0%B0%D0%BB%D0%BE%D0%B3%D0%B8%D0%B7%D0%BC%D0%B5%D0%BB%D1%8C%D1%87%D0%B8%D1%82%D0%B5%D0%BB%D1%8C/>
81. Класифікація, будова та принцип роботи просіювачів [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://studfile.net/preview/5129197/page:2/>
82. Тумблерный вибрационный просеиватель [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://russian.alibaba.com/product-detail/durable-tumbler-screening-machine-for-sand-62561810788.html?spm=a2700.icbuShop.41413.15.9552c454iavgJI>
83. Виготовлення крафт-мішків [Електронний ресурс] Режим доступу: http://www.tara.vn.ua/ru/produkcija/meshki_bumazhnye/
84. Фасувальна машина для сипучих продуктів у відкриті мішки до 50 кг [Електронний ресурс] Режим доступу: <http://technowagy.com.ua/product/fasovochnaya-mashina-dlya-sypuchih-produktov-v-otkrytye-meshkido-50-kg/>
85. Промышленная ректификационная колонна для дистилляции спирта [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://russian.alibaba.com/product-detail/super->

quality-industrial-ethanol-distillation-column-price-60658683186.html?spm=a2700.8699010.normalList.13.500728b3yvzpxV

86. Дозировочные рецептурные станции. Дозирующие системы [Электронный ресурс] Режим доступа: https://www.iagro.com.ua/equipment/metering_station_prescription/
87. СП-мийка компанії АТТІС. [Электронный ресурс] Режим доступа: <http://www.attis.com.ua/site/equipment/CIP.html>
88. Насос багатоступеневий LEO (Aquatica). [Электронный ресурс] Режим доступа: https://aquavin.com.ua/catalog/nasosi_bagatostupenevi/nasos_bagatostupeneviy_aquatica_775431_0_45_kvt_leo_3_0/
89. Відцентровий насос Pedrollo NGAm1A [Электронный ресурс] Режим доступа: <https://prom.ua/p3711504-pedrollo-ngam1a-750.html>
90. Відцентровий насос Pedrollo NGAm1A [Электронный ресурс] Режим доступа: <https://prom.ua/p3711504-pedrollo-ngam1a-750.html>
91. Серії роторних (кулачкових) насосів [Электронный ресурс] Режим доступа: <https://dalgakiran.ua/uk/products/rotorni-kulachkovi-nasosy>
92. Роторный насос НМ-03 (12,5 м³/час) 3-х лепестковый ротор [Электронный ресурс] Режим доступа: <https://stream-energy.com.ua/p751038990-rotornyj-nasos-125m3chas.html>
93. Роторный насос НМ-03 (10 м³/час) 3-х лепестковый ротор [Электронный ресурс] Режим доступа: <https://stream-energy.com.ua/p751038800-nasos-rotornyj-10m3chas.html>
94. Насос INOXPA SLR 2-50 [Электронный ресурс] Режим доступа: <https://stream-energy.com.ua/p690594816-nasos-inoxpa-slr.html>
95. Насос відцентровий PEDROLLO Plurijet 4/200 X 1,5 кВт [Электронный ресурс] Режим доступа: https://aquavin.com.ua/catalog/nasosi_bagatostupenevi/nasos_vidtsentrovij_pedrollo_plurijet_4_200_x_1_5_kvt/
96. Приточно-втяжні установки. [Электронный ресурс] Режим доступа: <http://v-z.com.ua>

97. _Фільтри різних типів очистки. [Електронний ресурс] Режим доступу <https://b-compressor.ru/magistralnyy-filtr-fm-480-10>
98. _Коспресори. [Електронний ресурс] Режим доступу <https://b-compressor.ru/kompressor-C-412M>
99. Осушувачі. [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://b-compressor.ru/Osushitel-BERG-OB-4>
100. Ресивер. [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://b-compressor.ru/resiver-rv-110-10>
101. Система підігріву повітря. [Електронний ресурс] Режим доступу: http://www.galactic.kiev.ua/pages/painting_cameras_equipment/air_heating_system.php
102. Фильтр грубой очистки воздуха G3-G4. [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://alterair.ua/product/vozdushnyye-panelnyye-filtry-gruboy-ochistki-g1-g4/>
103. Реакторы среднего давления Pope Scientific (США) [Електронний ресурс] Режим доступу: https://tirit.org/reactor_him/lab_steel_pope.php
104. Сборники стальные эмалированные [Електронний ресурс] Режим доступу: http://euromash.kiev.ua/ru/sborniki_emal_ru.php
105. Индивидуальные фильтры [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://www.omi-italy.it/en>
106. NLF-мобильный лабораторный биореактор [Електронний ресурс] Режим доступу: <http://www.bioengineering.su/oborudovanie/bioreaktoryi-laboratornyie/nlf-mobilnyij-laboratornyij-bioreaktor.html>
107. Р-мобильный лабораторный биореактор [Електронний ресурс] Режим доступу: <http://bioengineering.su/oborudovanie/bioreaktoryi-promyshlennyye/r-pilotnyij-bioreaktor.html>
108. Р-мобильный пилотный ферментер [Електронний ресурс] Режим доступу: <http://bioengineering.su/oborudovanie/bioreaktoryi-promyshlennyye/r-pilotnyij-bioreaktor.html>
109. Сборники стальные эмалированные для сохранения [Електронний ресурс] Режим доступу: http://euromash.kiev.ua/ru/sborniki_emal_ru.php
110. Сборники эмалированные с эллиптической крышкой без рубашки [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://tdredoctober.com/catalog/sborniki-jemalirovannye/sborniki-bez-rubashki-v04-63-m3.html>
111. Реактор из нержавеющей стали [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://www.diapazon-pharm.ru/reaktor-iz-nerzhaveyushchey-stali>

112. Трубчатая центрифуга GQ 150 [Электронный ресурс] Режим доступа: http://www.sinoped.net/product/60752757308-806495894/GQ150_Gelatin_Solution_Tubular_Centrifuge.html?spm=a2700.icbuShop.41413.10.1c187ad4k40C1R
113. Фильтры барабанные вакуумные герметизированные ячейковые для горючих и легколетучих суспензий [Электронный ресурс] Режим доступа: http://upoural.ru/catalog/401/_aview_b53
114. Измельчитель «Корсар» Р-190 [Электронный ресурс] Режим доступа: <http://ukragrosv.com.ua/ru/%D0%BA%D0%B0%D1%82%D0%B0%D0%BB%D0%BE%D0%B3%D0%B8%D0%B7%D0%BC%D0%B5%D0%BB%D1%8C%D1%87%D0%B8%D1%82%D0%B5%D0%BB%D1%8C/>
115. Тумблерный вибрационный просеиватель [Электронный ресурс] Режим доступа: <https://russian.alibaba.com/product-detail/durable-tumbler-screening-machine-for-sand-62561810788.html?spm=a2700.icbuShop.41413.15.9552c454iavgJI>
116. *Пирог Т. П.* Энергетические и биохимические аспекты интенсификации синтеза экзополисахаридов *Acinetobacter* sp. на смеси этанола и глюкозы / Т. П. Пирог, М.А. Коваленко, Ю. В. Кузьминская // Микробиология. – 2003. – 72, № 3. – с. 4
117. Мутномір «Оптек». [Электронный ресурс] Режим доступа: <http://www.biotechno.ru/catalog/laboratornaya-fermentatsiya/sistema-opredeleniya-opticheskoy-plotnosti-v-rezhime-realnogo-vremeni-optek/>
118. *Сухарева О. Ю, Базель Я. Р., Сухарев С. М.* Аналіз природних об'єктів і продуктів харчування. Частина 1. – Ужгород: 2015. - С. 37-38
119. Загальні технології харчової промисловості: Метод. вказівки до вик. лаб. практикуму студ. заоч. форми навчання напряму підготовки 6.051701 «Харчові технології та інженерія» спец. «Технологія продуктів бродіння і виноробства» / Укл.: А.М. Куц, М.В. Бондар, Ю.В. Булій. – К: НУХТ, 2011. – 53 с
120. *Долгоносков А. М., Колотилина Н. К., Прудковский А. Г.* Реализация идей М. М. Сеньявина в области вещественного анализа природных объектов методом ионной хроматографии // Сорбционные и хроматографические процессы. – М: 2017, Т. 17, № 6. – с. 857 – 864.

121. *San San Yu, Ei Phyu Kyaw, Tin mar Lynn, Zaw Ko Latt, Amy Aung, Tin May Sev, May Thet Nwe, Wai Wai Mon.* The correlation of carbon source and ammonium accumulation in culture broth by nitrogen-fixing bacterial isolates // Journal of Scientific and Innovative Research. – 2017, № 6(2). – p. 63-67
122. ГОСТ 33333-2015 Добавки пищевые. Камедь ксантановая. Е415. Технические условия
123. Вискозиметры FANN 35. [Электронный ресурс] Режим доступа: <https://fann.ru/products/viskozimetry-fann-35/>
124. ГОСТ Р 57682-2017 Продукция микробиологическая. Ксантан технический. Технические условия
125. *Тарасевич Б. Н.* Основы ИК спектроскопии с преобразованием Фурье. Подготовка проб в ИК спектроскопии. – М: 2012. – с. 3 – 6.
126. *Новокупцев Н. В.* Оптимизация условий культивирования *Azotobacter vinelandii* Д – 08 увеличение выхода экзополисахарида. – Саранск: 2016. – с. 165 – 166.
127. ИЧ-Фурье спектрометр IR Prestige- 21 [Электронный ресурс] Режим доступа: <https://laser.spbu.ru/oborudovanie-rus/ik-fure-spektrometr-irprestige-rus.html>
128. *Лихтарович Е. С., Лугин В. Г.* Применение ИК-Фурье спектроскопии для определения кларитромицина в фармацевтических препаратах // Труды БГТУ: 2014. – с. 204 – 206.
129. ИК-Фурье спектроскопия in situ с использованием спектрометра ReactIR. [Электронный ресурс] Режим доступа: https://www.mt.com/ru/ru/home/products/L1_AutochemProducts/ReactIR.html