

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ

Ю.В. КАРЛАШ, В.О. КРАСІНЬКО

**ОСНОВИ ПРОЄКТУВАННЯ
БІОТЕХНОЛОГІЧНИХ ВИРОБНИЦТВ**

Реєстраційний номер
електронного навчального
видання у НМУ
69.198-2022

Київ НУХТ 2022

УДК 663.1; 602.42-7; (075.8)

Рецензенти:

В.Л.Зав'ялов, д-р техн. наук, проф. (Національний університет харчових технологій);

В.Л.Прибильський, д-р техн. наук, проф. (Національний університет харчових технологій);

А.І. Маринін, к.т.н., с.н.с.завідувач Проблемної науково-дослідної лабораторії (Національний університет харчових технологій)

Карлаш Ю.В., Красінько В.О. Основи проєктування біотехнологічних виробництв[Електронний ресурс]: Навч. посібник. –К.:НУХТ, 2022. –373 с.

ISBN 978-966-612-278-3

У навчальному посібнику висвітлено основні етапи проєктування біотехнологічних виробництв, що включають передферментаційні процеси: вибір біологічного агенту, складу поживного середовища, способів культивування, методи підготовки та стерилізації поживного середовища та аераційного повітря; процеси основної виробничої ферментації: вибір ферментаційної апаратури для реалізації процесу вирощування посівного матеріалу та виробничого біосинтезу цільового продукту, а також методи обробки культуральних рідин, біомас, та нативних розчинів. Посібник містить приклади та методики технологічних розрахунків і вибору обладнання.

Видання розраховано на здобувачів спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія» та інших зацікавлених фахівців.

*Рекомендовано Вченою радою
Національного університету харчових технологій
як навчальний посібник
для здобувачів закладів вищої освіти
(протокол № 11 від 30 червня 2022 р.)*

Подано в авторській редакції

ISBN 978-966-612-278-3

© Ю.В.Карлаш,
В.О. Красінько, 2022
© НУХТ, 2022

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

АСБ – абсолютна суха біомаса

АСУВ– автоматизована система управління виробництвом

АСУТП – автоматизована система управління технологічним процесом

БА – біологічний агент

БАР – біологічно активна(і) речовина(и)

БВК – білково-бітамінний концентрат (кормові дріжджі)

ГСТУ – галузевий стандарт України

ДСТУ – державний стандарт України

КВПіА – контрольно-вимірювальні прилади і автоматика

НАД – нікотинамідаденіндинуклеотид

НАДН – нікотинамідаденіндинуклеотид відновлений

ПАР – поверхнево активна(і) речовина(и)

ТУ – технічні умови

ФС – фармакопейна стаття

ПЕРЕДМОВА	9
Розділ 1. СИСТЕМА ПРОЄКТУВАННЯ БІОТЕХНОЛОГІЧНИХ ВИРОБНИЦТВ: СТАДІЇ ПРОЦЕСУ ПРОЄКТУВАННЯ, ВИДИ ПРОЄКТІВ ТА ЇХ СКЛАД, ВИХІДНІ МАТЕРІАЛИ	11
1.1. Організаційні форми та методи проєктування	11
1.2. Блок-схема етапів проєктування. Програмно-цільова структура проєктування	13
1.3. Стратегія проєктування	31
1.4. Стадії процесу проєктування	34
1.5. Поняття про системи автоматизованого проєктування	35
Розділ 2. КЛАСИФІКАЦІЯ МІКРОБІОЛОГІЧНИХ ВИРОБНИЦТВ. СТРУКТУРА МІКРОБІОЛОГІЧНОГО (БІОТЕХНОЛОГІЧНОГО) ВИРОБНИЦТВА	41
2.1. Класифікація мікробіологічних виробництв	43
2.1.1. Класифікація за біооб'єктом.	45
2.1.2. Класифікація за типом процесу	46
2.1.3. Класифікація за рівнем організації	47
2.1.4. Класифікація за масштабом	48
2.1.5. Класифікація за типом технології	48
2.2 Структура біотехнологічної системи	49
2.3. Узагальнена технологічна схема процесу мікробного синтезу	51
Розділ 3. ВИБІР БІОЛОГІЧНОГО АГЕНТА ТА ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА ДЛЯ ЙОГО КУЛЬТИВУВАННЯ	53
3.1. Основні види біологічних агентів, що використовуються при отриманні біологічно активних речовин	53
3.1.1. Мікроорганізми – продуценти антибіотиків	53
3.1.2. Мікроорганізми – продуценти пробіотиків	54
3.1.3. Мікроорганізми – продуценти ферментів	56
3.1.4. Мікроорганізми – продуценти вітамінів	57
3.2. Потреби мікроорганізмів у поживних та інших речовинах, лімітування та інгібування	58
3.3. Принципи складання поживних середовищ	62
3.4. Матеріально-енергетичний баланс росту мікроорганізмів	63
3.5. Сировина для приготування поживних середовищ	66
3.5.1. Особливості сировини та вимоги до неї	66
3.5.2. Джерела Карбону	67
3.5.3. Джерела органічного Нітрогену	70
3.5.4. Інші види сировини	71
3.6. Вибір біологічного агенту та складу поживного середовища для його культивування	72

Розділ 4. СПОСОБИ КУЛЬТИВУВАННЯ МІКРООРГАНІЗМІВ. ПРИНЦИПИ ПІДБОРУ ФЕРМЕНТАЦІЙНОГО ОБЛАДНАННЯ	82
4.1 Обґрунтування вибору способу культивування	82
4.1.1. Поверхневий спосіб вирощування	88
4.1.2. Глибинний спосіб вирощування	91
4.2. Основні фактори, що мають вплив на вибір ферментаційного обладнання	92
4.2.1. Технологічні особливості процесів аеробної ферментації	96
4.2.2. Тепловий ефект процесу ферментації	100
4.2.3. Піноутворення та піногасіння у ферментерах	105
Розділ 5. КЛАСИФІКАЦІЯ ФЕРМЕНТЕРІВ ДЛЯ ГЛИБИННОГО КУЛЬТИВУВАННЯ. ТИПОВІ КОНСТРУКЦІЇ ФЕРМЕНТЕРІВ	111
5.1. Ферментери (біореактори) з підведенням енергії до газової фази	113
5.2. Ферментери (біореактори) з підведенням енергії до рідинної фази	113
5.3. Ферментери (біореактори) з комбінованим підведенням енергії	113
5.4. Техніко-економічні характеристики та вибір промислових ферментерів	115
5.5. Методи розрахунку об'єму ферментера. Використання математичних моделей для розрахунку об'єму ферментера	119
5.6. Типові конструкції ферментерів	123
Розділ 6. ОСНОВИ АСЕПТИКИ БІОТЕХНОЛОГІЧНИХ ВИРОБНИЦТВ	151
6.1. Санітарна підготовка виробництва	152
6.1.1. Вибір мийних та дезінфікуючих засобів	152
6.1.2. Підготовка приміщень	154
6.1.3. Підготовка обладнання	156
6.2. Основні способи забезпечення асептичних умов мікробіологічних процесів	163
6.2.1. Стерилізуюча фільтрація	165
6.2.2. Термічна стерилізація	167
6.2.3. Стерилізація обладнання та комунікацій	173
6.2.4. Технології та апаратура для стерилізації рідин	179
6.2.5. Технології та апаратура для стерилізації повітря	184
6.2.6. Герметизація апаратури та комунікацій	196
6.2.7. Системи відбору проб з апаратів	198
6.3. Техніко-економічний підхід до вибору режимів стерилізації	202
Розділ 7. ОСНОВНІ ЕТАПИ ВИРОБНИЦТВА ПРОДУКТІВ МІКРОБНОГО СИНТЕЗУ. ПЕРЕДФЕРМЕНТАЦІЙНІ ПРОЦЕСИ	204
7.1. Приготування та стерилізація поживних середовищ	205

7.1.1.Зберігання компонентів поживних середовищ та допоміжних речовин	205
7.1.2. Контроль показників якості: біохімічний та мікробіологічний контроль стадій підготовки поживного середовища	206
7.1.3. Дозування та приготування композиції компонентів поживного середовища	207
7.1.4. Стерилізація компонентів поживного середовища	209
7.1.5. Особливості приготування та стерилізації деяких компонентів поживного середовища	210
7.2. Устаткування та апаратура для приготування та стерилізації рідких поживних середовищ при глибинному культивуванні	214
7.2.1. Ємнісне устаткування	214
7.2.2. Устаткування для зважування, дозування і транспортування компонентів поживного середовища у реактор-змішувач	226
7.2.3. Насоси для транспортування рідких поживних середовищ	239
7.3. Одержання посівного матеріалу	245
7.4. Виробнича ферментація (біосинтез)	251
Розділ 8. ВИДІЛЕННЯ, ОЧИЩЕННЯ, КОНЦЕНТРУВАННЯ ПРОДУКТІВ МІРОБНОГО СИНТЕЗУ. ПРИНЦИПИ ВИБОРУ МЕТОДІВ	258
8.1. Методи отримання товарної форми продуктів мікробного синтезу	258
8.1.1. Отримання зневодненої мікробної біомаси	260
8.1.2. Отримання концентратів	260
8.1.3. Отримання очищених препаратів	262
8.2. Методи дезінтеграції (гомогенізації) біомаси клітин	264
8.2.1. Дезінтеграція клітин	265
8.2.2. Конструкція та принцип дії гомогенізатора високого тиску	266
8.3. Методи відокремлення біомаси: фільтрування, центрифугування сепарування мікробних суспензій	268
8.3.1. Розділення фаз культуральної рідини	268
8.4. Методи концентрування та очищення супернатантів: екстракція, осадження, випарювання, баромембранні методи розділення розчинів БАР	290
8.4.1. Екстракція	292
8.4.2. Осадження	296
8.4.3. Висолювання	298
8.4.4. Методи концентрування нативних розчинів	299
8.4.5. Мембранні методи розділення та концентрування	303
8.4.6. Хроматографія	313

8.5. Методи отримання сухих БАР: класифікація сушарок, конструктивні особливості типового обладнання	319
8.5.1. Пневматичні сушарки	320
8.5.2. Розпилювальні сушарки	322
8.5.3. Сублімаційні сушарки	326
8.5.4. Вакуум-сушильні шафи	329
РОЗДІЛ 9. НОРМАТИВНА БАЗА ПРОЄКТУВАННЯ БУДІВНИЦТВА. ОСНОВНІ ПРИНЦИПИ КОМПОНУВАННЯ БІОТЕХНОЛОГІЧНОГО ОБЛАДНАННЯ У БУДІВЛЯХ	331
9.1. Зміст ДБН А.2.2-3-2014 «Склад та зміст проєктної документації на будівництво»	332
9.1.1. Склад ТЕО для об'єктів виробничого призначення	332
9.1.2. Склад ескізного проєкту (ЕП)	332
9.1.3. Склад концептуального проєкту (КП)	333
9.1.4. Склад проєкту (П)	333
9.1.5. Склад стадій робочого проєкту (РП)	334
9.1.6. Склад робочої документації (Р)	334
9.2. Зміст ДСТУ-Н Б В.1.2-16:2013 «Визначення класу наслідків (відповідальності) та категорії складності об'єктів будівництва»	335
9.3. Основні принципи компонування обладнання у будівлях	335
9.3.1. Правила вибору типу будівлі	337
9.3.2. Деякі правила компонування обладнання	338
Розділ 10. ПРИКЛАДИ ВИКОРИСТАННЯ ТЕХНОЛОГІЧНИХ РОЗРАХУНКІВ У КУРСОВОМУ ПРОЄКТУВАННІ	341
10.1 Розділ 1. Характеристика цільового продукту біосинтезу	341
10.2.Розділ 2. Обґрунтування вибору та характеристика біологічного агента	345
10.2.1. Обґрунтування вибору біологічного агента та поживного середовища для його культивування	345
10.3. Розділ 3. Техніко-економічне обґрунтування біотехнології одержання лакази для вибілювання тканин	350
10.3.1. Визначення потреби у цільовому продукті та розрахунок потужності виробництва	350
10.3.2. Розрахунок кількості виробничих циклів (партій) продукту	350
10.4. Розділ 4. Обґрунтування стадій доферментаційних процесів та виробничого біосинтезу	353
10.4.1. Розрахунок геометричного об'єму ферментера для виробничого біосинтезу	353
10.4.2. Розрахунок кількості стадій підготовки посівного матеріалу та геометричних об'ємів ферментаційної апаратури для його вирощування	354

10.4.3. Приготування поживного середовища по стадіям вирощування посівного матеріалу та вибір режимів його стерилізації	355
10.5. Розділ 5. Матеріальний баланс доферментаційних стадій та виробничого біосинтезу та розрахунок технологічного обладнання для приготування і стерилізації поживного середовища (ПС)	363
10.5.1. Таблиця матеріального балансу	363
10.5.2. Розрахунок об'ємів реакторів-змішувачів для приготування та стерилізації поживного середовища по стадіям доферментаційних процесів та виробничого біосинтезу	366
ДОДАТКИ	367

ПЕРЕДМОВА

Бурхливий розвиток сучасних біотехнологій, широкий спектр використання біотехнологічних продуктів призвів нині до зацікавленості потенційних інвесторів. У сфері інновацій біотехнології у найближчому майбутньому можуть стати реальними конкурентами ІТ-сектору. Біотехнологія уже зараз входить до списку найбільш привабливих напрямків для інвестицій. І в майбутньому рівень інвестицій в інноваційні розробки у секторі біотехнологій буде тільки збільшуватися.

Сектор біотехнологічної продукції є на даний момент одним з найшвидше зростаючих сегментів інноваційної економіки. За оцінками провідної світової дослідницької та консалтінгової компанії Grand View Research, щорічний приріст у секторі біотехнологій очікується на рівні 12%. При цьому біотехнологічні компанії показують стабільно високу норму прибутковості на вкладений капітал. Середня прибутковість венчурних компаній, що інвестують у біотехнологічні проекти, становить 27%, у той час як прибутковість венчурних фондів в інших галузях перебуває лише на рівні 21%.

Вже сьогодні фармацевтичні фірми витрачають на біотехнологічні дослідження близько 20% бюджету, а фахівці-біотехнологи входять до ТОП-10 спеціальностей, які є найбільш затребуваними й перспективними як в Україні, так і за її межами. Відповідно, якість підготовки фахівців-біотехнологів має забезпечувати очікування інвесторів для реалізації сучасних біотехнологічних проєктів.

Одним з елементів якісної системи підготовки майбутніх біотехнологів є набуття та практична реалізація вмінь та навичок у сфері проєктування біотехнологічних виробництв, що є метою дисципліни «Основи проєктування біотехнологічних виробництв». На досягнення цієї мети й спрямований даний навчальний посібник, який має надати здобувачам вищої освіти знань з основ проєктування біотехнологічних та біофармацевтичних виробництв та методології подальшого застосування одержаних знань і навичок для вивчення спеціальних біотехнологій, курсового проєктування та виконання кваліфікаційних випускових робіт, а також для майбутньої виробничо-практичної роботи.

Необхідність створення навчального посібника «Основи проєктування біотехнологічних виробництв» зумовлена відсутністю спеціалізованих підручників та навчальних посібників, які б мали конкретизований матеріал для виконання курсових та кваліфікаційних дипломних робіт здобувачами вищої освіти очної та заочної форм навчання спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія» освітніх ступенів «Бакалавр» і «Магістр».

У 2008 році групою авторів Національного університету «Львівська політехніка» було видано навчальний посібник «Процеси і апарати мікробіологічної та фармацевтичної промисловості», який частково закриває цю прогалину і є першим україномовним навчальним посібником за цим

напрямом техніки.

Головна мета даного посібника – ознайомлення читачів з основами проектування біотехнологічних та біофармацевтичних виробництв, з методами розрахунку основних елементів технологічного проекту. Запропонований посібник створений на базі лекційного і практичного матеріалу з дисциплін «Основи проектування біотехнологічних виробництв», «Технологія мікробного синтезу лікарських засобів», методичних рекомендацій з виконання курсових та дипломних проєктів та робіт, які читають на кафедрі біотехнології і мікробіології автори цієї роботи. Посібник розрахований на здобувачів очної і заочної форм навчання спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія», але він може бути використаний і здобувачами суміжних спеціальностей. Автори не ставили собі за мету можливість використання посібника у професійному проектуванні, але він може зацікавити і цю категорію фахівців.

Для практичного засвоєння матеріалу розділів посібника у додатках наведено приклади проєктних матеріальних, технологічних розрахунків, підбору обладнання. Автори будуть вдячні читачам за висловлені зауваження.

Автори, розглядаючи загальні біотехнології, відносять зміст посібника до так званих, мікробіологічних виробництв, коли основним біологічним агентом цих технологій є мікроорганізми різного таксономічного положення.

Застосований в тексті термін «біотехнологічні виробництва» має відношення лише до мікробних технологій, коли саме мікроорганізми використовуються для отримання біомаси і продуктів їх метаболізму.

Розроблення оптимальної технології визначеного біотехнологічного продукту – складна науково-технічна проблема, для вирішення якої необхідно вирішити ряд завдань:

1. Вибрати або селекціонувати певну культуру мікроорганізмів, здатну з максимально можливою швидкістю синтезувати біомасу або необхідний продукт метаболізму (метаболіт).

2. Вибрати сировину, що містить речовини, необхідні для росту вибраної культури та біосинтезу цільового продукту.

3. Вибрати або спроектувати апарат (ферментер), що укомплектований відповідними комунікаціями та додатковим обладнанням, придатним для вирощування даної культури.

4. Розробити систему контролю та керування, що забезпечують оптимальні умови процесу біосинтезу.

5. Підібрати обладнання та розробити технологію виділення, очищення та приготування цільового продукту.

6. Обрахувати різні варіанти вибраної технології з метою вибору найбільш ефективної і реалізувати поставлені вище завдання у конкретний проєкт такого виробництва.

Структурно посібник складається з 10 розділів, списку літератури, представленого після кожної глави.

Розділ 1. СИСТЕМА ПРОЄКТУВАННЯ БІОТЕХНОЛОГІЧНИХ ВИРОБНИЦТВ: СТАДІЇ ПРОЦЕСУ ПРОЄКТУВАННЯ, ВИДИ ПРОЄКТІВ ТА ЇХ СКЛАД, ВИХІДНІ МАТЕРІАЛИ

1.1. Організаційні форми та методи проєктування

Як вид інтелектуальної діяльності проєктування знаходиться у постійному розвитку. Розвиток проєктування супроводжується подальшим розвитком методів проєктування та їх організаційних форм. Методологія проєктування базується на застосуванні різних прийомів проєктування залежно від складності та специфіки об'єкту проєктування.

Серед організаційних форм проєктування найбільш широко вживаною є інженерне проєктування (рис. 1.1).



Рис.1.1. Структура інженерного проєктування

Розробка проєктів об'єктів техніки (обладнання, машини, апарати, агрегати) складає один з напрямів інженерного проєктування – **конструкційне проєктування**, яке також називають **технічним**, а частіше – просто **конструюванням** – є сферою діяльності **інженера-конструктора**. Результат конструювання – **конструкторський проєкт**.

Розробка проєктів об'єктів технології (виробництва в цілому, окремих процесів, технологічних стадій, операцій, виробничих ліній) складає інший напрям інженерного проєктування – **технологічне проєктування** – є сферою діяльності **інженера-технолога**. Результат технологічного проєктування – **технологічна документація**.

Створення проєктів технологічних комплексів являє собою самостійний напрям інженерного проєктування – **функціональне технологічне проєктування**, або просто проєктування.

Функціональний проєкт повинен характеризувати **технологічний мегакомплекс** загалом, а також його складові частини, містити значення технологічних характеристик, технологію і компонування, системи комунікацій і режими функціонування, пов'язані між собою і з зовнішніми об'єктами.

Функціональний проєкт містить необхідні дані для будівництва і монтажу складових частин на обраному будівельному майданчику і управління виробництвом з метою реалізації розробленого технологічного процесу в конкретних географічних, економічних, демографічних і соціальних умовах

Методологія проєктування базується на застосуванні різних прийомів проєктування залежно від складності та специфіки об'єкту проєктування.

Найбільш відомий і популярний є **креслярський метод** проєктування, який цілком задовольняє вимоги задач проєктування простих об'єктів нижнього ієрархічного рівня. Креслярський метод проєктування дозволив графічно розділити процеси розумової розробки об'єкта і його практичної реалізації (винаходу), що сприяло прискоренню темпів виробництва.

Специфічною особливістю сьогодення є розширення діапазону типів проєктів та ускладнення об'єктів проєктування за одночасного зростання темпів проєктних робіт, що призвело до виділення спеціальних груп проєктувальників, проєктних колективів з конкретним розподілом праці за відповідною спеціалізацією. Такою спеціалізацією є розподіл проєктних робіт за призначенням – технологічні, будівельні, електротехнічні, проєкти контролю та автоматизації та інше. Однак це не усунуло недоліки креслярського методу, головний з яких полягає в тому, що на етапі принципового задуму і розробки концепції об'єкта, що проєктується, над проєктом працює тільки один, нехай найбільш досвідчений, член колективу. Вибір найоптимальнішого варіанту здійснюється цією особою на основі особистого досвіду і знань, що не виключає суб'єктивізму. Коли йому вдається відшукати відповідне рішення проєктної задачі, робота розподіляється між членами колективу відповідно до їх знань і умінь.

Іншим серйозним недоліком креслярського методу є те, що він представляє собою простий нерегульований перебір варіантів.

Неприйнятність креслярського методу проєктування особливо яскраво виявилася при ускладненні об'єктів проєктування, з появою об'єктів більш високого ієрархічного рівня із розвинутою інфраструктурою. У цих умовах

посилюється контраст між традиційними знаряддями праці, вживаними при креслярському методі (кульман і ручні способи розрахунків), і сучасними засобами обчислювальної техніки і комп'ютерної графіки.

Поява принципово нових знарядь праці проєктувальника створила необхідну базу для зародження нових проєктних методів – **методів проєктного дослідження**. Їх суттєві особливості полягають в наступному:

1. Теоретичне обґрунтування планування, організація і управління програмами розробки технологічних мегакомплексів з метою поліпшення якості робіт, скорочення термінів і витрат на проєктування.

2. Залучення на ранніх етапах виконання елементів проєкту всіх, хто бере участь в розробці проєкту нового об'єкта, а також відповідних джерел інформації внаслідок науково-технічного прогнозування з метою отримання об'єктивних відомостей і оцінок, які виходять за межі особистих знань і досвіду кожного конкретного проєктувальника.

3. Формалізація і активізація творчого процесу генерування ідей відносно концепції об'єкта, що розробляється, з метою упорядкування і прискорення пошуку ефективного проєктного рішення.

4. Оптимізація результатів проєктування на основі комплексної кількісної оцінки якісних характеристик об'єкта, що розробляється.

До найбільш дієвих організаційних форм належить **програмно-цільовий підхід** до проєктування. В його основу покладений принцип системної спрямованості, націлений на встановлення необхідних пропорцій суспільного відтворення і збалансованого розвитку народного господарства.

При проєктуванні ключовим питанням є оцінка результатів проєктування за ефективністю.

На початку розвитку промислового виробництва кращою вважалася технологія, що забезпечує більш високу абсолютну ефективність. Потім з'явилися критерії: відносна ефективність, продуктивність, питома ефективність, продуктивність в одиницю часу обладнання (одиниці його об'єму, поверхні, маси тощо). Услід за цим під час проєктування підприємств стали прагнути до більш високої економічної ефективності виробництва продукції, враховувати її собівартість, приведені витрати, прибуток та ін. Останнім часом посилюється тенденція на збільшення прогнозованості проєктних методів і на підвищення системності критеріїв оцінки результатів проєктування. У майбутньому це повинно привести до формулювання критерію соціальної ефективності технологічних об'єктів, який, крім характеру впливу мегакомплексу на людину, навколишнє середовище тощо, повинен враховувати результати проєктування з точки зору економічної ефективності.

1.2. Блок-схема етапів проєктування. Програмно-цільова структура проєктування

Блок-схема проєктування. Для реалізації програмно-цільового підходу

до проектування була розроблена програмно-цільова структура проектування. В її основу покладено принцип доцільності розгалуження процесу на складові частини відповідно до найбільш важливих етапів існування об'єкта – від виникнення ідеї про його створення; до фізичного або морального зносу об'єкту або втрати споживчого попиту. Типовий життєвий цикл об'єктів техніки і технології включає наступні великі етапи, що пов'язані з розробкою науково-технічних прогнозів: планування розвитку науки і техніки; складання заявок на розробку і освоєння продукції; створення установок у процесі проведення науково-дослідних, дослідно-технологічних і дослідно-конструкторських робіт; створення потужностей; освоєння і виробництво продукції; експлуатація об'єкта; вдосконалення технології і поліпшення якості продукції, що випускається; зняття об'єкта з експлуатації. Поетапна організація проектування дозволяє визначати фактичний стан проекту, способи реалізації і терміни виконання конкретних робіт, іншими словами, обирати, стратегію проектування.

Один із можливих варіантів розподілу процесу проектування на етапи наведений у вигляді блок-схеми (рис. 1.2.). Стрілки на схемі означають факти прийняття рішень. Прийняті рішення не завжди задовольняють керівника програми, і можливе повернення до попередніх етапів. Варіант, що розглядається, належить до типового випадку розробки проекту нового об'єкту. Послідовність дій розробників може змінюватися залежно від призначення і вигляду об'єкту або характеру проектної ситуації, наприклад, при удосконаленні продукції або технічної реконструкції технологічного мегакомплексу або його елементу.

Етап 1. Виявлення потреби змінити ситуацію, що склалася. Проектування починається із зародження ідеї змінити ситуацію, що склалася, і виражається у виявленні потреби у такій зміні.

Необхідність змінити ситуацію, а такою необхідністю може бути, наприклад, епідеміологічна ситуація, специфіка соціального стану суспільства, намічається на певний період часу діяльності відомчих установ і підприємств, в якому визначаються асортимент і обсяг випуску кожного виду продукції, приблизні рівні витрат виробництва і цін.

Тільки після обґрунтування необхідності і можливості змін ситуації, що склалася здійснюється перехід до наступного етапу проектування.

Етап 2. Постановка і формулювання мети проектування. З постановки мети повинно випливати, що реалізація проекту дозволить змінити існуючий стан і задовольнити виявлену потребу. У процесі формулювання мети проектування потрібно мати на увазі, що одну і ту ж потребу можна задовольнити різними шляхами, і від того, як сформульована задача проектування, залежить напрям подальших робіт і їх кінцевий результат.

Мета, зазвичай, визначається замовником, керівником підприємства або формулюється у програмі діяльності підприємства. Мету може формулювати держава для вирішення блоку соціальних задач. При цьому об'єднуються

перший, другий, а часто і третій етапи проектування. Це не суперечить блок-схемі, що розглядається, оскільки їх виконання вимагає різної розумової і практичної діяльності.

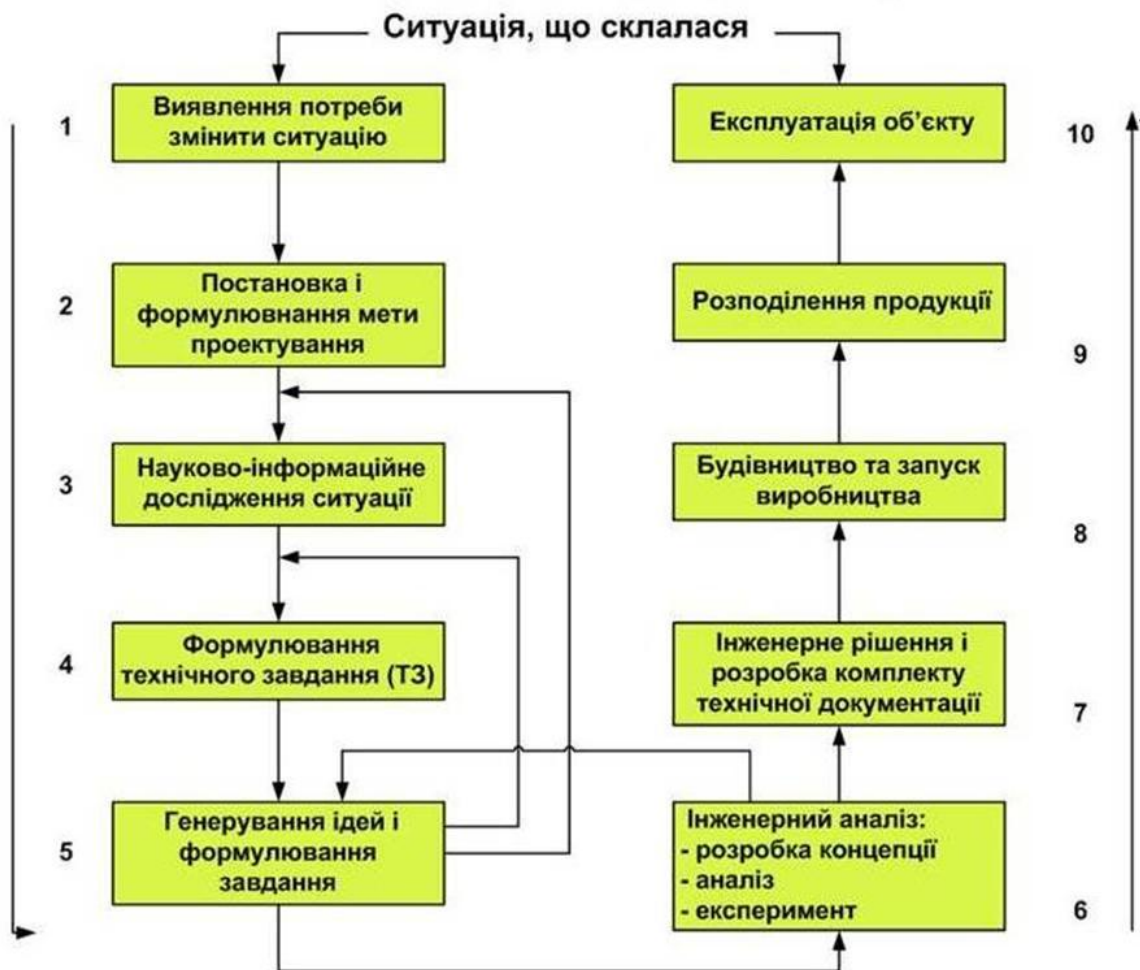


Рис. 1.2. Блок-схема процесу проектування

Під час формулювання мети проектування необхідно враховувати певні моменти. Початкове формулювання мети проектування практично завжди базується на зацікавленості досить вузького кола осіб і організацій (наприклад, на вимогах замовника). Рішення вузьких задач дає малозначущий ефект і навіть прямі збитки і не тільки не веде до повного задоволення потреби, але і викликає нові і, отже, додаткові суспільні витрати. Крім того, понадміру конкретизована задача націлює думку розробників на певний результат і направляє подальше проектування по єдиному шляху усунення кількісних протиріч прототипу. Внаслідок цього можуть виникнути тільки такі розробки, які принципово не змінять існуючого становища; створений об'єкт навряд чи складе серйозну конкуренцію існуючим і не зможе подолати переваги споживачів звичному, традиційному. Отже, розробники свідомо повинні розглядати проектну ситуацію ширше, ніж її представляють замовники, бажано на рівні знання, заснованого на законах

буття, людського досвіду. Подальший пошук зможе охопити найбільше число можливих і уявних, спочатку неможливих, ідей для розробки дійсно ефективного варіанту рішення.

Потрібно пам'ятати, що кінцевою метою проектування є не об'єкт як такий, а **функція**, яку він повинен виконувати. Таким чином, формулювання мети повинне вказувати на основне призначення проекту – його функцію, але не зводиться до вказівки способів її здійснення.

Етап 3. Науково-інформаційне дослідження проектної ситуації. На цьому етапі збирають, аналізують і обробляють інформацію щодо можливостей реалізації сформульованої мети проектування. Ця інформація може бути заснована на досвіді і знаннях, що є, а також на нових знаннях, отриманих внаслідок спеціальних додаткових досліджень. Користуючись такою інформацією, можна провести оцінку альтернативних шляхів досягнення мети на подальших етапах проектування.

Для оперативного пошуку достовірних відомостей, що узагальнюють досвід і знання, необхідно вільно орієнтуватися у джерелах інформації і вміти користуватися ними.

Обов'язковий напрям робіт на цьому етапі – прогнозування попиту на продукцію і технічного рівня об'єктів. Одним з методів прогнозування можна назвати комплексний аналіз патентної і науково-технічної літератури. Прогнозування технічного рівня необхідне для обґрунтування показників якості і економічних показників об'єкту на подальшому етапі проектування. Воно здійснюється на етапі розробки науково-технічних прогнозів для перспективного планування.

Інформація, яка характеризується релевантністю, достовірністю і оперативністю, має для підприємства не менше значення, ніж матеріальні і трудові ресурси. Дійсно, витрати на дослідження проектної ситуації часто окупаються, оскільки ретельніше опрацювання матеріалу дозволяє запобігти збиткам на подальших етапах проектування.

З цих міркувань витікає основний принцип при організації досліджень: рівень інформаційної забезпеченості процесу розробки проекту повинен бути таким, щоб сума витрат на отримання і обробку інформації і витрат на виявлення і усунення проектних помилок була мінімальною.

Інформаційне забезпечення повинно здійснюватися у рамках інформаційної підготовки розробки і виробництва продукції. Підготовка полягає у збиранні перспективної (прогнозованої) і поточної інформації, складанні і реалізації графіку інформаційного забезпечення й інших робіт.

Дослідження проектної ситуації спрямовано на можливе її більше розширення, а також на розширення пошуку ефективного рішення. Це дозволяє швидше виявити нові ідеї, а також може привести до зміни мети проектування (наприклад, до звуження формулювання мети, якщо вона не виправдовує витрати на створення об'єкту) або навіть до відмови від її здійснення (якщо мета реалізована раніше).

Етап 4. Формулювання технічного завдання. Технічне завдання на

проектування об'єкту – це сукупність початкових даних для досягнення поставленої мети на подальших етапах проектування. Формулюють завдання на основі вимог замовника до об'єкту і самостійно отриманої інформації.

Формулювання технічного завдання повинне бути більш конкретним, ніж формулювання мети. У процесі вироблення формулювань, ще до видачі остаточних пропозицій, можлива поява оригінальних ідей. На цьому етапі здійснюються розробка, узгодження і затвердження технічного завдання.

Технічне завдання у загальному випадку повинно складатися із розділів: найменування і галузь застосування; основа для розробки; мета і призначення розробки; джерела розробки; технічні вимоги; економічні показники; стадії і етапи розробки; порядок контролю і приймання; додатки.

Технічне завдання (ТЗ) розробляється відповідно до ДСТУ 8634:2016 [1]. ТЗ є вихідним документом для розробки проекту (рис.1.3.).

До складу ТЗ входить **сім розділів**:

1. Найменування і галузь застосування.
2. Підстави для розробки (замовник у вигляді підприємства, галузі та ін).
3. Джерела розробки.
4. Технічні вимоги (ДСТУ, ГСТУ, ТУ та ін.).
5. Економічні показники.
6. Стадії та етапи розробки.
7. Календарний план.

ТЗ розробляє проектна організація, яка має ліцензію на цей вид діяльності.

До складу ТЗ входять «Вихідні дані на проектування» (ВД).

Вихідні дані на проектування(ВД) – довідковий матеріал, який готує проєктанту технолог для створення виробництва. Вихідні дані на проектування розробляє науково-дослідна установа, яка визнана провідною у галузі. Нерідко ВД передує дослідно-промисловий регламент, як елемент підтвердження технічної можливості реалізації технології.

Загальний зміст ВД (загальні блоки):

- характеристика сировини;
- інформація про роботу на дослідницьких установках;
- економічні показники порівняно з іншими установками;
- потужність;
- асортимент;
- нормативи, які характеризують технічний рівень.

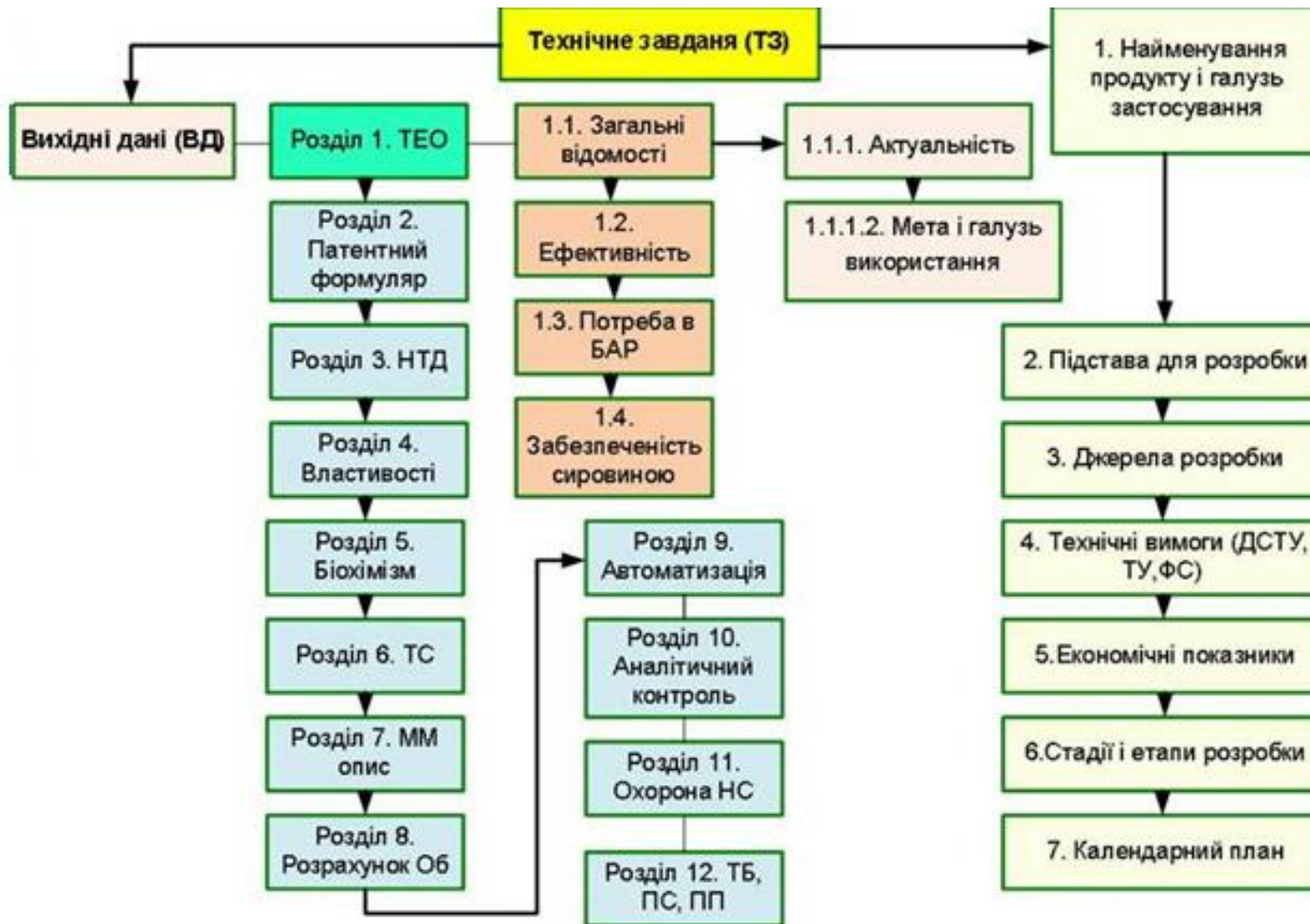


Рис.1.3. Загальна структура Технічного завдання

Вихідні дані на проектування складаються з 12 розділів:
Розділ 1. Техніко-економічне обґрунтування (ТЕО)

Цей розділ є складовою частиною курсових та дипломних проєктів. До складу ТЕО входять:

1.1. Загальні відомості про технологію. В цьому пункті коротко викладають оцінку сучасного стану проблеми, відмічаючи практичне розв'язання задачі, прогалини знань, що існують в даній галузі, світові тенденції виробництва. Розділ визначає економічну доцільність розробки.

Цей розділ, крім вирішення загальних економічних питань (розрахунок рентабельності, собівартість), дозволяє оптимізувати технологію завдяки використанню високоефективних продуцентів біологічно активних речовин, підбору високоефективного обладнання, використанню побічних продуктів, раціональному складанню технологічної схеми.

У цьому розділі повинна бути присутня така інформація:

- загальні відомості про технологію;
- актуальність даної роботи і підстави для її виконання;
- мета і галузь застосування отриманої продукції.

1.2. Ефективність запровадження запропонованої технології у порівнянні з сучасними рішеннями аналогічних виробництв вітчизняної та зарубіжної практики та їх техніко-економічні показники.

1.3. Потреби в означеній БАР на сьогоднішній день та на перспективу з урахуванням реалізації супутніх продуктів, які отримують під час переробки відходів.

Підрозділ 1.3. містить такі підпідрозділи:

1.3.1. Розрахунок потреби у цільовому продукті.

1.3.2. Розрахунок потужності виробництва.

Для визначення потреби в цільовому продукті слід звернутись до характеристики готової продукції, тобто визначити галузі її використання у відповідних сферах (медицина, сільське господарство, промисловість тощо).

Загальні вимоги до цільового продукту прописані у нормативних документах (ДСТУ, ТУ, ФС, інструкції із застосування, інших літературних джерелах – статтях, патентах). Головна мета – визначити коло споживачів даного цільового продукту.

Наприклад, для визначення потреби у випуску антибіотика за його назвою на сайті (<http://mozdocs.kiev.ua/>) слід визначити при лікуванні яких хвороб він призначається та скориставшись *Інструкцією по використанню*, визначити дози та період лікування для різних груп пацієнтів (дорослі чи діти). Для цього можна скористатись сайтом (<https://medbrowse.com.ua/>) або довідником ліків на сайті (<http://www.piluli.kharkov.ua/>).

Крім того, у статистичних збірниках Державної служби статистики України «ЗАКЛАДИ ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я ТА ЗАХВОРЮВАНІСТЬ НАСЕЛЕННЯ УКРАЇНИ» (<http://www.ukrstat.gov.ua/>) наводяться дані щодо захворюваності населення України за видами хвороб за попередні періоди. З тією ж метою також слід скористатись сайтом Національної медичної

бібліотеки України (<https://library.gov.ua/>) та Національного центру інформації по біотехнології (NCBI) (<http://www.ncbi.nih.gov>), а також базою даних PubMed – електронною базою даних медичних і біологічних публікацій, в якій викладені абстракти публікацій англійською мовою - www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed.

Стосовно визначення потреби в інших цільових продуктах слід скористатись як статистичними даними Державної служби статистики України (<http://www.ukrstat.gov.ua/>), так і даними, що наводяться у професійних виданнях відповідних міністерств та держслужб.

Дані підрозділу 1.3.1. (Потреба у цільовому продукті) доцільніше наводити у вигляді узагальнюючої таблиці (приклади 1.1. – 1.5).

ПРИКЛАД 1.1.

Таблиця 1.1

Вихідні дані для розрахунку річної потреби в ергокальциферолі (вітамін D₂)

Захворювання (профі- лактика)	Доза препарату на добу, МО	Тривалість прийому, днів	Кількість препарату (в мл) на 1 хворого	Кількість хворих в Україні на 2020 рік	Загальна кількість препарату на всіх хворих, л
1	2	3	4	5	6
Лікування рахіту	1400 – 5600 (4 краплі)	30 – 45	5,04	3 266 000	16 460,6
При вагітності	1400 (1 крапля)	з 30–32тижня (56 днів)	1,6	521 000	833,6
Профілактика рахіту	180 000 на рік (129 крапель)	упродовж року, за винятком 3- х літніх місяців	3,6	3 266 000	11 757,6
Профілактика для недоно- шених дітей	1000 (1 крапля на 2 дні)	перше півріччя життя	2,5	26 000	65,0
	1400 – 2800 (2 краплі щодня)	упродовж місяця 2 – 3 рази на рік	5		130,0
Профілактика для доношених дітей	180000 на рік (129 крапель)	упродовж року, за винятком 3- х літніх місяців	3,6	495 000	1 782,0
Лікування туберкульоз- ного вовчаку	100 000 (72 краплі)	180 (6 місяців)	360	215	77,4
Лікування остеопорозу	3000 (2 краплі)	45	2,5	3 005 000	7 512,5
Всього:					38 618,7

Примітка. Для розрахунку взято до уваги, що ергокальциферол випускається у

формі масляного 0,125% розчину (50 000 МО в 1 мл) у флаконах по 10 мл і у разі, якщо для лікування необхідно менше, ніж 10 мл, розраховується потреба у необхідній кількості в мл.

Пояснення до розрахунку таблиці 1.1.: зміст колонки 4 = колонку 2 ділимо на 50 000 і множимо на колонку 3. Зміст колонки 6 = зміст колонки 4 множимо на зміст колонки 5 і ділимо на 1000. Отримуємо загальну кількість препарату 0,125% розчину ергокальциферолу в л. Загальний об'єм сухого ергокальциферолу в препараті становить $36818,7 \times 0,125\% / 100\% = 48,3$ л. Кількість сухої субстанції ергокальциферолу, необхідного для задоволення згаданої потреби, при густині кристалів $\rho_{D2} = 1001$ г/л складе $G_{гп} = 48,3 \text{ л} \times 1001 \text{ г/л} = 48300 \text{ г}$ або 48,3 кг.

ПРИКЛАД 1.2

Таблиця 1.2

Вихідні дані для розрахунку річної потреби у препараті поверхнево-активних речовин *N. vaccinii* IMB B-7405

Сільсько-господарська культура	Площі посівів, тис. га	Кількість препарату для однієї обробки 1 га поля, л/га	Кількість обробок за рік, шт.	Сумарна кількість препарату для 1 га поля, л/га	Необхідний об'єм препарату для річної обробки поля, м ³
1	2	3	4	5	6
Ріпак	1031,1	0,9	2	1,8	1 856
Жито	285,7	0,5	2	1,0	285,7
Кукурудза	4900	0,8	1	0,8	3 920
Соняшник	4800	1,2	1	1,2	5 760
Всього:					11 821,7

Пояснення: зміст колонки 5 = зміст колонки 3 множиться на зміст колонки 4.

зміст колонки 6 = зміст колонки 5 множиться на зміст колонки 2.

$$1031,1 \cdot 10^3 \times 1,8 = 1\,856\,000 \text{ л або } 1\,856 \text{ м}^3$$

Дані щодо посівних площ на сезон 2013–2014 року в Україні наведено згідно Державної служби статистики [<http://ukrstat.org/uk> . Публікація документів Державної служби Статистики України].

ПРИКЛАД 1.3.

Визначення потреби у антибіотику *Кларитроміцині* , що призначається для лікування ЛОР-інфекцій (синусити, фарінгіти).

Станом на 2015 рік на ЛОР інфекції в Україні хворіло 3185 людей на 100 тис. населення. Враховуючи, що кількість населення України на той час становило 42,928 млн. людей, то загальна кількість хворих буде:

$$N_{хв} = 42\,928\,000 \times 3182 / 100\,000 = 1\,365\,997 \text{ хворих.}$$

Частка дітей становить приблизно 38%, відповідно дорослих – 62%.

$$Звідси \text{ хворих дорослих } N_{др} = 1\,365\,997 \times 62 / 100 = 846\,918 \text{ хвор.дор.}$$

$$\text{Дітей } N_{дт} = 1\,365\,997 - 846\,918 = 519\,079 \text{ дітей.}$$

Доза: для дітей до 14 років - 250 мг; дорослим - 500 мг.

Курс лікування: 2 дози на добу протягом 10 днів.

Потреба на курс для дітей: [к-сть доз × термін × чисельність]

$$G_{дт} = 2 \text{ дз} \times 0,250 \text{ г} \times 10 \text{ дн} \times 519\,079 \text{ дт} = 2\,595\,395 \text{ г} = 2\,595 \text{ кг}$$

Потреба на курс для дорослих:

$$G_{др} = 2дз \times 0,500 \text{ г} \times 10 \text{ дн} \times 846\,918 \text{ др} = 8\,469\,180 \text{ г} = 8\,470 \text{ кг}$$

Загальна потреба у *Кларитроміцині* складе

$$\Sigma G = G_{др} + G_{дт} = 8\,469,2 + 2\,595,3 = 11\,065 \text{ кг.}$$

Таблиця 1.3.

Річна потреба населення України в антибіотику *Кларитроміцині*

Категорії хворих	Доза препарату, г	Кількість прийомів на добу	Тривалість лікування, діб	Кількість хворих за 2021р, млн.	Загальна необхідні кількість препарату, кг
1	2	3	4	5	6
Дорослі та діти старше 14 років	0,500	2	10	0,8469	8 470
Діти від 4 до 12 років	0,250	2	10	0,5190	2 595
Всього					11 065 кг

Пояснення: Зміст колонки 6 = зміст колонки 2 × зміст колонки 3 × зміст колонки 4 × зміст колонки 5. $0,5 \text{ г} \times 2 \times 10 \times 0,847 \cdot 10^6 = 8,47 \cdot 10^6 \text{ г}$ або 8 470 кг.

З врахуванням частки препарату, що виробляється вітчизняними фармпідприємствами (50%) та імпортованих (40%), річна потреба у проєктованому виробництві складе 10% і дорівнює $G_{гп} = 11\,065 \times 0,1 = 1\,106,5 \text{ кг}$.

ПРИКЛАД 1.4.

Потреби населення України у вакцині для профілактики гепатиту В

Одним з найбільш розповсюджених вірусних захворювань є гепатит В, що спричиняється вірусом гепатиту В (HBV) та уражує печінку, призводячи до її запалення. В середньому, кожна дванадцята людина в світі є носієм вірусу гепатиту В або С. Близько 300 – 400 мільйонів носіїв гепатитів В зареєстровано у світі, 2 мільйони хворих на гепатит В щорічно вмирають від ускладнень гострої і хронічної форми цього захворювання. В Україні близько 2,3 млн людей, хворих на гепатит В.

Сучасна медицина для боротьби з даним захворювання користується рекомбінантною вакциною для профілактики гепатиту В.

Одноразова доза для новонароджених дітей і пацієнтів віком до 19 років – 0,5 мл (10 мкг HBsAg); для пацієнтів старших 19 років – 1 мл (20 мкг HBsAg); для пацієнтів відділення гемодіалізу – 2 мл (40 мкг HBsAg) [20].

Курс вакцинації [1, 20]:

1 доза – у вибраний день (новонародженим дітям вводиться в перші 12 годин життя).

2 доза – через 1 місяць.

3 доза – через 6 місяців після введення першої дози.

Близько 794 людини на 100 000 населення України – хворі відділення гемодіалізу. Враховуючи, що населення України складає близько 43 млн людей, то загальна кількість таких хворих становить 341 420. Курс вакцинації для однієї людини відділення гемодіалізу передбачає використання 6 мл суспензії, тобто 120 мкг HBsAg.

Отже, щоб забезпечити вакциною проти гепатиту В дане населення необхідно:

$$120 \text{ мкг HBsAg} \times 341\,420 \text{ осіб} = 40\,970\,400 \text{ мкг HBsAg}$$

Якщо від всього населення України, що хворіє вірусним гепатитом В, відняти кількість хворих відділення гемодіалізу, то отримаємо 1 958 580 дітей та дорослих.

Припустимо, що половина з них – це діти (979 290). Одна дитина потребує 1,5 мл

суспензії, тобто 30 мкг HBsAg. Відповідно усе дитяче населення:

$$30 \text{ мкг HBsAg} \times 979\,290 \text{ дітей} = 29\,378\,700 \text{ мкг HBsAg}$$

Для лікування дорослої людини необхідно 3 мл суспензії, тобто 60 мкг HBsAg. Для забезпечення вакциною усього дорослого населення необхідно:

$$60 \text{ мкг HBsAg} \times 979\,290 \text{ людей} = 58\,757\,400 \text{ мкг HBsAg}$$

Всього для населення України необхідно:

$$(40\,970\,400 + 29\,378\,700 + 58\,757\,400) \text{ мкг} = 129\,106\,500 \text{ мкг HbsAg або } 129,2 \text{ г HbsAg}$$

Узагальнені дані про потребу населення України в рекомбінантній вакцині для профілактики гепатиту В наведено в табл. 1.4.

Таблиця 1.4

Річна потреба населення України в HBsAg – основної складової частини вакцини для профілактики гепатиту В

Категорії хворих	Доза препарату, мкг (1 мкг = $1 \cdot 10^{-6}$ г)	Курс вакцинації, кількість доз	Кількість хворих, млн	Кількість препарату на річний курс вакцинації, г
1	2	3	4	5
Діти (до 19 років)	10	3	0,98	29,4
Дорослі (старші 19 років)	20	3	0,98	58,8
Хворі відділення гемодіалізу	40	3	0,35	41
Всього				129,2

Пояснення до розрахунку таблиці 5.3.: зміст колонки 5 = зміст колонки 2 множимо на зміст колонки 3 та множимо на зміст колонки 4. $(10 \times 10^{-6} \text{ г}) \times 3 \text{ дози} \times 0,98 \cdot 10^6 = 29,4 \text{ г}$

У підрозділі 1.3.2. (Розрахунок потужності виробництва) наводяться дані щодо випуску продукції в Україні (перелік підприємств), а також дані щодо імпорту. З урахуванням розрахованої річної потреби у цільовому продукті та його форми (рідкий чи сухий) і даних щодо його випуску та імпорту, обґрунтовується необхідна потужність проєктованого виробництва.

ПРИКЛАД 1.5. Розрахунок потужності виробництва рекомбінантної вакцини для профілактики гепатиту В

Згідно з «Державним реєстром лікарських засобів України» станом на 2013–2014 рр. в Україні зареєстровано кілька вакцин для профілактики гепатиту В: Гепавакс-Ген (виробник Корея), Енджерікс-В (Бельгія), Ебербіовак-НВ (Куба) та Еувакс-В (Корея). Останню вакцину розфасовує фармацевтична компанія «Фармак». Усі інші вакцини в готовому вигляді імпортуються з-за кордону.

Упродовж 2020 р. за кошти Державного бюджету України було закуплено 1 млн 311 тисяч 640 доз (по 10 мкг HBsAg) вакцини Еувакс-В. Незважаючи на поставки препарату з-за кордону, Україна повинна розробити своє власне виробництво рекомбінантної вакцини для профілактики гепатиту В. Цьому заважають надзвичайно коштовні витрати на виробництво, недостатня кількість кваліфікованих фахівців, високі вимоги GMP.

Для розрахунку потужностей виробництва антигену HBsAg (основного компонента

вакцини) в Україні, необхідно від загальної потреби населення у вакцині відняти виробництво *in bulk* компанії «Фармак» та поставки готової вакцини з інших країн (50%). Тобто державі, щоб забезпечити своє населення власною вакциною потрібно виготовляти:

$G_{\text{гп}} = (129,2 \text{ г} - 13,1 \text{ г (кількість HBsAg, що фасує «Фармак»)) \times 0,5 = 58,05 \text{ г}$ сухого поверхневого антигену вірусу гепатиту В. З врахуванням можливого запасу округляємо потребу до цілого $G_{\text{гп}} = 58 \text{ г/рік HbsAg}$.

1.4. Забезпеченість виробництва сировиною та матеріалами потрібної якості

Розділ 2. Патентний формуляр.

У вигляді таблиці наводиться інформація про новизну розробки (технології, устаткування) у порівнянні з аналогами США, Японії, Німеччини, Великої Британії за 20 років.

Розділ 3. Нормативно технічна документація на готову продукцію, сировину і проміжні продукти.

В загальному вигляді цей розділ орієнтований на застосування сертифікованої сировини для отримання стандартизованої продукції.

В розділі наводиться інформація:

про документи, які дають право на промислове (серійне) виробництво продукції – ліцензія на виробництво;

найменування і характеристика товарної форми продукту;

фармакологічна характеристика і галузь застосування (для біофармацевтичної продукції та продуктів мікробного синтезу фармацевтичного призначення);

вид пакування;

Розділ 4. Фізико-хімічні і теплофізичні властивості вихідних, проміжних, побічних, кінцевих продуктів та відходів виробництва.

В цьому розділі наводяться :

– хімічна формула, молекулярна маса, густина, теплоємність вказаних речовин.

Розділ 5. Хімізм, біо- і фізико-хімічні основи та умови проведення технологічних процесів.

В цьому розділі наводяться робочі умови в технологічних апаратах:

– температура, тиск, кількість обертів перемішуючого пристрою;

– фізико-хімічні умови процесу (технологічні параметри: рН: значення і допустимі відхилення, аерація: періодичність та інтенсивність, тощо);

– коефіцієнти заповнення апаратури.

Невід’ємною частиною проекту, регламентів виробництва є стехіометричні рівняння хімічних та біохімічних перетворень з врахуванням втрат, кінетичних коефіцієнтів конверсії, коефіцієнтів тепловиділення та ін.

Розділ 6. Принципова технологічна схема.

Наводиться блок-схема процесу виробництва у вигляді стадій та операцій. Складовою розділу є таблиця матеріального балансу на одиницю продукції, операцію.

Розділ 7. Математичний опис технологічних процесів і апаратів.

Наводяться: математичні моделі, програми, які спрямовані на оптимізацію процесів синтезу.

Розділ 8. Дані для розрахунку і вибору основного технологічного обладнання.

Для процесів розділення, змішування, подрібнення, сушіння наводяться рекомендації щодо вибору обладнання, потужності, засобів регенерації та інше.

Для процесів концентрування простежується зміна концентрації сухих речовин по стадіях. Для процесів стерилізації повітря наводиться вихідна концентрація забруднень у повітрі, ефективність очистки повітря, коефіцієнт проскоку контамінантів. Наводяться рекомендації щодо вибору матеріалів обладнання, трубопроводів, будівельних конструкцій. Як характеристики процесу наводяться:

- коефіцієнти заповнення основного обладнання;
- час контакту;
- час культивування;
- об'ємні та лінійні швидкості руху рідини;
- рекомендації по перемішуванню.

Розділ 9. Рекомендації по автоматизації і механізації виробництва.

- параметри контролю;
- точки контролю.

Розділ 10. Аналітичний контроль виробництва.

Складається карта аналітичного контролю, яка визначає хто, де і як проводить контроль, параметри вимірювання точки контролю та інше.

Розділ 11. Охорона навколишнього середовища, утилізація відходів.

Складається таблиця неутилізованих відходів, визначається рівень забруднення, місця виведення відходів на ТС.

Розділ 12. Заходи техніки безпеки, промислової санітарії та протипожежної профілактики.

Технічне завдання розробляється проєктною організацією на основі вимог замовника, викладених в договорі або в прийнятому до виконання замовленні з урахуванням результатів науково-інформаційного дослідження проєктної ситуації. Замовлення на розробку і освоєння продукції, що подається в загальному випадку від міністерства-замовника, складається з вищезгаданих розділів.

Розробник складає висновок по замовленню із зазначенням орієнтовної вартості усіх робіт згідно завдання, включаючи витрати на науково-дослідні, дослідно-технологічні і дослідно-конструкторські роботи і вартість дослідної партії продукції. На основі висновку міністерство ухвалює рішення щодо прийняття замовлення до виконання.

Технічне завдання узгоджується з основним споживачем продукції, підприємством-розробником (якщо не воно розробляє технічне завдання) і підприємством-виробником. Залежно від вигляду і призначення продукції технічне завдання узгоджують також з органами державного нагляду,

міністерствами і відомствами, на які покладені функції з охорони природи; профспілковими органами; спеціалізованими організаціями і т.п. Технічне завдання затверджує провідне міністерство. За окремими видами продукції ТЗ може бути затверджене замовником, тоді узгодження із замовником не потрібно. Затвердження технічного завдання без урахування результатів оцінки технічного рівня або у разі проведення позавідомчої експертизи без урахування її результатів не допускається. Персональну відповідальність за це несе посадова особа, яка затвердила технічне завдання.

Розробник повинен з великою обачністю підходити до складання технічного завдання – початкового документа для проєкту – і не забувати, що за цей документ підприємство несе фінансову і соціальну відповідальність. Неприпустимо включати в технічне завдання власні ідеї, не узгоджені з будь-яких причин з керівництвом. Разом з тим, осмислюючи всі етапи проєктування і відповідні йому етапи життєвого циклу проєкту, розробник має право піддати сумніву поставлену мету, переглянути її або навіть відмовитися від виконання проєкту, якщо він бачить, що це може заподіяти збиток суспільству або принести збитки на подальших, більш капіталоемних етапах розробки проєкту.

Етап 5. Генерування ідей і формулювання задачі. Етап генерування нових ідей, що стосуються способів реалізації сформульованої і уточненої на попередніх етапах мети проєктування, значною мірою визначає якість рішення. У певному розумінні цей етап являє собою основу процесу проєктування. Необхідно виробити деяку мінімальну кількість ідей, аби ймовірність знаходження дійсно ефективної ідеї збільшувалася. Так, для створення виробу культурно-побутового і господарського призначення, що користується попитом, необхідно генерувати біля 60 нових ідей, а для освоєння найбільш вдалого способу виробництва хімічного продукту – 540 пропозицій. Прикладів для фармацевтичних об'єктів в літературі немає, це вказує на актуальність застосування стратегії проєктування для об'єктів виробництва лікарських засобів.

Обов'язковою умовою підвищення якості проєктування є організація безперервного пошуку ідей для створення науково-технічного доробку – «банку ідей». Тому не треба відкидати ідеї, які з певних причин неприйнятні для розробки, вони можуть виявитися перспективними в ході науково-технічного прогресу.

Етап 6. Інженерний аналіз. Етап інженерного аналізу є ключовим у проєктуванні, оскільки саме тут, в основному, здійснюється прийняття проєктного рішення. На цьому етапі пропонують і розглядають конкретні **способи** здійснення запропонованих ідей, виробляють варіанти концепції об'єкта проєктування, оцінюють їх і вибирають найбільш доцільний, який заслуговує подальшої розробки. На цьому ж етапі здійснюють необхідні роботи по експериментуванню на макетних або модельних установках.

Інженерний аналіз включає три взаємоузгоджені стадії:

– вироблення концепції;

- аналіз;
- експеримент.

Процес вироблення альтернативних рішень і концепцій для досягнення мети проєктування вимагає видатних творчих здібностей. Варіанти концепції спочатку не проробляються детально, а лише реєструються як можливі рішення, які необхідно перевірити за допомогою обраних критеріїв.

На цій стадії у загальному випадку розробляють технічну пропозицію з метою виявити додаткові або уточнені вимоги до об'єкта, які не могли бути передбачені технічним завданням. Цьому передують попереднє опрацювання і аналіз варіантів концепції об'єкта проєктування, порівняння їх технічного рівня.

Існують *диференціальний, комплексний і змішаний* методи оцінки. *Диференціальний метод* полягає у порівнянні одиничних показників якості варіантів і, отже, приводить до певного рішення лише у випадках, коли всі значення показників одного з варіантів вище або нижче відповідних значень показників інших варіантів. *Комплексний метод* полягає у порівнянні значень узагальненого показника якості варіантів. При цьому узагальнений показник може бути виражений або у вигляді головного показника, що відображає основне призначення продукції, або у вигляді інтегрального, що характеризує співвідношення встановлених сумарних витрат на створення і споживання продукції, або у вигляді середньозваженого показника.

У будь-якому випадку потрібно прагнути відобразити зв'язок між початковими показниками, що формують узагальнений показник якості, на основі фізичної суті об'єкта, що розглядається. *Змішаний метод* полягає у порівнянні варіантів і за узагальненим показником, і за одиничними показниками якості. Цей метод застосовується тоді, коли одиничні показники виражають істотні властивості продукції, але, коли вони включені до узагальненого показника, це не дозволяє отримати певних висновків про ці властивості для кожного варіанту.

Обґрунтувати узагальнений показник вдається нечасто, а тим часом ухвалити рішення про вибір основного варіанта все ж необхідно. Пошуком принципів вибору в цьому випадку займається ***теорія неформальних процедур***, предметом якої є обробка думок експертів, які ухвалюють рішення. Тут активно використовуються узагальнені особистий досвід, знання та інтуїція, які заповнюють нестачу інформації, необхідної для формалізації проєктних задач.

Після того, як концепцію об'єкта обрано, проводять аналіз наукової обґрунтованості і технічної реалізованості. Часто внаслідок аналізу виявляється, що потрібно змінити концепції або сформулювати нову ідею, нова концепція також зазнає аналізу. Таким чином, здійснюється безперервний процес переходу від аналізу до вироблення концепції і зворотно, поки концепція не почне набувати реального змісту.

На наступній стадії інженерного аналізу – на стадії експерименту – проєктується процес і продукція виробництва випробовується для перевірки

правильності вибраної концепції і проведеного аналізу на відповідність технічному завданню в умовах, максимально наближених до заданих (умов виробництва). Як доказ правильного вибору можна провести випробування математичних моделей об'єкту і його імітаційних моделей, що дозволяє здійснювати системний аналіз, прогнозувати поведінку об'єктів і управління ними.

Експериментальний метод створення повного прототипу є найбільш дорогим, але він дозволяє отримати найбільш надійну інформацію. *Прототип* – це побудована в натуральну величину реально діюча технологічна система (виробництво). Найбільші ускладнення при створенні прототипу можуть бути викликані тим, що на стадії проєктування для цього мало часу або потрібні додаткові витрати.

Етап 7. Інженерне рішення і розробка комплексу технічної документації. На цьому етапі є вже конкретна інформація про об'єкт, що проєктується. Розробники повинні підготувати документацію, переконати замовника в правильності вибраної ідеї і розробленій концепції, а також в необхідності подальшої розробки або освоєнні об'єкту.

Для остаточного прийняття рішення в ряді випадків потрібна додаткова інформація, іноді необхідні навіть додаткові експерименти.

Після прийняття інженерного рішення починається стадія розробки ***комплексу технічної і технологічної документації***. *Документ* – матеріальний об'єкт, в якому зафіксована інформація, оформлена у встановленому порядку і який має відповідно до чинного законодавства правове значення.

Документи можуть бути представлені у графічному, текстовому вигляді або у їх комбінації. Технологічну документацію представляють у вигляді *технологічного регламенту* виробництва. Технічну документацію представляють у вигляді *технічного регламенту* а також у вигляді креслень нестандартного обладнання.

Регламент– нормативний документ, що встановлює вимоги до технологічних процесів, технологічного обладнання і приміщень, пов'язаних з якісним виготовленням продукції при дотриманні умов охорони праці та охорони навколишнього середовища.

Керуючись документами, здійснюють розробку, виготовлення, монтаж обладнання, пуск і наладку, експлуатацію, приймання і збут продукції в межах сформульованих вимог. Розробка документації супроводить кожному етапу проєктування. Інженер, що підписав відповідний документ, несе за нього не тільки моральну і професійну, але і посадову, а в деяких випадках юридичну, відповідальність.

Загальні правила оформлення документів в сфері проєктування викладені у відповідних державних, міжнародних та галузевих стандартах.

За окремими видами продукції провідні міністерства у встановленому порядку проводять експертизу документації, за результатами якої складають експертний висновок. На його основі вносять зміни і доповнення у

документацію у процесі подальшої розробки або доопрацювання проекту. На стадії розробки робочої документації можуть проводитися спеціальні додаткові експерименти у необхідних для перевірки умовах: камеральних (модельні установки), імітаційних, виробничих тощо.

Етап 8. Будівництво та запуск виробництва. Цей етап полягає в будівництві об'єкту проектування та освоєнні випуску продукції, тобто в оснащенні технологічного процесу виготовлення об'єкта проектування та у підготовці виробництва до випуску цільової продукції.

Це зумовлює необхідність розробки директивної технологічної документації для вирішення інженерно-технічних, планово-економічних і організаційних задач і вимагає безпосередніх контактів розробників з персоналом підприємства-виробника, зокрема служб апарату управління. При цьому уточнюють прогнозування на етапі науково-інформаційного дослідження проєктної ситуації, об'єми і терміни випуску продукції, питання підготовки необхідного технологічного обладнання, закріплення і навчання виробничого персоналу, створення необхідних запасів сировини, забезпечення контролю якості продукції і т. п.

До функцій розробників входять також контроль за освоєнням і виробництвом продукції, тобто за реалізацією рішень, передбачених технічною і технологічною документацією і своєчасне виявлення і усунення недоліків проєкту і технологічного процесу. У відповідності з рядом ДБН, прийнятих на заміну ГОСТ 15.303-80 (докладніше див. розділ 9), об'єктами авторського нагляду є об'єкти або його складові частини, сировина і матеріали, технологічний процес, метрологічне забезпечення тощо. При цьому група авторського нагляду, що виділяється розробником, проводить наступні роботи: аналіз дотримання виробником вимог технічної документації; аналіз виявлених дефектів; розв'язання питань, що виникають під час розробки об'єкту, зокрема поліпшення технологічного процесу, зниження витрати сировини, енергії, оперативне внесення змін до технічної документації. Цей етап передбачає виготовлення і випробування (приймально-здавальні, періодичні і кваліфікаційні) об'єкта, а також дослідницьке коректування документів за результатами випробувань і оснащення технологічного процесу обладнанням.

За результатами кваліфікаційних випробувань комісія з приймання першої промислової партії приймає рішення про закінчення освоєння об'єкту або дає рекомендації по вдосконаленню виробничого процесу, встановлює терміни усунення відмічених недоліків і проведення повторних випробувань.

Процеси розробки документації, виготовлення технологічного об'єкта, випробувань, аналізу і оцінки їх результатів і коректування документації завершують остаточною розробкою документації, перевіреною у виробництві при виготовленні продукції згідно зафіксованого і повністю оснащеного технологічного процесу, що забезпечує стабільні показники і якість продукції. Вносити зміни в об'єкт можна не тільки у період освоєння, але і в ході масового виробництва продукції. При цьому тимчасові, трудові і

матеріальні витрати на внесення змін напряду залежать від якості підготовки документації. Якість документації визначається якомога більш повним і комплексним обліком реалізованих в ній вимог до об'єкта на всіх стадіях виробництва. Звідси зрозуміло, чому розробники часто уникають новаторських рішень. Однак аналіз результатів випробувань, досвід проектування створюють досить реальний ґрунт для перегляду технологічного і технічного рішень з метою зниження витрат на даному і подальших етапах проектування. Для виявлення резервів зниження витрат проводять економічне опрацювання об'єкта.

Найбільш прийнятним методом економічного опрацювання вважають інженерно-вартісний або функціонально-вартісний аналіз. Цей метод заснований на уявленні про об'єкт у вигляді сукупності основних і допоміжних функцій, що виконуються ним. Причому серед допоміжних завжди можна виявити істотні і неістотні, необхідні і зайві для даного рівня ієрархії структури об'єкта. Послідовне виявлення основних і допоміжних функцій на кожному рівні дозволяє відшукати найбільш вигідний варіант об'єкта при заданому рівні якості. Цей метод полягає у вартісній оцінці всіх можливих варіантів реалізації функцій з урахуванням їх значущості.

Крім проблем організації виробничого процесу, проектувальник повинен завжди пам'ятати про питання соціального характеру (забезпечення побутових умов і безпеки праці, створення естетичних умов роботи персоналу тощо).

Етап 9. Розподіл продукції. Призначення цього етапу полягає в організації контактів між сферами виробництва і споживання і управління цими контактами з метою встановлення і підтримки рівноваги між виробництвом і споживанням, тобто збутом і попитом.

Залежно від призначення підприємства рівновагу між виробництвом і споживанням можна забезпечити, взявши за основу один з трьох принципів:

- 1) поставити виробництво в залежність від споживання;
- 2) поставити споживання в залежність від виробництва;
- 3) встановити рівновагу між виробництвом і споживанням.

У всіх випадках необхідне розв'язання питань формування суспільного попиту. На практиці мають місце випадки необґрунтованого планування діяльності підприємства і прийняття господарських рішень, що приводять до накопичення нереалізованої продукції або створення її надмірних запасів, або виникнення дефіциту. Це є слідством неправильного прогнозування попиту на третьому етапі проектування.

Етап 10. Експлуатація об'єкта. На цьому етапі проектування об'єкт проходить реальну перевірку з точки зору виконання виявленої на першому етапі потреби і трансформованою на четвертому етапі у можливість виробництва представлений у технічному завданні.

Дані про експлуатацію технологічного об'єкта служать основою для прийняття рішення щодо удосконалення технології та її інтенсифікації або щодо припинення випуску продукції. Невід'ємною умовою останнього є

обґрунтування доцільності цього відповідно до ГОСТ 15.801 – 80. Так, цикл процесу проєктування (розробки, виготовлення і експлуатації) технологічного об'єкту замикається, а разом з цим завершується існування конкретного об'єкта. Це не означає фізичного знищення технологічного об'єкту, але дає імпульс до виникнення ідей щодо його ефективнішого використання. Починається новий цикл інженерного технологічного проєктування.

1.3. Стратегія проєктування

Важливою особливістю процесу проєктування, структуру якого можна представити у вигляді блок-схеми (рис. 1.4), є наявність зворотних зв'язків між етапами, які виникають як необхідність уточнення у процесі проєктування.

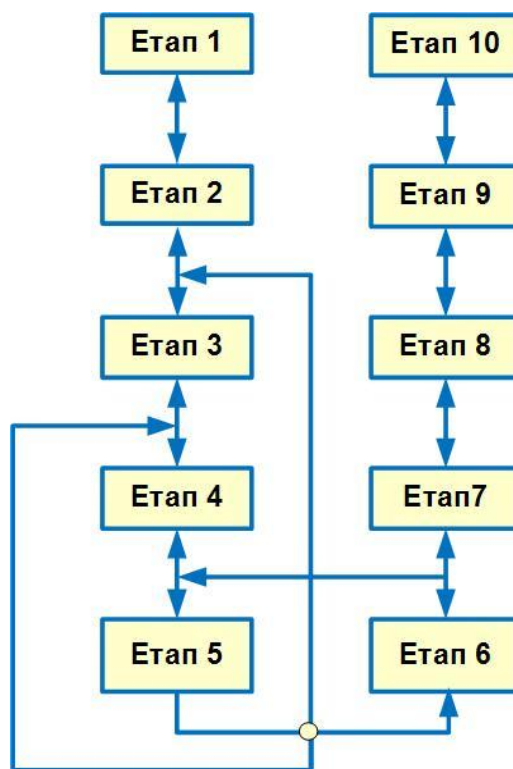


Рис. 1.4. Циклічні і лінійні зв'язки між етапами проєктування.

Лінії зв'язку, що спрямовані до попередніх етапів блок-схеми процесу проєктування, означають, що деякі позиції процесу проєктування, не помічені на поточному етапі, виявляються пізніше, тому доводиться переглядати раніше прийняті рішення, а іноді і повністю припиняти роботу.

Для сучасного процесу проєктування характерні дефіцит часу і обмеженість коштів. Дійсно, коли процес розробки затягується, іноді на роки, проєкти (або технологічні рішення) морально застарівають вже до стадії експлуатації. Саме тому загальна стратегія проєктування повинна бути спрямована на зменшення «циклічності» і збільшення «лінійності» процесу проєктування.

Ділянка між етапами 5 та 6 (рис. 1.4.) являє собою модель *циклічної стратегії проектування*. Найбільш важкою для розробника є нескінченна петля етапів 5–6, вийти з якої можна, тільки змінивши структуру задачі, наприклад, переформулювавши її.

На рис. 1.4. ділянка 7–10 являє собою *модель лінійної стратегії*. Лінійну стратегію можна застосовувати, якщо проектна задача повністю сформульована, зв'язок між окремими частинами задачі вже визначений і необхідно внести лише окремі незначні зміни в об'єкт. При подоланні циклічних зв'язків циклічна стратегія перероджується в лінійну, відповідно трансформується проектна задача на даному етапі.

Окремий випадок лінійної стратегії являє собою стратегія оптимізаційного проектування. Стратегія оптимального пошуку лежить в основі рішення задач параметричної оптимізації, які пов'язані з вибором найбільш ефективних за прийнятим критерієм значень режимних параметрів для заданої (розробленої або готової) структури об'єкту. Інший клас задач оптимізаційного проектування складають задачі структурної оптимізації, тобто знаходження оптимального варіанту структури об'єкта, яка визначається характером зв'язків між його складовими частинами і їх структурою (виглядом).

Таким чином, рішення задачі структурної оптимізації зводиться до розгляду деякої безлічі варіантів концепції об'єкту. Розгляд кожного варіанту включає в загальному випадку **три основні процедури**, що виконуються на етапі інженерного аналізу: *пошук (вироблення) варіанта, його оцінка і прийняття рішення про припинення або продовження пошуку*. Очевидно, останні дві процедури пов'язані з приведенням параметричної оптимізації і передбачають формування математичних моделей для кожного окремого варіанту структури.

Потрібно зазначити, що вирішення задачі оптимізаційного синтезу складних об'єктів мегакомплексів на пряму практично нездійсненне навіть із застосуванням сучасної обчислювальної техніки. Один з опосередкованих шляхів базується на створенні спрощених алгоритмів на основі розробки наближених математичних моделей і критеріїв переважних (оптимальних) варіантів, що легко перевіряються за умови необхідної достовірності результатів розрахунку.

Інший шлях рішення таких задач – застосування блоково-ієрархічного підходу. Він полягає у тому, що синтез складного об'єкту здійснюють не відразу цілком, а відповідно до рівня проектування. Якщо на кожному з m рівнів проектування існує n можливих варіантів структури проекту, то задача зводиться до оптимального за прийнятим для цього рівня критерієм вибору одного з варіантів. Число проб при переборі варіантів на всіх m рівнях дорівнює mn . У процесі повного обстеження простору пошуку довелося б зробити n^m проб. Такий підхід дозволяє досягнути тільки локального оптимуму на кожній технологічній стадії об'єкту, і лише потім вирішується задача оптимізації об'єкта загалом. Конкретні шляхи вирішення

задач структурного синтезу вибирають залежно від рівня їх складності.

У літературі виділяють ***п'ять рівнів складності***. До задач *першого рівня складності* відносять такі, де власне синтез відсутній, оскільки структура об'єкту або визначена у технічному завданні, або її вибір однозначний, або очевидний. Рішення цих задач зводиться до рішення задач параметричної оптимізації.

До *задач другого рівня складності* відносять задачі вибору варіанту з кінцевої множини (наприклад, стандартизованих або уніфікованих варіантів структури об'єкту), в якій всі елементи (складові частини об'єкту) заздалегідь відомі. Ця величина не дуже значна і є можливість перебрати і порівняти всі варіанти за визначений час. Для рішення цих задач використовують каталоги структур (типових рішень) об'єкта загалом або каталоги структур його складових частин у вигляді пакету (бібліотеки) типових варіантів структури системи інформаційного забезпечення автоматизованого проектування.

До *задач третього рівня складності* відносять задачі вибору варіанту з кінцевої, але великої для повного перебору і порівняння множини варіантів, у якій всі варіанти відомі. Зазвичай такі задачі виникають внаслідок штучного обмеження безлічі варіантів. Характерними прикладами служать задачі розміщення, трасування. До вирішення таких задач можна підійти двояко: або вирішувати їх за допомогою алгоритмів спрямованого перебору, або звести до другого рівня складності, звузивши простір пошуку при формулюванні вихідних даних.

До *задач четвертого рівня складності* відносять задачі вибору варіанту з множини із заздалегідь невідомою або взагалі нескінченною кількістю варіантів, де тільки частина варіантів відома. Часто це задачі взаємного розташування складових частин об'єкту, вони мають різноманітність варіантів, що не піддаються повному обліку рішень. Такі задачі виникають у новаторському проектуванні. Так само, як і в попередньому випадку, тут можна знизити рівень складності задачі, однак тоді будуть отримані тільки вже відомі варіанти структури. Для отримання принципово нових рішень необхідно застосовувати неформальні або частково формалізовані евристичні методи.

Задачі структурного синтезу перших трьох рівнів складності вирішують за допомогою конкретних методів і алгоритмів математичного програмування, заснованих на стратегії оптимального пошуку. Однак на відміну від задач параметричного синтезу, де частина задач можна безпосередньо вирішити за допомогою методів оптимізації безперервних об'єктів, задачі структурного синтезу вирішують за допомогою апарату дискретного або частково дискретного математичного програмування, оскільки параметри реального об'єкту проектування мають переважно дискретний характер.

Стратегія оптимального пошуку належить до так званих готових стратегій і складає методологічну основу еволюційного розвитку підсистеми програмного забезпечення систем проектування.

На відміну від задач структурної оптимізації перших двох рівнів складності, де рішення знаходять в межах однієї спеціальності або однієї галузі техніки і задач третього рівня, де рішення можна знайти у суміжних або в інших галузях, рішення задач структурного синтезу четвертого рівня потрібно шукати не в техніці, а у сфері науки – зазвичай серед нетрадиційних фізичних і хімічних ефектів і явищ.

Способи вирішення *задач п'ятого рівня складності* можуть взагалі виявитися за межами сучасних знань. Ці задачі не піддаються алгоритмізації, і планувати їх рішення не можна. Однак це не означає, що інженер, який встановив і обґрунтував потребу у вирішенні такого роду задачі, повинен припинити свої спроби.

Рішення *задач структурного синтезу п'ятого рівня складності* спираються на принципово нові наукові результати фундаментального і прикладного характеру. У задачах структурного синтезу четвертого і п'ятого рівнів складності процедури оцінки і вибору остаточного рішення відіграють допоміжну роль, тим більше що суворого вирішення задачі оптимізації тут отримати не вдається. Найбільшу значущість набуває процедура вироблення принципово нових концепцій структури об'єкту проектування. Цю процедуру можливо формалізувати і частково передати обчислюваному комплексу – машині, в якій частина процедур обробки інформації може бути описана у вигляді алгоритмів і запрограмована для ЕОМ.

Якщо проектну задачу від початку можна розділити на ряд часткових і об'єкт проектування представити у вигляді потокової системи із заздалегідь заданими вхідними і вихідними впливами, то розробник повинен користуватися готовими стратегіями. Однак велика кількість задач проектування взагалі не піддаються розділенню, оскільки при цьому спотворюються складні характеристики об'єкту. Такі ситуації виникають, коли окремі функції не розділені між спеціалізованими вузлами – стадіями об'єкта, а складним і часто непередбачуваним чином розподілені по всьому об'єкту. Суворі математичні методи тут вже безсилі, й інженер повинен знайти розумний компроміс, покладаючись тільки на особистий досвід і інтуїцію. У цих випадках розробник повинен користуватися неформалізованими проектними методами.

Суворих рекомендацій щодо застосування методів і стратегій проектування немає. Вибір найбільш раціональних дій у проектній ситуації визначається досвідом і знаннями керівників проектів.

1.4. Стадії процесу проектування

Процес проектування розпадається на три основні, логічно об'єднані стадії.

Перша стадія проектування – **дивергенція** – аналіз або розподіл задачі на елементи. Це стадія розширення меж проектної ситуації необхідна для забезпечення досить широкого простору пошуку проектного рішення. На цій

стадії здійснюється пошук інформації, проводиться аналіз проєктних рішень та інше.

Друга стадія проєктування – **трансформація** – ефективний творчий синтез ідей в єдине ціле. Це стадія об'єднання думок розробників у рішення, концепції, які повинні відображати реальні експлуатаційні, економічні і соціальні аспекти проєктної ситуації. Для того, щоб композиція елементів, що об'єднуються, стала оригінальною, синтез повинен бути неодмінно творчим (хоч самі елементи можуть і по можливості повинні бути уніфікованими, тобто не вимагати додаткових суспільних витрат). Це найоб'єктивніша і найбільш творча стадія проєктування. Суттю трансформації є те, що називають творчим актом. Творчий акт не піддається формалізації, він тісно пов'язаний з процесами психіки людини.

Третя стадія – **конвергенція** – настає, коли задача визначена, змінні знайдені і критерії вибору фактично встановлені. На цій стадії розробник вирішує другорядні протиріччя і з багатьох альтернативних варіантів залишається один, який і буде представлений для прийняття рішення.

Незважаючи на принципову відмінність у меті розглянутих стадій і способах їх здійснення, розробники на кожному етапі проєктування використовують і аналіз, і синтез, і оцінку (вибір). Наприклад, на етапі розподілу продукції розробники прагнуть її розширити, вивчаючи реакцію споживачів, сфери збуту, виробництва тощо. Те ж відбувається на етапі експлуатації об'єкту. На етапі виявлення потреби зміни ситуації, що склалася, заздалегідь оцінюють наслідки її задоволення. На етапі інженерного аналізу співіснують і трансформація, і конвергенція та інші блоки.

Розробники проєкту завжди зобов'язані пам'ятати, що проєктування повинно базуватися на двох принципах: еволюційна зміна існуючого і створення нового. Еволюційні зміни характерні для початкових етапів розвитку промислового виробництва, коли асортимент продукції був малий, технологія удосконалювалася повільно і ризик капіталовкладень був невеликий. У наш час проєктування спрямовано на безперервне створення нової продукції. Така практика пов'язана з великим ризиком, оскільки немає попереднього досвіду, який би дозволив приймати рішення. Розробникам потрібно дотримуватися правила: менше винаходити, більше проєктувати, тобто не винаходити те, що вже винайдене і не вносити важко передбачувані зміни в об'єкти, що проєктуються.

1.5. Поняття про системи автоматизованого проєктування

Один з основних напрямів прискорення впровадження науково-технічних досягнень у практику – автоматизація проєктно-конструкторських робіт під час створення нових технологічних ліній і виробництв. Із цією метою інтенсивно розвиваються роботи зі створення в різних галузях промисловості **систем автоматизованого проєктування (САПР)**.

Залежно від кола розв'язуваних завдань розрізняють САПР:

біотехнологічних виробництв у цілому, окремих апаратів і установок, систем контролю та управління і т.д.

Відповідно до структури інженерного проектування розглянемо лише технологічне проектування як елемент проектування біотехнологічного виробництва та використання САПР. Для оцінювання функції САПР, розглянемо основні етапи ручного проектування за якого, як правило, використовують *креслярський метод*. Процес підготовки проектної документації будь-якого об'єкта включає етапи:

- *передпроектної розробки (ескізного проекту);*
- *власне проектування (техно-робочий проект).*

Під час *передпроектної розробки* біотехнологічного процесу вирішують наступні завдання:

- вибір і обґрунтування схеми біосинтезу цільового продукту, включаючи вибір типів сировини, штаму мікроорганізмів, методу утилізації або знешкодження відходів;
- вибір і обґрунтування основних технічних рішень (технологічної схеми, типів основного устаткування) і орієнтовна оцінка техніко-економічних показників виробництва;
- вибір району будівництва й обґрунтування доцільності будівництва проектного об'єкта.

Результатами передпроектної розробки є формулювання технічного завдання (ТЗ) на проектування об'єкту, складання технологічного регламенту й техніко-економічне обґрунтування ефективності виробництва.

Етап *техно-робочого проектування* включає:

- вибір і розрахунок допоміжного устаткування;
- вибір об'ємно-планувальних архітектурних рішень, проектування виробничих приміщень із прив'язкою до рельєфу обраного будівельного майданчика, компонування устаткування;
- уточнення техніко-економічних показників проектного об'єкта та визначення його кошторисної вартості;
- підготовка документації для будівництва та експлуатації об'єкту.

Під час розробки *техно-робочого проекту* не приймають принципово нових рішень. Тут важлива погоджена робота фахівців різного профілю. Автоматизація цього етапу в меншому ступені впливає на ефективність функціонування проектного об'єкта, проте істотно полегшує роботу проектувальника, скорочує строки проектування в результаті виключення великої кількості рутинних операцій.

Найважчою та найбільш трудомісткою є етап *передпроектної розробки*; на цьому етапі вирішуються принципові питання, від яких в основному залежать якість проекту й ефективність роботи створюваного об'єкта.

Як приклад розглянемо вибір *оптимальної технологічної схеми виробництва* на стадії *ескізного проектування*.

Відомі два основних підходи до автоматизації її вирішення:

•*евристичний* – заснований на формалізації у вигляді машинних алгоритмів технологічних принципів, якими користуються у роботі проєктувальники;

•*застосування САПР* для вибору оптимальної технологічної схеми, що припускає використання математичних методів оптимізації та відмову від евристичних прийомів.

У цьому випадку для побудови оптимальної технологічної схеми потрібно перебрати всі можливі типи апаратів для кожної стадії, способи їхнього з'єднання й визначити оптимальні режимні параметри для всіх стадій.

Як правило, у САПР використовують методи розрахунку, засновані на сполученні двох підходів. наприклад, запропонований дворівневий підхід, у якому вибір *оптимальної технологічної схеми* здійснюють за допомогою програми, аналогічній програмі для гри в шахи.

Після вибору *оптимальної технологічної схеми* виробництва та майданчику для будівництва об'єкту в САПР вводять дані про цю схему і про будівельний майданчик (рельєф, ґрунт, транспортні шляхи й т.д.). Після введення цих даних переходять до проєктування наступних *підсистем*:

- транспортної (технологічних трубопроводів, каналізації, вентиляції, водо- і енергопостачання, під'їзних колій);
- складської (сховищ, складів і ін.);
- вимірювально-керуючої (АСУВ, АСУТП);
- будівельної (прийняття архітектурно-планувальних рішень і проєктування виробничих приміщень).

Принцип дії та структура кожної підсистеми визначаються технологією основного виробництва. Процедури їхньої розробки стандартизовані, тому процес може бути повністю або в значній мірі автоматизований (рис.1.6). Для цього в пам'ять ЕОМ вводять набір нормативів і довідкових матеріалів, якими зазвичай користуються проєктувальники. Це нормативи для вибору діаметрів і довжин трубопроводів, запірно-регулюючої арматури, насосів і т.п. для проєктування систем енерго- і теплопостачання, рекомендації зі створення автотранспортного господарства та інше.

Для кожного об'єкту на підставі довідкових даних за допомогою програми формуються якісні та числові параметри, графічні моделі (рис. 1.5), і після розрахунку ЕОМ видає проєктну документацію.



Рис 1.5. Приклади використання САПР при розміщенні окремих апаратів (3D-проектування)

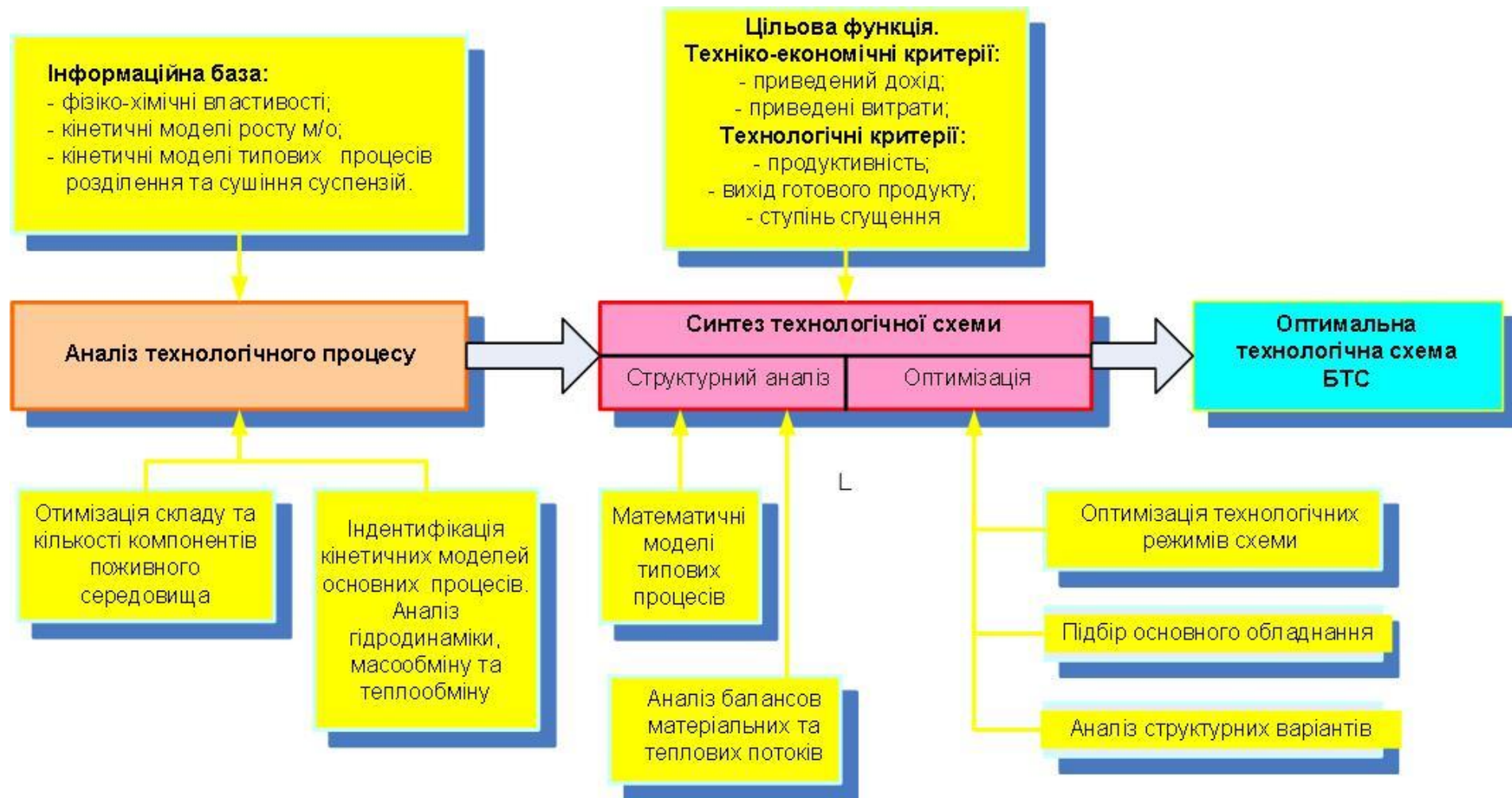


Рис. 1.6. Основні етапи автоматизованого технологічного проєктування біотехнологічних систем

Запитання для самоперевірки

1. Наведіть характеристику загальних принципів проєктування.
2. Які існують організаційні форми та види проєктування?
3. Креслярський метод проєктування: переваги та недоліки.
4. Сутність програмно-цільового підходу до проєктування.
5. Дайте характеристику програмно-цільової структури проєктування: блок-схеми, етапи.
6. У чому полягає сутність САПР?

Список літератури до розділу 1

1. ДСТУ 8634:2016. Система розроблення та поставлення продукції на виробництво. Настанови щодо розроблення та поставлення на виробництво нехарчової продукції [Текст]. - На заміну ДСТУ ГОСТ 15.001:2009, ДСТУ ГОСТ 15.005:2009, ДСТУ ГОСТ 15.009:2009, ДСТУ ГОСТ 15.311:2009 ; Чинний від 2018-01-01. - Київ : УкрНДНЦ, 2016. - III, 17 с.
2. Сидоров, Ю.І. Процеси і апарати мікробіологічної та фармацевтичної промисловості. Технологічні розрахунки. Приклади і задачі. Основи проєктування: Навч. посібник. / Ю.І. Сидоров, Р.Й. Влязло, В.П. Новіков- Львів: «Інтелект-Захід», 2008.- 736 с.
3. Biomechatronic Design in Biotechnology: A Methodology for Development of Biotechnological Products / Carl-Fredrik Mandenius, Mats Björkman: First published: 15 July 2011 DOI:10.1002/9781118067147 Copyright © 2011 John Wiley & Sons, Inc.

Розділ 2. КЛАСИФІКАЦІЯ МІКРОБІОЛОГІЧНИХ ВИРОБНИЦТВ. СТРУКТУРА МІКРОБІОЛОГІЧНОГО (БІОТЕХНОЛОГІЧНОГО) ВИРОБНИЦТВА

Базою мікробіологічних (біотехнологічних) виробництв є процеси мікробного біосинтезу, за допомогою яких одержують біологічно активні речовини (БАР), виробництво яких хімічним шляхом або неможливо, або економічно недоцільно. Оскільки у цьому початковому посібнику ми будемо розглядати в основному процеси отримання продуктів мікробного синтезу, то усі технології та виробництва отримання БАР за використання потенціалу мікробних клітин, будемо називати «мікробіологічними виробництвами», оскільки термін «біотехнологічні виробництва» є більш широким.

Переваги мікробіологічних способів одержання БАР полягають у тому, що основні технологічні процеси здійснюються за невисокої температури (20...40°C) і атмосферному тиску, з використанням недорогої та доступної сировини, у багатьох випадках відходів інших виробництв.

Мікробіологічні процеси мають наступні особливості:

- процес мікробного синтезу, як правило, є частиною багатостадійного виробництва, причому цільовий продукт стадії біосинтезу, як правило, не є товарним, а підлягає подальшій переробці;
- культивування мікроорганізмів здійснюють у гетерогенних багатофазних системах, реологічні і фізико-хімічні властивості яких у ході процесу можуть істотно змінюватися;
- технологічний процес характеризується високою варіабельністю через наявність у системі біологічного об'єкта, тобто популяції мікроорганізмів;
- складність біохімічних механізмів регуляції росту мікроорганізмів і біосинтезу продуктів метаболізму, ферментативний характер регуляції;
- складність і в більшості випадків невизначеність хімічного складу ферментаційних середовищ;
- автокаталітичний характер процесу, тобто вплив продуктів, що утворюються (у тому числі біомаси) на швидкість протікання процесу;
- відносно низькі концентрації субстратів, продуктів і швидкості реакцій;
- здатність процесу до саморегулювання;
- умови, оптимальні для росту мікроорганізмів і для біосинтезу цільових продуктів їхнього метаболізму, не завжди збігаються.

Відповідно мікробіологічні процеси характеризуються рядом істотних відмінностей.

По-перше, процеси мікробного синтезу здійснюються за допомогою різних продуцентів:

- автотрофних, гетеротрофних, аеробних і анаеробних бактерій,
- грибів, у тому числі і дріжджових,
- клітин тваринних і вищих рослин.

По-друге, мікробіологічні процеси, як правило, мають відбуватися у суворо асептичних умовах, що виключають інфікування сторонньою мікрофлорою ферментаційного середовища (виробництво ферментів, антибіотиків, амінокислот тощо).

По-третє, за агрегатним станом ферментаційного середовища мікробіологічні процеси поділяються на процеси :

- *поверхневого та глибинного культивування.*

Крім того, є відмінності, пов'язані з видом субстратів, що використовуються у процесах культивування мікроорганізмів:

- *речовини, розчинні у воді;*
- *газоподібні (кисень, водень, метан);*
- *тверді (кукурудзяне й соєве борошно, целюлоза й ін.); слабозрочинні рідкі (вуглеводні нафти).*

Ці відмінності визначають апаратурне оформлення мікробних процесів і впливають на технологію мікробіологічного виробництва в цілому.

Розробка *оптимальної технології* певного виду продукції або утилізації відходів, що утворюються, складна науково-технічна проблема, для вирішення якої необхідно :

- вибрати або селекціонувати культуру мікроорганізмів, здатну з максимально можливою швидкістю синтезувати біомасу або необхідний продукт метаболізму (метаболіт);
- вибрати сировину, що містить речовини необхідні для росту використовуваної культури та біосинтезу цільового продукту;
- вибрати або сконструювати апарат (ферментер), оснащений відповідними комунікаціями і допоміжним устаткуванням, придатний для вирощування даної культури;
- розробити систему контролю і керування, що забезпечує оптимальні умови процесу;
- підібрати відповідне обладнання та розробити технологію виділення і очищення цільового продукту, пакування препарату.

Проектування виробництва будь-якої продукції завжди починається з вибору *технологічної схеми*. В основі мікробіологічного одержання БАР лежать процеси росту та розвитку мікробних культур. При цьому необхідно зазначити, що одну і ту саму речовину можуть синтезувати різні види мікроорганізмів, крім того, продукти мікробного походження в основному лабільні і можуть бути різної чистоти. Все це свідчить про те, що розробка технології одержання різноманітних БАР– процес досить складний і потребує врахування специфіки конкретного виду мікроорганізму, властивостей самого продукту.

Враховуючи складність мікробіологічних процесів та їх технологічної реалізації загальноприйнята класифікація мікробіологічних виробництв на їх основі нині відсутня. Можливі варіанти класифікації мікробіологічних виробництв розглянуто нижче.

2.1. Класифікація мікробіологічних виробництв

Найпростішим є розподіл на підставі виду цільової продукції (*типу готових препаратів*), що випускаються:

- білкові препарати - кормові й хлібопекарські дріжджі, білково-вітамінні концентрати;
- біологічно активні речовини (амінокислоти, вітаміни, антибіотики різного призначення, ферменти, гормони, тощо);
- органічні кислоти (лимонна, оцтова, молочна й ін.);
- біодобрива і засоби захисту рослин.

Класифікація мікробіологічних виробництв за *типом готових препаратів* не є універсальною і з ростом числа готових форм препаратів, що випускаються, стає занадто громіздкою. Крім того вона не враховує спільність і особливості використовуваних мікроорганізмів-продуцентів, які в основному визначають технологічний процес виробництва біопрепаратів.

Іншим підходом є класифікація мікробіологічних виробництв за *історією виникнення та ускладнення*:

- процеси одержання продуктів харчування – хлібопечення, приготування напоїв;
- бродильні виробництва, за допомогою яких одержують багато органічних кислот, розчинників, органічної сировини (виробництво в нестерильних умовах);
- біотехнологічні процеси за допомогою спеціального устаткування - для очищення стічних вод, знешкодження відходів виробництва, тобто дані процеси переважно знаходять застосування у сфері екології (нестерильні умови);
- отримання у промислових умовах біологічної маси для кормових та технічних цілей: дані процеси вимагають застосування спеціального обладнання та реалізуються у нестерильних умовах;
- одержання мікробної біомаси в асептичних умовах;
- виробництво мікробних метаболітів для одержання антибіотиків, ферментів, органічних кислот, полісахаридів тощо (стерильні умови процесу, потрібне складне обладнання для отримання та очищення цільового продукту);
- використання іммобілізованих ферментів чи клітин;
- біотрансформація органічних речовин;
- культивування клітин багатоклітинних організмів (клональне розмноження тощо);
- застосування мікробіологічних процесів у нетрадиційних біологічних областях – вилуговування металів, видалення метану з шахт, збагачення руд, підвищення нафтовіддачі пластів.

Класифікація мікробіологічних виробництв, що базується на рядістотних відмінностей мікробіологічних процесів, схематично представлена на рис. 2.1.

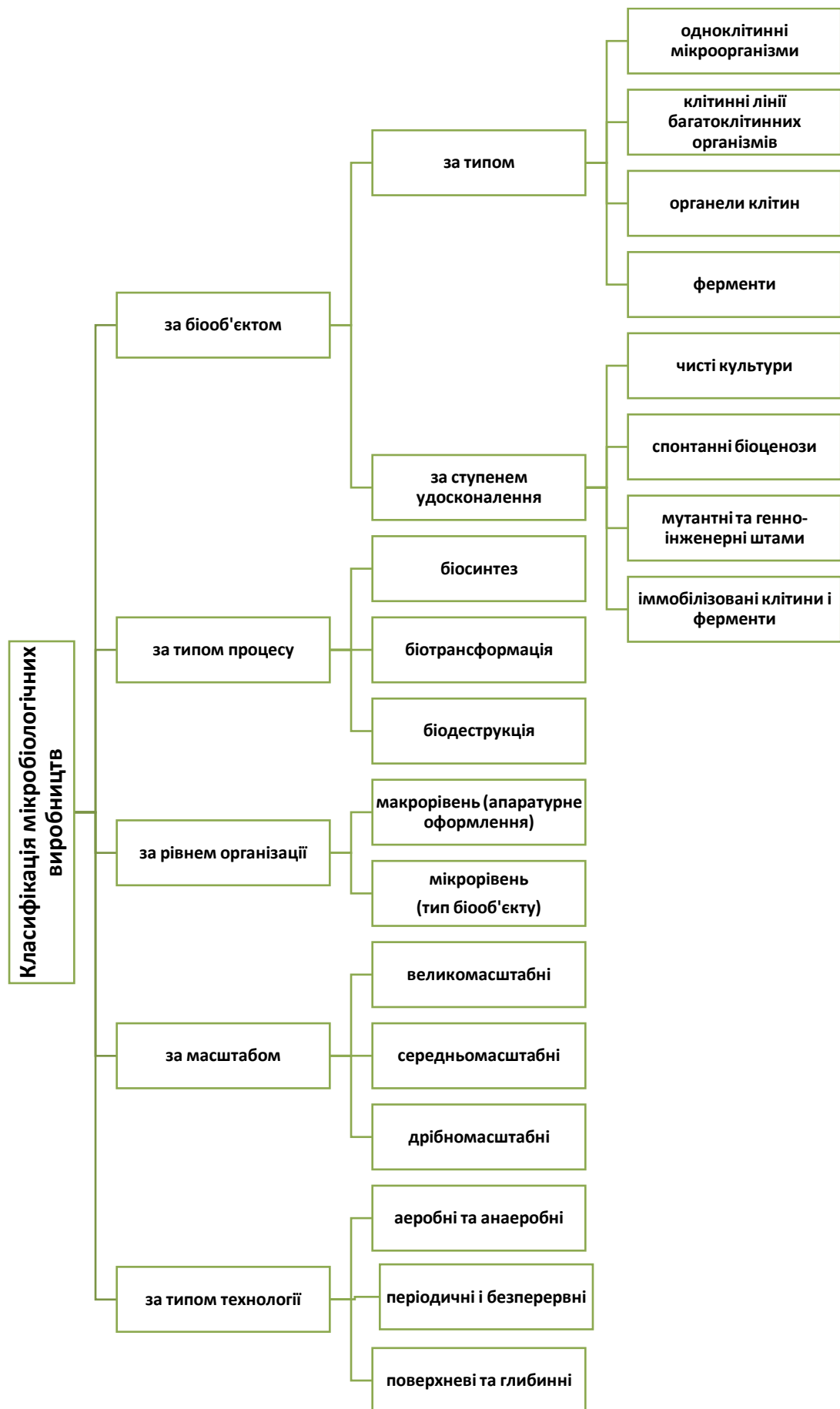


Рис. 2.1. Класифікація мікробіологічних виробництв

У межах виділених типів виробництва можуть бути згруповані, наприклад, за типом використовуваних мікроорганізмів: на *аеробні або анаеробні*; за організацією процесу їхнього культивування: *наперіодичний або безперервний*, тощо.

2.1.1. Класифікація за біооб'єктом

Отже, в основу класифікації мікробіологічних виробництв можуть бути покладені різні принципи, наприклад, оцінка приналежності біологічних агентів до надцарств живих організмів (рис. 2.1).

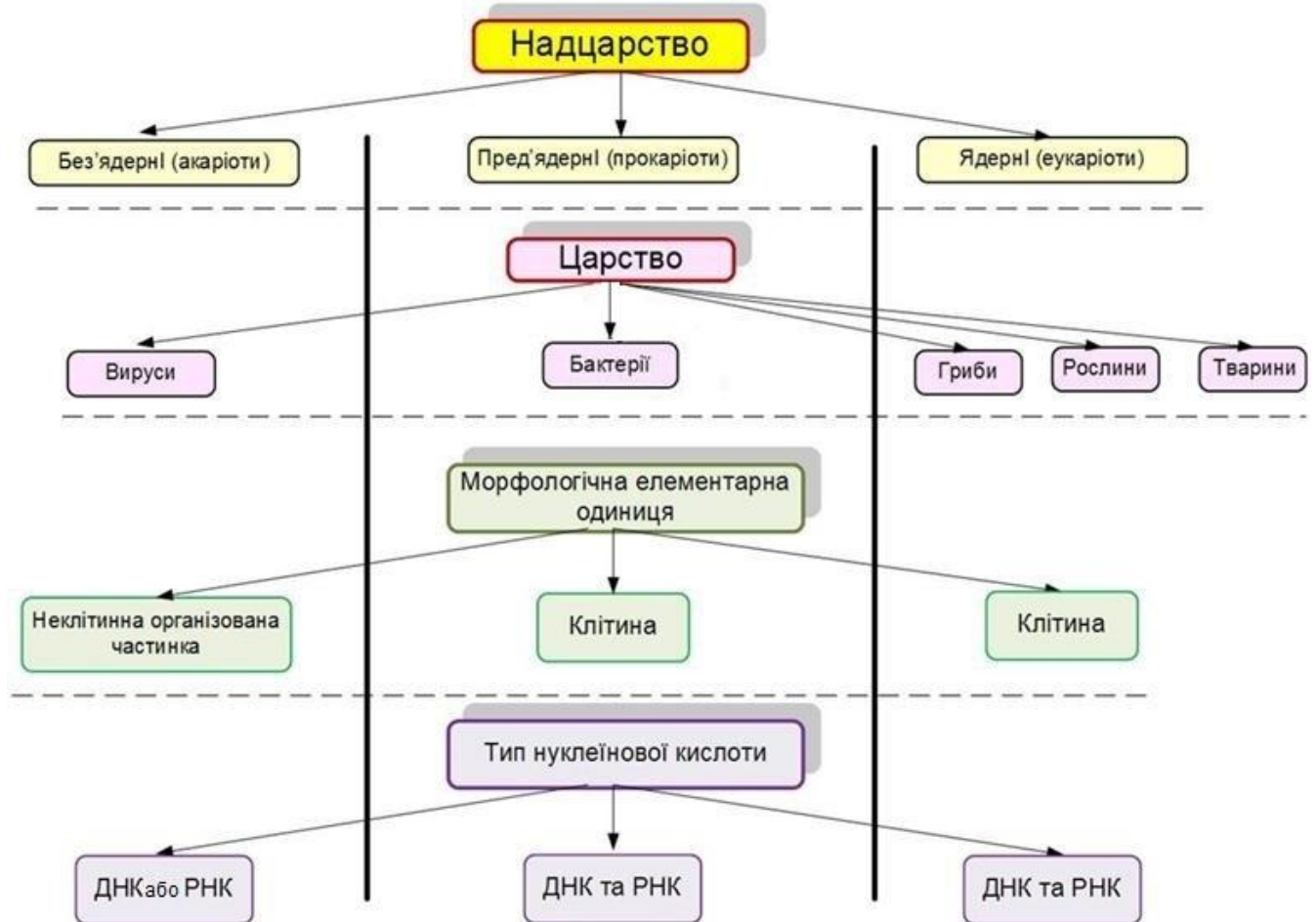


Рис.2.1. Класифікація біооб'єктів мікробіологічних виробництв

Для усіх біооб'єктів характерними є показники рівня структурної організації, здатність до розмноження (або репродукції), наявність або відсутність власного метаболізму за умов культивування.

Щодо структурної організації біооб'єкти можуть бути *молекулами* (ферменти, нуклеозиди, нуклеотиди, оліго- і поліпептиди, імуномодулятори, тощо),

організованими частинками (віруси, бактеріофаги),

одноклітинними (бактерії, дріжджі) і *багатоклітинними* (нитчасті гриби, культури клітин рослинних і тваринних тканин) *організмами*.

Незалежно від систематичного положення використовують біооб'єкти із природною генетичною інформацією або клітини з штучно зміненою

генетичною інформацією.

Таким чином, діапазон різноманітності біооб'єктів мікробіологічних виробництв надзвичайно широкий, що значно ускладнює їх класифікацію і зумовлює різноманіття підходів до проєктування біотехнологічних виробництв.

Для процесу проєктування біотехнологічних процесів важливими параметрами біооб'єктів є: чистота культури (відсутність сторонніх контамінантів), швидкість розмноження клітин (репродукції вірусних часток), активність і стабільність молекул або біосистем (органел).

Проєктування біотехнологічних процесів, які базуються на використанні ферментів як біооб'єктів (в ізольованому або іммобілізованому стані) викликає необхідність здійснення заходів щодо запобігання їх деструкції внаслідок дії як абіотичних, так і біотичних факторів, зокрема контамінантів, які можуть проникати ззовні внаслідок нестерильності системи, наприклад, через негерметичність обладнання.

2.1.2. Класифікація за типом процесу

Основним визначним принципом організації будь-якого мікробіологічного виробництва є вимога до його *асептичності*. За цим критерієм всі виробництва ділять на дві групи:

- *умовно асептичні*;
- *суворо асептичні*.

До *умовно асептичних* належать виробництва, які допускають наявність сторонньої мікрофлори в технологічному процесі:

- одержання білково-вітамінних концентратів та інших кормових препаратів;
- культивування їстівних грибів, тощо

До *суворо асептичних* відносять виробництва, на всіх етапах яких повинен бути забезпечений найвищий ступінь захищеності від сторонньої мікрофлори і продуктів її життєдіяльності. Це виробництво антибіотиків, вакцин, кровозамінників і т.д.

Залежно від *мети проведення* мікробіологічні процеси можна розділити на наступні групи:

- біосинтез (культивування), де цільовим продуктом є сама біомаса мікроорганізмів або її компоненти (виробництво кормових біомас або її компонентів, компонентів заквашувальних композицій, вакцин й ін.);
- біосинтез позаклітинних продуктів метаболізму (виробництво спирту, оцтової й лимонної кислот, амінокислот, антибіотиків, екзоферментів і ін.);
- біотрансформація – процеси, у яких мікроорганізми та їхні компоненти використовуються як біокатализатори для здійснення тонких хімічних реакцій (виробництво 6-амінопеніцилланової кислоти, гормональних препаратів);
- біодеструкція – вибіркова утилізація деяких компонентів із суміші (депарафінізація нафти, біологічне очищення стічних вод);

• мікробіологічне видобування цінних елементів з руд (біогеотехнології, біометалургія).

Приклади конкретних мікробіологічних виробництв різних типів наведені у табл. 2.1

Таблиця 2.1.

Класифікація мікробіологічних виробництв за типовими процесами

Тип процесу	Цільові продукти	Назви цільових продуктів або процесів
Біосинтез	Метаболіти: преметаболіти	Амінокислоти
		Нуклеозиди
		Нуклеотиди
	первинні	Нуклеїнові кислоти
		Ферменти
	вторинні	Алкалоїди
		Антибіотики
		Гіббереліни
		Глікани та глікокон'югати, органічні кислоти, кетони, спирти
		Ліпіди
		Амінокислоти, пептидні гормони
	Клітинна маса	Пекарські і пивні дріжджі
		Кормовий і харчовий білок
		Вакцини і антигенні речовини
Трансформація	Неорганічні речовини	Виявлення металів
		Збагачення металів
	Переважно органічні речовини	Компостування відходів, одержання біогазу
		Детоксикація, дезодорація та знешкодження, наприклад, ПАВ (поліциклічних ароматичних вуглеводнів)
		Визначення (аналіз) речовин за продуктами трансформації
		Кисломолочні продукти і сири
		Хлібно-булочні вироби
		Квашення й соління овочів
		Силосування кормів
		Вимочування льону та джуту
		Ферментація тютюну, кави, какао, маслин
		Пивоваріння, виноробство

У процесі біосинтезу має місце конструктивне або адаптивне утворення метаболітів, що належать до преметаболітів, первинних або вторинних метаболітів. У процесах біотрансформації має місце видозміна певної молекули – попередника кінцевого продукту або перетворення одного продукту в інший.

2.1.3. Класифікація за рівнем організації

У мікробіологічних виробництвах *на макрорівні* за умовами проведення процесів виділяють *одноступінчасті*, *двоступінчасті* та *багатоступінчасті*

мікробіологічні процеси. Одноступінчасті проводяться, наприклад, при одержанні 6-амінопеніциланової кислоти (6-АПК) із бензилпеніциліна за допомогою пеніцилінацилази, або пеніцилінамідази на колонах, що містять іммобілізований фермент. Двоступінчасті процеси базуються на використанні клітин, що перебувають у різному фазовому стані (у трофофазі та ідіофазі). Так, наприклад, *двоступінчастий мікробіологічний процес* можливий при одержанні полісахарида курдлану: на першому шаблі вирощують продуцент (*Alcaligenes faecalis* var. *typhogenes*) на поживному середовищі, підтримуючи його в трофофазі; на другому шаблі культуру переносять в інший біореактор, де немає поживного середовища, але є глюкоза з якої синтезується курдлан. Багатоступінчасті процеси властиві генетичній інженерії та ДНК-біотехнології.

Класифікацію мікробіологічних виробництв *на мікрорівні* докладно розглянуто у п.2.1.1.

2.1.4. Класифікація за масштабом

Нині у найбільших обсягах випускається біопродукція, необхідна для розвитку сільського господарства. Вона становить близько 70 % загального обсягу. Великими споживачами продукції мікробіологічної промисловості є також інші галузі агропромислового комплексу, а також фармацевтична, хімічна та легка галузі промисловості. З цим пов'язані і масштаби організації мікробіологічних виробництв.

До *великомасштабних* слід віднести мікробіологічні виробництва таких цінних кормових добавок і біологічно активних речовин як кормовий білок, кормові амінокислоти, ферменти, вітаміни тощо; безвідходні і екологічно безпечні технології утилізації і біоконверсії сільськогосподарських, промислових, побутових відходів для одержання енергоносіїв (біогазу).

До *середньомасштабних* варто віднести виробництва засобів захисту рослин від хвороб і шкідників; бактеріальних добрив і регуляторів росту рослин; виробництво деяких біологічно активних речовин і лікарських препаратів для медичних потреб і ветеринарної медицини (антибіотиків, високоочищених ферментів, інтерферонів, інсуліну); технологій одержання цінних продуктів для використання у харчовій, хімічній, мікробіологічній та інших галузях промисловості;

До *дрібномасштабних* слід віднести виробництва одержаних методами генетичної і клітинної інженерії індивідуальних продуктів: гормонів росту людини, моноклональних антитіл, вакцин тощо для ефективної профілактики, діагностики і лікування.

2.1.5. Класифікація за типом технології

У мікробіологічній промисловості застосовуються різні продуценти, зокрема *аеробні та анаеробні* мікроорганізми. *Анаеробні мікроорганізми* використовуються вкрай рідко, в основному для очищення стоків. Анаероби здійснюють розкладання біомаси мікроорганізмів, що утворюється в

біофільтрах і аеротенках. Інтерес до анаеробних процесів підвищився у зв'язку з перспективами виробництва біогазу. *Аеробні мікроорганізми* як у вигляді чистих, так і змішаних культур у промисловості застосовують дуже широко.

Істотний вплив на схему виробництва, крім виду використовуваного мікроорганізму, здійснює спосіб його культивування: *періодичний або безперервний*.

Безперервний процес має численні переваги перед *періодичним*, однак він реалізований лише при проведенні так званих *умовно стерильних процесів*: у виробництві кормових дріжджів і при біологічному очищенні промислових стоків. Це пояснюється чисто технічними причинами, оскільки у безупинно працюючому ферментері складніше підтримувати асептичні умови тривалий час. Крім того, економічна ефективність *безперервного процесу* знижується за умов виробництва у відносно невеликих обсягах, що характерно для технологій одержання більшості продуктів мікробного синтезу.

Застосування *періодичного культивування* дає більш широкі можливості переходу виробництва з випуску одного виду продукту на інший. Така універсальність необхідна для багатьох підприємств мікробіологічної промисловості.

У мікробіологічних виробництвах за умовами проведення процесу, а саме за *фазовим станом інгредієнтів* мікробіологічного виробництва розрізняють *твердофазні процеси*, наприклад, при флуїдизації або протеїнізації грубих кормів на основі соломи злакових рослин за участю деяких грибів, одержання тканинних культур лікарських рослин на щільних середовищах, з яких потім екстрагують діючі речовини; виробництво сиру з білків молока та ін.; *газофазні процеси*, засновані на використанні газу (наприклад, метану) для одержання мікробного білка за допомогою асоціацій *метилотрофних бактерій*.

Класифікація мікробіологічних процесів на *керовані і некеровані* спирається на глибину та масштабність контролю, здійснюваного із застосуванням засобів автоматики та ЕОМ. До переліку *некерованих* процесів можна віднести, наприклад, ті, що спонтанно відбуваються під час компостування щільних відходів у тваринницьких комплексах і фермах. До *керованих* належать всі виробничі процеси, засновані на використанні мікробних, рослинних і тварин клітин. При цьому рівень керування може бути двояким - операторським і автоматичним. У першому випадку підтримка заданих режимів здійснює оператор, у другому – через відповідні контрольно-вимірювальні прилади, автомати, ЕОМ.

2.2 Структура біотехнологічної системи

Реалізація мікробіологічних виробництв проводиться на базі технологічних комплексів, що носять назву – *біотехнологічна система (БТС)*

іякі створюються для виробництва певного продукту мікробного синтезу (рис. 2.2).

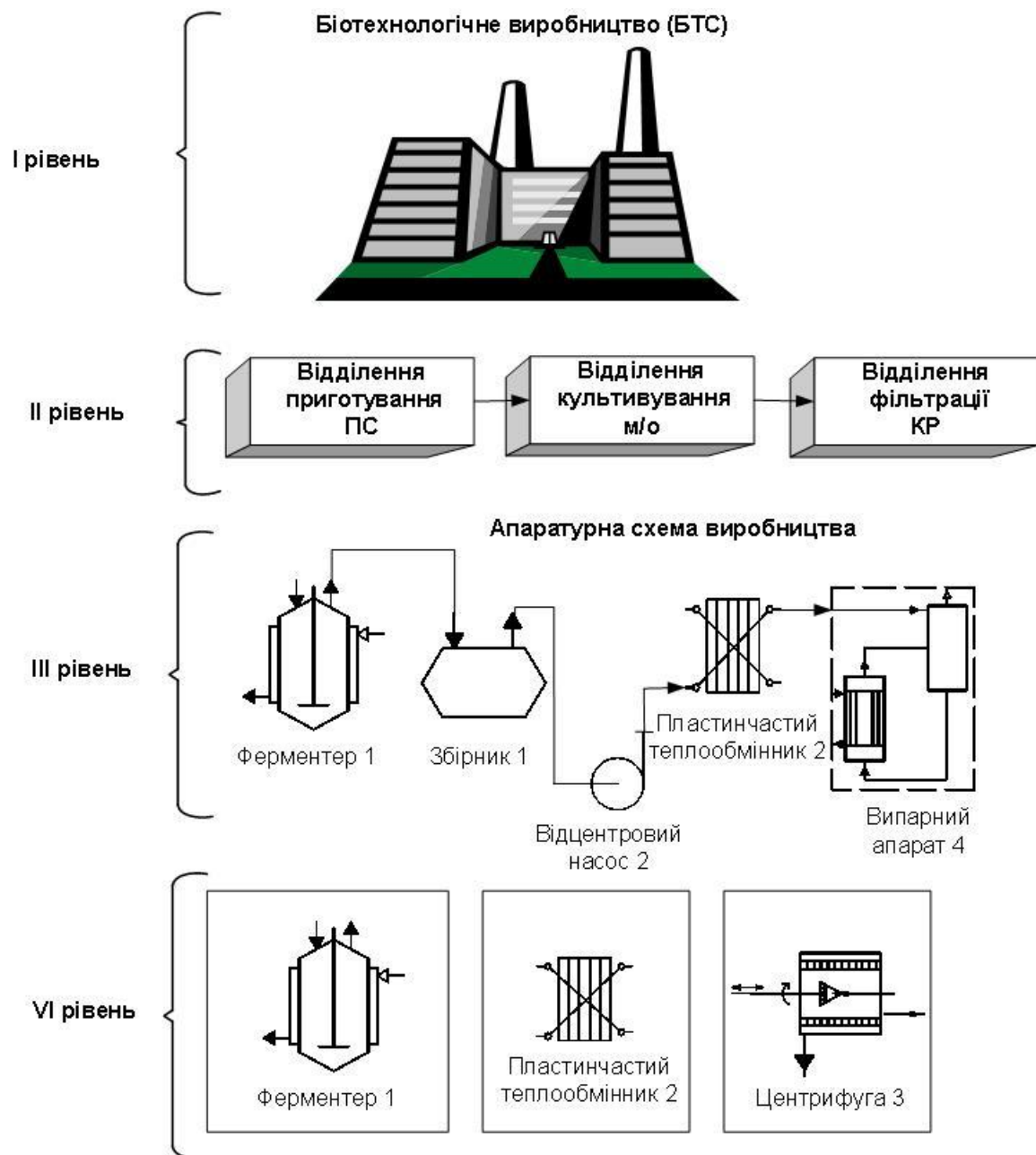


Рис.2.2. Ієрархічна структура біотехнологічної системи (БТС)

- *I рівень* - відповідає структурі біотехнологічного заводу, комбінату;
- *II рівень* - технологічні ділянки, цехи, що включають декілька взаємозв'язаних технологічних процесів та апаратів (стадія підготовки поживного середовища, стадія ферментації);
- *III рівень* - апаратурна схема окремої технологічної стадії, ділянки.
- *IV рівень* - це технологічні елементи БТС (апарати), де відбуваються типові технологічні процеси:
 - а) механічні - подрібнення, різання та інші;

- б) гідродинамічні - перемішування, змішування, розділення;
- в) теплові - нагрів та охолодження, випарювання, сушіння;
- г) масообмінні - абсорбція, адсорбція, екстракція;
- д) процеси хімічних та біохімічних перетворень;
- е) мікробіологічні - розмноження культур м/о.

• *V рівень* (найнижчий) – це рівень біологічного агента (мікроорганізмів) на якому протікають хімічні, біохімічні реакції завдяки процесам ферментативного каталізу компонентів поживного середовища і перетворення їх у клітинах на біологічно активні речовини (БАР) – ферменти, амінокислоти, вітаміни, антибіотики.

2.3. Узагальнена технологічна схема процесу мікробного синтезу

Вихідним і основним елементом мікробіологічного процесу є біооб'єкт – *продуцент*. Потенційні можливості штаму-продуцента визначають економічні показники біотехнологічної схеми в цілому.

Основною стадією процесів мікробного синтезу є стадія *культивування штаму-продуцента (ферментація)*, на якій відбувається біосинтез цільового продукту - біомаси або метаболітів (рис. 2.3).

Стадія глибинного культивування продуцента може бути охарактеризована якісно та кількісно. Кількісна характеристика – *об'ємна продуктивність* — виражається в грамах (кілограмах) цільового продукту на 1 м³ ферментаційного устаткування за 1 год ($G, \text{кг}/(\text{м}^3 \cdot \text{год})$) і є загальним критерієм ефективності процесу, що визначає собівартість цільового продукту.

На наступних стадіях виробництва біопрепаратів не відбувається приріст цільового продукту, а проводиться його обробка. Мета цих стадій — *одержання необхідної товарної форми препарату*. На цих стадіях необхідно максимально зберегти цільовий продукт.

Основне завдання вдосконалювання кінцевих стадій виробництва біопрепаратів — це скорочення втрат цільового продукту при виділенні з культуральної рідини.

Основна маса товарної продукції випускається промисловістю у трьох формах :

- сухий продукт (порошок, гранули, дрібнодисперсні частки – вміст сухих речовин 90 -96 %);
- рідкий продукт (концентрат) з вмістом сухої речовини до 50%.
- культуральна рідина (нативний розчин).

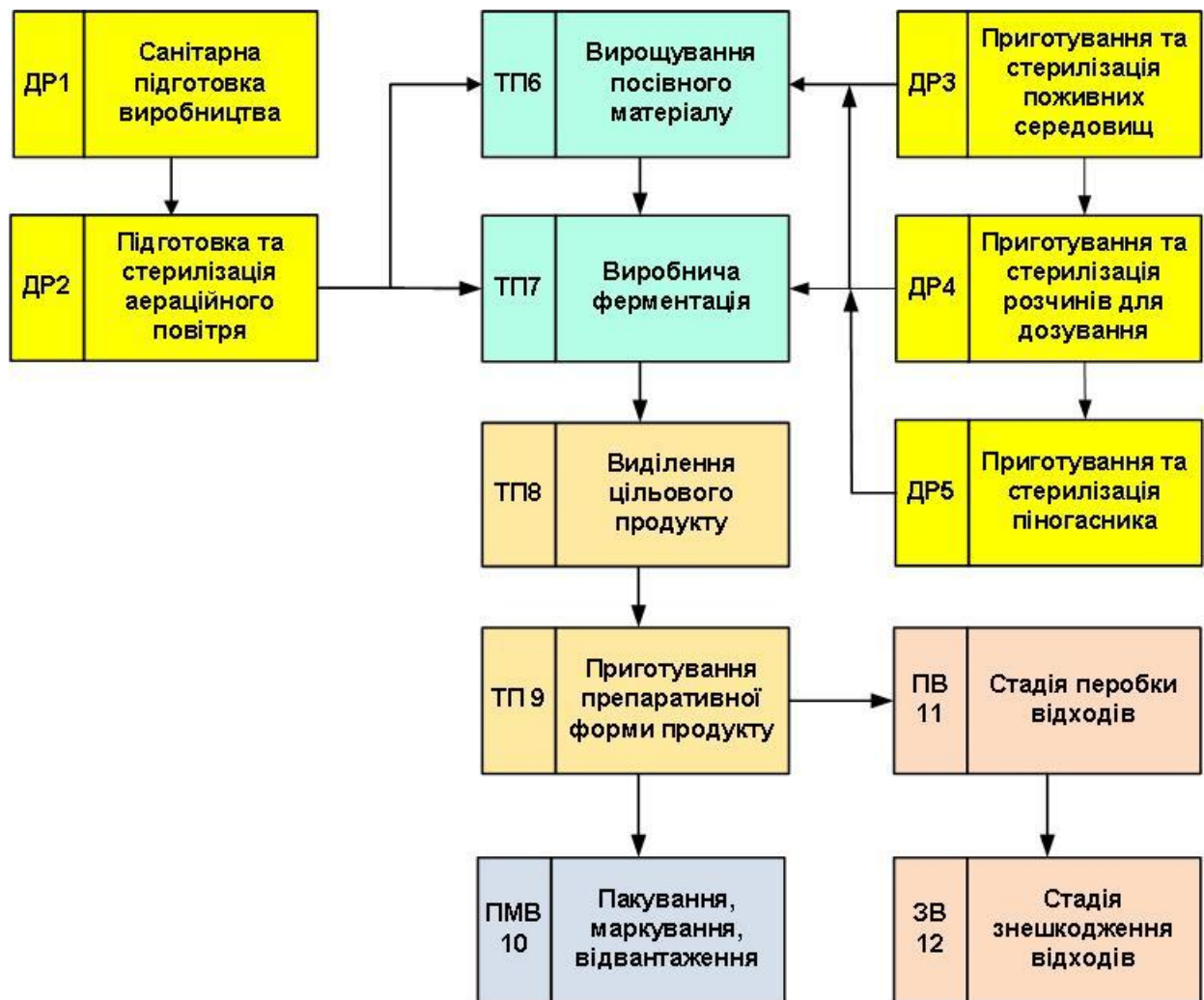


Рис.2.3. Узагальнена схема процесу мікробіологічного виробництва

Запитання для самоперевірки

1. Як класифікуються мікробіологічні виробництва?
2. Які основні стадії біотехнологічного процесу?
3. Що таке БТС?
4. З яких стадій складається узагальнена технологічна схема мікробного синтезу?

Список літератури до розділу 2

1. Пирог, Т.П. Загальна біотехнологія / Т.П.Пирог, О.А. Ігнатова– К.: НУХТ, 2009. – 336 с.
2. Сидоров, Ю.І. Процеси і апарати мікробіологічної та фармацевтичної промисловості. Технологічні розрахунки. Приклади і задачі. Основи проектування: Навч. посібник. / Ю.І. Сидоров, Р.Й. Влязло, В.П. Новіков.- Львів: «Інтелект-Захід», 2008.- 736 с.
3. Okafor, N., Okeke, B.C. Modern Industrial Microbiology and Biotechnology (2nd ed.). CRC Press., 2017. 488 p.

Розділ 3. ВИБІР БІОЛОГІЧНОГО АГЕНТА ТА ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА ДЛЯ ЙОГО КУЛЬТИВУВАННЯ

3.1. Основні види біологічних агентів, що використовуються при отриманні біологічно активних речовин

3.1.1. Мікроорганізми – продуценти антибіотиків

Антибіотики – надзвичайно різноманітна та багаточисельна група сполук, яка знайшла своє застосування в багатьох галузях. Основними галузями застосування антибіотиків є:

1) медицина – лікування інфекційних хвороб, які були невиліковними (туберкульоз, чума, бруцельоз, пневмонії, септичні процеси), лікування певних форм злоякісних пухлин;

2) сільське господарство – як лікувальні препарати у тваринництві, птахівництві, бджільництві, рослинництві, деякі антибіотики є стимуляторами росту тварин;

3) в консервній промисловості – для знищення клостридіальних та термофільних бактерій, стійких до стерилізації;

4) діагностичні цілі – оскільки деякі з антибіотиків характеризуються виключною специфічністю, їх можна використати для ідентифікації мікроорганізмів;

5) наукові дослідження – як специфічні інгібітори певних етапів метаболізму антибіотики використовують для вивчення окремих етапів біохімічних перетворень.

Треба зазначити, що у сільському господарстві антибіотики для кормових цілей використовуються у рецептурі преміксів у вигляді неочищених препаратів – це суха біомаса продуцента, яка містить різні амінокислоти, ферменти, вітаміни. До сільськогосподарських антибіотиків належить, наприклад, хлортетрациклін, або біовіт, бацитрацин і гризин. Боротьба з фітопатогенними мікроорганізмами полягає у використанні таких антибіотиків як тетрациклін, гризеофульвін. Основна вимога до цих препаратів: вони не повинні використовуватись у медичних цілях.

У харчовій промисловості використовують нізин, який знищує термофільні бактерії, що дає змогу уникнути термообробки при консервуванні.

В табл. 3.1. наведено список мікроорганізмів, що є продуцентами найбільш поширених антибіотиків.

Таблиця 3.1.

Мікроорганізми-продуценти деяких антибіотиків

Мікроорганізм-продуцент	Антибіотик
Бактерії:	
<i>Bacillus brevis</i>	Грамідидин
<i>Bacillus licheniformis</i>	Бацитрацин

Продовження таблиці 3.1.

<i>Bacillus polymyxa</i>	Поліміксин
<i>Lactococcus lactis</i>	Нізін
<i>Pseudomonas batumici</i>	Батумін
Актиноміцети:	
<i>Streptomyces griseus</i>	Стрептоміцин
<i>Streptomyces fradiae</i>	Неоміцин
<i>Streptomyces kanamyceticus</i>	Канаміцин
<i>Amycolatopsis mediterranei</i>	Ріфаміцин
<i>Streptomyces noursei</i>	Ністатин
<i>Saccharopolyspora erythraea</i>	Ерітроміцин
<i>Mycromonospora purpurea</i>	Гентаміцин
<i>Streptomyces aureofaciens</i>	Хлортетрациклін
<i>Streptomyces peuceticus</i>	Дауноміцин
<i>Streptomyces venezuelae</i>	Хлорамфенікол
Мікроміцети:	
<i>Penicillium chrysogenum</i>	Пеніцилін
<i>Acremonium chrysogenum</i>	Цефалоспорин
<i>Aspergillus fumigatus</i>	Фумагілін
<i>Penicillium griseofulvum</i>	Гризеофульвін
<i>Trichothecium roseum</i>	Трихотецин
<i>Fusidium coccineum</i>	Фузидін

Особливості антибіотиків та склад поживного середовища для їх отримання детально наведено у [1].

3.1.2. Мікроорганізми – продуценти пробіотиків

Для корекції мікрофлори використовують препарати, що отримали назву «пробіотики» та «пребіотики».

Термін «пробіотик» у буквальному перекладі означає «для життя». У сучасному трактуванні пробіотики – біопрепарати, що являють собою стабілізовані культури симбіонтних мікроорганізмів і продукти їхньої життєдіяльності, які мають сприятливий вплив на здоров'я людини або тварин. Біфідо- і молочнокислі бактерії, які найчастіше входять до складу пробіотиків, за рахунок продукування антибіотикоподібних факторів, низки органічних кислот, а також конкуренції за ділянки слизової оболонки кишечника з представниками патогенної і умовно-патогенної флори сприяють нормалізації якісного і кількісного складу мікробіоценозу шлунково-кишкового тракту. Постійна присутність в біотопі (ротова порожнина, кишківник, вагінальний канал) достатньої кількості клітин пробіотичних бактерій, що прикріплені до його стінок, попереджає проникнення патогенних мікроорганізмів в епітеліальні клітини. Крім того, пробіотичні мікроорганізми створюють несприятливе для патогенів рН середовища.

Пробіотики є важливим і необхідним інструментом захисту організму при дії несприятливих екологічних умов, порушенні обміну речовин, після гормональної, променевої і антибактеріальної терапії, при гострих і хронічних хворобах і дисфункціях кишково-шлункового тракту, спричинених незбалансованим харчуванням та стресами.

На відміну від пробіотиків, пребіотики є речовинами чи дієтичними інгредієнтами, які вибірково стимулюють ріст та біологічну активність мікроорганізмів в кишечнику і позитивно впливають на склад мікробіоценозу. Тобто пребіотики – це речовини, що стимулюють ріст нормальної мікрофлори. Їх можна розділити на такі групи:

- моносахариди і спирти (ксилоза, рафіноза, сорбіт);*
- олігосахариди (лактоулоза, галактоолігосахарид, ксилоолігосахарид);*
- полісахариди (пектини, декстрини, інулін);*
- ферменти (β -галактозидаза мікробного походження, протеази сахароміцетів);*
- пептиди (соєві, молочні);*
- антиоксиданти (вітаміни),*
- а також інші біологічно активні добавки – амінокислоти, рослинні екстракти, органічні кислоти.

Іноді комбінації пребіотиків з пробіотиками називають «симбіотиками». Це препарати, в яких живі культури мікроорганізмів комбінуються з препаратами, що стимулюють їх ріст.

Для створення пробіотиків використовують різноманітні мікроорганізми: *Bifidobacterium bifidum*, *B. longum*, *Lactobacillus acidophilus*, *L. delbrueckii*, *L. plantarum*, *L. fermentum*, *L. casei*, *L. rhamnosus*, *Bacillus subtilis*, *B. licheniformis*, *B. cereus*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecium*, *Streptococcus salivarius*, *Saccharomyces boulardii*.

Найчастіше у складі пробіотиків використовують біфідобактерії та молочнокислі бактерії (лактобацили). Такі пробіотики базуються на штаммах, що ізолювано з кишечника людини, де вони домінують з перших днів життя. Біфідобактеріям та лактобацилам притаманна висока здатність до колонізації епітелію шлунково-кишкового тракту, що слугує захисним бар'єром на шляху проникнення патогенної мікрофлори і забезпечує стабілізацію нормального складу мікробіоценозу кишечника. До складу пробіотиків можуть входити також штами біфідобактерій та лактобацил, ізолювані з інших природних та виробничих субстанцій, якщо вони мають достатню адгезивність до клітин епітелію ссавців.

Досить давно для створення пробіотиків використовують бактерії групи кишкової палички, ефективність яких пов'язана з різким зменшенням утворення в кишечнику токсичних речовин під впливом нормалізованої кишкової мікрофлори. Кишкова паличка є основою препарату Колібактерин.

Дріжджі *Saccharomyces boulardii* входять до складу пробіотика, що використовується для лікування кишкових інфекцій, спричинених *Clostridium difficile*. Можуть бути також використані у складі пробіотиків

Saccharomyces cerevisiae.

Спороутворюючі бактерії порівняно недавно використовуються для створення пробіотиків, але вони виявилися досить ефективними.

Високої популярності набувають пробіотики, що містять декілька видів мікроорганізмів, які належать до різних родів.

Особливості пробіотиків та склад поживного середовища для їх отримання детально наведено у [1].

3.1.3. Мікроорганізми – продуценти ферментів

У спеціально створених умовах мікроорганізми здатні утворювати велику кількість різноманітних ферментів. У виробництві ферментних препаратів використовують як мікроскопічні гриби, так і бактерії, і дріжджі. Мікроорганізми можуть синтезувати одночасно цілий комплекс ферментів або один фермент у великій кількості.

Як сировину для синтезу ферментів за допомогою мікроорганізмів використовують, як правило, відходи інших виробництв, виробництво ферментів на основі мікроорганізмів не є сезонним, ціна мікробних ферментних препаратів невисока порівняно з іншими джерелами ферментних препаратів.

До мікроорганізмів - продуцентів ферментів є певні вимоги:

наявність високої ферментативної активності;; досить;

1. Висока ферментативна активність штамів по цільовому продукту.
2. Переважний синтез ферменту або групи ферментів, що діють на певний субстрат (мінімальна побічна ферментативна активність).
3. Висока швидкість росту.
4. Генетична стабільність за ознакою синтезу ферменту або ферментів, стійкість щодо спонтанної дисоціації
5. Здатність рости на середовищах з доступними і недорогими джерелами живлення.

Українськими вченими розроблена значна кількість технологій отримання ферментних препаратів на основі мікроорганізмів (табл. 3.2). Штами, що є продуцентами ферментів, зберігаються в Українській колекції мікроорганізмів.

Таблиця 3.2.

Штами-продуценти ферментів, що зберігаються в Українській колекції мікроорганізмів

Продукт утворення:	Назва таксону і номер штаму
1	2
L-аспарагінази	<i>Erwinia carotovora</i> B-1148
α-галактозидази	<i>Cladosporium cladosporioides</i> F-16038 <i>Penicillium canescens</i> F-16073

Продовження таблиці 3.2.

глюкозоізомерази	<i>Streptomyces chromogenes</i> Ac-2024 <i>Streptomyces cyanogenus</i> Ac-2062 <i>Streptomyces fulvostreptomycini</i> Ac-2079 <i>Streptomyces griseoalbus</i> Ac-2083 <i>Streptomyces griseorectus</i> Ac-2084 <i>Streptomyces robeus</i> Ac-2003 <i>Streptomyces sporoclivosus</i> Ac-2080
каталази	<i>Penicillium canescens</i> F-6601 <i>Penicillium verruculosum</i> F-4962
кератинази	<i>Streptomyces griseus</i> Ac-2040
колагенази	<i>Streptomyces halstedii</i> Ac-2131
рестриктази Bli 491	<i>Bacillus licheniformis</i> B-5532
уреази	<i>Bacillus pasteurii</i> B-5890
фібринолітичні ферменти	<i>Streptomyces griseus</i> Ac-2040 <i>Streptomyces ignobilis</i> Ac-2086 <i>Streptomyces viridogenes</i> Ac-2116

Особливості ферментів та склад поживного середовища для їх отримання детально наведено у [1].

3.1.4. Мікроорганізми – продуценти вітамінів

У природі джерелом вітамінів є, головним чином, рослини та мікроорганізми. Менахінони та кобаламіни синтезуються виключно мікроорганізмами. Мікробіологічним шляхом одержують ергостерин, вітамін B₁₂, вітамін B₂, а також β-каротин – попередник вітаміну А (табл. 3.3). В останні роки з'явилися повідомлення про отримання рекомбінантного штаму *Escherichia coli* – продуцента вітаміну B₅.

Отримано також рекомбінантний штам *Serratia marcescens*, здатний до біосинтезу біотину з глюкози.

Крім того, мікроорганізми використовуються для здійснення окремих реакцій трансформації у процесі одержання ряду водорозчинних вітамінів.

У таблиці 3.3. представлено основні вітаміни мікробного походження та їх продуценти.

Особливості вітамінів та склад поживного середовища для їх отримання детально наведено у [1].

Здатність до синтезу каротиноїдів виявлена у багатьох мікроорганізмів – представників різних таксономічних і фізіологічних груп (бактерії, дріжджі, гриби, водорості) [1].

Вітаміни мікробного походження

Вітаміни	Хімічна природа	Продуценти
B ₁₂ (ціанкобаламін)	α- (5,6- Диметилбензими-дазол)- кобамідціанід	<i>Propionibacterium shermanii</i> <i>Eubacterium limosum</i> (<i>Butyribacterium rettgerii</i>) <i>Nocardia rugosa</i> <i>Micromonospora purpureae</i> <i>Methanosarcina barkeri</i> <i>Clostridium thermoaceticum</i> <i>Pseudomonas denitrificans</i> <i>Bacillus circulans</i> <i>Rhodobacter capsulatus</i> <i>Rhodospirillum rubrum</i>
B ₂ (рибофлавін)	7,8-Диметил-10-(1 ¹ - D-рибітил-ізоалоксазин)	<i>Eremothecium ashbyii</i> <i>Ashbyii gossypii</i> <i>Candida flaveri</i> <i>Mycocandida riboflavina</i> <i>Mycobacterium smegmatis</i> <i>Clostridium acetobutylicum</i>
Ергостерин (вихідний продукт для одержання вітаміну D ₂)	Ергоста-5,7,22- триєн-3β-ол	<i>Saccharomyces carlsbergensis</i> <i>Saccharomyces ellipsoideus</i> <i>Rhodotorula glutinis</i> <i>Candida utilis</i> <i>Candida guilliermondii</i> <i>Candida tropicalis</i>
β-Каротин (попередник вітаміну А)	Полієнові похідні	<i>Blakeslea trispora</i> <i>Choanephora conjuncta</i> <i>Rhodospiridium diobovatum</i> <i>Mycobacterium rubrum</i>

3.2. Потреби мікроорганізмів у поживних та інших речовинах, лімітування та інгібування

Для росту та розмноження мікроорганізмів необхідні поживні речовини, що задовольняють їхні потреби в поживних елементах і енергії. Основні хімічні елементи, необхідні для всіх без винятку мікроорганізмів і споживані у макро- кількостях: Карбон, Нітроген, Оксиген і Гідроген. Крім того, мікроорганізми мають потребу у Фосфорі, Калії, Сульфурі, Натрії, Магнії й інших елементах.

У табл. 3.4. наведений усереднений хімічний склад клітин різних видів мікроорганізмів. Очевидно, для нормального росту культури необхідна присутність у поживному середовищі елементів, зазначених у таблиці. Однак цією вимогою зазвичай не обмежуються. Важливо також, у якій формі

присутні в середовищі хімічні елементи. Наприклад, автотрофи здатні використовувати як єдине джерело карбону таку просту сполуку, як діоксид карбону, у тоді як гетеротрофи не можуть рости без органічних джерел карбону.

Джерела Карбону. Карбон є найважливішим елементом, частка вуглецю у складі біомаси мікроорганізмів становить близько 50%. Як джерела Карбону гетеротрофні мікроорганізми використовують різноманітні органічні сполуки: цукри, спирти, органічні кислоти, вуглеводні та ін.

Таблиця 3.4.

Клітинний склад мікроорганізмів, % сухої речовини

Елемент або сполука	Бактерії	Дріжджі	Мікроско- пічні гриби	Елемент або сполука	Бактерії	Дріжджі	Мікроско- пічні гриби
C	50,4	49,8	47,9	SO ₃	0,29	0,04	0,11
N ₂	12,3	12,4	5,24	Na ₂ O	0,07	-	1,12
O ₂	30,5	31,1	40,16	MgO	0,82	0,42	0,38
H ₂	6,78	6,7	6,7	CaO	0,89	0,38	0,19
P ₂ O ₅	4,95	3,54	4,85	Fe ₂ O ₃	0,08	0,035	0,16
K ₂ O	2,41	2,34	2,81	Si ₂	0,03	0,09	0,04

Здатність до засвоєння того або іншого вуглеводовмісного субстрату в значній мірі визначається видом мікроорганізму, однак можна виділити й загальні закономірності. Найбільш доступні для більшості культур сполуки, що містять напівокислені атоми карбону в групах – CH₂OH; – CHOH—; =COH—; тобто цукри, органічні спирти (гліцерин, маніт) і органічні кислоти. Такі речовини, з одного боку, мають досить більший запас енергії, що виділяється при їхньому окислюванні, з іншого боку, вони легко вступають в окисно-відновні реакції, що відбуваються у клітині. Нерідко джерелами карбону є високомолекулярні сполуки, наприклад, крохмаль або целюлоза, однак такі речовини спочатку розщеплюються на складові низькомолекулярні речовини (на глюкозу), які далі залучаються до біохімічних процесів. Високомолекулярні сполуки можуть розпадатися у процесі попередньої обробки сировини (наприклад, при кислотному гідролізі) або безпосередньо під час ферментації за допомогою ферментів, що виділяються мікроорганізмами.

Важливу роль відіграють вуглеводневі субстрати (n-алкани), що застосовують у великотоннажному виробництві кормового білка. Вуглеводні як субстрати здатні використовувати деякі дріжджі (роду *Candida*, *Torulopsis*, *Rhodotorula* і ін.). Утилізація n-парафінів у клітинах цих культур відбувається через утворення жирних кислот з наступним їх багатостадійним окислюванням.

У процесі окиснення вуглеводовмісних субстратів у клітинах вивільняється енергія при розриві макроергічних зв'язків у молекулах аденозинтрифосфату (АТФ), тому джерело карбону в більшості випадків є

одночасно джерелом енергії для мікроорганізмів.

Джерела Нітрогену. Нітроген необхідний клітинам для побудови ряду життєво важливих речовин, у першу чергу амінокислот і білків. Найбільш доступний для більшості мікроорганізмів іон амонію NH_4^+ , який легко проникає через клітинну стінку та цитоплазматичну мембрану і використовується для синтезу аміно- та іміногруп амінокислот. У зв'язку із цим до складу поживних середовищ часто включають амонійні солі – $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ і NH_4Cl . У процесі споживання іонів амонію культурою відбувається підкислення культуральної рідини внаслідок утворення надлишку аніонів SO_4^{2-} або Cl^- , що приводить до гальмування росту. Для послаблення цього небажаного ефекту до складу поживних разом середовищ із амонійними солями зазвичай вносять нейтралізуючий агент (найчастіше крейду), що зв'язує вивільнювані аніони. Амонійний нітроген може бути внесений у середовище також у вигляді водного розчину аміаку NH_4OH . Цей розчин часто використовують як титрувальний агент для підтримки рН культуральної рідини, і одночасно він є джерелом нітрогену.

Багато мікроорганізмів поряд з амонійним здатні засвоювати і нітратний нітроген, внесений із солями NaNO_3 , KNO_3 , NH_4NO_3 (остання сіль містить азот у нітратній і в амонійній формах). Однак при цьому мікроорганізми попередньо відновлюють нітратний азот до аміаку, і у процесі росту на середовищі, що містить нітрат амонію, у першу чергу споживають іони амонію і лише потім аніони NO_3^- . При споживанні нітратного нітрогену в середовищі залишаються катіони K^+ , Na^+ , що викликають підлучення середовища, тому нітратний нітроген переважно використовувати для культивування мікроорганізмів, які не можуть розвиватися в кислому середовищі.

Як джерела нітрогену мікроорганізми можуть використовувати органічні сполуки: амінокислоти, пептиди, білки. Білки, як і всі високомолекулярні сполуки, споживаються після розщеплення на амінокислоти та пептиди за допомогою протеїназ, тому розвиватися на середовищах, що містять як єдине джерело нітрогену білки або продукти їхнього часткового гідролізу (пептони), можуть лише мікроорганізми, що володіють високою протеолітичною активністю. Поряд з пептонами нерідко використовують субстрати, отримані при кислотному гідролізі білка (найчастіше казеїну), які містять вільні амінокислоти. Гідролізат казеїну, що містить повний набір амінокислот (за винятком триптофану, що руйнується при кислотному гідролізі), є універсальним джерелом нітрогену. При внесенні гідролізату казеїну в середовище разом із триптофаном мікроорганізми перемикаються на так званий аміногетеротрофний тип споживання, використовують амінокислоти в готовому виді. Підкислення або підлучення середовища при цьому не відбувається. Інша справа, коли в гідролізаті не вистачає хоча б однієї з амінокислот, необхідних для синтезу білків. У цьому випадку клітини змушені синтезувати відсутні амінокислоти з наявних або з органічних кислот і аміаку, одержуваного при дезамінуванні

амінокислот. Цілком зрозуміло, що суміш окремих амінокислот засвоюється гірше, ніж повна суміш амінокислот і амонійних солей.

У біотехнології нерідко використовують штами мікроорганізмів, не здатних самостійно синтезувати одну з амінокислот, так звані *ауксотрофні мутанти*. Для росту таких культур (наприклад, продуцентів лізину) обов'язкова наявність у відповідному поживному середовищі амінокислоти, що у цих випадках є не тільки джерелом нітрогену, але й фактором росту.

Окрему групу становлять мікроорганізми, здатні засвоювати газоподібний нітроген з повітря. У промисловій біотехнології такі культури майже не використовують.

Джерела Фосфору. Фосфор необхідний мікроорганізмам для синтезу ряду найважливіших сполук: нуклеїнових кислот, фосфоліпідів, коферментів, АТФ і ін.

Як правило, джерелом фосфору для мікроорганізмів слугують внесені у середовище фосфати калію або натрію (KH_2PO_4 , K_2HPO_4 , NaH_2PO_4 , Na_2HPO_4). Рідше використовують органічні джерела фосфору, наприклад продукти розкладання нуклеїнових кислот. Досить велика кількість мінерального фосфору знаходиться в такій розповсюдженій сировині, як кукурудзяний екстракт.

При конструюванні поживних середовищ треба враховувати, що для багатьох продуцентів біологічно активних речовин синтез цільового продукту гальмується високими концентраціями фосфатів у середовищі поряд зі стимулюючим впливом на ріст біомаси. Так, біосинтез деяких антибіотиків починається після практично повного вичерпання фосфору в середовищі.

Мікроеlementи та фактори росту. Для росту та розвитку мікроорганізмів необхідний ряд інших речовин, споживаних у дуже невеликих кількостях. Це Сульфур, Калій, Кальцій, Магній, Ферум, Купрум, Цинк, Нікель, Кобальт та інші хімічні елементи, а також деякі органічні сполуки (амінокислоти, вітаміни, пуринові та піримідинові основи), що мають назву *фактори росту*. Мінеральні елементи необхідні мікроорганізмам для побудови клітинних структур, а також тому, що вони входять до складу активних центрів багатьох ферментів. Що стосується факторів росту, то вони потрібні тільки у тих випадках, коли культура не здатна самостійно синтезувати ті або інші органічні сполуки. Тоді їх доводиться окремо вносити у поживне середовище. Фактори росту неоднакові для різних мікроорганізмів: та сама речовина може стимулювати ріст однієї культури і не впливати або навіть пригнічувати ріст іншої. Багато мікроорганізмів взагалі не вимагають ростових факторів.

Речовинами, за якими спостерігається ауксотрофність у промислових штамів мікроорганізмів, можуть бути амінокислоти, вітаміни, пуринові і піримідинові основи. Фактори росту вносять у середовище в чистому вигляді або в складі комплексних джерел споживання (наприклад, кукурудзяного

екстракту).

Попередники. При культивуванні мікроорганізмів – продуцентів ряду біологічно активних речовин – у поживне середовище слід додавати також попередники. Вони являють собою синтетичні речовини, що входять до складу молекули цільового продукту. Так, при біосинтезі бензилпеніциліну як попередник використовують фенілоцтову кислоту або фенулацетамід, при біосинтезі вітаміну В₁₂ – 5,5-діметилбензimidазол. Оскільки ріст культури інгібують високі концентрації фенілоцтової кислоти, її вносять не у вихідне поживне середовище, а додають малими порціями по ходу ферментації. Змінюючи попередник, що додається, іноді можна змінювати і структуру одержуваного продукту. Наприклад, якщо замість фенілоцтової кислоти додавати феноксіоцтову, то та ж культура мікроорганізмів буде синтезувати феноксіметилпеніцилін.

Вода. Вода необхідна для розвитку мікроорганізмів не менше, ніж поживні речовини. Як відомо, багато органічних продуктів можуть тривалий час зберігатися в сухому вигляді, не піддаючись розкладанню мікроорганізмами. Вміст води у субстраті або розчині кількісно виражають величиною *активності води* – відношенням парціального тиску пари розчину до тиску водяної пари

$$a_w = P/P_0 \quad (3.1)$$

Для розведених середовищ активність практично збігається з концентрацією води. Для чистої води $a_w = 1,00$, а для зовсім сухої речовини $a_w = 0$.

Мікроорганізми здатні розвиватися на поживних середовищах, у яких показник a_w знаходиться в інтервалі від 0,63 до 0,99, причому для бактерій цей діапазон значно вужче (від 0,93 до 0,99), ніж для дріжджів і мікроскопічних грибів. Це обумовлює можливість росту ряду грибних культур на щільних поживних середовищах із відносно низьким показником a_w (так звані поверхневі культури).

3.3. Принципи складання поживних середовищ

Для нормального росту мікроорганізмів і біосинтезу цільових продуктів метаболізму недостатньо тільки присутності в поживному середовищі необхідних компонентів. Необхідно також, щоб ці компоненти містились у певних співвідношеннях. Крім того, з великої кількості, наприклад, джерел карбону і енергії потрібно вибрати той, котрий найбільше відповідає фізіологічним потребам даної культури.

Для попереднього підбору кількості компонентів поживного середовища зазвичай користуються даними хімічного складу біомаси (див. табл. 3.4). Якщо культура синтезує та виділяє у середовище значні кількості певного продукту метаболізму, додатково потрібно враховувати хімічну формулу цього продукту. Наприклад, при складанні поживного середовища для

дріжджів, на якому передбачається виростити 30 г/л біомаси, варто внести близько 3,7 г/л джерела нітрогену (18 г/л $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$). При цьому виникає значний надлишок сірки, і якщо для культури це небажано, то варто підібрати інше джерело нітрогену, що не містить сірку. При визначенні кількості глюкози або іншого вуглеводовмісного субстрату варто враховувати, що гетеротрофи використовують цей субстрат на конструктивні та енергетичні потреби. Витрати глюкози на цю мету визначають за виходом АТФ.

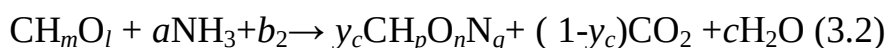
Якщо один з компонентів середовища повинен бути лімітуючим (часто небайдуже, який елемент вичерпується в першу чергу), то його кількість визначають так, як описано вище, а інші компоненти вносять у надлишку.

Середовища, складені за описаними вище принципами, називають мінімальними; вони містять мінімум речовин, необхідний для синтезу заданої кількості біомаси. На практиці зазвичай використовують складніші середовища, що містять амінокислоти, білки, вітаміни і багато інших речовин, які сприяють інтенсивному росту мікроорганізмів і синтезу цільових продуктів. Для ауксотрофних мутантів певна амінокислота або вітамін повинні входити і до складу мінімального середовища, оскільки без них ріст неможливий.

Зрозуміло, що поживне середовище складене на основі зразкового матеріального балансу компонентів, навряд чи забезпечать оптимальні умови для росту культури. Вона є лише вихідною точкою для підбору оптимального складу середовища, що проводять експериментально, варіюючи концентрації всіх компонентів середовища у певних межах. Потім визначають значення вихідних показників процесу (концентрації біомаси, цільового продукту метаболізму, вмісту білку в біомасі і т.п.) на різних варіантах середовищ. При підборі складу поживних середовищ часто використовують математичні методи планування і обробки експериментів, що значно скорочує трудомісткість і тривалість роботи.

3.4. Матеріально-енергетичний баланс росту мікроорганізмів

У процесі росту мікроорганізмів відбувається споживання із середовища поживних речовин з утворенням біомаси, рідких і газоподібних продуктів метаболізму. Баланс росту за основними елементами (Карбоном, Гідрогеном, Оксигеном, Нітрогеном) можна записати у вигляді рівняння



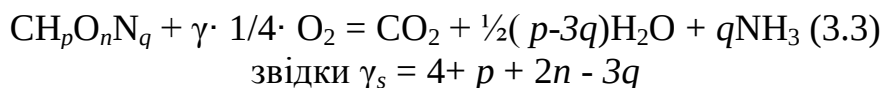
У цьому рівнянні формули органічного субстрату і біомаси записані умовно, у перерахуванні на один атом Карбону. Індeksi m , l , p , n , q характеризують елементні склади субстрату і біомаси, параметри a , b , c , y_c – стехіометричні коефіцієнти. Для простоти розглядається ріст у чистому вигляді, який не супроводжується нагромадженням у середовищі значних

кількостей органічних продуктів метаболізму.

Значення стехіометричних коефіцієнтів тісно пов'язані між собою. Знаючи лише кількість використаного органічного субстрату і один зі стехіометричних коефіцієнтів, можна повністю розрахувати матеріальний баланс. Зрозуміло, що необхідно знати також елементний склад субстрату і біомаси. Якщо склад органічного субстрату видний з його хімічної формули, то склад біомаси мікроорганізмів залежить від виду культури та умов її вирощування. Однак, як показали результати досліджень, кількість атомів Оксигену та Гідрогену на 1 атом Карбону в біомасі дріжджів і бактерій відносно постійна (0,47...0,55 для Оксигену і 1,73...1,82 для Гідрогену). Вміст Нітрогену в біомасі може змінюватися в широких межах, тому його варто визначати індивідуально для даної культури мікроорганізмів і умов.

Матеріальний баланс не дає достатнього уявлення про ефективність процесу росту і не дозволяє порівнювати ріст на різних субстратах. У зв'язку з тим, що органічні субстрати використовуються мікроорганізмами і як джерела Карбону, і як джерела енергії, повний перехід Карбону субстрату в біомасу неможливий. Вихід біомаси при рості на багатому енергією субстраті вище, ніж на субстраті, що містить стільки ж Карбону, але менше енергії. Наприклад, при окислюванні однієї молекули щавлевої кислоти виходить в 6 разів менше енергії, ніж при окислюванні етанолу (теж містить два атоми Карбону). Для визначення того, наскільки фактично досягнута величина стехіометричного коефіцієнту y_c по біомасі близька до максимально можливого при рості на даному субстраті, необхідно враховувати енергетичний потенціал використовуваного субстрату.

Для характеристики запасу енергії субстрату запропоновано використовувати поняття ступеня відновлюваності карбону (y_s), під яким розуміють кількість електронів, які можуть перейти до кисню при повному окисненні молекули субстрату. Це так звані «доступні електрони». Реакцію окиснення субстрату киснем у загальному випадку можна записати в такому вигляді:



Вираз (3.3) дозволяє визначити ступінь відновлюваності будь-якого органічного субстрату. Значення γ_s для деяких субстратів наведені в табл. 3.5.

У таблиці 3.5 представлений також максимально досяжний (теоретичний) вихід біомаси по карбону і по масі. Величини $y_c^{\max}$ і $Y_s^{ma_x}$ розраховані з урахуванням того, що ступінь відновлюваності карбону в біомасі γ_b практично постійний і дорівнює 4,2, тобто:

$$y_c^{\max} = \gamma_s / \gamma_b \quad (3.4)$$

$$Y_s^{ma_x} = \gamma_s \delta_s / \gamma_b \delta_b, \quad (3.5)$$

де δ_s і δ_b – масова частка карбону в субстраті і біомасі.

Таблиця 3.5.

Значення γ_s і максимальні теоретичні значення виходу біомаси для різних субстратів

Субстрат	γ_s	Теоретичний вихід		Субстрат	γ_s	Теоретичний вихід	
		по карбону Y_c^{max}	по масі Y_s^{max}			по карбону Y_c^{max}	по масі Y_s^{max}
Метан	8,0	1,9	3,0	Глюкоза	4,0	0,95	0,8
Гексан	6,3	1,5	2,65	Сахароза	4,0	0,95	0,85
Метанол	6,0	1,4	1,1	Оцтова кислота	4,0	0,95	0,8
Етанол	6,0	1,4	1,55	Щавлева кислота	1,0	0,25	0,1

Сенс формул (3.4) і (3.5) полягає в тому, що в біомасі не може бути енергії більше, ніж у використаному субстраті, і вони виражають закон збереження енергії для даного випадку. Зрозуміло, що наведених у табл. 3.5 значень виходу досягти неможливо, тому що частина енергії, що виділяється при окисненні субстрату, переходить у теплоту. Відношення фактичного виходу біомаси до теоретичного:

$$\eta = Y_s / Y_s^{max} \quad (3.6)$$

має назву «енергетичний вихід» і характеризує частку енергії субстрату, що перейшла в біомасу. Значення $\eta = 0$ відповідає випадку, коли весь споживаний субстрат використовується для підтримки життєдіяльності клітин, і біомаса при цьому не збільшується; $\eta = 1$ – протилежний випадок, коли вся енергія субстрату переходить у біомасу. Величина енергетичного виходу пов'язана з виходом біомаси по кисню Y_o співвідношенням

$$Y_o = 0,75 \eta / 1 - \eta \quad (3.7)$$

З рівняння (3.7) видно, що при $\eta = 0$ $Y_o = 0$, а при наближенні η до 1 $Y_o \rightarrow \infty$. Дійсно, щоб вся енергія субстрату перейшла у біомасу, потрібно, щоб вона не витрачалася на окисні процеси (кисень не повинен споживатися). Такий режим недосяжний, на практиці енергетичний вихід становить не більше 0,6...0,7.

За енергетичним виходом можна порівнювати ефективність росту мікроорганізмів на різних субстратах. Справді, знаючи, що масовий вихід біомаси Y_s дорівнює 0,5, важко сказати, добре це або погано, чи ефективно використовується субстрат. Для оцінювання ефективності використання

субстрату, потрібно порівняти фактичну величину Y_s з теоретичним максимальним значенням Y_s^{max} , і величина η буде характеризувати, наскільки близький існуючий процес до ідеального. Так, якщо у процесі росту на глюкозі $Y_s = 0,5$ близький до максимального значення $Y_s^{max} = 0,8$ ($\eta = 0,625$), то при рості на метані $Y_s^{max} = 3,0$ ($\eta = 0,167$), тобто ріст незбалансований.

Складання матеріально-енергетичного балансу, зокрема розрахунок енергетичного виходу, корисне при дослідженні і розробленні різних процесів мікробного синтезу. Цей показник можна використовувати і у системах оперативного керування безперервними процесами вирощування мікроорганізмів.

3.5. Сировина для приготування поживних середовищ

Для росту та розвитку мікроорганізмів, а також для синтезу цільових продуктів метаболізму необхідно забезпечити їх поживними речовинами - джерелами Карбону, Нітрогену, Оксигену, Фосфору, Сульфуру, мікроелементів, ростових факторів. Види та кількості застосовуваних субстратів визначають у кожному конкретному випадку з урахуванням фізіологічних особливостей вирощуваної культури і мети культивування. Причому, якщо у лабораторних умовах нерідко вирощують мікроорганізми на синтетичних поживних середовищах чітко визначеного складу, то у промисловості часто використовують більш дешеві натуральні види сировини, у тому числі відходи різних виробництв, що мають складний і нестабільний хімічний склад. Джерело сировини для біотехнологічного виробництва (а іноді, навпаки, культуру для переробки сировини, яке потрібно утилізувати) вибирають і з урахуванням техніко-економічних показників.

3.5.1. Особливості сировини та вимоги до неї

Багато процесів мікробного синтезу характеризуються великими витратами вихідної сировини на вироблення одиниці готової продукції. Значна частина поживних речовин середовища або не засвоюється мікроорганізмами, або витрачається на утворення різних побічних продуктів (до них може відноситись і біомаса, якщо мова йде про процес біосинтезу метаболіту). У зв'язку з цим питання раціонального використання сировини, її здешевлення і підвищення якості мають особливе значення для мікробіологічної промисловості.

Одні з основних труднощів при реалізації біотехнологічних процесів у промислових умовах пов'язані з низькою якістю і нестандартністю сировини, головним чином природного походження. Коливання хімічного складу природної сировини та її якостей пов'язані насамперед з тим, що вихідні продукти (наприклад, зерно кукурудзи або пшениці) вирощують у різних кліматичних умовах. Важливу роль грають умови й строки зберігання, цілісність зерна та інші фактори.

Велике значення має і технологія переробки сировини. Так, кукурудзяний екстракт готують шляхом упарювання. Його необхідно проводити при температурі не вище 40°C, у іншому випадку багато термолабільних компонентів руйнуються.

Коливання якості сировини пов'язані також з тим, що важливі його види для процесів біосинтезу (кукурудзяний екстракт, гідрол, меляса і ін.) не є основною продукцією або це можуть бути відходи виробництва. Технічні умови на такі види сировини, як правило, відсутні. У багатьох випадках вимоги до сировини не вдається чітко сформулювати. Ще одна проблема сировинного забезпечення біотехнологічних виробництв полягає в тому, що багато видів сировини (глюкоза, лактоза, соняшникова олія та ін.) являють собою цінні харчові продукти. Звідси їхня висока вартість і можливі перебої в постачанні цієї сировини.

Основні вимоги до «ідеальної» сировини для процесів мікробного синтезу – вона повинне бути доступною, дешевою, мати стандартний склад, бути стабільною при зберіганні, добре розчинятися у воді, легко засвоюватись мікроорганізмами, не повинна належати до харчових продуктів. Серед можливих шляхів вирішення сировинної проблеми наведемо наступні:

- підвищення ефективності використання компонентів шляхом попередньої підготовки поживних середовищ (подрібнювання, гідроліз, збагачення);

- підвищення рівня стандартності сировини в результаті суворого дотримання технології вирощування та переробки сільськогосподарських культур, виявлення та внесення у технічні умови на сировину параметрів, що характеризують його біологічну доступність;

- пошук нових, нетрадиційних джерел сировини, у першу чергу поновлюваних і недефіцитних;

- підбір для кожного технологічного процесу резервних видів сировини на випадок перебоїв з постачанням основного.

Розглянемо коротко основні види натуральної сировини для мікробіологічної промисловості, що використовується або перспективні. Прийнятий тут розподіл природних видів сировини на джерела карбону, нітрогену і т.д., зрозуміло, умовний і заснований на переважному вмісті тих або інших речовин сировини.

3.5.2. Джерела Карбону

Як відзначалося, найбільш доступними для мікроорганізмів є вуглеводи, тому в лабораторіях, а також у багатьох промислових біотехнологічних процесах (у виробництві антибіотиків, амінокислот та ін.) використовують глюкозу, сахарозу, лактозу або інші вуглеводи. Однак перераховані чисті вуглеводи є коштовною харчовою сировиною і є досить дорогими. У зв'язку із цим у більшості великотоннажних мікробіологічних виробництв чисті вуглеводи замінюють більше дешевими та доступними продуктами:

відходами крохмале-патокового виробництва (меляса, гідрол), гідролізатами торфу та рослинних відходів, побічними продуктами молочної промисловості та ін.

Меляса— відхід виробництва цукру із цукрового буряка, багата вуглеводами та іншими цінними органічними та мінеральними речовинами. Меляса містить 70...80% сухої речовини, у тому числі 45...60% сахарози, 0,25...2,0% інвертного цукру, 0,2...3,0% рафінози, 1,2...3,4% азотистих речовин. До її складу входять амінокислоти, органічні кислоти й солі, мінеральні речовини, деякі вітаміни. Меляса широко використовується в бродильних виробництвах, у виробництві амінокислот, ферментів, хлібопекарських дріжджів.

Гідрол – відхід виробництва глюкози із крохмалю. Являє собою темний густий сироп, що містить 67...72% цукрів, що редукують, у перерахуванні на суху речовину. Вміст глюкози становить до 80% від суми цукрів, а інші 20% – в основному продукти неповного гідролізу крохмалю. Поряд із цукрами гідрол містить органічні кислоти, мінеральні елементи (фосфор, магній, залізо, натрій); рН близько 4,0. Гідрол використовують як дешевий замінник глюкози в харчових і хіміко-фармацевтичних виробництвах.

Крохмаль картопляний (або кукурудзяний)– натуральний полісахарид, містить 98,5...98,8% власне крохмалю, 0,4...0,6 – білків, 0,6...0,7 – жирів, 0,12...0,17% – зольних елементів. Крохмаль використовують у харчовій, мікробіологічній, фармацевтичній промисловості для вирощування мікроорганізмів, що володіють амілолітичною активністю. У ряді випадків крохмаль піддають частковому попередньому гідролізу для полегшення засвоюваності.

Кукурудзяне борошно– крохмалевмісний субстрат, містить 67...70% крохмалю, близько 10% – інших вуглеводів, 10...12% – білків, 3% – жирів, 0,8...1,0% – зольних елементів. Завдяки порівняно низькій вартості кукурудзяне борошно застосовується частіше, ніж чистий крохмаль; його використовують у виробництві антибіотиків.

Пшеничні висівки–відхід борошномельного виробництва, використовується для приготування поживних середовищ, найчастіше, при твердофазному способі культивування. Висівки містять 16...20% крохмалю, 10...12% – білків, 3...4% – жирів, 10% – клітковини, зольні елементи. Мають досить багатий хімічний склад, є повноцінною поживною сировиною і можуть бути використані як єдиний компонент поживного середовища. Однак висівки досить дорогі, тому їх зазвичай змішують із більш дешевими компонентами промислових поживних середовищ – солодовими паростками, буряковим жомом, тирсою, фруктовими вижимками та ін.

Гідролізати полісахаридівналежать до рослинних відходів, до яких можна віднести гідролізати деревини, соломи, кукурудзяних качанів, торфу, целолігніну. Гідролізат деревини отримують шляхом кислотного або лужного гідролізу подрібненої сировини в умовах високої температури. При цьому високомолекулярні сполуки (целюлоза, лігнін) розщеплюються до

різних цукрів і супутніх речовин. Кислотний гідролізат деревини після додаткової обробки (інверсії), проведеної для забезпечення більшої повноти гідролізу, містить 2,5...3,5% речовин, що редукують, у тому числі 70...80% гексоз (глюкоза, галактоза, маноза) і 20...30 % пентоз (ксилоза, арабіноза); 0,5...0,6 % – сірчаної кислоти; 0,4% – органічних кислот; 0,05...0,06% – фурфуролу та до 0,2% оксиметілфурфуролу. Склад гідролізатів залежить від виду використовуваної деревини та технології процесу гідролізу. Гідролізати перед використанням для вирощування мікроорганізмів попередньо нейтралізують і очищають, видаляючи токсичні речовини: фурфурол, оксиметілфурфурол і ін.

Можливий і ферментативний гідроліз деревини, однак у промислових умовах він поки не застосовується через низьку продуктивність. Справа в тому, що на відміну від більшості ферментативних процесів, гідроліз целюлози відбувається не в розчині, а на межі розподілу твердої та рідкої фаз. Для підвищення ефективності ферментативного гідролізу нині використовуються сучасні ферментні препарати, здатні перетворити целюлозу на продукт, доступний для дії гідролітичних ферментів.

Гідролізати рослинної сировини також використовують для виробництва етилового спирту з наступним вирощуванням кормових дріжджів на післяспиртовій барді або для безпосереднього вирощування кормових дріжджів без одержання спирту. У першому випадку спочатку відбувається зброджування гексоз із утворенням етанолу (для цієї мети використовують дріжджі роду *Saccharomyces*), а потім кормові дріжджі (роду *Candida*, *Torulopsis*) споживають залишені в барді пентози. У другому випадку кормові дріжджі утилізують всі цукри і вихід дріжджів, природно, набагато більше.

Гідролізати торфу, крім цукрів, містять амінокислоти, органічні кислоти, ароматичні альдегіди й ін. Вони є перспективною сировиною для одержання кормових дріжджів та інших продуктів мікробного синтезу. Встановлено, що при додаванні гідролізату торфу до гідролізату деревини у концентрації 10...15% збільшується вихід біомаси дріжджів *Candida scotti* на 50...55% і підвищується вміст сирого білка в біомасі на 46...49%.

Цінною сировиною для мікробіологічної промисловості є кислотні й ферментативні гідролізати соломи, лляної або конопляної костри та інших рослинних відходів.

Молочна сироватка утворюється у величезних кількостях у процесі виробництва сиру та інших молочних продуктів. Сироватка містить лактозу (до 70% сухої речовини), білок, жири й мінеральні елементи. Так, сирна сироватка у своєму складі має 5,9...6,0% сухої речовини, у тому числі 4,0...4,7% лактози, 0,5...1,0% – білкових речовин, 0,2...0,3% – жирів та 0,6...0,7% – зольних елементів, невеликі кількості глюкози, галактози, арабінози, лактулози, органічні кислоти, вітаміни й ін. Недолік молочної сироватки як сировини – нестабільність при зберіганні, обумовлена наявністю великої кількості мікроорганізмів, тому її необхідно швидко

використовувати або консервувати. Нині більшу частину сироватки, що утворюється, використовують як добавку до кормів тварин і для виділення з неї білка і лактози. Однак в останні роки сироватка як поживне середовище широко застосовується для вирощування мікроорганізмів – продуцентів антибіотиків, амінокислот, ферментів, кормових і хлібопекарських дріжджів.

Крім описаних вище, використовують інші джерела карбону й енергії – газоподібні вуглеводні (метан, етан, бутан, пропан), етиловий і метиловий спирти, оцтову кислоту й ін.

3.5.3. Джерела органічного Нітрогену

Поряд з амонійними й нітратними солями у поживних середовищах для вирощування мікроорганізмів широко використовують субстрати, що містять органічні джерела нітрогену (амінокислоти, білки). Це обумовлено рядом факторів. По-перше, багато мікроорганізмів - продуцентів біологічно активних речовин є ауксотрофами, і для їхнього росу необхідно вносити у поживне середовище відповідні сполуки. По-друге, навіть не ауксотрофи краще ростуть і розвиваються на середовищах, що містять багаті азотом і ростовими факторами натуральні продукти. Відзначений також позитивний вплив органічних джерел нітрогену на біосинтез багатьох цінних продуктів метаболізму. І, по-третє, найпоширеніші в біотехнології азотовмісні натуральні субстрати - кукурудзяний екстракт, соєве борошно, гідролізати дріжджів й інші - досить дешеві та доступні.

Кукурудзяний екстракт – побічний продукт крохмале-патокового виробництва. У процесі виробництва крохмалю кукурудзяне зерно замочують у воді протягом 36...55 годин при температурі 50°C. Кукурудзяний екстракт утворюється при упарюванні під вакуумом замочувальних вод, що утворюються, до вмісту сухої речовини 48...50%. Серед сухих речовин кукурудзяного екстракту 40...50% азотовмісних речовин (в основному амінокислоти), інші речовини - вуглеводи, молочна кислота, вітаміни, мікроелементи. У кукурудзяному екстракті знаходиться від 15 до 18 амінокислот, у тому числі (у мг/г сухої маси): глутамінова кислота – 35...88, аланін – 24...59, лейцин – 27...42, лізин – 16...37, аспарагінова кислота – 10...27, аргінін – 10...24, пролін – 10...33, валін – 8...18, фенілаланін – 8...13. Крім того, знаходиться цистеїн, гліцин, гістидин, ізолейцин, серін, треонін, метіонін, тирозин і триптофан.

Хімічний склад різних партій кукурудзяного екстракту істотно варіює залежно від сорту та умов вирощування кукурудзи, режимів замочування зерна, упарювання замочувальних вод і ін. На виробництві перед додаванням у виробниче середовище кукурудзяного екстракту з нової партії на ньому зазвичай проводять пробне культивування продуцента.

У ферментаційні середовища додають від 0,1 до 5% кукурудзяного екстракту.

Соєве борошно – багате джерело органічного нітрогену (в основному у

вигляді білків). Крім білків, у ньому до 25% вуглеводів, здебільшого важкозасвоюваних мікроорганізмами, 4,5...6,5% мінеральних елементів, деякі вітаміни. Випускається три види соєвого борошна: нативне, напівзнежирене та знежирене.

Гідролізати дріжджів часто додають замість кукурудзяного екстракту у поживні середовища. Кислотні, ферментативні гідролізати та екстракти кормових дріжджів (БВК) містять багато білку та вітамінів групи В. У складі ферментолізату БВК міститься (у %): сирий білок – 65...68 (у тому числі аміний азот – 40...60), вуглеводи – 13...18, зольні елементи – 7...10, вітаміни – 0,01...0,025.

В окремих випадках як джерела органічного нітрогену та ростових речовин використовують гідролізати або екстракти біомаси клітин, що утворюються у процесі виробництва амінокислот, антибіотиків, органічних кислот й ін.

Буряковий жом – відхід цукрового виробництва із цукрового буряка. Він містить (у %): білки – 8,9, жири – 0,23, целюлозу – 21,7, безекстрактивні речовини (БЕР) – 65,8, зольні елементи – 4,2, кальцій – 4,7, фосфор – 1,2.

Останнім часом досить широко використовують міцелій культури гриба, що залишається після екстрагування ферментів з поверхневих культур, а також біомасу глибинних культур (біошроти). Це дозволяє, застосовуючи нетрадиційні джерела сировини, підвищити біологічну цінність поживних середовищ і створити маловідходні схеми виробництва продуктів мікробного синтезу. Біошроти містять полісахариди, які легко гідролізуються, – до 25%, целюлозу – 15%, гексозани – 22...23%, пентозани – 15...16%.

Крім зазначених вище як азотовмісну сировину використовують упарений клітинний сік картоплі, гідролізат мезги, екстракт солодових паростків, пивну дробину тощо.

3.5.4. Інші види сировини

Крім основних компонентів поживних середовищ у процесах ферментації нерідко використовують додаткові види сировини – попередники, ПАР, антибактеріальні препарати тощо.

Попередники – синтетичні продукти, що входять до складу молекули цільового продукту і додаються у ферментаційне середовище для інтенсифікації процесу біосинтезу. Своєрідним попередником при біосинтезі триптофану слугує антранілова кислота. При внесенні цього токсичного продукту в поживне середовище культура знешкоджує його, трансформує у триптофан, що виділяється в культуральну рідину.

Поверхнево-активні речовини біологічних виробництвах використовують головним чином для піногасіння.

Антибактеріальні препарати (фурадонін, фурацилін) іноді додають у культуральну рідину в невеликих кількостях для підтримки асептичних умов. Відомі приклади застосування антибіотиків і для прямого впливу на клітини продуцента. Так, додавання 5...10 од/мл пеніциліну в поживне середовище

для синтезу глютамінової кислоти приводить до перетворення клітин продуцентів на протопласти, мембрани яких більш проникні для глютамінової кислоти, що сприяє її виділенню із клітин у культуральну рідину. Крім того, антибіотики використовують як стимулятори надсинтезу при вирощуванні штамів- продуцентів біологічно активних речовин, одержаних за допомогою методів генної інженерії та для запобігання неконтрольованій втраті такими продуцентами екзогенно внесених генетичних конструкцій, оскільки маркером їх, як правило, є ген стійкості до певного антибіотика.

Отже, основними компонентами поживного середовища, від концентрації яких залежить накопичення біомаси (ріст мікроорганізмів) та біосинтез цільового продукту, є *джерела Карбону та Нітрогену*. Інші компоненти середовища (джерела Сульфуру, Фосфору та інших елементів) зазвичай містяться у надлишку.

Характерною ознакою мікробного синтезу є те що існують різні вимоги до поживних середовищ, використовуваних для одержання посівного матеріалу та виробничого біосинтезу. Потрібно мати на увазі, що на стадії одержання посівного матеріалу продуцент вирощується здебільшого до середини експоненційної фази росту, і ця стадія не передбачає накопичення максимальної кількості цільового продукту. Тому у складі середовищ, використовуваних для одержання інокуляту, *концентрація джерел карбону і нітрогену може бути приблизно у два рази нижчою, ніж у складі середовищ для біосинтезу цільового продукту*.

3.6. Вибір біологічного агента та складу поживного середовища для його культивування

З метою вибору найбільш ефективного біологічного агента – продуцента тієї чи іншої біологічно активної речовини слід проаналізувати сучасну наукову, науково-технічну та патентну літературу і систематизувати знайдену інформацію для вибору найефективнішого біологічного агента у вигляді наступних таблиць (приклад 3.1).

У процесі вибору біологічного агента слід керуватись техніко-економічними показниками, такі як вартість одного л (м^3) поживного середовища $V_{\text{т1}}$, грн/л (грн/м^3); продуктивність біологічного агента за цільовим продуктом, $P_{\text{п}}$, г/л; вартість одиниці цільового продукту $V_{\text{цп}}$, грн/г. Найбільш ефективним вважається той біологічний агент, який характеризується показником мінімальної вартості одиниці цільового продукту серед розглянутих варіантів.

У табл. 3.6 наводяться такі порівняльні дані щодо декількох відомих з літературних джерел найактивніших біологічних агентів (графи таблиці):

- біологічний агент (назва і номер штаму);
- склад поживного середовища;
- показники синтезу: концентрація цільового продукту і біомаси,

ферментативна активність тощо;

- тривалість процесу біосинтезу;
- особливості технологічного процесу (одно- двостадійний, регуляція рН, дробне внесення субстрату тощо);
- посилення на використану літературу.

У разі відсутності даних щодо відповідних концентрацій БАР у вибраних науково-технічних, патентних джерелах, для навчальних розрахунків слід скористатись орієнтовними концентраціями продуктів мікробного синтезу (г/л): антибіотики – 1...2; позаклітинні ферменти (гідролази) – 1,0...1,5; амінокислоти – 50...150; органічні кислоти – до 100; полісахариди – 10–30. Проте слід пам'ятати, що вказані вище цифри є умовними і можуть значно відрізнятися для конкретного біологічного агента та конкретної БАР.

Під час культивування пробіотичних штамів молочнокислих бактерій (чи компонентів заквашувальних композицій) як показник процесу наводиться концентрація живих клітин (колонійутворювальні одиниці, КУО/мл). У цьому разі концентрація біомаси зазвичай становить не більше 6...8 г/л. Крім того, концентрацію біомаси можна приблизно визначити за складом поживного середовища (за концентрацією карбону, нітрогену, зокрема).

На наступному етапі на основі аналізу даних, наведених у табл. 3.7., розраховується вартість компонентів поживних середовищ, що використовуються для вирощування найактивніших біологічних агентів. Результати розрахунків оформлюються у вигляді табл.3.7., яка включає такі графи:

- біологічний агент (назва і номер штаму);
- концентрація кожного компонента поживного середовища (г/л), що використовується для вирощування певного БА;
- ціна компонента поживного середовища (грн/кг);
- вартість компонента (грн) для приготування 1 л середовища;
- джерело інформації (прайс-лист, електронний ресурс) щодо ціни компонентів поживного середовища із вказанням дати, станом на яку наведено ціну.

На заключному етапі виконання вибору БА на основі даних, наведених у табл. 3.6. і табл. 3.7., складають узагальнюючу таблицю 3.8., в якій наводяться так і дані (графи):

- біологічний агент (назва і номер штаму);
- вартість 1 л середовищ (грн.);
- концентрація цільового продукту (г/л, мг/л) чи активність (ферментативна, антибіотична);
- умовна вартість 1 г (мг) цільового продукту (грн/г, грн/мг) чи одиниці активності (грн/од);

На основі наведених у табл. 3.8. даних, обирають найефективніший БА, який може бути використаний для біосинтезу певного цільового продукту.

Як правило, найефективнішим є той біологічний агент, який дозволяє отримати мінімальну вартість цільового продукту (грн/г, грн/мг).

Приклади проведення згаданих розрахунків наведено у таблицях 3.6-3.8.

Приклад 3.1.Формування таблиць 3.6 -3.8. при виборі продуцента амінокислоти фенілаланіну

Таблиця 3.6.

Порівняльна характеристика продуцентів фенілаланіну

Проду- цент	Склад поживного середовища	Концентрація компонента, г/л	Концентрація продукту, г/л	Особливості технологічного процесу	Умови культивування	Література
<i>Escherichia coli</i> Xllp21	Глюкоза Дріжджовий автолізат (NH ₄) ₂ SO ₄ KH ₂ PO ₄ MgSO ₄ ×7H ₂ O Na ₃ C ₆ H ₅ O ₇ FeSO ₄ ×7H ₂ O MnSO ₄ ×H ₂ O Бетаїн Біотин Тирозин Тіамін	20 8 10 5 5 2 0,015 0,015 3 0,010 0,25 0,4	72,9	Необхідне підживлення середовища глюкозою	52 год 37 °C pH 7,0	Yongfei Liu, Yiran Xu, Dongqin Ding, Jianping Wen, Beiwei Zhu, Dawei Zhang. Genetic engineering of <i>Escherichia coli</i> to improve L-phenylala-nine production <i>BMC Biotechnology</i> . 2018, 18 (5).
<i>E. coli</i> Xllp3	Глюкоза Дріжджовий автолізат (NH ₄) ₂ SO ₄ KH ₂ PO ₄ MgSO ₄ ×7H ₂ O MnSO ₄ *5H ₂ O FeSO ₄ *7H ₂ O Бетаїн Біотин; Тирозин	20 4 10 5 5 0,015 0,015 3 10 0,25	61,3	Необхідне підживлення середовища глюкозою	48 год 38 °C pH 7,0	Jie Wu, Yongfei Liu, Sheng Zhao, Jibin Sun, Zhaoxia Jin, Dawei Zhang. Application of Dynamic Regulation to Increase L-Phenylala-nine Production in <i>Escherichia coli</i> . . <i>J. Microbiol. Biotechnol.</i> 2019, 29 (6): 923–932.

Таблиця 3.7.

Вартість компонентів поживного середовища для культивування штамів *E. coli* Xllp21 та *E. coli* Xllp3 продуцентів фенілаланіну

Назва компонента	Концентрація компонента ПС, г/л	Вартість 1 кг компонента	Вартість 1 л ПС, грн/л	Джерело інформації (1, 2, 3, 4)**
<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>
Глюкоза	20	30	0,6	1
Дріжджовий автолізат	8	1250	10	1
(NH ₄) ₂ SO ₄	10	20	0,2	2
KH ₂ PO ₄	5	80	0,4	3
MgSO ₄ ×7H ₂ O	5	8	0,04	4
Na ₃ C ₆ H ₅ O ₇	2	30	0,06	2
FeSO ₄ ×7H ₂ O	0,015	20	0,0003	2
MnSO ₄ × 5H ₂ O	0,015	28	0,00042	2
Бетаїн	3	0,68 (грн/г)	2,04	3
Біотин, мг/л	10	1,18 (грн/мг)	11,8	4
Тирозин	0,25	5,62 (грн/г)	1,41	4
Тіамін	0,4	17,8 (грн/г)	7,12	3
<i>E. coli</i> Xllp21 Разом:			33,65	
Глюкоза	20	30	0,6	1
Дріжджовий автолізат – 4	4	1250	5	2
(NH ₄) ₂ SO ₄	10	20	0,2	3
KH ₂ PO ₄	5	80	0,4	4
MgSO ₄ ×7H ₂ O	5	8	0,04	2
MnSO ₄ × 5H ₂ O	0,015	28	0,00042	2
FeSO ₄ ×7H ₂ O	0,015	20	0,0003	3
Бетаїн	3	0,68	2,04	2
Біотин, мг/л	10	1,18 (грн/мг)	11,8	3
Тирозин	0,250	5,61(грн/г)	1,40	3
<i>E. coli</i> Xllp3 Разом:			21,48	

** - вартість компонентів знаходять з інтернет-джерел за пропозиціями виробників (www.prom.ua).

**Умовна вартість 1 мг цільового продукту (фенілаланіну) при культивуванні
E. coli Xllp21 та *E. coli* Xllp3**

Біологічний агент	Вартість 1 л середовища, грн/л	Концентрація фенілаланіну, г/л	Умовна вартість 1 г цільового продукту, Ггрн/г
1	2	3	4
<i>E. coli</i> Xllp21	33,67	72,9	0,46
<i>E. coli</i> Xllp3	21,49	61,3	0,35

З результатів аналізу таблиці 3.8. випливає, що найбільш ефективним продуцентом фенілаланіну є штам *E. coli* Xllp3. У нього найменша вартість одиниці цільового продукту, незважаючи на меншу концентрацію фенілаланіну в культуральній рідині.

Після етапу вибору найефективнішого БА та поживного середовища для його культивування необхідно провести перевірочний розрахунок складу поживного середовища.

Перевірочний розрахунок складу поживного середовища (приклад 3.2) **обов'язково здійснюється для синтетичних середовищ** (середовищ визначеного складу). Необхідність здійснення перевірконого розрахунку для напівсинтетичних чи складних (натуральних) середовищ визначається із врахуванням складу конкретного середовища і можливості його перевірки.

ПРИКЛАД 3.2. Розрахунок складу поживного середовища для вирощування ауксотрофного штаму *Brevibacterium* sp. – продуцента лізину. Тривалість культивування 72 год, концентрація лізину в культуральній рідині становить 100 г/л, а концентрація біомаси – 30 г/л.

Розрахунок вмісту в середовищі джерела карбонового живлення

Потреби для синтезу лізину. Як джерело карбону для одержання лізину використовується м'ясо. Вміст вуглеводів у м'ясі становить 50%.

Розрахуємо, скільки карбону (за елементом С) міститься в 100 г лізину. Молекулярна маса лізину $[\text{HOOC}-\text{CH}(\text{NH}_2)-(\text{CH}_2)_4-\text{NH}_2]$ становить 146. Отже, у 146 г лізину міститься 72 г карбону, а в 100 г лізину $(72 \times 100) / 146 = 49,3$ г карбону.

Далі розрахуємо, у скількох грамах вуглеводів міститься 49,3 г карбону, враховуючи, що вміст карбону у вуглеводах м'яса становить 40%. Отже, у 100 г вуглеводів міститься 40 г карбону, а 49,3 г карбону міститься у $(49,3 \times 100) / 40 = 123,3$ г вуглеводів.

Оскільки у м'ясі міститься 50% вуглеводів, то для одержання 100 г лізину, вміст м'яса у середовищі повинен бути $123,3 \times 2 = 246,6$ г/л, або $\approx 25\%$. Враховуючи, що при вирощуванні мікроорганізмів на вуглеводах (наприклад, глюкозі) близько 40% субстрату окислюється до CO_2 для одержання енергії, необхідної для конструктивного метаболізму, вміст м'яса у середовищі становитиме $(250 \times 0,4) + 250 = 350$ г/л = 35 %.

Потреби для синтезу біомаси. У біомасі міститься 50 % карбону, отже вміст карбону у 30 г біомаси становить $30 \times 0,5 = 15$ г. Ця кількість карбону міститься у $(15 \times 100) / 40 = 37,5$ г вуглеводів.

У перерахунку на мелясу одержимо 75 г/л. Враховуючи 40% втрат субстрату на «холосте окислення», для одержання 30 г/л біомаси у середовище необхідно внести $(75 \times 0,4) + 75 = 105$ г/л меляси (10,5 %).

Отже, загальний вміст меляси у середовищі, необхідний для синтезу біомаси (30 г/л) та лізину (100 г/л), становить $350 + 105 = 455$ г/л ≈ 46 %.

Потрібно мати на увазі, що така кількість субстрату (455–460 г/л) не може бути внесена у середовище одразу, початкова концентрація меляси у середовищі становить як правило 3 % (за вуглеводами), тобто 60 г/л меляси, а решта субстрату (400 г/л) вноситься у процесі культивування порціями – дробно (так зване підживлення). Розрахунок кількості порцій підживлення та склад підживлювального розчину наведений у прикладі 3.3.

Розрахунок вмісту в середовищі джерела азотного живлення

Потреби для синтезу біомаси. Припустимо, що у біомасі міститься 10 % нітрогену. Таким чином, у 30 г біомаси вміст нітрогену (за елементом N) становить 3 г.

Продукент лізину асимілює як джерела азотного живлення мінеральний (амонійний) та органічний нітроген. Для одержання лізину в промислових умовах використовується середовище, яке містить як джерело мінерального нітрогену сульфат амонію $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ або хлорид амонію NH_4Cl .

Розрахуємо кількість сульфату амонію, необхідну для одержання 30 г/л біомаси. Молекулярна маса $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ становить 132. Отже, у 132 г сульфату амонію міститься 28 г нітрогену (N), тоді 3 г нітрогену буде міститись у $(132 \times 3) / 28 = 14,14$ г солі.

Для одержання 30 г/л біомаси вміст $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ у середовищі культивування повинен становити 14,14 г/л.

Потреби для синтезу лізину. Азот входить до складу не тільки біомаси, а й лізину. Розрахуємо вміст $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ у середовищі, необхідний для одержання 100 г/л лізину.

Молекулярна маса лізину становить 146. У 146 г лізину міститься 28 г нітрогену (N), тоді у 100 г лізину вміст нітрогену становить $(100 \times 28) / 146 = 19,2$ г.

Далі розрахуємо, в якій кількості $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ міститься ці кількість нітрогену. У 132 г сульфату амонію міститься 28 г нітрогену (N), тоді 19,2 г нітрогену буде міститись у $(132 \times 19,2) / 28 = 90,5$ г солі.

Для одержання 100 г/л лізину вміст сульфату амонію в середовищі повинен становити 90,5 г/л. Слід мати на увазі, що така концентрація солі не може бути внесена у середовище одразу. Як правило, початкова концентрація джерела мінерального нітрогену у середовищі культивування продукента лізину становить 2–3% (20–30 г/л). Решта вноситься у вигляді підживлювального розчину разом з мелясою (мелясно-сольове підживлення).

Розрахунок вмісту органічного нітрогену в мелясі та кукурудзяному екстракті. Для одержання лізину використовується ауксотрофний мутант *Brevibacterium* sp. Оскільки даний штам не здатний синтезувати ряд амінокислот, вони повинні добавлятися у середовище екзогенно. У промисловому виробництві лізину джерелом цих ростових факторів для продукента є кукурудзяний екстракт і меляса. Для забезпечення бактерій необхідними ростовими факторами концентрація кукурудзяного екстракту в середовищі повинна становити близько 40 г/л.

Кукурудзяний екстракт є також джерелом органічного нітрогену, який засвоюється продукентом лізину. Таким органічним азотом є амінний азот і частково білковий (зокрема, коротколанцюгові поліпептиди). Концентрація доступного для бактерій органічного нітрогену (за елементом N) у кукурудзяному екстракті становить 1,9 %. Отже, у 40 г кукурудзяного екстракту міститься $(1,9 \times 40) / 100 = 0,76$ г нітрогену.

Крім того, амінний азот входить до складу меляси (0,5 % до маси сухих речовин). Розрахуємо кількість нітрогену, що міститься у 460 г меляси. Вміст сухих речовин у мелясі становить 75 %, тобто у 460 г меляси міститься $460 \times 0,75 = 345$ г сухих речовин. Отже, вміст амінного нітрогену у мелясі становить $(0,5 \times 345) / 100 = 1,73$ г.

Сумарний вміст нітрогену у кукурудзяному екстракті та мелясі становить $1,73 + 0,76$

= 2,5 г/л. Кількість нітрогену, необхідна для синтезу біомаси та лізину становить $3 + 19,2 = 22,2$ г/л. З врахуванням нітрогену, що міститься у кукурудзяному екстракті та мелясі, у середовище повинно бути внесено $22,2 - 2,5 = 19,7$ г/л (у вигляді мінеральних солей).

Розрахунок вмісту у середовищі джерел мінерального нітрогену. Якщо джерелом мінерального нітрогену в середовищі культивування продуцента лізину є тільки сульфат амонію, то для забезпечення бактерій азотом (19,7 г/л), концентрація цієї солі повинна становити $(132 \times 19,7) / 28 = 92,9$ г/л.

Однак при такій концентрації сульфату амонію у середовище вноситься надзвичайно велика кількість сірки, тому частину необхідного для бактерій амонійного нітрогену замінимо на хлорид натрію. Прийнемо, що початкова концентрація сульфату амонію у середовищі становить 25 г/л, а решта амонійного нітрогену буде подаватись у середовище у вигляді NH_4Cl разом з мелясою у складі підживлювального розчину.

Розрахуємо необхідну сумарну кількість хлориду амонію. У 25 г сульфату амонію міститься $(25 \times 28) / 132 = 5,3$ г нітрогену. Отже, у вигляді NH_4Cl у середовище потрібно внести $19,7 - 5,3 = 14,4$ г/л нітрогену. Така кількість нітрогену міститься у $(53,5 \times 14,4) / 14 = 55$ г/л хлориду амонію.

Розрахунок складу м'ясно-сольового підживлювального розчину

У вигляді підживлювального розчину в середовище необхідно внести у процесі культивування продуцента лізину 400 г/л меляси та 55 г/л хлориду амонію (див. попередні розрахунки). Тривалість культивування становить 72 год. Прийнемо, що підживлення додається у середовище кожні 8 год. Тоді кількість порцій підживлення становить $(72-8) / 8 = 8$. Отже, з кожною порцією підживлення у середовище повинно вноситись $400 / 8 = 50$ г/л меляси і $55 / 8 = 6,88$ г/л хлориду амонію.

Розрахунок вмісту фосфору у середовищі

У біомасі міститься близько 3 % фосфору (за елементом Р). Отже, для синтезу 30 г/л біомаси вміст фосфору у середовищі повинен становити $30 \times 0,03 = 0,9$ г/л. Джерелами фосфору у промисловому виробництві лізину є одно- та двоаміщений калій фосфорнокислий – KH_2PO_4 і K_2HPO_4 , які вносяться у середовищі в рівних кількостях (співвідношення 1:1).

Вміст фосфору у KH_2PO_4 становить $31 / 136 = 23$ %, а у K_2HPO_4 – $31 / 174 = 18$ %. Отже, у KH_2PO_4 міститься у $23 / 18 = 1,3$ рази більше фосфору, ніж у K_2HPO_4 . Прийнемо вміст фосфору (Р) у K_2HPO_4 за 1 (одиницю), тоді вміст Р у KH_2PO_4 буде 1,3. Отже, можемо записати $2,3 \times x = 0,9$, звідки $x \approx 0,4$.

Таким чином, вміст Р у вигляді K_2HPO_4 становить 0,4 г/л, а у вигляді KH_2PO_4 – $0,4 \times 1,3 \approx 0,5$ г/л. Відповідно, концентрація цих солей у середовищі становить $(174 \times 0,4) / 31 = 2,2$ г/л та $(136 \times 0,5) / 31 = 2,2$ г/л.

Отже, середовище для культивування продуцента лізину містить по 2,2 г/л KH_2PO_4 і K_2HPO_4 .

Інші компоненти середовища

Джерелами таких необхідних для росту бактерій елементів, як магній, кальцій і залізо є меляса та кукурудзяний екстракт. Крім того, до складу меляси та кукурудзяного екстракту входять необхідні для ауksотрофного штаму ростові фактори – лейцин, ізолейцин, метіонін, треонін, тіамін, а також біотин.

Розрахунок кількості ам'ячної води для нейтралізації культуральної рідини

Розрахуємо кількість ам'ячної води, необхідної для нейтралізації культуральної рідини за період від початку культивування бактерій до внесення першої порції підживлення. Зміни рН у цей період зумовлені асиміляцією джерел азотного живлення.

Споживання бактеріями амонійного джерела нітрогену – $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ супроводжується підкисленням культуральної рідини (іони амонію транспортуються у клітину антипортом з протоном), а споживання органічного нітрогену – її підлужненням. Вміст органічного нітрогену у середовищі становить: у 60 г/л меляси – 0,23 г/л, у 40 г/л кукурудзяного екстракту – 0,76 г/л, тобто 1 г/л.

Можемо прийняти, що підлужнення в результаті споживання 1 г/л органічного нітрогену буде компенсуватись підкисленням в результаті споживання 1 г/л амонійного нітрогену. 1 г амонійного нітрогену міститься у $(132 \times 1) / 28 = 4,71$ г сульфату амонію. Отже, аміачна вода буде витрачатись на нейтралізацію кислоти, що утвориться в результаті споживання $25 - 4,7 = 21,3$ г, або $21,3 / 132 = 0,16$ моль сульфату амонію.

У процесі асиміляції бактеріями цієї кількості амонійного нітрогену виділиться 0,32 моль протонів, для нейтралізації яких потрібно 0,32 моль NH_4OH . Отже, у середовище додатково вноситься джерело азотного живлення (NH_4OH), тому кількість хлористого амонію у складі підживлювального розчину може бути знижена на 0,32 моль, тобто на $53,5 \times 0,32 = 17,1$ г/л. Отже, у вигляді підживлення слід додавати у середовище $54,8 - 17,1 = 37,7$ г/л хлориду амонію. На одне підживлення витрати цієї солі становлять $37,7 / 8 = 4,7$ г/л.

Наведені вище розрахунки щодо складу поживного середовища можна подати у вигляді таблиці 3.9.

Таблиця 3.9.

Склад поживного середовища для культивування продуцента лізину

Компоненти поживного середовища	Вміст, г/л			
	Сумарний	Початковий	У м'ясо-сольовому підживлювальному розчині	В одній порції підживлення
М'яса	460	60	400	50
Кукурудзяний екстракт	40	40	—	—
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	25	25	—	—
NH_4Cl	37,7	—	37,7	4,7
KH_2PO_4	2,2	2,2	—	—
K_2HPO_4	2,2	2,2	—	—

Культивування з додаванням джерел живлення (із підживленням) – це один із методів одержання росту культури БА, навіть в умовах лімітування субстратом. Для запобігання негативним наслідкам ліміту субстрату застосовується техніка культивування з підживленням (fed batch culture), при цьому субстрат або інші необхідні компоненти додаються або безперервно, або за сигналом від будь-якого датчика. Економічний коефіцієнт у культурі з підживленням вищий порівняно з простою періодичною культурою. Підживлення переводить періодичний процес у, так званий, продовжений періодичний і використовується в основному для отримання продуктів біосинтезу, що суттєво збільшує продуктивність процесу. Культивування з підживленням використовують також для запобігання виникнення осмотичного шоку у БА у випадку необхідності внесення у поживне середовище високої концентрації поживних речовин. У прикладі 3.3 наведено методику розрахунку об'ємів розчинів підживлення.

ПРИКЛАД 3.3. Методика розрахунку об'єму розчину підживлення джерела карбону та кількості підживлень при біосинтезі астаξανтину

Задано:

Загальний об'єм культуральної рідини

$$V_{\text{пс}} = 12,4 \text{ м}^3$$

Кінцева концентрація джерела карбону в культуральній рідині $C_{\text{к}} = 84 \text{ кг/м}^3$ Початкова концентрація джерела карбону в культуральній рідині $C_{\text{п}} = 40 \text{ кг/м}^3$ Початкова концентрація розчину підживлення (40%) $C_{\text{пж}} = 400 \text{ кг/м}^3$

Тривалість біосинтезу

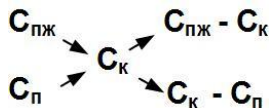
$$T_{\text{ф}} = 168 \text{ год}$$

Час подачі порції підживлення $T_{\text{пор}}$, кожні год

$$T_{\text{пор}} = 24 \text{ год}$$

1. Визначаємо кількість підживлень

$$n = (T_{\text{ф}} - T_{\text{пор}}) / T_{\text{пор}} = (168 - 24) / 24 = 6$$

2. Розрахунок початкового об'єму поживного середовища і розчину підживлення (за правилом хреста)

$$\Delta 1 = C_{\text{пж}} - C_{\text{к}} = 400 - 84 = 316$$

$$\Delta 2 = C_{\text{к}} - C_{\text{п}} = 84 - 40 = 44$$

3. Визначаємо співвідношення $C_{\text{св}} = \Delta 1 : \Delta 2 = 316 / 44 = 7,2$ $C_{\text{пс}} : C_{\text{пр}} = 1$ частина поживного середовища (ПС) : 7,2 підживлюючого розчину (РП)**4. Початковий об'єм поживного середовища $V_{\text{пс1}}$,**

$$V_{\text{пс1}} = V_{\text{пс}} / (1 + 1/C_{\text{св}}) = 12,4 / (1 + 1/7,2) = 10,89 \text{ м}^3$$

5. Загальний об'єм розчину підживлення $V_{\text{рп}}$,

$$V_{\text{рп}} = V_{\text{пс1}} / C_{\text{св}} = 10,89 / 7,2 = 1,51 \text{ м}^3$$

$$\text{Перевірка } V_{\text{пс}} = V_{\text{пс1}} + V_{\text{рп}} = 10,89 + 1,51 = 12,4 \text{ м}^3$$

3. Розрахунок об'єму розчину на одноразове підживлення $V_{\text{рп1}}$, м^3 та маси джерела карбону $m_{\text{с1}}$, кг

$$V_{\text{рп1}} = V_{\text{рп}} / n = 1,51 / 6 = 0,252 \text{ м}^3$$

$$m_{\text{с1}} = V_{\text{рп1}} \cdot C_{\text{пж}} = 0,252 \cdot 400 = 101 \text{ кг}$$

4. Перевірка розрахунку за сумарною кінцевою масою джерела карбону

$$m_{\text{к}} = V_{\text{пс}} \cdot C_{\text{к}} = 12,4 \cdot 84 = 1042 \text{ кг}$$

$$m_{\text{к}} = V_{\text{пс1}} \cdot C_{\text{п}} + n \cdot m_{\text{с1}} = 10,89 \cdot 40 + 6 \cdot 101 = 436 + 606 = 1042 \text{ кг}$$

Робимо висновок, що розрахунок зроблено вірно.

Запитання для самоперевірки

1. Охарактеризуйте основні види сировини, що використовуються у біотехнології як джерела Карбону та Нітрогену.
2. Які речовини, що входять до складу кукурудзяного екстракту, обумовлюють його поживну цінність для мікроорганізмів?
3. Що таке попередники, як вони використовуються?
4. Чи можна використовувати вуглеводневу сировину для біосинтезу ферментів або антибіотиків культурами грибів?

Список літератури до розділу 3

1. Буценко, Л.М. Технології мікробного синтезу лікарських засобів: навч. посібник / Л.М. Буценко, Ю.М. Пенчук, Т.П. Пирог. – К.: НУХТ, 2010. – 323 с.
2. Пирог, Т.П. Загальна біотехнологія / Т.П. Пирог, О.А. Ігнатова – К.: НУХТ, 2009. – 336 с.

3. Сидоров, Ю.І. Процеси і апарати мікробіологічної та фармацевтичної промисловості. Технологічні розрахунки. Приклади і задачі. Основи проектування: Навч. посібник. /Ю.І. Сидоров, Р.Й. Влязло, В.П. Новіков - Львів: «Інтелект-Захід», 2008.- 736 с.

Розділ 4. СПОСОБИ КУЛЬТИВУВАННЯ МІКРООРГАНІЗМІВ. ПРИНЦИПИ ПІДБОРУ ФЕРМЕНТАЦІЙНОГО ОБЛАДНАННЯ

4.1 Обґрунтування вибору способу культивування

Анаеробні процеси біологічного окислювання в гетеротрофних мікроорганізмів залежно від того, що є кінцевим акцептором водневих атомів або електронів, ділять на три групи: дихання (акцептор – кисень); бродіння (акцептор – органічна речовина) і анаеробне дихання (акцептор – неорганічна речовина: нітрати, сульфати й ін.).

У облигатних анаеробів бродіння є єдиною можливим способом одержання енергії; у факультативних анаеробів воно становить обов'язкову першу стадію катаболізму глюкози, за якої може відбуватися аеробне окислювання продуктів, що утворилися, якщо в середовищі присутній кисень.

Відособленою проміжною групою є аеротолерантні мікроорганізми, що одержують необхідну для життєдіяльності енергію в анаеробному процесі, тобто на рівні субстратного фосфорилування, і одночасно мають дихальний ланцюг для поглинання кисню середовища та створення сприятливих анаеробних умов. Даний ефект зветься «ефект дихального захисту».

Прикладами облигатно анаеробних процесів є *маслянокисле та метанове бродіння*. Універсальним для всіх мікроорганізмів, за невеликими виключеннями, є катаболізм глюкози – гліколіз до утворення пірувату:



Збудники спиртового бродіння (дріжджі) після декарбоксилювання пірувату та утворення ацетальдегіду відновлюють ацетальдегід до етанолу.

Процес перетворення глюкози до піровиноградної кислоти у гомоферментативних молочнокислих бактерій відбувається за гліколітичним шляхом. Далі, через відсутність у цих бактерій ферменту піруватдекарбоксилази, піровиноградна кислота не піддається розщепленню. Піровиноградна кислота за участю ферменту лактатдегідрогенази відновлюється до молочної. Отже, молочнокислі бактерії гомоферментативного молочнокислого бродіння відновлюють піруват до молочної кислоти.

Гетероферментативні молочнокислі бактерії зброджують глюкозу за дещо зміненим пентозофосфатним шляхом, що обумовлено своєрідністю комплексу ферментів у цих бактерій. Через відсутність у них ферменту альдолази змінюється початковий шлях перетворення глюкози. Після фосфорилування глюкоза окиснюється і декарбоксилюється, перетворюючись на пентозофосфат. Останній розщеплюється на фосфогліцеріновий альдегід і ацетилфосфат. Фосфогліцеріновий альдегід перетворюється на піровиноградну кислоту, яка потім відновлюється до молочної. Ацетилфосфат дефосфорилується і перетворюється на оцтову

кислоту або відновлюється до етилового спирту. Таким чином, кінцевим акцептором водню у цьому типі бродіння є піровиноградна кислота і оцтовий альдегід.

Анаеробні умови на мікробіологічних виробництвах, які засновані на використанні анаеробних продуцентів, створюють шляхом герметизації апаратури, продуванням середовища інертними газами, у тому числі газоподібними продуктами, що утворилися під час ферментації. Відсутність необхідності аерації середовища трохи спрощує конструкцію ферментера (біореактора) і полегшує керування процесом анаеробної ферментації.

Твердофазну ферментацію зазвичай реалізують у твердому, сипкому або пастоподібному середовищі, вологість якого становить 30...80 %.

Розрізняють три типи твердофазних процесів:

- *поверхневі процеси*: шар субстрату, наприклад соломи, не перевищує 3...7 см («тонкий шар»), роль біореактора виконують великі, площею до декількох квадратних метрів, піддони з алюмінію або культивацийні камери;

- *глибинні твердофазні процеси без перемішування* («високий шар»), біореактори являють собою глибокі відкриті ємності. Для аеробних процесів розроблені пристосування, що забезпечують дифузійний і конвективний газообмін;

- *твердофазні процеси з перемішуванням* – маса субстрату, яка може бути гомогенною або складатися із часток твердого субстрату у суміші з рідиною, перемішується та аерується, використовуються спеціальні горизонтальні, рідше вертикальні або нахилені біореактори, оснащені перемішувальними пристроями (як правило, шнекового типу), а також системою аерації та теплообміну.

Якщо субстрат сипкий, то окремі тверді частки його добре контактують із повітрям, ріст мікроорганізмів у цьому випадку відбувається головним чином на поверхні твердих часток, а також у порах, заповнених або водою, або повітрям. Забезпечення мікроорганізмів киснем ускладнюється зі збільшенням шару субстрату. Через відсутність перемішування ріст мікроорганізмів відбувається за принципом колонізації, тому часто виникає локальна нестача поживних речовин. Інша проблема при твердофазній ферментації – відведення теплоти та підтримка постійної температури у всьому ферментаційному середовищі.

Однак твердофазні процеси мають і переваги в порівнянні із процесами, що протікають у рідкому середовищі:

- вони вимагають менших витрат на лабораторне обладнання та експлуатацію;

- характер субстрату полегшує відокремлення та очищення продукту;

- низький вміст води у субстраті перешкоджає зараженню культури продуцента сторонньою мікрофлорою;

- твердофазні процеси не пов'язані зі скиданням у навколишнє середовище великої кількості стічних вод.

Керований процес твердофазної ферментації у промислових умовах

налагоджений при виробництві ферментів з використанням мікроміцетів. Сипкий субстрат з культурою інкубують у тонкому шарі (3...7 см) у кюветах, розміщених у камерах, де підтримують оптимальні температуру та вологість повітря, забезпечують примусову циркуляцію газової фази уздовж поверхні субстрату. Повітря в цьому випадку виконує як функції аерації, так і тепловідведення.

Більш товстий шар гранульованого крохмалевмісного субстрату використовують для протеїнізації (до 20 %) корму за допомогою *Aspergillus niger*. У цьому випадку застосовують неінтенсивне перемішування середовища.

Поверхнева рідиннофазна ферментація реалізується в кюветах із рідким середовищем, розміщених у вентильованих повітрям камерах. Культура мікроорганізмів при цьому утворює біомасу у вигляді плівки або твердого шару на поверхні рідкого середовища. Культура споживає кисень безпосередньо з газової фази – повітря. Масообмін у таких умовах малоінтенсивний.

Глибинне рідиннофазне культивування мікроорганізмів відбувається в повному об'ємі рідкого поживного середовища з розчиненим субстратом. Ферментер (біореактор) повинен забезпечувати ріст і розвиток популяцій мікроорганізмів в усьому об'ємі рідкої фази, підведення поживних речовин до клітин мікроорганізмів, відвід від мікробних клітин продуктів їхнього обміну речовин (метаболізму), відведення з середовища виділеного клітинами тепла.

Глибинне культивування може здійснюватися *періодичним, напівбезперервним і безперервним способами*.

Періодичне культивування. Під час періодичного способу культивування у ферментер завантажують відразу весь об'єм поживного середовища і вносять посівний матеріал. Вирощування мікроорганізмів проводять в оптимальних умовах протягом певного часу, після чого процес зупиняють, зливають вміст ферментера і далі виділяють цільовий продукт.

Етапи росту культури при періодичному культивуванні включає: лаг-фазу, експонентну фазу, фазу уповільнення росту, стаціонарну фазу, фазу відмирання, що характеризується так званою S-подібною кривою зміни концентрації біомаси від часу.

Широко застосовують *періодичне культивування з підживленням*. Існує також *об'ємно-доливне культивування*, коли частина об'єму з біореактора час від часу вилучається при додаванні еквівалентного об'єму свіжого поживного середовища (напівбезперервне культивування).

Безперервні процеси культивування. При безперервному способі поживне середовище безупинно подається у ферментер (біореактор), у якому створюють оптимальні умови для росту мікроорганізмів, а з ферментера (біореактора) також безупинно видаляється культуральна рідина разом з мікроорганізмами.

У безперервних процесах біооб'єкт підтримується в експоненціальній

фазі росту. При цьому існує рівновага між приростом біомаси за рахунок поділу клітин і їхнім видаленням у результаті розбавлення свіжим середовищем.

З безперервних процесів найкраще вивчений метод глибинної ферментації. Процес може бути *гомогенно* або *гетерогенно-безперервним*.

При *гомогенно-безперервному процесі* в апараті, де відбувається інтенсивне перемішування, всі параметри постійні в часі.

При *гетерогенно-безперервному процесі* кілька ферментерів з'єднані разом. Поживне середовище подається в перший апарат, готова культуральна рідина відводиться з останнього.

Під час безперервного культивування мікроорганізмів необхідно запобігати вимиванню культури із системи, тобто забезпечити постійну концентрацію клітин. У асептичних умовах безперервний, проточний метод забезпечує збереження культури у фізіологічно активному стані тривалий час.

Залежно від методу, завдяки якому культура підтримується у стані динамічної рівноваги, коли питома швидкість росту мікробної культури (μ) дорівнює швидкості розбавлення середовища (D), тобто швидкості потоку на одиницю об'єму ($\mu = D$), розрізняють турбідостатний і хеостатний принципи.

При *турбидостаті* швидкість припливу середовища підтримують такою, що концентрація біомаси в системі є постійною; при *хеостаті* в системі обмежують ріст культури одним елементом живлення (концентрацією вуглецю, кисню, певного вітаміну та ін.) при нелімітованих концентраціях інших. Відомі також методи керування ростом проточної культури за значенням рН (*pH-стат*), концентрацією кисню (*оксистат*).

Залежно від мети виробництва – одержання клітин або продуктів їхньої життєдіяльності – способи ведення основної ферментації розрізняються. Якщо процес спрямований на одержання біомаси, то призначення ферментації – одержати максимально можливий титр клітин, а у випадку одержання метаболітів їхнє нагромадження здійснюють одночасно із накопиченням і біомаси, причому максимумами утворення біомаси продуцента та цільового продукту завжди розділені за часом. Тому тривалість ферментації в першому випадку завжди менше, ніж у другому.

Якщо метою мікробіологічного виробництва є одержання біомаси промислового штаму бактерій, що здійснюється під час періодичного процесу, то час культивування, як правило, не перевищує 24 години. При виробництві первинних метаболітів час біосинтезу становить, у середньому, 48...72 години, а вторинних – 72...144 години.

У процесі культивування різних мікроорганізмів у промислових умовах інтервал робочих температур варіює в межах 25...60°C, значення рН – 2...9, витрати повітря в аеробних процесах – 0,15...2,5 об/об середовища за хв.

Основні фактори середовища, що визначають ріст і біосинтетичну активність продуцентів, наведені у таблиці 4.1.

Процес виробництва БАР, а також і біомаси, технологічно і технічно може реалізовуватися різними способами. Особливості обраних способів біосинтезу впливатимуть на хід всього виробничого процесу. Тому технологічна схема, що покладена в основу виробництва, повинна забезпечувати найкраще поєднання виробничих заходів з точним дотриманням оптимальних умов проведення кожної виробничої стадії.

Таблиця 4.1

Основні фактори середовища, що визначають ріст і біосинтетичну активність продуцентів

Фактор	Роль при культивуванні	Методи керування фактором
Джерело та концентрація поживних речовин	Забезпечує метаболізм	Складання оптимальної композиції ПС; підживлення під час ферментації; безперервність процесу; багатостадійність із урахуванням потреб продуцента по фазах розвитку та ін.
Концентрація продуктів метаболізму та інгібіторів	Сповільнює біохімічні реакції	Осадження продукту в міру нагромадження; ферментація з діалізом; ферментація під розрідженням з випарюванням леткого продукту та ін.
pH	Оптимізує швидкості біохімічних реакцій	Регулювання шляхом додавання кислоти або лугу
Температура	Те саме	Охолодження або підігрів культуральної рідини за допомогою теплообмінників або температури субстратів, що подаються до біореактора
Осмотичний тиск або активність води	Визначає границі життя (становить 0,6...0,998)	Складання середовищ із оптимальною концентрацією поживних речовин або вологістю щільного середовища; підтримання на постійному рівні під час ферментації шляхом розведення водою або додаванням окремих компонентів
Вміст розчиненого кисню	Для аеробів забезпечує аеробний метаболізм; є акцептором H^+ ; інгибує розвиток анаеробів	Для аеробних процесів регулюють інтенсивністю аерації або додаванням до газової суміші кисню. Анаеробні процеси реалізують у безкисневому середовищі.
Вміст диоксиду вуглецю	Джерело вуглецю для автотрофів; деякі гетеротрофи гинуть, а деякі сповільнюють метаболізм у присутності CO_2	Продування КР газовим середовищем, збагаченим CO_2 для фотосинтезуючих процесів ферментації; видалення CO_2 з рідкої фази для аеробних гетеротрофних процесів, чому сприяє перемішування
Перемішування середовища	Рівномірний розподіл поживних речовин і біомаси по всьому об'єму середовища	Організують макро- і мікроперемішування за допомогою механічних мішалок, барботажних, циркуляційних й інших систем
В'язкість	Визначає дифузію	Регулювання компонентами живлення,

середовища	поживних речовин і перемішування клітин продуцента	характером і концентрацією біомаси, наявністю деяких полімерних продуктів. В'язкість впливає на перемішування та аерацію; потрібні спеціальні технічні засоби

Культивування продуцентів біологічно активних речовин можна здійснювати двома способами: *поверхневим і глибинним*.

4.1.1. Поверхневий спосіб вирощування

Культуру вирощують в тонкому шарі пористого (сипкого) середовища з природною або примусовою аерацією повітрям. Устаткування для культивування мікроорганізмів на твердих поживних середовищах (ТПС) у мікробіологічній промисловості називається ростильними установками.

Спосіб культивування мікроорганізмів на ТПС на жаль не одержав значного поширення в біотехнології.

Слід зазначити, що для цього способу властивий ряд переваг порівняно зі способом культивування мікроорганізмів на рідких поживних середовищах:

- швидкість біосинтезу ферментів в 5...8 разів більше;
- отримана культура має відносно невелику вологість порядку 40...50%, тоді як при культивації на рідких поживних середовищах 80...95%, що дозволяє заощаджувати енергію на наступних стадіях, тобто при концентруванні (згущенні) і сушінні

Широкому впровадженню цього способу заважає відсутність надійних механізованих ростильних установок.

До ТПС відносять відходи переробної та харчової галузей промисловості, зокрема: солома, висівки, соняшникова, гречана та бавовняна лузга, кукурудзяний качан, відходи переробки картоплі і цукрового буряку тощо.

Недоліки поверхневого культивування на ТПС:

- велика трудомісткість робіт;
- необхідність у громіздкому обладнанні;
- недосконала гігієна праці;
- отримуваний продукт часто має незадовільну якість і активність препарату, як правило, низька.

Апаратурне оформлення:

- ростильні установки колонного типу з об'ємним керуванням;
- ростильні установки барабанного типу;
- установки для статично-динамічного вирощування культур: ростильна установка типу ВИС-42-Д; конвеєрна ростильна установка типу 4Г-КСК.

Апаратурно-технологічна схема установки одержання ферментів поверхневим способом на твердому поживному середовищі (ТПС) представлена на рис. 4.1.

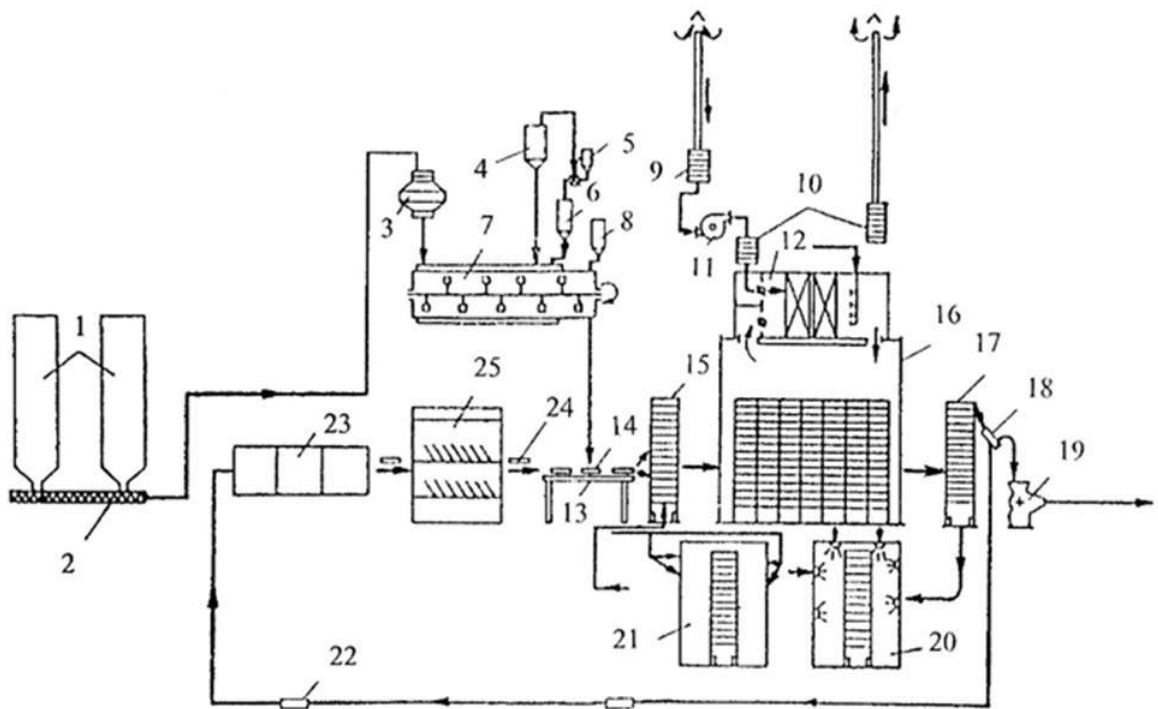


Рис.4.1. Апаратурна схема одержання ферментів поверхневим способом на твердому поживному середовищі (ТПС): 1 – бункери; 2 – шнек; 3 – автоматичний дозатор; 4 – збірник-мірник стерильної води; 5 – мірник концентрованої кислоти; 6 – мірник для розчину соляної кислоти; 7 – стерилізатор сипучих компонентів; 8 – мірник для засівної культури; 9 – фільтри попередньої очистки повітря; 10 – фільтри тонкої очистки повітря; 11 – вентилятор; 12 – камера кондиціонування повітря; 13 – стіл для завантаження кювет; 14 – кювета; 15 – пересувна етажерка з кюветами; 16 – ростильна камера; 17 – етажерка з готовою культурою; 18 – кювета, яку розвантажують; 19 – дробарка; 20 – камера для миття етажерок; 21 – камера для стерилізації етажерок; 22 – брудна кювета; 23 – камера для стерилізації кювет.

Твердофазна ферментація (solid-state fermentation (SSF)) останнім часом знову привернула увагу не тільки дослідників, але й промисловості. Цей варіант культивування мікроорганізмів став досить привабливою альтернативою глибинної ферментації для конкретних застосувань завдяки недавнім конструктивним і технологічним удосконаленням, у тому числі і у галузі проєктування.

Важливі аспекти конструкції біореактора для SSF включають такі параметри, як температура, перенесення кисню, вологість ТПС, інтенсивність змішування або перемішування, аерація та теплопередача. Для досягнення ефективної передачі кисню, ефективного відведення тепла, гарного розподілу води по всьому об'єму, можна використовувати два основних типи стратегії. У першому повітря циркулює навколо ТПС (зазвичай для тонких шарів), а у

другому повітря проходить через нього (без змішування, періодично або постійно, із змішуванням)

Залежно від стратегії, обраної для аерації та змішування/перемішування, біореактори SSF можна класифікувати на чотири основні групи (рис. 4.2):

- реактори без примусової аерації та без перемішування (група 1);
- реактори з примусовою аерацією без перемішування (група 2);
- реактори без примусової аерації з періодичним або безперервним перемішуванням (група 3);
- реактори з примусовою аерацією та з періодичним або безперервним перемішуванням (група 4) [3].

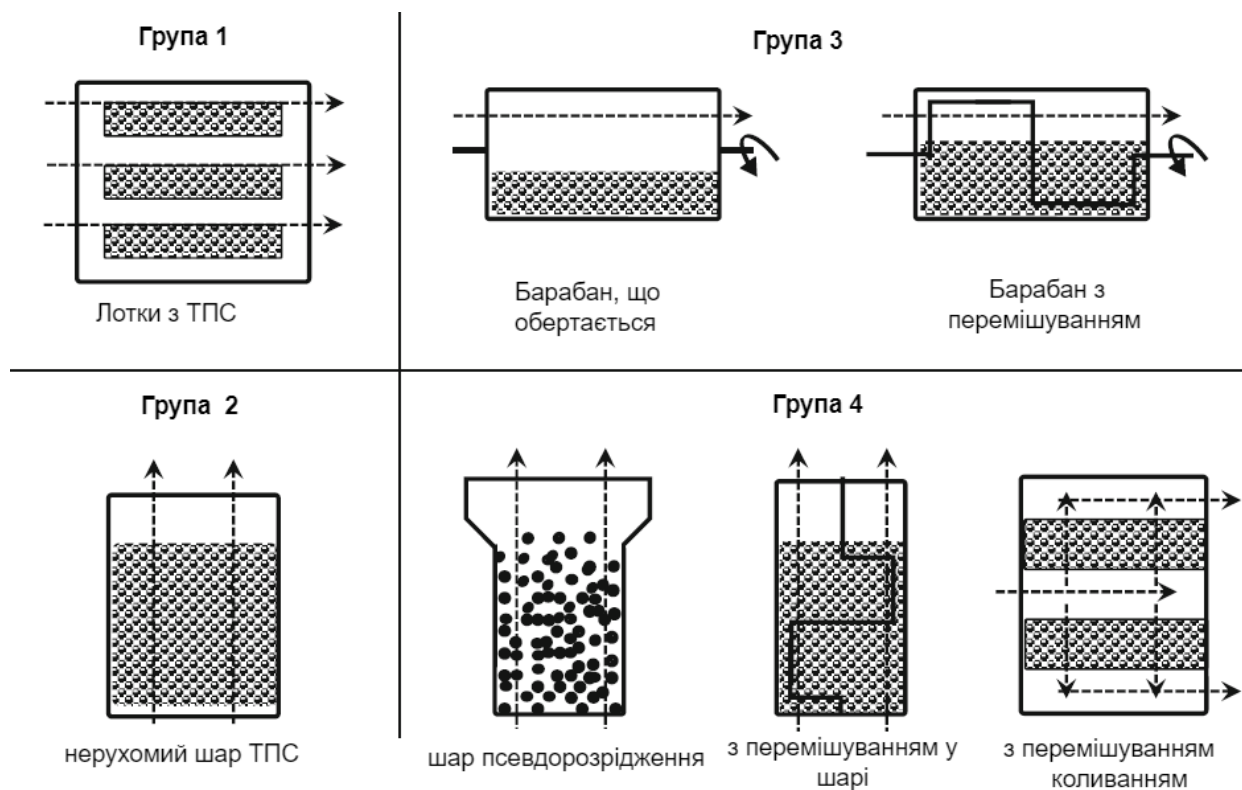


Рис. 4.2. Схематична класифікація біореакторів для твердофазної ферментації на основі стратегії аерації та перемішування (за Мітчелом) [3]

У порівнянні із глибинною ферментацією, де субстрати є рідинами, ТПС, які використовуються у SSF, містять менше води, але між частками існує важлива газова фаза. Ця особливість має велике значення, оскільки повітря характеризується поганою теплопровідністю порівняно з водою. Ще один момент – різноманітність субстратів, що використовуються для SSF, які різняться за складом, розміром часток, механічній міцності, пористості та за вологоутримувальною здатністю.

Важливо вказати, що в цілому, багато типів SSF-реакторів можуть працювати у лабораторному масштабі з невеликою кількістю середовища. Але масштабування до пілотних і промислових установок ускладнюється в основному інтенсивним тепловиділенням і неоднорідністю системи.

Інші фактори, що також впливають на конструкцію біореактора для SSF: морфологія продуцентів – як правило, грибних культур – (приналежність до вищих чи нижчих, тобто наявність або відсутність перегородок в гіфах) і, у зв'язку із цим, їх стійкість до механічних впливів; вимоги до асептичності процесу.

У SSF, крім переносу кисню, який може бути обмежуючим фактором для деяких конструкцій, проблеми більш складні й впливають на контроль двох важливих параметрів: температури та вмісту води у твердій фазі.

Дотепер значна частина процесів масштабування SSF-процесів виконувалася з використанням практичних підходів, але беручи до уваги певні переваги процесу SSF, кілька дослідницьких груп, які працюють по усьому світу, проявили інтерес та досягли значних успіхів у розробці кількісних підходів до тепло- та масоперенесення, математичного моделювання, вимірювання деяких змінних процесу і для розробки моделей росту.

Не зважаючи на значний прогрес у проектуванні систем твердофазної ферментації, нині цей спосіб не є занадто актуальним (за виключенням використання біореакторів барабанного типу), оскільки всі інші варіанти реалізації характеризуються суттєвими недоліками. Отже, можна зазначити, що поверхневий метод отримання біологічно активних речовин поступається глибинному.

4.1.2. Глибинний спосіб вирощування

Глибинне культивування біологічних агентів є найбільш поширеним методом, який використовується в біотехнології для отримання мікробних мас та біологічно активних речовин. Ферментери для глибинного культивування дозволяють найбільш ефективно створювати оптимальні умови для біологічного агента для реалізації його потенціальних властивостей.

При глибинному способі культуру вирощують на рідкому середовищі при перемішуванні і примусовій аерації.

Даний спосіб має ряд переваг, оскільки передбачає скорочення виробничих площ, виключення тяжкої невиробничої ручної праці, покращення гігієни праці, спрощення механізації та автоматизації виробництва, можливість переходу на безперервний спосіб культивування. Крім того, найбільш раціонально використовуються поживні речовини, що дає можливість значно скоротити відходи виробництва у вигляді нерозчинних осадів твердого поживного середовища, одержати продукт вищої активності.

Глибинне культивування проводять у біореакторах – ферментерах різної конструкції.

Метод глибинного вирощування застосовується в двох формах: *культивування в умовно-асептичних умовах та культивування в асептичних умовах.*

Умовно-асептичне культивування. Посівну культуру готують в асептичних умовах, але біосинтез проводять у відкритих ферментерах. Аерація з одночасним перемішуванням досягається за допомогою перемішувачів різних конструкцій, наприклад, типу полої труби. Даний тип культивування не передбачає проведення стерилізаційних заходів до ферментаційного обладнання, а отже зменшує витрати на проведення процесу культивування. Отримані таким способом продукти біосинтезу мають низьку якість за рахунок високого ступеня обсіменіння контамінуючою мікробіотою, а також характерне неефективне використання поживного середовища для біосинтезу цільового продукту. Даний спосіб культивування використовують для отримання продуктів, що використовують, як правило, в сільському господарстві та інших промислових галузях.

Асептичне культивування. Вирощування посівної культури та біосинтез проводять в захищених асептичних умовах, що передбачено особливостями конструкції ферментера. Аерація з одночасним перемішуванням досягається за допомогою різних конструкцій перемішувальних пристроїв та ферментерів. Крім того, дотримання асептичних умов культивування досягається вибраними умовами стерилізації компонентів поживного середовища та самого ферментаційного обладнання, його конструкції. Даний спосіб культивування хоча і збільшує витрати на проведення процесу, але дозволяє досягти високих показників якості продуктів біосинтезу.

4.2. Основні фактори, що мають вплив на вибір ферментаційного обладнання

Стадії основного технологічного процесу починаються з отримання посівного матеріалу, продовжуються у вигляді виробничого біосинтезу і закінчуються виділенням та стандартизацією готового продукту.

Найбільш складною і відповідальною ділянкою біотехнологічного виробництва є *стадії отримання посівного матеріалу та ферментації (біосинтезу)*, основною метою яких є отримання якісного посівного матеріалу та в подальшому максимальної кількості цільового продукту (біосинтезу) у межах генетично детермінованих властивостей біологічних агентів, за рахунок оптимізації факторів оточуючого середовища.

Під *ферментацією* розуміють всю сукупність послідовних операцій від внесення у заздалегідь приготовлене та нагріте до необхідної температури середовище посівного матеріалу і до завершення процесу росту клітин або біосинтезу цільового продукту. По закінченні ферментації утвориться складна суміш, що складається із клітин продуцента, розчину неспожитих поживних компонентів і продуктів біосинтезу, що нагромадилися в середовищі. Таку суміш називають *культуранальною рідиною* (КР).

В умовах промислового виробництва оточуюче середовище штучно створюється у спеціальній апаратурі – *ферментері (біологічному реакторі)*.

В загальному вигляді ферментер виконує дві функції – здійснює транспортні, масообмінні процеси, а також функціонує як теплообмінник. Згідно суті процесів, що відбуваються у ферментері він належить до біологічних систем, але конструктивне оформлення реалізується як для звичайного хімічного реактора. Це реальне протиріччя може бути ліквідовано тоді, коли у процесі вибору, проектування та оптимізації роботи ферментера конструктор буде виходити з фенотипових та фізіолого-біохімічних ознак біологічних агентів. Постійне розширення кола інформаційних джерел та поглиблення знань щодо фізіології біологічних агентів, прогрес у використанні рекомбінантних культур і клітинних гібридом висуває ряд вимог до конструкції ферментаційного обладнання.

Розглядаючи різноманіття ферментаційних апаратів, що застосовуються нині на біотехнологічних виробництвах, можна зробити висновок, що у всіх реакторах відбуваються певні фізичні процеси (гідродинамічні, теплові та масообмінні), за допомогою яких створюються оптимальні умови для проведення біохімічного перетворення речовини (біохімічної реакції). Для здійснення цих фізичних процесів біохімічний реактор (ферментер) забезпечується типовими конструктивними елементами, широко застосовуваними в апаратах для проведення власне фізичних процесів (мішалки, контактні пристрої, теплообмінники, диспергатори тощо). Тому всі ферментери являють собою комплексні апарати, що складаються з відомих конструктивних елементів, більшість яких використовується для проведення технологічних операцій, що не супроводжуються біохімічним перетворенням речовин. Кількість таких конструктивних сполучень, і відповідно, типів реакторів може бути досить великим, що пояснюється різноманіттям і складністю біохімічних реакцій, що відбуваються в них. Стандартна конструкція типового ферментера представлена на рис. 4.3. Він складається з геометричної ємності, оснащеної сорочкою для подачі пари та охолоджуючої води. В середині встановлено перемішувач, що складається з валу та закріплених на ньому турбінній мішалці 4. Вал з'єднаний з електродвигуном. Для аерації поживного середовища повітря подається в апарат через трубу 2, яка з'єднана з розподільником повітря – барботером. Для подачі у ферментер компонентів поживного середовища та виходу відпрацьованого повітря, культуральної рідини слугують відповідні патрубки (штуцери) із запірною арматурою (вентилі, крани). Ферментер комплектується відповідною контрольно-вимірною апаратурою.

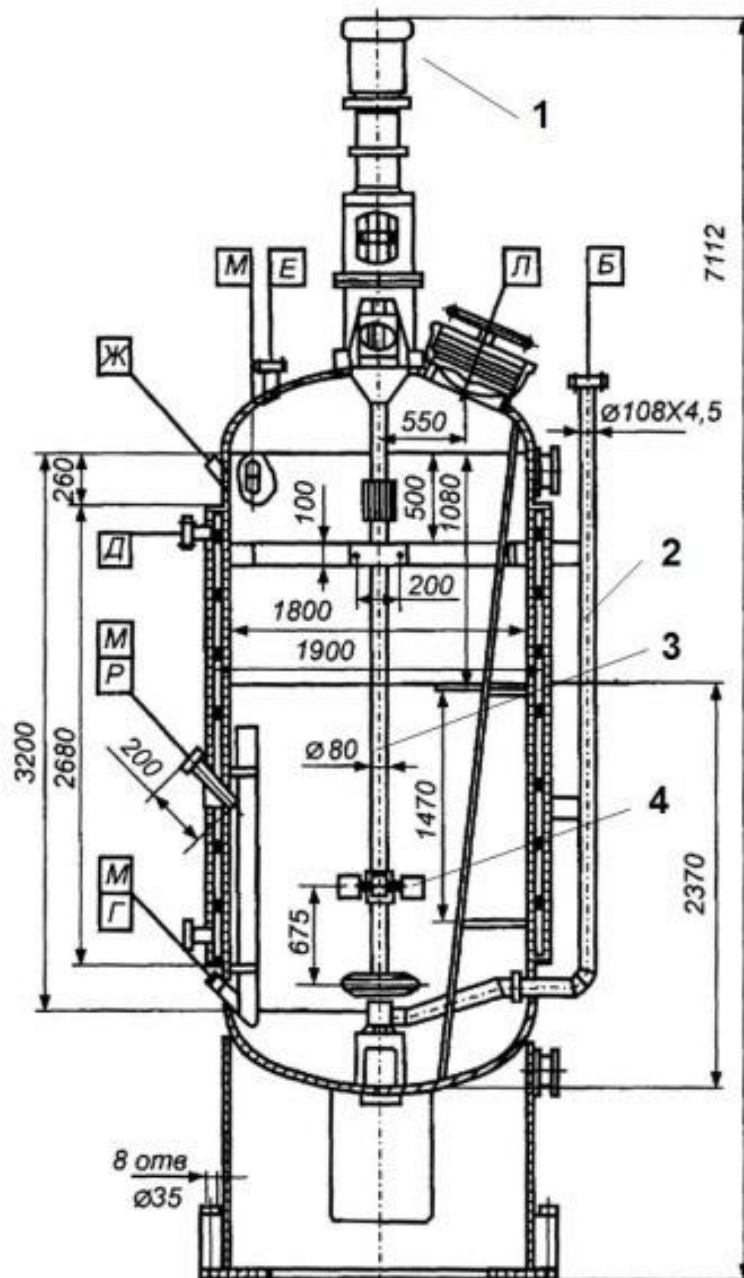


Рис. 4.3. Загальний вигляд стандартного ферментера: 1 – електродвигун; 2 – труба подачі повітря для аерації, 3 – вал перемішуючого пристрою, 4 – турбінна мішалка.

Серед базових вимог (обмежень), які потрібно враховувати при конструюванні або виборі типового ферментера необхідно виділити наступні:

- гідродинамічний стан у ферментері повинен забезпечити одночасну реалізацію масоперенесення в двох-(поживне середовище – клітини біологічного агента, трьох- (газ – поживне середовище – клітини біологічного агента), і чотирьохфазних (газ – поживне середовище – клітини біологічного агента – нерозчинний або слабо розчинний субстрат) системах;
- негативний вплив турбогіпобіозу (зрізових зусиль) на суспендовані

клітини або на клітинні агрегати, що виникають при обертанні мішалки: найбільш вразливі до зрізових зусиль клітини міцеліальних грибів, клітини тварин та клітини рослин;

- широкий спектр діапазонів швидкостей росту: час генерації знаходиться в діапазоні від десяти хвилин до декількох діб;

- значна кількість біологічних агентів висуває високі вимоги до рівня асептики в процесі культивування;

- при культивуванні аеробних біологічних агентів єдиним економічно доцільним джерелом кисню є повітря, при цьому виникає ряд обмежень у процесі масопередачі на фазових переходах газ – культуральна рідина та культуральна рідина – клітина;

- процеси біосинтезу супроводжуються інтенсивним піноутворенням, що обумовлює зниження корисного об'єму ферментера і визначає негомогенність культуральної рідини;

у процесі біосинтезу виділяється значна кількість біологічного тепла (особливо у ферментерах великого об'єму), що потребує наявності системи термостатування ферментаційного об'єму;

- інтенсифікація біотехнологічних процесів несуттєво залежить від конструктивних змін в апаратурі; процеси біосинтезу в основному детерміновані генетичним потенціалом біологічного агента.

Для виконання цих вимог кожний ферментер повинен бути укомплектований наступними системами:

- подачі рідинних (або сипких) потоків в апарат;
- уведення та виведення газових потоків;
- аерування ферментаційного середовища;
- перемішування ферментаційного середовища;
- піногасіння у ферментаційному середовищі;
- термостатування ферментаційного об'єму;
- стерилізації ферментера та ферментаційного середовища;
- виведення рідких (або твердофазних) потоків з апарату;
- контролю та регулювання заданих параметрів процесу.

Основні фактори впливу, що визначають вибір ферментеру базуються на тому, що на сьогоднішній день відсутня узагальнена система вибору ферментаційного обладнання. Для вибору використовують власний досвід або досвід існуючих виробництв. Базовою особливістю біотехнологічних процесів є їх висока індивідуальність стосовно базового етапу біосинтезу – стадії культивування.

Для формування підходів до вибору ферментерів необхідно зазначити, що відправною позицією є визначення технологічних ознак етапу біосинтезу. Ці ознаки були визначені під час розробки систем класифікації стадії культивування біологічного агента.

Перелік факторів впливу:

1. Консистенція ПС. У цьому випадку визначають тип ПС, яке може бути рідким, ущільненим, сипким. При цьому рідкі ПС можуть мати у своєму

складі розчинені або нерозчинені субстрати. Багатофазні системи мають специфічні ознаки, що визначає інтенсивність масообмінних процесів.

2. Технологічне рішення стадії біосинтезу: періодичний процес, напівперіодичний або безперервний.

3. Рівень асептичності (асептичні, умовно асептичні, неасептичні). В цьому випадку береться до уваги те, що процес отримання посівного матеріалу характеризується значно більшою вимогливістю до забезпечення асептичності.

4. Рівень аеробності, який враховує потреби у розчиненому кисні та інтенсивність його доставки до БА. Складовою цього процесу є розділення ефектів перемішування та аерації. Прикладом ефекту перемішування є рівень введеної енергії, а ефект аерації оцінюється за інтенсивністю масопередачі.

5. Рівень припустимого турбогіпобіозу. Причиною гіпобіозу є турбулізація середовища, тому пропонується термін турбогіпобіоз (рівень зрізових зусиль при роботі перемішуючого пристрою). Таким чином для кожної системи культивування існує такий рівень турбогіпобіозу, за якого спостерігається зниження інтенсивності ростових процесів та інтенсивності утворення метаболітів і цей процес супроводжується ушкодженням клітин та іншими гіпоефектами, які викликані турбулентністю середовища, а саме зрізовими зусиллями які виникають у результаті взаємодії культурального середовища з конструктивними елементами ферментера та у результаті взаємодії (контакту) фаз.

6. Продуктивність процесу по цільовому продукту і в цьому випадку враховується вид цільового продукту: біомаса, метаболіт або їх композиція. Продуктивність процесу дозволяє визначити потрібний об'єм, тривалість циклу роботи. Умовно пропонується використовувати лабораторні місткістю 0,5...100 л, пілотні місткістю 100 л...10 м³, промислові (для ведення робіт основного технологічного процесу) місткістю 10...100 м³ і більше.

7. Інтенсивність термодинамічних процесів. Інтенсивність тепловиділення обумовлює конструкцію систем тепловідведення.

8. Характер потоків. Залежно від структури потоків виділяють ферментери з режимом ідеального змішування (наприклад лабораторні апарати з швидкістю обертання мішалки не менше 300 об/хв і часом вирівнювання концентрації (час гомогенізації) 2...8 хв). Режим ідеального витиснення (тубулярний – поршневий).

4.2.1. Технологічні особливості процесів аеробної ферментації

Як вказувалось вище, за технологічним оформленням мікробіологічні процеси поділяють на наступні: *аеробне та анаеробне культивування; твердофазне, поверхнєве та глибинне культивування; періодичне та безперервне культивування.*

Аеробне культивування – мікробіологічні процеси, в яких використовуються аеробні мікроорганізми-продуценти; аерація середовища є їх обов'язковою умовою.

Потреба аеробних мікроорганізмів у молекулярному кисні залежить від джерела вуглецю, що окиснюється і від фізіологічних властивостей та активності росту мікроорганізмів. Для біосинтезу 1 кг дріжджової біомаси необхідно, наприклад 0,74...2,6 кг молекулярного кисню. При інтенсивному споживанні субстрату незалежно від джерела вуглецю продуцент асимілює 0,83...4,0 мг кисню /1 л середовища за 1 хв.

Розчинність кисню в середовищі порівняно низька і залежить від температури, тиску та від концентрації розчинених, емульгованих і диспергованих компонентів (табл. 4.2). При тиску 0,1 МПа і температурі 30°C у 1 л дистильованої води максимальна кількість розчиненого кисню становить 7,5 мг. У реальному поживному середовищі максимальна розчинність кисню коливається в інтервалі 2...5 мг/л. Такі запаси кисню в середовищі забезпечують життєдіяльність аеробного продуцента протягом лише 0,5...2 хв.

Таблиця 4.2.

Залежність абсорбції кисню у воді (мг/л) від концентрації диспергованих елементів (при $t = 20^{\circ}\text{C}$)

Сахароза		Соняшникова олія		Біомаса	
концентрація, %	абсорбція O_2 , мг/л	концентрація, %	абсорбція O_2 , мг/л	концентрація, %	абсорбція O_2 , мг/л
0	8,2	0	8,9	0	8,0
2,5	7,8	0,05	11,6	3,0	4,1
5,0	7,2	0,10	18,9	6,0	2,4
7,5	6,6	0,15	19,0	9,6	1,5
10,0	5,9	0,20	22,3	16,0	1,2
15,0	4,8	0,25	24,0	32,0	0,8

У процесі глибинного культивування запаси кисню у поживному середовищі відновлюються за рахунок подачі аераційного повітря. Швидкість абсорбції кисню збільшується з ростом інтенсивності перемішування середовища (табл. 4.3).

Таблиця 4.3.

Залежність швидкості абсорбції кисню у воді від аерації та перемішування середовища (мг O_2 /(л·хв))

Кількість повітря, що подається, $\text{м}^3/(\text{м}^3 \cdot \text{хв})$	Частота обертання мішалки, хв^{-1}				
	0	500	800	1000	2000
0,35	1,3	4,0	7,5	14,5	15,1
0,65	3,5	7,3	12,1	19,1	22,1
1,00	6,0	10,0	15,0	23,0	24,0
1,30	7,5	13,9	18,0	26,0	28,0
1,60	11,0	15,5	20,0	27,0	29,0

Під час росту біомаси мікроорганізми зазвичай споживають більше кисню, ніж під час надсинтезу цільового метаболіту. Прийнято говорити про *критичну концентрацію* кисню, за якої спостерігається лімітування процесів

дихання у клітин. Для більшості аеробних мікроорганізмів, що ростуть на цукровмісних субстратах, критична концентрація кисню становить 0,05...0,10 мг/л, що відповідає 3...8 % від повного насичення середовища киснем. Лімітування росту та фізіологічної діяльності клітин спостерігається за більш високих концентрацій кисню: на середовищах із глюкозою ріст дріжджів лімітується за парціального тиску кисню pO_2 на рівні 20...25 % від повного насичення.

Оптимальною для росту біомаси вважається концентрація кисню 50...60 % від повного насичення, для біосинтезу цільових метаболітів – 10...20 %.

Остаточний вибір типу ферментеру здійснюється після проведення модельних досліджень на пілотних та лабораторних установках. Обов'язковим елементів попередніх досліджень є визначення критеріїв масштабування в них, як правило вибирають такі:

- інтенсивність масопередачі кисню (об'ємний коефіцієнт масопередачі Kla);
- швидкість потоків (масштабування за гідродинамічними показниками);
- питомі витрати енергії для досягнення ідентичних показників щодо виходу цільового продукту, досягнення необхідної величини об'ємного коефіцієнту масопередачі та інші.

Для нормального розвитку та функціонування аеробних культур необхідна постійна подача повітря, яке є джерелом кисню. Фактично наявність розчиненого кисню у середовищі визначається відношенням між швидкістю споживання його культурою мікроорганізмів і швидкістю його розчинення в середовищі.

Дихання мікроорганізму відбувається тільки за рахунок кисню, розчиненого у середовищі. Оптимальними є умови для дихання, якщо в середовищі є надлишок розчиненого кисню. Це відношення визначається величиною критичної концентрації $C_{кр}$ кисню, нижче якої настає «киснєве голодування» біологічного агента.

Наявність «киснєвого голодування» негативно впливає на розвиток культури: сповільнюються окиснювальні процеси.

При цьому швидкість споживання кисню буде визначатися не фізіологічною потребою мікроорганізмів, а умовами аерації, які залежать від конструкції ферментера та ефективності перемішування.

Основним призначенням аеруючого (барботер) та перемішуючого (мішалка) обладнання у ферментері є: забезпечення умов для досягнення максимальної швидкості розчинення кисню повітря з метою запобігання лімітування киснем у процесі вирощування культури.

При виборі того чи іншого типу ферментера з представленої системи класифікації базовим ефектом є досяжна питома швидкість сорбції (розчинення) кисню у культуральній рідині:

$$J_v = Kla \cdot \Delta C, [\text{кг } O_2 / \text{м}^3 \cdot \text{год}](4.1.)$$

де $\Delta C = C_p - C_n$, різниця концентрацій; C_p –рівноважна (максимально можлива) концентрація кисню у культуральній рідині при заданих умовах культивування, $(\sim 2...5) \cdot 10^{-3}$, кг O_2 /м³; C_n – поточна концентрація кисню в культуральній рідині, кг O_2 /м³.

Величина C_n не може бути менше критичної концентрації $C_{кр}$, нижче якої настає лімітування процесу культивування по розчинному кисню. Для більшості аеробних культур ця величина складає 5...10 % від C_p .

Максимальна питома швидкість розчинення кисню J_v^{max} , відповідно, максимальне значення Kla_{max} для вибраних умов культивування визначається з балансу швидкості розчинення та споживання кисню:

$$dC/dt = Kla \cdot \Delta C - rO_2 \cdot \mu X_{max} \quad (4.2)$$

швидкість
розчинення

швидкість
споживання

У стаціонарному режимі $dC/dt = 0$ і тоді необхідне значення Kla_{max} , яке має забезпечувати система аерації та перемішування ферментера розраховують з рівняння:

$$Kla_{max} = rO_2 \cdot \mu X_{max} / \Delta C, \quad (4.3)$$

де rO_2 – витратний коефіцієнт по кисню, кг O_2 /кг АСБ. Знаходиться за експериментальними даними для вибраної культури та субстрату; μ – питома швидкість росту культури, год⁻¹; X_{max} – максимальна можлива концентрація культури за відсутності лімітування по кисню, кг/м³;

Визначивши час культивування та вартість 1 кВт електроенергії можна отримати вартість експлуатаційних витрат на отримання 1 кг АСБ або БАР

$$B_{екс} = N_{ит} \cdot \tau \cdot E_{ел.} \quad (4.4.)$$

де $N_{ит}$ – питомі витрати електричної енергії на одиницю АСБ або БАР, Квт/кг (включають витрати на перемішування та аерацію культуральної рідини); τ – час культивування, год; $E_{ел}$ – вартість 1 кВт-год, грн/кВт-год.

Вибір типового ферментера, конструювання нового ферментаційного обладнання, модернізація відомих конструкцій можливе тільки у тому випадку, коли врахована специфіка технологічного процесу і ознаки біологічних агентів. Конструктивний розрахунок ферментера, розрахунок гідродинамічних, масообмінних, теплообмінних характеристик, врахування умов диспергації фаз утворення потоків, рівень сегрегації поживного середовища можна реалізувати тільки для конкретних груп апаратів. Тип ферментера (біореактора) для кожного біотехнологічного процесу вибирають із урахуванням специфіки продуцента, властивостей середовища та економічних міркувань.

4.2.2. Тепловий ефект процесу ферментації.

Матеріальну основу росту та розмноження клітин біологічного агента становить асиміляція речовин з навколишнього середовища, так званий конструктивний (будівельний) обмін або анаболізм. Конструктивний обмін вимагає певної витрати енергії і неможливий без енергетичного обміну, або катаболізму. У більшості випадків процеси конструктивного обміну невідокремлювані від процесів енергетичного обміну.

Мікроорганізми, для яких характерний автотрофний спосіб живлення, у конструктивному обміні використовують вуглець діоксиду вуглецю, тобто вони створюють органічні речовини з неорганічних. До таких належать нітрифікуючі бактерії, сірко- і залізобактерії тощо.

Залежно від джерела енергії автотрофні мікроорганізми діляться на фотосинтетичні та хемосинтетичні. Мікроорганізми, для яких характерний гетеротрофний спосіб живлення (гетеротрофи), використовують у процесі анаболізму готові органічні сполуки, наприклад, вуглеводи. Переважна більшість продуцентів, які використовують у мікробіологічній промисловості, є гетеротрофами. Енергетичні процеси в різних мікроорганізмів зазвичай ілюструються наступними схемами:

аеробний процес

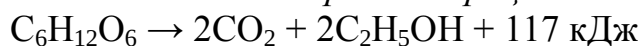


або



щавлева кислота

анаеробний процес



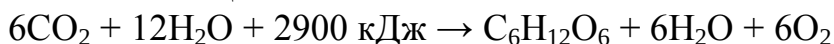
етиловий спирт або



молочна кислота або



оцтова кислота



(світлова енергія)

Реальні процеси відбуваються не за цими спрощеними схемами, а за значно складнішими, що являють ланцюг окисно-відновних реакцій. У зв'язку із цим вихідні продукти (наприклад, вуглеводи) далеко не завжди повністю перетворюються на кінцеві (наприклад, CO_2 і H_2O), а витрачаються на анаболізм або нагромадження проміжних продуктів.

Потреба мікроорганізмів у поживних речовинах тим вище, чим менш удосконаленим виявляється процес окиснення енергетичних речовин. Найбільша кількість енергії при аеробних процесах виділяється при фіксуванні водню, взятого із субстрату, на молекулярному кисні.

Із загальної кількості енергії, отриманої мікроорганізмами при окисних процесах, на конструктивний і основний обмін витрачається зазвичай не більше 40...45%. Інша енергія у вигляді тепла виділяється у навколишнє середовище. Це пояснюється тим, що біологічні процеси відбуваються за постійних температури й тиску, тому робота, що відбувається в біологічних системах, у відповідності із другим законом термодинаміки повинна супроводжуватися відповідним зменшенням вільної енергії. Енергія, що вивільняється при перетворенні органічних речовин субстрату, частково виділяється у вигляді тепла, що служить необхідною умовою того, щоб реакція могла відбуватися довільно в термодинамічному сенсі цього слова.

Таким чином, життєдіяльність будь-якого гетеротрофного мікроорганізму неможлива без виділення тепла. У лабораторних умовах при використанні апаратів невеликого об'єму тепловий ефект процесу непомітний. У виробничих умовах при використанні апаратів великого об'єму ріст і ферментація супроводжуються виділенням значної кількості тепла, і зневажати екзотермічність процесу вже не можна.

Температура, при якій ведеться культивування, дуже впливає на фізіологічний стан мікроорганізмів. Насамперед це проявляється у зміні швидкості росту мікроорганізмів. Дана залежність носить екстремальний характер, тому для кожного продуцента необхідна оптимальна температура вирощування. У виробничих умовах її зазвичай підтримують із точністю $\pm 1^\circ\text{C}$. Однак така точність регулювання в деяких випадках недостатня, особливо у лабораторних дослідженнях і на дослідно-промислових установках.

Розрахунок систем регулювання температури культивування неможливий без знання теплового ефекту мікробіологічного синтезу.

Сумарний тепловий ефект мікробіологічного синтезу може істотно змінюватися залежно від складу поживного середовища, кількості біомаси та апаратного оформлення процесу. Часто при проєктуванні тепловий ефект мікробного синтезу враховувався лише орієнтовно.

Літературні дані зазвичай дають значний інтервал значень, наприклад, при культивуванні продуцентів ферментів кількість теплоти, що виділяється, може коливатися від 4000 до 30000 кДж/(м³·год). Для продуцентів антибіотиків величина тепловиділення може досягати 55000 кДж/(м³·год) і більше. Залежність тепловиділення при мікробному синтезі від часу має екстремальний характер, оскільки інтенсивність виділень визначається концентрацією біомаси та швидкістю росту.

Ефективне видалення теплоти з ферментера поряд із прогресивними технічними та технологічними рішеннями на стадії проєктування ферментерів у великому ступені залежить від правильної експлуатації апарата. Тому при розгляді теплового балансу апарата особливий інтерес представляє момент, коли навантаження на теплообмінні пристрої ферментера максимальні: під час роботи мішалки, мікробному синтезі, внесенні тепла з аераційним повітрям і відведення тепла з охолоджувальною

водою, витрачуване при випарі рідини та при втратах у навколишнє середовище.

Забезпечення оптимальної температури процесу культивування є однією з складних технічних проблем. На практиці тепловідведення пов'язано з великими капіталовкладеннями та необхідністю будівництва складних систем оборотного водопостачання, теплообмінних пристроїв у ферментерах, а іноді й додаткових холодильних установок.

Витрати на теплообмін можна порівняти з витратами на забезпечення клітин киснем, тому вони можуть бути вирішальними при виборі конструкції ферментера.

Проблема підвищення ефективності тепловідведення обумовлена наступними причинами:

низьким коефіцієнтом теплопередачі, що пов'язано з малоінтенсивною тепловіддачею з боку мікробної суспензії, а також з утворенням відкладень на внутрішній стороні охолоджувальних елементів, що пояснюється практично ламінарним обтіканням їх мікробною суспензією;

невеликою величиною рушійної сили теплоперенесення, тобто перепаду температур охолоджувальної води (у літню пору 26...28 °C) і мікробної суспензії (зазвичай 32...34° C);

необхідністю відводити не тільки тепло, що виділяється при життєдіяльності мікроорганізмів, але й практично все тепло, у яке перетворюється робота, витрачена на перемішування;

інерційністю теплообмінних пристроїв, які мають велику металоємність, що, у свою чергу, обумовлена необхідністю розвитку поверхні теплопередачі.

Сумарне тепловиділення у процесі культивування, в основному, визначається двома складовими:

а) тепловим ефектом мікробного синтезу, який може істотно змінюватися залежно від складу поживного середовища, кількості біомаси та апаратурного оформлення процесу.

б) теплотою, що виділяється при перемішуванні ферментаційного середовища (при перетворенні механічної енергії мішалки на теплову), що визначається потужністю, яка витрачається на перемішування.

Остання встановлюється розрахунково або експериментально за силою струму, що споживається або прямим калориметрируванням – за кількістю теплоти, що виділяється при перемішуванні у ферментері. При перемішуванні аеруванням здійснена робота може бути визначена за рівнянням Бернуллі.

Розрахунок систем регулювання температури культивування та теплообмінних пристроїв ферментерів неможливий без знання сумарного тепловиділення і його складових.

Залежно від об'єму теплового навантаження для відведення тепла використовують поверхню корпусу апарату (теплові сорочки), а також внутрішні функціональні конструкції (стінки дифузора, відбивні

перегородки, тарілки, навіть вал і лопаті мішалки) або виносні теплообмінники.

Охолодження (обігрів) ферментера зовні в більшості випадків здійснюється через сорочку, що є широко розповсюдженим способом теплообміну в біотехнології взагалі. Основною перевагою цього типу теплообмінного пристрою є звільнення внутрішнього об'єму апарата від конструктивних елементів, що значно полегшує експлуатацію ферментера і сприяє простішій і надійнішій герметизації його робочого об'єму.

У тих випадках, коли тепловиділення велике, застосовують різні вбудовані теплообмінники. Як внутрішні теплообмінні пристрої у ферментерах найчастіше застосовують змійовики. В апаратах об'ємом менше 5 м³ використовують один змійовик, розміщений у центральній частині, а в апаратах більшого об'єму – кілька змійовиків, розташованих по периферії і виконуючих функція відбивних перегородок. Дуже важливо при цьому правильно вибрати місце розміщення трубчатки змійовика, де можна забезпечити інтенсивний циркуляційний потік рідини. Завжди необхідно пам'ятати, що вбудовані теплообмінники підвищують імовірність інфікування ферментерів, погіршують гідродинамічну ситуацію, зменшують корисний об'єм, ускладнюють їхнє промивання, стерилізацію та ремонт.

Іншим типом внутрішнього теплообмінного пристрою є вертикальні трубчасті відбивні перегородки, розміщені радіально поблизу стінок апарату. Порівняно зі змійовиками вони мають більшу кількість зварених з'єднань і тому більше трудомісткі та складні у виготовленні і недостатньо надійні в експлуатації. Із цієї причини вони використовуються рідше, ніж змійовики.

Слід зазначити, що конструкції внутрішніх теплообмінних пристроїв повинні забезпечувати доступність і простоту огляду, чищення й стерилізації біохімічного реактора, а також запобігання вібрації при перемішуванні шляхом надійного їхнього кріплення до корпусу реактора. Розташування теплообмінних пристроїв, особливо декількох, усередині реактора погіршує умови перемішування й теплообміну в його реакційному обсязі. Крім того, наявність патрубків для введення та виведення теплоносія зі змійовика, які можуть розташовуватися на кришці, днищі або стінках корпусу апарата, ускладнює створення та підтримання герметичних умов роботи ферментера.

Найкращим рішенням проблеми є використання виносних теплообмінників (кожухотрубних, пластинчастих тощо), які розташовують на зовнішніх циркуляційних трубах, якщо такі є. У мікробіологічній промисловості допустимо використання виносного пластинчастого теплообмінника або самоочисного спірального теплообмінника із циркуляцією через нього культуральної рідини насосом. При виробництві біологічно активних речовин фахівці зв'язують появу зовнішнього циркуляційного контуру, укомплектованого насосом, з досить великою ймовірністю проникнення сторонньої мікрофлори, що збільшує втрати при біосинтезі та ускладнює піногасіння і фільтрацію культуральної рідини. Як, приклад, на рис.4.4. наведено схему теплообмінних пристроїв ферментера

ємністю 150 м^3 .

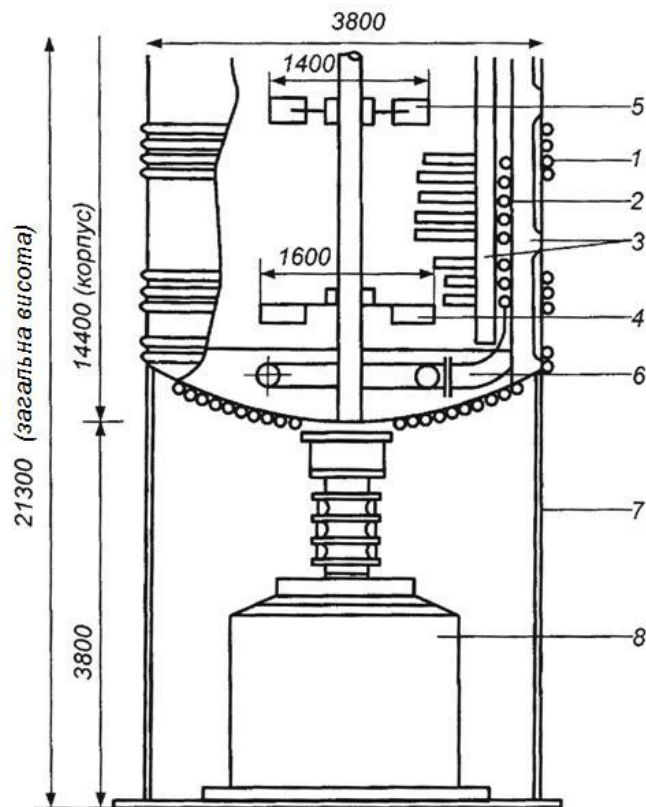


Рис. 4.4. Розміщення змійовиків для зовнішнього та внутрішнього теплообміну у ферментері ємністю 150 м^3 (потужність приводу – 500 кВт; поверхня змійовиків – 160 м^2 ; маса апарата - 57,5 тони): 1 – зовнішні змійовики, сім секцій; 2 – внутрішні змійовики; 3 – відбійні перегородки; 4 – нижній ярус мішалки – диспергатор повітря; 5 – три верхні яруси мішалки; 6 – барботер; 7 – опора ферментера; 8 – привід мішалки.

Варто також вказати, що для поліпшення умов теплообміну перспективним є спосіб відведення теплоти за умови плівкового стікання охолодженої води по корпусу апарата. Корпус при цьому закривається легким кожухом. Цей метод дозволяє також знизити тиск охолодженої води, що доцільно як з погляду економіки, так і з погляду ослаблення механічного впливу на стінки апарата.

Як холодоагенти використовуються так звана оборотна вода – вода замкнутого через градирню оборотного водопостачання (улітку $\Delta t_{\text{ср.}} \sim 7^\circ \text{C}$), артезіанська вода ($\sim \Delta t_{\text{ср.}} \sim 12^\circ \text{C}$) і так звана «захоłodжена» у холодильній установці вода ($\Delta t_{\text{ср.}} \sim 20^\circ \text{C}$). Вибір холодоагенту, подібно вибору температури повітря, визначається техніко-економічним розрахунком. У результаті застосування зовнішніх змійовиків коефіцієнт тепловіддачі від стінки до охолодженої води становить близько $3000 \text{ Вт/м}^2 \cdot \text{град}$ і перевищує коефіцієнт тепловіддачі від культуральної рідини до стінки, рівний $2000 \text{ Вт/м}^2 \cdot \text{град}$.

Однак внаслідок відкладень на теплообмінній поверхні в деяких

випадках – органічних речовин з поживного середовища та у всіх випадках – солей, що обумовлюють «жорсткість» води («водяного каменю»), коефіцієнт теплопередачі на діючих підприємствах доволі низький і становить $200-300 \text{ Вт/м}^2 \cdot \text{град}$.

В остаточному підсумку, при тепловому розрахунку необхідно визначити навантаження на теплообмінний пристрій апарату з рівняння теплового балансу та оцінити можливість теплообмінного пристрою (змійовика, сорочок) відводити надлишок тепла, що виділяється.

4.2.3. Піноутворення та піногасіння у ферментерах

У гетерогенних багатофазних технологічних процесах наявність газової фази у відповідних гідродинамічних умовах часто приводить до утворення піни. Піноутворення пов'язане з наявністю в рідкій фазі поверхнево-активних речовин (ПАР), які різко зменшують поверхневий натяг, що у свою чергу, збільшує стійкість поверхні розділення взаємодіючих фаз газ – рідина. У процесі пропускання газових бульбашок через шар такої рідини (чисті рідини практично не піняться) відбувається стабілізація плівки бульбашок, що і приводить до виникнення піни.

У процесах біосинтезу культуральні рідини зазвичай містять значну кількість білкових речовин, яким притаманні властивості ПАР (в основному продукти метаболізму мікроорганізмів). Тому ці процеси, як правило, супроводжуються інтенсивним піноутворенням. Піноутворення значно ускладнює проведення біохімічного процесу, оскільки спінювання культуральної рідини є причиною зменшення коефіцієнта заповнення ферментера, збільшення втрат продукту, інфікування сторонньою мікрофлорою та забруднення навколишнього середовища внаслідок винесення, а також виходу з ладу фільтрів для очищення вихідного повітря з ферментерів. Треба, однак, відзначити, що наявність піни може прискорити розчинення кисню в рідкому середовищі, внаслідок утворення більшої поверхні масообміну, а здійснення процесу в газорідній емульсії або в рухливій піні – знизити енергетичні витрати на стиснення повітря, що надходить на аерацію.

Через те, що піна є складною фізико-хімічною системою, завдання піногасіння є багатогранним і його вирішення неможливо без знання механізму та кінетики піноутворення. У зв'язку із цим для запобігання викиду піни з реакційного об'єму апарата застосовують різноманітні методи руйнування піни: *фізичні, фізико-хімічні та технологічні*.

Фізичні методи піногасіння

Акустичний метод піногасіння заснований на дії звукових або ультразвукових коливань, створюваних аеродинамічними або магнітострикційними випромінювачами. Ці коливання в межах $10 \dots 100 \text{ кГц}$ (хвилі, звуковий тиск, вібрації, турбулентність) передаються осередкам піни і поступово руйнують її пухирці залежно від інтенсивності звуку (спочатку перший шар, потім другий і т.д.). При цьому не можна не враховувати, що в

піні можуть поступово накопичуватися мікроорганізми, на які високі частоти (понад 20 кГц) діють летально. Використання ультразвуку економічно виправдано тільки для гасіння малих кількостей піни.

Застосування *теплого методу піногасіння* обмежується чутливістю багатьох мікроорганізмів до високої температури. Дія теплового ефекту досягається за допомогою струменя гострої пари або нагрітої поверхні. При зіткненні з ними (або поблизу їх) піни відбувається випарювання рідини, що приводить до руйнування пухирців і припинення піноутворення.

Електричний метод піногасіння заснований на тому, що електричне поле може руйнувати або послабляти піну в електропровідних рідинах. Найбільш ефективним є спосіб обробки піни в імпульсному електричному полі високої напруги. Він сучасний, економічний і дозволяє автоматизувати процес піногасіння. Однак через малу вивченість впливу електричного поля на мікроорганізми його застосування поки обмежено.

Гідроаеродинамічний метод піногасіння припускає використання різноманітних конструктивно складних, енергоємних струминних піногасильних пристроїв. Руйнування піни відбувається під дією ударної сили струменя рідини, що розкидається на дзеркало рідини, або в результаті завихрення пінних шарів потоком повітря при зміні його швидкості та напрямку.

У випадках, коли хімічні синтетичні піногасні речовини викликають у біохімічних середовищах небажані побічні явища, для руйнування піни застосовують *механічний метод*, що із всіх фізичних методів одержав найбільш широке поширення. *Механічний метод піногасіння* заснований на зменшенні розмірів пухирців піни або їхньому повному руйнуванні при механічному ударному впливі на піну. Для цього застосовують різні механічні обертові пристрої (ротор, турбіну, крильчатку, пакет тарілок тощо), які встановлюють на одному валу із перемішувальним пристроєм реактора або самостійно. Всі ці пристрої є складовою частиною конструкції ферментера.

Всі механічні піногасильні пристрої вимагають додаткової, іноді значної витрати енергії, надійної герметизації із застосуванням у деяких випадках мастильно-охолоджувальної рідини. Ці недоліки відсутні в циклонних піногасниках. Використання відцентрового поля та лабіринтів різного типу значно полегшує і поліпшує процес обробки піни.

Однак у більшості випадків, особливо за умови інтенсивного ведення біохімічного процесу, обмежити піноутворення тільки за допомогою цих піногасників виявляється неможливим без застосування механічних пристроїв.

Фізико-хімічні методи піногасіння

У цих методах використовують як природні, так і синтетичні речовини. Як природні речовини піногасіння використовують рослинні олії (наприклад, соняшникова, касторова, соєва та ін.) і тваринні жири (наприклад, бараний, яловичий, кістковий і т.д.), додавання яких у кількостях до 2...2,5% (за

об'ємом) є найбільш простим способом запобігання спінюванню. Маючи більшу поверхневу активність, ніж речовини-піноутворювачі, піногасник витісняє їх з поверхневого шару піни. При цьому товщина стінок пухирців піни під впливом молекул хімічного піногасника поступово зменшується і вони руйнуються (лопаються). Варто мати на увазі, що ці речовини можуть брати участь не тільки у піногасінні, але також і у процесах біосинтезу, часто негативно впливаючи на умови постачання культуральної рідини киснем. У зв'язку з тим, що витрата харчових жирів, олій у біохімічних виробництвах може бути досить високою, останнім часом усе ширше застосовуються *синтетичні піногасники*. Використання синтетичних піногасників є найбільш перспективним фізико-хімічним способом боротьби з піноутворенням, оскільки їхня витрата в десятки й сотні разів менша, ніж природних піногасних речовин.

До синтетичних піногасників належать *силікони, пропіноли, контрамін та поліформаль*.

Силікони, або поліорганосилоксани – це кремнійорганічні рідкі високомолекулярні речовини. Силікони мають рідкісні властивості – високу теплостійкість, характерну для кремнію (не розкладається при 300 °C), і еластичність, притаманну органічним полімерам. Використовуються вони як гідрофобізатори, піногасники, антикорозійне і антиадгезивне покриття, алопластичний матеріал, основи захисних мазей, носії активних фармацевтичних інгредієнтів (АФІ). Силікони широко застосовують у багатьох галузях виробництва, включаючи різні напрями медицини, у фармації, мікробіології, гематології, косметології, ветеринарії.

Специфічну властивість силіконів пригнічувати піноутворення використовують при виробничій ферментації одержання антибіотиків, ферментів, виробництві екстрактів лікарських речовин, відгонці спирту із сумішей речовин, які дуже піняться. Застосування піногасників дозволяє помітно підвищити економічність технологічних процесів у виробництві та якість продукції, що виробляється.

Силікон під назвою «Диметикон» відомий у багатьох країнах. Диметикон має поверхнево-активні властивості, при додаванні в концентрації 0,5% проявляє властивості піногасника.

Демитикон може стерилізуватися впродовж 2 год при $t=160\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Процес стерилізації проводять у невеликих мірниках з внутрішнім змішувиком, що встановлюють безпосередньо біля ферментаційного обладнання великого об'єму.

Дане обладнання комплектується системою автоматизованого керування рівнем піни в апараті, що включає в себе датчики піни, регулюючі клапани, що включаються при підвищенні рівня піни в апараті. Крім того, така система може мати в своєму складі механічні піногасники (комбінована система), що поєднує хімічне та механічне піногасіння.

Для ефективної дії рідких хімічних піногасників необхідно забезпечити їхній тонкий розподіл у пінливій рідині. Цієї мети не завжди можна досягти

механічним способом, тому використовують також рідкі піногасники у вигляді емульсій. При цьому рівень піни в апараті зазвичай знижується до нуля. Крім рідких піногасних речовин в окремих випадках вигідно застосовувати сухі піногасники у формі брикетів і порошоків. Поступово розчиняючись у рідкому середовищі, вони попереджають утворення в ній піни.

В цілому фізико-хімічний метод піногасіння не є універсальним, оскільки не у всіх випадках ефективний, здорожує вартість одержуваних продуктів, вимагає попередньої стерилізації піногасників.

У більшості випадків піногасіння здійснюють за допомогою хімічних піногасників – поверхнево-активних речовин природного або синтетичного походження. Однак в останні роки усе більше уваги приділяється механічним піногасникам, використання яких виключає або різко скорочує введення хімічних піногасників, які іноді є інгібіторами життєвих процесів мікроорганізмів-продуцентів.

Технологічні методи піногасіння

Ці методи передбачають стабілізацію рівня піни за рахунок дії наступних факторів: зниження інтенсивності аерації (скорочення або повне припинення подачі повітря), перемішування (зменшення частоти обертання мішалки або її повна зупинка), виводу піни з реакційного об'єму апарата за допомогою флотатора.

Раптова зміна тиску в газорідній системі (її вакуумування), що знижує висоту шару піни, не одержало поки поширення через дороге устаткування та труднощі збереження асептичних умов. Слід зазначити, що піноутворення в ферментерах можна зменшити за рахунок їх конструктивних і геометричних факторів, наприклад, збільшення відношення діаметра апарату до його висоти, або за рахунок підбирання відповідної конструкції мішалки, барботера тощо.

Комбінований метод піногасіння

Технічно цей метод варто вважати найбільш сучасним. Як правило, основою його є наявність механічного піногасника, а хімічні піногасники використовуються тільки в критичних випадках.

Принцип дії механічних піногасників полягає у руйнуванні пухирців повітря або їхньому дробленні при контакті з робочим органом. Застосовуються як вбудовані в апарат, так і виносні механічні піногасники.

Всі механічні піногасники розділяються на два типи – *роторні та циклонні*. У першому випадку об'єктом творчості конструкторів є форма обертового пристрою. До найпростіших належать гладкий диск, на роботу якого витрачається мінімальна кількість електроенергії. На рис. 4.5 показана конструкція піногасника із гладким диском і сепараційною камерою. Для підвищення ефективності диск виконують із різними прорізами, радіальними лопатями, обладнують його виступами, пальцями тощо.

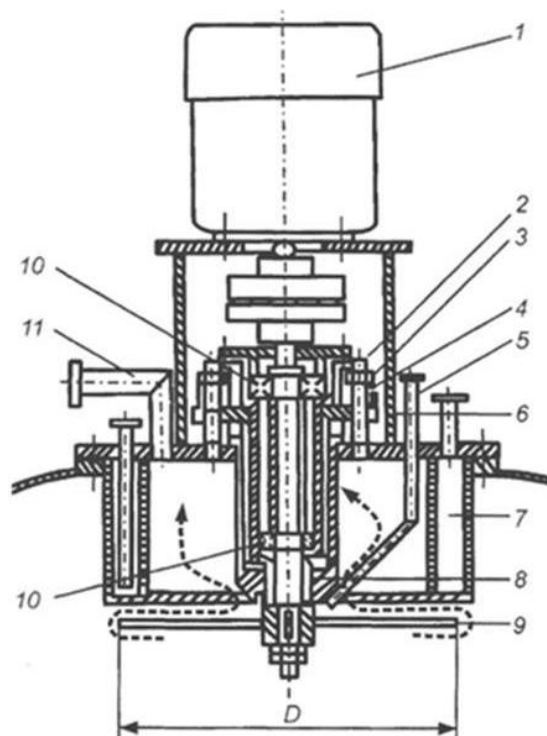
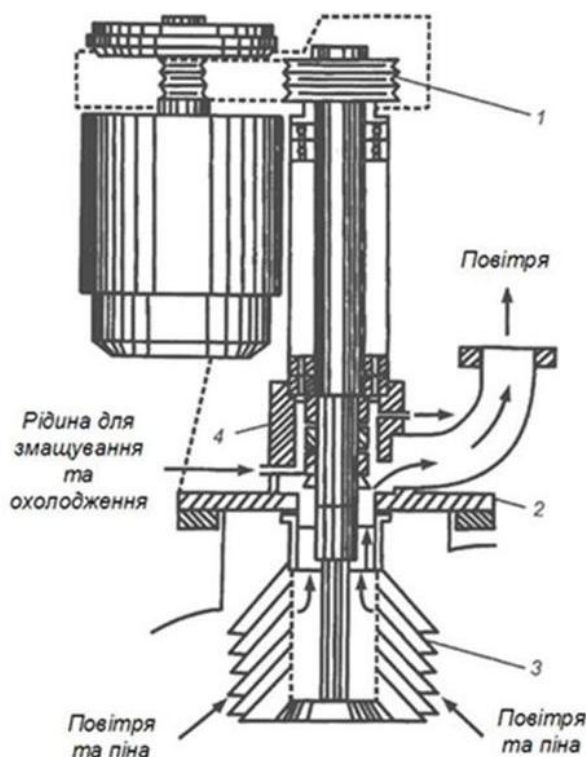


Рис. 4.5. Механічний піногасник з гладким диском: 1 –електродвигун; 2 – шпилька; 3 – притисна гайка; 4 – пружина; 5 – патрубок для подачі хімічного піногасника; 6 – притисна гільза; 7 – зворотній холодильник; 8 – фторопластовий ущільнювач; 9 – диск; 10 – опорний підшипник; 11 – патрубок виходу відпрацьованого повітря з ферментера



Іноді ротор розташовують у камерах різної форми, призначених для організації потоку піни й підведення її до пінозбивача. Піногасник монтують на фланці штуцера в місці виходу повітря. Найбільш перспективними механічними піногасниками є пакети конічних тарілок (рис.4.6).

Рис.4.6. Механічний піногасник з пакетом конічних тарілок: 1 – клиноремінна передача; 2 – фланець штуцера; 3 – ротор; 4 – подвійний торцевий ущільнювач

Запитання для самоперевірки

1. Назвіть технологічні особливості процесів ферментації.
2. Порівняйте особливості поверхневого та глибинного культивування.
3. Які основні вимоги до вибору типового ферментера? Порівняйте конструктивні особливості ферментаційного обладнання для твердофазного та рідиннофазного культивування.
4. Назвіть основні фактори впливу, що визначають вибір ферментеру.
5. Охарактеризуйте способи та конструктивні особливості відведення біологічного тепла під час ферментації.
6. Охарактеризуйте способи піногасіння під час ферментації.

Список літератури до розділу 4

1. Пирог, Т.П. Загальна біотехнологія / Т.П. Пирог, О.А. Ігнатова – К.: НУХТ, 2009. – 336 с.
2. Сидоров, Ю.І. Процеси і апарати мікробіологічної та фармацевтичної промисловості. Технологічні розрахунки. Приклади і задачі. Основи проєктування: Навч. посібник. /Ю.І. Сидоров, Р.Й. Влязло, В.П. Новіков - Львів: «Інтелект-Захід», 2008.- 736 с.
3. Mitchell D. A., Krieger N., Berovic M. Solid-State Fermentation Bioreactors: Fundamentals of Design and Operation. Springer, 2010. 486 p

Розділ 5. КЛАСИФІКАЦІЯ ФЕРМЕНТЕРІВ ДЛЯ ГЛИБИННОГО КУЛЬТИВУВАННЯ. ТИПОВІ КОНСТРУКЦІЇ ФЕРМЕНТЕРІВ

Ферментери (біореактори) зазвичай являють собою герметичні циліндричні ємності, висота яких в 2...2,5 рази перевищує діаметр. Найчастіше їх виготовляють із нержавіючої сталі. Для підтримання температури в апараті є подвійний кожух (сорочка) або теплообмінник типу змійовика.

Головна вимога до апаратів – збереження асептики, тому вони повинні бути герметичними, всі лінії трубопроводів повинні бути доступні для обробки гарячою парою. Робочий об'єм ферментера (біореактора) зазвичай не перевищує 0,7 загального геометричного об'єму.

На сьогоднішній день відома значна кількість класифікацій ферментерів, які враховують їх різні конструктивні, експлуатаційні та технологічні особливості. В основі проектування відділення виробничого біосинтезу під час попереднього вибору ферментеру користуються схемою у відповідності з якою ферментери розподілені за принципом введення енергії у культуральну рідину.

Запропонована класифікація орієнтована на аеробні процеси, як найбільш поширені в біотехнології і вибір враховує інтенсивність масопередачі кисню у вигляді об'ємного коефіцієнту масопередачі Kla (K_v). Представлена система класифікації враховує ефекти, що виникають при введенні визначеної кількості енергії. Базовим ефектом є швидкість сорбції кисню J_v ($\text{кгO}_2/\text{м}^3 \cdot \text{год}$).

Здебільшого ферментери класифікують саме за способом введення енергії, оскільки енергетичні чинники обумовлюють гідродинамічні та масообмінні показники. Існують три основні способи введення енергії у поживне середовище (рис 5.1.), тобто розрізняють три основні типи ферментерів за способом введення енергії в культуральну рідину:

- ферментери з підведенням енергії до газової фази;
- ферментери з підведенням енергії до рідкої фази;
- ферментери з комбінованим підведенням енергії.

Крім того, усі типи ферментерів за геометричним об'ємом, умовно можна розділити на такі категорії:

- лабораторні місткістю 0,5...50 л,
- пілотні місткістю 50 л...10 м^3 ,
- промислові (для здійснення робіт основного технологічного процесу) місткістю 12...100 м^3 та більше.

Залежно від структури потоків виділяють:

- ферментери з режимом ідеального змішування (наприклад лабораторні апарати з швидкістю обертання мішалки не менше 500 об/хв і часом вирівнювання концентрації (час гомогенізації 2...8 хв).

- ферментери з режимом ідеального витиснення (тубулярний - поршневий).

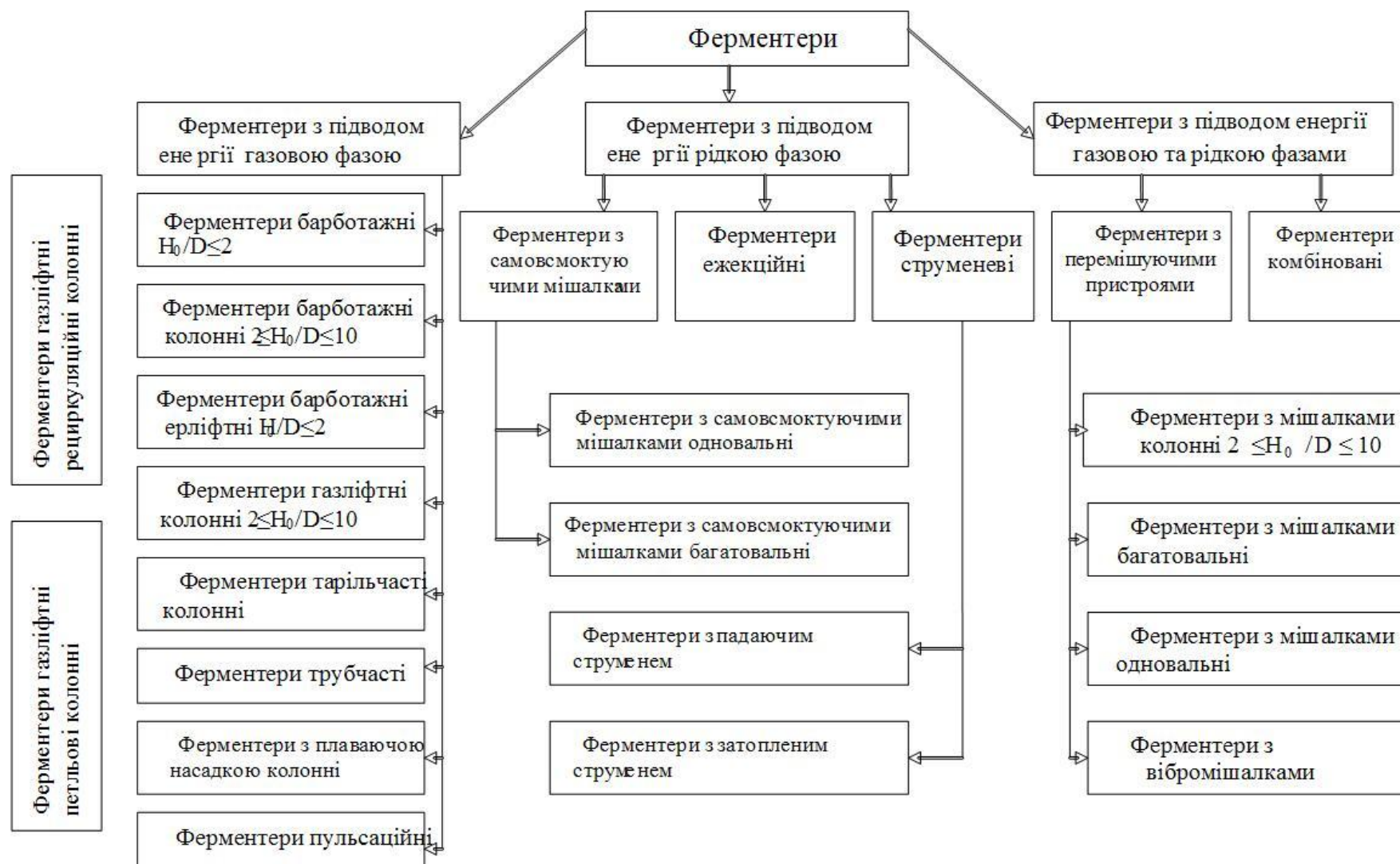


Рис.5.1. Схема класифікації ферментерів за способом введення енергії в культуральну рідину

5.1. Ферментери (біореактори) з підведенням енергії до газової фази

В апаратах з підведенням енергії до газової фази аерація та перемішування культуральної рідини здійснюються стисненим повітрям, що подається у ферментер (біореактор) під певним тиском. До таких ферментерів (біореакторів) належать:

- *барботажні* ферментери (біореактори), подача повітря в які здійснюється через барботажні пристрої, розташовані в нижній частині апарату (рис.5.2. а);
- апарати з *дифузором (ерліфтні аератори)*, що мають внутрішній циліндр-дифузор, який забезпечує перемішування субстрату та повітря, які подаються розподільними трубами у нижню частину апарату (рис.5.2., в);
- *трубчасті* ферментери (біореактори) (газліфтні), що складаються з реактора кожухотрубного типу, через який рідина потоком повітря переміщається у верхню частину апарату і, потрапляючи в сепаратор, вертається в реактор, де знову захоплюється повітрям, піддаючись у такий спосіб циркуляції;
- ферментери (біореактори) з *форсуночним повітрерозподіленням*, обладнані форсунками для подачі повітря, розташованими в нижній частині апарату, і дифузором, який перебуває над ними, що забезпечує внутрішню циркуляцію рідини;
- ферментери (біореактори) *колонного типу*, що являють собою циліндричну колону, розділену горизонтальними перегородками (тарілками) на секції; повітря барботує через шар рідини кожної тарілки, а переміщення рідини через кільцеву щілину забезпечує протиточний рух рідкої і газової фаз.

5.2. Ферментери (біореактори) з підведенням енергії до рідинної фази

До апаратів з підведенням енергії до рідинної фази відносять:

- апарат із *самовсмоктувальною турбіною*, що має циліндричний дифузор і мішалку з порожніми лопатями та валом, при обертанні якого за рахунок створюваного розрідження відбувається самовсмоктування повітря, завдяки чому відбувається підйом рідини в кільцевому зазорі між дифузором і стінками апарату з наступним її поверненням у дифузор (рис.5.2., г);
- ферментер (біореактор) з *турбоежекторними перемішувальними пристроями* – апарат, розділений вертикальними перегородками на секції, у кожній з яких є самовсмоктувальна мішалка турбінного типу (ежектор) і дифузор; для переміщення рідини із секції в секцію у перегородках зроблені вікна.

5.3. Ферментери (біореактори) з комбінованим підведенням енергії

У апаратах з комбінованим підведенням енергії здійснене підведення

енергії до газової фази для аерації та до рідинної фази для перемішування. Ферментер (біореактор) являє собою циліндричну посудину, укомплектовану механічною мішалкою та барботером, що встановлюється, як правило, під нижнім ярусом мішалки (рис.5.2., ж).

Нижче наведено деякі схеми найпоширенішої ферментаційної апаратури (рис.5.2.).

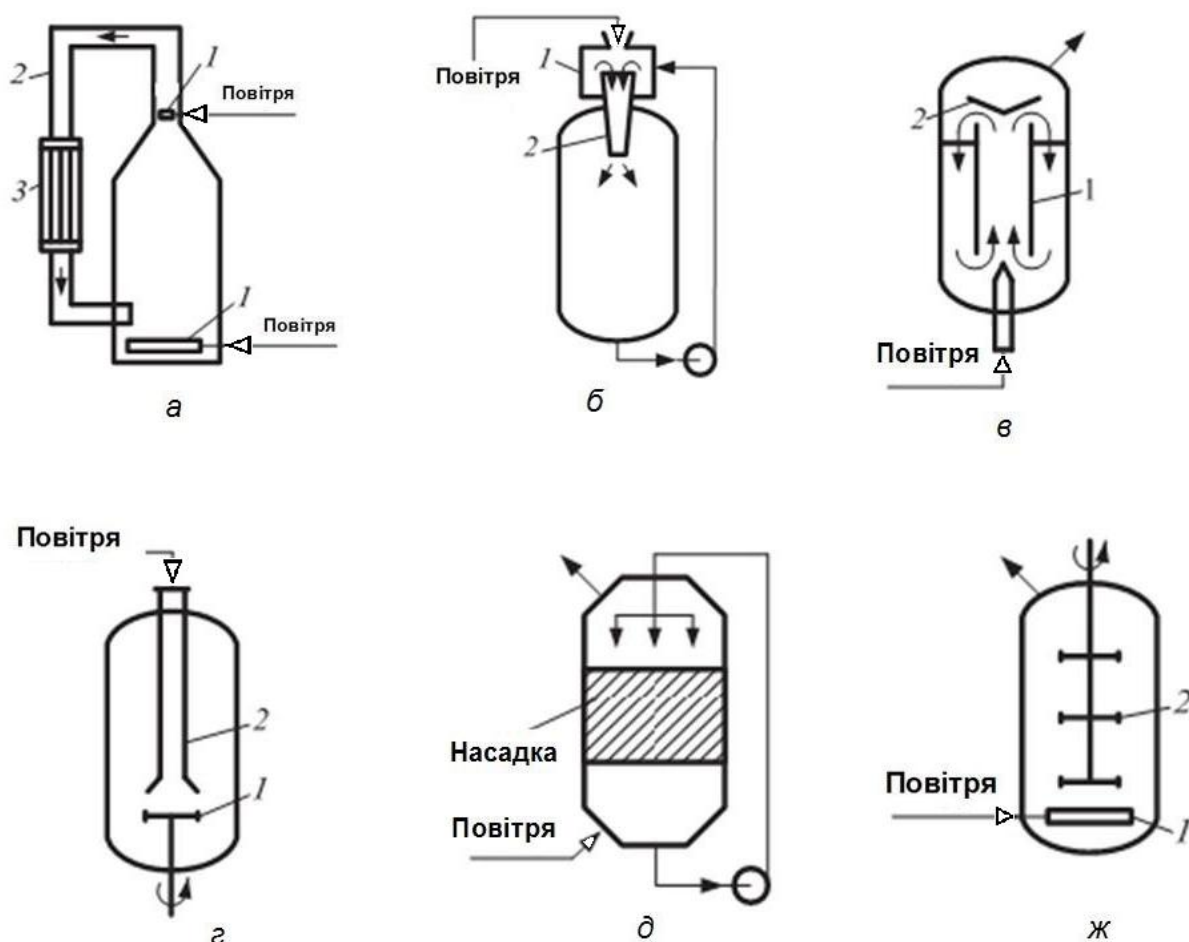


Рис. 5.2. Принципові схеми ферментерів різного типу:
а – барботажна колона: 1 – барботер; 2 – циркуляційний контур; 3 – теплообмінник кожухотрубний; б – водоструминний аератор: 1 – зливна камера; 2 – конус; в - ерліфтний апарат: 1 - циркуляційна труба; 2 – відбійник; г – ферментер з мішалкою та самовсмоктувальною трубою: 1 – мішалка; 2 – повітряна труба; д – плівковий ферментер; ж – ферментер з комбінованим перемішуванням: 1 – барботер; 2 – 3-х ярусна турбінна мішалка.

Використовується також класифікація ферментерів (біореакторів) за способом перемішування, відповідно до якої використовуються апарати з механічним, пневматичним і циркуляційним перемішуванням.

Апарати з механічним перемішуванням мають механічну мішалку, що складається із центрального валу та лопатей різної форми. Аерація може

здійснюватися шляхом барботажу. Подрібненню повітря у вигляді дрібних пухирців сприяє механічний вібратор, встановлений поруч із барботером.

Апарати із пневматичним перемішуванням. Перемішування та аерація підсилюються за допомогою обертових дисків з отворами, встановлених поблизу барботера, або за допомогою придонних пропелерів. Класичний ерліфтний апарат, доповнений дифузором, нижній обріз якого перебуває над барботером. Можливі варіанти подачі повітря як у внутрішній, так і в зовнішній стосовно дифузора об'єм середовища.

Апарати із циркуляційним перемішуванням містять пристрої (насоси, ежектори), що створюють спрямований струмінь рідини у замкнутому контурі. Насос для циркуляції культуральної рідини може поєднуватись з барботером (сполучення пневматичного та циркуляційного перемішування). Існують різні варіанти такого типу апаратів: апарати типу «падаючого струменя», типу «зануреного струменя», перемішування за допомогою ежектора. Апарати циркуляційного типу часто заповнюють твердими частками (насадкою).

Представлена класифікація придатна для рідиннофазних аеробних або анаеробних біотехнологічних процесів. Недоліком цієї класифікації є те що вона не враховує ряд технологічних особливостей процесу:

- рівень асептики;
- вид технологічного процесу – періодичне, напівбезперервне або безперервне культивування;
- рівень сегрегації фаз – використання іммобілізованих клітин, біоплівки, флокул та інше.

5.4. Техніко-економічні характеристики та вибір промислових ферментерів

Робота ферментера багато в чому визначає техніко-економічні показники всього мікробіологічного виробництва. Тому правильний і раціональний вибір типу апарата має велике значення. Через складність взаємозалежних процесів різної природи, що відбуваються у ферментері, які безпосередньо впливають на технологічні показники апарату та залежних, у свою чергу від цього, конструктивних характеристик, умов перемішування та тепло-масопередачі, нині не розроблені формалізовані методи вибору оптимального ферментера.

Дійсно, порівняння та вибір кращого типу ферментера – складне технічне завдання, для вирішення якого необхідний, насамперед, всебічний аналіз і встановлення взаємозв'язку великого числа технологічних і економічних вимог.

Найпоширенішими показниками для оцінки ефективності роботи ферментера є: *питома продуктивність по продукту, питомі енерговитрати на одержання продукту*. Ці показники експлуатації апарата залежать від багатьох умов, обумовлених конструктивними характеристиками, типом

ферментера, а також технологічними та біохімічними умовами здійснення процесу.

Так, однієї з найважливіших характеристик ферментера є його питома продуктивність, чисельно рівна кількості основного продукту, одержуваного з одиниці реакційного об'єму в одиницю часу. Величина питомої продуктивності ферментера пов'язана безпосередньо з кінетикою біохімічного процесу та типом ферментера. Для різних типів ферментерів за принципом дії та організації процесу (наприклад, періодичний або безперервний) ця характеристика має різні вираження.

Порівняння безперервно діючого ферментера та ферментера періодичної дії показує, що для досягнення однієї та тої ж величини питомої продуктивності в апаратах потрібен різний час. В останньому випадку до чистого часу біохімічного процесу необхідно додати додатковий час, який пов'язаний з періодичністю процесу та непродуктивні витрати часу. Вплив додаткового часу сильніше за все проявляється при проведенні швидких біохімічних перетворень, що робить явно не вигідним використання в цьому випадку періодичного апарату.

На вибірковість біохімічного процесу може впливати й спосіб подачі реагуючих речовин: одночасно для збереження високих концентрацій і, навпаки, поступово – для забезпечення низьких концентрацій.

Істотне значення для оцінки ефективності застосування ферментерів різної конструкції має врахування можливого ефекту «стресового» впливу (турбогіпобіозу) на клітини в апараті. Цей вплив може бути пов'язаний, наприклад, з механічним ушкодженням клітин мішалками, температурними перепадами при проходженні або контакті з теплообмінними елементами, наявністю «безкисневих» зон в апараті та ін. Такі негативні ефекти можуть значно знизити розрахункові показники процесу у ферментері.

Крім кінетичних закономірностей процесу ферментації, які належать до числа головних факторів, що визначають здатність мікроорганізмів переробляти те або інше джерело сировини та забезпечувати вихід цільового продукту, на продуктивність ферментера істотно впливають його гідродинамічні характеристики, умови тепло- і масообміну.

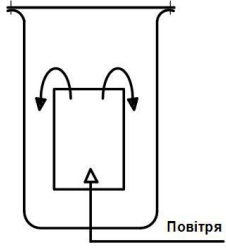
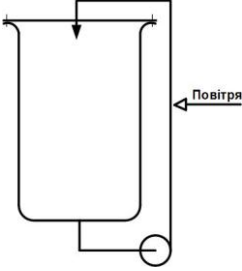
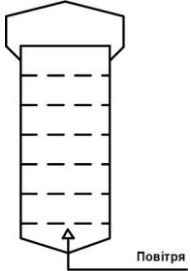
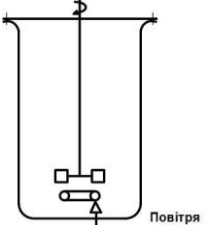
У процесі вибору та порівняння типів ферментерів варто враховувати економічну ефективність використання сировини та досягнення заданого ступеня перетворення. Важливо також врахувати залежність собівартості продукту, її складових від питомої продуктивності реактора. Ця необхідність пояснюється тим, що технологічні параметри (концентрація, температура, співвідношення реагуючих потоків й ін.) можуть по-різному впливати на такі показники, як ступінь перетворення субстрату, вибірковість, питома продуктивність реактора, а, отже, і на собівартість продукту. Таким чином, завдання вибору оптимального промислового ферментера є багатоетапним та повинно враховувати як кількісні характеристики ферментера, так і знання та досвід біотехнолога даного виробництва.

У таблиці 5.1. наведені основні типи ферментерів, що використовуються

для глибинного аеробного культивування мікроорганізмів та показники їх роботи.

Таблиця 5.1.

Основні типи ферментерів для глибинного аеробного культивування мікроорганізмів

Тип ферментера	Характеристики перемішування та аерації	Швидкість абсорбції, J_{O_2} , кг/м ³ ·год
Ерліфтний апарат 	Відсутність частин, що обертаються, м'який механічний вплив на клітини продуцента. Взаємозв'язок аерації та перемішування середовища.	2...8 (зміна масообміну та кратності циркуляції витратами повітря)
Циркуляційний апарат 	Відсутність застійних зон та механічних частин в апараті; інтенсивне гідродинамічне перемішування середовища. Невисокий газовміст середовища та рівень аерації.	3...12 (зміна характеристик за рахунок продуктивності циркуляційного насоса та ежекції повітря)
Колонний апарат 	Відсутність механічних частин, висока інтенсивність масопередачі кисню. Зручність стерилізації повітря. Можливість організації багатостадійного процесу ферментації.	5...15 (зміна шляхом підбору швидкості витрат повітря, кількості та типу секціонуючих перегородок по висоті колони)
Апарат з мішалкою 	Висока інтенсивність перемішування середовища та диспергування повітря. Можливе механічне пошкодження клітин (для міцеліальних культур). Вплив на рівень розчинного кисню в середовищі.	5...20 (зміни за рахунок варіювання числа обертів мішалки, витрат повітря, тиску в апараті)

У таблиці 5.2. наведені основні технічні та економічні показники для різних промислових ферментерів, що використовують в основному для одержання білкової біомаси мікроорганізмів (кормового білка).

Таблиця 5.2.

Питомі витрати енергії для різних типів ферментерів

Тип ферментера	Сировина	Питомі витрати енергії			
		на транспорт O_2 , кВт- год/кг O_2 (N_{O_2})		на біомасу, кВт- год/кг АСБ ($N_{асб}$)	
		мінімально	максимально	мінімально	максимально
Ферментери з підведенням енергії до газовою фази	Меляса	1,30	1,5	1,30	1,5
	сульфітні луги	1,0	1,4	1,0	1,25
	гідролізат	0,8	1,0	0,8	1,0
	метанол, етанол	0,88	1,36	1,5	2,32
Ферментери з підведенням енергії до рідинної фази	н-парафіни	1,10	1,54	2,5	3,55
	природний газ	0,59	0,82	1,96	3,27
Ферментери з комбінованим підведенням енергії	н-парафіни	0,65	1,05	0,94	2,31
	метанол, етанол	0,55	0,95	0,78	1,3
	сульфітні луги, меляса	0,55	0,70	0,65	0,75

Розглянемо як приклад, використовуючи загальну схему класифікації апаратів, представлену на рис. 5.1, можливий поетапний вибір промислового ферментера для аеробного процесу:

1. Визначаємо вимоги та необхідність стерильності для заданого процесу.
2. Визначаємо кінетичну можливість здійснення періодичного, безперервного або напівбезперервного процесу ферментації.
3. Визначаємо доцільність застосування для даної кінетики апарата, що працює за моделлю ідеального перемішування або витиснення.
4. Визначаємо кращий спосіб організації перемішування та аерації, з огляду на морфологічні особливості клітин продуцента та вид субстрату.
5. Визначаємо вимоги по тепло- і масопереносу, виходячи з кінетики та стехіометрії процесу ферментації.
6. Визначаємо типи ферментерів, що забезпечують необхідний масообмін за киснем.
7. Визначаємо типи ферментерів, що забезпечують максимальну продуктивність за продуктом з урахуванням заповнення апарату.
8. Визначаємо найбільш економічний за витратат електроенергії на масоперенесення кисню ферментер.

Із представленого поетапного алгоритму вибору останні етапи (6, 7, 8)

безпосередньо пов'язані з масообмінними та гідродинамічними характеристиками ферментерів конкретної конструкції. Найбільш інформативними та узагальнюючими показниками в цьому випадку можна вважати наступні:

- швидкість масопередачі кисню (або швидкість розчинення кисню у ферментаційному середовищі), $\text{кг/м}^3 \cdot \text{год}$ (J_{O_2});
- питомі енерговитрати на транспорт (розчинення) кисню, $\text{кВт} \cdot \text{год/кг } O_2(N_{O_2})$.

При цьому перший показник – інтегрований – характеризує продуктивність або питому продуктивність процесу, а при заданому об'ємі ферментера (через коефіцієнт заповнення) визначає його валову продуктивність. Другий показник характеризує енергетичну ефективність даної конструкції, і в цілому визначає витрати електроенергії на одержання цільового продукту у ферментері.

У таблиці 5.2 узагальнені значення N_{O_2} , як основного техніко-економічного критерію при виборі промислових ферментерів, а також наведені показники питомих енерговитрат для процесів на конкретному джерелі сировини.

Як бачимо з даних таблиць 5.1 та 5.2. для більшості ферментерів величина $J_{O_2} = 2 \dots 20 \text{ кг } O_2/\text{м}^3 \cdot \text{год}$. Значення показника ефективності $N_{O_2} = 0,6 \dots 10 \text{ кВт} \cdot \text{год/кг } O_2$. Зазначені параметри дозволяють оцінити енерговитрати на процес і вибрати найбільш раціональний варіант конструкції ферментера для конкретного мікробіологічного процесу.

На підставі обґрунтування вимог до вибору ферментерів можна сформулювати також наступні критерії вибору ферментерів на основі представленої класифікації:

1. Ферментери 1 групи з підведенням енергії до газової фази з рівнем інтенсивності масопередачі за киснем $J_{O_2} \leq 2 - 5 [\text{кг } O_2 / \text{м}^3 \cdot \text{год}]$ та *низьким рівнем турбогіобіозу* придатні не тільки для культивування м/о, але й клітин тварин та рослин.

2. Для ферментерів 2 групи з підведенням енергії до рідинної фази J_{O_2} може приймати будь-яке значення, але ці апарати, як правило, використовують для процесів, де потрібний *мінімальний рівень турбогіобіозу*, хоча насос, що створює рух рідини, може пошкоджувати клітини так само, як і перемішувачий пристрій.

3. Для ферментерів 3 групи з комбінованим підведенням енергії (механічне перемішування) $J_{O_2} \geq 5,0 - 20,0 [\text{кг } O_2 / \text{м}^3 \cdot \text{год}]$. Існує *максимальний рівень турбогіобіозу* (можливе пошкодження міцеліальних культур), але придатні для культивування бактерій та дріжджів.

5.5. Методи розрахунку об'єму ферментера.

Використання математичних моделей для розрахунку об'єму ферментера

а) Математична модель росту біомаси “Рівняння логістичної кривої” (РЛК)

У 1938 році Ферхюльст висловив ідею, що всім живим істотам притаманна внутрішньовидова конкуренція (ворожнеча), яка збільшується при збільшенні концентрації біомаси. Вираз Мальтуса був доповнений ще одним членом:

$$\Delta X = \mu X \Delta \tau - \beta X^2 \Delta \tau \quad (5.1.),$$

де: ΔX – приріст біомаси за час $\Delta \tau$; X – концентрація біомаси; μ – питома швидкість росту; β – коефіцієнт внутрішньовидової конкуренції.

У диференційному вигляді рівняння має вигляд:

$$dX/d\tau = \mu X - \beta X^2 \quad (5.2)$$

Це рівняння називається *рівнянням логістичної кривої (РЛК)*. Воно не має біохімічного підґрунтя, а квадрат при концентрації біомаси – довільний індекс, який відповідає деяким експериментальним даним.

Коли процес у завершальній фазі стає сталим, то $dX/d\tau = 0$, а концентрація біомаси стає кінцевою, тобто $X = X_k$ (X_k - теоретична величина, до якої наближається поточна концентрація біомаси X при нескінченному часі культивування). Тоді $\mu X_k - \beta X_k^2 = 0$. Звідси $\beta = \mu/X_k$.

Диференційне рівняння можна переписати у вигляді:

$$\frac{dX}{d\tau} = \mu X - \frac{\mu}{X_k} X^2 \quad (5.3)$$

В інтегральному вигляді рівняння набуває вигляду:

$$X = \frac{X_n X_k}{X_n + (X_k - X_n) e^{-\mu \tau}} \quad (5.4)$$

Рівняння має явний вигляд і зручне у використанні. Воно має лише одну константу – питому швидкість росту μ . На відміну від попередньої моделі ця величина є сталою, як і у виразі Мальтуса. Для аеробних мікроорганізмів ця величина коливається в межах $0,05 \dots 0,3 \text{ год}^{-1}$, але в більшості випадків вона становить $0,1 \dots 0,2 \text{ год}^{-1}$. Для анаеробних мікроорганізмів внаслідок переважного перебігу енергетичних метаболізмів ця величина в $10 \dots 20$ разів менша.

Теоретичну величину X_k легко знайти з ідеального балансу, одержаного розв’язанням інтегрального стехіометричного рівняння. Зазвичай ця величина становить $10 \dots 50 \text{ кг/м}^3$. Початкова концентрація для аеробних процесів в $10 \dots 100$ разів менша.

Миттєва продуктивність g за моделлю РЛК має вигляд рівняння у диференційній формі:

$$g = \frac{dX}{d\tau} = \mu X - \frac{\mu}{X_k} X^2 \quad (5.5)$$

Максимальну (екстремальну) продуктивність можна визначити, як звичайно, взяттям похідної, яка дорівнює нулю, і визначенням концентрації X , за якої продуктивність буде:

$$g = \mu - \frac{\mu}{X_k} 2X = 0, \text{ звідси } X = X_k/2 \quad (5.6)$$

Отже, найбільша миттєва продуктивність за моделлю РЛК спостерігається завжди при поточній концентрації біомаси, що дорівнює половині кінцевої. Максимальна продуктивність при цьому значенні X становить

$$g = \frac{\mu X_k}{4} \quad (5.7)$$

Середньою продуктивністю називають відношення біомаси або іншого цільового продукту, що накопичився за час культивування τ , до величини цього часу. У рамках моделі РЛК середня продуктивність $G_{\text{сер}}$ становить:

$$G_{\text{сер}} = \frac{X_n X_k}{X_n + (X_k - X_n)e^{-\mu\tau}} \cdot \frac{1}{\tau} \quad (5.8)$$

Прирівнювання похідної від цієї функції до нуля дає вираз:

$$(X_k - X_n) + (\mu X_k \tau + 2X_n - X_k)e^{\mu\tau} - 2X_n e^{\mu\tau} = 0 \quad (5.9)$$

Розв'язання цього трансцендентального рівняння відносно μ дає можливість визначити оптимальний час культивування за максимальної середньої продуктивності. Крім знайденого значення, це рівняння має ще два корені при $\tau = 0$ та $\tau = \infty$.

Визначення ємності ферментера періодичної дії на основі моделі РЛК

Величину ємності ферментера періодичної дії V , м³, розраховують за формулою:

$$V = \frac{(\tau + \tau_d)N}{K_1 K_2 K_3 X_n} \quad (5.10)$$

де τ — чистий час культивування, год; τ_d - додатковий час культивування, потрібний на підготовку ферментера (час завантаження сировинних продуктів, час вивантаження культуральної рідини, час, потрібний на миття та стерилізацію ферментера; залежно від об'єму ферментера він становить 15...20 годин);

N — річна потужність виробництва за біомасою або іншим цільовим продуктом, кг/рік;

K_1 — коефіцієнт подальшого перероблення (відношення біомаси або іншого цільового продукту, що знаходяться у ферментері, до маси цих продуктів на виході з установки), частка одиниці;

K_2 — коефіцієнт браку (відношення кількості партій продукту, що відповідають стандарту на продукцію, до кількості партій, що такому не відповідають; для мікробіологічної промисловості цей показник знаходиться в межах 0,8...0,9), частка одиниці;

K_3 — коефіцієнт заповнення ферментера (0,6...0,8), частка одиниці;

X — концентрація біомаси або іншого цільового продукту, кг/м³;

n – ресурс робочого часу установки, год/рік.

Якщо кінцевим продуктом є культуральна рідина, то $K_1 = 1$, $X = 1$. Якщо визначають об'єм культуральної рідини, то $K_1 = 1$, $X = 1$, $K_3 = 1$.

Використання математичних моделей дає можливість розрахувати час культивування τ , а відтак об'єм ферментера.

Приклад 5.1. Розрахувати об'єм ферментерів періодичної дії, якщо процес культивування відповідає моделі РЛК, питома швидкість росту $\mu = 0,12 \text{ год}^{-1}$, $X_n = 0,01 \text{ кг/м}^3$, $X_k = 40 \text{ кг/м}^3$, ступінь конверсії 80 %, додатковий час культивування 20 год. Кінцевим продуктом є оброблена далі біомаса. Коефіцієнт виходу, браку і заповнення відповідно 0,7, 0,9, 0,65. Потужність виробництва - 10 тис. тон /рік. За рік установку зупиняють на профілактичний ремонт, який проводять протягом 56 діб.

Розв'язання:

1. Знаходимо чистий час культивування:

$$0,8 \cdot 40 = \frac{0,1 \cdot 40}{0,01 - (40 - 0,01)e^{-0,12\tau}}, \text{ звідси } \tau = 80,66 \text{ год.}$$

2. Ресурс робочого часу $n = 365 - 56 = 309$ діб/рік = 7416 год/рік.

3. Повний об'єм ферментерів

$$V = \frac{(80,66 + 20)10\,000 \cdot 1\,000}{0,7 \cdot 0,9 \cdot 0,65 \cdot (0,8 \cdot 40) \cdot 7416} = 10\,358 \text{ м}^3$$

У разі, коли з літературних джерел (статті, патенти) відомі параметри культивування біологічного агента, його вид та концентрація цільового продукту в культуральній рідині, розрахунок об'єму виробничого ферментера та кількість стадій вирощування посівного матеріалу при заданій потужності виробництва розраховується згідно прикладу 5.2.

Приклад 5.2. З ТЕО потреба в субстанції антибіотика оксациліну складає $G_{нд} = 1000 \text{ кг/рік}$. За умовами замовника цю кількість антибіотика потрібно виробити за робочих днів $T_{рд} = 230$ днів. За даними патенту максимальний синтез антибіотика ($P_{кр} = 1,60 \text{ г/л}$) досягається за умов росту штаму *Penicillium notatum* протягом 90 годин.

Відповідно до нормативно-технічної документації вміст сухих речовин в готовому продукті $CP_{гп}$ має складати не менше 94%. Для подальших розрахунків приймаємо наступні початкові дані: час циклу роботи ферментера $T_{цф} = T_{ф} + T_{по} = 90 + 10 = 100 \text{ год}$, де $T_{ф}$ – час виробничого біосинтезу – 90 год.; $T_{по}$ – час підготовчих операцій -10 год; коефіцієнт запасу (втрати культуральної рідини або посівного матеріалу від можливих нестерильних операцій 1,1-1,5), приймаємо $K_1 = 1,1$ (частка); коефіцієнт заповнення ферментера, частка, (0,5 - 0,65); приймаємо $K_{зф} = 0,6$.

Сумарні втрати при виділенні готового продукту (сума всіх втрат на стадіях виділення готового продукту), частка, приймаємо $E_{св} = 0,35$.

1. Розрахунок партій продукту (виробничих циклів)

1.1. Визначаємо кількість ферментацій (циклів) на рік з врахуванням можливих нестерильних операцій ($K_1 = 1,1$)

$$N_{цк} = 24 \cdot T_{рд} \cdot K_1 / T_{цк} = 24 \cdot 230 \cdot 1,1 / 100 = 60,7.$$

Округлюємо кількість циклів до цілого $N_{цк} = 61$.

1.2 Кількість антибіотика, що має отримуватись за цикл,

$$G_{\text{цк}} = G_{\text{нд}} / N_{\text{цк}} = 1000/61 = 16,4 \text{ кг/цикл}$$

1.3. Об'єм КР, що зливається за одну ферментацію (цикл) з урахуванням втрат цільового продукту за виробничий цикл $E_{\text{св}}$ становить

$$V_{\text{кр}} = G_{\text{цк}} \cdot C_{\text{рп}} / P_{\text{кр}}(1 - E_{\text{св}}) = 16,4 \cdot 0,94 / 1,6 (1 - 0,35) = 14,8 \text{ м}^3.$$

2. Розрахунок об'єму ферментера для біосинтезу антибіотика

Визначаємо робочий об'єм ферментера з врахування втрат КР за рахунок крапливиносy при виробничому біосинтезі (10-15%) $E_{\text{ф}} = 0,15$:

$$V_{\text{ф}} = V_{\text{кр}} / (1 - E_{\text{ф}}) = 14,8 / 0,85 = 17,4 \text{ м}^3.$$

Приблизний загальний геометричний об'єм ферментера при заданому $K_{\text{зф}}$,

$$V_{\text{фг}} = V_{\text{ф}} / K_{\text{ф}} = 17,4 / 0,6 = 29 \text{ м}^3$$

Найближчий за геометричним об'ємом ферментер з таблиці «Технічних характеристик ферментерів» становить $V_{\text{тф}} = 32 \text{ м}^3$.

Уточнюємо коефіцієнт заповнення вибраного з таблиці ферментера, частка, $K_{\text{фт}}$

$$K_{\text{фт}} = V_{\text{ф}} / V_{\text{тф}} = 17,4 / 32 = 0,54$$

Уточнений коефіцієнт заповнення відповідає діапазону ферментерів з комбінованим перемішуванням (0,5-0,65).

5.6. Типові конструкції ферментерів

Ферментери з введенням енергії аераційним газом. Самим простим і найбільш розповсюдженим способом аерації під час здійснення біотехнологічного процесу є подача повітря в рідину через барботери або інші аеруючі пристрої (дифузори, форсунки та ін). Група ферментерів, в які енергія вводиться аераційним газом є найбільш поширеною і відомою. Апарати цієї групи здавна використовуються для отримання мікробної маси в асептичних та умовно асептичних типах біосинтезу. Технологічні переваги цих апаратів базуються на простоті конструкції, відсутності рухомих елементів і простоті керування, що обумовлює високу експлуатаційну надійність ферментерів цієї групи. Конструктивні особливості барботажних ферментерів визначаються типом аератора і об'ємом апарата (рис.5.4).

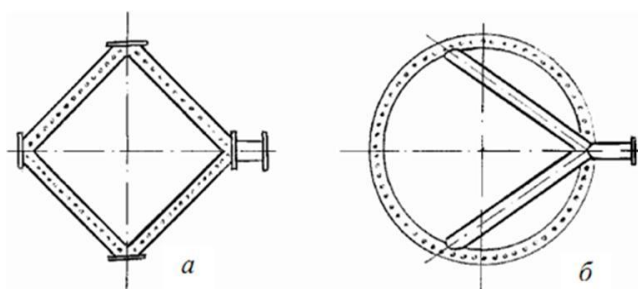


Рис.5.4. Прямокутний (а) і кільцевий (б) барботери

Але використання барботерів має суттєві недоліки. Як би дрібно не розпилювалося повітря, при проходженні через рідину окремі маленькі на початку бульбашки збільшуються за рахунок їх об'єднання (явище коалесценції), внаслідок чого величина поверхні контакту фаз зменшується і аерація може виявитися недостатньою. Єдиний спосіб посилення масообміну в цьому випадку – збільшення подачі повітря. Тому при аерації за допомогою

барботерів завжди необхідні великі витрати повітря.

В процесі росту культури постійно виникає нерівномірність розподілення в середовищі поживних речовин і продуктів обміну, оскільки найближчі до поверхні культури шари середовища збіднюються першими та збагачуються останніми. Тому енергійне перемішування при вирощуванні продуцента є необхідною умовою нормального розвитку мікроорганізму і максимально можливого накопичення цільового продукту.

Перемішування середовища за допомогою барботера є недостатнім, особливо для ферментерів об'ємом 4...5 м³ і більше. Тому аерація і перемішування середовища тільки за допомогою барботера допустиме лише у випадках, коли вимоги до активності вирощуваної культури не є високими, наприклад у посівних апаратах.

Ферментери з контактними пристроями Суттєвим недоліком барботажних ферментерів є невисокий рівень швидкості розчинення кисню ($J_{O_2} = 1...2$ кг/м³·год). Основною причиною цього є низький рівень макро- і мікро- турбулентності, недостатня циркуляція середовища.

Для ліквідації цього недоліку розроблені барботажні ферментери з нерухомими контактними елементами які забезпечують утворення та формування поверхні контакту фаз. До апаратів цієї групи належать *барботажні колони, газліфтні колони, тарілчасті колони* (рис.5.5). Збільшення поверхні фазового контакту *a* реалізується наступним чином:

- додаткова диспергація газової фази в рідині;
- розділення рідкої фази на шари (секціонування) для створення кінцевої кількості ступенів контакту фаз,
- забезпечення таких умов формування потоків газорідинної емульсії при яких частота поновлення поверхні фазового контакту максимальна, збільшення часу перебування газової фази в рідині.

Серед ферментерів з контактними елементами найбільш відомі барботажні колони із «зануреними» тарілками. Тарілки можуть бути різних конструкцій, але їх поєднує те, що вони забезпечують формування та перерозподіл потоків газу та рідини.

Найбільш простим типом контактних елементів є тарілка, яка перфорована круглими отворами які перекривають всю площу перерізу апарата можливе ярусне розташування тарілок по висоті апарата.

Перспективними визнані конструкції апаратів, у яких комбіновані контактні газорозподільні пристрої і вмонтовані теплообмінники.

Ферментери *барботажно-ерліфтного* типу застосовують для отримання мікробного білку. Апарат представляє собою вертикальну циліндричну ємність із відношенням висоти апарата до його діаметра $H/D < 2$. Характерною конструктивною особливістю є те, що всередині апарату знаходиться один або декілька дифузорів (стаканів) або перегородок для примусового розділення потоків циркулюючої культуральної рідини. Одночасно вони виконують роль теплообмінників.

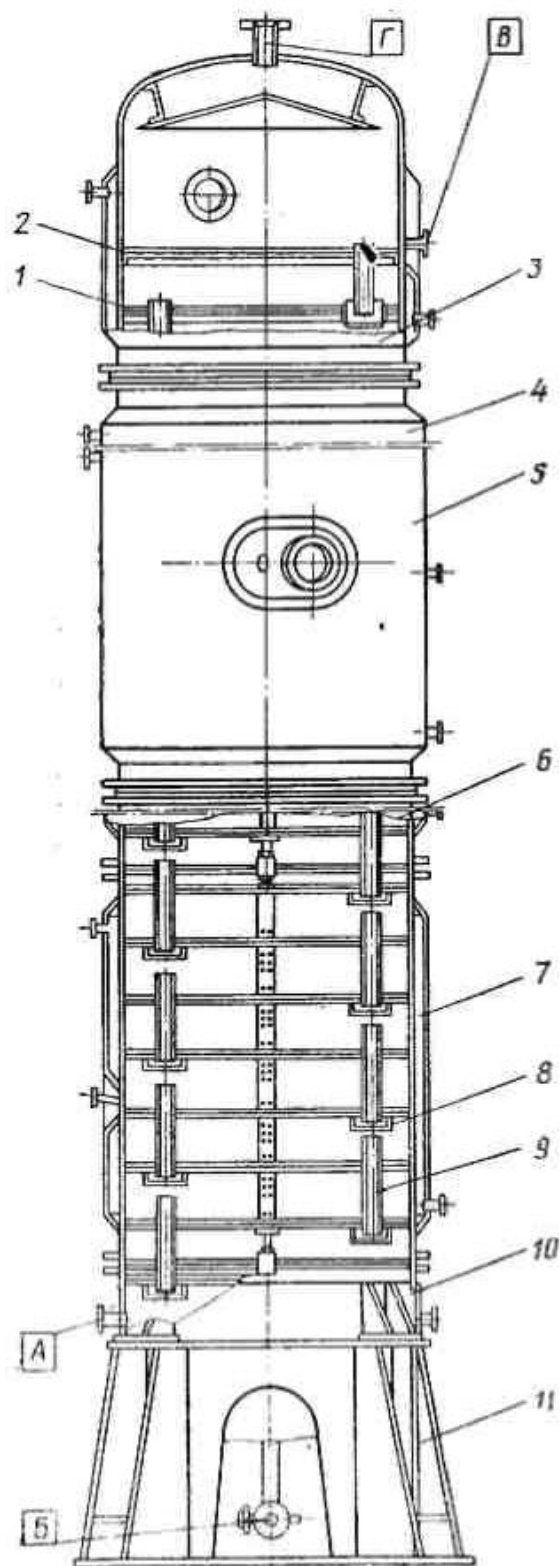


Рис. 5.5. Принципова схема ферментера колонного типу з сітчастими тарілками: 1, 2 – тарілка верхня; 3 – царга верхня; 4, 5, 6, 7 – царги; 8 – чаша гідрозатвору; 9 – переливна трубка; 10 – лапа; 11 – опора; А – вивід КР або підвід ПС; Б – підвід стерильного повітря; В – підвід ПС або вивід КР; Г – вивід відпрацьованого повітря.

У тому випадку, коли їх декілька, дифузори рівномірно розміщують по

перерізу апарата або монтують концентрично. Газорозподільний пристрій розташовують біля дна в зоні висхідних потоків.

До розгляду пропонується декілька найбільш поширених конструкцій промислових ферментерів.

Ферментери системи Лефрансуа – Марійє. (Ле Франсуа – Марійє) (рис. 5.6.)

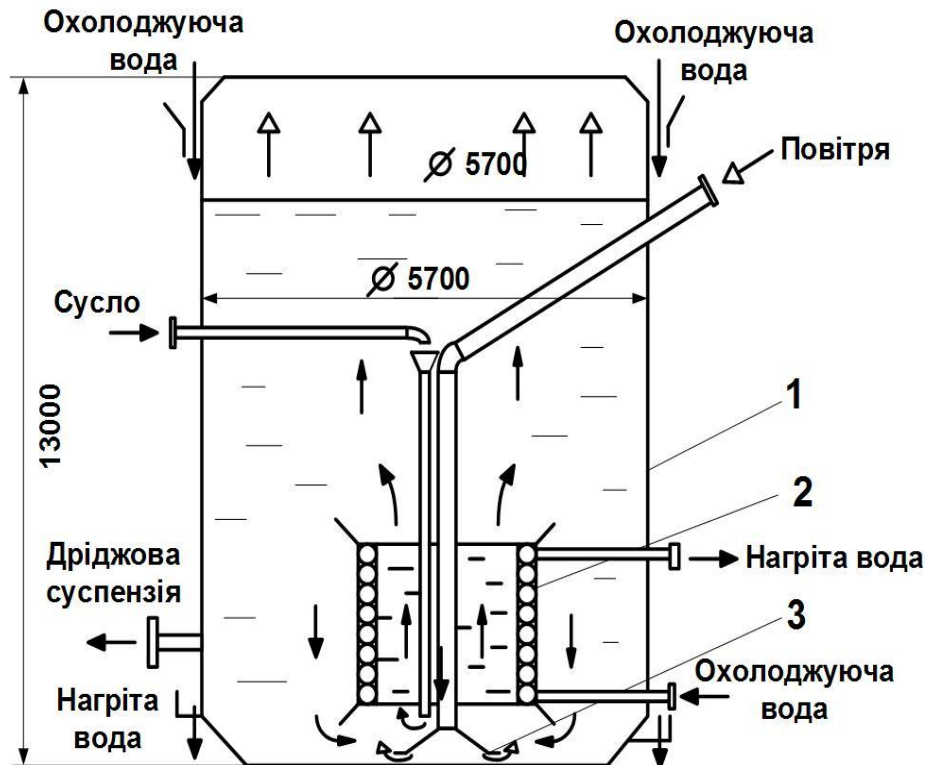


Рис.5.6. Ферментери системи Лефрансуа – Марійє: 1- корпус; 2 – дифузор; 3 – щілинний повітророзподільвач.

Для виробництва мікробного білку – гідролізно-дріжджового походження використовують апарати місткістю 250, 320, 600 та 1300 м³. Апарат представляє собою циліндричну місткість, всередині якого концентрично розташований дифузор-теплообмінник. Ферментер не має системи піногасіння. Піна руйнується під вагою стовпа рідини при її циркуляції. Повітря в ферментер поступає через повітропровід, розташований по центру апарата. В нижній частині апарата повітропровід спирається на конічну основу, яка утворює з дном кільцевий зазор (кювету) для виходу повітря. Утворена газорідинна дисперсія піднімається по дифузору майже до верху апарата. Діаметр дифузора повинен відповідати потоку диспергованої культуральної рідини. Частина повітря відділяється від потоку диспергованої рідини і через відкритий люк виходить з апарата, частина повітря з дисперговою рідиною по кільцевому зазору між стінкою апарата і дифузором сходить вниз. Піна зріджується і рідина повертається в кювету, рідина знову диспергується і піднімається по дифузору. Циркуляція проходить з швидкістю 2...3 хв⁻¹. Швидкість розчинення кисню в

промислових апаратах не більше $J_v = 2-3 \text{ кг O}_2 / \text{м}^3 \cdot \text{год.}$

Промислові апарати мають висоту 12...15 м, піна в них піднімається на 10...12 м. Монолітний стовп рідини має 3,5...4,5 м.

Ерліфтно-периферійні та ерліфтні багатозонні. (рис. 5.7., 5.8.)
Ерліфтні ферментери відрізняються від базової системи Лефрансуа конструкцією комунікацій для підведення поживних компонентів та установкою піноспрямовуючих «парасолей».

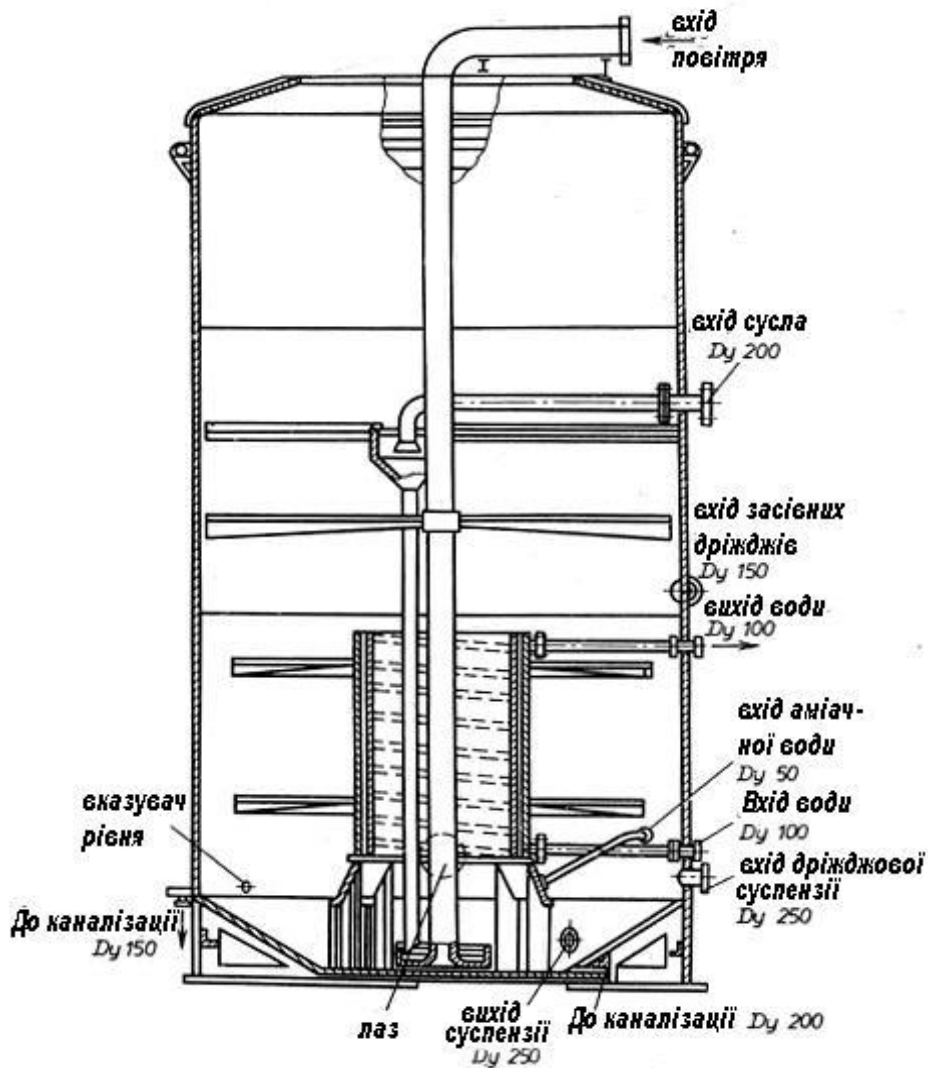


Рис.5.7. Апарат для вирощування дріжджів з ерліфтною системою повітрерозподілення

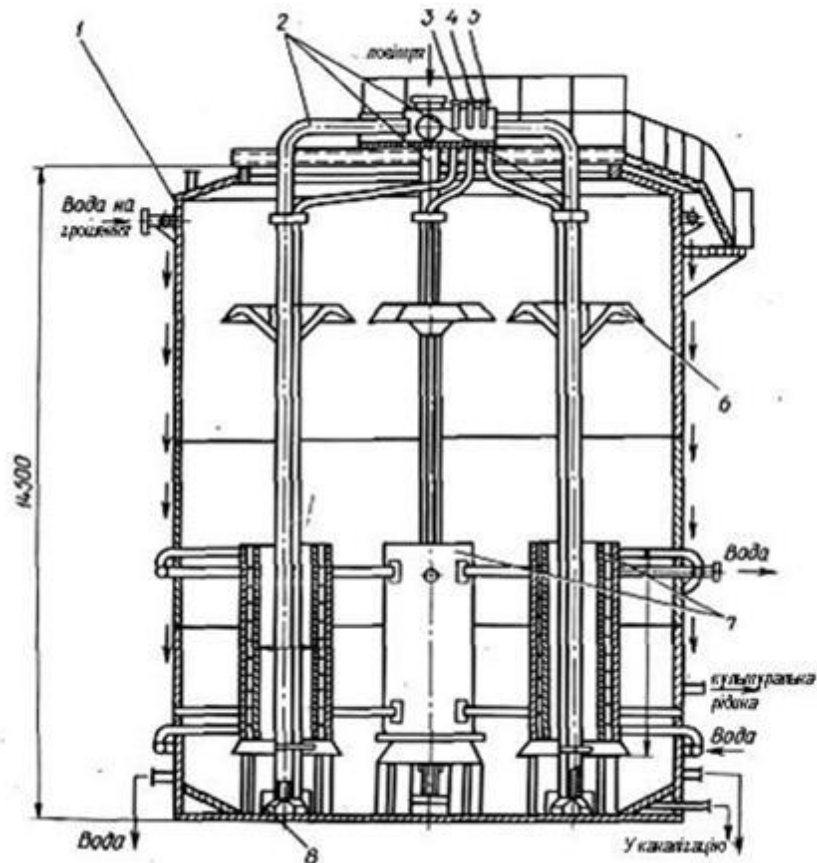


Рис.5.8. Апарат для вирощування дріжджів – ферментер місткістю 1300 м³: 1 – корпус; 2 – газовід; 3,4,5 –штуцери для подачі поживного та аміачного середовищ та засівних дріжджів; 6 – відбійник; 7 – циркуляційні дифузори; 8 –кювета.

Ерліфтно-периферійний ферментер. Апарат складається з циліндричного корпусу в середині якого концентрично розташовані два дифузора-теплообмінника.

В центрі апарата розташована труба для підведення повітря, яка спирається на повітророзподільний пристрій, який утворює кільцевий зазор між стінкою та дном ферментера через який виходить повітря. В нижній частині труби розташовані отвори для виходу повітря в центральний дифузор. Для додаткового охолодження використовують систему зовнішнього зрошення. Нагріта вода збирається в кільцевому кармані.

Ферментер відрізняється помірними витратами на аерацію високою експлуатаційною надійністю, низькими експлуатаційними витратами. До недоліків відноситься низький рівень масопередачі кисню, ($Kla = 250...350 \text{ год}^{-1}$). Причиною недостатньо високого рівня масопередачі кисню є погана диспергація повітря.

Ферментер системи УкрНДІСПа. (рис.5.9.) Апарат розроблений О.У.Мамунею з співавторами представляє собою вертикальну циліндричну місткість об'ємом 600 м³, всередині якої змонтовані циркуляційні труби з сорочками. В ферментері збережений багатозональний принцип ерліфтного

перемішування. Поживне середовище по колектору безперервно подається повітророзподільний пристрій диспергується потоком повітрям і піднімається по циркуляційній трубі.

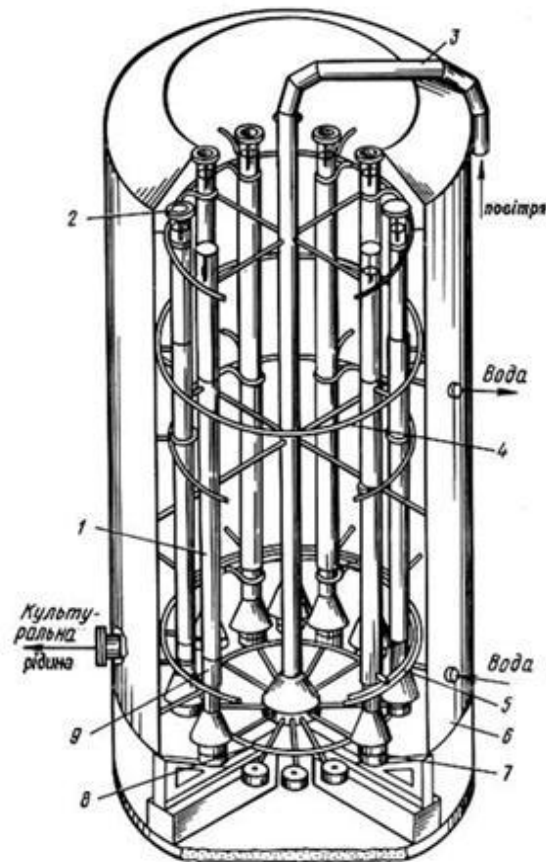


Рис.5.9. Ферментер системи УкрНДІСПа: 1–циркуляційна труба; 2 – відбивачі; 3 –повітрепідвід; 4, 5 –колектори для води; 6 –корпус; 7 – повітророзподільувач; 8 –колектор повітря; 9 –колектор середовища

Крім базового показника – способу введення енергії, ці ферментери поєднує той факт, що вони призначені для широкого спектру технологічних процесів (їх поєднує універсальність). До специфічної особливості треба віднести те, що на стадії промислового біосинтезу такі ферментери мають значний геометричний об'єм (від 150 до 1300м³).

Переваги порівняно з іншими простота оформлення, технологічна простота.

Ферментери з підведенням енергії рідкою фазою:

Конструкція передбачає передачу енергії руху рідини, як правило, за рахунок використання циркуляційного насосного обладнання та спеціальних інжекторних пристроїв, за допомогою яких йде всмоктування та диспергація повітря в культуральну рідину.

Дані конструкції ферментерів забезпечують підвищений коефіцієнт масопередачі за киснем. До таких ферментерів належать апарати з інжекційною подачею повітря. Коефіцієнт масопередачі за киснем в кожухотрубних струминно-інжекційних апаратах (КСІА) досягає 9,5...12 кг

$O_2/m^3 \cdot \text{год}$. Ступінь утилізації кисню досягає 25...28 % (5...10 % в традиційних дріжджеростильних апаратах типу ВДА). На рис. 5.10. подано принципову схему КСІА, розробленого в Національному університеті «Львівська політехніка».

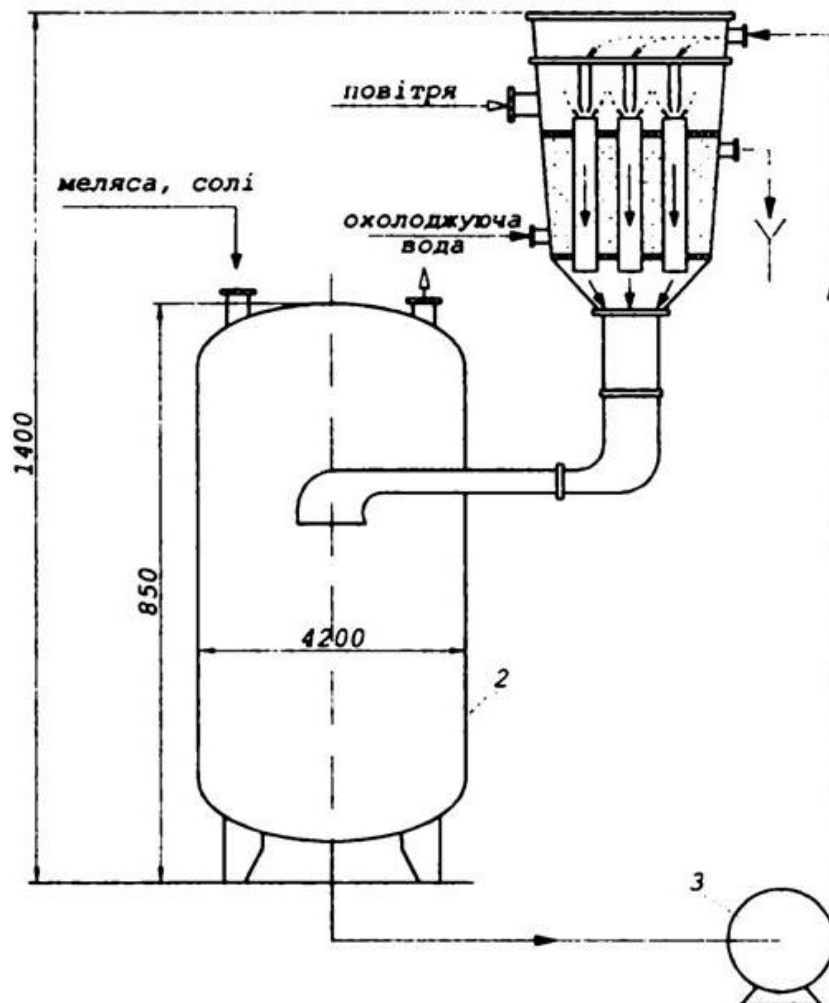


Рис. 5.10. Схема кожухотрубного струминно-інжекційного ферментера для вирощування хлібопекарських дріжджів: 1 – кожухотрубний інжектор; 2 – приймальна ємність об'ємом 125 м^3 ; 3 – циркуляційний насос

Схожа за принципом дії, але менш надійна з погляду забезпечення стерильності, конструкція струминно-інжекційного апарата, призначеного для культивування кормових дріжджів, зображена на рис. 5.11.

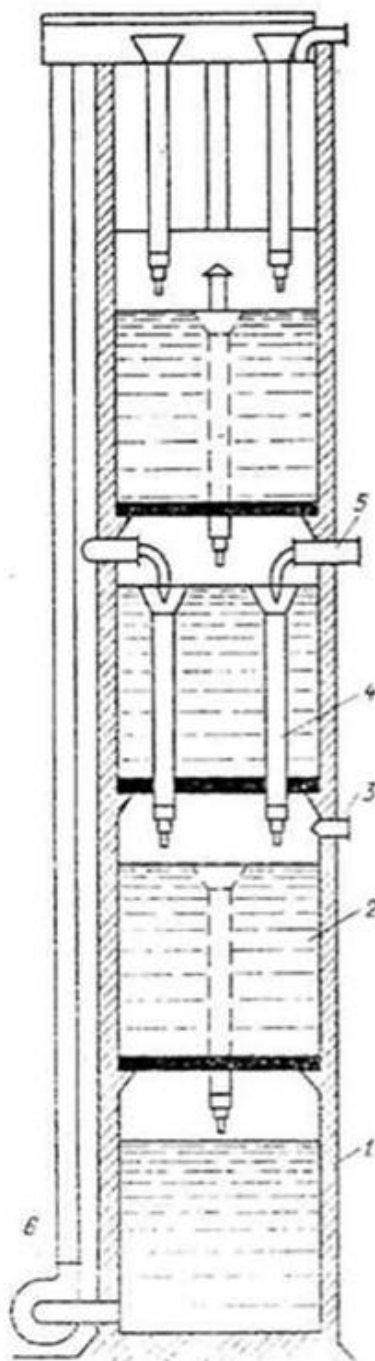


Рис. 5.11. Принципова схема струминного ферментера: 1 – корпус; 2 – секції; 3 – патрубок для викиду відпрацьованого газу; 4 – труби для зливання; 5 – газопідвідна труба; 6 – циркуляційний насос.

Циркуляційним насосом 6КР подають у верхню секцію апарата. Після її заповнення до певного рівня рідина починає зливатись по трубках 4, споряджених інжекційними лійками, на нижню секцію, одночасно засмоктуючи повітря, яке надходить патрубками 5. На нижчій секції відбувається ферментація, відпрацьоване повітря виходить з апарату по трубці 3, а рідина зливається загальною трубою на ще нижчу секцію, на якій

повторюється процес інжекції повітря. Таких подвійних секцій може бути встановлено до 10 і більше і апарат є, за своєю суттю, колоною безперервної дії. На рис. 5.12 зображено колонний апарат з переливними тарілками.

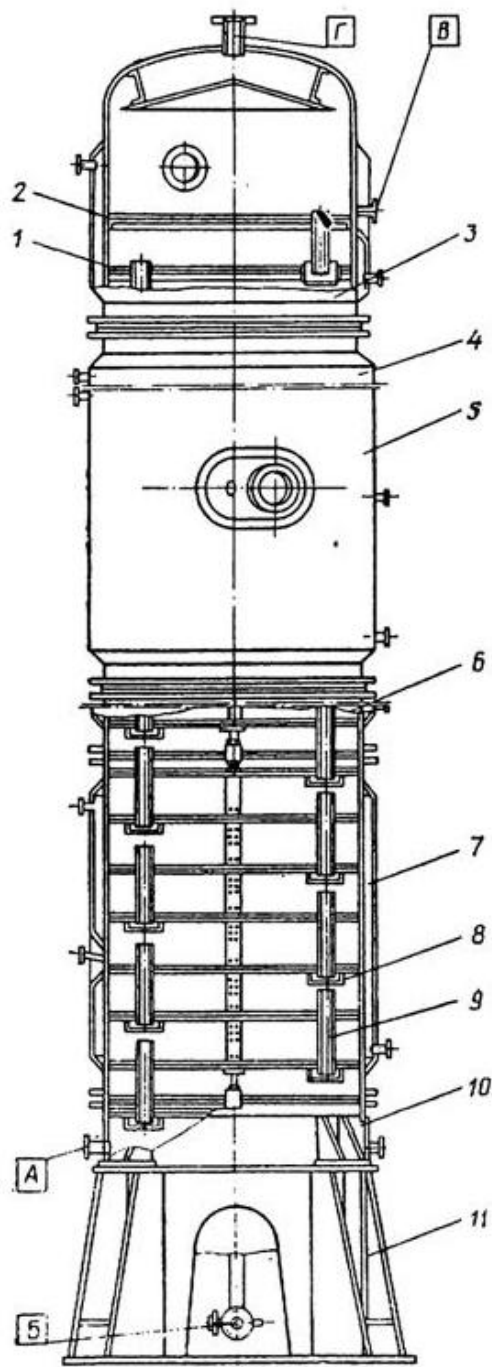


Рис.5.12. Принципова схема ферментера з сітчастими тарілками: 1,2 – тарілка верхня; 3– царга верхня; 4,5,6,7– царги; 8 – чаша гідрозатвору; 9 – переливна трубка; 10 – лапи; 11– опора; А – виведення КР або ПС; Б – підведення ПС або виведення КР; Г – виведення відпрацьованого повітря

Подачу поживного середовища можна здійснювати як зверху, так і знизу колони. Колона складається з окремих царг, кожна з яких має сітчасті

тарілки, оболонку для охолоджувальної води і переливні пристрої. Повітря подається центральною трубою і вводиться під кожну тарілку.

У першому випадку кожна тарілка виконує роль окремого ферментера з висотою шару КР на тарілці 125 мм, а колона в цілому працює як багатоступеневий ферментер безперервної дії. У другому випадку ферментер працює як одноступеневий з повним заповненням ферментера, а контактні пристрої (тарілки) вирівнюють потоки аераційного повітря. Розрахунок показує, що при однаковій ефективності об'єм такого ферментера в 6...7 разів менше традиційного без контактних пристроїв і з перемішуванням культуральної рідини газовою фазою.

Наступний клас ферментерів, що використовують рух рідини, є ферментери з турбоінжекторними пристроями, який представлений обертовим пристроєм (мішалкою) у вигляді робочого колеса насоса, розміщеного у середовищі. За рахунок обертового руху колеса в центрі утворюється розрідження і через приєднаний його нього трубопровід зовнішнього повітря йде інжекція та диспергування повітря в культуральну рідину.

На рис. 5.13 зображено схему секціонованого ферментера Б-50. Апарат є дванадцятигранником, розділений на секції вертикальними перегородками.

Всі секції послідовно сполучені між собою. Для подачі повітря і перемішування КР в кожній секції змонтований ежектор, який обертається від двигуна, встановленого на кришці ферментера. Ежектор є двоярусною конструкцією з нижньою та верхньою горловинами для входу і виходу рідини. Повітря засмоктується ежектором і рухається по трубі, яка герметично з'єднана з турбіною. Для створення необхідної циркуляції КР в кожній секції змонтовані дифузори, перегородки, конічні вставки. На дифузорах змонтовані змішувачі-теплообмінники для охолодження КР.

Конструкція ежекторного перемішувального пристрою (одноступенева турбіна) ферментера Б-50 представлена на рис.5.14.

Усі наведені типи ферментерів мають загальну ваду: вони можуть використовуватись лише для *умовно-асептичних процесів культивування*, оскільки практично неможливо забезпечити стерильність повітря, що подається у ферментер. А отже ферментери такого типу використовуються лише у великотоннажних виробництвах для отримання кормових продуктів біосинтезу.

Ферментери з введенням енергії рідкою і газовою фазами

Група апаратів з перемішувальними пристроями, в які енергія вводиться одночасно як рідкою фазою за допомогою перемішувального пристрою, так і газовою фазою у процесі її примусової подачі в ферментер під час аерації. Ферментери з *комбінованим введенням енергії* найбільш поширені на стадії біосинтезу аеробних біологічних агентів. Переваги цих апаратів в їх мобільності. В них може бути створений будь-який оптимальний для біологічного агента гідродинамічний режим за рахунок зміни швидкості обертання мішалки, швидкості циркуляції рідини, яку перекачує насос або

зміни швидкості руху газової фази. Основним конструктивним елементом ферментерів є механічний перемішувальний пристрій – мішалка, яка забезпечує високу інтенсивність транспорту кисню та високий рівень диспергації газової фази нерозчинних субстратів та забезпечує гомогенність фаз, що взаємодіють. До цієї групи апаратів належать ферментери, в яких енергія вводиться у рідку фазу одночасно перемішувальним пристроєм і насосом або тільки насосом. В свою чергу енергія газової фази доставляється звичайним чином – через аераційні пристрої відомих конструкцій (барботери).

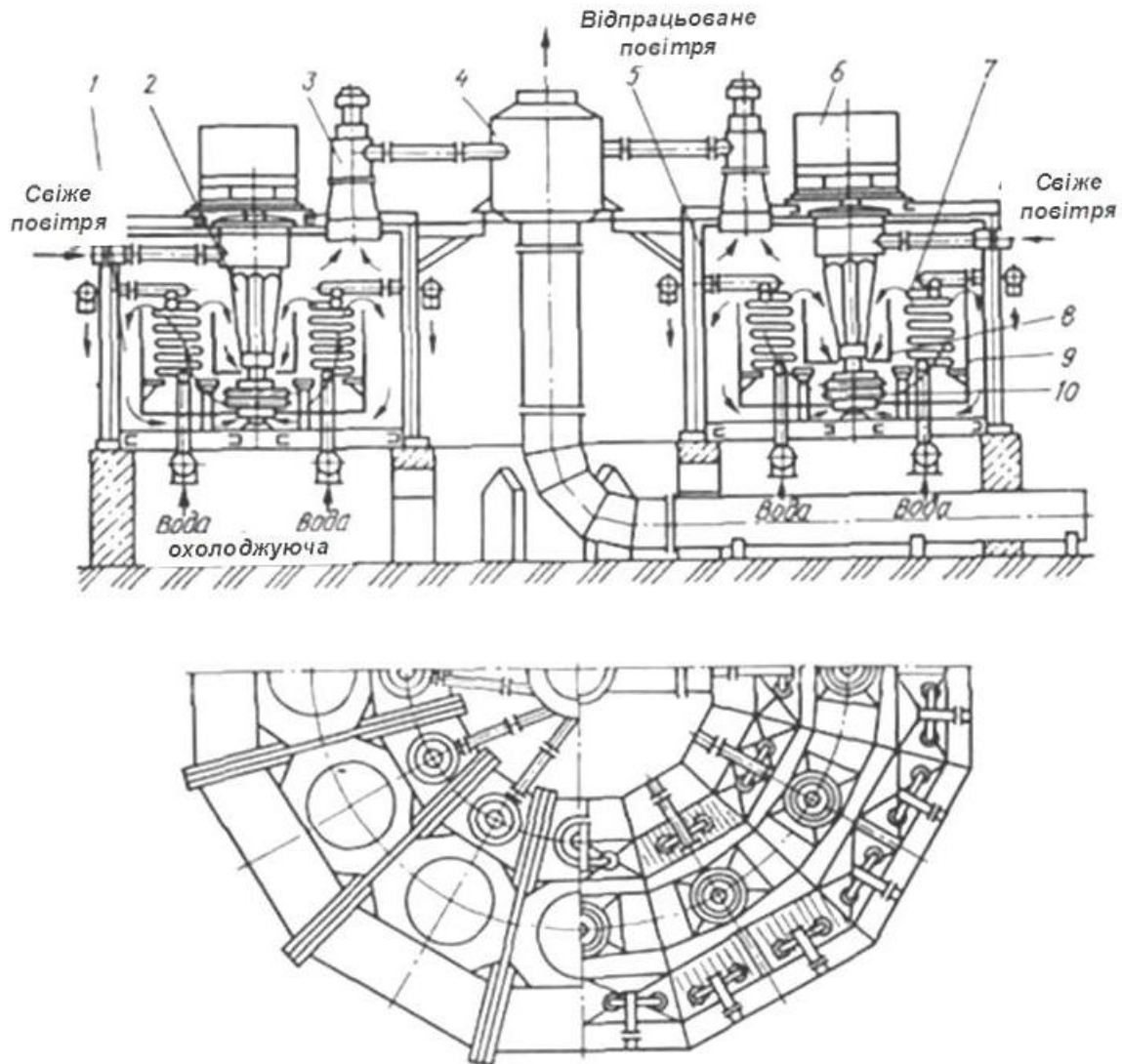


Рис. 5. 13. Ферментер з ежекційною системою аерації Б-50:

1 – кільцевий канал; 2 – повітровід; 3 – механічний піногасник; 4 – сепаратор; 5 – циліндр; 6 – привід; 7 – теплообмінник; 8 – дифузор; 9 – циліндричний стакан; 10 – ежекційний пристрій.

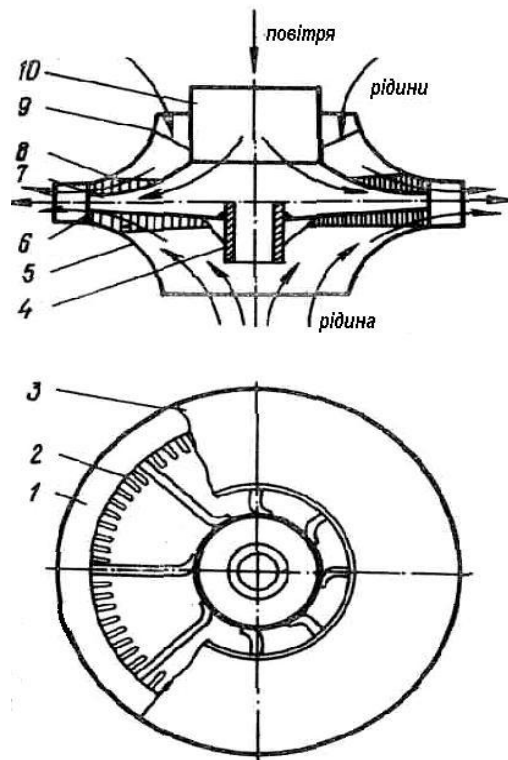


Рис.5.14. Ежекційний перемішуючий пристрій (одноступенева турбіна) ферментера Б-50: 1 — щілина; 2, 8 — розсікачі; 3, 5 — тарілки; 4 — втулка; 6 — кільцеве сопло; 7 — лопать; 9 — лопатки; 10 — повітровід.

Основні конструктивні відмінності у цій групі ферментерів базуються на різній кількості мішалок, які розташовані в одній ємності, різній кількості мішалок на одному валу, різній конструкції газорозподільного пристрою та використанні специфічних циркуляційних контурів.

Ферментери цієї групи переважають в асептичних виробництвах завдяки можливості надійної герметизації внутрішнього об'єму апарата. Ферментери використовують як для отримання посівного матеріалу, так і для проведення виробничого біосинтезу.

Ферментери з одновальними мішалками і барботажною аерацією

Ця група є найбільш поширеною і відомою, має наразі найширше промислове застосування. Типове обладнання має ємності, які відповідають ряду преференційних чисел R-10 для апаратів місткістю більше 1 м^3 . Ряд R-10 визначається геометричною прогресією з коефіцієнтом $\sqrt[10]{10}$ (об'єми, м^3 : 1,0, 1,25, 1,6, 2,0, 2,5, 3,2, 4,0, 5,0, 6,3, 8,0, 10, 12,5, 16, 20, 25, 32, 40, 50, 63, 80, 100, 125, 160 і т. д.). Ферментери, які використовуються як посівні апарати, вибирають в діапазоні місткості — $0,1 \dots 10\text{ м}^3$. Найпоширеніші, м^3 : 0,63, 2,0, 5,0, 10.

Нижче у таблиці 5.4. представлені технічні характеристики типових ферментерів для отримання посівного матеріалу.

Таблиця 5.4.

Технічні характеристики деяких ферментерів з одновальними мішалками і барботажною аерацією

Місткість, м ³	0,63	2,0	5,0	10
Діаметр, м	0,9	1,2	1,6	2,0
Поверхня теплообміну	2,5	6,9	-	-
Потужність електродвигуна, кВт	1,7	7	10	20
Частота обертів двигуна, с ⁻¹	25	25	25	25,5
Частота обертів валу мішалки, с ⁻¹	4,5	4,5	3	3

Ферментери місткістю 5 м³, маючи типові геометричні розміри, можуть відрізнятися конструкцією аераторів або циркуляційних контурів.

Конструктивно ці апарати поєднує те, що циліндричний корпус має еліптичне дно, у верхній частині розташований люк, оглядові вікна, штуцера підведення поживного середовища, посівного матеріалу, аератора, виходу відпрацьованого повітря та пробовідбірник.

Ферментери для проведення виробничого біосинтезу мають ряд специфічних ознак:

- місткість ферментерів для промислового біосинтезу більша ніж місткість посівних апаратів (більше 10 м³);
- вони повинні протягом тривалого часу підтримувати високий рівень асептичності;
- гідродинамічні умови в ферментері повинні забезпечувати рівномірне розподілення фаз, що взаємодіють;
- інтенсивність масопередачі повинна відповідати вимогам споживання кисню біологічними агентами;
- теплообмінні пристрої розраховуються на відведення теплоти в режимах максимальної фізіологічної активності.

Для проведення промислового біосинтезу широко використовується ферментери місткістю 50 м³ Сумського заводу (рис 5.15).

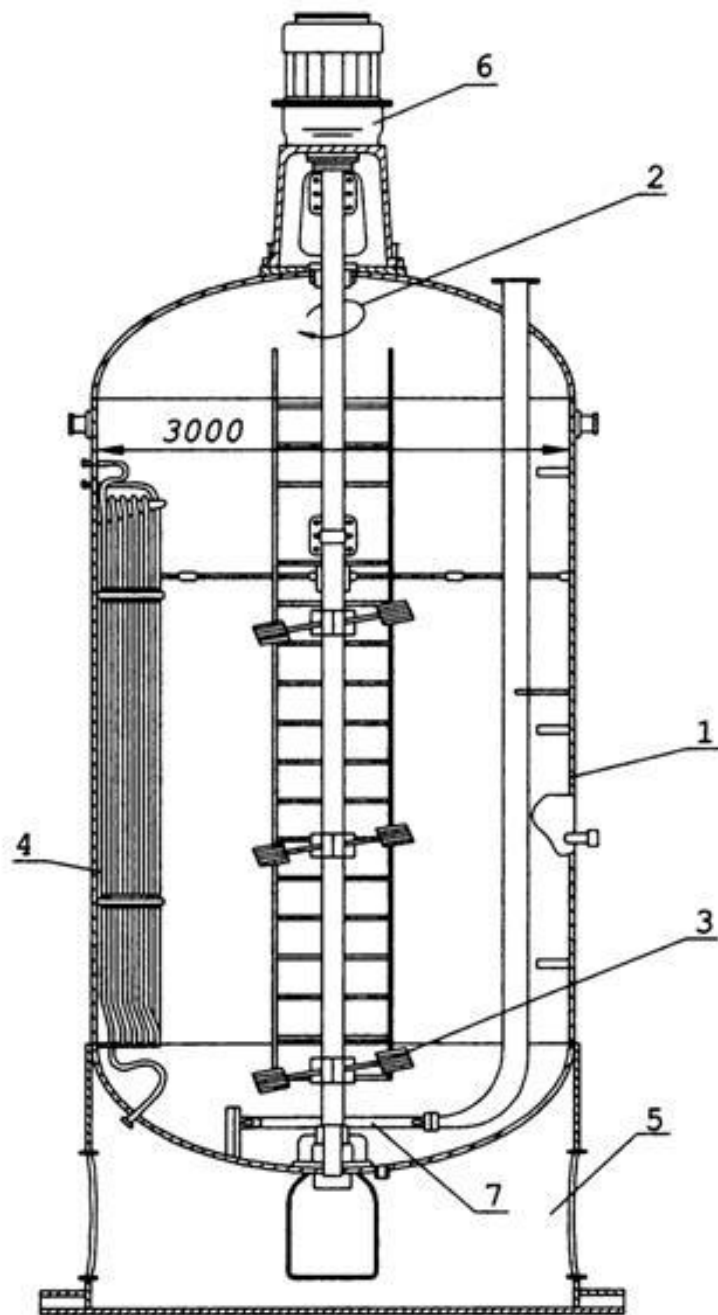


Рис. 5.15. Ферментер конструкції Сумського машинобудівного заводу місткістю 50 м³: 1– корпус; 2 – вал мішалки; 3 – лопать мішалки; 4 – охолоджувальний змійовик; 5– опірна цанга; 6 – привід мішалки; 7 – барботер.

Технічні характеристики найуживаніших ферментерів Сумського машинобудівного заводу наведені у табл. 5.5.

Таблиця 5.5.

Серійні моделі ферментерів Сумського машинобудівного заводу

Об'єм, м ³	Висота, мм	Діаметр, мм	Потужність електродвигуна, кВт	Число обертів мішалки, с ⁻¹
1,0	3030	1100	2,5; 3; 3,5; (8/6/4Т)	3,067; 4,083; 6,117
1,0	2845	1100	2,8	4,5
2,0	3870	1300	4,5	3,167
3,2	3960	1500	10	3,167
5,0	4140	1700	10	3,0
5,0	4470	1700	10	3,0
10,0	7130	2000	20	3,167
50,0	11470	3000	75	3,0

У промисловості використовують ферментери виробництва VEB *Chemieanlagenbau Erfurt-Rudisleben* (Німеччина) місткістю 63 та 100 м³ з комбінованим введенням енергії. Ферментер місткістю 100 м³ (рис.5.16, А) має вертикальний циліндричний корпус, по центру якого розташований вал з декількома ярусами відкритих турбін. Лопаті мішалок розсувні. В нижній частині ферментера розташований квадратний барботер. Для відведення тепла корпус ззовні має секціоновану сорочку, а всередині – плоскі вертикальні трубчасті теплообмінники, які одночасно виконують роль відбиваючих перегородок. Характерною рисою цього ферментера є те, що він має нижній привід мішалки, потужність електродвигуна – 120/180 кВт, швидкість обертання валу мішалки 1 та 2 с⁻¹.

Ферментер місткістю 100 м³ (рис. 5.16, Б) має циліндричний корпус з приварними еліптичними дном і кришкою. По центру апарата проходить вал з багатоярусною мішалкою. Нижня мішалка, яка розташована безпосередньо над барботером, являє собою закриту турбіну з криволінійними лопатями і статором для випрямлення потоку. Над нижньою закритою турбіною розташовані дві закриті турбіни мішалки з прямими лопатями. В найнижчій частині апарату встановлена пропелерна мішалка. Барботер – трубчастий, квадратний. Всередині апарату симетрично розташовані чотири трубчасті змішувачі. Поверхня теплообміну складається з секціонованої сорочки і змішувачів. У ферментері використовується верхній привід мішалки з електродвигуном потужністю 120/180 кВт частота обертання валу мішалок 2 та 3 с⁻¹.

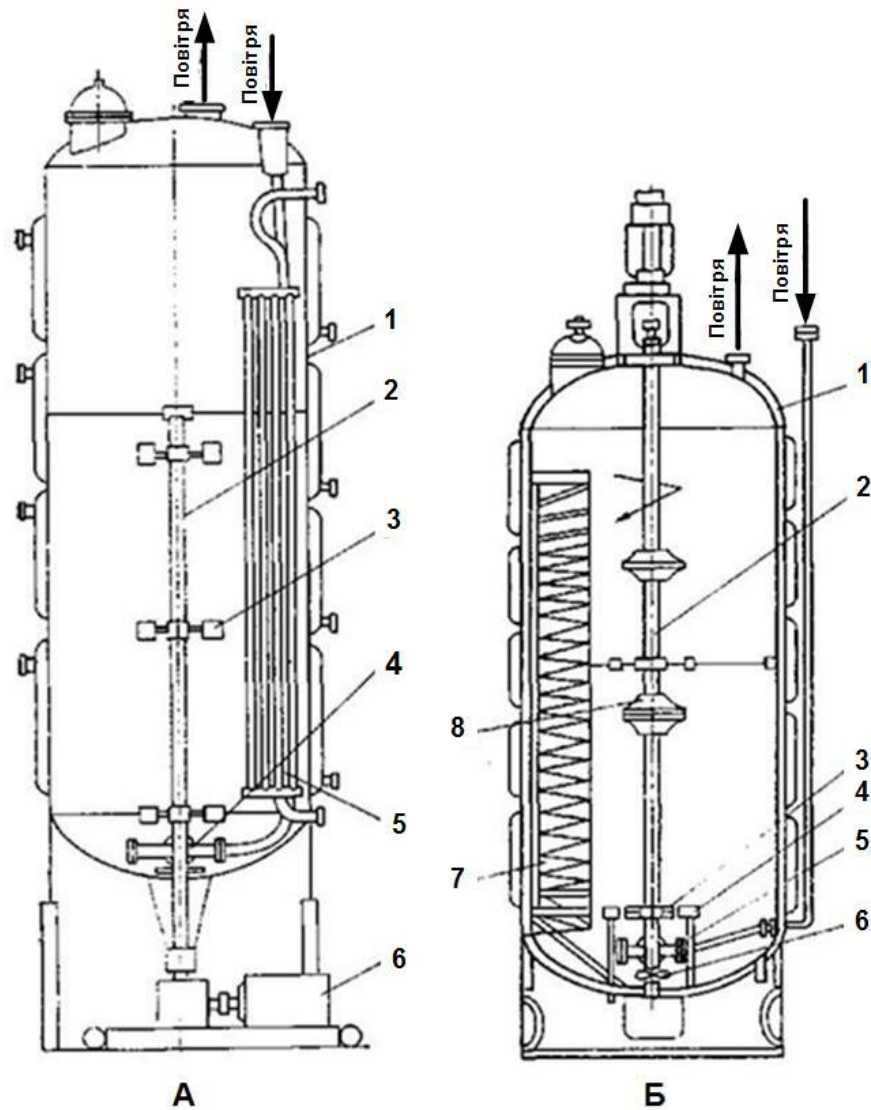


Рис. 5.16.Схеми ферментерів: А – фірми «Рудислебен» (Німеччина): 1 – корпус, 2 – вал, 3 – мішалка, 4 – барботер, 5 – теплообмінник, 6 – привід мішалки; Б–підприємства Держинськхімаш: 1 –корпус, 2 –вал, 3 – турбінна мішалка із криволінійними лопатями, 4 –статор, 5 –барботер, 6 – пропелерна мішалка, 7 – змійовиковий теплообмінник, 8 – закрита турбінна мішалка із прямими лопатями.

Ферментери з комбінованим введенням енергії місткістю більше 10 м^3 мають ряд загальних конструктивних ознак:

- вони обладнані багатоярусними мішалками;
- введення газової фази здійснюється через барботери різних конструкцій;
- промислове використання орієнтоване на проведення асептичного біосинтезу;
- використання приводу мотор-редуктор дозволяє змінювати в широкому діапазоні рівень зрізових зусиль;

- за необхідності в типовому корпусі можлива установка додаткових пристроїв – дифузорів, центральних або периферійних аераторів, різних конструкцій піногасників (вмонтовані, виносні), секціонування за допомогою тарілок різних конструкцій; додаткова турбулізація поживного середовища забезпечується за допомогою відбиваючих перегородок;

- для створення циркуляційних контурів поживного середовища використовують вбудовані у ферментер спіральні теплообмінники або дифузори.

Технічну характеристику деяких ферментерів з комбінованим підведенням енергії для великотоннажного виробництва наведено у табл. 5.6.

Таблиця 5.6.

**Технічна характеристика промислових ферментерів з
комбінованим введенням енергії**

Об'єм, м ³	40	50 (м. Суми)	63
Коефіцієнт заповнення, %	60-65	62	60
Висота корпусу, м	6,2	7,772	6,470
Внутрішній діаметр апарата, м	3,0	3,0	3,2
Тип мішалки (мішалок)	відкрита турбіна	відкрита турбіна	відкрита турбіна
Кількість ярусів мішалок	2	3	3
Частота обертів мішалки, с ⁻¹	3	3	3,27
Потужність електродвигуна, кВт	14	75	90
Поверхня охолодження м ² :			
Сорочка	28,2	-	50
Теплообмінник	-	4 змійовика (30)	4 спір. (40)
Тип барботера		кільцевий з 12 променями	кільцевий з 12 променями
Витрати повітря, м ³ /год			432
Маса, кг			5702

Торцеві ущільнення

Забезпечення необхідного рівня асептики у процесі біосинтезу залежить від засобів герметизації ферментера. Найбільш вразливим місцем для герметизації у ферментерів з комбінованим введенням енергії є місце введення валу мішалки у ферментер.

Для забезпечення асептичності біосинтезу як пристрої для герметизації валів, що обертаються, використовують торцеві ущільнення з паровим

захистом. Торцеві ущільнення є невід'ємною частиною ферментерів з комбінованим введенням енергії, які працюють в асептичних умовах.

Виготовляється шість типів торцевих ущільнень: ТД-6, ТДП, ТДМ, ТДПЗ, ТТ, ТСК (ТД – подвійне, ТДП –подвійне з вбудованим підшипником, ТДМ – подвійне для малогабаритних апаратів, ТДПЗ – подвійне з підшипником і захистом, ТСК – одинарне з сальником з корозійностійкої сталі. Торцеві ущільнення, що контактують з поживним середовищем, виготовляються із сталі Х18Н10Т і Х17Н13М2Т, а також з титану ВТ1-0. Тривалість безвідмовної роботи – не менше 2000 годин. Припустиме биття валу в зоні торцевого ущільнення – більше 9,25 мм, кутове биття валу – не більше 0,25 мм. Торцеві ущільнення випускаються для герметизації валів апаратів, що працюють при надлишковому тиску до 0,25 МПа, температурі середовища – від 30 до 250°C та швидкості обертання валу до 10 с⁻¹.

У біотехнологічних виробництвах, де існують високі вимоги до рівня асептики, використовують торцеві ущільнення типу ТТ з термічним затвором (рис. 5.18). Корпус ущільнення заповнюють високов'язким авіаційним маслом МС-20 або МК 22, яке створює термічний затвор і змащує тертьові пари. Корпус ущільнення має сорочку, в яку подається пара для стерилізації. У процесі експлуатації торцевого ущільнення потрібна циркуляція запорної рідини (масла). Для цього використовують природну циркуляцію масла. В цій схемі залучені теплообмінник та фільтр масла.

Технічна характеристика торцевих ущільнень, типу ТТ для вертикальних валів, які працюють за надлишкового тиску 0,3 МПа і залишкового – 0,02...0,03 МПа представлена в табл.5.7.

Таблиця 5.7.

Характеристика торцевих ущільнень, типу ТТ для вертикальних валів

Умовне позначення ущільнення	Діаметр валу мішалки, мм	Число обертів валу мішалки, с ⁻¹	Температура середовища, °С	Маса
ТТ-40-3	40	5	10-150	18
ТТ-50-3	50	5	10-150	18
ТТ-65-3	65	5	10-150	25
ТТ-80-3	85	5	10-150	35
ТТ-95-3	95	5	10 -150	45
ТТ-110-3	110	3,3	10-150	55
ТТ-120-3	120	3,3	10-150	65

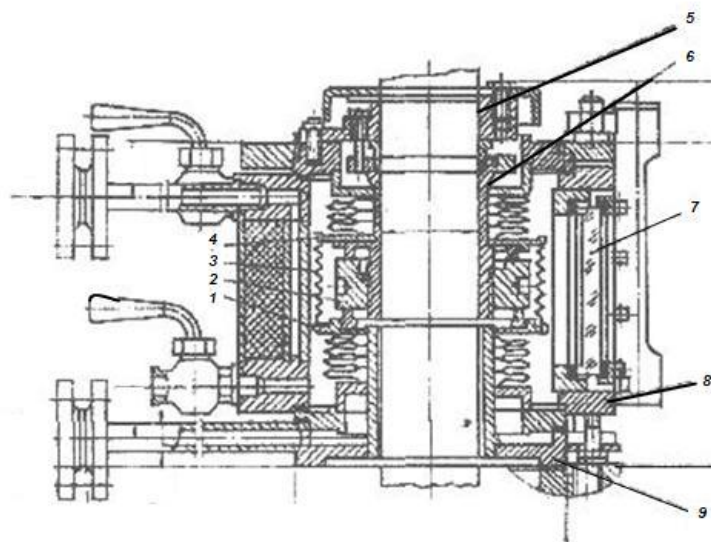


Рис.5.17. Торцеве ущільнення типу ТТ: 1 – нерухоме ущільнююче кільце; 2 – рухоме ущільнювальне кільце; 3 – пружина; 4 – нерухоме ущільнювальне кільце; 5 – водило; 6 – втулка; 7 – показчик рівня; 8 – корпус; 9 – уловлювач протікань

Загальний вигляд деяких конструкцій лабораторних, пілотних ферментерів представлено на рис.5.18– 5.20.



Рис. 5.18. Конструкції лабораторних ферментерів



Рис. 5.19 Конструкції пілотних ферментерів

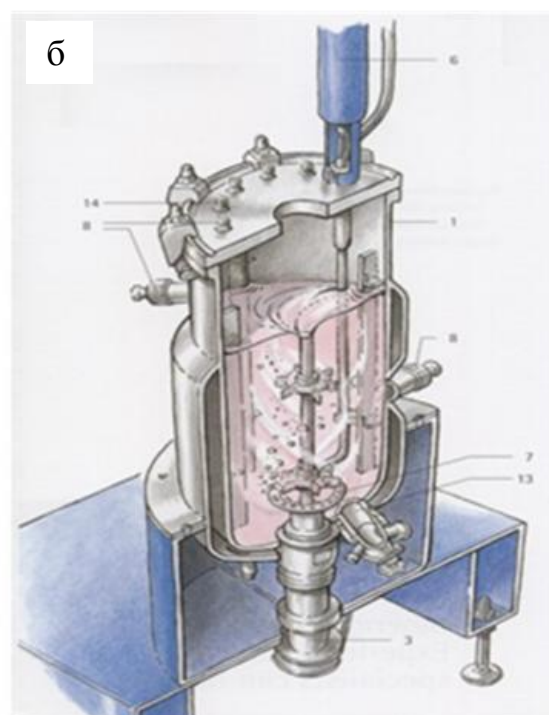
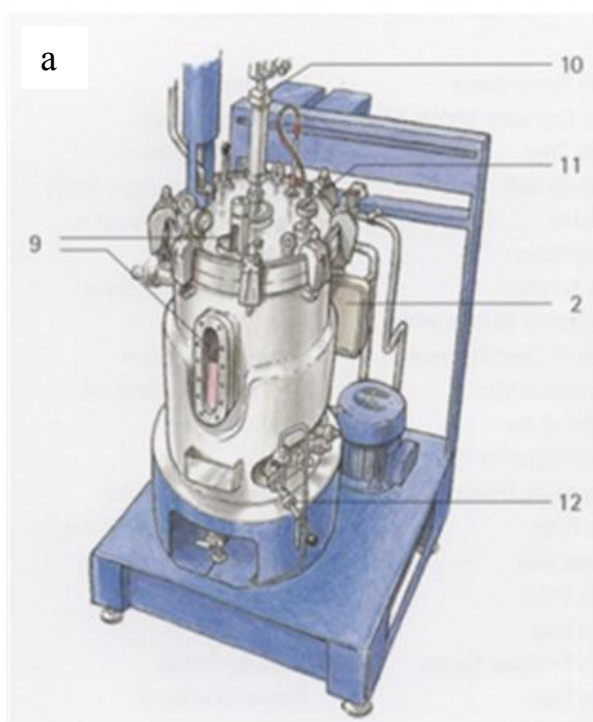


Рис.5.20. Схема роботи пілотного ферментера з нижнім приводом мішалки: а) 2 – електричний блок живлення; 9 – оглядове вікно; 10 – фільтр відпрацьованого повітря; 11 – місце встановлення датчиків; 12 – пробовідбірник;

б) 1 – корпус; 3 – привод мішалки; 7 – барботер; 8 – пробовідбірник; 13 – нижній зливний патрубок; 14 – пробки входних штуцерів.

Останнім часом для культивування мікроорганізмів, а також особливо для культивування культур клітин рослин та тварин, стали використовувати інноваційний тип ферментаційної апаратури – одноразові пластикові ферментери (*single-use*), які використовують у біофармацевтичній промисловості, об'ємом від декількох см³ до декількох м³. Пластикові мішки-ферментери постачають централізовано у стерильному вигляді, що усуває проблеми багаторазового миття і стерилізації апаратів на місці. Незважаючи на підвищення поточних витрат, пов'язаних із застосуванням достатньо дорогих пластикових ферментерів, капітальні вкладення в нові виробництва з новою апаратурою значно зменшуються, а отже, зменшуються й амортизаційні витрати та собівартість продукції, що дає значний економічний ефект.

У 2007 р. один зі світових лідерів у галузі виробництва традиційної і одноразової ферментаційної апаратури (ОФА) німецька фірма *Sartorius AG* після об'єднання з французькою фірмою *Stedim*, яка спеціалізувалась на виробництві інших виробів одноразового використання (*disposable, single-use*), утворили альянс під назвою *Sartorius-Stedim Biotech*. Нова фірма з докризовим річним оборотом 660...680 млн. євро зі штатом понад 2 300 працівників стала лідером у виробництві ОФА для використання у біофармацевтичній промисловості. Це поставило крапку в суперечці між прихильниками нових і традиційних видів ферментаційної апаратури, що їх застосовують у виробництві лікарських засобів.

На початку впровадження технологій із застосуванням ОФА виникав певний сумнів. З одного боку, використання пластикових мішків, які надходять на підприємство зі спеціальної фабрики у гарантовано стерильному вигляді, виключає процеси миття і стерилізації (*Cleaning in Place / Sterilization in Place (CIP/SIP)*), що спричиняють до 80% виробничих проблем, пов'язаних із проведенням ферментаційних процесів у стерильних умовах у разі використання традиційних культиваторів. З іншого боку, мішки, як витратний матеріал, не є дешевими, тому економічна доцільність не була очевидною.

Однак досвід показав, що побоювання були марними. До цього висновку дійшли, зокрема, у британській фірмі *Celliance Ltd.*, яка тривалий час працює на ринку виробництва моноклональних антитіл для діагностики з використанням 85 різних культур тваринних клітин. Фірма досягла значної економії за рахунок скорочення часу підготовки ферментерів (у 4 рази), що дозволило збільшити кількість виробничих циклів на 25...40% (залежно від масштабу); повного виключення браку; можливості проведення ферментацій у звичайних, а не в чистих приміщеннях; скорочення часу проведення валідаційних робіт, не кажучи вже про економію мийних розчинів, чистої води тощо.

Навіть зовнішній вигляд ферментаційних відділень свідчить про їх спрощення завдяки використанню ОФА (рис. 5.21).

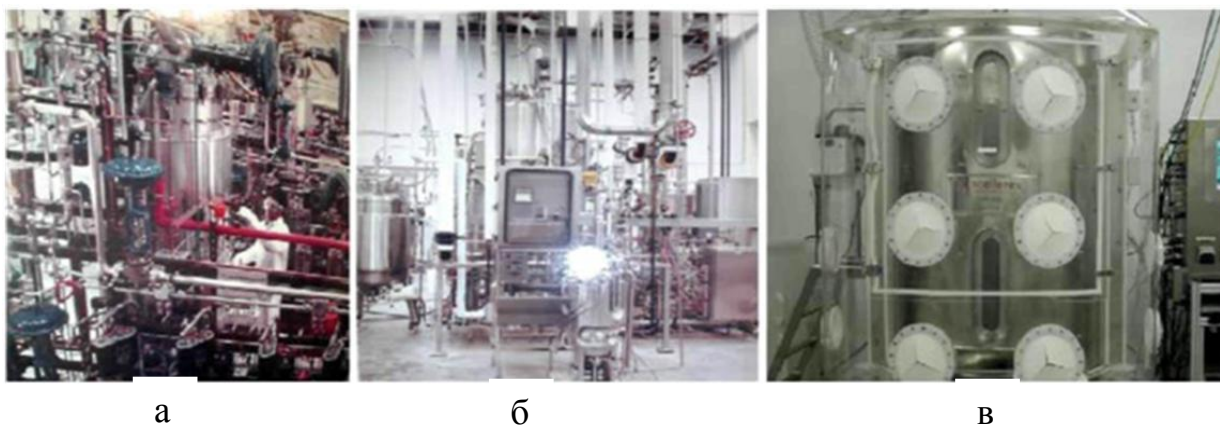


Рис. 5.21. Зовнішній вигляд ферментаційних відділень у різні роки: а – біореактор об'ємом 1000 л (1982 р.), б - біореактор об'ємом 1000 л (1994 р.), в – ОФА Xceller XDR-1000 л (наш час)

Г. Сендстром, провідний інженер багато-профільної транснаціональної компанії *Fluor*, наводить такі міркування зі власного досвіду: «Річні витрати на використання підприємствах затримується внаслідок того, що капітали вже раніше були інвестовані в традиційне обладнання через побоювання залежності виробника від одного постачальника витратних матеріалів для ОФА, або через суто психологічні мотиви (If it isn't broken, why fix it? – Навіщо склеювати те, що не розбилося?).

На рис.5.22. наочно показано переваги ОФА перед традиційними ферментерами з нержавіючої сталі. Ще одна перевага ОФА – процес можна спостерігати візуально, контролюючи рівень піни, зміну кольору культуральної рідини, її каламутність тощо. Такий контроль не можна порівняти з візуалізацією процесу через оглядові вікна у сталених біореакторах.

ОФА випускає не тільки фірма *Sartorius-Stedim Biotech* (об'єм від 1 до 1 000 л), але й інші компанії, зокрема *ATMI* (від 50 до 1 000 л), *GE Healthcare/Wave* (від 1 до 1 000 л), *Thermo Fisher HyClone* (до 1000 л), *Xcellerex* (від 10 до 2 000 л) а також *Alfa-Laval* (спільно з *Fisher Scientific International Inc.*, *HyNetics Corp.* і *HyClone*), *Applikon* та ін.

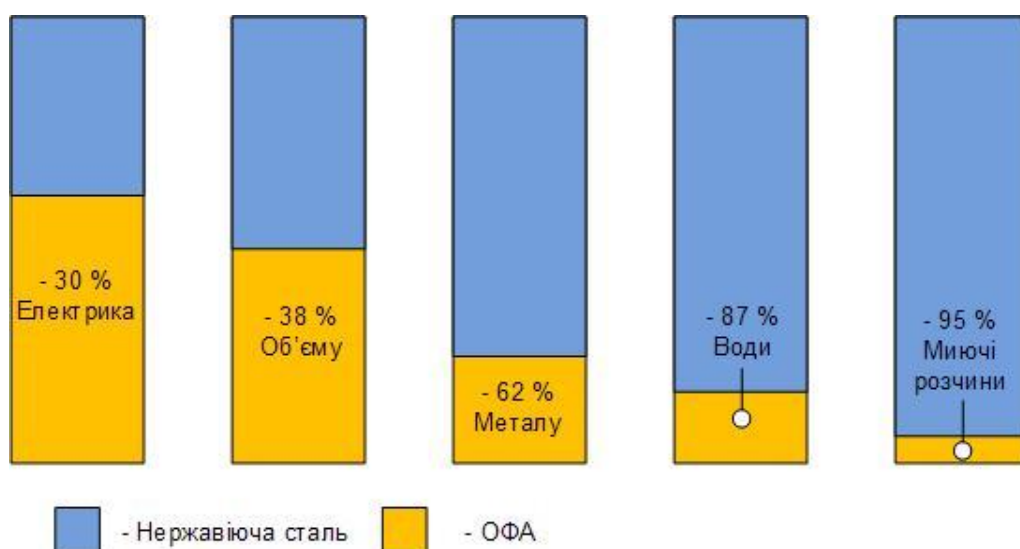


Рис. 5.22. Переваги ОФА у використанні електроенергії, виробничого об'єму, сталейних конструкцій, витрати води і мийних засобів [Sartorius-stedim.com, 2009].

Проте ОФА мають і деякі недоліки. Так, зокрема встановлено, що швидкість росту деяких видів холестеролзалежних клітин (*cholesterol-dependent cells*), які іммобілізуються на пластику, знижується. Окрім того, внаслідок проблем з перемішуванням і відведенням тепла максимально можливий об'єм ОФА на сьогодні – 2 000 літрів; має бути заплановано складське приміщення для зберігання одноразових мішків; недостатньо вивчена проблема вилуговування низькомолекулярних речовин з пластику.

Загалом ця практика довела придатність ОФА для більшості процесів ферментації, і висококваліфікованим робітникам більше не доводиться займатися прибиранням приміщень та очищенням обладнання.

Фірма Applikon випускає одноразовий, повністю зібраний і готовий до використання полікарбонатний біореактор для ефективного лабораторного культивування клітин тварин, моноклональних антитіл, біомаси як посівного матеріалу моделі *SuperSpinner D1000* об'ємом від 200 мл до 8 л (рис. 5.23).

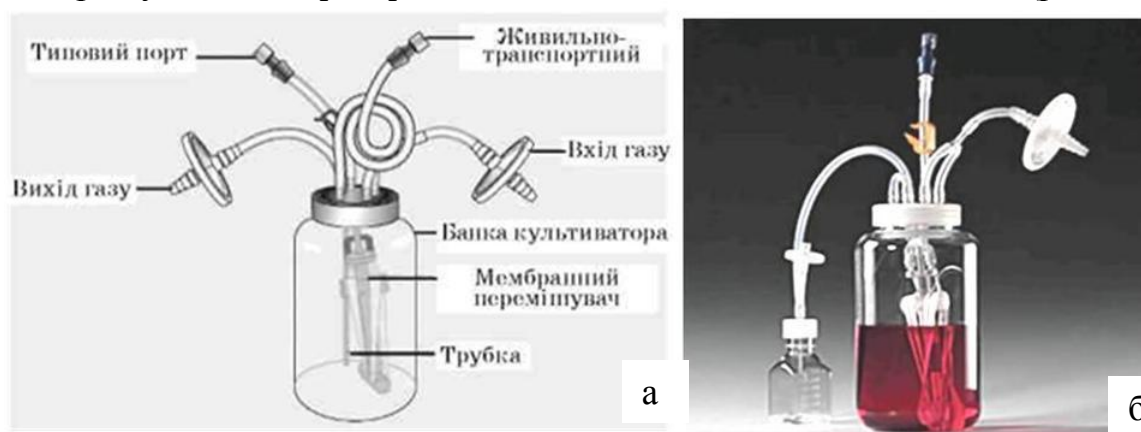


Рис. 5.23. Принципова схема: а) та загальний вигляд б) ОФА SuperSpinner D1000

Головна особливість ферментера *SuperSpinner D1000* – наявність мембранної мішалки, яка дозволяє проводити кероване й ретельне перемішування, а також безпухирцеву аерацію, що виключає утворення піни. Принцип роботи мембранної мішалки полягає в тому, що на основу мішалки намотується низка поліпропіленових порожнистих волокон з нанопорами, крізь які просочується аераційне повітря.

Піонером у технології ОФА, згідно з якою як ємність використовують одноразову пластикову місткість у вигляді мішка, є фірма *Wave Biotech AG*, що була заснована в 1999 р. в Тагельсвангені поблизу Цюриха. Матеріал мішка є багатошаровим. Наприклад, матеріал мішків BIOEAZE® Bags фірми SAFT, яка входить до корпорації Sigma-Aldrich Corp., складається з шарів поліетилену низької щільності (ПЕНЦ), поліетиленвінілового спирту, знову ПЕНЦ і, нарешті, з шару полівінілацетату. Можливі різні варіанти.

Виробник постачає мішок гарантовано чистим і стерильним з відповідним сертифікатом якості. Він споряджений фільтрами вхідного і відпрацьованого повітря або газу, а також пристроями для асептичного посіву, відбирання проб, збирання врожаю культури, датчиками контролю. Мішок розташовують на спеціальній платформі з нержавіючої сталі. Платформа, що коливається із заданою частотою ексцентриком у вертикальній площині, створює хвилеподібний рух поживного середовища усередині пластикового мішка. У результаті забезпечується ефективне перемішування за дуже м'якої динамічної дії на культуру мікроорганізмів або клітин (рис. 5.24).

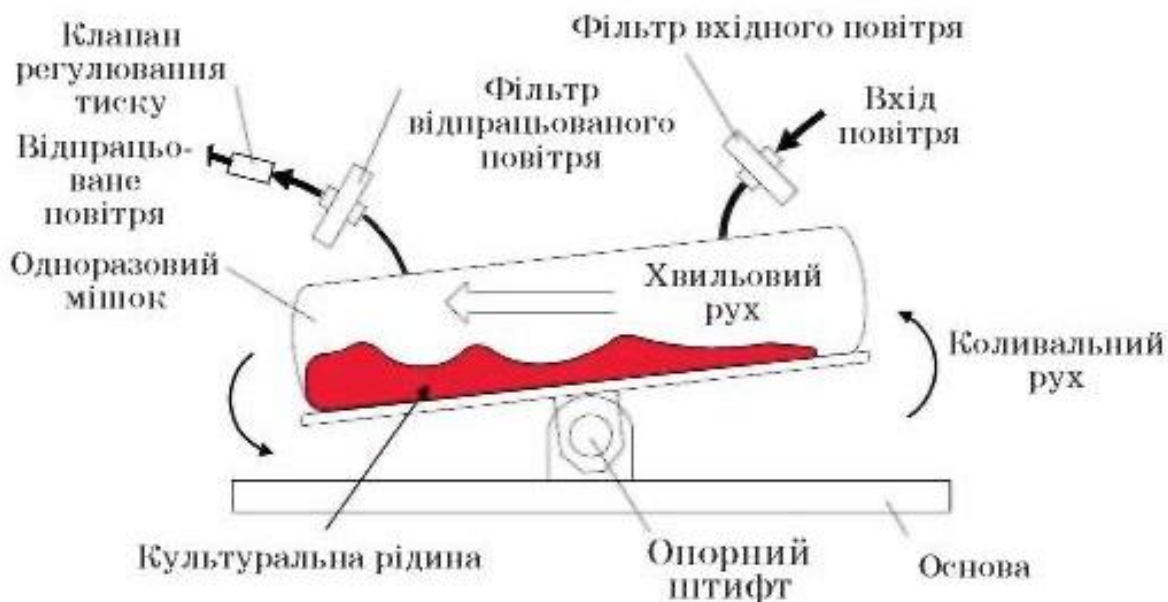


Рис. 5.24. Схема перемішування культуральної рідини в ОФА компанії *Wave Biotech*

Компанія *Sartorius Stedim Biotech* останнім часом розпочала випуск нової серії великогабаритних ОФА BIOSTAT CultiBag STR 200 та BIOSTAT CultiBag STR 200 Plus, які відрізняються системами контролю. Крім того, BIOSTAT CultiBag STR 200 Plus може бути в подвійній версії (рис. 5.25.)



Рис.5.25.BIOSTAT Cultibag STR 200

Обидва типи призначено передусім для культивування клітин ссавців і комах, але у спеціальній версії їх можна використовувати для культивування будь-яких мікроорганізмів. Мінімальний об'єм BIOSTAT Cultibag STR 200 – 50 л, максимальний – 280 л. Найближчим часом планується довести об'єм до 1 000 л.

На рис. 5.26. подано зовнішній вигляд найбільшого ОФА (2 000 л), які випускає компанія *Xcellerex* (США). Усім великогабаритним ОФА притаман-



Рис. 5.26. Біореактор XDR2000

ний недолік – проблемне перемішування імпелером, який встановлений внизу і тому не весь об'єм культуральної рідини ефективно перемішується. Привід імпелера – магнітний з використанням надпровідників. Отже, перемішування є технічно складним, з низьким коефіцієнтом масопередачі за киснем K_{la} .

Цим недоліком можна знехтувати, якщо йдеться про культивування клітин з малою питомою швидкістю росту (рослинні, тваринні клітини), але під час культивування мікроорганізмів цей недолік стає вже досить помітним. Можливо, тому в ОФА компанії *HyClone* або *Xcellerex* застосовують звичайний

перемішувальний пристрій з уведенням штоку мішалки зверху по діагоналі, але при цьому виникають проблеми з ізоляцією мішалки від зовнішнього середовища.

Проблему перемішування компанія *Cellexus Ltd* (Кембридж, Велика Британія, www.cellexusbiosystems.com) вирішує просто: ОФА цієї компанії взагалі не мають механічних пристроїв для перемішування, замість них використовують просту і дешеву ерліфтну систему. Проте, як і будь-яким ферментерам з ерліфтом, їм притаманні недоліки – низький коефіцієнт

масопередачі за киснем та інтенсивне піноутворення.

У процесі виробництва лікарських субстанцій та інших біотехнологічно важливих продуктів сировина і напівпродукти зберігаються в *технологічних ємностях*.

Традиційно їх виготовляють з високоякісної полірованої нержавіючої сталі зі складною обв'язкою для миття і стерилізації, а також забезпечення асептики процесів наповнення, спорожнення і відбору проб. Ці ємності мають високу вартість і потребують складної валідації процесів їх миття і стерилізації. Сьогодні такі ємності можна замінювати одноразовими пластиковими контейнерами, які встановлюють у жорсткі несучі конструкції. Розмірний ряд таких контейнерів — від 1 до 3 000 л.

Для цієї мети компанія *Sartorius Stedim Biotech* випускає одноразові змішувачі, у виготовленні яких застосовують найновітнішу патентовану технологію *LevTech*. (рис. 5.27). Ці змішувачі одержали назву *Single Use Mixing LevTech Disposable Mixing System*. Установки призначені для змішування різноманітних стерильних компонентів у виробництві субстанцій лікарських засобів, зокрема компонентів поживного середовища для ферментерів. Вони можуть застосовуватись для змішування як рідких, так і сипких компонентів. Перемішування здійснюється одноразовим імпелером.

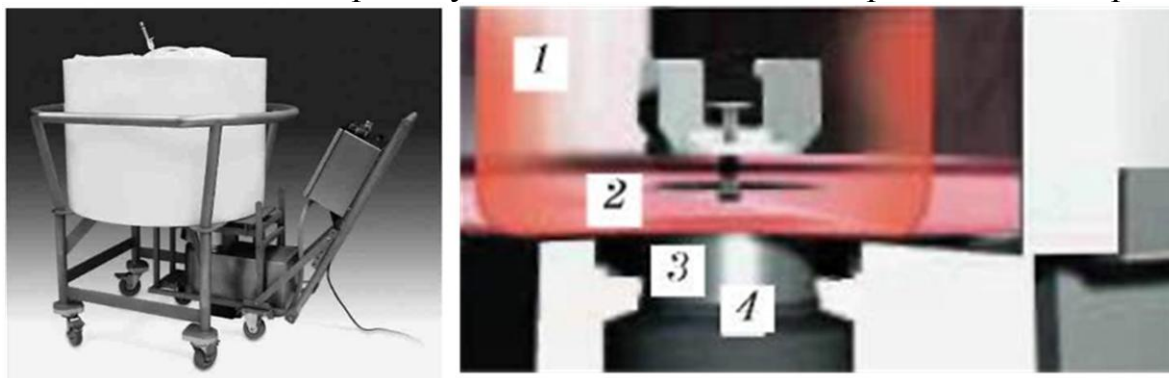


Рис. 5.27.Перемішувальний пристрій *LevTech* для приготування поживних середовищ для ОФА (одноразовий мішок встановлено в корпус з нержавіючої сталі): 1 – одноразовий мішок; 2 – пластина, що пов'язує імпелер і магнітний левітатор, з вирівнювальним штифтом; 3 – тепловий розділювач; 4 – надпровідник.

Загалом використання ОФА при отримання біотехнологічних продуктів є досить перспективним і багато фірм виробників такого обладнання вкладають великі кошти в розробку інноваційних продуктів.

Запитання для самоперевірки

1. Сформулюйте основні вимоги до вибору типового ферментера.
2. Яким чином можна класифікувати ферментери?
3. Назвіть основні типи ферментерів згідно їх класифікації.
4. Назвіть основні елементи конструкції ферментера.

5. Які параметри є основоположними для підбору ферментера?
6. Охарактеризуйте сучасні тенденції в розвитку ферментаційної апаратури.

Список літератури до розділу 5

1. Сидоров, Ю.І. Процеси і апарати мікробіологічної та фармацевтичної промисловості. Технологічні розрахунки. Приклади і задачі. Основи проєктування: Навч. посібник. /Ю.І. Сидоров, Р.Й. Влязло, В.П. Новіков - Львів: «Інтелект-Захід», 2008. – 736 с.
2. Сидоров, Ю.І. Одноразова ферментаційна апаратура // Біотехнологія, Т.3, №6, – 2010. С. 9–21.
3. Стасевич, М.В. Обладнання технологічних процесів фармацевтичних та біотехнологічних виробництв // М.В. Стасевич, А.О. Милянйч, І.О. Гузьова, І.Р. Букчевич, та інш. – Вінниця: НОВА КНИГА, 2012. – 407 с.

Розділ 6. ОСНОВИ АСЕПТИКИ БІОТЕХНОЛОГІЧНИХ ВИРОБНИЦТВ

Більшість процесів мікробного синтезу проводять із чистими культурами мікроорганізмів. У мікробіологічному виробництві проводять комплекс різноманітних заходів, що забезпечують збереження чистоти культури на всіх етапах технологічного циклу: від зберігання пробірки з еталонним штамом у лабораторії до промислового вирощування у ферментері. До таких заходів належать: стерилізація обладнання та комунікацій, забезпечення їхньої герметичності, стерилізація поживного середовища та повітря для аерації, спеціальні методи відбору проб, асептичне внесення в апарат поживних речовин, піногасників і посівного матеріалу, санітарна обробка поверхонь приміщень та обладнання, що розташоване в них.

Необхідність забезпечення асептичних умов у біотехнологічних процесах обумовлена рядом міркувань. По-перше, сторонні мікроорганізми-контамінанти споживають поживні речовини і виділяють метаболіти, що гальмують ріст основної культури. *Контамінація* (забруднення) – явище, яке характеризується проникненням забруднювачів (механічних часток або біологічних речовин, мікроорганізмів) у процесі культивування цільового біологічного агента. Контамінація частками біотичної природи має назву *біозабруднення*. Біозабруднювачами можуть бути життєздатні або нежиттєздатні мікроорганізми, їх частки, або продукти життєдіяльності, які можуть спричинити зміни якісних показників готової продукції. По-перше, це важливо у зв'язку з тим, що такі найпоширеніші контамінанти, як *Bacillus subtilis*, *B. megaterium*, *B. stearothermophilus* та ін., характеризуються дуже високими (до $2...3 \text{ год}^{-1}$) швидкостями росту порівняно з основною культурою. По-друге, неконтрольований розвиток контамінантів змінює оптимальний режим росту та розвитку основної культури. По-третє, наявність у культуральній рідині сторонньої мікрофлори і продуктів її життєдіяльності нерідко значно ускладнює виділення цільового продукту та знижує його якість.

Стороння мікрофлора може потрапити у ферментер з водою, повітрям або з кожним з видів сировини. Для характеристики забруднення води та повітря мікроорганізмами наведемо наступні дані. Вміст мікроорганізмів в 1 мл води з артезіанських свердловин складає близько 10^4 , з міського водопроводу – $10^3...10^4$, з річок або інших поверхневих водоймищ – $10^4...10^6$, у 1 мл стічних вод – $10^8...10^{12}$. Серед них аеробні сапрофітні мікроорганізми, найнебезпечніші з погляду забруднення біотехнологічних процесів, становлять 0,1...1%. Вміст мікроорганізмів у повітрі сильно коливається залежно від району, у якому беруть пробу, і становить від 10^2 до 10^4 клітин у 1 м^3 . У безпосередній близькості від мікробіологічних виробництв обнасіненість повітря різко зростає. Практично усі види використовуваної сировини в тому або іншому ступені обнасінені мікроорганізмами.

6.1. Санітарна підготовка виробництва

Невід'ємною частиною створення асептичних умов на біотехнологічних підприємствах є проведення робіт санітарно-гігієнічного призначення. Основним спрямуванням санітарної підготовки виробництва є забезпечення мінімальної кількості контамінантів всіх учасників та складових виробничого процесу: персоналу, на поверхнях обладнання, яке контактує з культуральною рідиною, забезпечення чистоти на виробничих ділянках, де чистота та асептика впливають на якісні показники продукції. Роботи санітарно-гігієнічного призначення суттєво впливають на створення безпечних умов праці і охороні здоров'я працівників підприємства. Санітарна підготовка виробництва реалізується виконанням робіт із щоденного позмінного та генерального прибирання виробничих приміщень та централізованою підготовкою обладнання.

Складовими частинами санітарної підготовки є:

- підготовка персоналу як можливого джерела контамінації, яка включає цілий комплекс заходів, зокрема особиста гігієна і правила поведінки персоналу, забезпеченість технологічним одягом, при цьому персонал проходить навчання та контроль знань;
- підготовка виробничих приміщень, які обробляються мийними, дезінфекційними та мийно-дезінфекційними засобами для зниження рівня загального забруднення та мікробної контамінації;
- підготовка обладнання, яке проходить багатостадійну обробку, що включає миття, дезінфекцію зовнішніх поверхонь, ополіскування внутрішніх поверхонь та стерилізацію;
- підготовка комунікацій, які миються та стерилізуються;
- складовою частиною підготовки обладнання є перевірка його на герметичність та ефективність проведеної стерилізації.

6.1.1. Вибір мийних та дезінфікуючих засобів.

Мийні засоби являють собою індивідуальні хімічні речовини або складні суміші хімічних речовин, що підсилюють дію одна одної, з поверхнево-активними речовинами й речовинами, що викликають піногасіння. Як правило, для миття доцільно застосовувати складні суміші, оскільки вони мають ширший спектр дії та кращий миючий ефект.

Як мийні засоби, що розчиняють усі складові забруднень, застосовують лужні та кислотні речовини. Білки й жири гідролізуються та змиваються лугами, а мінеральні речовини розчиняються і віддаляються з поверхні устаткування кислотами.

До лужних мийних засобів, використовуваних як самостійно, так і в суміші з іншими хімічними речовинами, відносять в основному гідроксид натрію (каустична сода) і його солі: карбонат натрію (кальцинована сода); силікат і тетрасилікат натрію (рідке скло), які є компонентами багатьох мийних засобів; фосфати натрію, у тому числі гексаметафосфат і

триполіфосфат натрію, які мають деякі поверхнево-активні властивості та здатність пом'якшувати воду, і також входять до складу багатьох синтетичних миючих засобів та ін.

Як окремі мийні засоби, а також у суміші з іншими синтетичними мийними засобами для посилення миючого ефекту під час мийки устаткування використовують кальциновану і каустичну соду, концентрації яких у водному розчині рекомендуються від 2 до 4% у вигляді гарячих (70 °C) розчинів. Це говорить про те, що ні каустична, ні кальцинована сода не мають високий миючий ефект у малій концентрації.

Мийні засоби застосовують у вигляді розчинів, які повинні мати такі властивості:

- низький поверхневий натяг;
- гарні змочувальну, піноутворювальну та емульгуючу здатності;
- стабілізуюча дія;
- солубілізація;
- здатність викликати пептизацію й набрякання білків;
- ефективна миюча дія і здатність добре змиватися з поверхні устаткування водою

Дезінфікуючі засоби. На біотехнологічних виробництвах у процесі масової обробки значних об'ємів обладнання та поверхонь, при обробленні приміщень віддають перевагу дешевим і достатньо ефективним дезінфікуючим засобам. Основна мета цього процесу – зменшення кількості сторонньої мікрофлори на поверхнях приміщень, обладнання. Дезінфекція приводить, як правило, до зниження рівня мікробної контамінації на 40...60% від початкового вмісту. При виборі дезінфікуючої речовини необхідно враховувати не тільки її біоцидні властивості і спектр дії, а й можливу токсичність для організму людини.

Сучасні вимоги до дезінфікуючих засобів включають:

- широкий спектр антимікробної дії;
- бактерицидний ефект;
- розчинність у воді;
- відсутність пошкоджуючої дії на оброблені поверхні;
- низька токсичність та алергенність.

Перелік найбільш використовуваних в біотехнологічних процесах мийних та дезінфікуючих засобів.

«Хлорантоїн»— хлорактивний, багатокomпонентний, поліфункціональний дезінфікуючий засіб з миючим ефектом (ТУ У 22902465.004-95). Використовується для обробки поверхонь приміщень.

«Неохлор» – концентрований хлорактивний засіб, багатокomпонентний препарат, для дезінфекції та санітарної обробки, що містить також миючий засіб, ароматизатор, інгібітор корозії і стабілізатор вмісту активного хлору.

«Біомой» – багатокomпонентний, поліфункціональний, біоактивний миючий засіб з дезінфікуючим ефектом (ТУ У 22902465.005-96). Використовується для обробки обладнання.

«Дезосепт»— комбінований препарат для дезінфекції різних видів технологічного обладнання на основі надоцтової кислоти.

Хлорне ванно – застосовують для поточної дезінфекції поверхонь приміщення, засобів прибирання, санітарно-технічного устаткування та комунікацій.

При виборі мийного та дезінфікуючого засобу, необхідно враховувати вартість засобу та витрати на одиницю оброблювання площі виробничого приміщення, поверхні обладнання. Приблизно на 1 м² поверхні витрачається 100 мл робочого розчину мийного чи дезінфікуючого засобу (згідно з методичними рекомендаціями щодо підготовки виробничих приміщень, наказ МОЗ України від 14.12.2001 № 502).

Необхідно враховувати і те, що вибір мийних та дезінфікуючих засобів не може здійснюватися тільки на основі вартості за 1 л концентрату, або 1 л робочого розчину. Це зумовлене тим, що, по-перше, робоча концентрація різних мийних та дезінфікуючих засобів може виявитися різною, по-друге, витрата робочих розчинів для обробки певної площі може різнитися, по-третє, одні засоби використовуються для миття підлоги, стін, вікон, дверей тощо, а інші – для миття обладнання, інвентаря, комунікацій, тари та ін. Очевидно, що об'єктивним критерієм вибору є вартість певного об'єму розчинів, необхідних для обробки однакової площі.

Такі узагальнені дані щодо доцільності використання певних мийних та дезінфікуючих засобів бажано наводити у вигляді таблиці, наприклад, таблиця 6.1, де представлена узагальнена характеристика витрат мийних та дезінфікуючих засобів при виробництві поверхневого антигену HbsAg.

Для порівняння ефективності різних дезінфікуючих препаратів найширше використовується метод *фенольного коефіцієнта*. Метод заснований на порівнянні пригнічувальної дії фенолу і конкретного засобу на ріст визначених мікроорганізмів в чітко контрольованих умовах. Для фенолу ефективність приймається за 1, а ефективність використаного засобу характеризується фенольним коефіцієнтом. Так перекис водню має фенольний коефіцієнт 0,01; хлорамін – 130.

6.1.2. Підготовка приміщень

Генеральне прибирання проводять перед початком виробничого процесу, а щоденне – перед кожною робочою зміною (1...3 рази на добу). Після обрахування кількості необхідних прибирань розраховують приблизну площу оброблення мийними та дезінфікуючими засобами, враховуючи площу підлоги виробничого приміщення та площу стін на висоту 2,5 м.

Підлогу необхідно мити та дезінфікувати кожного дня, стіни, двері та вікна не рідше одного разу на місяць. Для знезараження повітря виробничих приміщень від мікроорганізмів використовують різні бактерицидні лампи – джерела ультрафіолетового випромінювання.

Таблиця 6.1

Узагальнена характеристика витрат мийних та дезінфікуючих засобів при виробництві поверхневого антигену HBsAg

Назва мийного/ дезінфікуючого засобу	Об'єкт миття та/або дезінфекції	Концентрація робочого розчину, %	Загальна площа (об'єм) миття та/або дезінфекції об'єкту за весь період виробництва, м ² (л)	Кількість робочого розчину за весь період виробництва, л	Вартість 1 л/кг мийного або дезінфікуючого засобу, грн	Загальна вартість миття та/або дезінфекції за весь період виробництва, грн
Кальцинована сода	Обладнання, інвентар, комунікації	2,0	11100	5550	9	999
Каустична сода	Обладнання, інвентар, комунікації	2,0	11100	5550	18	1998
Біомой	Обладнання, інвентар, комунікації, тара	0,3	11100	5550	34	566,1
Гембар	Стіни, підлога, вікна, двері, інвентар	0,5	1835	183,5	150	550,5
Дезактин	Стіни, підлога, вікна, двері, інвентар, тара	0,2	9100	910	135	245,7
Хлорантоїн	Стіни, підлога, вікна, двері, інвентар, тара	0,2	9100	910	108,54	197,5

Кількість і потужність бактерицидних ламп необхідно підбирати із розрахунку не менше $2 \pm 0,5$ Вт потужності випромінювача на 1 м^3 об'єму приміщення при прямому опромінюванні та не менше 1 Вт/м^3 – для екранованих бактерицидних ламп.

Бактерицидні випромінювачі вмикають на 1...2 год до початку роботи, коли у приміщенні немає людей. Оскільки ультрафіолетові випромінювачі утворюють у повітрі токсичні продукти (озон, окиси азоту), під час їх роботи необхідно вмикати вентиляцію. Періодичність включення стельових бактерицидних ламп – 1 год після кожного генерального прибирання.

6.1.3. Підготовка обладнання

Підготовка обладнання як складова санітарної підготовки виробництва націлена на досягнення необхідного рівня чистоти та асептичності. Наприклад, підготовка інокуляторів, ферментерів та установки для проведення безперервної стерилізації (УБС) складається із послідовності операцій, які розглянуто нижче.

Миття обладнання. Миття обладнання проводять наступним чином. Спочатку миють водою, протягом двох хвилин з передачею води у збірник нейтралізації, перед скидом рідини у систему каналізування рідких викидів. Миття продовжують розчином каустичної соди з концентрацією 1...2 %, протягом 10 хвилин при 40°C , з поверненням розчину в збірник нейтралізації. Проводиться ополіскування питною водою з передачею води у збірник нейтралізації.

У тому випадку, коли на поверхні обладнання присутні стійкі до видалення забруднення миття проводять 1%-м розчином хлоридної кислоти при 20°C з поверненням розчину у збірник нейтралізації; далі проводять ополіскування питною водою з передачею води у збірник нейтралізації; процес завершується ополіскуванням питною водою, протягом 5 хвилин, з повертанням води в збірник рециркуляційної води.

Сучасні підприємства мають **механізовані пристрої для миття обладнання**, такі як гідромонітори. Для механічного миття устаткування, цистерн, місткостей та ін. застосовуються мийні машини типу ММ-4А і гідромонітори Г-13А. Вони опускаються через люк на опорному пристосуванні всередину апарату, і під дією струменя гарячої рідини тиском $0,6 \dots 1 \text{ МПа}$ проводиться очищення внутрішніх поверхонь. Мийна машина ММ-4А складається з нерухомого і поворотного корпусів, приводного механізму, редуктора і соплового апарату із заспокоювачем струменя. Для приєднання шланга на поворотному корпусі є стакан з різьбленням. Миюча рідина при температурі до 80°C приводить в обертання робоче колесо гідротурбіни, яке через вертикальний вал черв'ячного редуктора обертає із швидкістю $0,03 \dots 0,04 \text{ с}^{-1}$ сопловий апарат, що складається з двох сопел з діаметром вихідного перетину 11 мм. Струмień рідини перед виходом з сопел проходить через заспокоювач струменя, що збільшує дальність струменя і під тиском $0,6 \dots 1,0 \text{ МПа}$ і витрати води до $30 \text{ м}^3/\text{год}$ протягом 20...25 хв вимиває

апарат. Для запобігання потраплянню води в зазор між вертикальним валом і поворотним корпусом встановлено торцеве ущільнення. Габаритні розміри машини 175×122×355 мм, маса 10 кг. Гідромонітор Г-13А працює при тиску миючого розчину 0,6...0,8 МПа і витраті води/миючого розчину 18...22 м³/год. Температура миючого розчину 75...90 °С. Тривалість промивки регулюється поворотом маховика вентиля регулятора і коливається від 5 до 30 хв. Конструкція гідромонітору аналогічна конструкції машини ММ-4А. Положення вентиля регулятора відповідають чотирьом циклам миття: 5...15, 15...20, 20...35, 25...30 хв. Габаритні розміри гідромонітору 400×195×140 мм.

Сучасні системи миття обладнання (CIP – *Cleaning in place* – *очищення по місцю*). Система безрозбірного миття обладнання була розроблена для стерильного виробництва і являє собою найсучаснішу технологію в цій галузі (рис.6.1). CIP являє собою систему очищення виробничого устаткування за допомогою приєднаних миючих форсунок або голівок, що дозволяє обходитися без трудомісткого процесу розбирання обладнання.



Рис. 6.1. Зовнішній вигляд конструкцій CIP-мийки: а – пересувна; б – стаціонарна

Пристрій безрозбірного одноразового очищення:

- одноразова чистка характеризується тим фактом, що для кожного етапу чищення використовується свіжий розчин;
- миючий розчин нагнітається в технологічне обладнання, короткий ланцюг, тобто не використовуючи пакетний резервуар, і зливається в систему стічних вод після чищення;

Існує дві версії одноразового очищення, які можуть бути встановлені:

1) з резервуаром, у якому зберігається готовий до використання миючий розчин;

2) без контейнерів, де розчин створюється «оперативно» дозуванням миючого концентрату безпосередньо в циркуляційну лінію.

Фактори, які впливають на результат очищення технологічного обладнання:

- температура миючого розчину;
- механічний вплив нагнітання миючого розчину;
- хімічна активність миючого розчину;
- загальна тривалість впливу миючого розчину.

Переваги одноразового очищення:

- миючі розчини не обтяжені залишками частинок від попередніх процесів чищення і мають постійний очищувальний ефект;
- кожен етап очищення може бути спеціально параметризованим для різних вимог до чищення (наприклад, концентрація, температура);
- легше виконання приймальних випробувань.

Недоліки одноразового очищення:

- високий рівень споживання води, миючих засобів, а також енерговитрат за одноразового використання розчинів/ промивної води.

Пристрій нерозбірної мийки для пакетної мийки. Головною характеристикою пакетної мийки є повторне використання промивної води і миючих розчинів.

Залежно від плану очищення, пристрій зазвичай складається з: резервуара попередньої промивки, резервуара з лугом і/або резервуара з кислотою, резервуара з миючим розчином, у концентрації, необхідній для використання, і, можливо наявність резервуар для дезінфектанту (рис. 6.2).

Обов'язковим елементом систем СІР є головки форсунок для очищення резервуарів. Головки форсунок, в основному, використовуються для подачі миючих розчинів на стінки резервуара при очищенні устаткування, особливо ємнісного. Їх конструкції і версії відрізняються, відповідно, відрізняється і призначення. Тип, форма, продуктивність, розташування і кількість головок форсунок повинні обиратися, виходячи з технічної перспективи та беручи до уваги вихідні дані. Необхідно пам'ятати, що основною метою є досягнення найкращого чищення, особливо в дуже забруднених зонах, отже головки форсунок встановлюють так, що достатній обсяг потоку досягав верхньої та бокових стінок резервуара.

Залежно від принципу промивання, форсунки діляться на дві групи:

- статичні (стаціонарні)
- ротаційні (обертові)

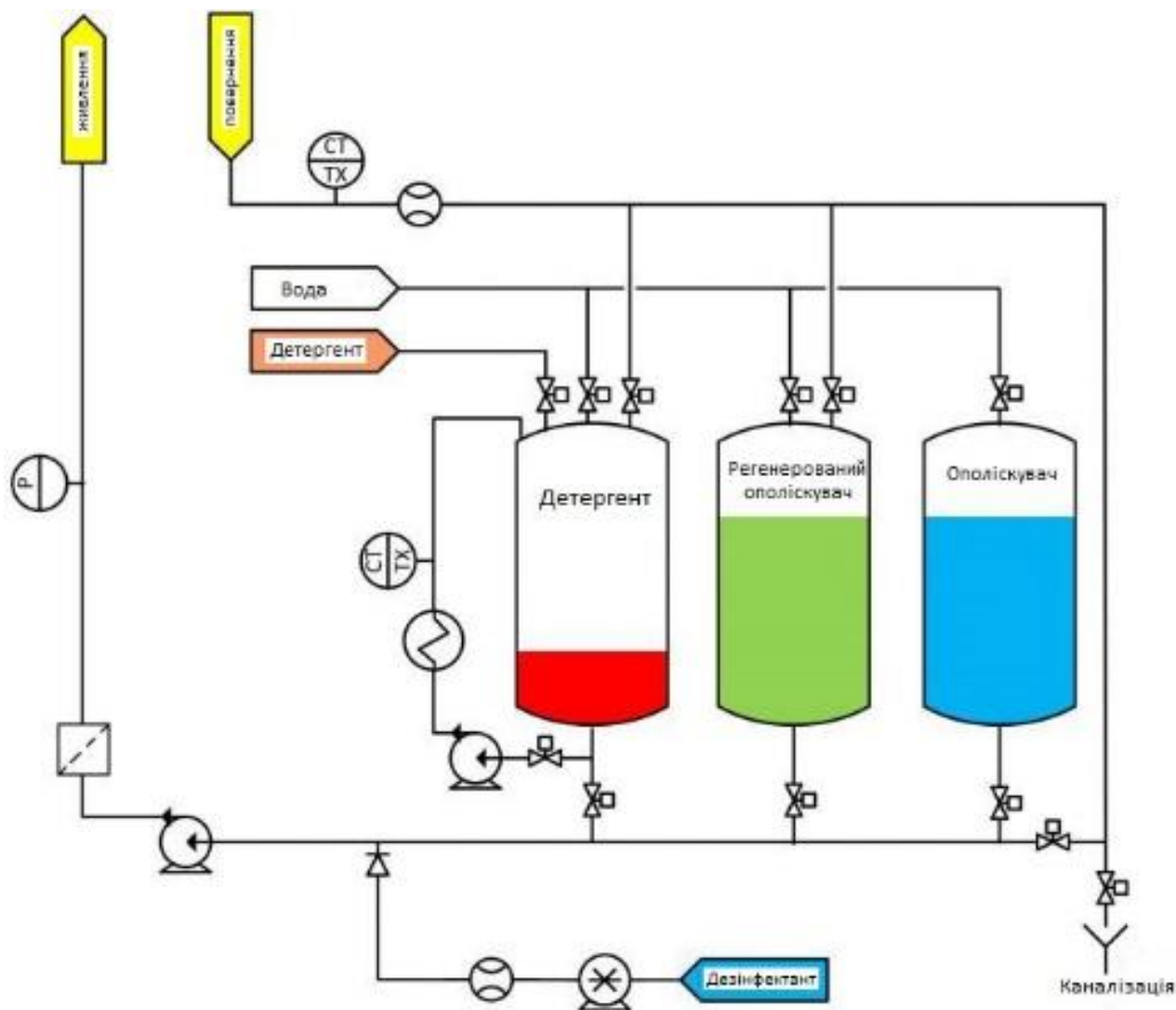


Рис. 6.2. Складові та схема роботи системи СІР

Статичні миючі головки (спрейболи) – це жорстко закріплені розприскувальні пристрої. Зафіксовані статичні розприскувальні миючі головки не обертаються, і тому потребують значно більшої кількості миючої рідини для забезпечення турбулентного потоку. Спрейболи насамперед використовуються для звичайного миття невеликих ємностей. Мийка ємності досягається за рахунок стікання по стінках ємності великого потоку миючого засобу. Всі форсунки даного типу працюють при низькому і середньому тиску з використанням відцентрових насосів. Для монтажу статичних миючих головок в основному використовуються шплінти (шплінтове з'єднання).

Ротаційні миючі головки (обертові розпилювальні форсунки) розроблені і використовуються у декількох варіаціях.

1. Миючі головки з вільним обертанням: миюча рідина приводить в обертання розпилювальну миючу голівку за допомогою спеціально спрямованих сопел і реактивної сили використовуваної рідини. Бруд розчиняється завдяки швидко повторюваній подачі рідини і змивається з поверхні ємності. Така схема дозволяє досягти оптимального ефекту при низькому тиску. Використовується для миття малих і середніх ємностей.

2. *Миючі головки з ротаційним гальмуванням*: миюча рідина рухає розпилювальну миючу голівку за допомогою приводного турбінного колеса, що знаходиться всередині неї. Завдяки цьому число обертів навіть в умовах великого тиску залишається в оптимальному діапазоні, і миюча форсунка досягає ще більшої сили розпилення і дальності дії миючого струменя, що дозволяє досягти високого ефекту очищення.

3. *Миючі головки з керованим механізмом*: через турбінне колесо миюча рідина рухає механізм, який знаходиться всередині і змушує обертатися розпилювальну миючу голівку у двох рівнях. Протягом циклу мийки струмені рідини розбризкуються за запрограмованою, специфічною для моделі, схемою і проходять по колу по всій поверхні ємності. Для цього потрібен певний мінімальний час. Такі моделі забезпечують високий тиск струменя та ідеально пристосовані для великих ємностей і найважчих завдань з мийки.

За ефективністю процесу миття форсунки розподіляють на п'ять класів (табл. 6.2). Згідно цієї класифікації та призначення підбирають варіанти для проектування системи СІР-мийки.

Схема дії головок форсунок та представлена на рис.6.3.

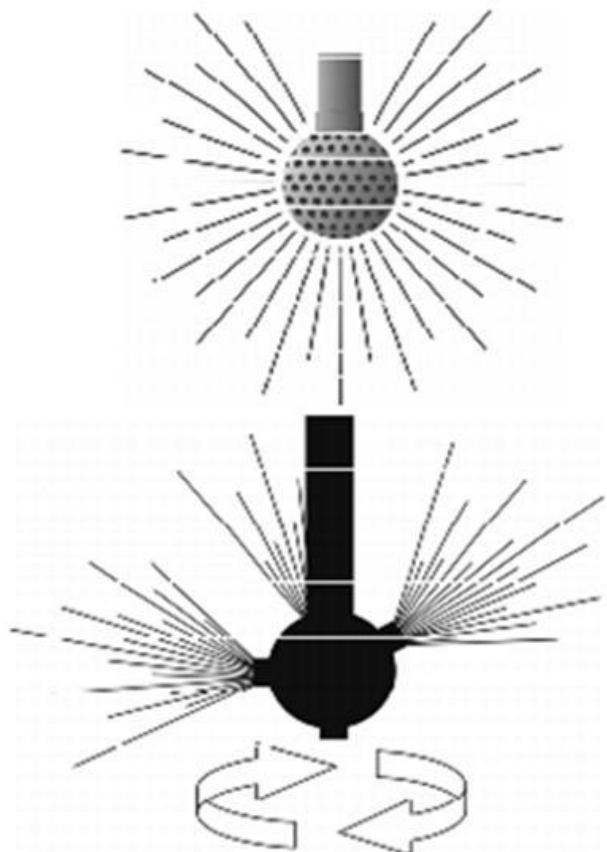
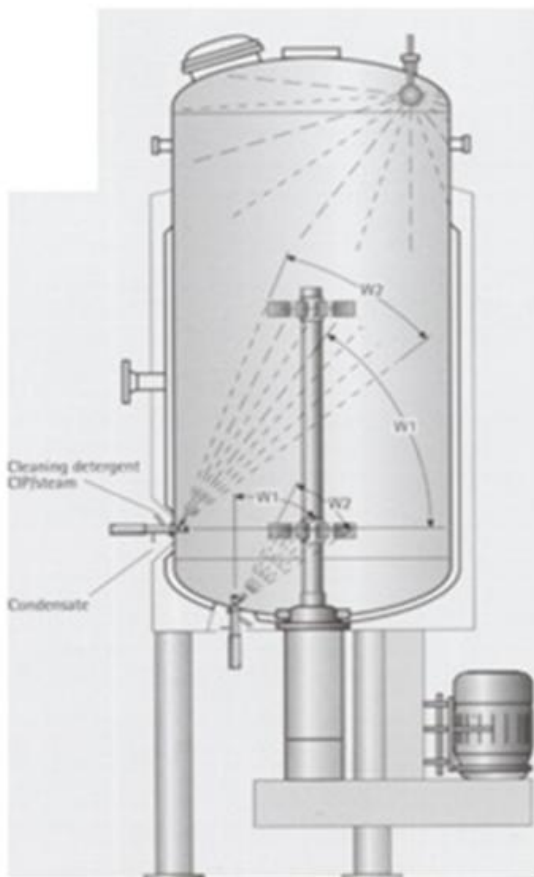
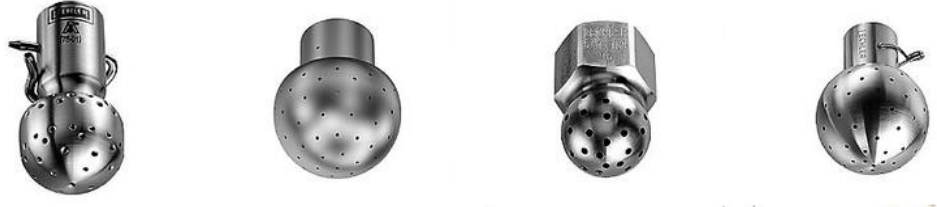


Рис.6.3. Схема дії головок форсунок

Таблиця 6.2

Характеристика миючих головок (форсунок) різних класів ефективності миття*

Клас ефективності	Зображення форсунки	Тип форсунки	Призначення
1 клас		• статичні миючі головки, спрейболи, миючі кулі. • форсунки для промивання малих ємностей, до 1 метра в діаметрі	ополіскування
2 клас		• щілинні миючі головки вільного обертання; • миючі форсунки для мийки малих ємностей і великих резервуарів, танків.	ополіскування і очищення від легкої і середньої забрудненості
3 клас		• форсункові миючі головки ротаційного типу; • форсунки для очищення середніх забруднень в ємностях до 3 м в діаметрі, для розпилення піни,	очищення від легкої і середньої забрудненості, можливість роботи у вибухонебезпечних умовах

Продовження табл. 6.2

4 клас		• ротаційні миючі головки з контрольованим обертанням, • миючі головки для очищення резервуарів, сильних забруднень і великих танків	очищення від середньої і стійкою забрудненості
5 клас		• нержавіючі миючі головки мають чотири цільноструменевих сопла, вбудовану турбіну, • форсунки для найскладніших забруднень для ємностей діаметром до 24 м	очищення від стійкого бруду і нальоту; робота з рідинами до +95°C;

*за матеріалами <https://hennlichshop.com/ua/category/moyushchie-golovki-dlya-emkostej>

Прикладом такої довершеної конструкції є миючі пересувні установки «Керхер» (Германія). Миючий пристрій (розбризкуюча головка) закріплена на опорному пристрої і опускається всередину апарату, де під тиском гарячого струменя води в 3...5 МПа швидко і ефективно очищає його внутрішню поверхню. Залежно від конструкції апарату, предмета миття, застосовуються різні опорні пристосування для миючого пристрою. Для миття апаратів малої місткості миючий пристрій кріпиться на короткій вертикальній трубі і занурюється через люк апарату, що знаходиться на кришці. Опора лягає на фланець кришки апарату, закріплюється, а глибина занурення регулюється. Крім обертання навколо власної осі розбризкуючі сопла обертаються одночасно навколо подовжньої осі миючої головки апарату, завдяки чому струмені миючого розчину досягають всі точки внутрішньої поверхні апарату.

На всмоктувальному боці насоса температура миючої рідини складає 50...60 °С, на нагнітальному боці після нагріву в теплообміннику 90...95 °С.

Бак з миючим розчином і регулюючим вентилем для подачі розчину, насос, що створює тиск струменя, необхідний для миття і очищення бака з фільтром, куди стікає миюча рідина із зливного отвору апарату, змонтовані на пересувному візку. Рідина для миття може бути використана багато разів завдяки циркуляційному контуру і фільтрації через вбудований фільтр. Внутрішня миюча головка може працювати з двома або чотирма соплами. При двох соплах струмінь довший і сильніший, що необхідне при митті великих або сильно забруднених апаратів.

Миюча установка фірми «Керхер» дозволяє отримувати всі види струменів: паровий, гарячий, теплий і холодний з автоматичним дозуванням хімікатів. Частота обертання миючого пристрою обирається залежно від ступеня забруднення апарату і його радіусу. Чим більше радіус і ступінь забруднення, тим менше швидкість обертання.

6.2. Основні способи забезпечення асептичних умов мікробіологічних процесів

Біотехнологічні процеси, як правило, проводять в асептичних умовах. І у процесі проектування біотехнологічного виробництва кожен з матеріальних потоків у біотехнологічних процесах – потенційне джерело мікробів-контамінантів. Способи базуються на виключенні можливості попадання в культури контамінантів засновані або на затримці, або на знищенні мікроорганізмів (рис. 6.4).

До способів, заснованих на першому принципі, можна віднести *стерилізуючу фільтрацію повітря і рідини* (розчинів поживних речовин), а також герметизацію технологічного обладнання та комунікацій.

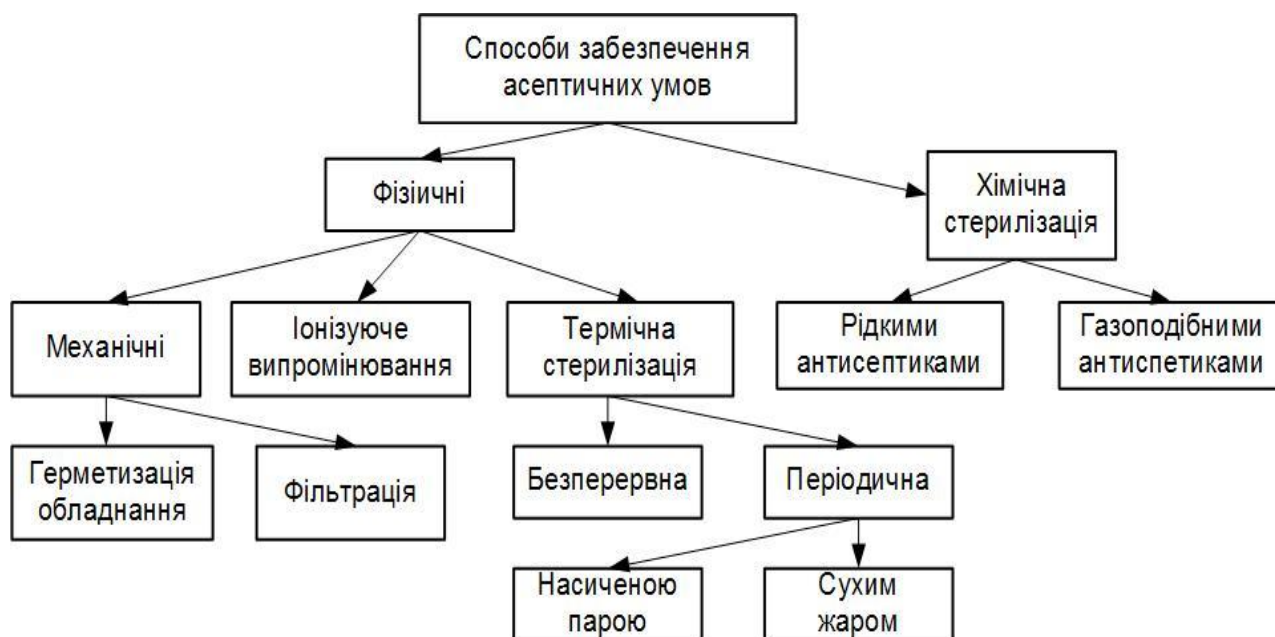


Рис.6.4. Способи забезпечення асептики

До методів, заснованих на знищенні мікроорганізмів, під час якого вони руйнуються або повністю видаляються називають *стерилізацією*. Стерилізація – сукупність фізичних, хімічних, механічних способів позбавлення від вегетативних та спорових форм мікроорганізмів. Оскільки досягти абсолютної стерильності в умовах діючого виробництва практично неможливо, тому термін *стерильність* вважається некоректним. Для характеристики цього явища використовують термін – *асептичність* – стан виробництва, коли відсутня контамінуюча мікрофлора.

До основних методів стерилізації відносять *фізичні, хімічні та біологічні* методи.

Фізичні методи стерилізації представлені:

- тепловою (термічною) стерилізацією: парою під тиском; текучою парою; тиндалізація; повітряна (сухий жар);
- радіаційна стерилізація;
- ультразвукова стерилізація;
- стерилізація струмами високої та надвисокої частоти;
- стерилізація ультрафіолетовим випромінюванням;
- стерилізація ІЧ- та лазерним випромінюванням.

В основі *хімічних методів стерилізації* – висока специфічна (вибіркова) чутливість мікроорганізмів до різних хімічних речовин, що обумовлено фізико-хімічною структурою їх клітинної оболонки та протоплазми. Хімічна стерилізація поділяється на *стерилізацію розчинами* (речовинами) та *стерилізацію газами*. Хімічну стерилізацію застосовують зазвичай для тих елементів устаткування, які не витримують нагрівання до температури 110...130°C, необхідної для теплової стерилізації (деякі датчики та інші

засоби КВП і А, фільтри для повітря та рідин). Як агенти хімічної стерилізації використовують формальдегід, оксид етилену, β -пропіонолактон, перекис водню та ін.

Біологічні методи стерилізації полягають у використанні мікроорганізмів-антагоністів та продуктів їхньої життєдіяльності (антибіотиків, феромонів, ювеноїдів, біологічно активних речовин). При стерилізації поживного середовища в біотехнологічних виробництвах *біологічний метод практично не використовується* у зв'язку із неможливістю його технічної реалізації.

Фізичні методи стерилізації. У біотехнології найпоширенішою є *термічна стерилізація*. Вона застосовується для стерилізації обладнання і комунікацій, поживних і технологічних розчинів, для створення теплових бар'єрів, що перешкоджають проникненню мікроорганізмів у апарат під час відбору проб, внесення посівного матеріалу і добавок. Як стерилізуючий агент при термічній стерилізації зазвичай використовують насичену водяну пару різного тиску і температури. Недоліками способу термічної стерилізації є: неможливість стерилізації розчинів, що містять термолабільні речовини, небезпека роботи з парою під тиском.

Радіаційна стерилізація заснована на згубному впливі іонізуючого випромінювання на клітини мікроорганізмів. Вона не знайшла широкого застосування у мікробіологічній промисловості для стерилізації рідин, але широко використовується для стерилізації продуктів мікробного біосинтезу, особливо субстанцій для фармацевтичного виробництва.

6.2.1. Стерилізуюча фільтрація.

Цей метод забезпечує повне або часткове затримання мікроорганізмів. Він широко застосовується для очищення газів (аераційного повітря) і рідин (головним чином, на кінцевих стадіях виробництва фармацевтичних препаратів).

Розглянемо механізми затримання часток при фільтрації. Перший з них – пряме перехоплення, тобто затримання часток, розмір яких більше максимального розміру пор фільтра. Очевидно, ефективність фільтра із затримання таких часток складе 100%. Однак прямим перехопленням затримується і значна частина часток меншого розміру в результаті застрягання їх у дрібніших порах, оскільки у більшості фільтрувальних матеріалів є пори різних розмірів, а також у результаті одночасного влучення двох дрібних часток в один отвір і т.п. Слід зазначити, що для видалення з газів настільки дрібних часток як бактерії (мінімальний розмір 0,3...0,4 мкм), фільтри, що працюють на принципі простого перехоплення, використовуються порівняно нечасто, оскільки мають дуже високий гідравлічний опір через малий розмір пор. Такі фільтри використовують, як правило, на кінцевій стадії очищення аераційного повітря безпосередньо перед подачею його у ферментер (індивідуальні фільтри). У процесі стерилізуючої фільтрації рідин пряме перехоплення є основним механізмом

затримки часток.

Другий механізм – затримання при зіткненні часток з волокнами фільтра. Поряд із частками, розмір яких більше розміру пор, фільтри для очищення газів здатні затримувати частки значно меншого розміру. Це обумовлено тим, що при зіткненні твердої частки з волокном фільтруючого матеріалу вона «прилипає» до неї і утримується Ван-дер-Ваальсовими силами. Оскільки ці сили швидко зменшуються зі збільшенням радіуса частки, вони затримують лише дрібні частки, розмір яких не перевищує 2...10 мкм.

Зіткнення твердих часток з волокнами може бути зумовлено двома причинами. При обминанні волокна потоком газу тверді частки порівняно великого розміру (більше 0,5 мкм) продовжують рухатися за інерцією прямолінійно і внаслідок значної різниці в густині частки та оточуючого її газу онатрапляють на волокно. Дрібніші частки захоплюються повітряним потоком і набагато рідше натрапляють на волокна. А для найдрібніших часток твердої фази (менше 0,1... 0,2 мкм) істотну роль відіграє броунівський рух, завдяки якому ймовірність зіткнення частки з волокном збільшується.

Таким чином, найважче вловлюються частки розміром від 0,2 до 0,5 мкм. Для підвищення ефективності фільтра, що працює за принципом затримання часток при зіткненнях, збільшують товщину шару фільтруючого матеріалу. Наприклад, якщо ступінь уловлювання фільтром часток певного розміру становить 90%, то збільшення товщини шару вдвічі приведе до підвищення цієї цифри до 99% і т.д. Так можна домогтися майже 100% вловлювання твердих часток певного розміру, використовуючи фільтр із порами набагато більшого розміру, але достатньої товщини. Нагадаємо ще раз, що це стосується тільки процесу фільтруючої стерилізації газів; у процесі фільтрації рідин основний механізм уловлювання – пряме перехоплення. Будь-який фільтр можна охарактеризувати максимальним розміром пор (уловлювання часток більшого розміру в ньому абсолютне), а також залежністю утримуючої здатності фільтра від розміру часток розміром менше діаметра пор при певному режимі фільтрації (швидкості руху газу через фільтр).

Фільтри для тонкої та стерилізуючої фільтрації підрозділяють на *поверхневі* та *глибинні*. До *поверхневих* відносять плетені сітчасті фільтри, а також мембрани, що мають прямі наскрізні отвори. У фільтрах цього типу частки втримуються в основному на поверхні фільтра, що приводить до швидкого забивання пор і припинення фільтрації. Такі фільтри можна використовувати для обробки попередньо очищених від більшої частини забруднень рідин і газів.

Фільтри глибинного типу, в яких затримання часток відбувається по всьому об'єму матеріалу, мають хаотично розташовані пори. Їх, у свою чергу, можна розділити на фільтри, пори яких не збільшуються при зростанні тиску, (мембранні фільтри) і в яких пори збільшуються при збільшенні тиску

(наприклад, фільтри з набиванням з бавовняних ниток). Фільтри зі збільшенням пор мають низькі експлуатаційні характеристики і погано утримують частки в умовах пульсації тиску.

Особливість процесу стерилізуючої фільтрації у біотехнологічних виробництвах полягає в тому, що тут потрібне повне затримання бактерій, що представляють собою дуже дрібні частки (найдрібніші бактерії мають розмір 0,3 мкм). Це обумовлює необхідність використання багатостадійних систем очищення із застосуванням різних типів фільтрів на різних стадіях.

При використанні для стерилізації рідин методу фільтрації важливе значення має впевненість у тому, що фільтр, який застосовується, забезпечує повне затримання часток необхідного розміру. Для перевірки цього фільтр або фільтруючий матеріал піддають випробуванням. Широко застосовують випробування на *«крапку появи пухирця»* для перевірки цілісності фільтра і визначення максимального розміру пор, тобто абсолютної номінальної характеристики фільтра. Фільтруючий елемент змочують водою або іншою рідиною з відомою величиною коефіцієнта поверхневого натягу і подають у нього повітря, поступово збільшуючи тиск. Значення тиску повітря, при якому з'являється перший струмінь пухирців повітря, що пройшли через фільтр, називається *«крапкою пухирця»*. Ця величина обернено пропорційна діаметру пори. Випробування на *«крапку пухирця»* дозволяє визначити розмір найбільшої пори і її місцезнаходження (у матеріалі фільтра, у зоні ущільнення фільтра й т.п.).

Крім визначення *«крапки пухирця»* визначають стерильність фільтрату. Для перевірки повноти затримки фільтром мікроорганізмів або інших часток використовують установку, що включає два послідовно з'єднаних фільтри – контрольований і аналітичний. Після фільтрації протягом певного часу мембрану аналітичного фільтра досліджують за допомогою мікроскопа або шляхом висіву змиву з його для виявлення мікроорганізмів. За умови надійної роботи контрольованого фільтра аналітична мембрана повинна залишатися стерильною.

6.2.2. Термічна стерилізація

Термічна стерилізація обладнання, комунікацій, поживних та інших технологічних рідин заснована на тому, що при високих температурах гинуть як вегетативні клітини, так і спори мікроорганізмів. Ступінь впливу підвищеної температури залежить від виду мікроорганізмів, їхньої концентрації, фізичного стану та інших факторів. Найбільш стійкі до високих температур термофільні мікроорганізми, які здатні не тільки виживати, але й розмножуватися при температурі, згубній для більшості мікроорганізмів. Термофіли (точніше, їхні спори) варто розглядати як еталон при розрахунку режимів термічної стерилізації, що гарантують знищення сторонньої мікрофлори.

Практична реалізація термічної стерилізації залежить насамперед від об'єкта стерилізації. Так, порожні апарати і комунікації найчастіше

стерилізують насиченою водяною парою, поживні та інші рідини – шляхом нагрівання під тиском, у ряді випадків обладнання стерилізують гарячим повітрям (сухий жар).

Найбільший бактерицидний ефект має насичена водяна пара під тиском. Під час стерилізації паром час загибелі спор найбільш стійких термофілів при 121°C – 25 хв, при 132°C – 4 хв, тоді як при використанні сухого жару час загибелі при 160 °C – 60 хв. і при 180 °C – 10 хв. Інактивація таких спор у киплячій воді при 100°C відбувається надзвичайно повільно, вони гинуть лише через 8...9 год.

Загибель мікроорганізмів під дією високих температур відбувається у результаті коагуляції білків. Важливе значення при цьому має вміст води в клітині: чим більше води, тим нижча температура коагуляції білків. Саме цим пояснюється високий ефект стерилізації насиченою водяною парою. Така пара не тільки нагріває, але й додатково зволожує клітини, що підвищує їх термочутливість. Сухе гаряче повітря використовують для стерилізації матеріалів і предметів, які можуть бути зіпсовані при обробці паром (безводні жири, оливи, порошки, предмети, що піддаються корозії, і т.п.).

Загибель мікроорганізмів під дією високої температури відбувається не миттєво, концентрація клітин або спор поступово знижується доти, поки не загине остання спора. На рис. 6.5. наведені криві зміни концентрації термостійких спор *Bacillus stearothermophilus* за різних значень температури. Як видно, залежність логарифму концентрації спор від часу носить лінійний характер, а кінетика загибелі спор підкоряється експоненційному закону. Детальніший розгляд цього процесу дозволив встановити, що у початковий період процесу (перші 1...2 хвилини) залежність суттєво відхиляється від прямої лінії (рис.6.6.). Цей факт потрібно враховувати при розрахунку режимів стерилізації.

Для характеристики ефективності процесів термічної стерилізації застосовують наступні показники:

τ_c – час, необхідний для знищення всіх мікроорганізмів даної популяції (смертельний час), хв;

τ_{10} – час, протягом якого концентрація мікроорганізмів знижується в 10 разів, хв.;

k – питома швидкість загибелі мікроорганізмів, хв⁻¹;

n – фактор інактивації, виражений через десятковий логарифм кількості числа спор до та після стерилізації;

∇ – критерій стерилізації, виражений як натуральний логарифм того ж відношення $\nabla = \ln n$.

У табл. 6.3 наведені значення τ_{10} для суспензій спор деяких аеробних бактерій при різних температурах стерилізації. Як видно, найбільш стійкі спори *B. stearothermophilus*.

Залежність питомої швидкості загибелі клітин k від температури можна виразити рівнянням Арреніуса:

$$K = Ae^{-E/RT} \quad (6.1)$$

де A –стеричний фактор, хв^{-1} ; E –енергія активації, Дж/моль ; R – універсальна газова стала; T – температура, К .

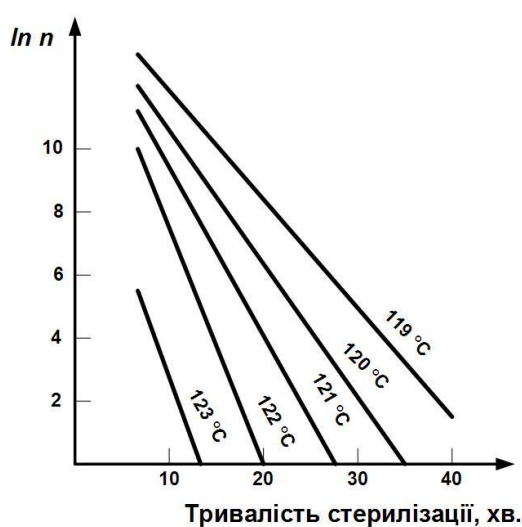


Рис.6.5. Залежність зміни концентрації спор *Bacillus stearothermophilus* при різних температурах, початкова концентрація спор, 10^6 в 1 мл

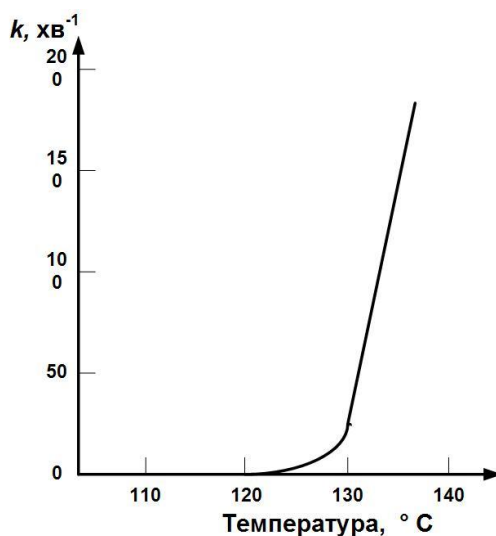


Рис.6.6. Залежність швидкості загибелі спор *Bacillus stearothermophilus* від температури

Слід зазначити, що на кінетичні характеристики процесу загибелі мікроорганізмів, зокрема на τ_{10} , крім температури, істотно впливає навколишнє середовище, у якій суспендовані клітини або спори.

Таблиця 6.3

Значення τ_{10} для суспензій спор деяких аеробних бактерій, с

Вид бактерій	Температура, °C					
	100	120	130	140	150	160
<i>Bacillus cereus</i>	12,1	4,2	2,6	1,3	1,0	0,7
<i>Bacillus subtilis</i>	27,8	4,5	3,1	2,1	1,1	0,5
<i>Bacillus stearothermophilus</i>	2857,0	38,6	8,8	3,9	2,4	1,4

Для математичного опису процесу загибелі мікроорганізмів у процесі стерилізації використовують рівняння:

$$\frac{dN}{d\tau} = -kN \quad (6.2)$$

де N — кількість життєздатних клітин у момент часу τ ; з припущеннями, що величина τ_{10} не залежить від концентрації спор, а питома швидкість загибелі у рівнянні (6.2) відповідає найбільш стійкому виду спор і температурі у найменш прогріваємому місці об'єкта стерилізації. Рішення рівняння (6.2) дає наступну залежність кількості життєздатних спор від часу:

$$N = N_0 \cdot e^{-k\tau} \quad (6.3)$$

Користуючись цією залежністю, неважко виразити характеристики процесу інактивації мікроорганізмів через k :

$$\tau_{10} = 2,3 / k$$

$$n = k\tau / 2,3$$

Значення фактора інактивації n , що забезпечує повне знищення всіх мікроорганізмів, можна визначити з умови

$$n = \lg(N_0/b), \quad (6.4.)$$

де b – допустима ймовірність нестерильності (при збереженні в популяції хоча б однієї життєздатної спори).

Як видно з (6.4), значення n , а отже, і режим стерилізації істотно залежать від вихідної кількості мікроорганізмів. Останнє визначається обнасіненістю об'єкта стерилізації (наприклад, поживного середовища), а також його об'ємом. Так, для колби, що містить 100 мл поживного середовища засіяного спорами в кількості 10^6 на 1 мл, при $b = 0,01$ фактор інактивації $n = 10$, що відповідає значенню $\nabla = 23$. При стерилізації того ж середовища в апараті корисною місткістю 100 м^3 $n = 16$ ($\nabla = 36,8$). Отже, для забезпечення рівної ефективності процесу стерилізації (обумовленою ймовірністю нестерильності b) середовище в апараті потрібно витримувати при тій же температурі в 1,6 рази довше, ніж у колбі, або підвищувати температуру при тій же тривалості витримування. Зрозуміло, ця оцінка є наближеною, оскільки на практиці необхідно враховувати, що нагрівання середовища до обраної температури стерилізації і наступне охолодження відбуваються не миттєво, а за деякий кінцевий проміжок часу, величина якого також впливає на сумарну ефективність режиму стерилізації.

Розрахунок процесу стерилізації при змінній температурі можна також провести з використанням рівняння (6.3), приймаючи, що k у цьому випадку не є константою, а залежить від часу. Тоді

$$\nabla = \ln\left(\frac{N}{N_0}\right) = \int_0^\tau K(\theta) d\theta \quad (6.5)$$

де θ - змінна інтегрування.

Графік зміни температури у часі об'єкту, що стерилізується, зазвичай виглядає наступним чином (рис.6.7). Перша ділянка графіка відповідає нагріву до заданої температури, друга – витримуванню при цій температурі, третя – охолодженню. При розрахунку стерилізуючого ефекту розглядається лише та частина графіка, як відповідає температурі вище 100°C , так як при нижчій температурі питома швидкість загибелі термостійких спор дуже мала. Виходячи з рівняння (6.5), значення критерію стерилізації можна визначити як сума величин, що відповідає кожній ділянці графіка:

$$\nabla = \nabla_{\text{н}} + \nabla_{\text{в}} + \nabla_{\text{ох}}, \quad (6.6)$$

де $\nabla_{\text{н}}$; $\nabla_{\text{в}}$; $\nabla_{\text{н}}$ – критерії стерилізації на ділянках нагріву, витримки та охолодження.

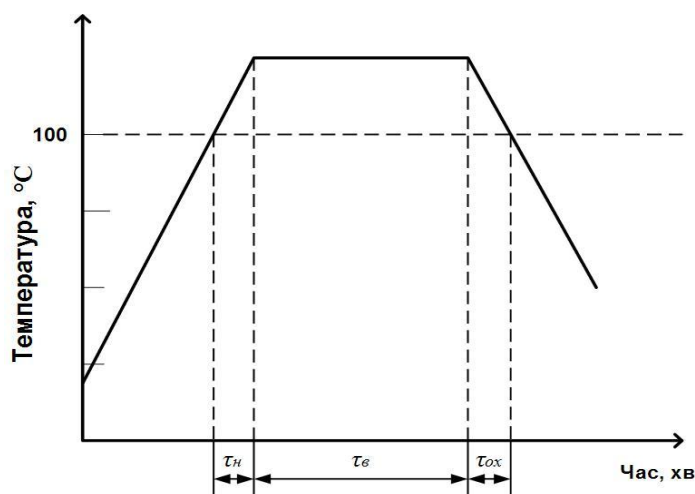


Рис. 6.7. Залежність зміни температури об'єкта при його стерилізації

Розрахунок критерію стерилізації $\nabla_{\text{в}}$ не є складним, він описаний вище. Для розрахунку $\nabla_{\text{н}}$ та $\nabla_{\text{н}}$ використовують рівняння (6.7)

$$\nabla_{\text{н(ох)}} = \nabla_{\text{Т}} (\tau_{\text{н(ох)}} \times \alpha / (t_{\text{ст}} - 100)) \quad (6.7)$$

де $\nabla_{\text{Т}}$ – табличне значення критерію (див.табл. 6.3.), що досягається за умови, коли об'єкт нагрівається (охолоджується) зі швидкістю 1 градус за 1 хв.;

$\tau_{\text{н(ох)}}$ – дійсне значення тривалості нагріву від 100 °C до $t_{\text{ст}}$ (або охолодження від $t_{\text{ст}}$ до 100 °C);

$t_{\text{ст}}$ – температура стерилізації, °C;

α – коефіцієнт, $\alpha = 1$ град/хв.

Значення $\nabla_{\text{Т}}$, наведені нижче, розраховані з використанням рівняння (6.5). Значення $\nabla_{\text{Т}}$ отримані при нагріванні (охолодженні) спор *B. stearothermophilus* штаму 1518 до заданої температури зі швидкістю 1 град/хв (таблиця 6.4.)

Таблиця 6.4

Значення критерію стерилізації для суспензії спор *B. stearothermophilus*

Температура, °C	120	122	124	126	128	130	132
$\nabla_{\text{Т}}$	6,8	10,6	16,8	26,2	41,2	65,0	98,3

Розглянемо приклад. При нагріванні поживного середовища від 100 до 130 °C протягом 40 хв $\nabla_{\text{н}} = 65,0 - 40/(130 - 100) = 86,7$. Визначимо сумарне значення критерію стерилізації для наступного режиму: тривалість нагрівання від 100 до 123°C 10 хв, витримання при 123°C 15 хв, охолодження до 100°C 20 хв. Визначаємо значення $\nabla_{\text{Т}} = 13,35$ (середнє між 10,6 і 16,8), а за рис. 6.4 $k = 3,07$, що відповідає температурі 123°C. Тоді

величини критерію стерилізації для стадії нагрівання $\nabla_{\text{н}} = 13,35 \times 10 / 23 = 5,8$, для стадії охолодження $\nabla_{\text{ох}} = 13,35 \times 20 / 23 = 11,6$ і для стадії витримування $\nabla_{\text{в}} = 3,07 \times 15 = 46,1$. Сумарне значення при такому режимі $\nabla = 5,8 + 11,6 + 46,1 = 63,5$.

Варто врахувати, що на практиці при визначенні фактично досяжної величини критерію стерилізації необхідно використовувати не вимірне значення температури об'єкта (показання термометра), а розрахункове. Воно менше виміряного на величину похибки вимірювальної системи. Так, якщо прилад показує температуру 128°C , а його похибка $\pm 2^{\circ}\text{C}$, то у розрахунках варто використовувати значення 126°C . Це важливо враховувати, оскільки зміна температури на $1 \dots 2^{\circ}\text{C}$ позначається на величині ∇ досить істотно, а для гарантованого забезпечення стерильності потрібно, щоб нижня оцінка значення ∇ була не менше заданої величини.

Як було показано вище, гарантоване (з імовірністю 99%) знищення термостійких спор при вихідній обнасіненості 10^6 на 1 мл і об'ємі рідини, що підлягає стерилізації, 100 м^3 досягається при $\nabla = 36,8$. Підвищення ступеня обнасіненості середовища до 10^7 і жорсткість вимог до надійності стерилізації (імовірність нестерильності 0,1%) приводить до зростання ∇ до 41,4. Таким чином, для практичних цілей можна вважати у всіх випадках достатнім режим стерилізації, що забезпечує досягнення критерію стерилізації у межах 40...45 у найменш прогрітому місці об'єкта.

Проте у промисловості для забезпечення вищої надійності використовуються режими, де $\nabla 80\text{-}100$ і вище.

Необхідно відзначити також те, що режим стерилізації впливає не тільки на кінетику загибелі сторонньої мікрофлори. Відомо, що у процесі термічної стерилізації розчинів цукрів, амінокислот й інших компонентів поживного середовища може відбуватися їх часткове розкладання, що нерідко супроводжується утворенням небажаних продуктів. Тому при виборі режимів стерилізації поживних середовищ, піногасників й інших продуктів варто вибирати не максимально жорсткий режим, а більш м'який, що забезпечує необхідну ефективність стерилізації.

Так константа швидкості розкладання K_c глюкози і сахарози залежить від температури та рН середовища при стерилізації. Обидва фактори істотно впливають на кінетику розкладання цукру, причому оптимальний рН для глюкози становить $-3,5$, а для сахарози $-8,0$. Так, при температурі 120°C і рН 3,5 значення $-\lg K_c = 4,8$, звідки константа швидкості розкладання $K_c = 1,59 \cdot 10^{-5} \text{ хв}^{-1}$. З рівняння (6.8), що описує зміну концентрації цукру S у порівнянні з початковою S_0 при стерилізації,

$$S = S_0 e^{-K_c \tau}, \quad (6.8)$$

одержимо, що при $\tau = 60 \text{ хв}$ $S/S_0 = 0,999$, тобто втрати глюкози складуть 0,1%. При рН 7,0 і тій же температурі $-\lg K_c = 2,0$, а $K_c = 10^{-2} \text{ хв}^{-1}$. Витримування розчину глюкози при цих умовах протягом 60 хв. приведе до розкладання майже половини цукру (значення $S/S_0 = 0,55$). Крім втрат дороговартісної сировини, відбувається накопичення у середовищі великої

кількості продуктів розпаду цукрів, частина яких інгібує розвиток мікроорганізмів. Наведені дані показують важливість правильного вибору не тільки температури й тривалості стерилізації, але й інших умов, зокрема рН розчину.

6.2.3. Стерилізація обладнання та комунікацій

Для забезпечення асептичних умов необхідно здійснювати стерилізацію всіх апаратів, комунікацій, а також елементів запірно-регулюючих арматур і засобів КВПіА, що контактують із культурою мікроорганізмів або зі стерильними матеріальними потоками. Промисловий ферментер являє собою складну технічну систему, оснащену безліччю трубопроводів, штуцерів, датчиків, тому при складанні монтажно́ї схеми необхідно передбачити можливість термічної стерилізації апарата та всіх штуцерів і елементів його «обв'язки».

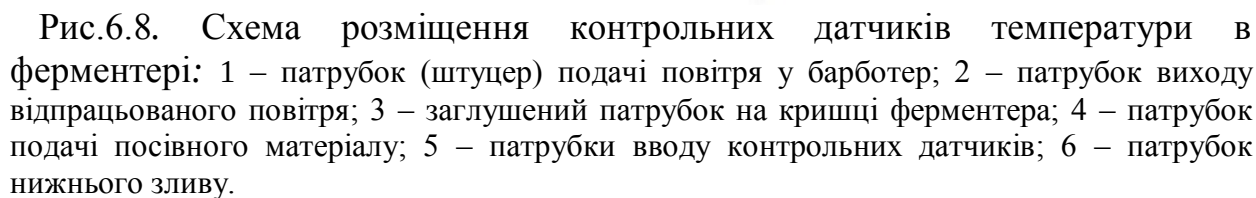
У таблиці 6.5 наведені значення температури в різних місцях ферментера об'ємом 100 л при його стерилізації в різних режимах. Місця установки контрольних датчиків показані на рис. 6.8.

Таблиця 6.5

Температура в контрольних місцях при стерилізації ферментера об'ємом 100 л

Температура стерилізації, °С	Датчик					
	1	2	3	4	5	6
109	56	90	103	100	109	86
124	71	105	113	116	124	102
129	81	122	122	121	129	116

Як видно з таблиці 6.5, у ферментері є зони, де температура нижче заданої зазвичай на 10...15°C, а в ряді випадків на 50°C. Наявність зон, які важко прогріваються, різко підвищує ймовірність порушення асептичних умов навіть за найжорсткішого режимі стерилізації. Для забезпечення надійної стерилізації обладнання необхідно здійснювати спеціальні заходи щодо конструкції усіх вузлів апарата і його обв'язки. Схема типової монтажно́ї схеми (обв'язки) ферментера, наведена на рис. 6.9.



Умовне позначення		Найменування середовища в трубопроводі
Літерне	Графічне	
T1.0		Вода технічна холодна
T1.1		Вода оборотна
T1.2		Вода питна
T 2.0		Пара P = 0,2 МПа
T3.0		Стиснене очищене повітря
T3.1		Повітря в атмосферу
T 12		Кислота
T 13		Луг
T 14		Піногасник
T 1.0		Каналізація
T 1.8		Конденсат
T 40		Розчин каустичної соди
T 50		Поживне середовище
T 51		Посівний матеріал

Рис.6.9. Схема комунікацій інокулятора з елементами парового захисту

Відкриті трубні закінчення. Так називаються ділянки труб, з'єднані одним кінцем з ферментером, а іншим сполучені з атмосферою. До них належать вузли для введення посівного матеріалу, відводу відпрацьованого повітря, відбору проб (див. рис. 6.9.). На трубопроводі встановлений вентиль, що відокремлює його відкритий кінець від апарату. Як правило, відкрита частина труби після вентиля має ухил. На відстані 50...150 мм від фланця вентиля у трубі роблять врізання і підводять пару, що під час стерилізації безупинно виходить через відкрите трубне закінчення. У відкритому трубному закінченні неможливо створити підвищений тиск, отже, температуру стерилізації не можна підняти вище 100°C, а при діаметрі трубопроводу менше 100 мм температура стерилізації ще нижча. Ці обставини приводять до необхідності різко збільшувати тривалість обробки для забезпечення асептичних умов. Таким чином, відкриті трубні закінчення – вузли ферментера, які найбільше піддаються стерилізації.

Типовий термічний затвор. На всіх трубопроводах, що з'єднують ферментер зі стерильними колекторами, роблять термічний затвор. Для цього на трубопроводі встановлюють два вентиля, між якими підводять пару і відводять конденсат, що утворюється. Пару підводять на відстані 50...150 мм від фланця верхнього вентиля (це може бути як ближній, так і віддалений від апарату вентиль), конденсат видаляють із нижнього місця затвору. Ефективність стерилізації у термічному затворі залежить від його діаметру і довжини тупикових ділянок (від вентиля до місця введення пари). Показано, що при діаметрі трубопроводу менше 40 мм надійна стерилізація тупикових ділянок не гарантується. У цьому випадку для забезпечення стерильності необхідно подавати пару безпосередньо в корпус верхнього вентиля, а видаляти пароконденсатну суміш з-під ущільнення «сідло-клапан» нижнього вентиля. Для проведення асептичних процесів необхідно використовувати спеціалізовану запірно-регулюючу арматуру.

Як приклад можна навести використання такої арматури фірми Saunders – тип AFP. Це мембранні вентиля, що піддаються стерилізації. Вони широко використовуються для обв'язки як лабораторних, так і пілотних та промислових ферментерів. Конструкції їх наведено на рис. 6.10., 6.11., 6.12.

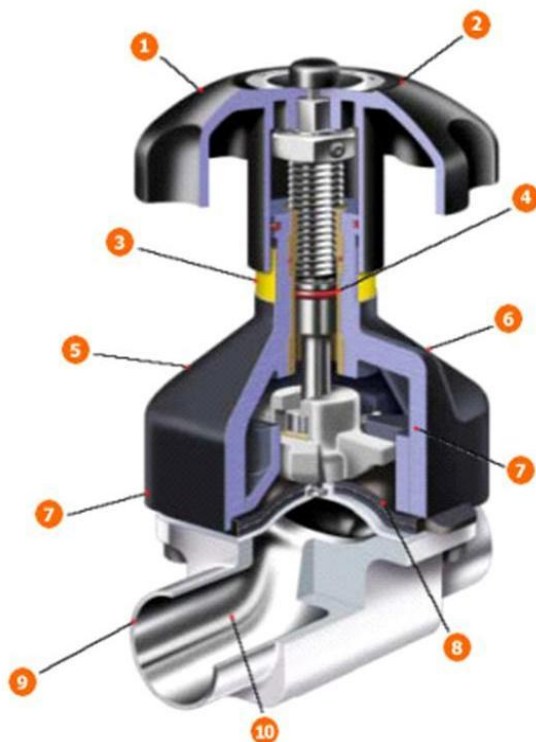


Рис.6.10. Асептичний мембранний вентиль-клапан *Saunders* (тип ADV): 1,2 – поворотна кришка; 3 – клапанний індикатор; 4 – ущільнююче кільце; 5 – поверхня кришки; 6 – кришка; 7 – оболонка та внутрішні компоненти кришки; 8 – діафрагма *Saunders*; 9 – фланець; 10 – внутрішня поверхня асептичного клапану

Форма поворотної кришки ергономічна та проста; жовтий клапанний індикатор дозволяє легко контролювати положення клапану; ущільнююче кільце забезпечує герметичність та перешкоджає впливу оточуючого середовища; поверхня кришки захищає клапан від забруднення; кришка з матеріалу PES придатна для використання для розчинів з миючими засобами, у т.ч. гідроксидом натрію, гіпохлоридом, спиртами, розбавленими кислотами та витримує автоклавування при 160°C; оболонка кришки та внутрішні компоненти повністю відповідають вимогам GMP; діафрагма *Saunders* повністю відповідає вимогам GMP, виготовлена з полімерної сировини та проходить контроль гумових сумішей; фланець проходить попередню обробку (ковку), після чого готовий до зварювання із з'єднувальним трубопроводом. Усі поверхні асептичного клапану забезпечують мінімальну турбулентність потоку.



Рис.6.11. Тип корпусу асептичного мембранного крану-клапану *Saunders*

Клапан зазвичай встановлюють вертикально, а з'єднувану частину трубопроводу під кутом 90° . Корпус клапану АРФ виконано з кованої нержавіючої сталі марки 316L/1.4435.



Рис.6.12. Типи з'єднань корпусу асептичного мембранного крану-клапану *Saunders* з трубопроводами: а) зварне; б) за допомогою хомута Clamp; в) різьбове за допомогою накидної гайки.

Колекторні трубопроводи. За умови наявності в цеху декількох ферментерів, що працюють в асептичних умовах, використовують колекторні трубопроводи для поживного середовища, посівного матеріалу, культуральної рідини, що обслуговують усі ферментери або частину їх. На рис. 6.13 зображені схеми колекторного стерильного трубопроводу.

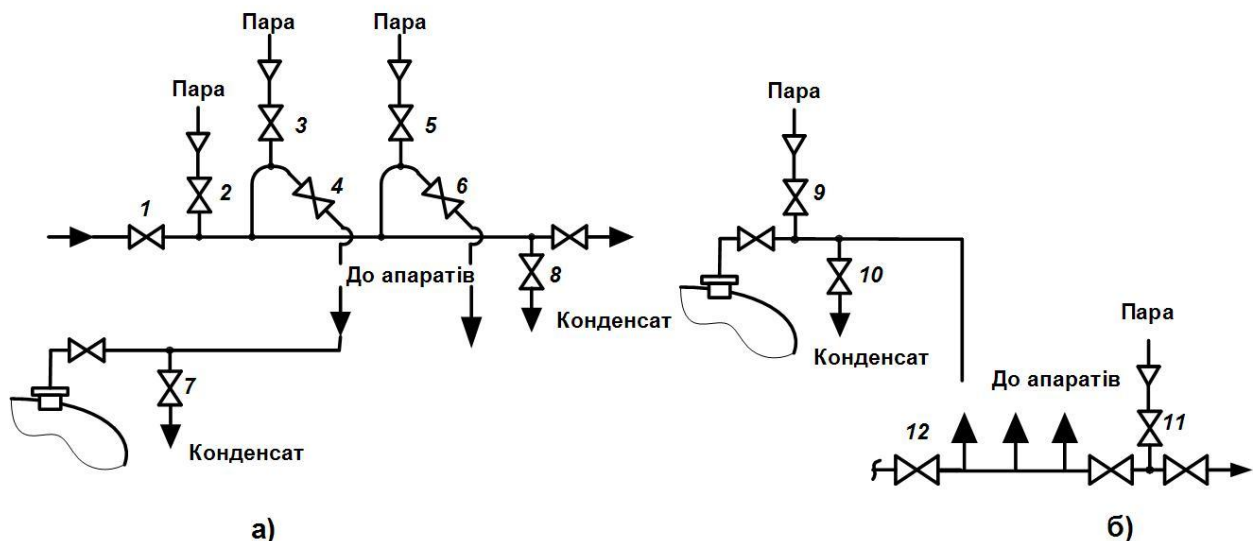


Рис. 6.13. Схеми колекторного трубопроводу, який працює в асептичних умовах: а – з верхнім розведенням комунікацій; б – з нижнім розведенням комунікацій.

У першому варіанті (рис.6.13, а) стерильна рідина надходить у колектор через вентиль 1 і потім подається в апарати відводами типу «лебедина шия». Стерилізацію колектора здійснюють, подаючи пару через вентилі 2,3,5 і відводячи конденсат через вентилі 7,8. Після подачі кожної порції рідини можна простерилізувати весь колектор при закритих вентилях 4, 6. Цим забезпечується тривала робота технологічного устаткування в асептичних умовах. За умови використання другого варіанту (рис. 6.13, б) відпрацьований конденсат видаляється через вентилі 10, 12. Термічний затвор (вентилі 9, 10, 11, 12) у місці підключення стерильного колектора до конденсатопроводу забезпечує надійний захист колектора від мікрофлори, що затримується в конденсатопроводі.

Лінії подачі стерильного повітря. Індивідуальні фільтри для фільтрації повітря, які не витримують термічної стерилізації (перхлорвінілове волокно з термостійкістю 60...70°C марки ФП, ФП-15-1,5), стерилізують хімічним методом. Для цього в середині стерильної ділянки трубопроводу встановлюють проміжний вентиль. Сам фільтр і ділянку від нього до вентиля стерилізують за допомогою хімічних газів (оксид етилену, формалін, β -пропіолактон, перекис водню), в іншому випадку індивідуальні фільтри типу ФТО (фторопласт), ФПАН-10-3,0 (поліакрилонітрильне волокно з термостійкістю до 180°C), ФПАР-15-1,5а (поліакрилонітрильне волокно з термостійкістю до 250°C), СТВ (скловолокно) або базальтові волокна стерилізують гострою парою разом з апаратом.

Ефективність стерилізації цих ліній залежить від їхнього діаметра, розташування місць підведення пари та відводу конденсату іт.д.

Тупикові порожнини. Утворюються в стерильних трубопроводах під час закриття тих або інших вентилів, а також у ферментерах. Наприклад, тупикова порожнина утворюється між стінками штуцера і датчика при введенні у ферментер термометра опору або іншого датчика через штуцер або при підключенні манометра з розділовою мембраною до типового штуцера. У тупикових порожнинах неможливо забезпечити циркуляцію пари, і відповідно, досить високу температуру.

Тупикові порожнини є «слабкими місцями» апарата з огляду якості стерилізації. Чим більше їхня довжина та менше діаметр, тим складніше забезпечити стерильність.

Режими стерилізації. Застосовують найрізноманітніші режими стерилізації устаткування та комунікацій, у яких критерій стерилізації $\nabla = 4,89...133,2$. Як відзначалося вище, надійна стерилізація у великих апаратах забезпечується при $\nabla = 40...45$, але ці (або хоча б близькі до них) значення повинні бути забезпечені у найменш прогрітих місцях об'єкта стерилізації. У процесі вибору раціональних способів і режимів стерилізації на ці частини апарата варто звернути особливу увагу. Розрахунок критерію стерилізації за показниками термопари, встановленої в середній частині апарату, є занадто приблизним і може привести до вибору неправильного режиму стерилізації.

На практиці порожні апарати великого об'єму зазвичай стерилізують протягом 1 год при температурі 120...130°C, а комунікації – від 1 до 4 год при 120...126°C. Результати спеціальних досліджень показали, що для стерилізації ферментерів місткістю 63 м³ бажано подавати пару у верхню частину апарату, а видаляти пароповітряну суміш і конденсат знизу. У цьому випадку необхідна температура стерилізації досягається у 2...3 рази швидше, ніж при видаленні пароповітряної суміші через верхній штуцер.

Під час стерилізації необхідно повністю відкривати вентиль на лінії нижнього спуска для відводу конденсату з нижньої частини апарату, інакше при накопиченні конденсату температура в зоні знижується до 110°C.

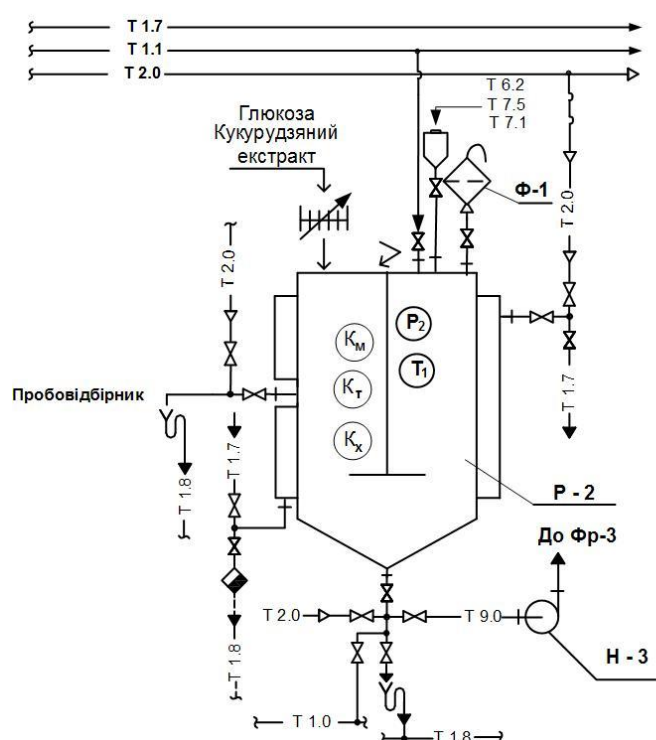
Для забезпечення і підтримки асептичності після закінчення стерилізації у ферментер через барботер подають стерильне повітря, підтримуючи надлишковий тиск 0,02...0,03 МПа (щоб уникнути попадання сторонньої мікрофлори).

6.2.4. Технології та апаратура для стерилізації рідин

Термічна стерилізація. У процесі вибору режимів термічної стерилізації рідин (поживних середовищ, піногасників та ін.) необхідно мати на увазі дві суперечливих умови. Перша – необхідність гарантованого знищення мікроорганізмів, друга – мінімальне руйнування корисних речовин, що знаходяться в рідині.

На практиці використовують *періодичний* і *безперервний* способи стерилізації рідин. У першому випадку середовище стерилізують безпосередньо в апараті (або у колбі), нагріваючи її гострою або глухою

парою, а іноді електричним нагрівачем. Температура та тривалість стерилізації залежно від складу і призначення поживного середовища її кількості та обнасіненості коливаються від 100 до 126°C і від 15 до 60 хв. Недоліки періодичного способу стерилізації: тривалість, неоднорідність температурного впливу на середовище, особливо при стерилізації великих об'ємів середовища, значні втрати термолабільних компонентів. Періодичний спосіб застосовують в основному при стерилізації середовищ для колб, лабораторних ферментерів, а також для промислових апаратів, якщо середовища не містять термолабільних компонентів. Типова апаратурна схема процесу періодичної стерилізації рідких компонентів поживного середовища представлена на рис. 6.14.



Апаратурна схема приготування та стерилізації компонентів ПС

Умовне позначення		Найменування середовища в трубопроводі
Літерне	Графічне	
T 1.7		Вода оборотна
T 1.1		Вода питна
T 2.0		Пара P = 0,2 МПа
T 3.5		Стиснене очищене повітря
T 3.0		Повітря в атмосферу
T 6.2		Кислота соляна
T 7.1		Луг
T 1.0		Каналізація
T 1.8		Конденсат
T 7.5		Розчин каустичної соди
T 9.0		Поживне середовище

Специфікація обладнання

Познач. поз.	Найменування
Ф -1	Індивідуальний фільтр стерильного повітря
Р-2	Реактор
Н - 3	Відцентровий насос

Рис. 6.14. Типова апаратурна схема процесу періодичної стерилізації компонентів поживного середовища у реакторі з мішалкою

Більш сучасний і ефективний спосіб стерилізації поживних середовищ у промислових умовах – безперервний. Він здійснюється у спеціальних установках безперервної стерилізації (УБС), що складаються із трьох основних секцій: нагрівання, витримування та охолодження. Конструкція теплообмінних пристроїв у кожній із секцій може бути різною, найчастіше це найпростіші теплообмінники типу «труба у трубі», хоча ефективність їх менше, ніж пластинчастих теплообмінників, та колонок швидкісного нагріву (КШН) з тангенціальним введенням пари та рідини, що стерилізується (рис. 6.15).

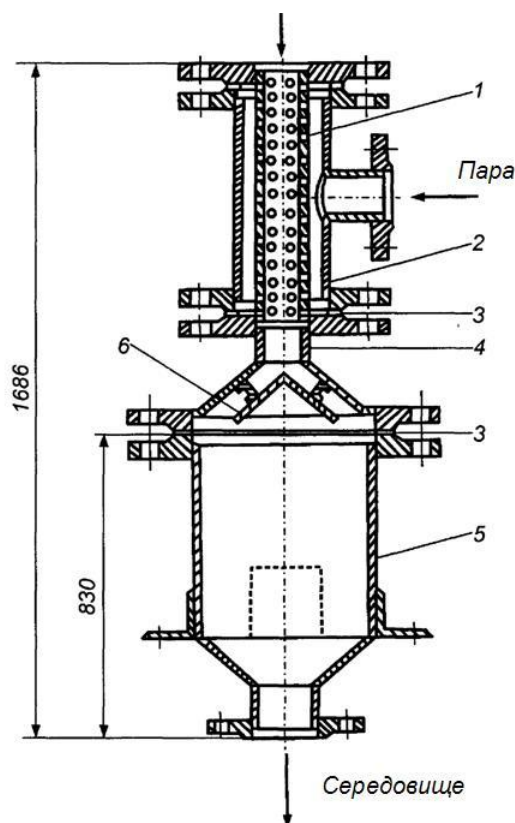


Рис. 6.15. Схема колонки швидкісного нагріву (КШН) УБС продуктивністю 50 т поживного середовища за годину: 1 – розподільник пари; 2 – трійник; 3 – прокладка; 4 – кришка; 5 – корпус; 6 – розсіювальна парасоля

Переваги безперервного способу стерилізації: підвищення продуктивності устаткування, скорочення витрат ручної праці. Але найважливіша та принципова перевага – можливість забезпечити більшу швидкість нагрівання та охолодження середовища. Це дозволяє проводити короткочасну стерилізацію при більш високій температурі – від 130 до 160°C; тривалість витримування 3...10 хв. У процесі безперервної стерилізації при тій же ефективності різко знижуються втрати термолабільних компонентів.

При проведенні безперервної стерилізації велике значення мають наявність у середовищі твердих часток і їхній розмір, оскільки вони прогріваються повільніше, ніж рідина. Це необхідно враховувати при виборі режиму стерилізації. Показано, що тривалість прогрівання часток розміром 0,1 мм збільшується на 0,01 с, розміром 1 мм – на 1 с і розміром 10 мм – на 100 с.

Вітчизняна мікробіологічна промисловість застосовує вітчизняні лінії безперервної стерилізації типу УБС. Характеристики цих ліній подано в табл. 6.4. Типова апаратурна схема роботи УБС представлена на рис.6.16.

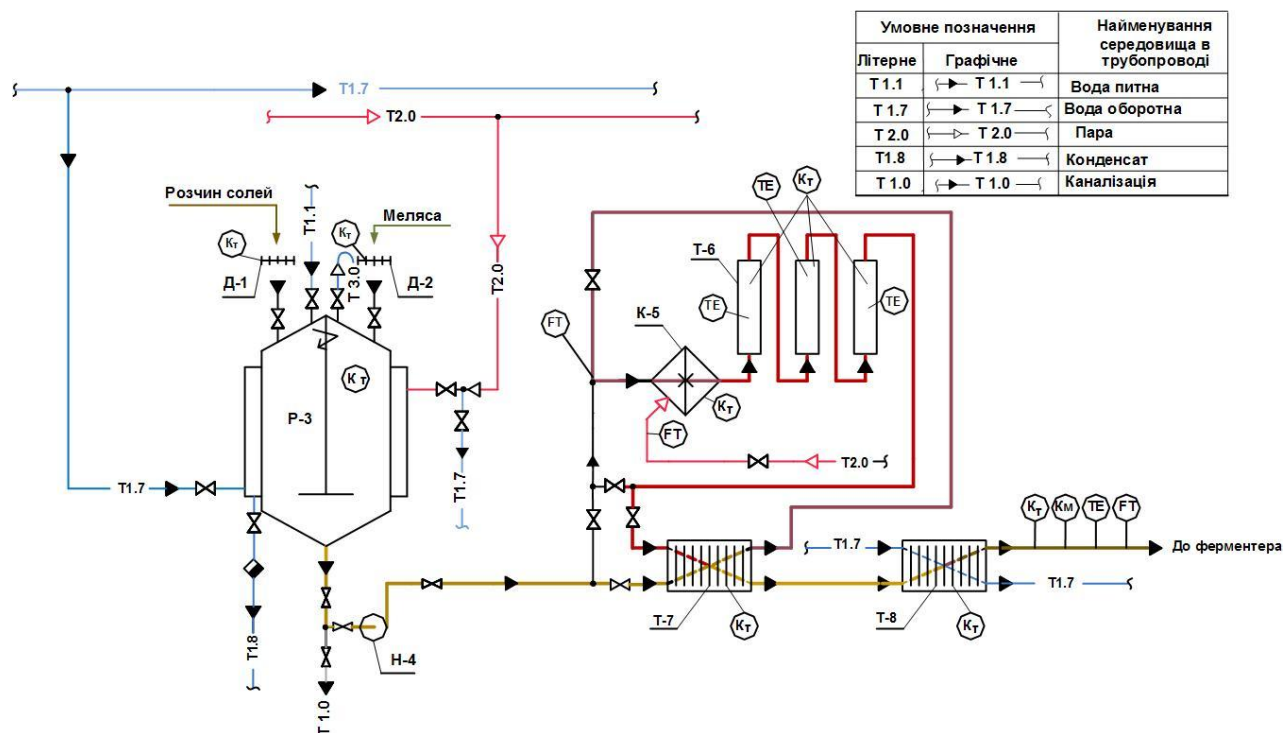


Рис.6.16. Типова апаратурна схема установки безперервної стерилізації УБС-20: Д-1 – дозатор розчину солей; Д-2 – дозатор меляси; Р-3 – реактор; Н-4 – насос; К-5 – колонка швидкісного нагріву (КШН); Т-6 – теплообмінник-витримувач; Т-7 – пластинчастий теплообмінник-рекуператор; Т-8 – пластинчастий теплообмінник-охолоджувач.

Таблица 6.5.

Технічні характеристики стандартних ліній УБС

Характеристика	УБС-5	УБС-20	УБС-50
1	2	3	4
Максимальна продуктивність, м³/год	5	20	50
Тип насоса	Вихровий 2,5В-1,8	Відцентровий 3К-6	Відцентровий 4К-6а
Ємність нагрівача (КШН), дм³	25	100	250
Тип витримувача	Змійовик (11 витків труби 89 x 4,5 завдовжки 3,4 м)	ємність	ємність
Кількість витримувачів × ємність, м³	1 × 0,7	3 × 1,7	3 × 5,1
Габарити витримувача (діаметр × висота, м)	1 × 1	0,6 × 6	0,8 × 10
Тип рекуператора	відсутній	пластинчастий 100 м²	пластинчастий 125 м²
Габарити рекуператора	-	2935×730×1770	2935×730×1770

Тип холодильника	«труба в трубі», 20 м ²	пластинчастий 40 м ²	пластинчастий, 80 м ²
Габарити холодильника, мм	0,7 (діаметр)×9	1795 ×730 ×1770	1795 ×730 ×1770

Вибір і технологічні розрахунки лінії УБС

Вибір лінії УБС зумовлений об'ємом поживного середовища (ПС), що підлягає стерилізації, і часом додаткових операцій на стадії ферментації. Наприклад, якщо потрібно переробити 150 м³ ПС і час додаткових операцій складає 15...20 год., з яких лише третина часу може бути витрачена на завантаження стерильного ПС, тобто 5...6 год, то продуктивність лінії повинна бути близько $150/5=50$ м³/год. Отже, потрібно обрати лінію УБС-50. Якщо ж, наприклад, об'єм ПС становить 10 м³, то використання цієї лінії приведе до того, що загальний час роботи лінії повинен бути $10/50=0,2$ год (12 хв). За цей час не встигне навіть встановитись стаціонарний режим роботи лінії. Зниження продуктивності лінії зменшенням витрати ПС від насоса *Н-4* економічно недоцільне, оскільки продуктивність лінії потрібно зменшувати в 5...10 разів. Тут доречно встановити лінію УБС-5, час роботи якої буде становити $10/5 = 2$ год, що цілком прийнятне. За дуже великих об'ємів ПС можна встановлювати декілька паралельно працюючих ліній з максимально можливою продуктивністю.

Важливе значення має рН середовища, що підлягає стерилізації. Від цього параметра залежать швидкість розкладання термолабільних речовин, а також кінцева величина рН стерильної рідини. Зв'язок між вихідним і кінцевим значеннями рН при стерилізації встановлюють для кожного середовища експериментально.

Комбінована термомембранна стерилізація

В останні роки все частіше застосовують стерилізацію, засновану на використанні напівпроникних мембран. Поряд з очевидними перевагами (низька енергоємність, відсутність шкідливого впливу на термолабільні компоненти) цей метод має суттєвий недолік: він непридатний для обробки в'язких поживних середовищ, що містять тверді включення (частки кукурудзяного або соєвого борошна, крейди та ін.). Для позбавлення цього недоліку можна застосовувати роздільну обробку компонентів поживних середовищ: технологічну воду та сольові розчини стерилізувати шляхом мікрофільтрації, а концентрат, що містить тверді частки, – в УБС. Це дозволяє різко скоротити об'єм рідини, що стерилізується термічним методом, витрати пари та охолоджувальної води. При співвідношенні об'ємів концентрату та технологічної води (сольових розчинів) 1:3 перехід на комбінований метод стерилізації дозволяє знизити енергетичні витрати на 73% порівняно з тепловою стерилізацією.

Схема установки для стерилізуючої фільтрації рідин представлена на рис. 6.17.

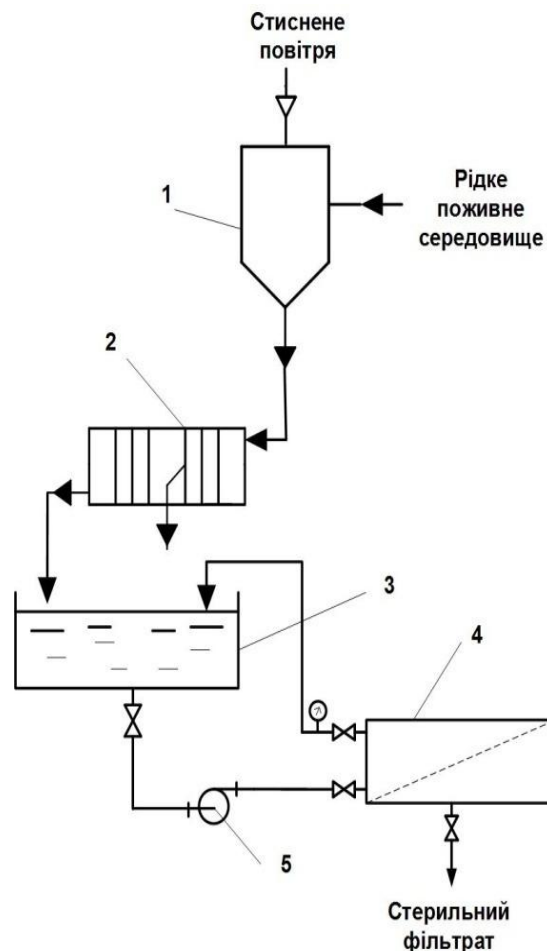


Рис.6.17. Схема установки для стерилізуючої фільтрації компонентів поживного середовища: 1 – збірник; 2– фільтр-прес ; 3 – буферна ємність; 4 –мікрофільтраційна установка; 5 – відцентровий насос

Технологічна вода, сольовий розчин або інша рідина, що підлягає стерилізації, під тиском стисненого повітря проходять через фільтр попереднього очищення від великих часток і надходять у буферну ємність. Очищений розчин за допомогою циркуляційного насоса подається в мембранний мікрофільтраційний апарат, з нього – у ферментер, а інша частина розчину вертається в буферну ємність.

Рециркуляцію рідини у наведеній технологічній схемі здійснюють для того, щоб створити інтенсивний потік рідини над мембраною, що сприяє очищенню її поверхні. Оскільки концентрація твердих часток у циркулюючому потоці розчину мала, шар осаду на поверхні мембрани практично не утворюється і її гідравлічний опір не змінюється протягом тривалого часу.

6.2.5. Технології та апаратура для стерилізації повітря

У тому випадку, коли продуцент біологічно активної речовини є облигатним аеробом, ефективне забезпечення мікроорганізмів розчиненим киснем є необхідним елементом процесу біосинтезу. При цьому необхідною умовою вирощування глибинної культури продуцента БАР є асептичність,

тому повітря, що подається на аерацію, має бути стерильним.

У ході здійснення аеробних процесів мікробного синтезу в асептичних умовах у ферментери необхідно безупинно подавати стерильне повітря. Наприклад, витрата повітря на один ферментер місткістю 63 м³ становить у середньому 2000...3000м³/год. Стерильне повітря необхідне також для перетискання стерильних рідин і чистих культур мікроорганізмів з однієї ємності в іншу (інокулятори, посівний апарат), для продування апаратів і комунікацій і т.п.

Крім того, стерильне повітря необхідне в боксах і лабораторіях, де проводять роботи з посівною культурою продуцента. Для цього, як правило, використовують УФ-опромінення. Таке опромінення володіє протимікробною дією, що проявляється в деструктивно-модифікуючих пошкодженнях ділянок ДНК у геномі мікроорганізмів. Це призводить до загибелі клітин в першому чи наступних поколіннях.

Для знезараження повітря використовують закриті опромінювачі (рециркулятори). В них бактерицидний потік від лампи розподіляється в обмеженому просторі та не має виходу назовні. Повітря очищається від мікроорганізмів за рахунок проходження через рециркулятор. Крім того, такі опромінювачі призначені для знезаражування повітря виробничих приміщень, де потрібно підтримувати необхідну чистоту.

На відміну від процесів стерилізації устаткування та технологічних рідин, здійснюваних термічним методом, аераційне повітря стерилізують, як правило, шляхом стерилізуючої фільтрації.

Існує цілий набір методів стерилізації повітря, але всі вони повинні гарантувати ефективність вилучення контамінантів $E = 99,9999\%$. В біотехнологічній практиці застосовується типова багатоступенева система очистки, яка дозволяє послідовно вилучати механічні та мікробні контамінанти.

Як правило, використовується стандартна система очищення та стерилізації аераційного повітря яка складається з наступних блоків:

- попереднє очищення повітря;
- стиснення повітря
- охолодження та видалення зайвої вологи
- підігрів повітря
- стерилізація повітря у головних фільтрах;
- стерилізація повітря в індивідуальних фільтрах.

Загальний вигляд технологічної та апаратурної схем підготовки та стерилізації аераційного повітря представлено на рис.6.18 – 6.19.

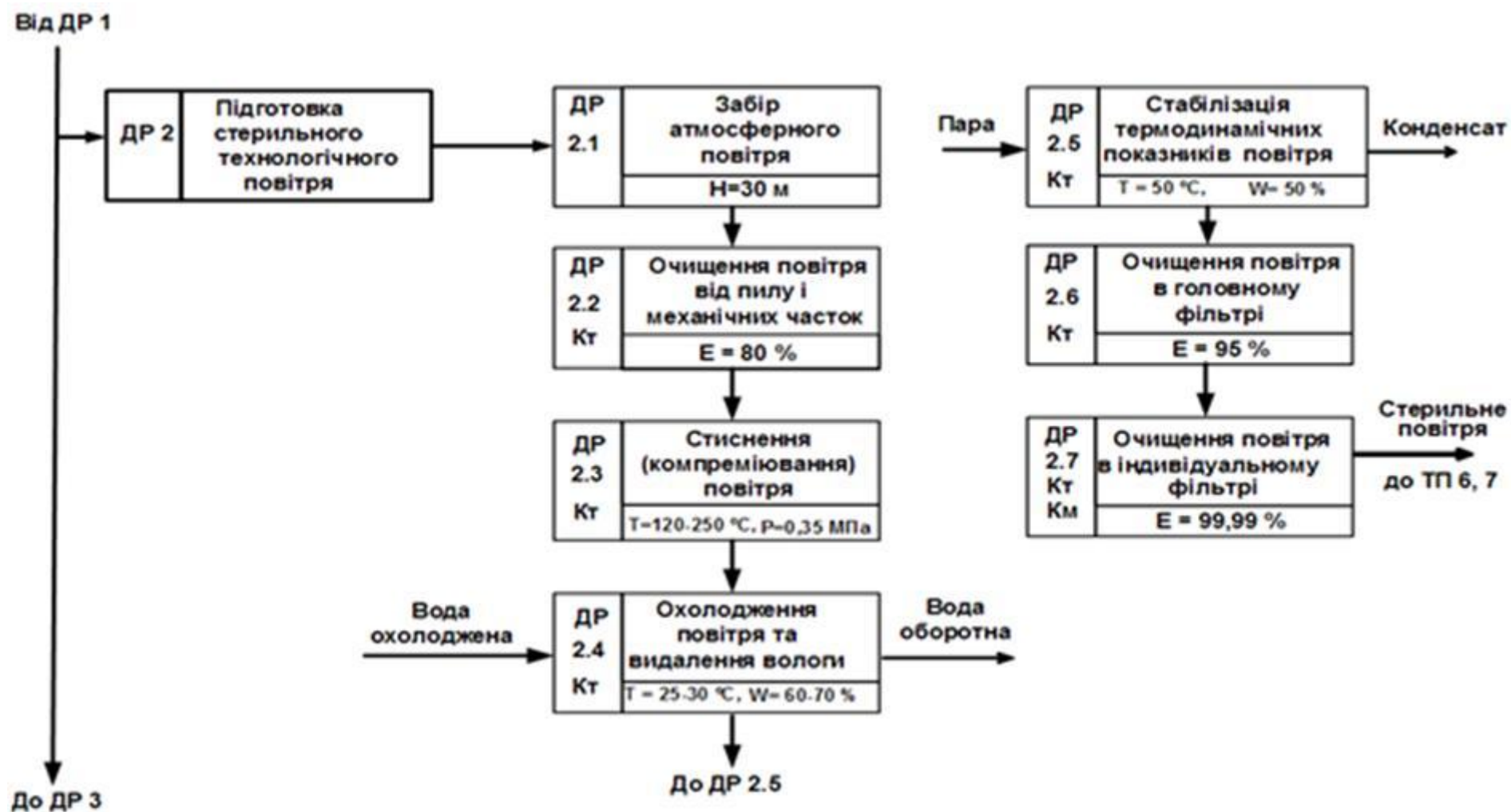


Рис.6.18. Технологічна схема підготовки та стерилізації аераційного повітря

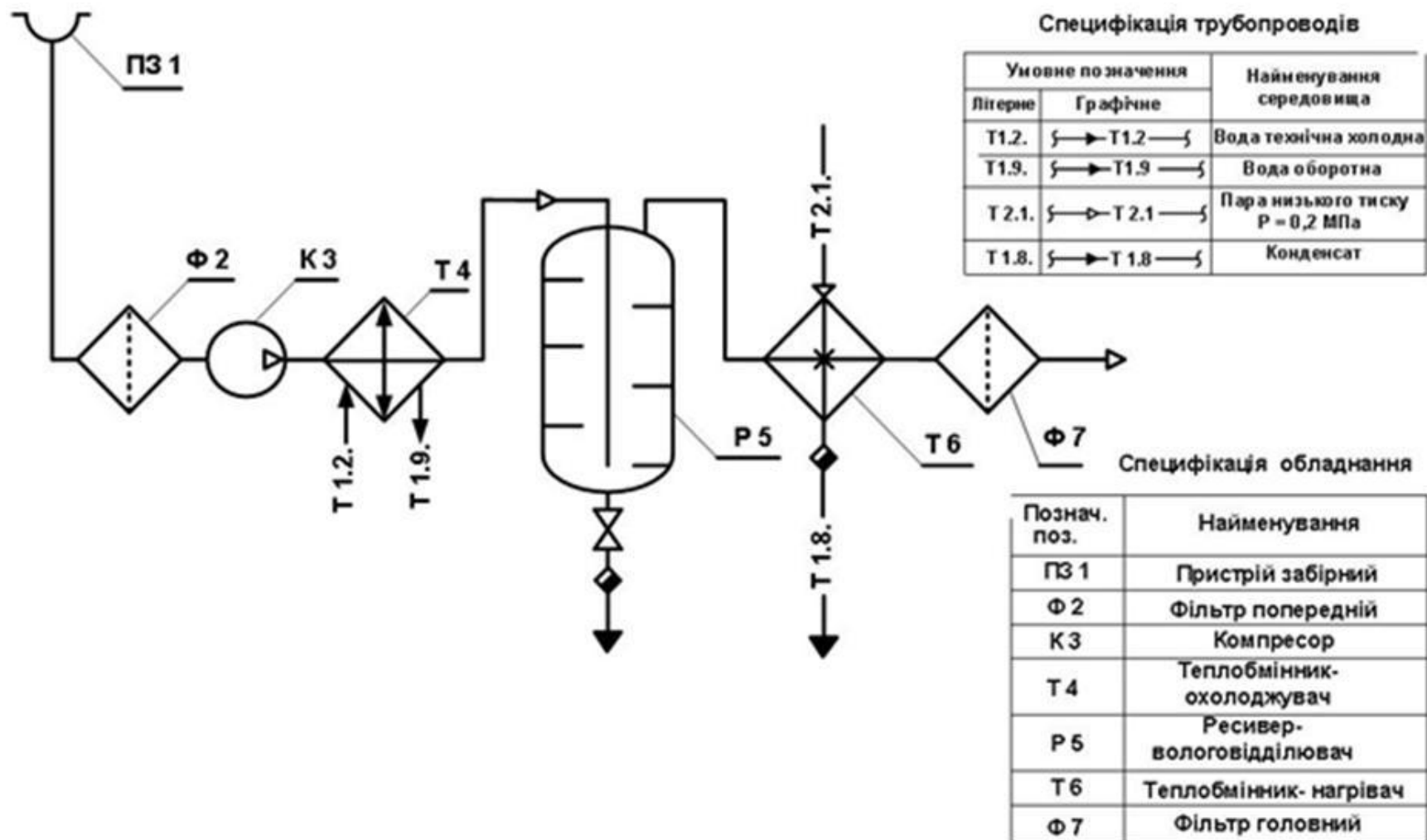


Рис.6.19 Типова апаратурна схема підготовки та стерилізації аераційного повітря

Атмосферне повітря, засмоктується через забірний пристрій *ПЗ* – 1, встановлений у найвищій точці відділення повітряпідготовки і попередньо очищається від пилу у фільтрі *Ф-2*, стискується в компресорі *К-3* до необхідного тиску, нагріваючись до 120...220°C. Потім повітря охолоджується у теплообміннику *Т-4* і надходить до вологовідокремлювача (ресивера) *Р-5*, де відокремлюється від крапель вологи та мастила. З метою позбавлення пульсацій тиску повітря та швидкості руху повітря при роботі компресора використовують ресивер великої ємності. Осушене повітря підігрівається у теплообміннику *Т-6*, проходить через фільтри грубого очищення *Ф-7* і далі подається до індивідуального фільтра *Ф-8*, встановленого безпосередньо біля ферментера, де звільняється від сторонньої мікрофлори.

Існує достатня кількість методів забезпечення стерильності повітря – обробка повітря хімічними, фізичними або іншими чинниками. Для біотехнологічних виробництв традиційними методами підготовки повітря є метод фільтрування через перегородки з різних матеріалів. Вибір методу стерилізації повітря в загальному вигляді є вибором фільтруючого матеріалу і способу його фіксації в корпусі фільтра.

Виходячи з теорії стерилізації повітря, для видалення контамінантів використовують волокнисті фільтруючі матеріали з різних мінеральних або органічних речовин, пористі перегородки з кераміки або полімерних матеріалів.

Атмосферне повітря завжди містить дрібні тверді або рідкі частинки, які несуть на собі різноманітні мікроорганізми. У містах середня концентрація мікрофлори досягає $10^3 \dots 10^5$ клітин/м³ (кл/м³). В озелених районах ця концентрація становить $10^3 \dots 3 \cdot 10^4$ кл/м³. Саме там намагаються розташовувати підприємства тонкого мікробного синтезу.

Основною вимогою, яка висувається до аераційного повітря, є його стерильність. Ефективність роботи системи очищення повітря оцінюють за коефіцієнтом проскоку K_n , %

$$K_n = X_k \cdot 100 / X_n \quad (6.9)$$

де X_n , X_k – концентрація бактеріального аерозолі (число клітин в 1 м³ у повітрі) відповідно до і після системи очищення повітря, кл/м³.

Для асептичних процесів біосинтезу K_n повинен становити $10^{-8} \dots 10^{-11}$ %, для промислових систем – $10^{-4} \dots 10^{-6}$ %.

Звичайні методи очищення, що ґрунтуються на дії відцентрових сил (циклони), інерції (відокремлювачі), промиванні (скрубери, пінні апарати), а також електрофільтри, не знайшли розповсюдження, оскільки дозволяють одержувати повітря з $K_n = 3 \dots 5\%$. Ці методи застосовують лише для попереднього перед стерилізацією очищення атмосферного повітря.

Для стерилізації повітря з належними характеристиками використовують два методи: знищення мікрофлори за допомогою нагрівання

або іонізуючого випромінювання, наприклад, за допомогою УФ-опромінювання, та вилучення її методом фільтрування. Перший метод є більш надійним та ефективним, але для промислових масштабів є неприйнятним, оскільки у виробничих умовах витрачають занадто великі об'єми повітря, що робить абсолютно економічно недоцільними такі технологічні рішення. У промислових умовах використовують в основному метод фільтрування крізь шари насипного, пористого або волокнистого матеріалу. Для попередньої стерилізації використовують глибинні (набивні) фільтри на основі волокнистих матеріалів. Для остаточної стерилізації перед входом у ферментер встановлюють індивідуальні фільтри з розгорнутою поверхнею або абсолютні, які діють як сита, патронного типу Проте, абсолютні сита зумовлюють велику втрату тиску повітря і швидко забиваються, тому застосовують їх нечасто.

Попри те, що волокна набивного фільтру розташовані між собою на відстанях на порядок більших за діаметр мікрочастинок, вони діють досить ефективно. За умови великих швидкостей частинки, проходячи шар волоконного фільтру, скоріше або пізніше зустрічають на своєму шляху волокно і затримуються ним (інерційний механізм осадження).

За умови малих швидкостей затримання відбувається в основному за механізмами осадження, дії електростатичних сил, сил Ван-дер-Ваальса. Для кожного типу аерозолі та волокна існує деяка *критична швидкість*, за якої фільтр є неефективним. За таких швидкостей інерційний механізм вже не діє, а для інших швидкостей є зовеликою. Товщину шару волокна знаходять за формулою:

$$n \frac{X_0}{X} = \nu_\phi H \quad (6.10)$$

де ν_ϕ – константа фільтрації, яку знаходять експериментально; H – товщина шару волокна.

Існуючі методики розрахунків товщини шару волокна без використання експериментальної константи фільтрації для процесів стерилізації повітря дають малодостовірні результати, тому в даному навчальному посібнику не наводяться.

Вибір фільтрувального матеріалу

Ефективність роботи системи очищення і стерилізації повітря складається з ряду факторів, до яких належить і правильний вибір фільтрувального матеріалу, залежно від того ступеня очищення повітря, для якого він призначається.

Фільтрувальний матеріал повинен відповідати наступним основним вимогам: мати високу ефективність при мінімальному опорі, достатню пилоємкість і механічну міцність; повинен бути стійкими до впливу гострої пари як основного агента, що стерилізує, бути зручним і надійним в експлуатації.

Всі фільтрувальні матеріали можна розділити на *абсолютні* та *неабсолютні*. Перші в основному працюють за принципом ситового ефекту – їхні пори мають діаметр меншого розміру, ніж частки, що видаляються. Ефективність таких фільтрів велика – 99,999%, однак вони створюють великий опір потоку повітря і мають відносно малий термін служби. Абсолютні фільтри доцільно використовувати для одержання повітря дуже високого ступеня очищення в системах невеликої продуктивності.

Неабсолютні фільтрувальні матеріали мають розмір пор більше часток, що видаляються. Такі фільтри можна розбити на чотири групи:

при швидкостях повітря 1,3...2,5 м/с ефективність уловлювання від 10 до 70% по частках розміром 2 мкм;

при швидкостях повітря 1...2,5 м/с ефективність уловлювання 60...90% по частках розміром 2 мкм;

при швидкостях повітря 1...1,2 м/с ефективність уловлювання 90...99,9% по частках розміром 2 мкм;

при швидкостях повітря до 0,5 м/с ефективність уловлювання 99,9...99,999% по частках розміром 0,3 мкм.

Матеріали четвертої групи за своїми властивостями наближаються до абсолютного.

Для стерилізації повітря можна застосовувати матеріали четвертої групи або комбінувати їх з матеріалами третьої групи.

Класифікація фільтрувальних матеріалів, які використовуються для підготовки аераційного повітря біотехнологічних виробництв представлена на рис. 6.20.

Для попереднього очищення повітря часто застосовують фільтри періодичної дії касетного або коміркового типу, заповнені металевими стружками, кільцями Рашига або іншими подібними матеріалами, змоченими оливою. Доцільно використовувати для цих цілей безперервно діючі самоочисні масляні фільтри (циклофільтри). Ступінь очищення в цих фільтрах досягає 50...70%. У літературі є вказівки про можливість використання у якості набивання для фільтрів попереднього очищення грубих мінеральних або синтетичних волокон.

За останні роки з'явилися дані про застосування для попереднього очищення повітря губчатого модифікованого пінополіуретану. Пилоємкість фільтрів із цього матеріалу становить 200 г/м², ефективність очищення 50...85%, опір після обробки концентрованим розчином лугу відносно невеликий. Так, при товщині шару 1,8 см і швидкості повітря 5 см/с опір становив 4 Па (0,4 мм. вод. ст.). Тривалість однократного використання фільтрів з пінополіуретану 3...4 місяці. Доцільно використовувати цей матеріал у системах невеликої продуктивності.

У фільтрах першого ступеня очищення повітря, де ефективність уловлювання зазвичай повинна бути не менш 98% при мінімальному опорі, використовуються матеріали, які характеризуються діаметром волокон від 10 до 50 мкм.

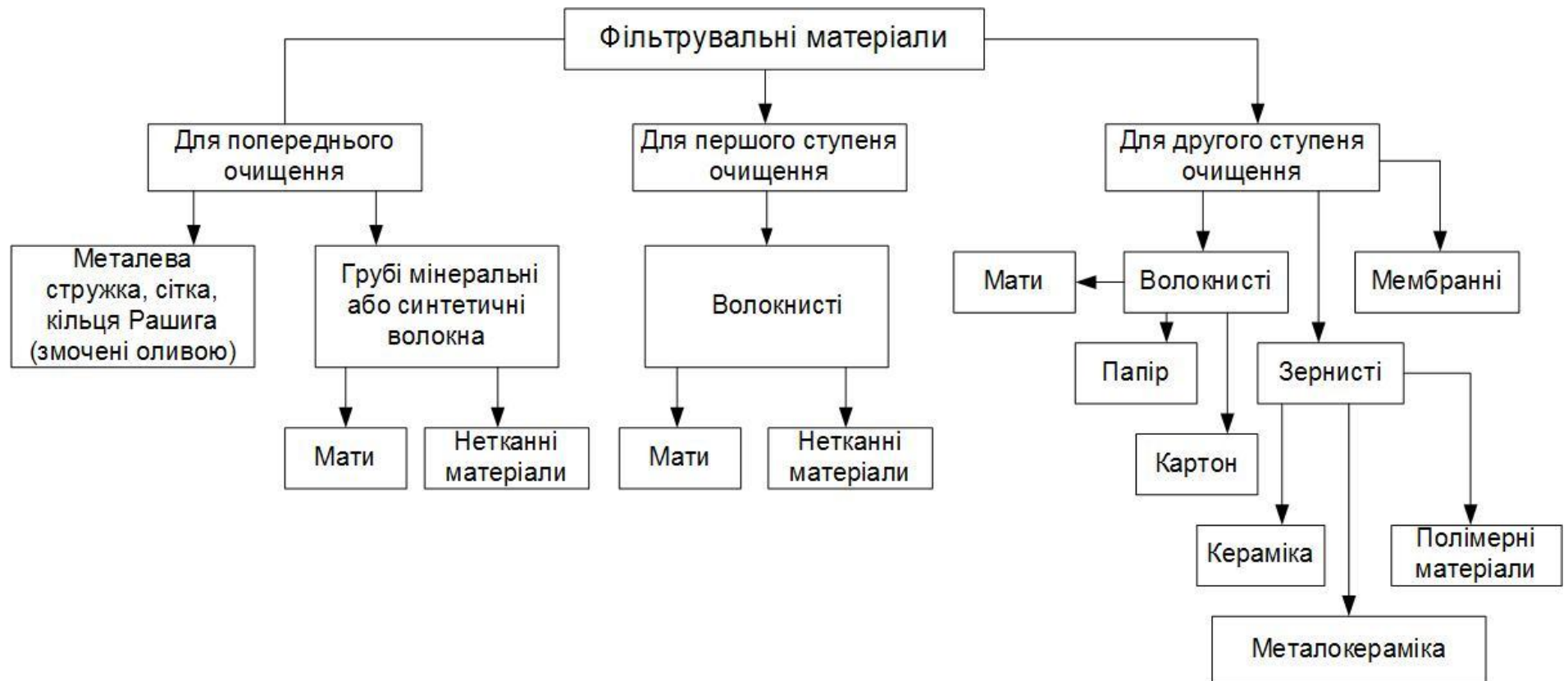


Рис.6.20. Класифікація фільтрувальних матеріалів для стерилізації технологічного аераційного повітря

У закордонній літературі наявні дані щодо використання металокерамічних фільтруючих матеріалів для грубого очищення повітря.

У вітчизняній промисловості найширше застосовуються мінеральні волокна (скловолокно, базальтове волокно), а також різні неткані матеріали із синтетичних волокон.

Як фільтрувальні матеріали використовують перхлорвінілове волокно з термостійкістю 60...70°C (марки ФП, ФП-15-1,5), поліакрилонітрильне волокно з термостійкістю до 180°C (ФПАН-10-3,0) або до 250°C (ФПАР-15-1,5) скловолокна (СТВ) або базальтові волокна. Товщина волокон коливається від 1,5 до 21 мкм. Базальтові волокна випускають товщиною від 0,5 до 1 мкм. Усі волокна, крім перхлорвінілових, допускають стерилізацію гострою парою. Перхлорвінілові стерилізують токсичними газами (наприклад, оксидом етилену або газоподібним формаліном). Волокна укладають у вигляді готових пресованих шарів з щільністю упакування 0,043...0,19 від об'єму (переважно 0,1...0,15).

Набивні фільтри мають ряд недоліків:

а) внаслідок відносно невеликої площі перерізу для перепуску великих об'ємів повітря доводиться збільшувати швидкість фільтрування (1...3 м/с), що веде до утворення каналів і до так званих краєвих ефектів, завдяки яким повітря без фільтрування проходить вздовж стінки апарату;

б) потрапляння крапельної вологи теж веде до утворення каналів і проходження повітря через них без фільтрування;

в) набивні фільтри мають значний гідравлічний опір і важкі в експлуатації.

Нині їх застосовують лише як перший ступінь стерилізаційного очищення повітря. На рис.6.21 представлені основні типи фільтрів тонкого очищення і стерилізації аераційного повітря.

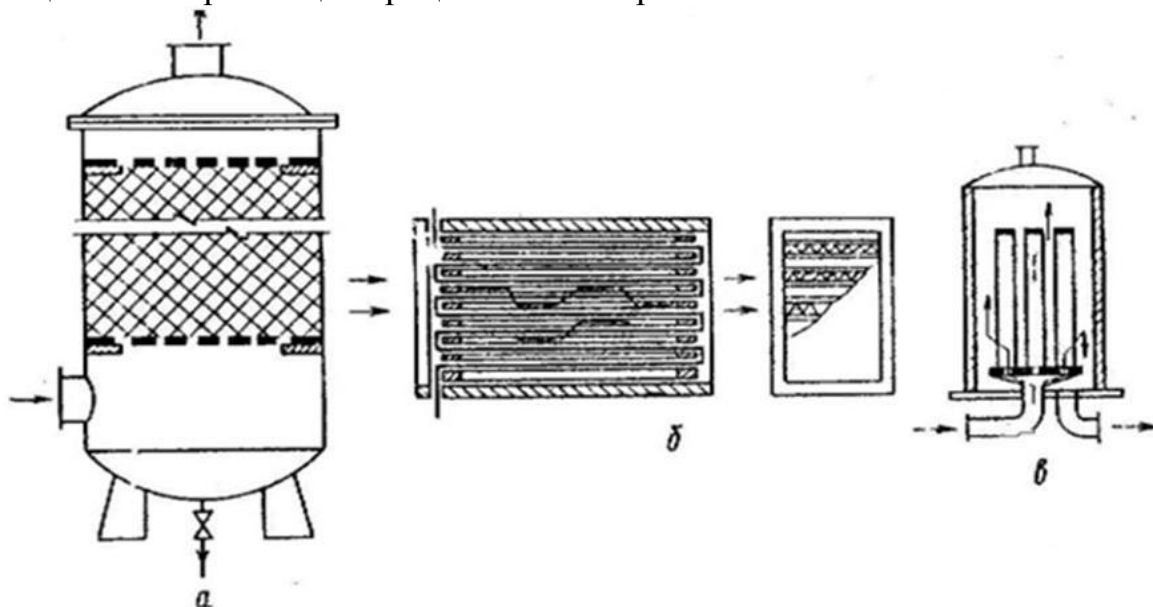


Рис. 6.21. Основні типи фільтрів тонкого очищення і стерилізації аераційного повітря: а – набивний (глибинний); б – з розгорнутою поверхнею (рамковий); в - сітчастий (абсолютний) патронного типу

На рис. 6.22. наведена конструкція набивного фільтру Гіпромедпрому.

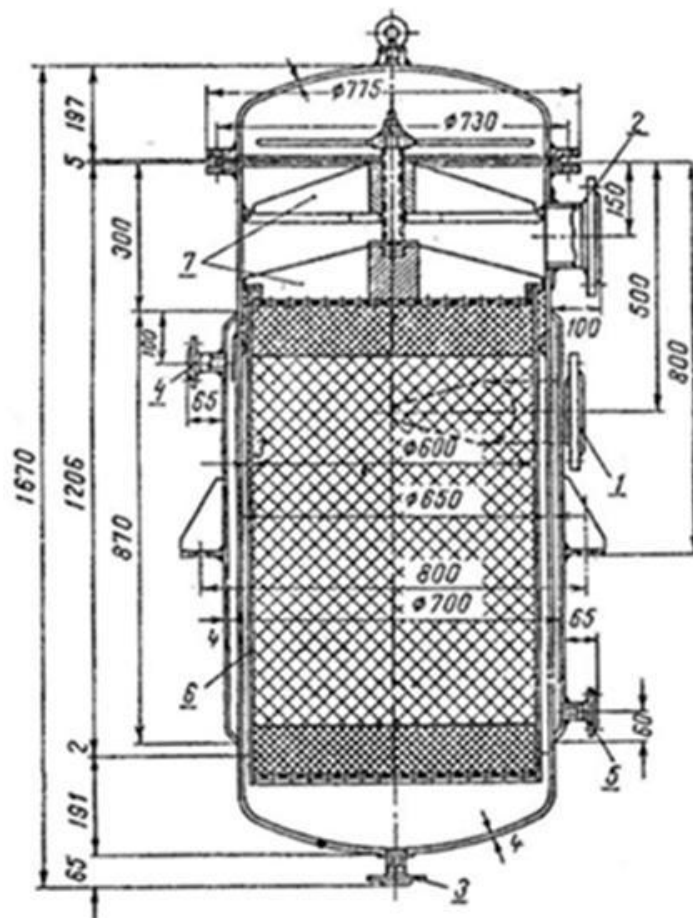


Рис 6.22. Набивний фільтр конструкції Гіпромедпрому: 1 – штуцер для входу повітря; 2 – штуцер для виходу повітря; 3 – штуцер для продування; 4, 5 – штуцери для пари та конденсату; 6 – патрон; 7 – пристрій для притискання

Як індивідуальні фільтри широко застосовують рамочні або патронні фільтри з тканиною Петрянова на основі перхлорвінілового волокна. Фільтр являє собою сталевий циліндр із з'ємною кришкою і конічним дном. Усередині апарату встановлюють 73 циліндричні перфоровані трубки, обгорнутих тканиною Петрянова. Загальна площа фільтрування – $17,5 \text{ м}^2$. Після проходження крізь тканину повітря стерилізується. Продуктивність цього фільтра становить $1000 \text{ м}^3/\text{год}$.

До системи очищення повітря входять різні апарати (обладнання):

- фільтр для очищення повітря від пилу та інших механічних домішок (фільтр для вилучення механічних часток);
- система стабілізації термодинамічних показників повітря (ресивер, теплообмінники);
- головний повітряний фільтр (груповий фільтр) для очищення всього повітря, що поступає із компресора;
- індивідуальний повітряний фільтр перед кожним ферментером і посівним апаратом.

Вибір фільтру попереднього очищення повітря орієнтований на ефективне видалення крупних фракцій контамінантів з повітря, які можуть пошкодити компресійне обладнання. Фільтр попереднього очищення повітря встановлюють перед повітродувкою, для запобігання потрапляння у неї пилу та іншого механічного забруднення повітря. Перевага надається фільтрам простої конструкції, які можна регенерувати.

Після цього повітря потрапляє у головний повітряний фільтр, який використовують для підготовки повітря групи ферментерів. Фільтруючим матеріалом є багатошарова конструкція, яка складається з шару активованого вугілля висотою 700...900 мм, над та під яким укладають шар скляної вати (100...150 мм) для усунення можливості провалу та винесення частинок вугілля. Діаметр волокна скловати дорівнює 21 мкм.

Суттєве значення при виборі технології очищення повітря має стабілізація термодинамічних показників, оскільки вологість повітря має суттєвий вплив на ефективність очищення.

Головний повітряний фільтр встановлюється поблизу компресора, під час роботи якого повітря, внаслідок адіабатичного стискання, нагрівається до 120...180°C і вище. Якщо повітря, що поступає у ферментер, має температуру вищу за 60°C, його необхідно охолодити, для чого встановлюються теплообмінники, що охолоджуються водою. Для стабілізації потоку повітря і попередження його пульсацій потрібно мати ланцюг часової затримки. Цю роль може виконувати місткість – ресивер.

Для остаточного очищення і стерилізації повітря перед кожним ферментером встановлюється індивідуальний повітряний фільтр. Фільтруючим матеріалом може бути тонка скловата, волокна якої мають діаметр не більше 1...2 мкм; широко використовують базальтове тонке та супертонке волокно (БСТВ). Діаметр волокна дорівнює 0,7...1,0 мкм.

Конструкція цього фільтра є дещо складною, оскільки для завантаження та розвантаження необхідно виймати із фільтра фільтрувальне завантаження. Часто її укладають недостатньо точно, що не забезпечує необхідної щільності, і тому повітря частково проникає безпосередньо із кільцевого простору вгору на вихід обминаючи фільтрувальний шар.

Широке розповсюдження мають фільтри в яких фільтруючі елементи виготовлені з тканини Петрянова (ацетилцелюлози).

У зв'язку з тим, що при виробництві мікробних препаратів напір повітря із повітродувки (якщо не використовується компресор) не перевищує 0,05...0,06 МПа (5...6 м вод. ст.), бажано знизити втрати напору у повітряних фільтрах. Цього можна досягти, використовуючи як фільтрувальний матеріал тканину Петрянова. Переваги цієї тканини перед іншими фільтрувальними матеріалами у малому опорі рухові повітря і високій ефективності стерилізації повітря.

До недоліків належать недостатня механічна міцність і швидке псування при змочуванні. Тому необхідно здійснювати заходи для захисту тканини від змочування конденсатом пари у процесі стерилізації ферментеру.

Вибір конструкції (типу) фільтра обумовлює вибір методу стерилізації. Фільтри, в яких використовуються мінеральні волокна, керамічні або металокерамічні перегородки стерилізують гострою парою. Для фільтрів з полімерних волокон загальновизнаним є метод стерилізації хімічними речовинами – аерозолем формаліну.

Сучасні конструкції та матеріали повітряних фільтрів дозволяють їх стерилізацію водяною парою при високих температурах (до 130 °С) без втрати їх механічних властивостей (тип ФТО) (рис.6.23, рис. 6.24.)



Рис.6. 23. Конструкції індивідуальних фільтрів типу ФТО



Рис. 6.24. Фільтрувальний елемент фільтрів ФТО

6.2.6. Герметизація апаратури та комунікацій

Залежно від типу і конструкції вузла, що підлягає герметизації, застосовують різноманітні пристрої. Фланцеві та різьбові з'єднання типу *Clamp* герметизують за допомогою пружних прокладок; вали мішалок, що обертаються, - за допомогою торцевих ущільнень, вузли запірно-регулюючих арматур – за допомогою сильфонів та пружних мембран і т.д. Конструкції перерахованих вище з'єднань показані на рис. 6.25, рис. 6.26 , рис. 6.27.

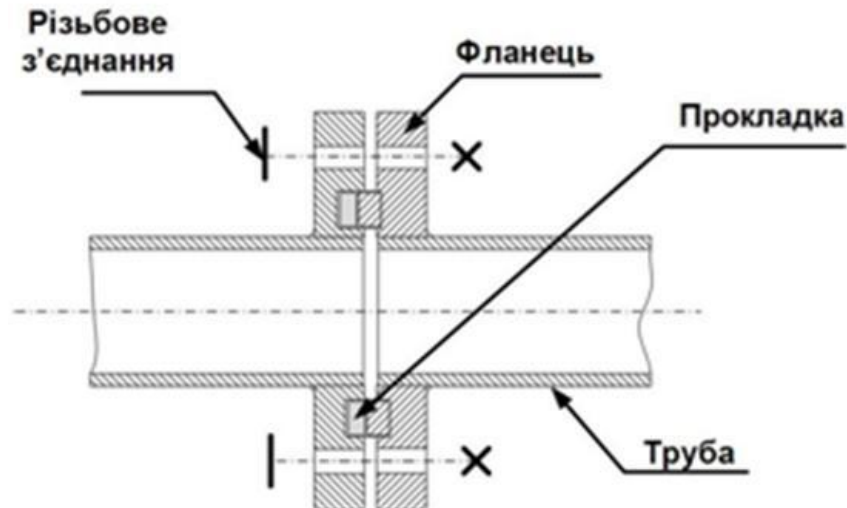


Рис.6.25. Зразок фланцевого з'єднання



Рис. 6.26. Конструкція різьбового з'єднання за допомогою накладної гайки



Рис.6.27. Конструкція швидкоз'ємного гігієнічного затискання типу *Clamp* (муфта Кламп); у зібраному стані складається з 4 частин: 1 - штуцер Кламп(манжета Кламп) – 2 шт.; 2 – кільце ущільнююче (ущільнювач) – 1 шт.; 3 – хомут Кламп – 1 шт.

Як показали результати досліджень, найбільш частою причиною (до 50% випадків) розгерметизації промислових ферментерів є порушення герметичності запірно-регулюючих арматур. У свою чергу, причинами розгерметизації сильфонної арматури є порушення ущільнення сідло - клапан (47% випадків), фланцевих з'єднань (31% випадків) і сильфону (16% випадків). Якщо врахувати, що випадки порушення герметичності устаткування спостерігаються у 70% циклів ферментації, стає зрозумілим, наскільки серйозна ця проблема. Заходи щодо забезпечення герметичності апаратів необхідно передбачати на всіх етапах: при конструюванні, проектуванні, монтажі та експлуатації систем культивування мікроорганізмів.

Контроль герметизації устаткування здійснюють різними методами. Найбільш простий метод пневматичного випробування – контроль падіння тиску за визначений час, але він не дозволяє виявити дрібні нещільності та місця витоків. Більш широко застосовують пневматичні випробування з використанням мильної емульсії для виявлення місць витoku повітря. Однак цей метод украй трудомісткий і має ряд недоліків (необхідність створення досить високого тиску в апараті, неможливість контролю при підвищених температурах поверхонь апаратів і вузлів, неможливість перевірки важкодоступних вузлів).

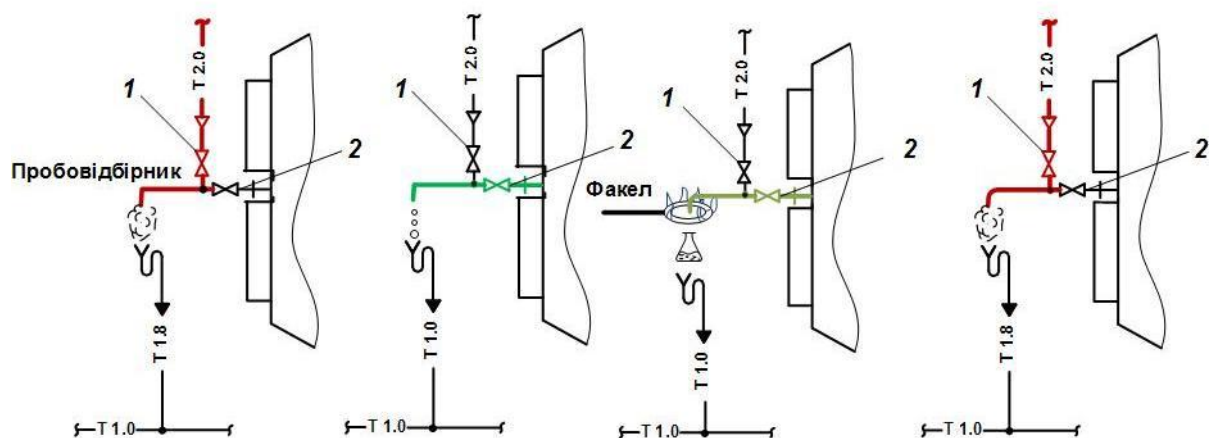
Найзручнішим і найнадійнішим є метод, заснований на застосуванні галоїдних течієшукачів. У в апарат, що перевіряється, заливають легколетучу галоїдвмісну речовину, зазвичай CCl_4 або фреон-12, нагрівають до 80°C і підвищують тиск до 0,2 МПа. Пари галоїдвмісної речовини проникають через наявні нещільності і виявляються при наближенні щупа течієшукача до місця витoku. Такі прилади дозволяють виявити витoki до 0,5 г у рік, що цілком достатньо для надійного контролю герметичності встаткування. Тривалість перевірки одного апарату за цим методом 1,5...2 години.

6.2.7. Системи відбору проб з апаратів

У ході проведення будь-яких біотехнологічних процесів необхідно періодично відбирати проби з ферментерів та інших апаратів для контролю за ходом технологічного процесу, перевірки чистоти культури тощо. У процесі відбору проб може відбутися розгерметизація апарата і зараження сторонньою мікрофлорою. Крім того, у процесі відбору проб для контролю стерильності (або чистоти культури) можливе влучення сторонніх мікроорганізмів у саму пробу, що може привести до необґрунтованого висновку про зараження апарату.

У зв'язку із цим пристрої для відбору проб у мікробіологічних виробництвах повинні задовольняти ряду вимог. Основне з них – репрезентативність проби (відповідність відібраного матеріалу основній масі рідини в апараті). Цього можна досягти, якщо розташувати вхідний отвір пробовідбірною пристрою у зоні з досить інтенсивним перемішуванням, а також зливати деяку кількість рідини, що залишилася в трубках і шлангах, перед відбором проби. Інші вимоги: забезпечення асептичних умов у процесі відбору проби, простота обслуговування пробовідбірних пристроїв, надійність їхньої стерилізації, можливість видалення конденсату та перших порцій рідини, що відбирається у герметичний колектор для виключення зараження навколишнього середовища.

Найпоширенішим є відкритий спосіб відбору проб (рис.6.28).



Етап 1: стерилізація Етап 2: охолодження Етап 3: відбір проби Етап 4: стерилізація

Специфікація трубопроводів

Умовне позначення		Найменування середовища в трубопроводі
Літерне	Графічне	
T 2.0		Пара P = 0,2 МПа
T 1.0		Каналізація
T 1.8		Конденсат

Рис.6.28.Схема відкритого відбору проб (рух потоків виділено кольором)

Рідина, що відбирається, при відкриванні вентиля 2, витікає з пробовідбірника і в полум'ї факела надходить у стерильну колбу для проби.

До і після відбору проби пробовідбірник стерилізують гострою парою, відкриваючи вентиль 1 лінії подачі пари. Надійність такої стерилізації невисока через те, що неможливо створити підвищений тиск у відкритому трубному закінченні, а також через наявність тупикового простору на ділянці від місця введення пари (вентиль 1) до вентиля 2.

Приклад практичної реалізації даної схеми відкритого відбору проб з асептичними мембранними вентилями-клапанами *Saunders* та швидкоз'ємними гігієнічними затискувачами типу *Clamp* представлено на рис.6.29.



Рис.6.29. Приклад практичної реалізації схеми відкритого відбору вентилями-клапанами *Saunders* та швидкоз'ємними затискувачами типу *Clamp*

Розроблено пристрої для відбору проб закритим способом, що дозволяє різко знизити ймовірність порушення асептичних умов і забезпечує виконання інших вимог. Один з таких пристроїв зображений на рис.6.30.

Попередньо простерилізовану в автоклаві колбу 1 разом із вентилям 2, фільтром 3 та пристроєм для відбору проби 4 через прокладку 5 герметично приєднують до проміжної камери 11. При цьому вентиль 4 закритий. Потім при закритому вентилі 8 і відкритому вентилі 7 стерилізують гострою парою, що надходить по трубопроводу 6, внутрішні порожнини камери 11, вентиля 13 та трубопроводу 14. Спочатку подачу пари здійснюють при закритому вентилі 13, потім по чергові закривають і відкривають вентиля 7 і 13 і видаляють конденсат, що утворюється, через відводчик конденсату 15 у трубопроводі 14.

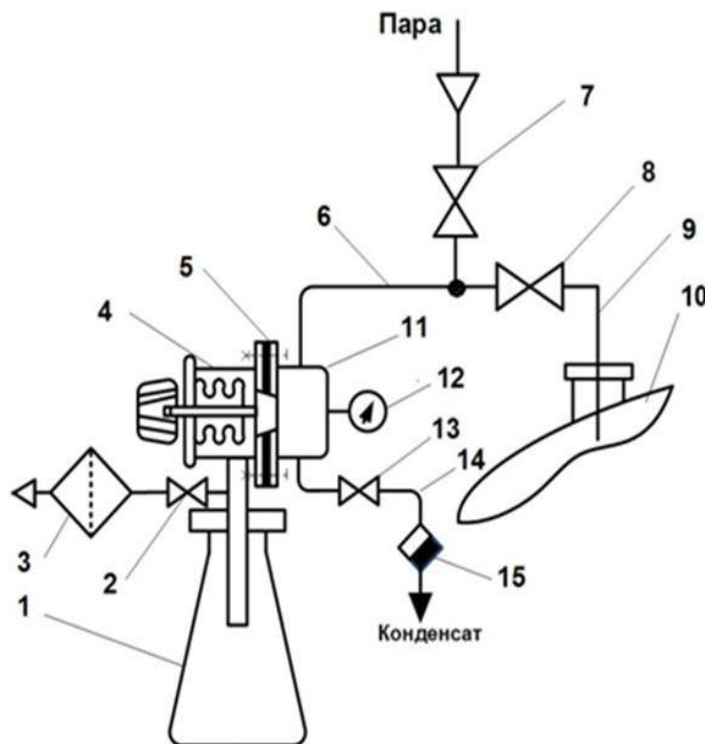


Рис.6.30. Схема пристрою для відбору проб закритим способом з дотриманням асептичних умов: 1 – колба для проби; 2, 7, 8, 13 – вентилі; 3 – повітряний фільтр; 4 – пристрій для відбору проб; 5 – прокладка; 6, 9, 14 – трубопроводи; 10 – ферментер; 11 – камера; 12 – манометр; 15 – відводчик конденсату

Після витримування подачу пари припиняють, закриваючи вентиль 7, і видаляють пару, що залишилася, у трубопроводах 6, 14, контролюючи за манометром 12 зниження тиску в камері 11 до атмосферного. При відборі проби першу порцію рідини, що застоюлася у трубі 9, перетискають і видаляють через вентиль 13, а потім відкривають вентилі 4, 2 і заповнюють колбу 1 свіжою порцією рідини.

Такий пристрій можна використовувати не тільки для відбору проб рідини з апарату, але й для подачі того або іншого матеріалу в апарат з дотриманням асептичних умов (посівного матеріалу, компонентів підживлюючого розчину тощо). Широке впровадження подібних пристроїв у практику дозволяє істотно підвищити асептичну культуру мікробіологічних виробництв та їхню ефективність. На рис.6.31. показано сучасний пристрій для відбору проб.



Рис.6.31. Схема промислового закритого пристрою для відбору проб: 1 – впускний клапан пари; 2 – пробовідбірний клапан Vesta ®; 3 – впускний клапан пляшки (колби); 4 – вихідний клапан з паровим захистом; 5 – регулюючий вихідний клапан

Конструкція клапану для відбору проб Vesta ® представлена на рис.6.32.



Рис.6.32. Загальний вигляд клапана для відбору проб Vesta ®

6.3. Техніко-економічний підхід до вибору режимів стерилізації

Вище були наведені методи розрахунку режимів термічної стерилізації, виходячи з того, що необхідне значення критерію асептичної ефективності K_{ac} , що характеризує ймовірність нестерильності, заздалегідь задано. Найчастіше приймають $K_{ac} = 0,001$, тобто допускають одну нестерильну операцію з тисячі. Режим стерилізації, природно, залежить від величини асептичної ефективності. Так, якщо K_{ac} задати рівним 0,01, а не 0,001, то можна буде вибрати більш м'який режим стерилізації, наприклад скоротити її тривалість. У зв'язку із цим виникає питання щодо необхідності обґрунтованого вибору значення K_{ac} , особливо для розрахунку режимів стерилізації поживних середовищ, коли жорсткі режими термообробки знижують якість середовища. Для цього потрібно порівняти втрати, пов'язані з можливою появою в апараті сторонньої мікрофлори через недостатню стерилізацію, із втратами, пов'язаними зі зниженням якості середовища від надмірної стерилізації.

Так само варто підходити до вирішення питань забезпечення асептичних умов культивування, стерилізації повітря, удосконалення технологічної схеми та конструкції ферментаційних апаратів, вибору технологічних режимів. Зниження частки нестерильних операцій, як правило, вимагає додаткових витрат (капітальних і експлуатаційних). Оптимальну величину критерію асептичної ефективності можна обирати за техніко-економічними показниками, наприклад, за величиною наведених витрат:

$$B_{\text{пр}} = \frac{B_e + E_n K}{\Pi}, \quad (6.11)$$

де B_e , – експлуатаційні витрати, грн/рік; E_n – нормативний коефіцієнт економічної ефективності капітальних вкладень, рік⁻¹; K – капітальні витрати, грн.; Π – річний випуск продукції, кг.

Порушення стерильності операцій приводить до зменшення випуску продукції й впливає на величину витрат. У цьому випадку, з одного боку, для забракованих партій культуральної рідини не потрібно проводити операції виділення та очищення цільового продукту, але, з іншого боку, потрібно збільшити витрати на обробку відходів. Жорсткість режиму стерилізації поживного середовища також приводить до зменшення випуску продукції через зниження якості середовища й до деякого збільшення витрат на стерилізацію. Таким чином, знаючи залежності $\Pi(b_{ac})$, $B_e(b_{ac})$, $K(b_{ac})$, можна одержати функцію $B_{\text{пр}}(b_{ac})$ і визначити оптимальну величину показника асептичної ефективності, що відповідає мінімуму наведених витрат.

Необхідно відзначити, що припустиме число нестерильних операцій потрібно вибирати індивідуально для конкретного виробництва, оскільки оптимальна величина b_{ac} залежить від вартості сировини та устаткування, від необхідності додаткових витрат на обробку запірної арматури і контроль герметичності, від ступеня зниження продуктивності процесу через надмірну

стерилізацію тощо. Аналіз залежності $V_{пр}$ або іншого техніко-економічного показника ефективності дозволяє визначити характер його зміни при жорсткості або пом'якшенні вимог до якості стерилізації і прийняти економічно обґрунтоване рішення.

Запитання для перевірки

1. Назвіть та охарактеризуйте основні методи забезпечення асептичних умов біотехнологічних виробництв.
2. Що таке критерій стерилізації, як він визначається?
3. Які зони біореактора й пов'язаних з ним комунікацій найскладніше піддаються термічній стерилізації? Поясніть причини та запропонуйте шляхи вирішення проблеми.
4. Поясніть, чому фільтр із порами діаметром 20 мкм може затримувати частки розміром від 1 до 10 мкм при фільтрації повітря. Як це відбувається?
5. Як здійснюється підготовка повітря для аерації в біотехнологічних виробництвах?
6. Охарактеризуйте методи перевірки герметичності апаратів.

Список літератури до розділу 6

1. Сидоров, Ю.І. Процеси і апарати мікробіологічної та фармацевтичної промисловості. Технологічні розрахунки. Приклади і задачі. Основи проектування: Навч. посібник. /Ю.І. Сидоров, Р.Й. Влязло, В.П. Новіков – Львів: «Інтелект-Захід», 2008. – 736 с.
2. Стасевич, М.В. Обладнання технологічних процесів фармацевтичних та біотехнологічних виробництв // М.В. Стасевич, А.О. Миляннич, І.О. Гузьова, І.Р. Букчевич, та інш. – Вінниця: НОВА КНИГА, 2012. – 407 с.
3. Okafor, N., Okeke, B.C. Modern Industrial Microbiology and Biotechnology (2nd ed.). CRC Press., 2017. – 488 p.

Розділ 7. ОСНОВНІ ЕТАПИ ВИРОБНИЦТВА ПРОДУКТІВ МІКРОБНОГО СИНТЕЗУ. ПЕРЕДФЕРМЕНТАЦІЙНІ ПРОЦЕСИ

Мікробіологічне виробництво, умовно розділено на декілька блоків, що визначається послідовністю їх виконання та дозволяє виявити існуючі між ними зв'язки. Ця послідовність покладена в основу технологічної схеми виробництва і представляє собою блок–схему. До таких блоків відносять:

- роботи підготовчого характеру (передферментаційні процеси) до цих робіт належать стадії санітарної підготовки виробництва, приготування та стерилізації поживного середовища, підготовки обладнання та комунікацій, підготовки аераційного повітря тощо – стадії допоміжних робіт (ДР);

- роботи основного виробництва, до цих робіт належать підготовка посівного матеріалу, виробничий біосинтез, виділення цільового продукту (біологічно-активної речовини) та інше – стадії технологічного процесу (ТП);

- в окремий блок виділені роботи із пакування маркування та відвантаження готової продукції (стадії ПМВ);

- роботи екологічного забезпечення: до цих робіт належать етапи переробки відходів виробництва (стадії ПВ) та роботи по знешкодженню повітряних, рідких, твердів викидів (ЗВ).

Типова загальна технологічна схема біотехнологічного виробництва має вигляд, представлений на рис.7.1.

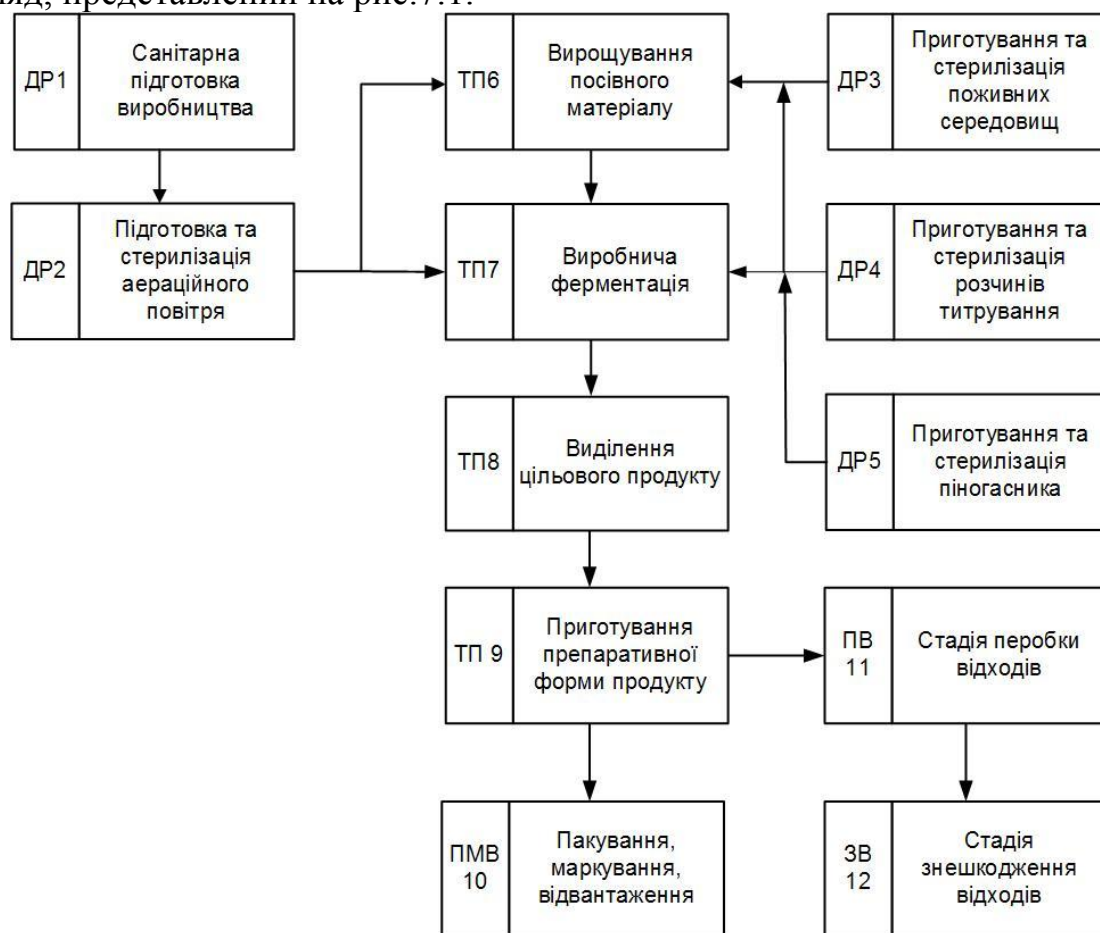


Рис.7.1. Типова загальна технологічна схема біотехнологічного виробництва

Опис стадій ДР1 та ДР2 детально розглянуті у розділі 6.

7.1. Приготування та стерилізація поживних середовищ

Стадія допоміжних робіт приготування поживних середовищ (ДР3 згідно рис. 7.1) передбачає проведення наступних операцій:

Зберігання компонентів поживних середовищ та допоміжних речовин.

Контроль показників якості.

Дозування та приготування композиції компонентів поживного середовища.

Термічна або стерилізуюча фільтрація (за необхідності).

Вибір способу підготовки поживного середовища визначається типом біотехнологічного виробництва. І в цьому випадку беруть до уваги:

- тип культивування (поверхневе або глибинне);
- тоннажність виробництва.
- рівень асептичності стадії біосинтезу (можливі варіанти: *асептичне, умовно асептичне та не асептичне*);
- термолабільність середовища взагалі або його компонентів (субстратів);
- спосіб стерилізації (періодичний або безперервний);

7.1.1. Зберігання компонентів поживних середовищ та допоміжних речовин

Сухі компоненти для приготування поживних середовищ зберігають в основній виробничий будівлі або у спеціальному складському приміщенні. Для зберігання використовують *силосні бапти (силоси), резервуари, збірники*.

На заводи сировина надходить в цистернах, мішках, коробах, бочках тощо.

Всі ці продукти зберігають на центральних заводських складах, елеваторних банках, бункерах, підземних сховищах тощо. Звідси заводськими транспортними засобами сировину спрямовують в цехові склади і сховища.

Приміщення для зберігання сировини, допоміжних матеріалів, готової продукції і пакування матеріалів повинні бути достатньо просторі, правильно освітлені, обладнанні так, щоб забезпечити необхідний температурний режим, умови чистоти і сухості для розміщених матеріалів. Ці приміщення повинні мати необхідну кількість шаф і полиць. Зберігати сировину треба в сухих прохолодних приміщеннях, розміщених так, аби подача сировини у виробничі цехи була зручною. Складські приміщення повинні мати спеціальні майданчики для розвантаження, навіси для захисту від атмосферних осадів.

Заводські складські приміщення облаштовуються *резервуарами*. Це ємності великого об'єму від 100 до 10 000 м³, що забезпечують

централізоване зберігання рідких компонентів. Перевагою цього способу зберігання сировини є усереднення складу джерел поживних середовищ, що забезпечує отримання якісної готової продукції. Для зберігання сипких матеріалів використовують силоси висотою від 10 до 30 м. Переміщення різних матеріалів і сировини у межах підприємства здійснюється за допомогою пневмотранспорту або транспортних засобів.

Зовнішні транспортні зв'язки підприємства представлені стандартними транспортними мережами, а транспорт на площі промислового майданчика представлений трубопроводами, повітропроводами, системами пневмотранспорту, для здійснення перевезень між цехами використовується система електротранспорту.

За умови великої продуктивності підприємства поживні середовища можна готувати централізовано для всього підприємства в окремій будівлі або у приміщенні, розташованому в безпосередній близькості до цеху стерилізації. Вибір будівельного рішення із розміщення допоміжних цехів на промисловому майданчику залежить від багатьох чинників, не тільки від продуктивності підприємства.

7.1.2. Контроль показників якості: біохімічний та мікробіологічний контроль стадій підготовки поживного середовища

Кожну партію сировини (висівки, макуха, крохмаль, борошно, буряковий жом та ін.), що поступила, піддають мікробіологічному контролю на мікробну забрудненість. На МПА та сусло-агарі проводять посіви сировини після відповідного розведення. Через 24...72 год проводять підрахунок колоній і визначають ступінь мікробної забрудненості даної сировини мікроорганізмами.

Залежно від мікробіологічної забрудненості призначається режим стерилізації.

Кожна партія сировини, що поступає, може значно відрізнятися від раніше прийнятої, тому для кожного нового постачання проводять біохімічний контроль сировини.

Сировину аналізують на вміст тієї поживної речовини, джерелом якої воно є. Так, у висівках, борошні визначають вміст крохмалю, у буряковому жомі, вижимках плодів та овочів – пектину. Визначають також вміст у сировині азоту, фосфору й інших з'єднань. Особливо ретельно ведуть дослідження складу кукурудзяного екстракту, оскільки це продукт нестабільного складу.

Для зменшення лаг-фази процесу вирощування посівного матеріалу як результату адаптації робочої культури біологічного агента до кожної партії сировини (компонентів поживного середовища), обов'язково проводять пробне культивування в лабораторних ферментерах. Процес пробної ферментації проводять доти, доки не будуть досягнуті стабільні показники продуктивності робочої культури за цільовим продуктом. Тільки після цього робоча культура, адаптована до даної партії сировини, передається у

виробничий процес.

Після всебічного вивчення партії сировини, що поступила, остаточно коректується та встановлюється дозування компонентів і порядок приготування поживного середовища.

7.1.3. Дозування та приготування композиції компонентів поживного середовища.

Дана стадія включає в себе наступні операції:

- транспортування компонентів поживного середовища з місць зберігання (складські приміщення) до відділення приготування поживного середовища, де встановлені реактори-змішувачі. За умови невеликої потужності підприємства сипкі компоненти ПС, як правило, знаходяться в мішках, транспортують на піддонах електронавантажувачами; рідкі – від резервуарів до місця призначення – трубопроводами за допомогою стисненого повітря або насосами;

- приготування заданого складу ПС шляхом зважування сипких компонентів та їх дозування при завантаженні у реактор-змішувач;

- подача рідких компонентів поживного середовища та води; розмішування та розчинення.

Способи приготування поживних середовищ різні і залежать від складу компонентів, що входять у середовище. Для одних компонентів потрібна попередня обробка: подрібнення, розварювання, екстрагування, оцукрювання (крохмалевмісних продуктів) тощо. Наприклад, у виробництві спирту з крохмалевмісних продуктів останні треба оцукрювати за допомогою природних амілолітичних ферментів солоду або бактеріальних або грибних амілолітичних ферментних препаратів. Використання меляси у виробництві БАР вимагає її попереднього очищення, оскільки до складу меляси входить кальцій, що інгібує ріст дріжджів. Тому *освітлення меляси* є обов'язковим етапом у процесі її підготовки як компонента ПС для культивування дріжджів. Для видалення з меляси кальцію її підкислюють 1н розчином сульфатної кислоти до рН 4,0...4,4, попередньо розбавивши питною водою (1:1 або 1:2). При подальшому центрифугуванні (сепарації, освітленні) цього розчину утворюється осад, що містить сіль CaSO_4 . Отже, для процесу підготовки меляси передбачають збірник для розведення меляси та центрифугу для відокремлення осаду.

Залежно від властивостей компонентів середовище можна готувати розчиненням або суспендуванням початкових матеріалів у холодній або гарячій воді. Для приготування середовища можна використовувати декілька невеликих апаратів, в одному з яких готують водний розчин екстракту, в іншому – клейстеризують (заварюють) крохмаль, борошно або розчиняють солі. В основному ж апараті проводять тільки змішування цих напівпродуктів у певних співвідношеннях, доводять суміш до заданого об'єму водою і стерилізують. Необхідність проведення процесу приготування поживного середовища із застосуванням підігріву (заварювання борошна, клейстеризація крохмалю) визначається метою:

зруйнувати α - та β -глюкани – щільні зерноподібні внутрішньоклітинні утворення крохмалю. Без нагрівання (розварювання, клейстеризації) глюкани малодоступні для мікроорганізмів і залишаються неспожитими.

У процесі приготування поживного середовища необхідно пам'ятати, що початкова концентрація субстрату (джерела вуглецю) у середовищі не повинна перевищувати 40...60 г/л. Якщо для одержання певного цільового продукту треба, наприклад, 300 г/л глюкози, то спочатку у середовище вноситься тільки 60 г/л, а решта (240 г/л) – дробно певними порціями у процесі культивування. У цьому разі необхідно передбачити у технологічній схемі *приготування і стерилізацію підживлювального розчину*.

Окремо від солей кальцію і магнію готують розчини фосфорних солей (для унеможливлення утворення нерозчинних фосфатів кальцію і магнію під час стерилізації). Технологічним прийомом, який дозволяє уникнути використання окремого обладнання для приготування фосфорновмісних солей, є підкислення. Можна всі солі розчиняти разом (в одному реакторі-змішувачі), але перед стерилізацією довести рН до 4,5...5,0 (у цьому разі осаді фосфатів кальцію і магнію не утворюються). Після охолодження середовища і подачі його в ферментер (посівний апарат) перед внесенням посівного матеріалу рН треба довести до оптимального рівня. У разі використання такого способу приготування і стерилізації поживного середовища у технологічній схемі (допоміжні роботи) необхідно передбачити приготування відповідних розчинів кислоти (зазвичай 6% соляна кислота) і лугу (зазвичай розчин аміаку чи 6 % гідроксид натрію). При цьому слід враховувати, що розчин соляної кислоти не потребує стерилізації (добавляється у нестерильне поживне середовище), а лужні компоненти мають бути стерильними (додаються вже після стерилізації).

Необхідно враховувати також те, що використання для підлучення розчину аміаку недопустиме у разі біосинтезу вторинних метаболітів, утворення яких залежить від співвідношення вуглець/азот у середовищі культивування продуцента (антибіотики, екзополісахариди, поверхнево-активні речовини, гібереліни).

Ці підготовчі операції проводять у спеціальних ємностях і у спеціальних апаратах. Підготовлені компоненти середовища (подрібнена макуха, борошно, картопля і частково розбавлений кукурудзяний екстракт) подають при постійному перемішуванні через об'ємно-вагові дозуючі пристрої в ємність для приготування середовища. Рекомендується точно встановлювати послідовність введення у суміш окремих компонентів. Ця вимога перш за все стосується мінеральних солей при приготуванні середовища для глибинного культивування.

Якщо потужність підприємства невелика, готувати середовище можна в одній ємності, але при певній послідовності операції.

Цех приготування поживного середовища на великих підприємствах зазвичай має в своєму розпорядженні цілу систему апаратів різної ємності, в яких готують окремі компоненти поживного середовища.

Отже, з огляду варіантів приготування компонентів поживного середовища існують два варіанти технологічного рішення:

- приготування поживного середовища, готового до використання;
- приготування поживного середовища у вигляді концентрату, що потребує розведення перед застосуванням.

Як обов'язковий елемент технологічного рішення використовують установку фільтрів перед насосами при транспортуванні компонентів ПС для затримки механічних часток, що можуть ушкодити насоси.

7.1.4. Стерилізація компонентів поживного середовища

Склад і властивості поживного середовища, а також спосіб культивування мікроорганізмів-продуцентів визначають вибір способу стерилізації і устаткування для цього важливого технологічного процесу.

Оскільки спосіб стерилізації впливає на якість отримуваної продукції, необхідно ретельно аналізувати кожний із можливих методів та підібрати найоптимальніший із них.

Специфіка цього процесу повинна враховувати особливості поживного середовища: термолабільність вуглецевого та азотного компонентів, необхідності високого рівня асептичності.

Вибір способу стерилізації обумовлюється властивостями поживного середовища і, як правило, серед фізичних способів обирають термічну стерилізацію водяною насиченою парою, а для термолабільних компонентів поживного середовища використовують стерилізуючу фільтрацію.

З метою максимального збереження поживних якостей компонентів весь склад поживного середовища розбивають на так звані композиції, які відрізняються між собою складом, хімічною взаємодією складових і, як наслідок, температурою стерилізації.

Процеси періодичної стерилізації рідких середовищ здійснюються або в спеціальних апаратах-стерилізаторах або безпосередньо у ферментерах після їх завантаження.

Температура та тривалість стерилізації залежать від складу поживного середовища. Так, молоко, желатинові середовища та середовища, які містять вуглеводи, деякі вітаміни та амінокислоти тощо стерилізують при температурі 112...115 °С впродовж 20...30 хв, м'ясо-пептонні середовища – при 120 °С впродовж 20...30 хв, розчини солей – при 131 °С впродовж 40...60 хв.

Необхідно пам'ятати, що *вибір режиму стерилізації речовини визначається за температурою її розкладання*. Якщо у середовищі є кілька термолабільних компонентів (глюкоза, дріжджовий автолізат), їх можна готувати в одному розчині. Якщо об'єм розчину (компонента середовища) невеликий (наприклад, 5...10 л), його стерилізують в автоклаві.

Якщо стерилізація середовища відбувається безпосередньо у ферментері (посівному апараті), то його приготування здійснюється в окремому збірнику (реакторі-змішувачі), оснащеному перемішуючим пристроєм та сорочкою.

Якщо до складу середовища входять термолабільні повністю розчинні компоненти, стерилізувати які можна тільки стерилізуючою фільтрацією (так звана «холодна стерилізація»), то в технологічній схемі необхідно передбачити (залежно від об'єму розчину) *стерилізуючу фільтрацію*, тобто наявність *ультра-(мікро-) фільтраційної установки*.

У мікробіологічній промисловості для стерилізації великих об'ємів рідких середовищ широко застосовуються установки безперервної стерилізації УБС-5, УБС-20 і УБС-50 продуктивністю відповідно 5, 20, 50 м³/год, а також закордонні установки фірми «Де-Лаваль» і роторного типу.

У випадку проведення безперервного процесу стерилізації компоненти середовища готують в окремому реакторі і далі передають до реактора УБС. Докладніше схеми та особливості роботи установок безперервної стерилізації було розглянуто у п.п. 6.2.4.

7.1.5. Особливості приготування та стерилізації деяких компонентів поживного середовища

Як вже наголошувалось раніше, для стерилізації рідких поживних середовищ визначальним є склад компонентів, їх термолабільність та взаємодія в умовах високих температур стерилізації.

На підставі розрахунку об'єму виробничого ферментера, кількості стадій підготовки посівного матеріалу, об'єму відповідних інокуляторів (посівних апаратів), об'єму поживних середовищ для кожної стадії (див. приклад 5.4) повинні бути визначені об'єми певних композицій і здійснено вибір способу їх стерилізації (автоклав, безпосередньо в інокуляторі чи ферментері, установка безперервної стерилізації (УБС) тощо). Після цього робиться висновок про необхідність наявності у технологічній і апаратурній схемі відповідних збірників (реакторів-змішувачів) для приготування розчинів, композицій тощо.

Приклад 7.1. Обґрунтування способу підготовки та стерилізації поживного середовища для культивування *Saccharomyces cerevisiae* YEH56 (рНХА42) – продуцента ергостерину.

Максимальний синтез ергостерину (1,707 г/л за 40 год) досягається за умов росту рекомбінантного штаму *S. cerevisiae* YEH56 (рНХА42) на середовищі такого складу (г/л): початкова концентрація меляси – 20; ортофосфорна кислота – 1,68; сечовина – 6. У процесі культивування, починаючи з 10 години, через кожні 2–3 години здійснюють дробне внесення меляси до кінцевої концентрації 350 г/л. Кількість етапів підживлення:

$$n = (40-10)/3 = 10. \text{ Концентрація меляси у підживлювальному розчині – 500 г/л.}$$

Згідно розрахунків виробничий біосинтез ергостерину здійснюється у ферментері об'ємом 10 м³, що містить 5,33 м³ середовища.

Освітлення розчину меляси. До складу меляси входить кальцій, що інгібує ріст дріжджів, тому освітлення меляси є обов'язковим етапом під час приготування поживного середовища. Для видалення з меляси кальцію її підкислюють 1 н розчином сульфатної кислоти до рН 4,0...4,4, попередньо розбавивши питною водою (1:1). При подальшому центрифугуванні (сепарації, освітленні) цього розчину утворюється осад, що містить сіль CaSO₄. Тому в апаратурній схемі передбачено збірник для розведення меляси та центрифугу для відділення осаду.

Приготування розчину сульфатної кислоти для підкислення меляси. 1 н розчин сульфатної кислоти, необхідної для підкислення розчину меляси, готується у реакторі-змішувачі об'ємом 250 л.

Приготування і стерилізація поживного середовища

1. Розрахунок кількості підживлювального розчину

У відповідності з прийнятим складом поживного середовища для виробничого біосинтезу загальні витрати компонентів на визначений

Об'єм поживного середовища $V_{псф} = 5,33 \text{ м}^3$

Початкова концентрація меляси у ПС $C_{п} = 20 \text{ кг/м}^3$

Кінцева концентрація меляси у ПС $C_{к} = 350 \text{ кг/м}^3$

Концентрація меляси у розчині підживлення $C_{пж} = 500 \text{ кг/м}^3$

Кількість підживлень $n = 10$

1.1. Розрахунок початкового об'єму поживного середовища і розчину підживлення (за правилом хреста)

$$\begin{array}{ccc} C_{пж} & \nearrow & C_{пж} - C_{к} \\ & C_{к} & \\ C_{п} & \searrow & C_{к} - C_{п} \end{array} \quad \Delta 1 = C_{пж} - C_{к} = 500 - 350 = 150; \Delta 2 = C_{к} - C_{п} = 350 - 20 = 330$$

1.2. Визначаємо співвідношення $C_{пв} = \Delta 1 : \Delta 2 = 150 / 330 = 0,46$

$C_{пс} : C_{пр} = 1$ частина поживного середовища (ПС) : 0,46 підживлювального розчину (ПР)

1.3. Початковий об'єм поживного середовища $V_{пс1}$,

$$V_{пс1} = V_{пс} / (1 + 1/C_{пв}) = 5,33 / (1 + 1/0,46) = 1,68 \text{ м}^3$$

1.4. Об'єм розчину підживлення $V_{рп}$,

$$V_{рп} = V_{пс1} / C_{пв} = 1,68 / 0,46 = 3,65 \text{ м}^3$$

$$\text{Перевірка } V_{пс} = V_{пс1} + V_{рп} = 1,68 + 3,65 = 5,33 \text{ м}^3$$

1.5. Розрахунок об'єму розчину на одноразове підживлення $V_{рп1}$, л та маси меляси $m_{с1}$, кг

$$V_{рп1} = V_{рп} / n = 3,65 / 10 = 0,365 \text{ м}^3$$

$$m_{с1} = V_{рп1} \cdot C_{пж} = 0,365 \cdot 500 = 183 \text{ кг}$$

1.6. Перевірка розрахунку за сумарною кінцевою масою меляси

$$m_{к} = V_{псф} \cdot C_{к} = 5,33 \cdot 350 = 1866 \text{ кг}$$

$$m_{к} = V_{пс1} \cdot C_{п} + n \cdot m_{с1} = 1,68 \cdot 20 + 10 \cdot 183 = 34 + 1830 = 1864 \text{ кг}$$

2. Визначення кількості компонентів ПС на початковий об'єм $V_{пс} = 1,68 \text{ м}^3$

Початковий склад ПС, кг/м^3 :

Меляса $G_1 = 20,0$

Ортофосфорна кислота $G_2 = 1,68$

Сечовина $G_3 = 6,0$

Разом: $C_{\Sigma пс} = 27,68$

$$G_{пс} = V_{пс} \cdot C_{\Sigma пс} = 1,68 \cdot 27,68 = 46,5 \text{ кг, в тому числі:}$$

$$\text{Меляса } G_1 = G_{пс} \cdot C_1 / C_{\Sigma пс} = 46,5 \cdot 20 / 27,68 = 33,6$$

$$\text{Ортофосфорна кислота } G_2 = G_{пс} \cdot C_2 / C_{\Sigma пс} = 46,5 \cdot 1,68 / 27,68 = 2,82$$

$$\text{Сечовина } G_3 = G_{пс} \cdot C_3 / C_{\Sigma пс} = 46,5 \cdot 6 / 27,68 = 10,0$$

Разом: 46,5

2.1. Розрахунок кількості води та конденсату для приготування поживного середовища для виробничого ферментера:

Кількість води визначають за наступною формулою $V_{вф} = V_{пс} - (G_{пс} / 1,1)$, л:

де $V_{пс}$ - об'єм поживного середовища в ферментері, л; $G_{пс}$ - маса компонентів поживного середовища, кг; тут для спрощення приймаємо, що густина компонентів дорівнює в середньому $\rho_{к} = 1100 \text{ кг/м}^3 = 1,1 \text{ кг/л}$

$V_{фк} = V_{вф} \cdot K_{кон}$ - розбавлення виробничого поживного середовища конденсатом пари при його стерилізації, $K_{кон}$ - частка конденсату у загальній кількості води, що йде на приготування поживного середовища.

Залежно від способу та обладнання, яке використовують для стерилізації

компонентів поживного середовища, величина $K_{\text{кон}}$ може складати:

- у разі стерилізації компонентів глухою¹ парою у колбах в автоклаві $K_{\text{кон}} = 0$
- у разі стерилізації компонентів гострою² парою безпосередньо у реакторі-змішувачі або безпосередньо у ферментері $K_{\text{кон}} = 0,1-0,15$;
- у разі стерилізації компонентів гострою парою в УБС $K_{\text{кон}} = 0,2$.

¹ – глуха пара – це пара, що контактує з продуктом через стінку, при цьому конденсат виводиться з апарата ;

² – гостра пара – це пара, яка контактує безпосередньо з продуктом і конденсується в ньому, викликаючи його розбавлення.

Кількість води необхідної для розбавлення компонентів поживного середовища буде $V_{\text{вф}} = V_{\text{пс}} - G_{\text{пс}} = 1680 - (46,5/1,1) = 1647$ л

Тоді кількість конденсату становитиме $V_{\text{фк}} = V_{\text{вф}} \cdot K_{\text{кон}} = 1647 \cdot 0,1 = 165$ л.

Кількість води, що йде на розчинення компонентів поживного середовища

$$V_{\text{вфк}} = V_{\text{вф}} - V_{\text{фк}} = 1647 - 165 = 1482 \text{ л.}$$

2.2. Розподіл ПС на композиції:

Оскільки розчин м'яса належить до термолабільних компонентів ПС, її виділяють в окрему композицію А. Готують концентрований розчин м'яси, який включає в себе 33,6 кг м'яси та 100 л питної води. Розчин м'яси готують та стерилізують в реакторі геометричним об'ємом 160 л. Кількість конденсату становить 10% від кількості води на приготування розчину м'яси - 10 л. Далі композицію А і стерилізують при $t = 112$ °С протягом 30 хв і передають до ферментера.

Композиція Б складається з ортофосфорної кислоти та сечовини. В реактор геометричним об'ємом 60 л наливають 31 л питної води, зважують на технічних вагах 2,8 кг ортофосфорної кислоти та 10 кг сечовини та додають в реактор. Вміст ретельно перемішують до розчинення компонентів і перекачують до ферментера. Потім додають 1351 л питної води і стерилізують при $t = 131$ °С протягом 40 хв. Після охолодження до композиції Б додають простерилізовану композицію А і доводять вміст до заданого значення рН.

2.3. Приготування 50 % підживлювального розчину м'яси:

Об'єм розчину підживлення $V_{\text{рп}} = 3,65 \text{ м}^3$

Концентрація м'яси у підживлювальному розчині $C_{\text{пж}} = 500 \text{ кг/м}^3$

Кількість м'яси для підживлювального розчину

$$G_{\text{пж}} = 1830 \text{ кг};$$

Для приготування та стерилізації підживлювального розчину визначаємо геометричний об'єм реактора-змішувача при коефіцієнті заповнення $K_{\text{зр}} = 0,8$

$$V_{\text{рпж}} = V_{\text{рп}} / K_{\text{зр}} = 3,6/0,8 = 4,5 \text{ м}^3$$

Найближчий за стандартом об'ємом реактор $V_{\text{ср}} = 5,0 \text{ м}^3$

Уточнюємо коефіцієнт заповнення $K_{\text{зр}}$

$$K_{\text{зр}} = V_{\text{рп}} / V_{\text{ср}} = 3,6/5,0 = 0,72; \text{ що в заданих межах } (0,7-0,9).$$

Кількість води та конденсату на приготування підживлювального розчину м'яси частка конденсату при стерилізації гострою парою приймається $K_{\text{кон}} = 0,1$

$$V_{\text{врп}} = V_{\text{рп}} - (G_{\text{пж}} / \rho_{\text{к}}) = 3600 - (1830/1,1) = 1936 \text{ л}$$

$$V_{\text{крп}} = V_{\text{врп}} \cdot K_{\text{кон}} = 1830 \cdot 0,1 = 183 \text{ л}$$

Кількість води, що йде на розбавлення м'яси

$$V_{\text{вр}} = V_{\text{врп}} - V_{\text{крп}} = 1830 - 183 = 1647 \text{ л}$$

2.4. Формування композицій А, Б, В (табл. 7.1).

Для виробничого ферментера повний об'єм середовища становить $5,33 \text{ м}^3$. З нього початковий об'єм ПС складає $1,680 \text{ м}^3$ та об'єм підживлювального розчину м'яси – $3,65 \text{ м}^3$.

Підживлювальний розчин м'яси (композиція Б) готують в реакторі геометричним об'ємом $5,0 \text{ м}^3$. Попередньо закачують питну воду у кількості $1,638 \text{ м}^3$, потім додають

освітлену м'яса у кількості 1 830 кг, ретельно перемішують і стерилізують гострою парою при температурі $t = 112\text{ }^{\circ}\text{C}$ протягом 30 хв. Після охолодження готовий підживлювальний розчин м'яса через кожні 3 години у кількості 365 л перекачують до попередньо простерилізованого мірника геометричним об'ємом 500 л, встановленого біля ферментера, для проведення одноразового підживлення.

Таблиця 7.1.

**Композиції для приготування та стерилізації поживного середовища
та підживлювального розчину**

Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	Кількість для приготування 5,33 м ³ ПС, кг (л)	Композиція	Об'єм композиції, V, л
М'яса	20	34	А	144
Вода		100		
Конденсат		10		
Ортофосфорна кислота	1,68	2,8	Б	1536
Сечовина	6	10,0		
Вода на розчинення		31		
Вода до ферментера		1 343		
Конденсат		149		
Разом:		1 680		1 680
Приготування підживлювального розчину м'яса				
М'яса	500	1 830	В	3 650
Вода		1 638		
Конденсат		182		
Разом:		5 330		5 330

Згідно загальної технологічної схеми біотехнологічного виробництва (рис.7.1.) до допоміжних робіт також належать стадії ДР 4 «Приготування та стерилізація титрувальних розчинів» та ДР 5 «Приготування та стерилізація піногасника».

Титрувальні розчини готують для регуляції рН, якщо у процесі культивування змінюється рН, а також для корекції рН при приготуванні та стерилізації всіх солей (як фосфорних, так і солей кальцію, і магнію) безпосередньо у ферментаційній апаратурі). Для приготування титрувальних розчинів використовують концентровану сульфатну або сірчану кислоти та гідроксид натрію, з яких готують відповідні розчини кислоти і лугу.

Розчини готують в реакторах з сорочкою та мішалкою на всю партію виробництва. Розчини кислот не стерилізують. Розчин лугу стерилізують гострою парою при $t = 131^{\circ}\text{C}$ протягом 40 хв. Після охолодження розчин лугу та кислоти передають до мірників, встановлених біля ферментаційної апаратури для корекції рН.

Як вже було вказано (див. п.п. 4.2.3.) для руйнування піни, що

утворюється під час культивування, використовують хімічні піногасники, які в асептичних процесах потребують стерилізації. Для цього, як правило, використовують мірники з вбудованими змішувачами, куди подається глуха пара та оборотна вода для охолодження. Мірники встановлюють поблизу ферментаційної апаратури.

7.2. Устаткування та апаратура для приготування та стерилізації рідких поживних середовищ при глибинному культивуванні

Допоміжне устаткування. Ємнісне устаткування. При виробництві біологічно активних речовин необхідно здійснювати численні допоміжні операції в рамках проведення допоміжних робіт. Приготування поживного середовища супроводжується експлуатацією різних типів ємнісного устаткування і зараз варто звернути увагу на цей вид устаткування. Це тим більше актуально у зв'язку з тим, що коректний вибір устаткування як елемент проєктування, дозволяє впливати на ефективність технології.

До *допоміжних видів устаткування* належать: резервуари і збірники для зберігання рідких продуктів, реактори-змішувачі для змішування компонентів поживних середовищ, мірники рідких середовищ, збірники-приймачі для прийому і короткочасного зберігання рідких продуктів (культуральної рідини, ультраконцентратів, пермеатів), насоси для подачі рідких розчинів, дозатори, живильники сипких і рідких середовищ, машини для механічного миття устаткування, повітродувки, компресори й ін.

Тип допоміжного устаткування, матеріал для його виготовлення, одинична місткість, кількість штуцерів, люків, нагрівальних або охолоджуючих сорочок, перемішуючих пристроїв і т.п. залежать від конкретного призначення апарату, технологічних й інших вимог виробництва.

7.2.1. Ємнісне устаткування

До ємнісного устаткування, вживаного на біотехнологічних підприємствах для зберігання рідких середовищ та компонентів середовищ, належать резервуари і ємнісні апарати (збірники, мірники, реактори).

Для тривалого зберігання рідких продуктів на складах загальнозаводського зберігання застосовують *резервуари*: частіше горизонтального типу, ніж вертикального. Бурякову мелясу, кукурудзяний екстракт, метанол, етанол, ацетон і іншу сировину, необхідну для отримання продуктів мікробного синтезу, зберігають у резервуарах великої одиничної місткості – від 100 до 10 000 м³.

Для підтримання однорідності сировини резервуари забезпечені переливними трубами, розташованими на різних рівнях, і системою гомогенізації. Для адекватного представлення апаратів на апаратурній схемі потрібно пам'ятати, що резервуари забезпечені штуцерами: для завантаження сировини і подачі стисненого повітря, для манометра, для запобіжного

клапану, повітрянки, показчика рівня, спуску залишку продукту, трубою перетиснення і люками. Оскільки резервуари знаходяться на відкритому просторі загальнозаводських складів, вони, як правило, обладнані підігрівачами змішувального типу, всередину яких подається пара для розігрівання продукту в холодну пору року.

Видача рідких середовищ може здійснюватися самопливом, а також перетисненням стисненим повітрям або інертним газом при тиску від 0,3 до 1,6 МПа. На біотехнологічних підприємствах застосовуються резервуари об'ємом 1, 2, 3, 5, 10, 50, 100, 250/500, 2000 до 3000 м³ (рис. 7.2).

Для тимчасового зберігання рідкої сировини, розчинів солей, компонентів поживних середовищ, екстрактів культуральних рідин, фугатів, ультраконцентратів, пермеатів, інших проміжних продуктів виробництва, а також для здійснення деяких технологічних процесів застосовуються сталеві зварні ємнісні апарати – збірники з сорочками або без них і без механічних перемішувачів пристроїв.



Рис.7.2. Приклади резервуарів для зберігання рідких компонентів поживного середовища

Суттєвою відмінністю збірників від реакторів є відсутність мішалки у збірників. Збірники, як правило знаходяться у виробничих приміщеннях. Основними характеристиками апаратів є їх геометрична та робоча місткість, робочий тиск і матеріал, з якого апарат виготовлений. Ємнісні апарати можуть бути суцільнозварними або зі з'ємними кришками; вони можуть мати сорочки або інші внутрішні елементи для теплообміну, люки для завантаження і вивантаження, а також штуцера нетехнологічного призначення для встановлення приладів контролю і регулювання параметрів процесу. Ємнісні апарати бувають вертикального або горизонтального типу. Вертикальні місткості, як правило, мають відношення висоти до діаметру, що дорівнює 5.

Умовне позначення апаратів включає літери і цифри. Літерні позначення відповідають шифру типу корпусу апарата. Перші букви позначають: Г – горизонтальний, В – вертикальний, друга і третя букви позначають тип днища; Е – еліптичне, К – конічне, П – плоске (друга буква в позначенні вертикальних апаратів визначає нижнє днище, а третя – верхнє). Цифри після букв позначають наявність або відсутність роз'єму: 1 – суцільнозварною (без

роз'єму); 2 – роз'ємний. Наступні цифри указують на наявність внутрішніх пристроїв і обігріву: 1 – без сорочки і без внутрішніх пристроїв; 2 – з трубним пучком; 3 – з сорочкою; 4 – із змійовиком; 6 – із зануреним насосом. Цифри, що стоять після другого тире, позначають номінальний об'єм апарату (м^3), а останнє число – робочий тиск (МПа). Наприклад, позначення ГЕЕ1-2-50-06 відповідає горизонтальному апарату з еліптичними днищами, суцільнозварному, з трубним пучком, номінальним об'ємом 50 м^3 , робочим тиском в апараті 0,6 МПа.

Ємності та реактори типу ГЕЕ випускають об'ємами від $0,04$ до 200 м^3 , ВЕЕ, ВЕП – від $0,01$ до 32 м^3 , ГПП та ВПП – від $0,063$ до 100 м^3 , ВКЕ та ВКП – від $0,1$ до 100 м^3 (ці ємності можна використовувати як бункери для сипких матеріалів; кут конусу – 60° , 90° та 120°).

Основні типи ємнісної апаратури наведено на рис. 7.3.

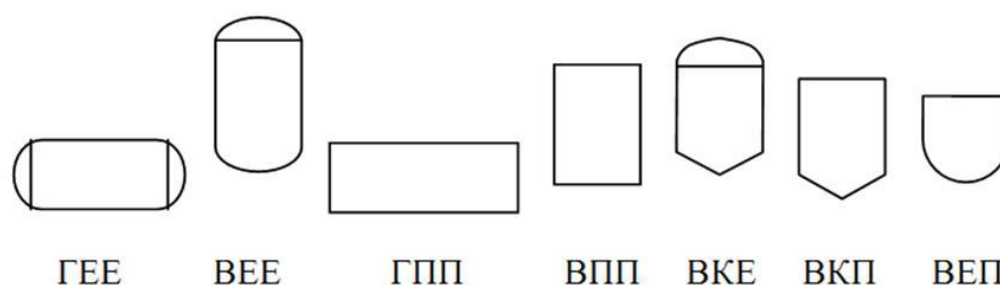


Рис.7.3.Основні конфігурації реакторно-змішувальної апаратури

Вертикальні апарати можуть бути з двома еліптичними днищами, з еліптичним днищем і кришкою місткістю від $0,01$ до 200 м^3 ; вертикальні з еліптичним і плоскими днищами, а також з еліптичним днищем і плоскою кришкою місткістю від $0,01$ до 32 м^3 ; вертикального і горизонтального типу з двома плоскими днищами, а також з плоским днищем і кришкою місткістю від $0,01$ до 100 м^3 ; вертикальні з плоскими і сферичними днищами, а також з плоским днищем і сферичною кришкою місткістю від 1 до 32 м^3 ; горизонтальні з двома конічними днищами з кутом при вершині 140° місткістю від 4 до 100 м^3 і вертикальні з конічним днищем і еліптичною кришкою місткістю від $0,04$ до 50 м^3 . Ємнісні апарати вертикального типу працюють під тиском від $0,6$ до $1,6$ МПа, горизонтальні суцільнозварні апарати з конічним невідборттованим і верхнім плоским днищами – не більше $0,07$ МПа.

Всі ємнісні апарати, за винятком вертикальних з верхніми плоскими днищами можна експлуатувати з будь-якими робочими середовищами при щільності середовища 1600 кг/м^3 , щільності теплоносія (для апаратів з сорочкою) 1200 кг/м^3 ; товщині теплоізоляції 60 мм і щільності теплоізоляції 400 кг/м^3 .

Вибір матеріалу апарату проводять з урахуванням його корозійної стійкості в робочому середовищі і впливу металу на біологічно активні речовини в процесі виробництва.

Ємнісні апарати забезпечені наступними технологічними штуцерами: входу середовища, виходу середовища, переливу, труби перетиснення, входу і виходу теплоносія, входу і виходу повітря, а також штуцерами для приладів контролю: манометра, запобіжного клапана, показчика рівня, термометра тощо.

Ємнісні апарати, усередині яких розташовані трубний пучок і занурений насос забезпечені відповідними додатковими штуцерами. Вони розраховані для експлуатації в умовах щільності робочих середовищ до 1600 кг/м^3 , щільності теплоносія – 1200 кг/м^3 і при надмірному тиску в апараті не більше $0,6 \text{ МПа}$.

Суцільнозварні апарати горизонтального типу з еліптичним днищем без внутрішнього трубного пучка розраховані для зберігання робочих середовищ щільністю 1600 кг/м^3 при надмірному тиску в апараті $0,6$; 1 і $1,6 \text{ МПа}$. Коефіцієнт заповнення об'єму апарату складає до $0,9$ від номінального об'єму.

Горизонтальні суцільнозварні апарати з конічними невідбортowanими днищами працюють при тиску до $0,07 \text{ МПа}$. Вертикальні суцільнозварні апарати з нижнім конічним (90°) невідбортovanим і верхнім плоским днищем призначені для прийому, зберігання і видачі рідких вибухо- та пожежебезпечних і нетоксичних середовищ при атмосферному тиску і можуть бути використані як відстійники. Апарати можуть бути забезпечені пристроєм як для періодичного, так і постійного підігріву або охолодження.

У основі запропонованих стандартних характеристик ємностей закладено існування двох рядів *преференційних чисел R-10* (місткість більше 1) і *R-5* (менше 1). Ряд *R-10* визначається геометричною прогресією з коефіцієнтом $K = \sqrt[10]{10} = 1,25$ (наступні об'єми визначаються з формули $V_n = V_1 \times K^{n-1}$, де $V_1 = 1,0 \text{ м}^3$; n – наступні номери членів регресії 1,2,3 ...; $V_2 = V_1 \times K^{2-1} = 1,0 \times 1,25^1 = 1,25$). Об'єми 1,0; 1,25; 1,6; 2,0; 2,5 і т. д.

Ряд *R-5* визначається геометричною прогресією з коефіцієнтом $K = \sqrt[5]{10} = 1,58$. Формула для розрахунку об'ємів аналогічна вищезгаданих при $V_1 = 0,04 \text{ м}^3$ та $n = 1 \dots 8$. Об'єми (0,06; 0,1; 0,16; 0,25; 0,4; 0,63; 1).

Приклади ємнісних апаратів вертикального та горизонтального типів показані на рис. 7.4.



Рис.7.4. Ємнісні апарати вертикального та горизонтального типу

Внутрішній об'єм корпусів не повинен відрізнятися від номінального більш ніж на 10 % у бік збільшення і на 5 % – у бік зменшення.

За внутрішнім об'ємом апарату визначають діаметр і висоту, які також повинні відповідати стандарту (ГОСТ 9617 – 76); внутрішній діаметр судини або апарату, що виготовляється із сталевих листів або поковок, слід вибирати з ряду (мм): 400, (450), 500, (550), 600, (650), 700, 800, 900, 1000, (1100), 1200, (1300), 1400, (1500), 1600, (1700), 1800, (1900), 2000, 2200, 2400, 2500, 2600, 2800, 3000, 3200, 3400, 3600, 3800, 4000, 4500, 5000, 5600, 6300, 7000, 7500, 8000, 8500, 9000, 9500, 10000, 11000, 12000, 14000, 16000, 18000, 20000. Розміри в дужках допускається застосовувати лише для обігріваних або охолоджуваних сорочок судин і апаратів.

Довжини обичайок корпусів судин і апаратів, зокрема проміжні розміри, вибирають з наступного ряду (мм): 60, 80, 100, 120, 140, 160, 180, 200, 220, 250, 280, 320, 360, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 800, 900, 1000, 1100, 1250, 1400, 1600, 1800, 2000, 2200, 2500, 2800, 3200, 3600, 4000, 4500, 5000, 5500, 6000, 6500, 7000, 7500, 8000, 8500, 9000, 9500, 10000, 11000, 12000, 13000, 14000, 15000, 16000, 17000, 18000, 19000, 20000, 21000, 22000, 23000, 24000, 25000, 26000, 27000, 28000, 29000, 30000.

Розміри корпусів стандартизовані, їх значення можна знайти в додатку до розділу 7.

Вибір ємності устаткування проводять, виходячи з добового потоку рідини, що переробляється, тривалості операції (для періодичного процесу) або швидкості процесу (для безперервного процесу). У процесі вибору об'єму і кількості апаратів слід враховувати їх габаритні розміри, виробничі площі, які має в своєму розпорядженні підприємство, можливість технологічного маневрування, наявність паралельних потоків.

Збірники – це ємності без перемішувачів. Збірники встановлюють між апаратами різних технологічних стадій виробництва з метою підвищення коефіцієнта використання основного технологічного устаткування, забезпечення ритмічності його роботи, а також для сполучення безперервних і періодичних стадій. Ємності збірників, сполучені між собою у

вигляді паралельних збірок, виконують роль ланки тимчасового запізнювання, наприклад, для накопичення культуральної рідини перед її подачею на упарювання. Вміст збірників передається на наступні технологічні стадії, як правило, за допомогою насосів або надлишковим тиском стисненого повітря.

Номінальна місткість судин і апаратів визначається їх внутрішнім об'ємом без урахування об'єму кришок, що відкриваються, штуцерів і люків. Наявність захисної футеровки, покриттів і внутрішніх пристроїв при розрахунку внутрішнього об'єму не враховується.

Номінальна місткість збірників:

$$V_n = V_p / K$$

де V_p — об'єм рідини, що завантажується у збірник м^3 ; K — коефіцієнт заповнення збірника (рівний 0,7...0,9).

Номінальну місткість (м^3) циліндричних апаратів і ємностей, що виготовляються з металевих матеріалів і пластичних мас, слід вибирати з наступного ряду (ГОСТ 13372 –78): 0,01; 0,016; 0,025; 0,040; 0,063; 0,100; 0,125; 0,160; 0,200; 0,250; 0,320; 0,400; 0,500; 0,630; 0,800; 1,00; 1,25; 1,60; 2,00; 2,50; 3,20; 4,00; 5,00; 6,30; 8,00; 10,0; 12,5; 16,0; 20,0; 25,0; 32,0; 40,0; 50,0; 63,0; 80,0; 100; 125; 160; 200.

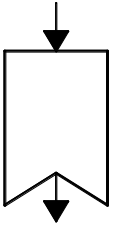
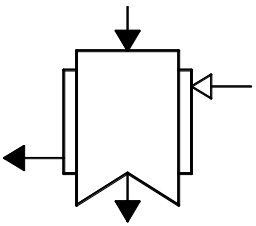
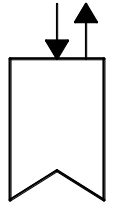
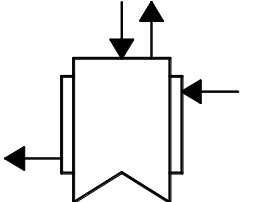
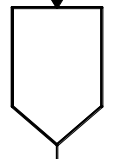
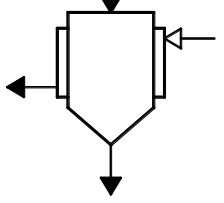
Умовні графічні зображення деяких типів збірників на апаратурній схемі згідно ГОСТ 64-043 – 87 «Умовні графічні зображення технологічного обладнання, що використовується в хіміко-фармацевтичній промисловості» представлено в таблиці 7.2.

Приклади деяких видів збірників зображені на рис. 7.5.



Рис.7.5. Види збірників

**Умовні графічні зображення деяких типів збірників на апаратурній
схеми згідно ГОСТ 64-043 – 87 «Умовні графічні зображення
технологічного обладнання, що використовується в хіміко-
фармацевтичній промисловості»**

11. Збірники		
11.1	Збірники вертикальні ЗВ	
11.1. 1	Збірники ЗВ-1, що працюють під змінним тиском: а) атмосферно-вакуумним, без сорочки, з нижнім спуском продукту – ЗВ-1.1 б) атмосферно-вакуумним, з сорочкою, з нижнім спуском продукту – ЗВ-1.2 в) атмосферно-вакуумним, без сорочки, з трубою перетиснення – ЗВ-1.3 г) атмосферно-вакуумним, з сорочкою, з трубою перетиснення – ЗВ-1.4	   
	д) атмосферним і вищим за атмосферний, без сорочки, з нижнім спуском продукту – ЗВ-1.5 е) атмосферним і вищим за атмосферний, з сорочкою, з нижнім спуском продукту – ЗВ-1.6	 

Мірники призначені для прийому, зберігання і видачі рідин і розраховані на максимальний робочий тиск до 0,6 МПа. В мікробіологічному виробництві використовують для подачі у ферментаційну апаратуру

титрувальних розчинів для регуляції рН, а також піногасника.

Залежно від температурного режиму апарати можуть бути з сорочкою або без сорочки. Корпус апаратів виготовляють з вуглецевої сталі ВМСт3 або корозієстійких сталей Х18Н10Т, 17Н13М2Т, ОХ22Н5Т, а також з двошарової сталі.

Ємність мірників, як правило, невелика. Встановлюють їх поблизу ферментаційної апаратури. Вміст мірника передається самоплином, стисненим повітрям вакуумом, або насосом. Умовні графічні зображення деяких типів мірників на апаратурній схемі згідно ГОСТ 64-043 – 87 представлено в таблиці 7.3. Загальний вигляд мірника представлено на рис.7.6.

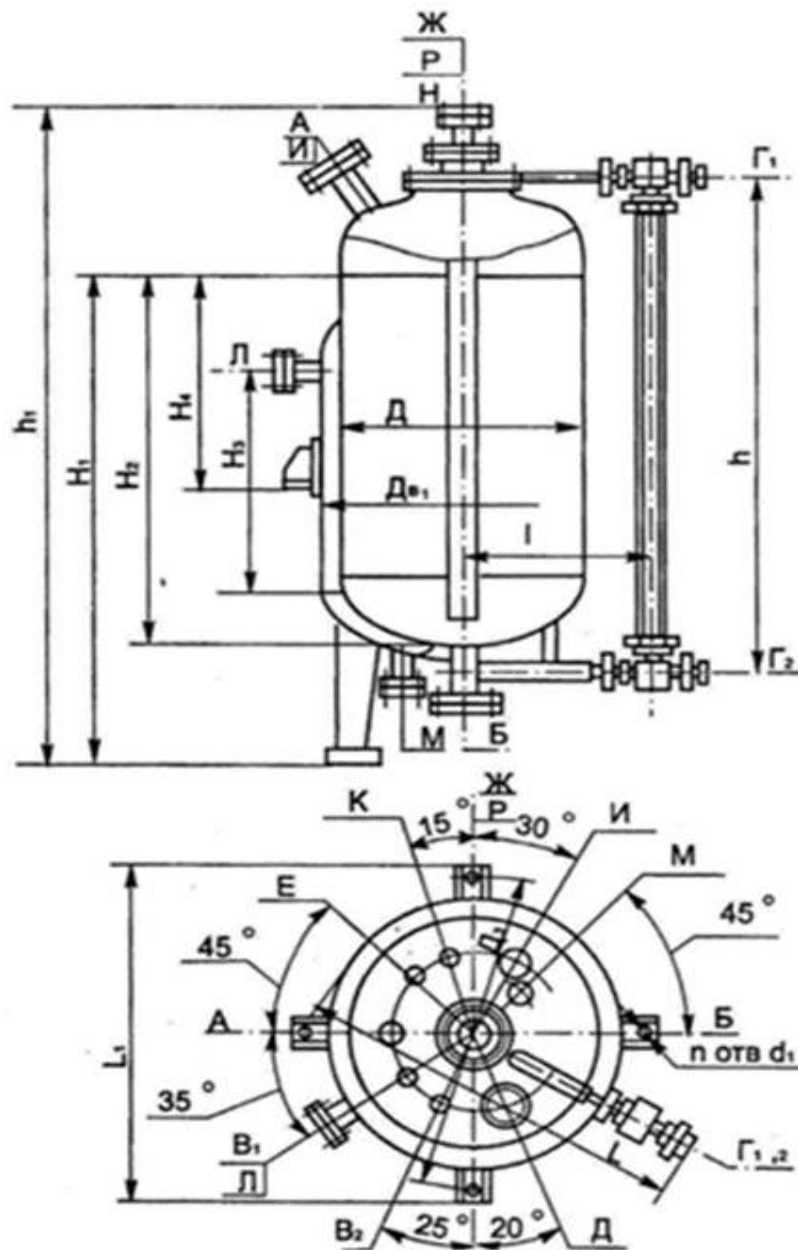
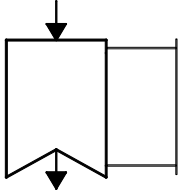
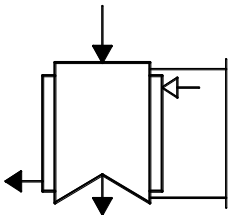
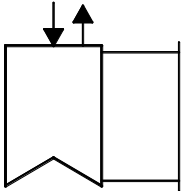
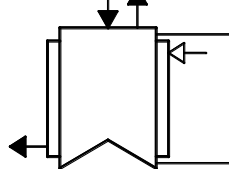
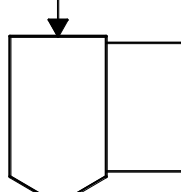
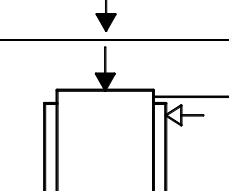
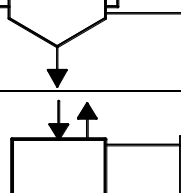
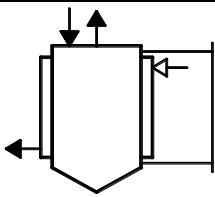


Рис. 7.6. Будова мірника

**Умовні графічні зображення деяких типів мірників на апаратурній
схеми згідно ГОСТ 64-043 – 87 «Умовні графічні зображення
технологічного обладнання, що використовується в хіміко-
фармацевтичній промисловості»**

13. Мірники		
13.1	Мірники М1, що працюють під змінним тиском: а) атмосферно-вакуумним, без сорочки, з нижнім спуском продукту – М-1.1	
	б) атмосферно-вакуумним, з сорочкою, з нижнім спуском продукту – М-1.2	
	в) атмосферно-вакуумним, без сорочки, з трубою перетискування – М-1.3	
	г) атмосферно-вакуумним, з сорочкою, з трубою перетискування – М-1.4	
	д) атмосферним, вищим за атмосферний, без сорочки, з нижнім спуском продукту – М-1.5	
	е) атмосферним, вищим за атмосферний, з сорочкою, з нижнім спуском продукту – М-1.6	
	ж) атмосферним, вищим за атмосферний, без сорочки, з трубою перетискування – М-1.7	

1	2	3
	з) атмосферним, вищим за атмосферний, з сорочкою, з трубою перетискування – М-1.8	

Реактори. Апарати з механічними перемішуючими пристроями – *реактори* застосовуються в біотехнології для проведення різних хімічних реакцій (наприклад, нейтралізація, підкислення), для інтенсифікації масо- і теплообміну, а також для отримання суспензій, емульсій і сумішей твердих речовин. За призначенням вони використовуються як змішувачі для приготування розчинів компонентів поживних середовищ, збірники культуральної рідини, місткості для змішування рідин із стабілізаторами або захисними засобами тощо.

Для періодичної стерилізації компонентів (композицій) поживного середовища, як правило, використовують реактори з перемішуванням, обладнані сорочкою або внутрішніми змійовиками, коли небажана подача гострої пари безпосередньо у вміст реактора (наприклад, стерилізація піногасника).

Для приготування поживних середовищ використовують стандартні реактори-змішувачі, які за конструкціями мало відрізняються від розглянутих ферментерів з перемішувальними пристроями, оболонками або змійовиками, хоча і не мають пристроїв для аерації. Використовують різноманітні за формою ємності реакторів-змішувачів: вертикальні та горизонтальні циліндри з еліптичним днищем та кришкою (ВЕЕ та ГЕЕ), вертикальні з конічним днищем та еліптичною (ВКЕ) або плоскою (ВКП) кришкою, з еліптичним днищем та плоскою кришкою (ВЕП), з плоскими дном та кришкою (ВВП) (див. рис.7.3). Кришки апаратів можуть закріплюватись на корпусах за допомогою фланців і зніматись або приварюватись до корпусу.

Об'єми апаратів, як і ферментерів, стандартизовані згідно з преференційними рядами R–10 та R–5.

Слід зазначити, що, на відміну від ферментерів, відношення висоти ємності реактора-змішувача до діаметра не перевищує 1,5...2, тому апарати ВЕЕ з відношенням більше вказаного значення встановлюють тільки горизонтально (ГЕЕ).

Загальний вигляд типових реакторів-змішувачів представлено на рис.7.7 – 7.9. Умовні графічні зображення деяких типів реакторів на апаратурній схемі згідно ГОСТ 64-043 представлено в таблиці 7.4.

Таблиця 7.4

**Умовні графічні зображення деяких типів реакторів на апаратурній
схеми згідно ГОСТ 64-043 – 87 «Умовні графічні зображення
технологічного обладнання, що використовується в хіміко-
фармацевтичній промисловості»**

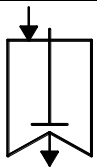
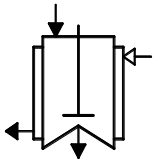
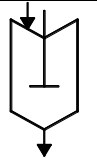
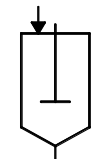
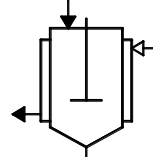
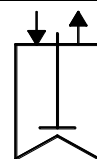
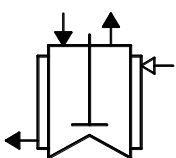
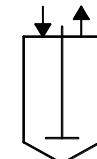
12. Реактори		
12.1. 12.1.1	Реактори РС, що працюють під змінним тиском з нижнім спуском продукту Під вакуум-атмосферним тиском – РС-1: а) без сорочки – РС-1.1 б) з сорочкою – РС-1.2	 
12.1.2	під тиском, вищим та нижчим за атмосферний – РС-2: а) без сорочки – РС-2.1	
12.1.3	Під тиском атмосферним та вищим за атмосферний – РС-3: а) без сорочки – РС-3.1 б) з сорочкою – РС-3.2	 
12.2 12.2.1	Реактори, що працюють під змінним тиском, з трубою перетискування, РТ Під вакуум-атмосферним тиском – РТ-1: а) без сорочки – РТ-1.1	
	б) з сорочкою – РТ-1.2	
12.2.3	Під тиском атмосферним та вищим за атмосферний, з трубою перетискування – РТ-3 а) без сорочки – РТ-3.1	



Рис.7.7. Загальний вигляд реактора з мішалкою та сорочкою



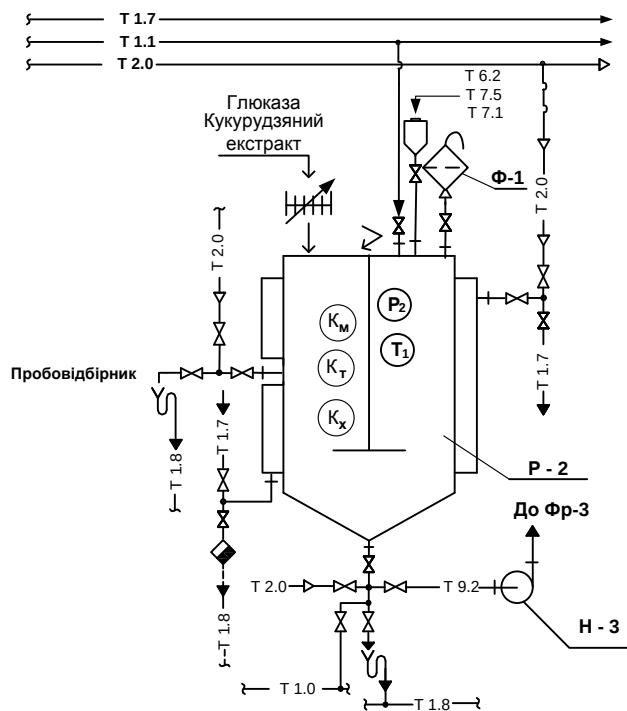
Рис. 7.8. Збірка реакторів-змішувачів



Рис.7.9. Загальний вигляд реактора для стерилізації компонентів ПС з мішалкою та сорочкою

Конструктивно реактори відрізняються залежно від робочого тиску, потужності приводу мішалки та його типу, а також наявності чи відсутності сорочки.

Приклад оформлення апаратурної схеми приготування та періодичної стерилізації компонентів поживного середовища в реакторі представлено на рис.7.10.



Апаратурна схема приготування та стерилізації компонентів ПС

Умовне позначення		Найменування середовища в трубопроводі
Літерне	Графічне	
T 1.7	→ T 1.7 →	Вода оборотна
T 1.1	→ T 1.1 →	Вода питна
T 2.0	→ T 2.0 →	Пара P = 0,2 МПа
T 3.5	→ T 3.5 →	Стиснене очищене повітря
T 3.0	→ T 3.0 →	Повітря в атмосферу
T 6.2	→ T 6.2 →	Кислота соляна
T 7.1	→ T 7.1 →	Луг
T 1.0	→ T 1.0 →	Каналізація
T 1.8	→ T 1.8 →	Конденсат
T 7.5	→ T 7.5 →	Розчин каустичної соди
T 9.0	→ T 9.0 →	Поживне середовище

Специфікація обладнання

Познач. поз.	Найменування
Ф - 1	Індивідуальний фільтр стерильного повітря
Р - 2	Реактор
Н - 3	Відцентровий насос

Рис.7.10. Апаратурна схема реактора для приготування поживного середовища та періодичної стерилізації компонентів ПС

7.2.2. Устаткування для зважування, дозування і транспортування компонентів поживного середовища у реактор-змішувач

Устаткування для зважування та транспортування сипких компонентів поживного середовища

Під дозуванням розуміють відмірювання або відважування певної кількості (دوزи) матеріалу і переміщення цієї дози до робочих органів машини або апарату, що виконують технологічні операції.

Відповідно до структури технологічного процесу розрізняють:

- *безперервне дозування*, яке полягає у подачі матеріалу, що дозується, безперервним потоком із заданою витратою;
- *порційне (дискретне) дозування*, суть якого полягає в подачі матеріалу відміряними дозами.

Дозатори твердих (сипких) матеріалів

У даний час існує велика кількість пристроїв дозування сипких і рідких матеріалів, що зумовлено, по-перше, безліччю матеріалів, які дозуються і відрізняються за своїми технологічними характеристиками і, по-друге, специфічними вимогами, що висуваються до устаткування в тому чи іншому технологічному процесі.

Широкий діапазон потрібних доз та необхідність дотримання певних технологічних вимог при дозуванні обумовлюють застосування різних за конструкцією і способом дозування пристроїв.

Найбільшого поширення набули в основному два способи дозування: *ваговий* і *об'ємний*. На практиці знаходить застосування також *комбінований*

спосіб дозування –об'ємно-ваговий або ваго-об'ємний. Залежно від того, який метод використовується на першій стадії комбінованого способу, а який – на другій, і визначається його назва.

Ваговий спосіб дозування полягає у вимірюванні ваги продукту і відмірюванні його за даним критерієм з використанням стандартних мір ваги – кілограм і грам. Ваговий спосіб застосовується практично до будь-яких видів продукту (речовин) і є найбільш поширеним. Єдиним винятком є рідини і пасту, які зазвичай вимірюють у літрах або см^3 і дозують об'ємним способом.

Об'ємний метод дозування ґрунтується на принципі заповнення продуктом певного вільного простору з використанням стандартних мір об'єму – дм^3 або літр. В основному застосовується для дозування рідин, паст і газів, але може також використовуватися для дозування різних сипких матеріалів. При цьому об'ємне дозування сипких продуктів допускає подальший перерахунок об'ємних мір у вагові.

Особливе місце займає спосіб дозування сипких і рідких матеріалів з корекцією за заданим параметром.

Пристрої для автоматичного дозування (відмірювання) заданої маси або об'єму рідких і сипких матеріалів називаються *дозаторами*. Дозований матеріал можна вимірювати в одиницях маси (кг) *ваговими дозаторами* або в одиницях об'єму (дм^3) *об'ємними дозаторами*.

Слід зазначити, що окрім перерахованих способів дозування, на практиці використовується *багатокомпонентне дозування* з використанням одного з вказаних способів. Проте найбільшого поширення набуло багатокомпонентне дозування на основі вагового способу відмірювання необхідної маси матеріалу.

Дозатори, які здійснюють об'ємне дозування, вимірюють масу матеріалу за його об'ємом у дозаторах, що працюють на основі вагового способу. Процес зважування складається з трьох стадій: дії матеріалу, що зважується, на чутливий елемент вагового пристрою; перетворенні цієї дії в чисельне значення; зазначення або реєстрації цього значення, що відповідає масі дозованого матеріалу.

Дозатори, що працюють за об'ємним принципом, прості за конструкцією, вирізняються високою надійністю і зручністю в експлуатації. Висока точність у процесі об'ємного дозування досягається при використанні рідин і порошків з постійним гранулометричним складом і гарною сипкістю. Якщо ж гранулометричний склад сипких матеріалів, що дозуються, непостійний або частинки схильні до злипання, точність дозування зменшується. Неоднорідність вологості також є причиною зменшення точності дозування. Точність об'ємного дозування складає 2...3 %.

Ваговий метод дозування дозволяє отримувати точніші результати (точність дозування складає 0,1...1%), проте продуктивність вагових дозаторів на порядок нижча, ніж об'ємних.

Правильний вибір дозатора залежить від наступних факторів:

• *виду продукту*, який необхідно дозувати: у разі порошкоподібного і утворюючого пил, доцільно вибрати шнековий дозатор; важкосипкого – ваговий;

• *постійності дози*: якщо розмір дози постійний або його зміни незначні, то з метою економії засобів логічно зупинити вибір на об'ємному дозаторі, якщо ні – на ваговому;

• *перспективи заміни продукту*: у разі зміни продукту вибір дозатора суттєво залежатиме від того, наскільки співпадають дози початкового і нового продуктів (у вагових вимірах). Якщо відсоток відхилення не перевищує 30 %, то можна обмежитися об'ємним дозатором, якщо більше – краще обрати ваговий;

• *продуктивності і ціни*: найвагоміші чинники для виробника – максимально функціональне устаткування за найнижчу ціну. Причому ціна деколи грає важливішу роль, ніж усе інше, і від того, яку ціну готовий заплатити виробник, і залежатиме вибір. найдешевшим є об'ємний дозатор, далі йде ваговий, а найдорожчим вважається шнековий.

Загальними вимогами до конструкцій дозаторів сипких матеріалів і самого процесу дозування є:

- можливість включення дозатора під навантаженням;
- швидке блокування в аварійних ситуаціях;
- забезпечення необхідної продуктивності в широкому діапазоні зміни властивостей матеріалів і умов експлуатації;
- достатньо висока точність дозування і незалежність величини подачі від рівня матеріалу в бункері;
- зручність обслуговування, герметичність і висока надійність у роботі;
- мінімальне число рухомих деталей;
- висока якість роботи системи автоматичного регулювання;
- наявність приладів, що показують величину регульованого параметра та сумарну кількість матеріалу, що пройшов через дозатор;
- відповідність конструктивного оформлення основних і допоміжних вузлів фізико-механічним властивостям матеріалів, що дозуються;
- незначне зношування робочого органу;
- невисока вартість і низька споживча потужність;
- стійкість дозування при постійній витраті;
- мала інерційність і плавність регулювання продуктивності.

Продуктивність дозаторів виражається відношенням маси (або об'єму) до одиниці часу (кг/год або м³/год.). Як вагові, так і об'ємні дозатори можуть бути *періодичної (дискретної)* та *безперервної дії* з ручним або автоматичним керуванням. Вибір типу дозатора визначається характером технологічного процесу і властивостями матеріалів. Дозатори періодичної дії використовують головним чином у технологічних процесах з розміщенням устаткування по висоті, а дозатори безперервної дії – у процесах з горизонтальним розміщенням устаткування і конвеєрним транспортуванням матеріалу.

Залежно від вимог технологічного процесу застосовують однокомпонентні дозатори для порційного і безперервного дозування одного матеріалу і багатокомпонентні дозатори – для порційного і безперервного дозування кількох сипучих матеріалів. У багатокомпонентних дозаторах може здійснюватися процес з автоматичною підтримкою співвідношення матеріалів або проводитися корекція за заданою програмою. Дозатори дискретної дії мають найчастіше конструкцію бункерного типу, а дозатори безперервної дії – бункерного і стрічкового типу.

Найпростіші об'ємні дозатори не забезпечують достатньої точності: складні і точні технологічні процеси, як правило, ведуться з використанням вагових дозаторів. Вагові автоматичні дозатори являють собою комплекс, що складається з датчика контролю маси, машини-автомату для подачі матеріалу і системи автоматичного керування дозою або витратою маси. Основні елементи вагового дозатора такі: об'ємний дозатор, який служить підживлювачем, вантажоприймальний і вимірювальний пристрої (датчик), системи реєстрації і регулювання, виконавчий пристрій.

За принципом дії дозатори можуть бути *гравітаційними* (як правило, це – лійки), без примусової подачі і з *примусовою подачею матеріалу* (стрічкові, гвинтові, тарілчасті та інші конвеєри або плунжери, шестерні тощо).

Дозатори дозволяють ощадливо витратити сировину, скоротити витрати матеріалів, розширити масове виробництво, виключити багато трудомістких процесів, а також поліпшити умови праці.

Об'ємні дозатори безперервної дії. Безперервне дозування об'ємним способом характеризується безперервністю потоку віддозованого матеріалу на виході з дозатора. Такими дозаторами є *барабанні, тарілчасті, стрічкові, шнекові, вібраційні*.

Будова найпростішого барабанного дозатора показана на рисунку 7.11, А. При обертанні барабану всередині корпусу 2 матеріал 3, що дозується, заповнює комірки барабану, які спорожнюються в нижньому положенні. На рисунку 7.11, Б показано барабанний дозатор, продуктивність якого може регулюватися шляхом зміни наповнення комірок барабана. Рухомі лопаті 4, прикріплені до осей 5, за допомогою спеціального механізму повертаються і тим самим змінюють наповнення комірок.

Регулювання продуктивності барабанних дозаторів здійснюється завдяки зміні кількості обертів робочого органу, а також зміні об'єму комірок і обмежується невеликим діапазоном, оскільки збільшення швидкості понад визначену межу призводить до неповного заповнення комірок матеріалом, що порушує нормальну роботу.

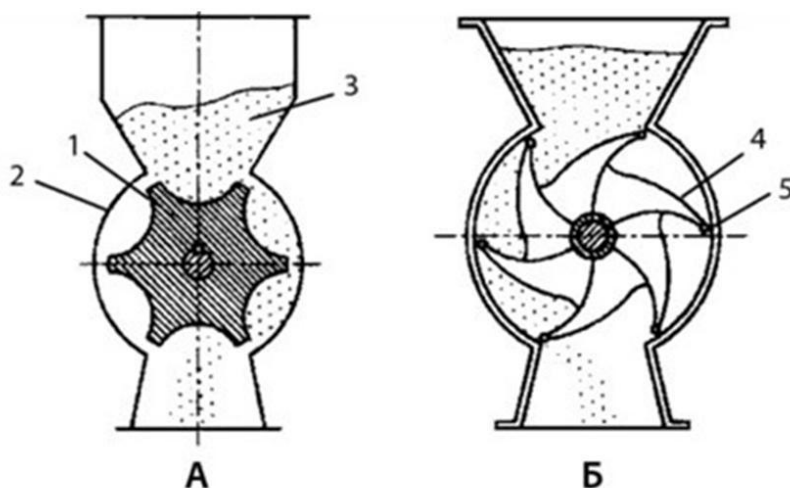


Рис.7.11. Барабанні дозатори: А - з постійною продуктивністю; Б – з регульованою продуктивністю

Тарілчасті дозатори застосовуються для невеликих продуктивностей при дозуванні сухих сипких або зернистих матеріалів. Схема тарілчастого дозатора показана на рис.7.12.

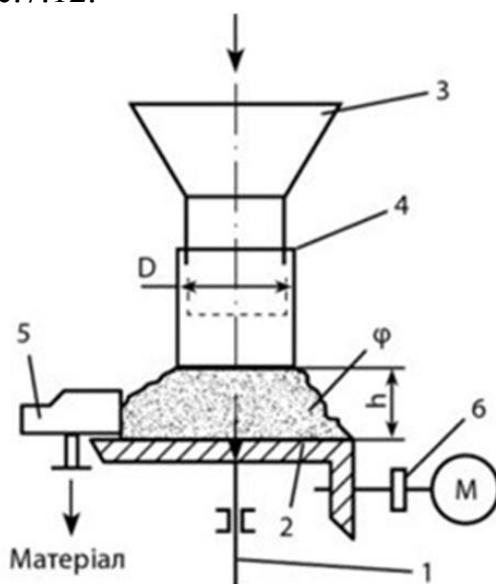


Рис.7.12.Схема тарілчастого дозатора

Тарілка 2 закріплена на валу 1, який обертається електродвигуном. Матеріал, що дозується, зсипається з бункера 3 через манжету 4 на тарілку. Манжета може підніматися або опускатися над тарілкою, цим регулюється розмір конусу, що насипається. Скребок 5, встановлений біля краю тарілки, знімає матеріал і направляє в приймальний лоток. Тарілчасті дозатори мають багато різновидів, у яких використовується ряд додаткових пристосувань залежно від продуктивності, характеру матеріалу, що дозується, а також необхідної точності дозування.

Стрічкові дозатори (рис. 7.13. А).

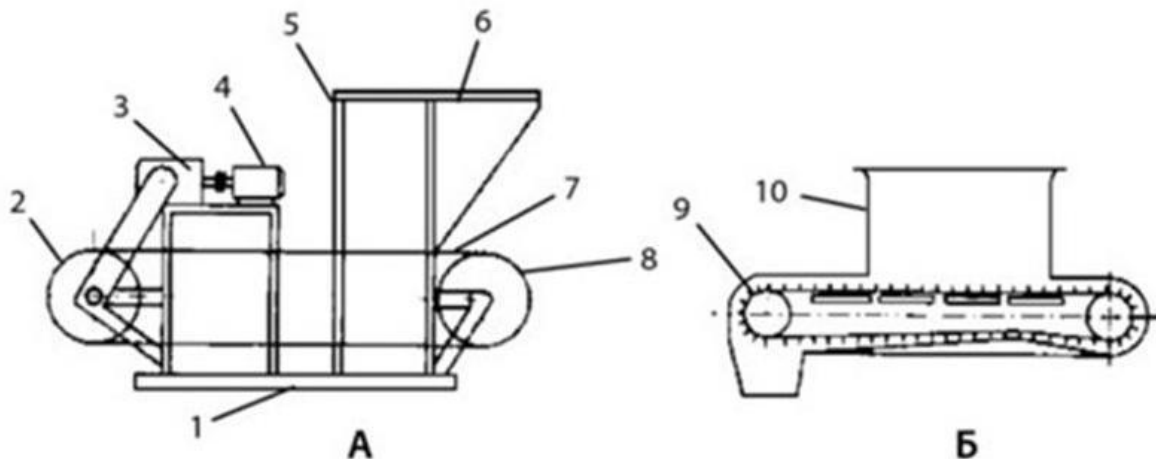


Рис.7.13.Схема дозаторів: А – стрічкового; Б – скребкового

Між двох барабанів 2 і 8, що встановлені на спеціальній рамі, розташовується транспортерна стрічка 7. Барабан 2 приводиться в рух електродвигуном 4 через редуктор 3. Бункер 6, розташований поблизу барабану 7, не має дна, а матеріал, що дозується, витягується з бункера рухомою стрічкою через випускний отвір і скидається з барабана 2 у приймальний лоток. Кількість віддозованого матеріалу регулюється зміною площі вихідного отвору за допомогою заслінки 5, яка може рухатися вгору-вниз і закріплюватися в обраному положенні.

Скребковий дозатор (рис. 7.13., Б) є різновидом стрічкового дозатора. У кожуху 9 поміщено конвеєр із спеціальними контурними скребками, які призначені для розпушування і захоплення матеріалу, що поступає з бункера 10 і подається до вихідного отвору. Продуктивність встановлюють зміною швидкості руху транспортера. Деякі конструкції мають додаткові заслінки для регулювання подачі матеріалу. Можливий діапазон регулювання подачі матеріалу – від кількох кілограмів до тони за годину при точності дозування $\approx 1\%$.

На рисунку 7.14. показана схема *вібраційного дозатора*. З бункера 1 матеріал, що дозується, потрапляє на лоток 2, що приводиться в коливальний рух вібратором 3. Рух матеріалу лотком забезпечується завдяки зворотньо-поступальним рухам лотка.

Шнекові дозатори часто застосовуються як живильники до різних автоматів, вагових дозаторів тощо. Швидкість руху сипкого матеріалу лотком дозатора зазвичай становить 0,1...0,3 м/с. Шнекові дозатори розглядають як дозатори безперервної дії. При цьому найчастіше застосовується конструктивна схема з горизонтальним розташуванням шнека, хоча на практиці часом виникає необхідність використовувати похилі і вертикальні шнекові живильники. На рисунку 7.15. показана схема шнекового дозатора з горизонтальним розташуванням шнека. Сипкий матеріал з бункера 1 захоплюється шнеком 2, який обертається в корпусі 3.

Привід шнека здійснюється через кінематичну пару 4. Продуктивність шнекового дозатора визначається добутком заповненого однокрокового міжвиткового об'єму, в межах плоского кута в один радіан, на кутову швидкість обертання шнека, з урахуванням коефіцієнта заповнення міжвиткового простору. При дозуванні важкосипких матеріалів у бункері часто утворюються зависання, що перешкоджають ефективному заповненню витків шнека. З метою усунення цього недоліку застосовують різні пристрої або змінюють конструкцію бункера.

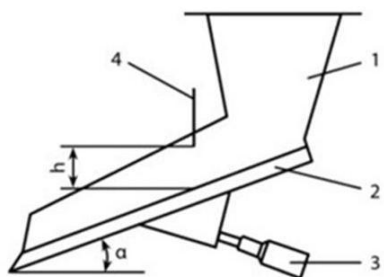


Рис. 7.14. Схема вібраційного лоткового дозатора

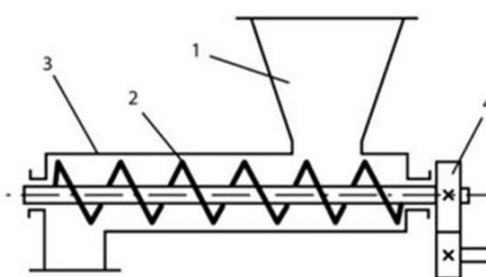


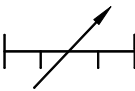
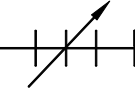
Рис.7.15. Схема шнекового дозатора з горизонтальним розташуванням шнека

Умовні графічні зображення деяких типів дозаторів реакторів на апаратурній схемі згідно ГОСТ 2.794 – 98 «Умовні графічні зображення пристроїв для живлення та дозування» представлено в таблиці 7.5.

Таблиця 7.5.

Умовні графічні зображення деяких типів дозаторів на апаратурній схемі згідно ГОСТ 2.794 – 98 «Умовні графічні зображення пристроїв для живлення та дозування»

№ пор	Найменування пристроїв	Графічне зображення
1	2	3
1	Дозатори об'ємні:	
	лопатеві	
	гвинтові	
	дискові	
	ківшові	
	рідинні	

2	Дозатори вагові: дискретної дії безперервної дії	 
3	Дозатори об'ємно-вагові	

Як вже вказувалось у п.п. 7.1.3., при приготуванні ПС для відповідних стадій ферментаційного процесу важливим є забезпечення приготування заданого складу ПС шляхом точного зважування сипких та рідких компонентів та їх дозування при завантаженні у реактор-змішувач. Критично важливим елементом цього процесу є точна та надійна вимірювальна підсистема (наприклад, система зважування та дозування), що здатна здійснювати контроль потоків сировини та готового продукту, управляти дозуванням компонентів, а також їхнім наливом і зливом. Процес може бути автоматизованим, ручним, або сполучати автоматичні та ручні операції.

Автоматизовані операції зважування, дозування, зливу і перекачування можуть виконуватися прямо на сучасному *ваговому терміналі*. Дана система включає в себе електронні ваги, систему дозування, комп'ютерний термінал. У цьому випадку не потрібно прямо використовувати системи керування на базі промислових логістичних комп'ютерів (ПЛК).

Правильно підібрані ваговий термінал і система дозування можуть також управляти діями оператора при виконанні ручного дозування. Автономна система дозування може бути особливо корисною під час операцій з партіями невеликого об'єму, оскільки вона дозволяє заощаджувати час і засоби, які витрачаються на переналаштування та програмування ПЛК.

У даному підрозділі розглянуто переваги використання автономної вагової системи керування дозуванням і її роль у рішенні завдань:

- досягнення стабільних характеристик продукту від партії до партії;
- підвищення ефективності виробництва партіями;
- зниження витрат на процес.

Використання правильно підібраної системи дозування призводить до росту «прозорості» виробничого процесу і в остаточному підсумку дозволяє збільшити прибуток компанії-виробника.

При вирішенні поставлених завдань слід звернути увагу на наступні питання:

а) необхідність спеціалізованого контролю дозування

Необхідність використання точної системи дозування розглянемо на прикладі процесу приготування поживного середовища як для вирощування

посівного матеріалу, так і для виробничого біосинтезу, оскільки склад останнього може відрізнятись. Компоненти ПС спочатку можуть проходити попередню підготовку (див. п.п. 7.1.3.), на підставі розрахунку формуються склад та об'єми композицій ПС, які потім стерилізуються і потім змішуються у встановленому порядку – на виході отримуємо заданий склад ПС для проведення ферментаційного процесу для даної партії цільового продукту.

Для забезпечення високої якості продукції дуже важливо використовувати рішення, що забезпечують однакове дозування для кожної партії цільового продукту. Інвестування у грамотно спроектовану систему дозування допоможе в досягненні наступних цілей:

- збільшення випуску кондиційної продукції;
- зменшення кількості відходів сировини;
- максимальне збільшення загальної ефективності біотехнологічного виробництва.

б) вибір системи дозування для періодичного процесу приготування ПС

Вибір придатної системи дозування для конкретного виробничого процесу є непростим завданням. Як вибрати придатну систему дозування, що гарантовано підвищить ефективність виробничого процесу, усуне втрати сировини та поліпшить стабільність характеристик кінцевого продукту? Загальне вирішення цього завдання повинне включати управління процесом переміщення компонентів різного типу в цільовий апарат для змішування і при цьому відслідковувати вагу кожного компонента. Ваговий термінал, що може управляти цими діями найкраще підходить для такого завдання. Подібне рішення дозволяє спростити виробничий процес приготування ПС, оскільки зважування інгредієнта і його переміщення, по суті, є двома складовими однієї технологічної операції.

в) впровадження спеціалізованої системи дозування

Вибір системи дозування та керування процесом, що відповідає положенням документованих процедур експлуатації устаткування, принципам вхідного та вихідного контролю, і придатної для матеріалів, що використовуються (компонентів ПС) та заданому складу ПС у ході технологічного процесу, описаних у стандарті S88 може принести швидкі і вимірювані результати.

Використання стандарту S88 «Керування періодичним процесом» допомагає при виборі системи дозування в такий спосіб:

- дозволяє визначити придатну модель керування періодичним процесом;
- надає інформацію про загальні вимоги до систем керування процесом, у тому числі до дозування;
- надає корисну інформацію щодо конфігурації системи керування;
- містить посібник з інтеграції рішень від різних постачальників.

Основна мета використання стандарту S88 полягає в тому аби допомогти виробникам здійснювати періодичний технологічний процес із відтворюваними характеристиками.

Керування дозуванням у періодичному технологічному процесі приготування заданого складу ПС

Інструкції, що організують оптимальну роботу технологічної установки з приготування ПС, і автоматизація дозування всіх компонентів допоможуть знизити витрати, підвищити вихід продукції, знизити втрати сировини й збільшити ступінь корисного використання устаткування.

У стандарті S88 устаткування розглядається окремо від складу ПС. У стандарті описаний погоджений інтерфейс, що допомагає операторові підвищити ступінь корисного використання устаткування. Втрати матеріалів зводяться до мінімуму, якщо система щораз нагадує операторові про додавання необхідного інгредієнта. Користувальницький інтерфейс дозволяє додавати інгредієнти з точністю в межах установлених допусків. В основі системного рішення може стояти ваговий термінал, наприклад, IND780batch з функціями інтелектуального багатокomпонентного дозування одночасно в кілька смонств і керування зовнішніми пристроями.

Керування додатковим устаткуванням

Для належного керування додатковим устаткуванням необхідно визначити критерії керування. Наприклад, при використанні мішалки може знадобитися, щоб система дозування виконувала наступні функції:

- включала мішалку на певному етапі завантаження компонентів ПС;
- запускала мішалку на певний час;
- затримувала запуск мішалки доти, поки компонент, що вручну додається, не буде розміщений на вагах перед початком змішування.

Поза залежністю від того, який тип системи дозування використовується, для забезпечення сталості характеристик партій приготовленого ПС потрібна система, що точно управляє подачею інгредієнтів, забезпечує точне припинення подачі при досягненні заданої маси та управляє всім супутніми операціями.

Відстеження та контроль/збір даних

Ще однією важливою функцією системи керування періодичним процесом приготування ПС є спостереження за фазами процесів дозування, витримки, змішування та вивантаження, у ході якого визначаються та зберігаються наступні параметри:

- дата й час виготовлення партії ПС;
- найменування й кількість кожного з використаних інгредієнтів;
- ім'я працівника, відповідального за виготовлення даної партії ПС.

Ця функція дозволяє виявити потенційні проблеми із продуктивністю устаткування. Менеджери виробництва можуть перевірити наявність очевидних порушень у виробничому процесі приготування ПС. Спрощується пошук партії та використаних компонентів, а також додатково вирішуються наступні завдання:

- визначаються фактори, по яких партія була забракована;
- точно виявляється проблемний інгредієнт і визначається його

постачальник;

- мінімізуються масштаби проблем, пов'язаних з поверненням продукції.

Автономна система керування періодичним технологічним процесом має функцію протоколювання всіх операцій вибору та дозування компонентів, виконує операції по створенню та зберіганню складу ПС, а також створює резервні копії налаштувань терміналу і виконує збір даних. Перераховані функції необхідні для вирішення наступних завдань:

- впровадження певної послідовності створення заданого складу ПС;
- введення та редагування всіх параметрів компонентів (інгредієнтів) і їхньої кількості;
- регулювання заданого розміру партії продукту.

Приклад використання такого вагового терміналу з використанням стандарту S88 фірми *Mettler Toledo AG* для автоматичного дозування показано на рис.7. 16, для ручного дозування компонентів – на рис.7.17.

Використання такої спеціалізованої автономної системи керування періодичним технологічним процесом, що сполучає в собі перераховані вище функції, може істотно поліпшити відтворюваність характеристик продукції та підвищити продуктивність при одночасному зниженні витрат.

Для зважування сировинних матеріалів використовують найрізноманітніші ваги, що є в арсеналі харчової та хімічної промисловості: від лабораторних електронних ваг до ваг, розрахованих на зважування 10...20 тон сировини (елеваторні шкальні ковшові автоматичні ваги Одеського ВО “Точмаш” 120K10A та 341B20Л).

Приклади таких ваг наведено на рис.7.18.

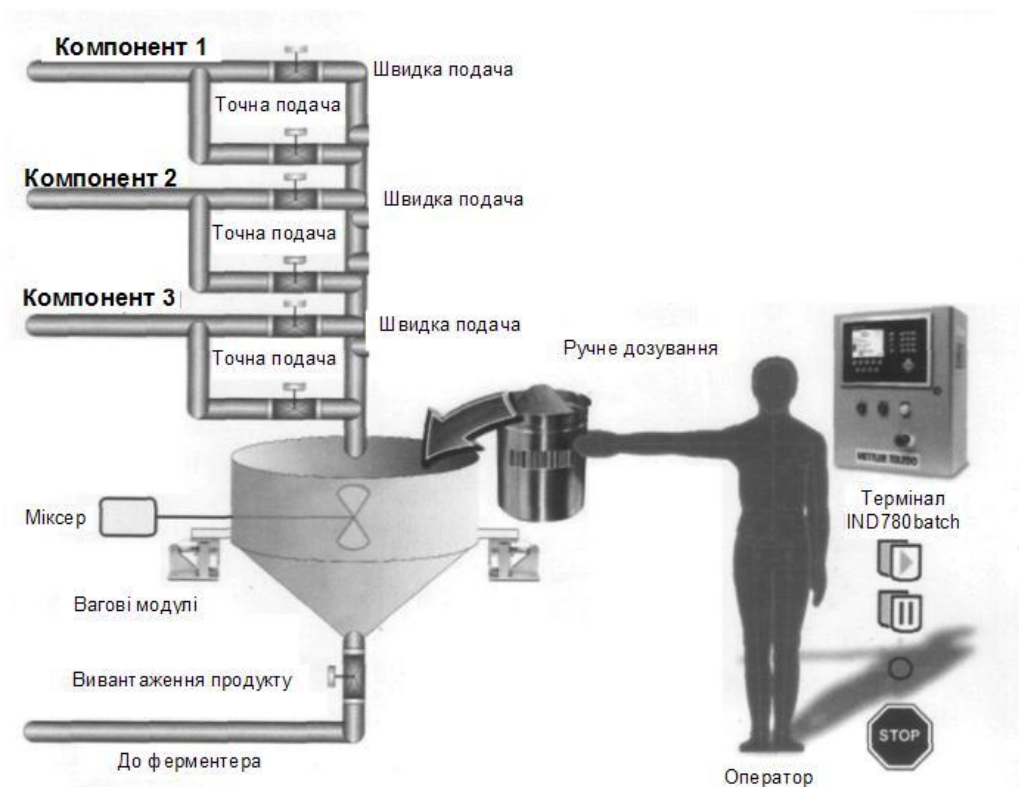


Рис. 7.16. Приклад системи дозування з двошвидкісним автоматичним

подаванням компонентів фірми *Mettler Toledo AG*



Рис.7.17. Приклад встановлення ручної системи дозування декількох компонентів фірми *Mettler Toledo AG*



Рис.7.18. Приклади ваг, що використовуються при зважуванні компонентів ПС

Транспортування сипких продуктів до бункерів реакторів-змішувачів здійснюють за допомогою різноманітних конвеєрних ліній, норій та іншими пристроями.

Стрічкові конвеєри

Стрічкові конвеєри використовують для транспортування сипких, шматкових та поштучних вантажів у горизонтальному та нахиленому напрямках під кутом 5...25°. Стрічка конвеєра може бути плоскою або лотковою. Ширина стрічки стандартних ліній становить 400, 500, 650, 800,

1000, 1200 мм. Швидкість руху стрічки: $W_c = 0,75 \dots 3$ м/с. Принцип роботи стрічкових конвеєрів показано на рис. 7.19.

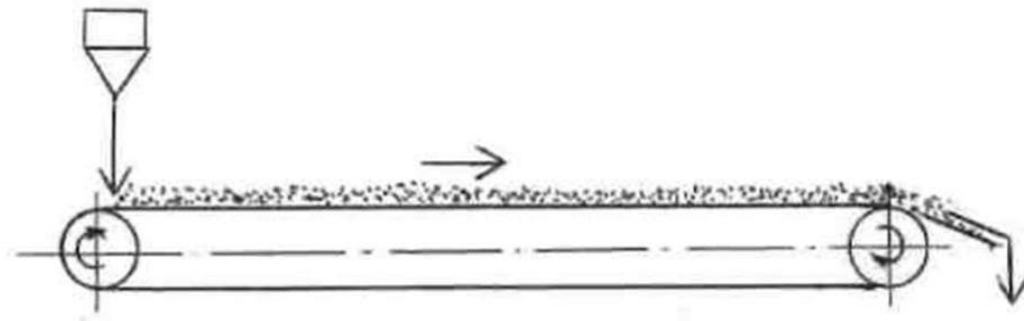


Рис.7.19. Схема стрічкового конвеєра для транспортування сипких матеріалів

Норії

За допомогою норій (рис. 7.20.) сипкі матеріали транспортують у вертикальному або нахиленому ($45 \dots 75^\circ$) напрямках на відстань до 40 м.

На рис. 7.20. показано схема дії норії.

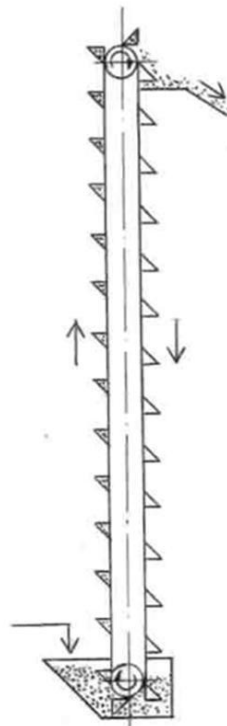


Рис. 7.20. Схема норії

Інші засоби для транспортування сипких матеріалів

Сипкі матеріали транспортують також шнековими пристроями (гвинтовими конвеєрами), вібраційними конвеєрами, пневмо-транспорт.

Останній має перевагу, оскільки транспортна лінія може мати будь-яку конфігурацію, але повинна споряджатись джерелом стисненого повітря і блоком циклонів у кінцевому пункті транспортування. Відомий також спосіб транспортування сипких матеріалів за допомогою створення вакууму у кінцевому пункті транспортування (система діє за принципом порохотяга).

На рис.7.21. показано загальний вигляд гвинтових конвеєрів.



Рис. 7.21. Загальний вигляд шнекових (гвинтових) конвеєрів

7.2.3. Насоси для транспортування рідких поживних середовищ.

Для транспортування рідких матеріалів, як на стадії приготування ПС, так і на всіх інших стадіях виробництва, використовують самоплив рідини трубопроводами під дією сил гравітації, перетискання рідин з одного апарата в інший стисненим повітрям. Важливе значення для транспортування рідин має насосне обладнання. Призначення насосу, як гідравлічної машини, полягає у створенні потоку рідкого середовища унаслідок перетворення механічної енергії на кінетичну та енергію тиску рідини.

За принципом дії насоси поділяють на три основні великі групи: лопатеві, роторні та поршневі.

Лопатеві насоси.

У свою чергу лопатеві насоси поділяють на відцентрові консольні, відцентрові занурені, відцентрові герметичні, відцентрово-вихрові і осьові.

Відцентрові консольні насоси. Рідина, що перекачується, надходить до центра колеса, яке обертається, підхоплюється лопатями і відкидається на периферію через тангенціально розташований на цій периферії патрубок. Загальний вигляд насосів показано на рис.7.22 а, б.

Насоси призначені для перекачування чистих і забруднених хімічно активних рідин з густиною до 1800 кг/м^3 із вмістом абразивних домішок (наприклад, піску) до 0,2 %. Робоча температура від -40°C до $+200^\circ\text{C}$. Продуктивність насосів серії Х, ХО – від 1,5 до $540 \text{ м}^3/\text{год}$, насосів серії НД та Д – від 90 до $1700 \text{ м}^3/\text{год}$. Для нормальної роботи насосів потрібний підпір рідини, що перекачується.



а)



б)



в)



г)



д)



е)

Рис. 7.22. Типи насосів для перекачування рідин: а) горизонтальний багатоступеневий; б) імпелерний; в) кулачковий (для в'язких рідин); г) роторний; д) перистальтичний насос великої потужності; е) перистальтичний лабораторний насос.

Інші типи насосів

До менш розповсюджених насосів, які використовують у мікробіологічних виробництвах, належать *роторні насоси* (гвинтові, шестеренні, а також коловоротні). Основна їх перевага полягає у можливості застосування для перекачування рідин, в тому числі хімічно активних, з високим вмістом твердої фази і високою в'язкістю до 0,15 Па·с. Загальний вигляд роторних насосів показано на рис.7.22, в, г.

Останнім часом для забезпечення асептичних умов при перекачуванні рідин в біотехнологічних виробництвах стали широко застосовувати новий тип насосів, так званих *перистальтичних*.

Перистальтичний насос – різновид насосів для перекачування в основному рідин і пастоподібних речовин. Принцип дії заснований на перетискуванні еластичної трубки будь-яким механічним органом, наприклад, роликami, що перекочуються по колу і які проштовхують рідину на вихід насосу. Конструктивно такий насос зазвичай складається з еластичної трубки або шлангу, двох або більше роликів або черевиків і треку еластичної трубки, до якого ролики притискають трубку, звужуючи її прохідний перетин.

Існують конструкції і без опорної поверхні, у них трубка перетискається роликami завдяки її натягу.

Перистальтичні насоси також можна розділити на *трубкові* (елемент, що стискається (деформується) – одношарова трубка) і *шлангові* (елемент, що стискається – багатошаровий шланг, для міцності посилений кордом).

Перистальтичні насоси належать до насосів об'ємного типу і мають кілька *переваг*, відсутніх у насосах іншого принципу дії:

- відсутність тертьових пар «метал по металу»;
- середовище, що перекачується, контактує тільки з матеріалом еластичної трубки;
- матеріал, з якого виготовлено трубки, витримує високі температури, а отже може бути простерилізований, що забезпечує асептичне перекачування рідин;
- високий коефіцієнт готовності, мінімальний час простою та обслуговування;
- низька трудомісткість на встановлення, обслуговування, очищення;
- висока ремонтпридатність деталі, яка найбільше піддається зношуванню – легкозамінної еластичної трубки;
- гарна відтворюваність залежності витрат рідини від швидкості обертання ротору, краще ніж $\pm 0,5\%$, а отже незамінний при дозуванні рідин;
- відносно низький рівень шуму.

Поряд з перевагами, перистальтичні насоси мають і *недоліки* до яких можна віднести:

- обмеження за тиском (для трубкового перистальтичного насосу максимальний тиск 7 бар, для шлангового перистальтичного насосу – до 16 бар);
- обмеження за середовищами, що перекачуються (трубки для високоагресивних середовищ, наприклад, мінеральних концентрованих кислот, дорогі);
- падіння продуктивності при роботі з високов'язкими середовищами.

Застосування

Завдяки своїм перевагам, перистальтичні насоси знайшли своє застосування у багатьох сферах: фармацевтиці, біотехнології та інших галузях промисловості для точного дозування та транспортування рідин у виробництві та лабораторіях, для підготовки проби (підготовка та перекачування реагентів і компонентів) перед аналізом. Також перистальтичні насоси застосовуються у медицині для перекачування крові пацієнта зі штучно зупиненим серцем, оскільки такий насос рівномірно прокачує кров з малою швидкістю, не руйнує клітини крові та легко стерилізується.

Конструктивні особливості

За типом корпусу перистальтичні насоси можуть бути моноблочними (*Cased pump*) і модульними (*Close-coupled pump*). У моноблочному насосі привод, редуктор і елементи керування перебувають усередині одного монолітного корпусу-кожуха, у той час як у модульного насоса модулі також з'єднані між собою, але кожух відсутній.

Продуктивність насоса залежить від швидкості обертання валу, прохідного перетину еластичного елемента та кількості роликів. Кількість

роликів визначає також рівномірність потоку рідини. Їхня кількість у різних моделях варіюється від 2 до 8 і вище.

Головки перистальтичних насосів бувають *прямого і поворотного* типу. У головках прямого типу трубка обгинає ротор зверху дугою, у ній ролики притискають трубку до твердого треку зверху. Різновидом головки прямого типу є головка *FlipTop*, що дозволяє здійснювати заміну трубки протягом однієї хвилини. У головках поворотного типу трубка огинає ротор за С-подібною формою. Відповідно ролики притискають трубку до треку по всій С-подібній поверхні прилягання трубки.

Історія винайдення

Хоча деякі інші типи насосів, зокрема мембранні, більш широко відомі, перистальтичні насоси вперше стали вироблятися серійно вже з 50-х років двадцятого століття. Піонерами у виробництві таких насосів були компанії *Graco* (США), *ASF Thomas* (Німеччина), *Watson-Marlow* (Великобританія), *Welco* (Японія), *Brightwell* (Канада), які і зараз спеціалізуються на виготовленні перистальтичних насосів. У той час, як принципи роботи перистальтичного насоса залишаються незмінними, елементи конструкції із часом видозмінюються й удосконалюються в постійному технічному прогресі. Так, компанія *Watson-marlow* уже на початку XXI століття винайшло головку типу *Flip-Top* з можливістю миттєвої заміни трубки насосу. Пізніше багато виробників розробили свої системи швидкої зміни трубки.

Шланги (трубки) для перистальтичного насосу

У процесі вибору перистальтичного насоса варто приділяти особливу увагу матеріалу шлангів, від яких залежить термін служби, а також її внутрішньому діаметру, від якого залежить продуктивність насосу. У перистальтичних насосах як матеріали для виготовлення еластичних трубок найбільш широко використовують силіконовий каучук та інші еластичні матеріали.

Силіконовий каучук— це еластомер(гумоподібний матеріал), що складається із силікону, котрий сам по собі є полімером, і включає в себе кремнійразом з вуглецем, воднем та киснем. Силіконові каучуки широко використовуються у промисловості і мають безліч варіантів складу. Силіконові каучуки часто являють собою одно- або двокомпонентні полімери і можуть містити наповнювачі для поліпшення властивостей або зниження вартості. Силіконовий каучук, як правило, хімічно інертний, стабільний і стійкий до екстремальних умов навколишнього середовища (зберігає свої властивості в діапазоні температур від -55 до +300 °C). Завдяки цим властивостям, а також простоті виготовлення та формування, силіконовий каучук можна знайти в широкому спектрі продуктів, включаючи еластичні трубки та шланги для перистальтичних насосів.

Багато фірм розробили свої матеріали для виготовлення еластичних трубок та шлангів для перистальтичних насосів. Це такі відомі бренди, як *Біопрен (Bioprene)*, *Марпрен (Marprene)*, *Силікон (Silicone)*, *Неопрен*

(Neoprene), Флюорел (Fluorel)/ Витон (Viton), Ста-П'юе (Sta-Pure), Кем-шуре (Chem-Sure) і Силікон-Силікон-Платинум (Pumpsil-D). Трубки можуть бути гладкими, а також можуть мати спеціальні кріплення Load Sure для кращої фіксації їх у треку.

Для безпечного та швидкого приєднання насосів до системи в перистальтиці використовуються елементи кріплення трубок типів Tri-Clamp, Cam-and -Groove, SMS і інші.

Деякі конструкції перистальтичних насосів показано на рис.7.22, д,е.

Вибір насосів та їх технологічний розрахунок

Тип насосу обирають, виходячи з технічного завдання: мети транспортування рідини та її властивостей. Наприклад, для перекачування нестерильного поживного середовища у ферментер доцільно обрати дешевий і простий за конструкцією насос лопатевого типу.

Далі, керуючись продуктивністю і потрібним напірним тиском, обирають потрібний різновид насосу. У разі порівняно невеликих витрат і невеликої висоти апарату доцільно обрати насос відцентрового типу. Якщо потрібно закачати рідину в апарат, який знаходиться на великій висоті, треба розглянути пропозиції щодо застосування насоса вихрового типу.

Якщо йдеться про насос для перемішування культуральної рідини під час ферментації, наприклад, під час метанового бродіння для руйнування кірки на поверхні реакційної маси або для перемішування маси під час гліколізу, одержуючи молочну кислоту, якщо встановлений чан без механічного перемішування, доцільно використати високопродуктивний осьовий насос. Якщо ж, наприклад, потрібне точне дозування компонента під час ферментації, доцільно використання плунжерного або перистальтичного насосу. Якщо ж при цьому подачу рідини треба регулювати залежно від деякого показника, наприклад, рН середовища, то доцільним є використання перистальтичного насосу з дистанційним регулюванням, яке може бути автоматизованим.

Потрібна продуктивність насосу може бути розрахована, виходячи з матеріального балансу процесу і часу проведення операції. У свою чергу цей час може бути визначений на етапі розбиття процесу на технологічні стадії та операції. Напірний тиск визначається після завершення технологічних розрахунків і виконання будівельної частини проекту.

Для перевірки результатів проводять розрахунок потужності електродвигуна насоса за формулою

$$N = Q\rho gH/(1000\eta), (7.1)$$

де N – потужність на валу насоса, кВт; Q – продуктивність, м³/с; ρ – густина рідини, що перекачується, кг/м³; g – прискорення вільного падіння, м/с²; H – повний напір насоса, м; η – повний коефіцієнт корисної дії (в частках одиниці).

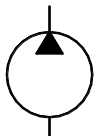
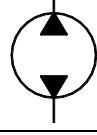
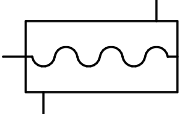
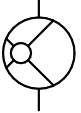
Далі порівнюють потрібну потужність з потужністю електродвигуна за

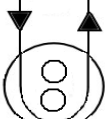
паспортними даними. За умови, що потужність електродвигуна більша потрібної або однакова, можна вважати, що насос задовольняє вимогам цього процесу.

Умовні графічні зображення деяких елементів гідравлічних і пневматичних насосів та двигунів за Міждержавним стандартом ГОСТ 2.782 – 96 на апаратурній схемі представлено в таблиці 7.6

Таблиця 7.6.

**Умовні графічні зображення насосів на апаратурній схемі згідно
ГОСТ 2.782 – 96**

№ пор.	Найменування зображення	Графічне зображення
1	2	3
1.	Насос нерегульовальний (постійної продуктивності): з одним напрямком потоку (нереверсійний)	
2.	з двома напрямками потоку (реверсійний)	
3.	Насос регульовальний (змінної продуктивності): з одним напрямком потоку (нереверсійний)	
4.	Насос-дозатор	
5.	Насос шестеренний	
6.	Насос гвинтовий	
7.	Насос ротаційний лопатевий (пластинчастий)	
8.	Вентилятор: відцентровий	
	осьовий	

9.	Насос перистальтичний (не стандартизоване зображення)	

7.3. Одержання посівного матеріалу

У технологічному процесі одержання продуктів мікробного синтезу накопичення чистого посівного матеріалу при поверхневому або глибинному культивуванні мікроорганізмів є важливою технологічною стадією, що забезпечує одержання цільових продуктів із високими споживчими показниками.

Посівним матеріалом називають чисту культуру мікроорганізмів, отриману шляхом послідовного постадійного накопичення маси культури продуцента.

Для безперервних процесів вирощування посівного матеріалу проводять лише для запуску безперервно діючої технологічної лінії. Період безперервної роботи може тривати від декількох діб до року, як, наприклад, у виробництві кормових дріжджів. Не потрібно вирощувати посівний матеріал і для кожного циклу процесу, якій проводять від'ємно-доливним методом. Існують виробництва, які взагалі не потребують засіву спеціально підготовленою культурою, наприклад, активним мулом для очищення стічних вод або бактеріальним консорціумом у виробництві біогазу; у цих прикладах полікультури пристосовуються до поживного середовища, саморозвиваються і самопідтримуються з бактеріальної мікрофлори довкілля. Але для більшості процесів, а саме для періодичних або напівперіодичних, для кожного циклу виробництва потрібно використовувати оновлений посівний матеріал. Особливо це стосується виробництв, заснованих на ферментації монокультур. Навіть в деяких безперервних виробництвах потрібно безперервне вирощування і додавання посівного матеріалу до підготовленого поживного середовища.

Для періодичних та напівперіодичних процесів вирощування посівного матеріалу (ПМ) проводять одночасно і паралельно з підготовкою поживного середовища та його стерилізацією. При вирощуванні ПМ увагу звертають не на ступінь конверсії поживних речовин, не на економічні показники процесу, а на одержання чистої, здорової, високогенеративної культури, на відповідність її властивостей музейним (колекційним) еталонам.

Приготування посівного матеріалу починають у лабораторії. Використовуючи лабораторний матеріал як посівний і збільшуючи об'єми культури, переходять до вирощування ПМ у напівпромислових умовах у апаратах, які називають *інокуляторами* (або сателітами), а одержаний продукт – *інокулятом*. Остаточного посівного матеріалу перед робочою ферментацією вирощують в апаратах, які іноді називають *посівними*. У разі проведення цього ряду стадій, які називають *пасажами*, вихідну музейну культуру вирощують на спеціальних твердих або рідких середовищах,

поступово переходячи до робочого середовища або наближеного до нього. У цей період культура перебудовує свої метаболічні процеси і пристосовується до реальних субстратів. Вирощування посівної культури потребує ретельного мікробіологічного контролю, забезпечення і підтримки стерильності апаратури і поживного середовища.

Для одержання посівного матеріалу використовують вихідну музейну культуру продуцента, що надходить у заводську лабораторію з галузевого НДІ або з посівної станції. Необхідна кількість посівного матеріалу вирощується у відділенні чистої культури (ВЧК) в асептичних умовах, що гарантують відсутність контамінації іншими мікроорганізмами. Чиста культура надходить на підприємство, як правило, у пробірках на скошених агаризованих середовищах. Кожна виробнича культура супроводжується паспортом, у якому зазначені продуцент, його колекційний номер, дата виготовлення, середня активність серії та строк придатності, характеристика середовища для вирощування і зберігання. Культуру перевіряють на мікробіологічну чистоту й біохімічну активність.

Зберігання вихідних штамів продуцентів— відповідальне та складне завдання. Під час тривалого зберігання можуть виникати спонтанні мутації. Найбільша можливість прояву спонтанної зміни культури виникає в тих випадках, коли вихідним штамом є мутант. У зв'язку із цим необхідно періодично проводити розсів культури та перевірку її за морфологічними і фізіологічними ознакам. При розсівах відбирають колонії, що дають найкращі результати. Така безперервна селекція дозволяє зберегти в активній формі культуру продуцента. Тривалі проміжки між пересівами неприпустимі у зв'язку з тим, що мікроорганізми в процесі росту та зберігання споживають із середовища поживні речовини і виділяють продукти обміну, що шкідливо впливають на їхні властивості.

Вихідну культуру зберігають найчастіше на агаризованому середовищі в пробірках при температурі 4...6°C. Більше тривалий час можна зберігати культуру під шаром медичної вазелінової олії. Шар стерильної олії повинен мати товщину близько 1 см.

Ліофільно висушені культури можуть зберігатися до 5 років без втрати здатності до швидкого росту та нагромадження цільового продукту.

Грибні та дріжджові культури успішно зберігають у замороженому стані в рідкому азоті при температурі від -165 до -196°C. Культуру заморожують у 10% водному розчині гліцерину в запаяних ампулах і поміщають у контейнер з рідким азотом. У цих умовах активність культури повністю зберігається до 5 років.

Промислові культури актиноміцетів зберігають у виробничих умовах на розвареному стерильному пшоні. Вирослу на зерні культуру продуцента висушують під вакуумом при кімнатній температурі до вологості зерна 7...8%. У такому виді культура актиноміцетів може зберігатися кілька місяців.

Приготування посівного матеріалу для глибинного культивування мікроорганізмів. При глибинному культивуванні мікроорганізмів посівний матеріал готують також глибинним способом з постадійним збільшенням маси культури-продуцента. Залежно від потужності підприємства число стадій коливається від 2 до 5. Загальна технологічна та апаратурна схеми одержання посівного матеріалу в асептичних умовах виробництва представлена на рис. 7.23 та 7.24.

Ферментери малого об'єму (лабораторні до 10 дм³) засівають посівним матеріалом з качалочних колб. На підприємствах великої потужності біомасу чистої культури накопичують в інокуляторі, а потім у посівному апараті з суворим дотриманням умов асептики. Число стадій одержання посівного матеріалу прагнуть максимально скоротити, щоб знизити ймовірність появи контамінації. Тривалість кожної стадії накопичення біомаси культури, як правило, двічі менша за час біосинтезу (культура передається з однієї стадії на іншу в активній (логарифмічній) фазі росту).

Поживне середовище для одержання посівного матеріалу часто відрізняється від виробничого за якісним або (і) кількісним складом.

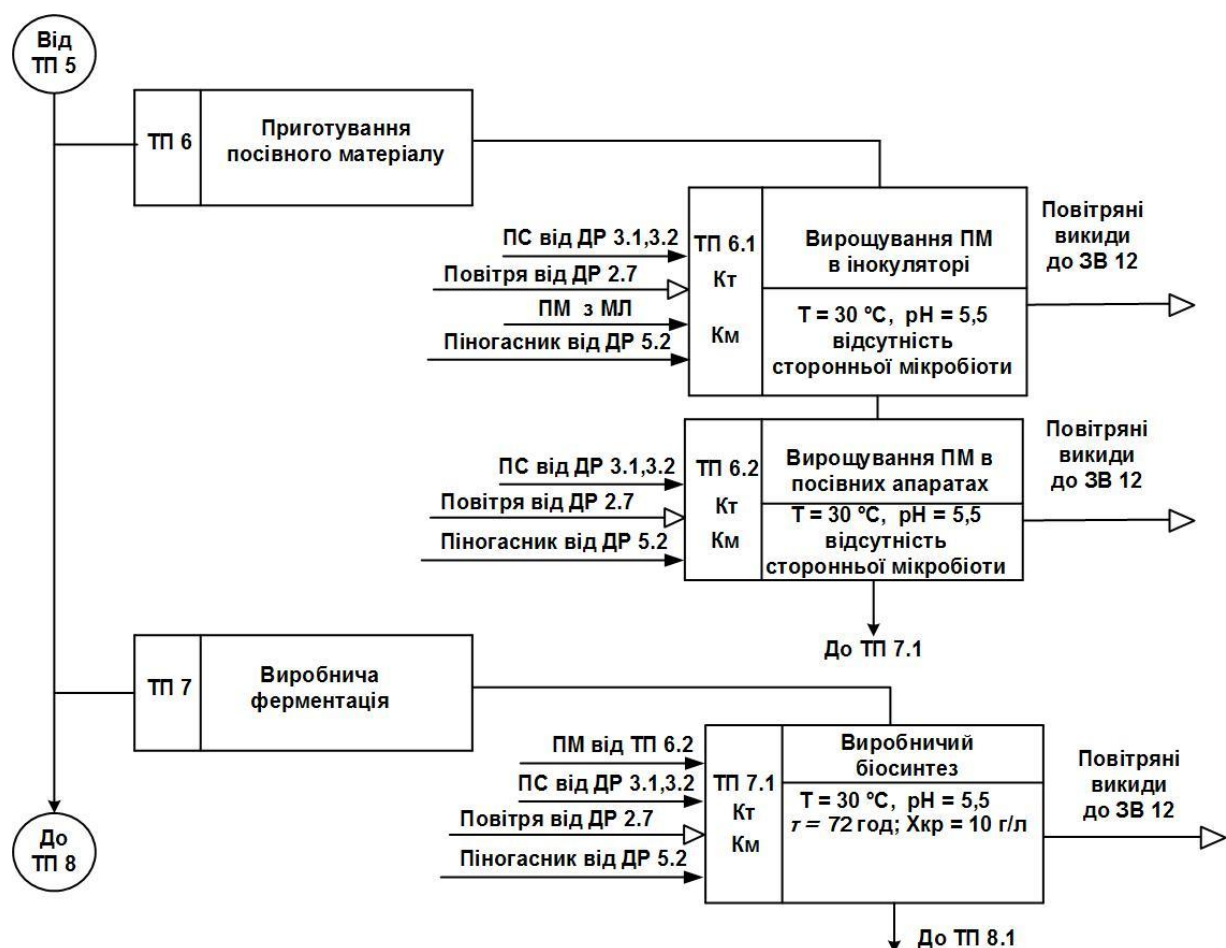


Рис.7.23. Типова технологічна схема вирощування посівного матеріалу та виробничої ферментації

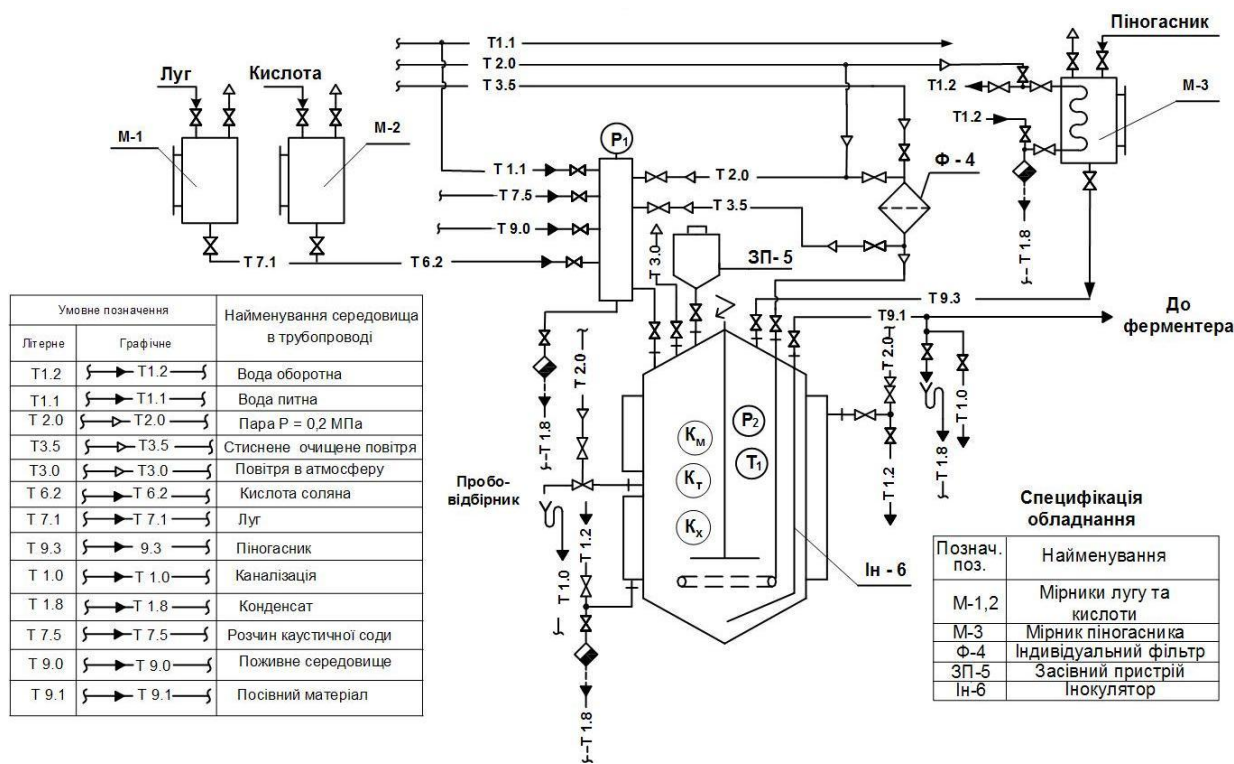


Рис.7.24. Типова апаратурна схема інокулятора (посівного апарату) для вирощування посівного матеріалу.

Передачу посівного матеріалу з одного апарату в іншій здійснюють перетисненням стисненим стерильним повітрям без порушення асептики.

Кількість посівного матеріалу становить 5...10% від об'єму поживного середовища, яке засівається. Приклад розрахунку необхідної кількості стадій підготовки посівного матеріалу наведено нижче.

Приклад 7.2.

Розрахунок кількості стадій підготовки посівного матеріалу для біосинтезу ферменту ліпази *Yarrowia lipolytica* DSM 3286.

За виробничий цикл отримують $V_{кр} = 25 \text{ м}^3$ культуральної рідини.

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

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

$V_{роб1} = V_{кр} / (1 - E_{ф}) = 25 / (1 - 0,15) = 29,4 \text{ м}^3$, де $E_{ф}$ – втрати культуральної рідини під час біосинтезу - 0,15.

1. Виробничий біосинтез здійснюють у ферментері з робочим об'ємом $V_{роб1} = 29,4 \text{ м}^3$.

При вибраному коефіцієнті заповнення $K_{зф} = 0,5-0,65$ розраховують можливий геометричний об'єм ферментера $V_{ф}$, що становить

$$V_{ф} = V_{роб1} / K_{зф} = 29,4 / 0,6 = 49 \text{ м}^3.$$

Приймаємо найближчий за об'ємом стандартний ферментер $V_{сф} = 50 \text{ м}^3$ та уточнюємо прийнятий раніше коефіцієнт заповнення

$$K_{зп1} = V_{роб1} / V_{сф} = 29,4 / 50 = 0,59.$$

Уточнений коефіцієнт заповнення перебуває у вибраних межах (0,5-0,65) отже геометричний об'єм ферментера вибрано вірно.

Кількість посівного матеріалу (доза) для ферментера становить від 5 до 10 % від об'єму поживного середовища.

Тоді кількість поживного середовища в ферментері буде становити:

$V_{пс1} = V_{роб1}/(1+X_{ф}) = 29,4/(1+0,1) = 26,7 \text{ м}^3$, де $X_{ф} = 0,1$ – прийнята доза посівного матеріалу для ферментера.

Кількість посівного матеріалу складе

$$V_{пм1} = V_{роб1} - V_{пс1} = 29,4 - 26,7 = 2,7 \text{ м}^3.$$

2. Для одержання $V_{пм1} = 2,7 \text{ м}^3$ інокуляту в посівному апараті слід врахувати втрати в результаті краплиносу через колектор відпрацьованого повітря, які становлять від 10 до 15%. Приймаємо $E_{па} = 0,10$, частка.

Тоді кількість поживного середовища та посівного матеріалу в посівному апараті становитиме:

$$V_{роб2} = V_{пм1}/(1-E_{па}) = 2,7/(1-0,10) = 3,0 \text{ м}^3.$$

Кількість посівного матеріалу (доза) становить від 5 до 10% від об'єму поживного середовища.

Тоді кількість поживного середовища в посівному апараті буде становити

$V_{пс2} = V_{роб2}/(1+X_{па}) = 3,0/(1+0,1) = 2,7 \text{ м}^3$, де $X_{па} = 0,1$ – доза інокуляту для посівного апарату.

Кількість посівного матеріалу для посівного апарату становить

$$V_{пм2} = V_{роб2} - V_{пс2} = 3,0 - 2,7 = 0,30 \text{ м}^3 \text{ або } 300 \text{ л.}$$

Кількість інокуляту $V_{роб2} = 2,7 \text{ м}^3$ можна одержати під час культивування дріжджів у посівному апараті геометричним об'ємом $V_{па2} = V_{роб2}/K_{зп} = 2,7/0,6 = 4,5 \text{ м}^3$. Приймаємо найближчий за об'ємом стандартний посівний апарат $V_{спа} = 5,0 \text{ м}^3$ та уточнюємо прийнятий раніше коефіцієнт заповнення.

$$K_{зп1} = V_{роб2}/V_{спа} = 2,7/5,0 = 0,54.$$

Уточнений коефіцієнт заповнення перебуває у вибраних межах (0,5-0,65) отже геометричний об'єм посівного апарата вибрано вірно.

3. Для одержання $V_{пм2} = 300 \text{ л}$ посівного матеріалу в інокуляторі враховуємо втрати в результаті краплиносу через колектор відпрацьованого повітря, які становлять від 10 до 15%.

Тоді кількість поживного середовища та посівного матеріалу перед культивуванням в інокуляторі при втратах через крапле винос $E_{ін} = 0,1$ становитиме

$$V_{роб3} = V_{пм2}/(1-E_{ін}) = 300/(1-0,10) = 333 \text{ л.}$$

Кількість посівного матеріалу (доза) становить 10 % від об'єму поживного середовища.

Тоді кількість поживного середовища в інокуляторі буде:

$V_{пс3} = V_{роб3}/(1+X_{ін}) = 333/(1+0,1) = 303 \text{ л}$, де $X_{ін} = 0,1$ – доза посівного матеріалу для інокулятора.

Кількість посівного матеріалу для інокулятора складе

$$V_{пм3} = V_{роб3} - V_{пс3} = 333 - 303 = 30 \text{ л.}$$

Кількість інокуляту $V_{роб3} = 333 \text{ л}$ можна одержати під час культивування дріжджів в інокуляторі геометричним об'ємом $V_{ін3} = V_{роб3}/K_{з1} = 333/0,6 = 555 \text{ л}$. Приймаємо найближчий за об'ємом стандартний інокулятор $V_{сін} = 630 \text{ л}$ та уточнюємо прийнятий раніше коефіцієнт заповнення.

$$K_{з1} = V_{роб3}/V_{сін} = 333/630 = 0,53.$$

Уточнений коефіцієнт заповнення перебуває у вибраних межах (0,5-0,65) отже геометричний об'єм інокулятора вибрано вірно.

4. Для одержання 30 л посівного матеріалу в малому інокуляторі враховуємо втрати в результаті краплиносу через колектор відпрацьованого повітря, які становлять від 10 до 15%.

Тоді кількість поживного середовища та посівного матеріалу перед культивуванням в малому інокуляторі при втратах через краплиносу $E_{ін} = 0,1$ становитиме:

$$V_{роб4} = V_{пм3}/(1-E_{ін}) = 30/(1-0,10) = 33 \text{ л.}$$

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

$V_{пс4} = V_{роб4}/(1+X_{ін}) = 33/(1+0,1) = 30$ л, де $X_{ін} = 0,10$ –доза посівного матеріалу для інокулятора.

Кількість посівного матеріалу становить для малого інокулятора буде

$$V_{пм4} = V_{роб4} - V_{пс4} = 33 - 30 = 3,0 \text{ л.}$$

Кількість інокуляту $V_{роб4} = 33$ л можна одержати під час культивування дріжджів в малому інокуляторі геометричним об'ємом $V_{ін4} = V_{роб4}/K_{зап} = 33/0,6 = 55$ л. Приймаємо найближчий за об'ємом стандартний інокулятор об'ємом $V_{сін} = 60$ л та уточнюємо прийнятий раніше коефіцієнт заповнення.

$$K_{з1} = V_{роб4}/V_{сін} = 33/60 = 0,55.$$

Уточнений коефіцієнт заповнення перебуває у вибраних межах (0,5-0,65) отже геометричний об'єм малого інокулятора вибрано вірно.

5. Кількість інокуляту для засіву малого інокулятора $V_{пм4} = 3$ л можна одержати культивуванням дріжджів у колбах на качалці. Для цього використовують качалочні колби об'ємом $V_{колб} = 750$ мл та коефіцієнтом заповнення $K_{зк} = 0,2$.

Тоді кількість качалочних колб для отримання посівного матеріалу становитиме

$$N_{колб} = V_{пм5}/(V_{колб} \cdot K_{зк}) = 3000/(750 \cdot 0,2) = 20.$$

Отже, процес одержання посівного матеріалу для забезпечення виробничого біосинтезу ліпази у ферментері об'ємом 50 м^3 з коефіцієнтом заповнення 0,6 буде проходити у п'ять етапів (рис.7.25).

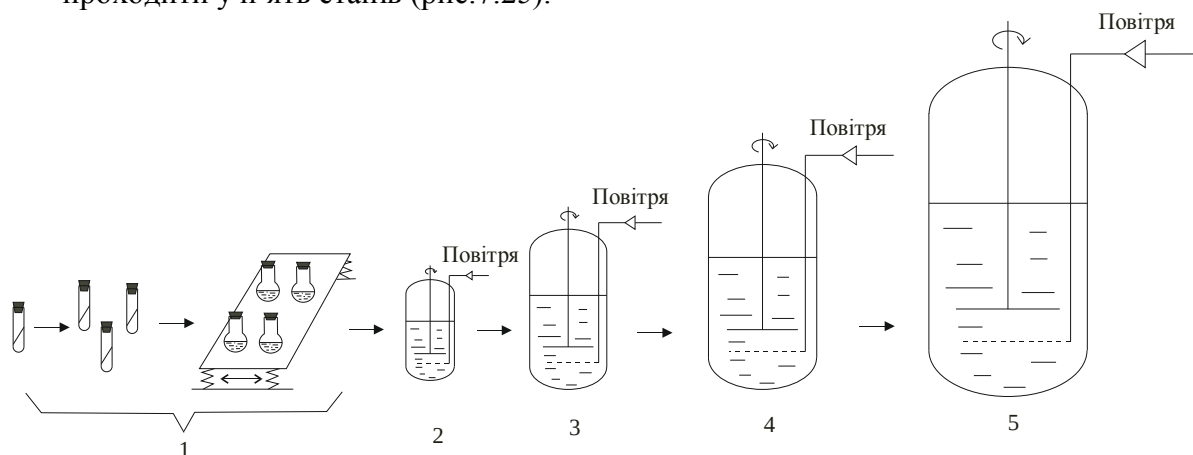


Рис.7.25. Схема приготування посівного матеріалу *Y.lipolytica* DSM 3286:

1 – вирощування в лабораторії (на скошеному агаризованому середовищі в пробірках і на рідкому поживному середовищі в 20 колбах на качалці); 2–4 – вирощування в інокуляторах та посівному апараті об'ємом (м^3): 2 – 0,06; 3 – 0,63; 4 – 5,0; 5 – виробничий біосинтез 50 м^3 .

Таким чином, за результатами розрахунків для біосинтезу ліпази *Y.lipolytica* DSM 3286 приймаємо до встановлення один ферментер об'ємом 50 м^3 , один посівний апарат об'ємом $5,0 \text{ м}^3$, один інокулятор об'ємом $0,63 \text{ м}^3$ і один інокулятор об'ємом 60 л та 20 качалочних колб.

Для зручності результати розрахунку представимо у вигляді таблиці 7.7.

Таблиця 7.7.

Об'єми ферментаційних апаратів для стадії підготовки посівного матеріалу та виробничого біосинтезу

№ стадії	Геометричний об'єм ферментера, V_{Γ} , м^3	Коефіцієнт заповнення, $K_{\text{зап}}$, частка	Робочий об'єм ферментера, $V_{\text{роб}}$, м^3 (л)	Об'єм поживного середовища, $V_{\text{пс}}$, м^3 (л)	Об'єм посівного матеріалу, $V_{\text{пм}}$, м^3 (л)
1	2	3	4	5	6
1.	0,750×20 колб	0,2	3 (л)	2,7 (л)	0,3 (л)
2.	0,06	0,55	33 (л)	30 (л)	3 (л)
3.	0,63	0,55	0,33	0,3	0,03
4.	5,0	0,53	3,0	2,7	0,3
5.	50	0,59	29,4	26,7	2,7

7.4. Виробнича ферментація (біосинтез)

У загальному вигляді виробнича ферментація не відрізняється від стадії вирощування посівного матеріалу, але має певні відмінності:

- склад поживного середовища може відрізнятись від такого при вирощування посівного матеріалу;
- час культивування для отримання цільового продукту – більший;
- у процесі біосинтезу для збільшення виходу цільового продукту проводять періодичне підживлення культури вуглеводмісними компонентами та розчинами мікроелементів;
- температура культивування та рН середовища, аерація може відрізнятись як такого при вирощуванні посівного матеріалу;
- прискіпливіше контролюються мікробіологічні показники, концентрація компонентів поживного середовища (вміст вуглецю та азоту), концентрація цільового продукту.

Ферментаційна апаратура (ферментери) виробничої ферментації конструктивно практично не відрізняється від інокуляторів, але залежно від продуктивності має більші об'єми. Принциповим у цьому процесі є врахування ефекту масштабування, що виникає при збільшенні геометричних об'ємів ферментерів і впливає на загальну продуктивність біотехнологічного процесу.

Важливим у процесі визначення кількості циклів завантаження (партій) виробничого ферментера є врахування не тільки часу виробничого біосинтезу, але й часу на підготовку виробничого ферментера, із збільшенням геометричного об'єму апарата він може бути співставним із часом культивування. Крім того, при визначенні кількості циклів слід враховувати ймовірність проведення нестерильних операцій, у результаті яких втрачається не тільки посівний матеріал, але й частина цільового продукту в культуральній рідині. Як правило, таку ймовірність приймають від 10 до 50 % залежно від часу виробничого біосинтезу: із збільшенням часу біосинтезу ймовірність отримати нестерильну операцію виробничого

біосинтезу різко зростає. Приклад типової апаратурної схеми виробничого ферментера представлено на рис.7.25.

Запитання для самоперевірки

1. Наведіть перелік стадій передферментаційних процесів.
2. Охарактеризуйте стадії санітарної підготовки виробництва.
3. Охарактеризуйте стадії підготовки поживного середовища.
5. Які способи стерилізації рідин існують і як вони використовуються для стерилізації поживного середовища?
6. Наведіть класифікацію та охарактеризуйте принципи вибору устаткування та апаратури для приготування та стерилізації ПС.

Список літератури до розділу 7

1. Стасевич, М.В. Обладнання технологічних процесів фармацевтичних та біотехнологічних виробництв: навч. Посібник для вищ навч. заклад./ М.В. Стасевич, А.О. Миляннич, І.О. Гузьова [та ін.]; за ред. В.П.Новікова. – Вінниця: Нова Книга, 2012. – 408 с.
2. Буценко, Л.М. Технології мікробного синтезу лікарських засобів: навч. посібник / Л.М. Буценко, Ю.М. Пенчук, Т.П. Пирог. – К. :НУХТ, 2010. – 323 с.
3. Сидоров, Ю.І. Процеси і апарати мікробіологічної та фармацевтичної промисловості. Технологічні розрахунки. Приклади і задачі. Основи проєктування: Навч. посібник. /Ю.І. Сидоров, Р.Й. Влязло, В.П. Новіков - Львів: «Інтелект-Захід», 2008.- 736 с.

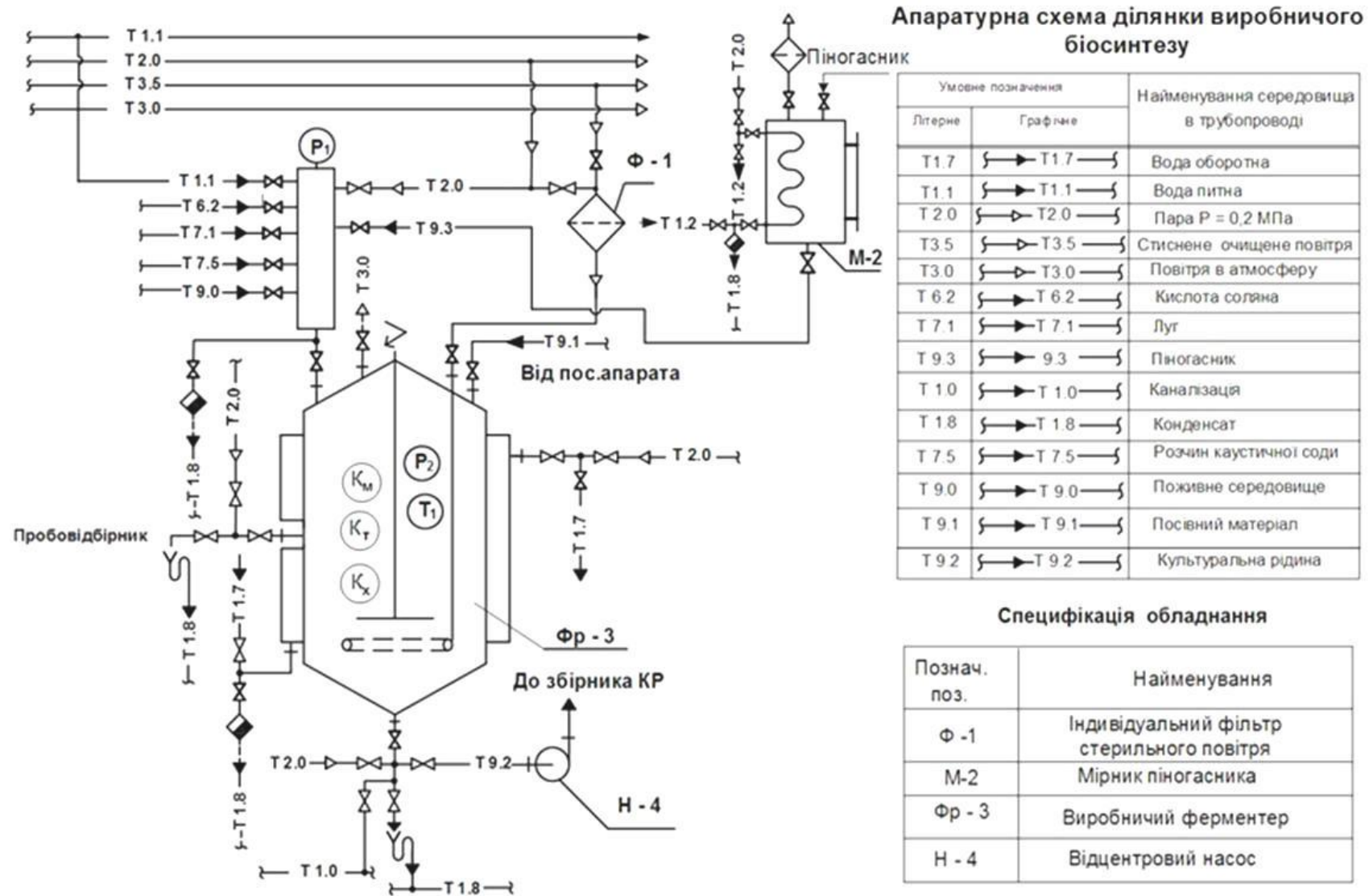
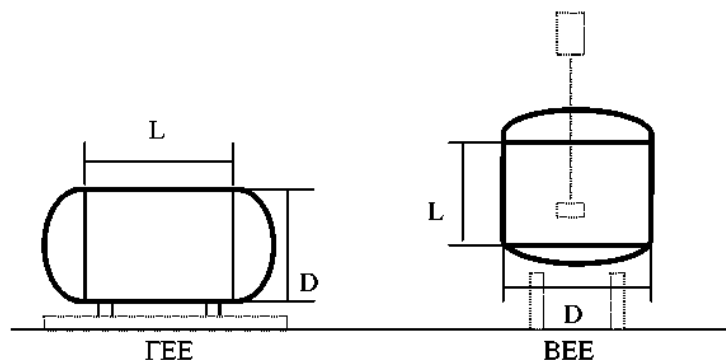


Рис.7.25. Типова апаратурна схема виробничого ферментера

Додаток до розділу 7

Стандартні габаритні розміри апаратури зі стандартною ємністю



1. Вертикальні та горизонтальні ємності з еліптичним дном та кришкою типу (V – стандартний об’єм, м³; D – внутрішній діаметр, мм; L – довжина циліндричної частини, мм)

Таблиця 7.8.

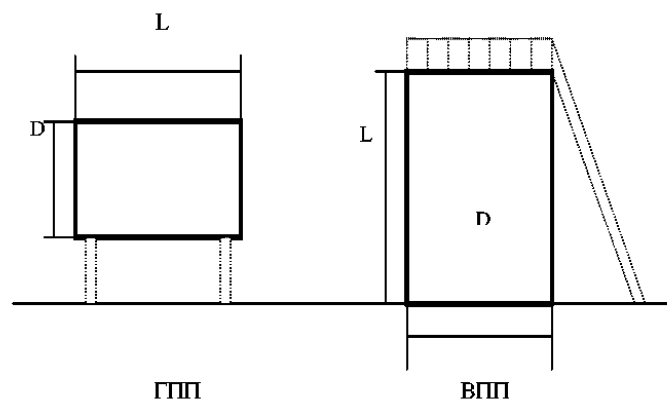
V	D	L	V	D	L	V	D	L
1	2	3	4	5	6	7	8	9
0,040	400	185	1,60	1400	575	20,0	2000	5705
0,063		370	2,00	1000	2215		2200	4535
0,100		665		1200	1370		2400	3625
0,125	400	860		1400	835	25,0	2600	2905
	500	470	2,50	1200	1815		2800	2320
0,16	500	650		1400	1160		2200	5850
	600	315		1600	715	32,0	2400	4730
0,20	500	855	3,20	1200	2430		2600	3850
	600	510		1400	1615		2800	3135
0,25	500	1105	4,00	1600	1060	40,0	2400	6280
	600	685		1200	3140		2600	5165
	700	420		1400	2135		2800	4270
	800	230		1600	1460		3000	3235
0,32	500	1465	5,00	1800	975	50,0	3200	2920
	600	935		1200	4025		2400	8050
	700	600		1400	2785		2600	6675
	800	370		1600	1955		2800	5670
0,40	500	1870	6,30	1800	1370	63,0	3000	4665
	600	1215		1400	3630		3200	3915
	700	810		1600	2605		2400	10260
	800	530		1800	1880		2600	8560
0,50	600	1570	8,00	2000	1340	80,0	2800	7195
	700	1070		1600	3450		3000	6080
	800	730		1800	2550		3200	5160
0,63	900	690	10,0	2000	1885	63,0	2800	9305
	1000	470		1600	4675		3000	7920
0,80	800	1325		1800	3580	63,0	3200	6775
	900	960		2000	2800	80,0	2800	12070
	1000	685		2200	2200		3000	10330
1	2	3	4	5	6	7	8	9
1,00	800	1725	12,5	1600	5960		3200	8890

Продовження таблиці 7.8.

	900	1275		1800	4315	100, 0	3000	13160
	1000	940		2000	3315		3200	11380
	1200	485		2200	2560	125, 0	3000	16700
1,25	1000	1260		2400	1970		3200	14430
	1200	705	16,0	2000	4430	160, 0	3000	21650
1,60	1000	1705		2200	3480		3200	18840
	1200	1015		2400	2740	200, 0	3400	20910

Примітки: 1) сірим кольором виділені корпуси ємностей тільки в горизонтальному виконанні (цистерни); 2) відношення L/D для реакторів-змішувачів у вертикальному виконанні не перевищує, як правило, 1,5; через особливості аераційних процесів, ферментери даними стандартами не регламентуються.

2. Корпуси з плоскими дном і кришкою типу ГПП та ВПП (таблиця 7.9.)



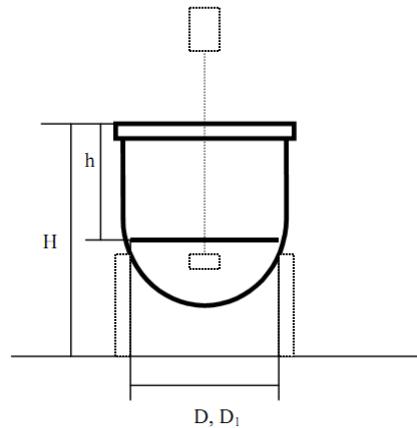
Таблиця 7.9.

V	D	L	V	D	L	V	D	L
1	2	3	4	5	6	7	8	9
0,063	400	500	5,00	1600	2490	40,0	3000	5660
0,100		795		1800	1965		3200	4975
0,125	500	635	6,30	1600	3135		3400	4410
0,160		815		1800	2475		3600	3930
0,200	600	710		2000	2005	50,0	2800	8125
0,250		885	8,00		2550		3000	7075
0,320		1130		2200	2105		3200	6220
0,400		1415	10,0		2630		3400	5510
	800	795		2400	2210		3600	4915
0,500		995	12,5	2200	3290		4000	3980
0,630	900	990		2400	2765	63,0	2800	10240
	1000	805	16,0	2200	4210		3000	8915
0,800		1020		2400	3540		3200	7835
1,00		1275		2600	3015		3400	6945
	1200	885		2800	2600		3600	6190
1,25	1000	1590	20,0	2400	4425	63,0	4000	5015
	1200	1105		2600	3770	80,0	2800	13000
1,60	1000	2040		2800	3250		3000	11325
	1200	1415		3000	2830		3200	9950
2,00		1770	25,0	2600	4710		3400	8815
	1400	1300		2800	4060		3600	7865

Продовження таблиці 7.9.

1	2	3	4	5	6	7	8	9
2,50	1200	2210	32,0	3000	3540	100,0	4000	6370
3,20	1400	1625		3200	3110		2800	16250
		2080		2800	5200		3000	14155
	1600	1590		3000	4530		3200	12440
4,00	1400	2600		3200	3980		3400	11020
	1600	1990		3400	3525		3600	9830
	1800	1575	40,0	2800	6500		4000	7960

3. Корпуси з еліптичним відбортаним днищем і плоскою кришкою типу ВЕП



D – зовнішній діаметр, мм; D_1 – внутрішній діаметр, мм; H – загальна висота, мм; h – висота циліндричної частини, мм

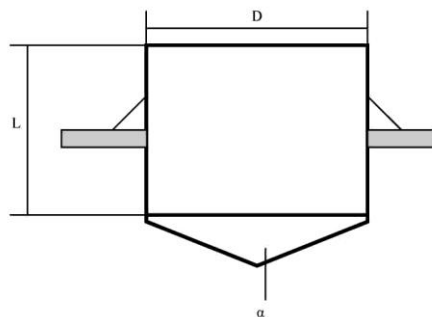
Таблиця 7.10.

V	D	D ₁	h	H	V	D	D ₁	h	H	V	D	D ₁	h	H
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
0,01	-	219	250	325	0,32	-	530	1500	1650	2,50	1400	-	1400	1775
	-	273	125	210		600	-	1000	1175		1400	-	1800	2175
0,016	-	273	250	335		-	630	1000	1175	4,00	1600	-	1250	1675
0,025	-	325	205	350		700	-	700	900		1600	-	1800	2225
0,040	-	377	300	415	0,40	-	720	700	900		1800	-	1250	1740
	400	-	220	345		700	-	900	1100	5,00	1600	-	2200	2625
0,063	400	-	400	525		-	720	900	1100		1800	-	1600	2090
	-	426	400	525		800	-	650	875	6,30	1600	-	2800	3225
0,100	400	-	700	825	0,50	800	-	800	1025		1800	-	2100	2590
	-	426	700	825		800	-	1100	1325		2000	-	1600	2140
	500	-	400	550	0,63	900	-	800	1050	8,00	1800	-	2800	3290
0,100	-	530	400	550		1000	-	600	875		2000	-	2200	2740
0,125	400	-	900	1025	1,00	800	-	1400	1625	10,0	2200	-	1800	2390
	-	426	900	1025		800	-	1800	2025		2000	-	2800	3340
0,16	-	480	900	1040		900	-	1400	1650	12,5	2200	-	2200	2790
	500	-	700	850		1000	-	1100	1375		2200	-	2800	3390
	-	530	700	850	1,25	120	-	650	975	16,0	240	-	240	304
	600	-	450	625		800	-	240	262		240	-	320	384
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
	-	630	450	625	1,60	100	-	140	167	20,0	260	-	250	319
	700	-	280	480		120	-	110	122		280	-	210	284
	-	720	280	480		100	-	180	207		260	-	340	409

Продовження таблиці 7.10.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
0,20	600	-	600	775	2,00	120	-	125	157	25,0	280	-	280	354
	-	630	600	775		140	-	800	117		260	-	420	489
0,25	600	-	800	975	2,00	100	-	240	267	32,0	280	-	360	434
	-	630	800	975		120	-	150	182		300	-	300	379
	700	-	500	700	2,50	140	-	110	147		280	-	480	554
	-	720	500	700		100	-	300	327		300	-	400	479
0,32	500	-	150	165		120	-	200	232					

4. Ємності типу ВКП (Таблиця 7.11.)



Таблиця 7.11

V	D	L			V	D	L		
		a= 60°	a= 90°	a= 120°			a= 60°	a= 90°	a= 120°
0,100	400	675	735	755		2000	2605	2850	2995
0,125		495	555	590		2200	1995	2265	2420
0,160		675	735	770	12,5	2400	-	2365	2535
0,200		535	610	650	16,0		-	2580	2765
0,250		710	785	830			-	3335	3520
0,320	700	630	715	765	20,0		-	2780	2980
	600	1240	1315	1360		2800	-	3595	3795
	700	835	925	970			-	3035	3250
0,500		765	800	920			-	-	4240
		1025	1120	1175		3200	-	-	3670
	900	730	840	905		3000	-	-	5375
0,800		730	850	925	40,0	3200	-	-	4670
1,00		985	1105	1180		3600	-	-	3585
1,25		760	905	990		3200	-	-	5910
1,60		1070	1215	1300		3600	-	-	4570
2,00	1400	895	1065	1165	50,0	4000	-	-	3595
2,50		1220	1390	1490	63,0	3600	-	-	5845
3,20	1400	1675	1845	1945		4000	-	-	4630
3,20	1600	1310	1325	1440	80,0	3600	-	-	7515
4,00		1530	1725	1835		4000	-	-	5985
5,00	1800	1445	1665	1795	100,0	3600	-	-	9485
6,30		1995	2175	2305		4000	-	-	7575
8,00	2000	1970	2215	2355					

Розділ 8. ВИДІЛЕННЯ, ОЧИЩЕННЯ, КОНЦЕНТРУВАННЯ ПРОДУКТІВ МІРОБНОГО СИНТЕЗУ. ПРИНЦИПИ ВИБОРУ МЕТОДІВ.

8.1. Методи отримання товарної форми продуктів мікробного синтезу

У результаті виробничого біосинтезу отримують культуральну рідину або твердофазну культуру, що включає клітини мікроорганізмів, залишки поживних речовин, різні позаклітинні продукти метаболізму та ін. Вміст біомаси або іншого цільового продукту в культуральній рідині зазвичай не перевищує 3...4% сухої речовини. Концентрування і отримання товарної форми продукту з культуральної рідини або твердофазної культури здійснюють у процесі подальшій переробки.

Продукти мікробного синтезу випускають в трьох основних товарних формах:

- *концентрати* – зневоднена культуральна рідина, що містить біомасу (кормові концентрати амінокислот, вітамінів, антибіотиків, неочищені ферментні препарати): вміст сухих речовин (СР) – до 50 %;
- *зневоднена мікробна біомаса* (хлібопекарські кормові дріжджі, бактерійні добрива і ін.): вміст СР – 90...95 %;
- *технічні або очищені (високоочищені) препарати ферментів, антибіотиків, амінокислот* тощо: вміст СР та ступінь очищення – 90...95 %.

Залежно від товарної форми, яку необхідно отримати, а також від властивостей цільового продукту і культуральної рідини (або твердофазної культури), що переробляється, використовують ті або інші способи концентрації і виділення продуктів мікробіологічного синтезу.

Вибір того чи іншого метода виділення та очищення цільового продукту ілюструє схема, наведена на рис.8.1.

Залежно від фізико-хімічного стану, виду та форми цільового продукту розрізняють три рівня переробки готової культуральної рідини.

Перший рівень: форми представлення цільового продукту, який включає чотири етапи:

- I етап – біосинтез цільового продукту у ферментері і, як результат, отримання культуральної рідини, що може бути використана як готовий продукт, наприклад, у сільському господарстві: засоби захисту рослин, у промисловості: розчини технічних полісахаридів тощо;
- II етап – у результаті розділення фаз з КР можна отримати три варіанти готового продукту: нативний розчин, міцелій (біомаса), гомогенна система, які можуть бути використані у різних сферах діяльності;
- III етап – виділення цільового продукту у вигляді зневодненого концентрату;
- IV етап – отримання очищеного цільового продукту як у рідкий, так і у твердій формі.

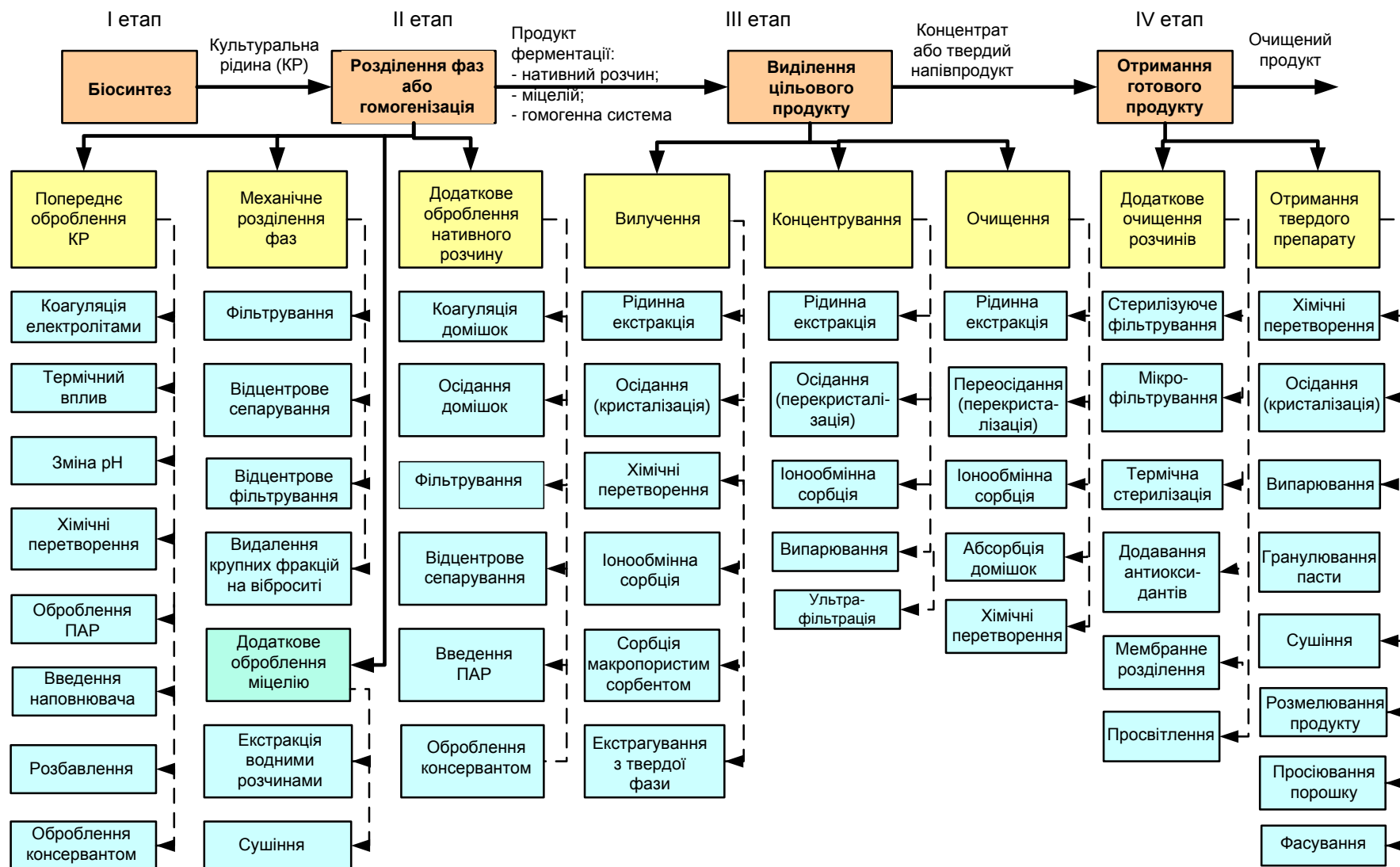


Рис.8.1. Схема виділення, очищення цільового продукту мікробного синтезу залежно від його форми

Другий рівень: перелік процесів, які дозволяють реалізувати етапи першого рівня.

Третій рівень: пропонований перелік конкретних методів реалізації процесів, наведених на другому рівні.

Як видно з наведеної схеми, вибір конкретного метода реалізації вказаних процесів становить складне інженерне завдання. Під час вибору методів їх слід оцінювати за економічною доцільністю, різницею капіталовкладення, витрат енергоносіїв, робочої сили та інших складових собівартості готового продукту, що впливають на його рентабельність.

Найпростіший спосіб переробки культуральної рідини – зневоднення шляхом упарювання або висушування без виділення цільового продукту в чистому вигляді. Отримуваний концентрат, крім основного продукту, містить біомасу культури – продуцента БАР, залишки поживних речовин і піногасник, інші метаболіти. Такі концентрати застосовують, в основному, для приготування рідких або сухих кормових препаратів амінокислот, вітамінів тощо, які використовують, як правило, у сільському господарстві. Аналогічним чином отримують неочищені ферментні препарати з твердофазних культур.

8.1.1. Отримання зневодненої мікробної біомаси

Для отримання *зневодненої мікробної біомаси* (сухі хлібопекарські та кормові дріжджі, бактерійні добрива та інше) використовують різні способи виділення. Найвідоміші з них:

- *Механічні:* фільтрування, відстоювання, центрифугування, сепарування, розділення на гідроциклонах;
- *Теплотехнічні:* випарювання та сушіння.

Кожний з них придатний на певній стадії зневоднювання, наприклад для низьких концентрацій дріжджових клітин у суспензії кращими є флотація та сепарування, а для згущеної (висококонцентрованої) дріжджової суспензії - фільтрування, упарювання, сушіння.

8.1.2. Отримання концентратів

У тих випадках, коли допускається застосування продукту біосинтезу у неочищеному вигляді (шкіряна, спиртова промисловість, сільське господарство), доцільно випускати цей продукт у вигляді концентрату. Це найбільш простий і дешевий спосіб отримання товарної форми. Технологію приготування мікробних концентратів розглянемо на прикладі кормових концентратів лізину (ККЛ), що випускаються в рідкій і сухій формах. Вміст лізину в цих концентратах складає відповідно 7...10 і 15...20% на суху речовину.

Рідкі ККЛ отримують шляхом упарювання культуральної рідини у вакуум-випарних установках до вмісту сухої речовини 45...50%. Для інактивації мікробіоти і зниження втрат лізину під час термообробки початкову рідину заздалегідь підкисляють до рН 5,5...6,0, переводячи лізин у

форму монохлоргідрату лізину і стабілізують шляхом додавання 0,17 % бісульфату натрію. Залежно від типу вживаних випарних установок і режиму проведення процесу упарювання втрати лізину складають від 1 до 20 %. Якнайкращі результати досягаються при використанні вакуум-випарних установок з падаючою або висхідною плівкою (наприклад, «Вігант» виробництва Німеччини).

Сухий ККЛ отримують, висушуючи рідкий концентрат в розпилювальних сушарках. Отриманий препарат має високу гігроскопічність, що приводить до налипання продукту на стінках апаратів і трубопроводів і вимагає його герметичної упаковки. Для зниження гігроскопічності сухого ККЛ упарену рідину перед сушкою змішують з наповнювачами, наприклад з пшеничними висівками. Отриманий продукт зручніший для використання, оскільки менш гігроскопічний, хоча містить менше лізину.

У кормових концентратах лізину, крім самого лізину (близько 15% на суху речовину), є й інші амінокислоти (до 15%), вітаміни групи В (від 10 до 340 мкг/г), бетаїн (до 13%), зольні й інші елементи.

Твердофазні культури мікроорганізмів, широко вживані для отримання готових препаратів, або висушують до вологості 10...12% і відправляють у такому вигляді споживачам, або піддають екстракції з подальшим отриманням технічних або очищених препаратів ферментів. Розглянемо коротко технологію отримання мікробних препаратів з сухих твердофазних культур.

Отримана на стадії біосинтезу твердофазна культура має вологість 35...60% і є злиплою біомасою. Перед висушуванням необхідно подрібнити вологу культуру за допомогою дезінтеграторів або дробарок різних типів до гранул розміром 2...3 мм.

Подрібнену культуру негайно висушують в установках стрічкового, тунельного, барабанного або іншого типу. Особливість процесу сушки твердофазних культур полягає в тому, що цільові продукти є термолабільними речовинами, тому сушіння треба здійснювати в м'яких режимах, індивідуальних для конкретної культури. Як правило, тривалість сушки культури не повинна перевищувати 5...8 хв, а температура продукту на виході не бути більшою за 40...42°C.

Конвеєрна сушарка, що використовується у виробництві ферментних препаратів та кормових антибіотиків, зображена на рис.8.2. Це герметизована камера, усередині якої розташований багатоярусний стрічковий конвеєр. Волога культура поступає на верхній ярус конвеєра, проходить послідовно по всіх ярусах, висушується і розвантажується на конвеєр для видалення сухої культури з сушильної установки. Сушильний агент (повітря) подається вентилятором через кондиціонер. Для нагрівання повітря в камері встановлені калорифери. Перевагами конвеєрних сушарок є їх висока продуктивність (3,5...4,0 т/добу) при порівняно невеликих габаритних розмірах. Недолік таких установок полягає у нерівномірному висушуванні

частинок культури різного розміру. Найкрупніші частинки висихають до необхідної вологості (12...15%), а дрібні пересихають, що приводить до інактивації ферментів. Втрати активності ферменту в такій сушарці сягає 10...16%. Висушену культуру упаковують у крафт-мішки, маркують і відправляють споживачам.

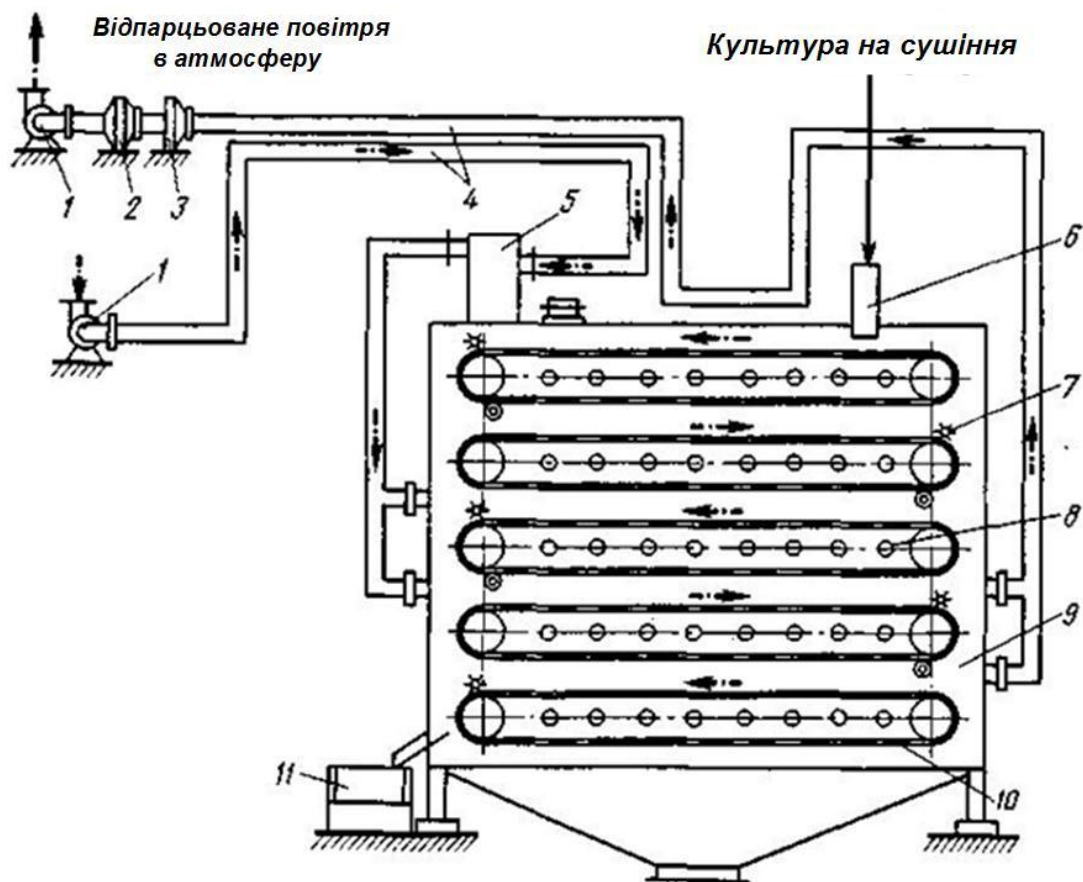


Рис. 8.2. Схема конвеєрної сушарки: 1 – вентилятори; 2,3 –фільтри; 4 – повітропроводи; 5 –кондиціонер; 6 – штуцер для подачі вологої культури; 7 – розпушувачі; 8 – калорифери; 9 – сушильна камера; 10 –стрічка конвеєра; 11 –конвеєр для вивантаження висушеної культури.

8.1.3. Отримання очищених препаратів.

У технології отримання очищених продуктів мікробного синтезу характерним є зменшення масштабності стадій від початкових до кінцевих (зменшення об'єму матеріальних потоків, що переробляються). Це обумовлено малою концентрацією цільових продуктів у культуральній рідині і їх концентруванням у процесі виділення і очищення. Наприклад, у виробництві антибіотиків вміст цільового продукту в культуральній рідині складає всього 0,05...3,0%, а у перерахунку на сухий залишок (тобто ступінь чистоти продукту) – від 1 до 15%. Окремі етапи виробництва розрізняються і тривалістю: від декількох годин до декількох діб.

Для вибору схеми виділення і очищення цільового продукту мікробного синтезу (див. рис.8.1.) велике значення має локалізація цільового продукту.

Внутрішньоклітинний цільовий продукт: дезінтеграція клітин, виділення

цільового продукту з дезінтеграту (видалення уламків клітин, екстракція, осадження, концентрування, кристалізація тощо), сушіння.

Позаклітинний цільовий продукт: попередня обробка супернатанту (за потреби), виділення цільового продукту з супернатанту (екстракція, осадження, концентрування, кристалізація тощо), сушіння.

На наступному етапі технологічного циклу цільовий продукт відокремлюють від основної маси домішок і концентрують. При цьому використовують в основному ті ж процеси, як і при виділенні продукту з нативного розчину в різних поєднаннях. У необхідних випадках проводять додаткове очищення розчинів спеціальними сорбентами.

На останній стадії виробництва цільовий продукт виділяють у вигляді твердої фази за допомогою кристалізації (осадження) з подальшим висушуванням або випарюванням розчинника з відповідного розчину. Отриманий твердий продукт після подрібнення і фасування направляють споживачам або використовують для приготування лікарських форм препаратів. Перелік технологічних етапів, які проводяться на двох останніх стадіях виробництва, визначаються, з одного боку, складом культуральної рідини, що переробляється, з іншого боку вимогами, що висуваються до чистоти готового продукту. Найбільші труднощі виникають у тих випадках, коли мікроорганізми продукують разом з цільовим продуктом комплекс речовин, близьких до нього за хімічною природою.

Отже, у схемі виробництва очищених продуктів мікробного синтезу можна виділити чотири основних, практично загальних для всіх випадків, етапів технології. Перший – мікробний синтез; другий – розділення фаз культуральної рідини; третій – виділення концентрату або напівпродукту з відповідної фази (нативного розчину, біомаси, культуральної рідини); останній – отримання з концентрату або напівпродукту чистої речовини. Продукти мікробного синтезу виділяють безпосередньо з культуральної рідини без попереднього відділення біомаси, з водної фази (нативного розчину) після відділення біомаси або з біомаси після розділення фаз.

Перший спосіб використовують у тих випадках, коли розділення фаз з будь-яких причин представляє великі труднощі; у промисловості він застосовується достатньо рідко. Технологічно вигідніше виділяти продукт з нативного розчину. Це можливо, якщо цільовий продукт після закінчення біосинтезу знаходиться у водній фазі або може бути переведений в неї зміною значення рН. У тих випадках, коли цільовий продукт практично не розчиняється у воді, його виділяють з твердої фази – біомаси.

Цінні біологічно активні речовини містяться не тільки в нативних розчинах, але й усередині біомас, і в деяких випадках власне вони, а не біомаси, цікавлять виробника. Для їх вилучення застосовують як звичайні, так і специфічні методи обробки, до яких насамперед слід віднести дезінтеграцію та твердофазову екстракцію.

8.2. Методи дезінтеграції (гомогенізації) біомаси клітин

Термін «дезінтеграція» стосовно клітин біомаси – це їх подрібнення з руйнуванням до органел, а в деяких випадках, навіть, з руйнуванням мітохондрій, ядра, лізосом тощо. Відомо декілька методів дезінтеграції біомаси мікроорганізмів:

1. *Фізичний* – полягає в механічному руйнуванні клітин.
2. *Хімічний* – полягає в руйнуванні оболонок клітин кислотами або лугами або в розчиненні оболонок за допомогою органічних розчинників, наприклад, хлороформу.
3. *Ферментативний* – полягає в руйнуванні оболонок клітин за допомогою ферментних препаратів.

Із сотень відомих методів дезінтеграції більшість належить до механічних. Серед них переважають *балістичні*, в основі яких лежить принцип руйнування клітин подрібнювальними тілами, як у кульових млинах.

Дезінтеграцію можна здійснити, протискаючи клітини крізь вузькі отвори або щілини (*екструзійний метод*). До фізичних методів дезінтеграції належать осмотичний шок (набрякання клітин у чистій воді до розриву оболонок), а також заморожування клітин і руйнування їх в такому стані різноманітними способами подрібнення, наприклад, пострілами заморожених «куль» у тверду стінку. На невеликих виробництвах використовують також ультразвукову обробку біомас.

Хоча дезінтеграційні методи обробки клітинних мас ще не набули поширення, але вже відоме застосування промислових гомогенізаторів. Балістичні дезінтегратори продуктивністю до 2 м³ біомаси/год випускає фірма «Netz». Фірма «Manton-Gaulin» спеціалізується на гомогенізаторах, які працюють за принципом протиснення біомаси крізь отвори; продуктивність цього обладнання від 30 кг до 2 тонн/год. Ультразвукові дезінтегратори випускає англійська фірма «MSE».

Велику лінійку гомогенізаторів нині пропонує фірма «GEA» – від лабораторних до промислових. Це обладнання пристосоване до використання в асептичних біотехнологічних та біофармацевтичних виробництвах:

- більше 300 варіантів налаштування;
- більше 30 моделей гомогенізаторів;
- діапазон тиску 50...2000 бар;
- продуктивність 9...80 000 л/год;

Гомогенізація під високим тиском має ряд переваг перед іншими методами:

- зменшення розміру часток до менш ніж нанометричних розмірів;
- підвищення клінічної ефективності та біологічної доступності препарату;
- контроль і повторюваність результатів без біологічних ризиків;
- оптимізація застосування емульгаторів, добавок і стабілізаторів;

- ефективне руйнування клітин;
- відсутність необхідності у використанні розчинників або хімічних та інших агентів для руйнування стінок клітин;
- відсутність необхідності в подальшому очищенні препарату, що сприяє оптимізації витрат на процес;
- гарантована висока якість продукту;
- запобігання коагуляції та розшаруванню продукту.

Ефективне руйнування клітин:

- бактерій;
- дріжджів;
- водоростей, мікроводоростей;
- грибів.

8.2.1. Дезінтеграція клітин.

Руйнування клітин для вилучення внутрішньоклітинних речовин (протеїнів і / або ензимів) – один з процесів, які найчастіше використовуються у сучасній біотехнології, оскільки механічне руйнування клітин виявляється найбільш ефективним методом обробки для багатьох продуктів і кращою альтернативою застосуванню лізуючих агентів. Така технологія, у тому числі, ідеально пристосована і для обробки вакцин з метою підвищення ефективності активних інгредієнтів.

В основі роботи гомогенізаторів GEA лежить застосування високого тиску для розщеплення часток до необхідного розміру. Як правило, застосовується одностадійна гомогенізація при багаторазовому проході, робочий тиск варіюється від 900 до 1500 бар. Для збереження активності продукту температуру варто підтримувати на досить низькому рівні – нижче 10 °C.

Вибір тиску та кількість проходів звичайно підбирають індивідуально: залежно від специфіки продукту та поставлених завдань. Так, наприклад, ефективність руйнування кліток *Escherichia coli* під час дворазової гомогенізації при 1000 бар зростає до 94% у порівнянні з 89% при однократному проході.

Порівняно з іншими альтернативними технологіями гомогенізація має ряд переваг. Це швидкий безперервний механічний процес без застосування сторонніх субстанцій; отримані в лабораторних умовах результати є повністю відтворюваними та масштабованими у виробничих умовах. При цьому ступінь руйнування клітини або подрібнення часток завжди може бути відрегульована тиском гомогенізації.

Гомогенізація високим тиском незамінна для виробництва ін'єкційних препаратів, наноемульсій і наночасток. Її застосовують для зменшення розміру часточок або крапель в емульсіях (як правило, до субмікронного розміру) і рівномірного їхнього розподілу в суміші. Таке подрібнення створює стабільну дисперсність АФІ у готовому продукті, у результаті чого підвищуються клінічна ефективність препарату, його переносимість і

біодоступність лікарського засобу.

При виробництві вакцин і гормонів, зокрема, інсуліну, як правило, застосовують дво- або трикратний прохід і двоступінчасту гомогенізацію при 900...1200 бар.

Для нутрицевтиків та інгаляційних продуктів часто буває досить однократного проходу при більше низькому тиску (звичайно не вище 700...800 бар).

Гомогенізація також ефективна при виробництві ліпосомальних препаратів. При цьому використовують тиск до 1500 бар і дворазовий прохід при двоступінчастій гомогенізації.

8.2.2. Конструкція та принцип дії гомогенізатора високого тиску

Гомогенізатор являє собою мультиплунжерний насос, що нагнітає продукт у гомогенізуючий клапан спеціальної конструкції, що створює необхідний тиск для мікронізації часточок продукту. У гомогенізуючому клапані часточки піддаються одночасно впливу чотирьох сил: турбулентності, кавітації, ударного навантаження та напруги зрушення. Сукупність цих факторів приводить до ефективного подрібнювання часток.

Схема гомогенізатора від фірми GEA представлена на рис.8.3.

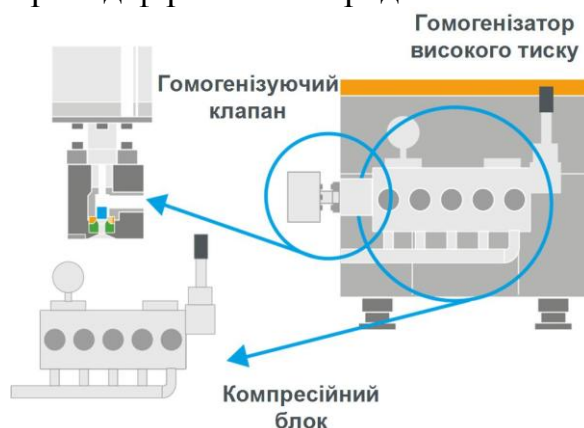


Рис. 8.3. Конструкція гомогенізатора GEA

Принцип роботи гомогенізуючого клапана показано на рис.8.4.

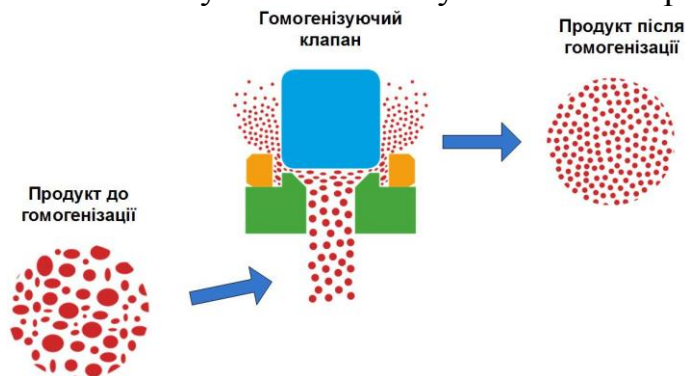


Рис. 8.4. Принцип дії гомогенізуючого клапана

Система гомогенізації із блоком високого тиску VHP (Very High

Pressure - дуже високий тиск) дозволяє зменшити частки продукту до необхідного ступеня мікронізації із застосуванням найменшого можливого тиску та мінімальною кількістю проходів через клапан. Модуль VHP являє собою кілька роздільних блоків, завдяки чому зменшується навантаження на матеріал, зумовлене піком пульсуючого тиску.

Ущільнення спеціальної конфігурації та застосування зносостійких матеріалів дозволяють підвищити надійність і ефективність роботи гомогенізатора з VHP-блоком в умовах надвисоких показників робочого тиску, характерних для процесів, що використовуються у біотехнологічній промисловості.

Використання гомогенізатора з VHP-блоком дозволяє гомогенізувати культуральні рідини із загальним вмістом біомаси від 10% до 30% АСБ в діапазоні робочого тиску 900...1500 бар, температурі на вході <10 °C.

На рис.8.5, 8.6. представлено зразки гомогенізаторів фірми GEA.



Рис.8.5.Лабораторний гомогенізатор на базі гомогенізатора *GEA Ariete*



Рис.8.6. Модель *PharmaSkid* гомогенізатор *Panda Plus 2000NS3030*

Найм'якішим методом дезінтеграції є розщеплення клітин за допомогою літичних ферментів. У невеликих (напівпромислових) масштабах випускають очищений препарат лізосубтилін, який має широкий спектр дії на мікроорганізми. Він здатний лізувати клітини дріжджів, цвільових грибів, бактерій. Препарат особливо корисний для відокремлення субклітинних структур, які руйнуються під час дезінтеграції клітин механічними або хімічними методами. Розвиток методів ферментативної дезінтеграції стримується високою вартістю ферментних препаратів і відсутністю масштабного виробництва високоочищеної продукції. Це не стосується методу руйнування клітин за допомогою ферментів, які продукує сама клітина. Так, наприклад, за присутності невеликої кількості бензолу або інших речовин дріжджові клітини, відчуваючи небезпеку в довкіллі, починають синтезувати в лізосомах ферменти, які розчиняють оболонки клітин зсередини з метою звільнення і виходу назовні спор (автоліз).

Подібний механізм саморуйнування з метою врятування спор є характерним і для деяких бактерій (бацил).

8.3. Методи відокремлення біомаси: фільтрування, центрифугування, сепарування мікробних суспензій.

8.3.1. Розділення фаз культуральної рідини

Розділення культуральної рідини на тверду і рідку фази вимагає великих витрат, оскільки пов'язана з переробкою великих об'ємів суспензій. Для інтенсифікації цієї стадії і зниження втрат цільового продукту культуральну рідину перед розділенням фаз, як правило, піддають спеціальній обробці. В результаті змінюється структура осаду, що забезпечує максимальний ступінь переходу продукту в ту фазу, з якої його далі виділяють, а також видалення домішок, які ускладнюють виділення цільового продукту. Залежно від вимог до повноти відділення дисперсної фази і особливостей культуральної рідини для розділення використовують процеси фільтрації, центрифугування, сепарації, рідше флотації.

Фільтрування. Під фільтруванням розуміють розділення твердої та рідкої фаз під час перепускання суспензії крізь пористу перегородку (фільтр). Сьогодні до методів фільтрування можна віднести і мембранні процеси відокремлення від дисперсійної фази не тільки твердих частинок, але й розчинених речовин з утворенням концентратів цих речовин і пермеатів. Види фільтрування умовно можна розділити на етапи, показані на рис.8.7.

У виробництвах, де цільовим продуктом є один з метаболітів, розчинений у культуральній рідині, для відокремлення клітин біомаси найчастіше використовують фільтрування.

Основна характеристика процесу – *швидкість фільтрації* (кількість фільтрату, що отримується з одиниці фільтруючої поверхні в одиницю часу). Швидкість фільтрації прямо пропорційна різниці тиску з обох боків фільтрувальної перегородки і обернено пропорційна гідравлічному опору перегородки з шаром осаду, що накопичився на ній:

$$dV/Fd\tau = \Delta p / \eta(R_{oc} - R_{\phi.n.}) \quad (8.1.)$$

де V – об'єм фільтрату, м^3 ; F – площа поверхні фільтрації, м^2 ; τ – тривалість фільтрації, с ; Δp – різниця тиску, Па ; η – кінематична в'язкість фільтрату, $\text{Па}\cdot\text{с}$; R_{oc} – опір осаду, м^{-1} ; $R_{\phi.n.}$ – опір фільтрувальної перегородки, м^{-1} .

Опір осаду залежить від його фізико-механічних властивостей і товщини, і його можна визначити за формулою:

$$R_{oc} = r_{oc} m_{oc} V / F \quad (8.2.)$$

де R_{oc} – питомий опір шару осаду масою 1 кг на площі 1 м^2 , м/кг; m_{oc} – маса осаду, що виділяється з 1 м^3 суспензії, кг/м³.

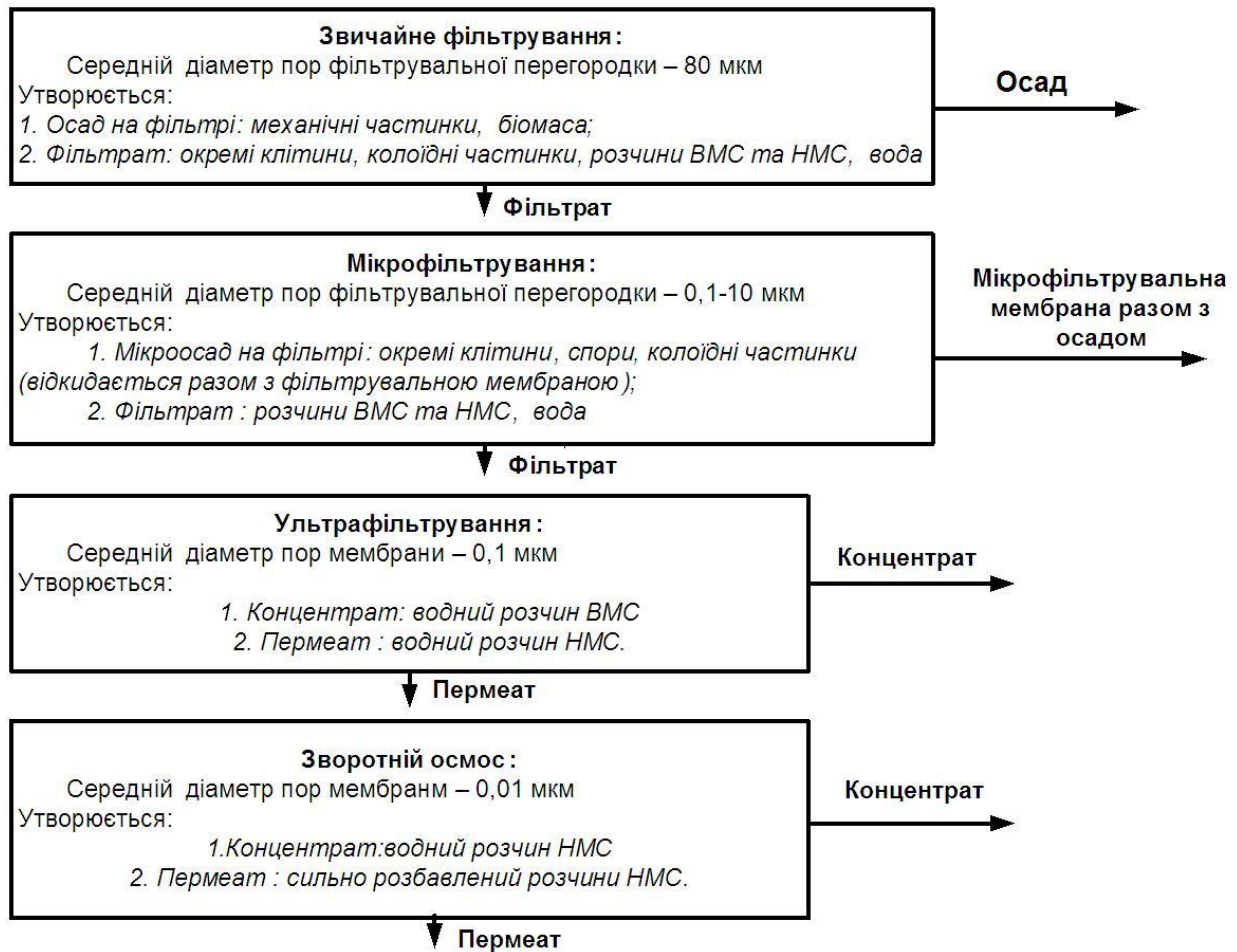


Рис.8.7. Типи фільтрування

Підставивши вираз (8.2) в (8.1.), отримують диференціальне рівняння, що описує процес фільтрації для нестискуваного осаду на нестискуваній перегородці:

$$dV/Fd\tau = \Delta p / \eta(r_{oc}m_{oc}V/F + R_{cp.n}) \quad (8.3.)$$

Як видно з рівняння (8.2), у процесі фільтрації з накопиченням осаду гідравлічний опір лінійно зростає, що призводить до безперервного зниження швидкості фільтрації.

Нині використовують три основних види промислового фільтрування:

1) *Розділення суспензій.* У цьому процесі відбувається фільтрація з утворенням значного шару осаду. Концентрація твердої фази в суспензії повинна бути 1...10 % і вище.

2) *Згушення суспензій,* тобто відфільтровування з них частини рідкої фази. Цей процес здійснюється для суспензій із вмістом твердої фази 0,1...1 % і застосовується для підвищення концентрації твердої фази перед фільтрацією на фільтрах безперервної дії.

3) Освітлення розчинів від забруднюючих тонких часток твердої фази або вловлювання з рідин, що відходять, цінної твердої фази. Освітлення проводиться для суспензій з незначним змістом твердої фази: 0,1 % і менше.

Найпоширенішим видом фільтрації є *фільтрування з утворенням осаду*. У промислових умовах застосовують різноманітні за конструкцією *фільтри*, які класифікують за наступними основними ознаками:

- *тип процесу*: розділення, згущення та освітлення;
- *величина рушійної сили процесу тиску під час фільтрації*: гідростатичний тиск стовпа рідини – не більше $5 \cdot 10^4$ Па, вакуум – до $0,85 \cdot 10^4$ Па ($\Delta P < P_{\text{атм}}$ – фільтр працює під вакуумом), надлишковим тиском, що створюється насосом – до $5 \cdot 10^5$ Па ($\Delta P > P_{\text{атм}}$ – фільтр працює під надлишковим тиском);

- *напрямок фільтрації*: униз, нагору, убік;
- *конструкція*: форма та положення поверхні, робочий простір для суспензії, фільтрату та осаду; спосіб знімання осаду; наявність пристроїв для промивання й зневоднювання осаду.

У процесі вибору фільтра потрібно враховувати: фізико-хімічні властивості суспензій, вимоги до фільтрату та осаду, техніко-економічні показники, продуктивність фільтрів і ін.

На рис. 8.8. – 8.14. представлені різні конструкції фільтрів

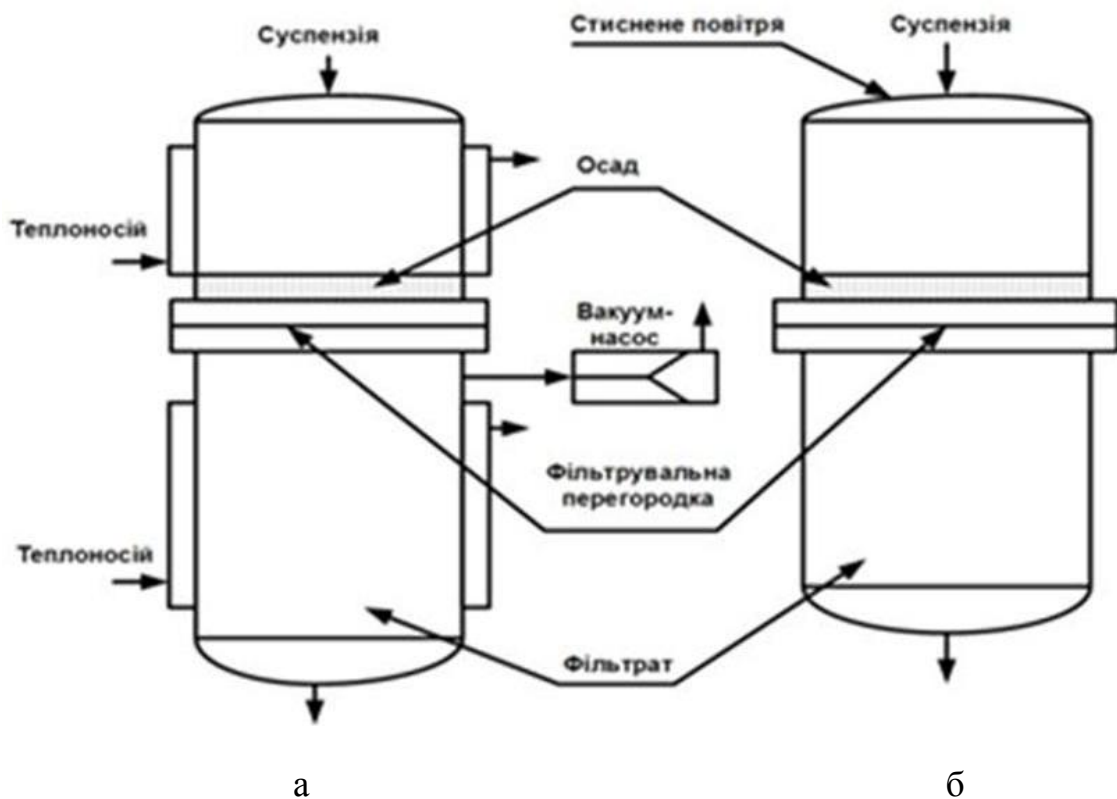


Рис.8.8. Типи фільтрів періодичної дії: а, – нутч-фільтр ($\Delta P < P_{\text{атм}}$ – під вакуумом); б) друк-фільтр ($\Delta P > P_{\text{атм}}$ – під надлишковим тиском).

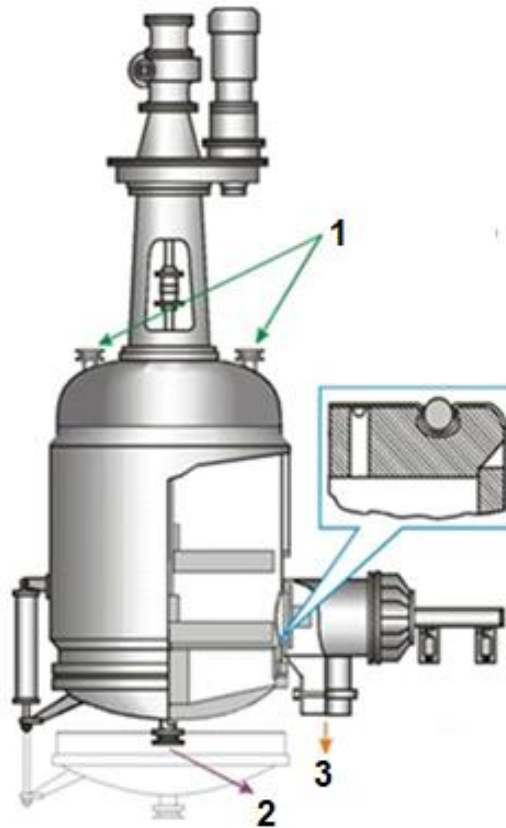


Рис.8.9.Будова нутч-фільтру ($\Delta P < P_{\text{атм}}$ – під вакуумом): 1 – штуцери для подачі суспензії на фільтрування та інших технологічних рідин для промивання осаду; 2 – штуцер відведення фільтрату; 3 – вивантаження осаду

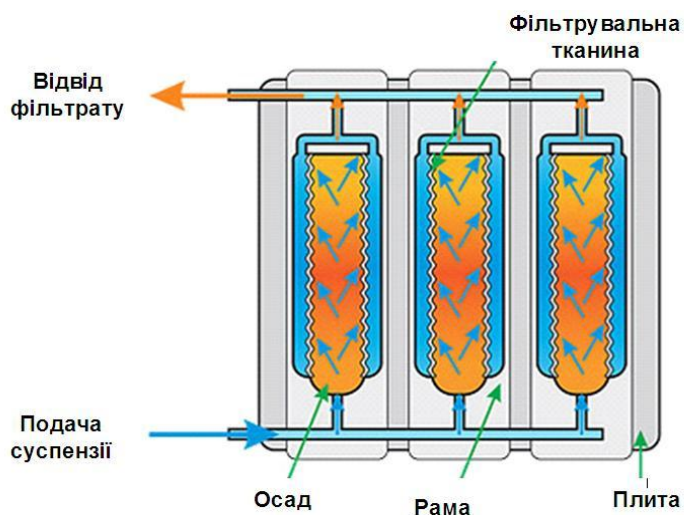


Рис.8.10. Схема роботи та загальний вигляд рамного фільтр-преса періодичної дії: $\Delta P > P_{\text{атм}}$

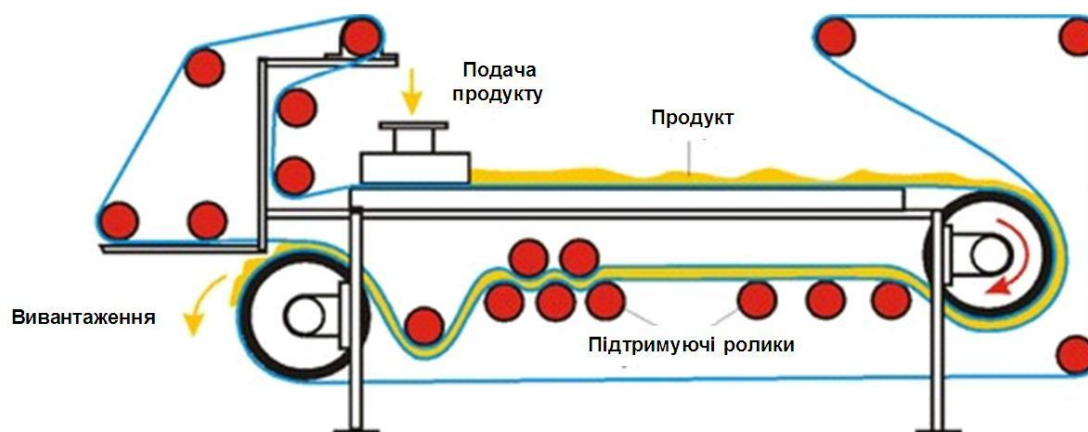


Рис.8.11. Стрічковий вакуум-фільтр безперервної дії: $\Delta P < P_{\text{атм}}$

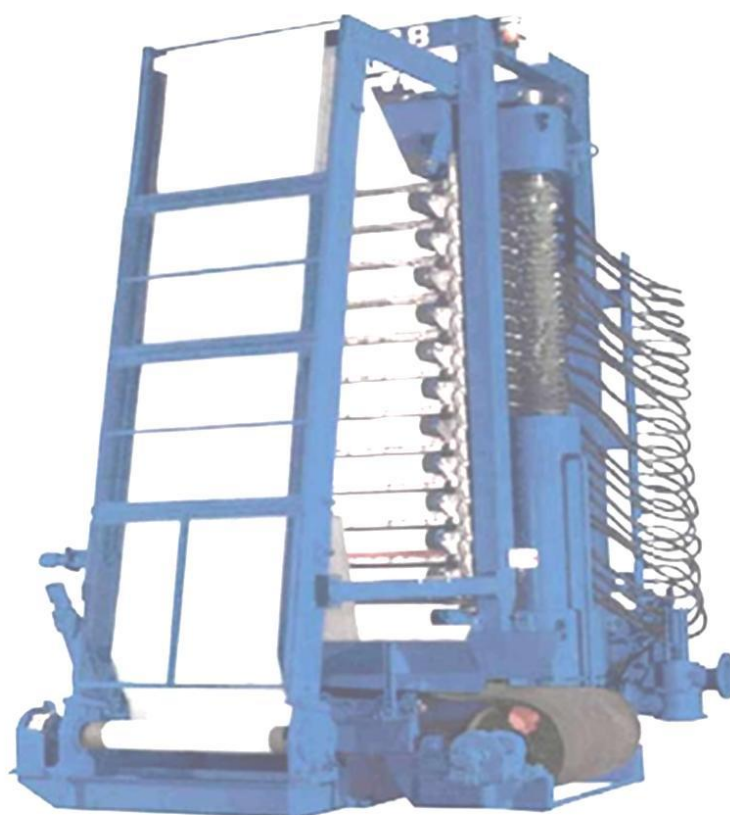


Рис.8.12. Фільтр-прес ФПАКМ (фільтр-прес автоматичний камерний модернізований)

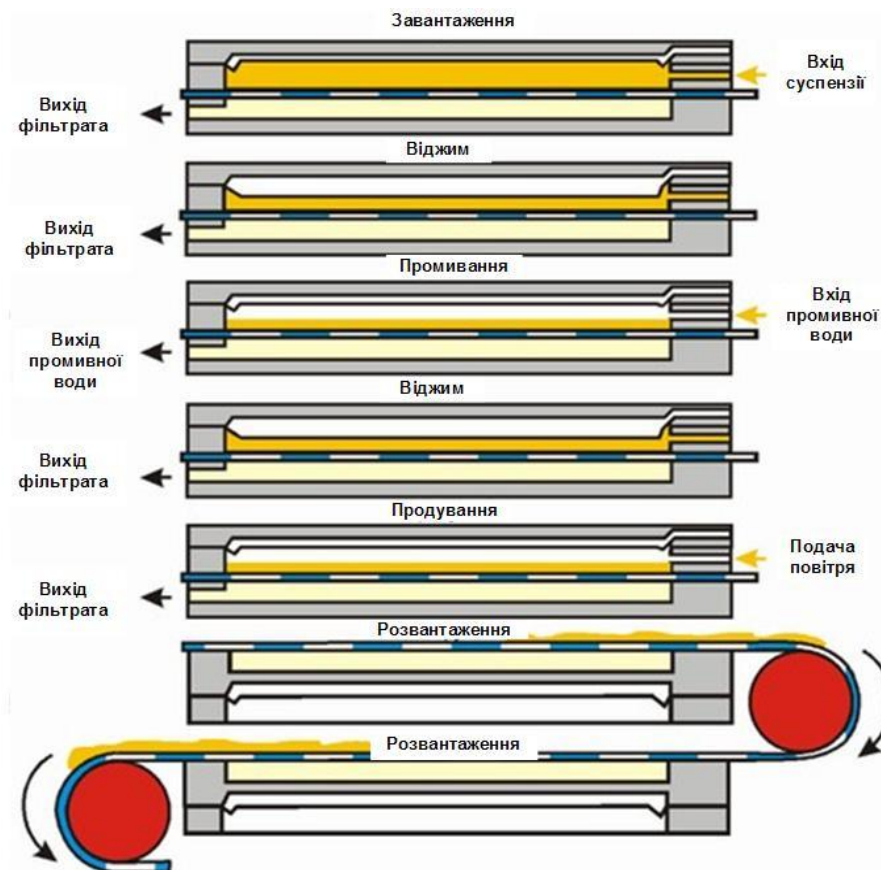


Рис.8.13. Схема циклів роботи ФПАКМ

З метою підвищення продуктивності устаткування фільтрації і зниження витрат ручної праці все ширше застосовують фільтри з механізованим зніманням осаду, зокрема барабанні вакуум-фільтри (рис. 8.14).

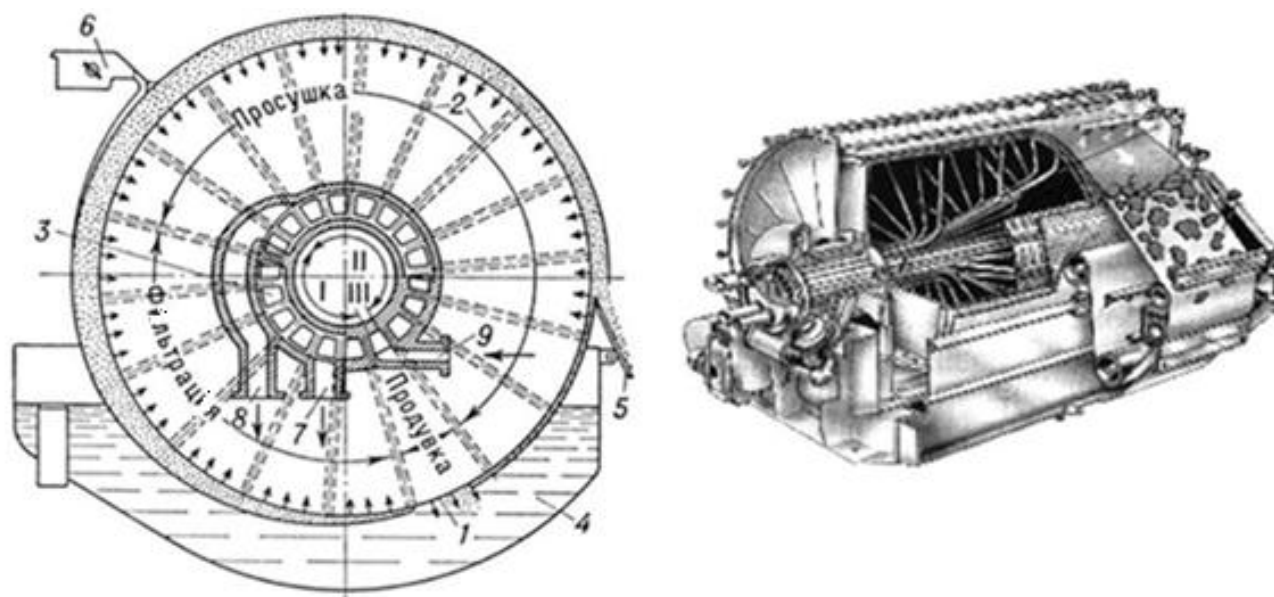


Рис.8.14. Схема роботи барабанного вакуум-фільтра: $\Delta P < P_{атм}$: 1 — продування повітрям; 2 — канали для продування повітрям; 3 — отвори розподільної головки.

В основі їх конструкції барабан, занурений нижньою частиною в ємність, куди безперервно поступає культуральна рідина. Поверхня барабану перфорована і обтягнута фільтруючою тканиною, а сам барабан розділений перегородками на секції. Під час обертання секції послідовно підключаються до збірників фільтрату, промивних вод і до колектору стисненого повітря.

Під дією розрідження у внутрішній частині барабану відбувається фільтрація культуральної рідини. Фільтрат, що утворюється, відводиться у збірник, а осад залишається на зовнішній поверхні фільтрувальної тканини. Після проходження зон підсушування, промивання і вторинного підсушування осад відокремлюється за допомогою ножа, закріпленого на певній відстані від поверхні барабану. Таким чином, товщина шару осаду в зоні фільтрації практично незмінна, що дозволяє вести процес фільтрації у безперервному режимі при постійній швидкості.

Проте при фільтрації деяких культуральних рідин, зокрема культуральної рідини актиноміцетів, питомий опір драглистого осаду, що утворюється, дуже великий. Навіть тонкий шар осаду, який залишається після того, що зрізається ножом, призводить до різкого зниження швидкості фільтрації.

Для інтенсифікації процесу рідину заздалегідь обробляють (кислотна або теплова коагуляція обробка електролітами) або використовують барабанні вакуум-фільтри з наливним шаром допоміжного матеріалу фільтрації. Останній є тонкодисперсний порошок (найчастіше перліт або діатоміт), який наминають на фільтрувальну тканину перед початком фільтрації культуральної рідини. Він оберігає пори фільтрувальної тканини від закупорювання, збільшуючи тим самим швидкість фільтрації. Крім того, в барабанних вакуум-фільтрах, призначених для роботи з наливним шаром, передбачено повільне пересування ножа, що зрізає осад, до поверхні барабану в процесі фільтрації (0,1...0,2 мм за оберт). Це забезпечує постійне оновлення поверхні фільтрації і, отже, високу швидкість процесу. Наприклад, при фільтрації культуральної рідини у процесі одержання тетрацикліну на барабанному вакуум-фільтрі з наливним шаром перліту досягається середня швидкість фільтрації 150...180 л/(м²·год), а для фільтр-пресу цей показник не перевищує 25...30 л/(м²·год).

Центрифугування – це процес розділення рідких неоднорідних систем у полі дії відцентрових сил. У мікробіологічній промисловості центрифуги широко використовують для розділення суспензій на рідину й тверді фази, що містять мікроорганізми, ферменти, амінокислоти й інші продукти біосинтезу кристалічної або аморфної структур.

Центрифуги використовують в таких випадках:

- коли осад погано фільтрується;
- коли треба одержати біомасу, вільну від допоміжних фільтрувальних матеріалів;
- коли процес вимагає безперервності в умовах високої стерильності.

Істотний недолік центрифуг – негативна дія на клітини відцентрової сили та їх перегрівання.

Головна ж перевага – висока продуктивність і компактність обладнання. Залежно від властивостей дисперсних систем центрифугування здійснюють методами відцентрового фільтрування та осаджування.

Відповідно до методів розділення *центрифуги* підрозділяють на:

- осаджувальні (О),
- фільтруючі (Ф),
- комбіновані (К)
- сепаратори (С).

На рис. 8.15. наведено порівняльні схеми осаджувальної та фільтрувальної центрифуг, на рис. 8.16. – схеми центрифуг безперервної дії.

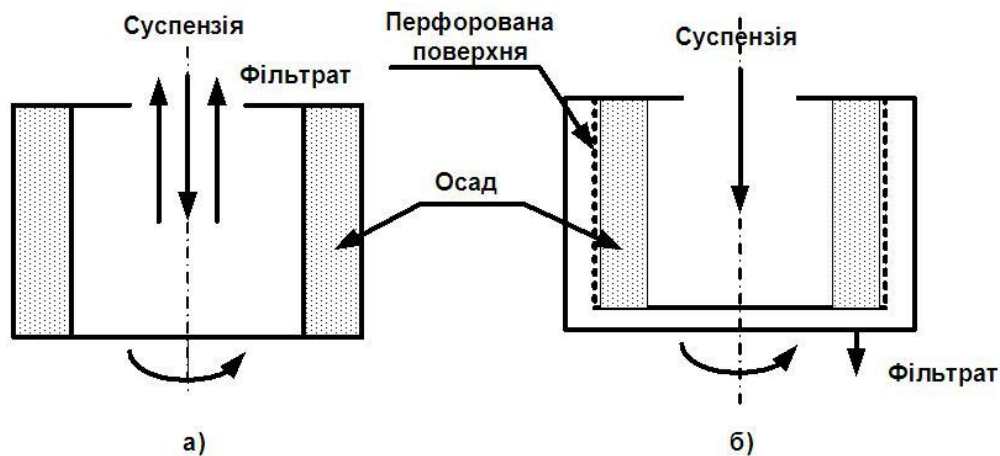


Рис. 8.15. Схема роботи осаджувальної (а) та фільтрувальної (б) центрифуг

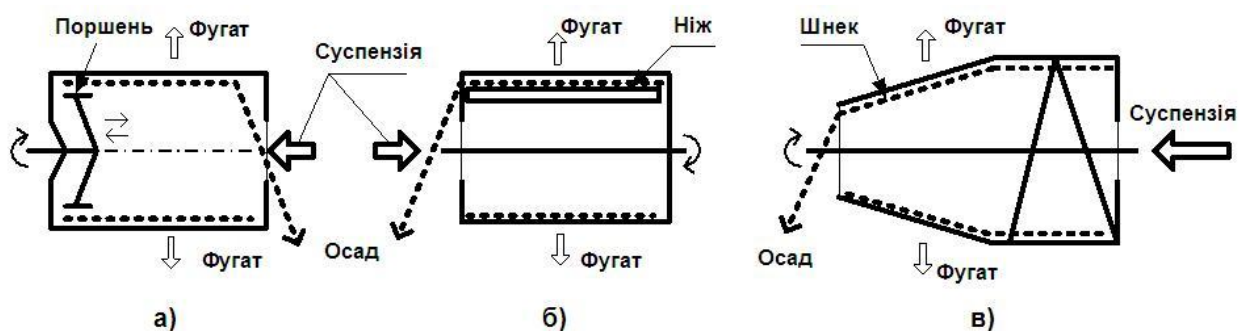


Рис. 8.16. Схеми безперервних центрифуг з автоматичним вивантаженням осаду: а) – пульсуючим; б) – ножовим в) – шнековим.

Швидкість розділення сумішей в центрифугах значно вища, ніж у фільтрах і відстійниках, завдяки більшій рушійній силі, що виникає у процесі обертання ротору центрифуги разом з суспензією (емульсією), що знаходиться в ньому.

Ефективність роботи центрифуги кількісно оцінюється *фактором*

розділення. Він показує, у скільки разів відцентрове прискорення, що розвивається в центрифугі, більше прискорення вільного падіння:

$$\Phi p = \omega^2 R / g \quad (8.4.)$$

де Φp – фактор розділення (або критерій Фруда – Fr); ω – кутова швидкість обертання ротора, с^{-1} ; R – радіус обертання часточки (відстань від часточки до осі ротора), м; g – прискорення вільного падіння, м/с^2 .

Залежно від значення Φp центрифуги підрозділяють на звичайні ($\Phi p < 3500$) і надцентрифуги ($\Phi p > 3500$), а залежно від організації процесу – періодичної і безперервної дії.

Розглянемо принцип дії осаджувальної центрифуги на прикладі апарату з ротором трубчастого типу. Суспензія поступає у внутрішню порожнину ротора через донний штуцер. У процесі обертання ротору відбувається осадження твердих частинок, що містяться в суспензії, на його внутрішніх стінках, а освітлена рідина викидається через верхню частину ротора і збирається. Швидкість осадження частинок суспензії залежить від співвідношення між відцентровою силою, що діє на тверду частинку, і силою опору середовища. Відцентрова сила $F_{\text{ц}}$ спрямована радіально від осі ротора до периферії і для частинок сферичної форми дорівнює:

$$F_{\text{ц}} = 4/3 \pi (\rho_{\text{ч}} - \rho_{\text{ж}}) r^3 \omega^2 R \quad (8.5.)$$

де $\rho_{\text{ч}}$ та $\rho_{\text{ж}}$ – густини, відповідно, твердих частинок і рідини, кг/м^3 ; r – радіус частинки, м; ω – кутова швидкість обертання рідини, с^{-1} ; R – радіус обертання частинки, м.

Сила опору середовища $F_{\text{с}}$ згідно закону Стокса, дорівнює:

$$F_{\text{с}} = 6 \pi \mu r v \quad (8.6.)$$

де μ —динамічна в'язкість рідини, $\text{Па}\cdot\text{с}$; v — швидкість руху частинки, м/с .

Швидкість осадження частинок твердої фази в центрифугі визначається з умови рівності відцентрової сили і сили опору середовища:

$$4/3 \pi (\rho_{\text{ч}} - \rho_{\text{ж}}) r^3 \omega^2 R = 6 \pi \mu r v \quad (8.7.)$$

Звідки:

$$v = 2 (\rho_{\text{ч}} - \rho_{\text{ж}}) r^2 \omega^2 R / 9 \mu \quad (8.8.)$$

Фільтруючі центрифуги застосовуються для грубодисперсних суспензій, для виділення кристалічних і аморфних продуктів, промивання осадів, що виходять, а також для відокремлення вологи.

Відстійні центрифуги застосовують для розділення суспензій та

емульсій, які погано фільтруються, а також для розділення суспензій з великим розміром часток твердої фази.

Центрифуги класифікують за наступними ознаками:

- *за фактором розділення*: нормальні центрифуги з фактором розділення $Fr < 3000$; швидкісні або надцентрифуги ($Fr > 3000$);
- *за способом вивантаження осаду*: зручним через борт (Б), з ручним через днище (Д), саморозвантажувана – гравітаційна (С), ножова (Н), шнекова (Ш) і вібраційна (В). Цифри, що йдуть за літерним позначенням, характеризують діаметр барабану й конструктивну модифікацію центрифуги;
- *за конструктивними ознаками*: горизонтальні (Г), вертикальні (В), підвісні з верхнім приводом (П) і маятникові (М).
- *за способом організації процесу*: періодичні та безперервно діючі.

Головними факторами для вибору типу центрифуги є:

- *для суспензій* – ступінь дисперсності твердої фази, в'язкість рідкої фази, різниця густин твердої й рідкої фаз, а також концентрація твердої фази в суспензії;
- *для емульсій* – стійкість емульсії, що обумовлюється роздробленістю крапель однієї рідини в іншій, в'язкістю дисперсного середовища й співвідношенням густин фаз.

При виборі центрифуг головними факторами є також їхні технічні характеристики й фізичні властивості оброблюваного матеріалу, дисперсна сполука твердої фази, в'язкість рідкої фази, концентрація суспензії, а також фактор розділення.

Ефективність роботи центрифуг характеризується *індексом продуктивності*:

$$\Sigma = F \cdot Fr, \quad (8.9)$$

де F — поверхня розділення, м^2 , Fr – фактор розділення.

Високі значення *індексу продуктивності* Σ мають центрифуги з ножовим зніманням осаду, які відрізняються також універсальністю, тому можуть застосовуватися для розділення суспензій і концентрування твердої фази.

Тип промислової центрифуги, якщо її аналог, що працює в промисловості на тім же продукті невідомий, вибирають на основі аналізу технологічних вимог, які висуваються до процесу розділення, властивостей суспензії та осаду, потужності виробництва.

У результаті аналізу згідно зазначених факторів визначають групу типів і розмірів центрифуг для обробки обраного продукту (табл. 8.1). Найбільш досконалими конструктивно вважаються центрифуги зі шнековим вивантаженням осаду, трохи поступаються ним – з поршнеvim, потім – саморозвантажні, з ножовим та з ручним вивантаженням осаду.

Центрифуги безперервної дії, відстійні, горизонтальні зі шнековим

вивантаженням осаду типу (БОГШ) (рис. 8.17) призначені для розділення суспензій з об'ємною концентрацією твердої фази від 5 до 50% і розмірами часток від 5 до 500 мкм, а також для гідравлічної класифікації шламів за розмірами твердих часток.

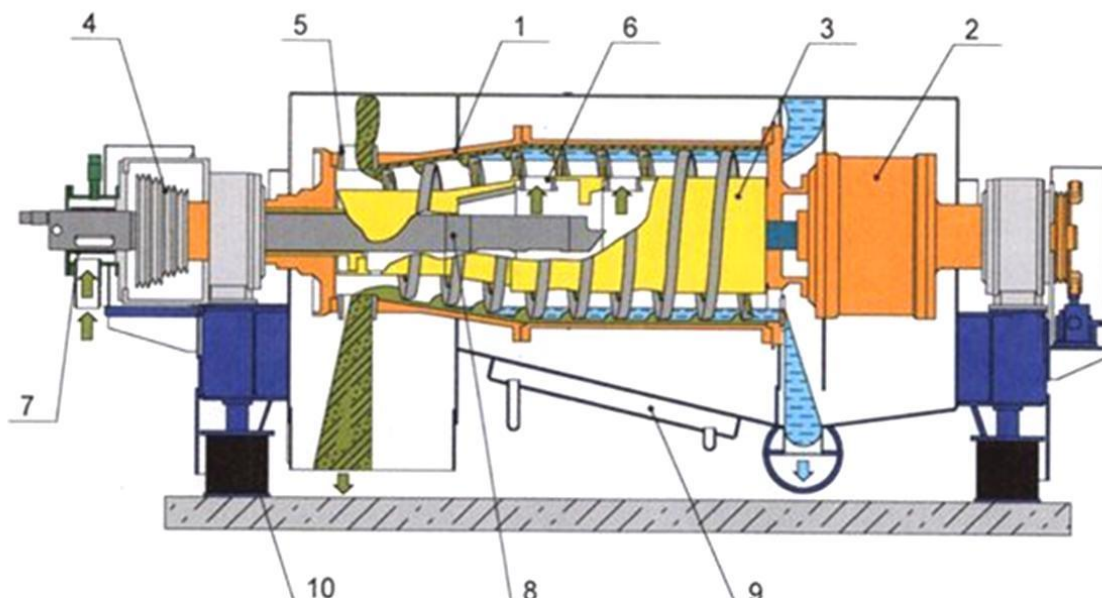


Рис.8.17. Схема роботи центрифуги типу БОГШ (безперечно діюча осаджувальна горизонтальна шнекова): 1 – корпус; 2 – маховик; 3 – пустотілий барабан; 4 – шків приводу; 5 – вихід осаду; 6 – вихід суспензії; 7 – вхід суспензії; 8 – полий вал; 9 – піддон; 10 – опори.

Таблиця 8.1

Вибір типорозміру центрифуги за продуктивністю

Продуктивність		Індекс центрифуги, що рекомендується до застосування
за суспензією, м³/год	за осадом, т/год	
1...5	0,15...0,5	ОМД-80, ОГШ-35, ФГН-63, ФГН-90, ФМД-80 ФМБ-80, ФМБ-120, ФМД-120, ФПН-100, ФПД-120
5...15	0,5...3,0	ОГШ-35, ОГШ-50, ОГН-180, ФГН-90, ОГН-90, ФГН-125, ФВШ-35, 1/2 ФГП-40, 1/2 ФГП-63
15...25	3...6	ОГШ-5, 20ГН-220, ФГШ-35, ФГШ-40, ФГН-180, 1/2 ФГП-80
25	6	ОГШ-63, ОГШ-80, ФГН-200, 1/2 ФГП-120

Розділення в сепараторах. Один з найпоширеніших видів центрифуг, вживаних в мікробіологічній промисловості, є сепаратори.

Сепаратори широко використовуються для виробництва:

- моноклональних антитіл (mAb)
- біомаси *Escherichia coli*
- інсуліну
- вакцин для людей та ветеринарії

- заквасочних культур та пробіотиків
- фракціонування плазми крові
- екстра- та інтраклітинних ферментів
- нутрицевтиків
- терапевтичних протеїнів
- процесів екстракції

Під час вибору типу сепаратора необхідно визначати в першу чергу його технологічне призначення.

Сепаратори використовуються для наступних методів впливу на суспензії та емульсії:

- розділення;
- концентрування;
- очищення;
- освітлення.

Сепаратори, зокрема використовують для послідовного відокремлення грубодисперсного осаду з тонкодисперсних суспензій, тобто для виконання двох або більше операцій по переробці рідких сумішей.

За технологічним призначенням *сепаратори* поділяються на 4 групи:

- *сепаратори-розділювачі* – для розділення суміші взаємно нерозчинних рідин;
- *сепаратори-згущувачі* – для концентрування або згущення суспензій і емульсій (наприклад, згущення дріжджової суспензії);
- *сепаратори-освітлювачі* – для виділення твердих суспензій з рідини (наприклад, відокремлення ферментів після висолювання, осадження розчинниками й т.д.);
- *комбіновані сепаратори* (одно- або багатосекційні) – для одночасного або послідовного виконання двох або більше операцій переробки рідкої суміші.

При виборі *сепаратора-освітлювача* можуть бути використані два типи сепараторів залежно від типу барабана:

- *сепаратори тарілчасті* – для розділення суспензій з невеликою різницею у відносній густині поділюваних фаз (при цьому можна виділяти частки розміром від 0,01 мкм);
- *сепаратори багатокамерні* з циліндричними вставками – для розділення суспензій зі значною різницею у відносній густині фаз.

Сепаратори із циліндричними вставками мають більший обсяг шламового простору, ніж тарілчасті сепаратори, однак менший фактор розділення.

Залежно від об'ємного вмісту завислих часток у суспензії можуть бути використані сепаратори з різною системою видалення осаду.

Сепаратори з ручним вивантаженням осаду через порівняно невелику ємність шламового простору та необхідність зупинки сепаратора для очищення від шламу можна використовувати для освітлювання тонкодисперсних суспензій із вмістом завислих часток не більше 0,5%.

Сепаратори з відцентровим періодичним вивантаженням осаду мають великий шламований простір для накопичення осаду і періодичне відцентрове вивантаження його на ходу.

Такі сепаратори дозволяють освітлювати тонкодисперсні суспензії або розділяти стійкі емульсії з вмістом у них завислих часток 0,5...5 об.% при різниці відносних густин не менше 3%.

Сепаратори з відцентровим безперервним вивантаженням осаду мають для цієї мети спеціальні сопла. Сепаратори з соплами дозволяють освітлювати тонкодисперсні суспензії або розділяти стійкі емульсії з концентрацією твердої фази 6...12%. Застосування сопел з отворами різного діаметра дозволяє регулювати концентрацію згущеної твердої фракції.

Швидкість осадження частинок твердої фази зростає із збільшенням частоти обертання ротора центрифуги, радіусу обертання частинок, їх розміру, а також із зростанням різниці щільності твердої і рідкої фаз. Ефективність процесу центрифугування знижується із збільшенням в'язкості середовища.

На відміну від інших центрифуг в сепараторі є пакет конічних тарілок, закріплених на валу ротора. Суспензія, що розділяється, через розподільну трубу і внутрішню порожнину тарілотримача подається до нижньої (периферичної) частини міжтарілкового простору барабану. При цьому важчі частинки твердої фази відкидаються до нижніх поверхонь тарілок, сповзають вниз і накопичуються на стінці барабану у вигляді твердого осаду або згущеної суспензії. Освітлена рідка фаза відводиться з верхньої частини барабану. Схема роботи сепаратора та його загальний вигляд показані на рис. 8.18; 8.19.

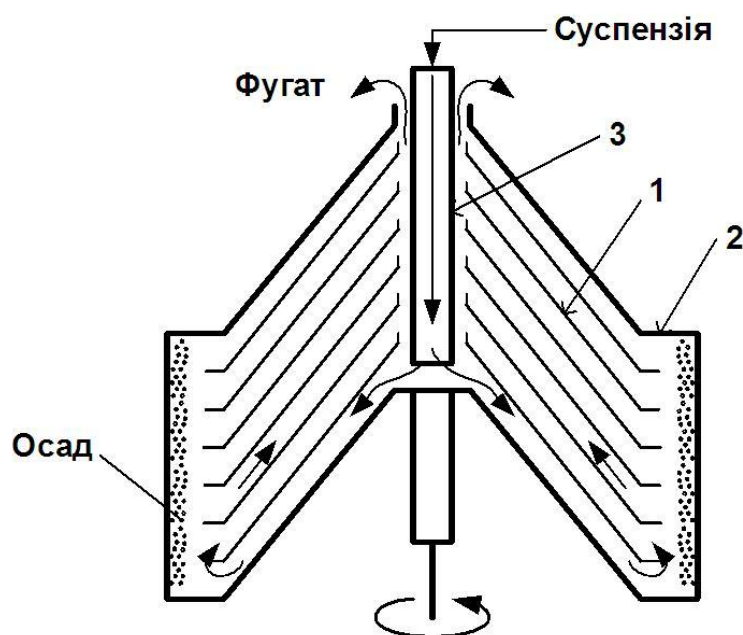


Рис.8.18. Схема роботи тарілчастого сепаратора: 1 – тарілки; 2- корпус барабану (ротор); 3 – патрубок подачі суспензії

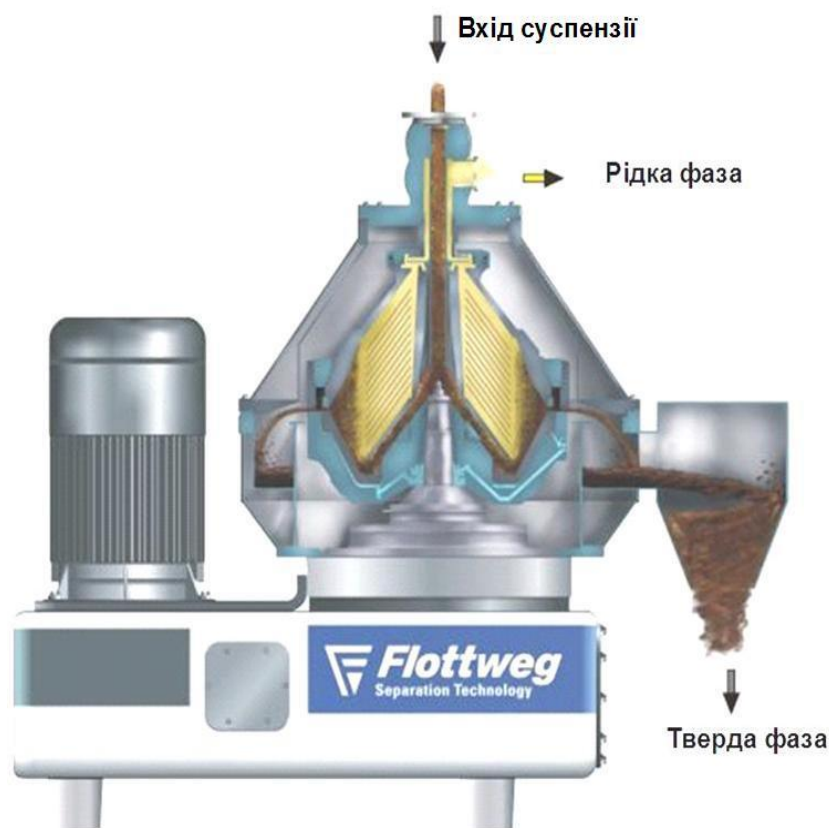


Рис.8.19. Загальний вигляд сепаратора

Тривалість робочого циклу сепарації залежить від концентрації завислих часток у вихідному продукті та продуктивності сепаратора за даним продуктом. Сепаратори з відцентровим періодичним вивантаженням осаду можна успішно застосовувати для обробки продуктів, тверда фаза яких не схильна до сильного ущільнення під дією інтенсивного поля відцентрових сил.

За способом подачі вихідної суміші й способу відведення отриманих рідких фракцій розрізняють сепаратори: *відкриті, закриті й герметичні*.

У *відкритих сепараторах* подача в барабан рідкої суміші та відведення отриманих рідких фракцій йде відкритим потоком, не ізолюваним від доступу повітря.

У *напівзакритих сепараторах* рідина подається у барабан відкритим потоком, а відведення однієї або обох фракцій – під тиском закритими трубопроводами. Процес сепарації у напівзакритих сепараторах також не ізолюваний від доступу повітря.

У *герметичних сепараторах* подача в барабан рідкої суміші й відведення рідкої фракції відбуваються під тиском закритими трубопроводами, герметично з'єднаними із впускним і випускним патрубками. Процес сепарації ізолюваний від доступу повітря з виробничого приміщення.

Застосування сепарування дозволяє з високою швидкістю обробляти більші обсяги суспензій, що важко фільтруються, дає змогу значно інтенсифікувати виділення та концентрування мікроорганізмів або їх метаболітів без істотних втрат і змін цільових продуктів.

Рушійною силою процесу сепарування є відцентрова сила. Швидкість осадження часток у сепараторі визначається за рівнянням:

$$W_{oc} = \frac{d^2 n^2 R (\rho_1 - \rho_2) \pi^2}{18 \mu_c 900} \quad (8.10)$$

де d – діаметр твердої частки, м; n – частота обертання барабана, хв^{-1} ; R – радіус барабана, м; ρ_1 – густина твердої частки, кг/м^3 ; ρ_2 – густина рідкої фази, кг/м^3 ; μ_c – динамічна в'язкість, $\text{Па}\cdot\text{с}$.

З рівняння видно, що ефективність сепарації значною мірою збільшується із зростанням частоти обертання барабана і його діаметру, розміру часток і величини різниці густин твердої та рідкої фаз. Зі збільшенням в'язкості середовища ефективність сепарації зменшується. У ряді випадків в'язкість середовища можна зменшувати шляхом її нагрівання, якщо це не впливає на якість цільового продукту.

Для технологічних розрахунків найпоширенішою є формула продуктивності Лук'янова:

$$V_{\Pi} = \frac{4\pi z \omega^2 \text{tg} \alpha (R_{\max}^3 - R_{\min}^3)}{27} \cdot \frac{\Delta \rho r^2}{\mu} \quad (8.11)$$

де z – кількість міжтарілчастих просторів; ω – кутова швидкість, рад/с ; α – кут нахилу краю тарілки до горизонту, град. ($\alpha = 45 \dots 60^\circ$); $R_{\max}$ та $R_{\min}$ – максимальний та мінімальний розрахункові радіуси тарілки, м; r – радіус частинки, м; $\Delta \rho$ – різниця густин дисперсної та дисперсійної фаз, кг/м^3 ; μ_c – динамічна в'язкість дисперсійного середовища, $\text{Па}\cdot\text{с}$.

Ця формула дає завищений результат, тому розраховане значення продуктивності потрібно помножити на корегувальний коефіцієнт ($\beta = 0,2 \dots 0,7$).

Величини, що входять у вказану формулу, групують у два комплексні показники:

1. Швидкість гравітаційного осадження частинок V_g :

$$V_g = \frac{2 \Delta \rho r^2 g}{9 \mu} \quad (8.12)$$

де g – прискорення вільного падіння, м/с^2 .

Цей показник характеризує здатність суспензії до розділення, тобто її фізико-хімічні властивості, незалежні від характеристик сепаратора.

2. Еквівалентна поверхня (індекс продуктивності) Σ :

$$\Sigma = \frac{2g}{3\pi z \omega^2 \operatorname{tg} \alpha (R_{\max}^3 - R_{\min}^3)} \quad (8.13)$$

Еквівалентна поверхня сепаратора показує, яку поверхню повинен мати відстійник для вільного осадження частинок, щоб продуктивності апаратів були однакові. Цей показник характеризує здатність апарату до розділення.

Максимальна продуктивність вітчизняних сепараторів становить 50...80 м³/год за вихідною дріжджовою суспензією. Пропускна продуктивність сепаратора за вихідною суспензією кормових дріжджів зазвичай на 25...40 % нижче зазначеної у паспорті продуктивності по воді, і конкретно визначається для кожного виду виробництва після промислових випробувань.

Істотним недоліком сепараторів є швидка забиваємість мундштуків і міжтарільчатого простору механічними включеннями та мертвими дріжджами.

Тривалість роботи сепараторів без чищення залежить від якості вихідної суспензії та правильної експлуатації і становить 12...24 години. Позитивний вплив на роботу сепараторів чинить стадія флотації, за якої суспензія, що піддається потім сепарації, звільняється від ряду механічних домішок, що засмічують міжтарільчатий простір і отвори в мундштуках. Для більш ефективної роботи сепараторів вхідна дріжджова суспензія також попередньо пропускається через сітчасті фільтри.

Продуктивність сепаратора за живленням дріжджовою суспензією визначається як:

$$P = \eta_6 K_{\text{кон}} \frac{4\pi \omega^2 z \cdot \operatorname{tg} \alpha (R_{\max}^3 - R_{\min}^3)}{27} \times \frac{\rho_1 - \rho_2}{\mu} \cdot r^2 \cdot \frac{C_{\kappa}}{C_{\kappa} - C_{\text{н}}} \quad (8.14)$$

де $\eta_6 = 0,25$ – ККД барабана сепаратора; $K_{\text{кон}}$ – коефіцієнт концентрації; ω – кутова швидкість барабана, рад/с; z – кількість тарілок; $\alpha = 45 \dots 60^\circ$ – кут нахилу утворюючої тарілки; $R_{\max}$ і $R_{\min}$ – максимальні та мінімальний розрахункові радіуси тарілки; ρ_1 і ρ_2 – густини дисперсійного середовища й дисперсної фази, кг/м³; μ – в'язкість дисперсійного середовища, Па·с; r – наведений радіус твердої частинки, м; $C_{\text{н}}$ і C_{κ} – об'ємні частки твердих часток (дріжджових клітин) у вихідній суспензії та у концентраті, %.

Наведена формула використовується для розрахунку сепараторів із соплами. Коефіцієнт концентрації $K_{\text{кон}}$ враховує вплив вмісту твердої або квазітвердої фази (наприклад, дріжджових клітин) у вихідній суспензії на процес сепарування, що відбувається в пакеті тарілок.

Діаметр отворів сопел сепаратора:

$$d = \left[\frac{4Q}{\pi \cdot z_c \cdot K_{\text{уст}} \cdot \omega \cdot \sqrt{R^2 - r^2} (C_{\kappa} / C_{\text{н}} - 1)} \right]^{1/2} \quad (8.15.)$$

де Q – продуктивність сепаратора, м³/год; z_c – кількість сопел; $K_{уст}$ – коефіцієнт витікання, для осадів зазвичай дорівнює 0,7; R – відстань від осі обертання барабана до вихідного отвору сопла, м; r – відстань від осі обертання барабана до поверхні рідини в ньому, м.

Із цього рівняння можна визначити концентрацію дріжджів у згущеній суспензії:

$$C_k = \frac{4Q \cdot C_n}{\pi \cdot z_c \cdot K_{уст} \cdot \omega \cdot d^2 \sqrt{R^2 - r^2}} + C_n \quad (8.16)$$

У виробництві згущення суспензій до вмісту дріжджів 11...12 % АСБ здійснюється шляхом послідовного сепарування у 2...3 ступені.

Технічні характеристики найбільш уживаних сепараторів представлено в таблиці 8.2.

Таблиця 8.2

Технічна характеристика сепараторів

Марка	Продуктивність, м ³ /год	Робоча частота обертання, об/хв	Потужність електро-двигуна, кВт	Габарити, мм			Маса, кг
				Довжина	Ширина	Висота	
ОМІ	10	6500	7	935	630	1290	482
ОМБ-ЗС	15	5500	10	1100	730	1375	835
АСГ-1А	0,002-0,1	17 900	0,6	710	285	420	41,4
АСГ-ЗМ	0, 05-0,2	9000-11000	1,0	980	425	665	116
СПВ-12	0,1-0,2	7450	4,5	945	600	1340	510
СФЭ	0,3-0,45	3000	4,5	885	715	1015	398
ВСМ	До 2,5	6500	10	1085	870	1455	1090
ВСЛ	2,0	4170	14	1500	1100	1868	1412
ВСН	3,0	5000	14	1290	1570	1610	1135
ВСП	0,6 -0,8	5000	14	1520	1270	1677	1530
ВСТ	2,0	5000	14	1520	1240	1660	1410
АСЭ-3	0,5	5000	14	1250	950	1550	1365
АИС	1,5	5000	15	1260	1020	1500	1365
А-АЛС-1	0,5-1,5	5000	13	1492	810	1470	1465
ВСБ-М	18,0	5000	10	1220	750	1500	830
ВСЖ-2	25,0	4700	10	1060	970	1430	770
ДСГ-4	18,0	5100	10	1000	600	1240	830
ДСГ-35	До 0,035	4770	20	1665	750	1493	1262

Залежно від способу вивантаження осаду сепаратори ділять на машини безперервно-циклічної дії з ручним або механізованим вивантаженням осаду і безперервної дії. У сепараторах безперервно-циклічної дії рідкі (точніше, текучі) фракції віддаляються з барабану безперервно, а твердий осад –

періодично, у міру накопичення. При розділенні емульсій з мінімальним вмістом твердих частинок (до 0,1%) використовують сепаратори з ручним вивантаженням осаду, при розділенні суспензій із вмістом твердої фази до 3...5% – з механізованим вивантаженням осаду під дією відцентрової сили. Осад в такому сепараторі вивантажується періодично, після припинення подачі суспензії. За допомогою спеціального механізму відкривають отвори в зовнішній стінці барабану, через які осад видаляється.

Сепаратори безперервної дії забезпечують розділення суспензій з безперервним відведенням всіх фракцій, що утворюються. Для вивантаження осаду в таких машинах використовують сопла або клапани, встановлені в периферичній частині барабану.

Сепаратори безперервно-циклічної дії з механізованим вивантаженням осаду широко застосовують для відділення біомаси у виробництві антибіотиків, ферментів, бактерійних препаратів. Для розділення дріжджових суспензій використовують в основному сепаратори безперервної дії різної продуктивності.

Нині основними вимогами, що висуваються до сучасного біофармацевтичного виробництва є: безкомпромісний рівень аспетики, надійність і висока продуктивність, але при цьому кожний виробничий етап і операція відрізняються один від одного та вимагають особливого індивідуального підходу. В умовах зростаючого та швидко мінливого біофармацевтичного ринку крім основних вимог, що висуваються до сепараційного устаткування, все більшого значення набувають гнучкість і взаємозамінність машин та апаратів у ситуації, коли потрібна швидка адаптація виробничих умов до нових реалій і запитів.

Сучасні технічні рішення у конструюванні та використанні сепараційного та гомогенізуючого обладнання у біофармацевтичному виробництві нині демонструє, наприклад, транснаціональна фірма GEA – світовий лідер у виробництві технологічного обладнання та розробці інноваційних рішень для різних галузей промисловості, в тому числі харчової промисловості, біофармацевтики із рівнем капіталізації більше 9 млрд. євро. Наприклад, підрозділ фірми GEA Diessel пропонує свої послуги у сфері інжинірингу, проєктуванні та виробництві технологічного обладнання для заводів фармацевтичної та біотехнологічної промисловості.

Одним з цікавих рішень є використання концепції *GEA flexChange*, коли один сепараційний модуль сполучено із трьома різними типами барабану і фактично замінює три звичайні сепаратори. Три змінні барабани забезпечують максимальну гнучкість і адаптивність устаткування до різних виробничих завдань і демонструють високу ефективність на різних продуктах з концентрацією твердої фази в діапазоні 1...30 об.%. Така гнучка для налаштування машина здатна перетворити статичну виробничу лінію в мультифункціональну. Виробник може легко та швидко перемикатися на випуск нового продукту, у той час як один єдиний сепаратор покриває відразу кілька процесів і демонструє оптимальну ефективність на будь-яких

продуктах і для різних обсягів сировини.

Вищезазначене рішення дозволяє, зокрема, значно знизити інвестиційні витрати для виробництва, де сепарацію застосовують відразу на декількох технологічних етапах. Наприклад, технологічний цикл виробництва деяких видів гормонів, включаючи інсулін, починається зі збору клітинної біомаси і її наступного багатоетапного промивання. Такий процес передбачає, як правило, установку сепаратора соплового типу, що дозволяє переробити продукт із високою концентрацією клітини (до 10...30 об. %).

На цьому технологічному етапі доцільним є використання соплового барабану *flexiCon*. Клітинна біомаса безупинно відокремлюється від культуральної рідини в пакеті тарілок і без зупинок виводиться з барабана сепаратора через сопла. Раніше налаштування форсунок потрібно було попередньо встановлювати ще до початку процесу сепарування і у випадку зміни концентрації клітин у продукті сопла необхідно було перелаштовувати, що спричиняло неминучу втрату ресурсів і часу.

Сучасна модель сепаратора вже оснащена новою системою *GEA flexiCon*. З нею одержувати якісні результати, обробляючи продукти з високим вмістом сухих речовин, стало простіше, ніж колись. Ця функція забезпечує задані результати сепарування і не вимагає зупинки процесу для заміни форсунок. Ретельно регулюючи процес, можна чітко контролювати концентрацію готового продукту на виході, навіть за умови зміни концентрації суспензії на вході. Робочі параметри сопел можна автоматично налаштувати за допомогою блоку керування НМІ завдяки зміні протитиску. Таке налаштування можливе безпосередньо під час безперервної сепарації продукту, що гарантує найвищу продуктивність і точність розділення суспензії.

У той же час на наступних етапах процесу – відділення і промивання тілець включення, сепарування протеїнових часток - концентрація твердої фази значно знижується і становить від 2 до 10 об. %. Саме на цьому етапі важливе сполучення ефективного розділення, великої площі освітлення і системи ефективного видалення твердої фази. Для цього необхідне використання сепаратора-кларифікатора з відповідним типом барабану. Тип барабану можна підібрати залежно від специфіки продукту, адже асортиментний ряд GEA пропонує діапазон вибору від 20 000 до 400 000 м² еквівалентної поверхні освітлення. Більш тонке очищення з барабаном *highSigma* або продуктивніше сепарування з барабаном *highVol* дозволяє отримати максимальний вихід продукту та найвища ефективність процесу. У концепції *GEA flexChange* всі три варіанти барабанів доступні до використання з однією машиною. Таке рішення дозволяє здійснювати швидку зміну продукту з мінімальними модифікаціями устаткування та витратами на валідацію. Велике значення має і економія площі, особливо якщо машину встановлюють у «чистому приміщенні». Крім того, оптимальний варіант виконання і комплектації сепараційного модуля замовник може вибрати самостійно, виходячи зі специфіки та умов

виробництва, адже всі три варіанти сепараційного модуля пропонуються як у гігієнічному (*pure*), так і в асептичному виконанні (*aseptic*), і передбачені для процесів безрозбірної стерилізації SIP (англ. Sterilizing-In-Place) і мийки CIP (англ. Cleaning-In-Place).

Цикли мийки й стерилізації виконуються автоматично й управляються програмувальним логічним контролером. Запрограмована послідовність операцій може корегуватися відповідно до умов виробництва.

Також для біофармацевтичного виробництва важливим є забезпечення асептики процесу сепарування. Технічні рішення GEA забезпечують стерилізацію таких сепараторів відповідно до вимог FDA. Стерилізація сепараторів проходить за допомогою обробки гострою парою під тиском при температурі 121 °С. Тривалість стерилізації залежить від типу та патогенності мікроорганізмів та інших виробничих умов. По закінченню стерилізації сепаратор заповнюється стерильним повітрям для охолодження та створення стерильної атмосфери усередині машини до наступного виробничого циклу. Стерилізація запобігає перехресній контамінації продуктів і виробничих середовищ, що обробляються в одній машині, а герметичність сепаратора (біоізоляція) попереджає попадання небезпечних мікроорганізмів у навколишнє середовище.

На рис. 8.20 - 8.22 показано використання сепараційного обладнання на прикладі технічних рішень GEA при виробництві інсуліну.

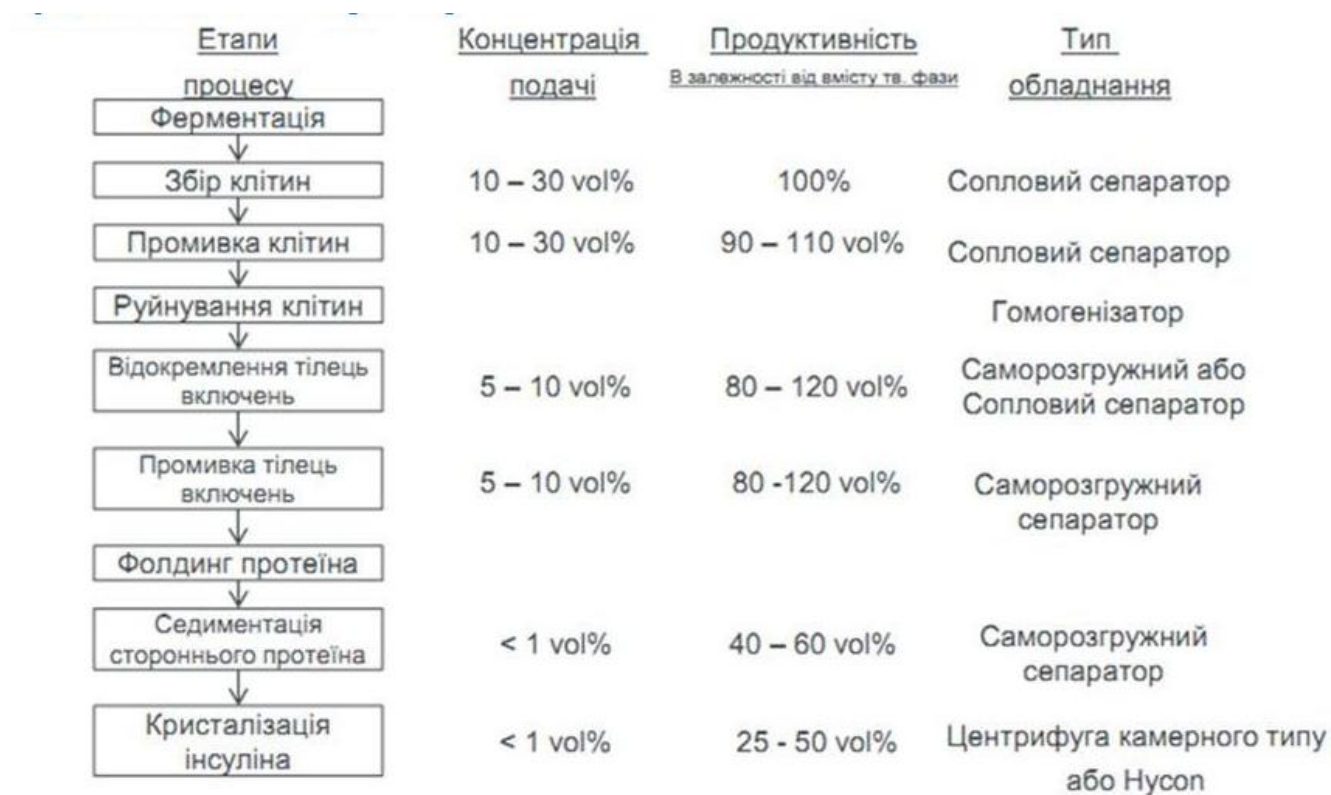


Рис. 8.20. Типи сепараторів у технології виробництва інсуліну

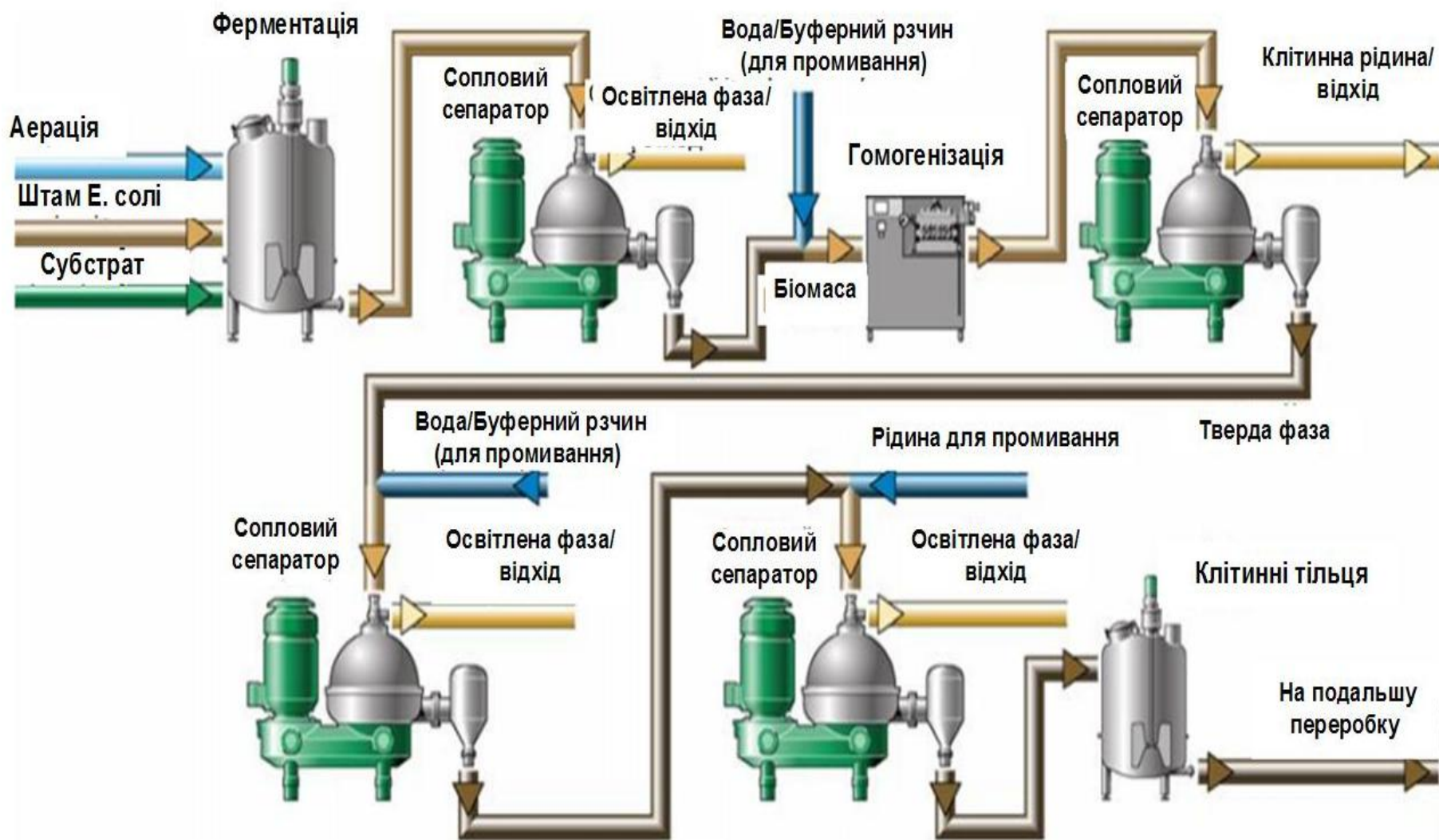


Рис.8.21. Апаратурна схема використання сепараторів в технології виробництва інсуліну



Рис.8.22. Мультимодульна система сепарування з різними типами барабанів

Флотація. Цей спосіб концентрування суспензій і виділення біомаси застосовують у виробництві кормових дріжджів. Він полягає в тому, що отриману на стадії біосинтезу культуральну рідину спінюють, і при цьому велика частина дріжджів концентрується в пінній фракції. Відокремлюючи піну від основної маси рідини, отримують напівпродукт із вмістом біомаси в 2...4 рази вищим, ніж у початковій культуральній рідині.

Процес здійснюють в спеціальних апаратах – *флотаторах*. Вони є циліндричною місткістю, в якій встановлений циліндр меншого діаметру. Кільцевий простір між стінками зовнішнього корпусу і внутрішнього циліндру розділений вертикальними перегородками на декілька секцій; перегородка між першою і останньою секціями суцільна (доходить до дна), а інші до дна не доходять. У нижній частині секцій, встановлені барботери, а у верхній частині центрального циліндру – механічний дисковий піногасник. Дріжджова суспензія подається в першу, найбільшу секцію флотатора і послідовно проходить через всі секції, перетікаючи під вертикальними перегородками. Через барботери подається повітря, і відбуваються інтенсивне піноутворення і флотація дріжджів. Піна, що утворюється, переливається через верхній край внутрішнього циліндра і потрапляє в зону дії пристрою для механічного піногасіння (у необхідних випадках на його диск додатково подають воду або хімічний піногасник). Зібрана у внутрішньому циліндрі суспензія дріжджів, що згущується, відводиться через штуцер і поступає на сепаратори для подальшої концентрації. Звільнену від дріжджів рідину після попереднього очищення скидають у каналізацію. Втрати дріжджів на стадії флотації складають зазвичай 5...7%. Схема будови флотатора представлена на рис.8.23.

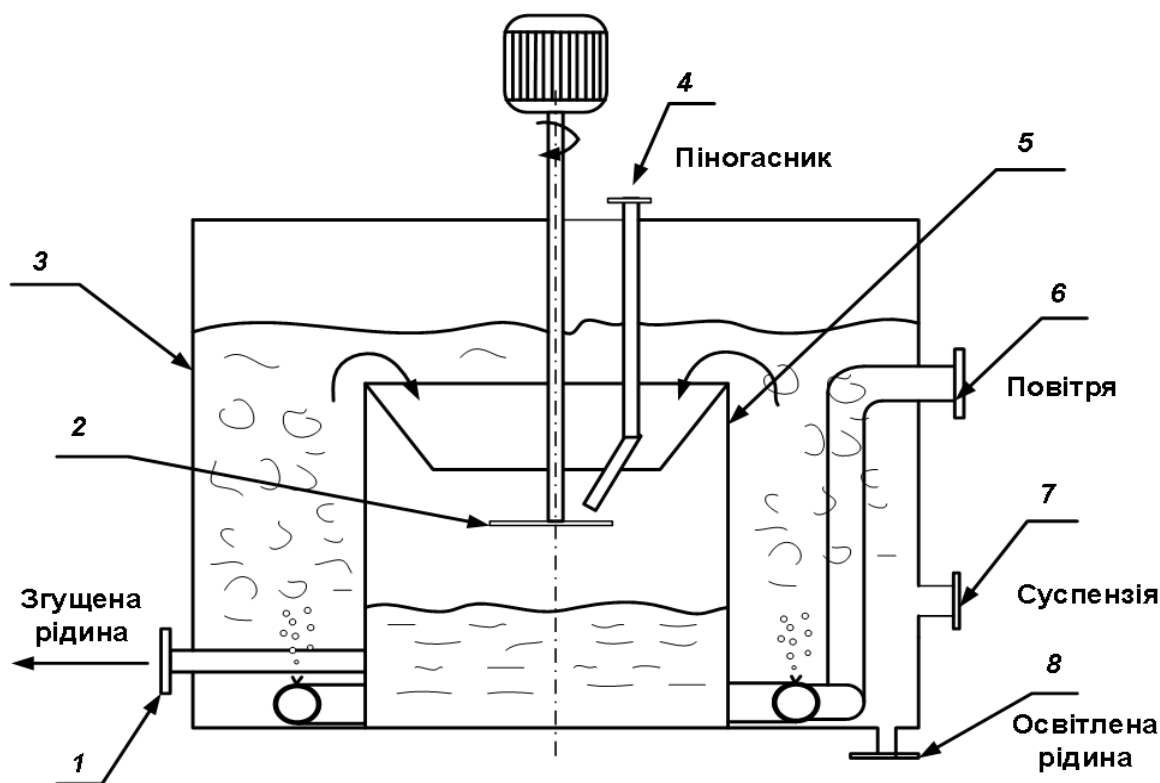


Рис.8.23. Будова флотатора: 1 – штуцер для виходу згущеної суспензії; 2 – механічний піногасник; 3 – корпус; 4 – труба подачі хімічного піногасника; 5 – внутрішній циліндр; 6 – штуцер для введення повітря; 7 – штуцер для введення дріжджової суспензії; 8 – штуцер для виведення освітленої рідини

8.4. Методи концентрування та очищення супернатантів: екстракція, осадження, випарювання, баромембранні методи розділення розчинів БАР

Для виділення продуктів мікробного синтезу з нативного розчину або біомаси в промислових умовах вибір методів обмежений і визначається фізико-хімічними властивостями цих продуктів. Так, для виділення антибіотиків використовують екстрагування, іонообмінну сорбцію, осадження продукту з нативного розчину, сорбцію з нативного розчину макропористими неіоногенними сорбентами і екстракцію з біомаси органічним розчинником.

Одне з провідних місць в технології виділення біологічно активних речовин з нативних розчинів займають процеси екстрагування. Розчинник, рН середовища, співвідношення фаз й інші умови підбирають так, щоб концентрувати цільовий продукт не менше ніж у 2...5 рази, а також забезпечити високу вибірковість процесу. Так, якщо продукт, що виділяється, є кислотою, то в кислій водній фазі залишаються практично всі речовини, добре розчинні у воді, органічні основи, а також кислоти, сильніші, ніж екстрагована. Якщо вміст цільового продукту в нативному

розчині зазвичай досягає 15...20%, то в екстракті він підвищується до 80...85%, тобто вдається відокремити більше 80% домішок. Слід зазначити, що ті домішки, які перейшли в екстракт, як правило, близькі за хімічною структурою до цільового продукту і їх виділення може бути ускладнене.

Іонообмінну сорбцію доцільно застосовувати для виділення продуктів біосинтезу лише за умови чималої обмінної місткості сорбенту за цільовим продуктом (близько 10 мг-екв на 1 г сорбенту). Іонообмінну сорбцію використовують для виділення речовин, що є достатньо сильними електролітами і тих, що дисоціюють у водному середовищі з утворенням багатозарядних іонів. Підбір сорбентів, умов сорбції і елюції забезпечує високу селективність процесу і дозволяє концентрувати цільовий продукт в 10 разів і більше. Іонообмінну сорбцію застосовують також для подальшого очищення біологічно активних речовин, проводячи за допомогою спеціальних сорбентів демінералізацію, нейтралізацію і обезбарвлення розчинів. Переваги методу іонообмінної сорбції – простота апаратурного оформлення і відсутність потреби в органічних розчинниках, недоліки – значна тривалість процесу і необхідність регенерації сорбентів.

Для селективного виділення з нативних розчинів деяких продуктів метаболізму з середньою молекулярною масою, добре розчинних у воді і таких, що мають гідрофільну і гідрофобну частини, знайшли застосування макропористі сорбенти неіоногенного типу. Концентрація продукту при цьому значно менша, ніж у процесі іонообмінної сорбції, що пов'язано з меншою сорбційною місткістю за речовиною, що вилучається. Разом з тим сорбція макропористими сорбентами дозволяє виділяти з нативного розчину продукти, які не можуть бути вилучені іншими відомими методами (наприклад, цефалоспорин С).

Метод осадження або кристалізації з нативних розчинів застосовується для виділення речовин, здатних утворювати з деякими реагентами нерозчинні з'єднання або кристалізуватися за певних умов з водного середовища. Основним чинником, що обмежує застосування процесу осадження біологічно активних речовин з нативного розчину, є низька концентрація цих речовин у розчинах (зазвичай не більше 1...2%). При цьому залишкова концентрація цільового продукту в маточному розчині не повинна перевищувати 0,1...0,2% (інакше помітно зростають втрати продукту). Метод осадження знайшов промислове застосування у виробництві ферментів і тетрациклінових антибіотиків. У деяких випадках він дозволяє відокремити з'єднання, близькі до цільових продуктів за хімічною структурою.

Екстрагування (екстракція) цільового продукту органічним розчинником з біомаси використовують у тих випадках, коли він не розчиняється у водному середовищі і міститься головним чином у твердій фазі. Продукт екстрагують з вологої або висушеної біомаси, підбираючи розчинник, що забезпечує отримання достатньо концентрованого екстракту. Потім розчинник випаровують і виділяють цільовий продукт з екстракту.

8.4.1. Екстракція

Рідинна екстракція—процес вилучення одного або кількох компонентів з розчинів (реакційних мас) за допомогою селективних розчинників (екстрагентів). У процесі взаємодії з екстрагентом у ньому добре розчиняються лише ті компоненти, що вилучаються і значно слабше або зовсім не розчиняються інші компоненти. Отже, при екстракції відбувається не тільки вилучення цільової речовини, але й її очищення. В результаті екстракції одержують *екстракт* – розчин вилученої речовини і *рафінат* – відпрацьований вихідний розчин.

Одержані дві рідкі фази розділяються відстоюванням або сепаруванням. Після цього з екстракту виділяють цільовий продукт методом ректифікації, осадженням або екстракцією іншим розчинником. Екстрагент регенерують і повертають у процес.

Основною перевагою екстракції перед іншими способами виділення цільових продуктів є низька робоча температура, як правило, нормальна (кімнатна), що дуже важливо, наприклад, для виділення антибіотиків та інших термолабільних речовин. Завдяки спеціальному підбиранню екстрагенту для того чи іншого процесу цільову субстанцію можна зосередити у невеликому об'ємі екстракту, внаслідок чого відпадає необхідність упарювання реакційних мас. Разом з тим, застосування додаткового компонента – екстрагенту і необхідність його регенерації (за виключенням води) вимагає ускладнення апаратурного оформлення процесу.

Екстракція особливо доцільна, якщо субстанція знаходиться у дуже розбавленій реакційній масі, має високу температуру кипіння, що ускладнює її відгонку навіть у вакуумі. Крім того, в деяких випадках за допомогою екстракції можна розділити суміші, які при кипінні утворюють азеотропи, що їх важко розділити навіть методами спеціальної ректифікації.

Після змішування вихідного розчину і екстрагенту компонент, що вилучається, починає переходити в екстракт. Процес завершується, коли, концентрація компонента в екстракті стає рівноважною – компонент може переходити в екстракт і знову в розчин з рівною імовірністю.

У кількісному відношенні розподіл речовини між двома розчинниками, що не змішуються, при досягненні рівноважного стану в системі описується законом розподілу:

$$Y_p = KX \text{ або } K = Y_p/X \quad (8.16)$$

де: X – концентрація речовини в розчині, що обробляється, після його контакту з іншим розчинником –*екстрагентом*; Y_p – рівноважна концентрація речовини, що вилучається, в екстракті; K – величина, яку визначають експериментальним шляхом і яку називають *коефіцієнтом розподілу*; вона показує, у скільки разів рівноважна концентрація речовини в екстракті більша, ніж у рафінаті.

При $K = 0$ концентрація $Y = 0$, тобто процес екстракції не відбувається.

Якщо $K < 1$, то при рівних масах екстрагенту та вихідного розчину речовина, що вилучається, частково перейде в екстракт, але переважно буде зосереджена у рафінаті. Якщо $K > 1$, то речовина переважно буде зосереджуватися в екстракті і при $K = \infty$ вона повністю перейде в екстракт.

Отже, для процесу намагаються підібрати такий екстрагент, який мав би найбільший коефіцієнт розподілу. Як екстрагенти використовують органічні розчинники, які повинні мати не тільки високе значення K у цьому процесі, але були б відносно недорогими і легко випаровувались. Якщо процес проводять за допомогою води як екстрагента, то процес називають *вилуговуванням*. Органічними екстрагентами служать етиловий спирт, гліцерин, оцтова кислота, бутилацетат. Крім того, застосовують також метиловий та ізопропіловий спирти, ацетон, етиловий етер, бензини, хлороформ, дихлоретан, чотирихлористий вуглець.

Але відоме застосування і «екзотичних» екстрагентів, включаючи рідини неорганічного походження. Перевага їх полягає у надзвичайно високих значеннях K , що дає можливість практично повного вилучення речовини з вихідного розчину за малих витрат екстрагенту.

При відсутності дисоціації чи асоціації молекул розчиненої речовини коефіцієнт розподілу є величина стала. Цей коефіцієнт залежить лише від температури.

Для неідеальних сумішей величина K сильно змінюється від концентрації розчину; у такому випадку для розрахунків користуються ізотермою екстракції або лінією рівноваги $Y = f(X)$, але це в основному стосується екстракції неорганічних речовин.

Процеси рідинної екстракції у біотехнології використовують для виділення з культуральної рідини (після звільнення її від біомаси) первинних та вторинних метаболітів (антибіотиків, ферментів, вітамінів, білків тощо).

Процес рідинної екстракції проводять як періодичним, так і безперервним методом. Для першого використовують ємнісні апарати перемішування, куди подають розчин цільової речовини та екстрагенту. Після заданого часу екстракції суміш залишають для розділення на фази (екстракт та рафінат). Якщо густина екстрагенту буде менша за розчин, він буде збиратись зверху, а рафінат – знизу. Після чого, його зливають, а екстракт йде на подальше виділення цільового продукту.

При безперервному процесі одночасно в апарат подають екстрагент та розчин. При цьому утворені екстракт та рафінат розділяють у полі відцентрових сил. Дані екстрактори за принципом дії нагадують сепаратори для розділення емульсій. На рис. 8.24 показано один з таких апаратів шведської фірми «Альфа –Лаваль».

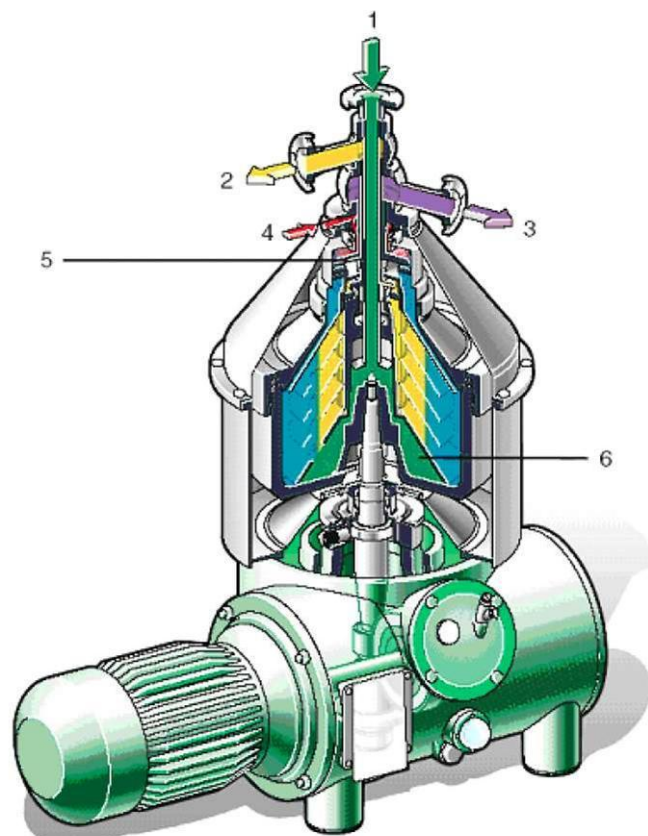


Рис. 8.24. Конструкція рідинного екстрактора фірми «Альфа –Лаваль»: 1 – вхід цільового розчину; 2 – вихід екстракту; 3 – вихід рафінату; 4 – вхід екстрагенту; 5 – камера змішування; 6 – ротор сепаратора.

Твердофазне екстрагування.

Вилучення цільових продуктів з твердої сировини за допомогою екстрагентів називається *твердофазним екстрагуванням*.

У мікробіологічній промисловості цей процес використовують для вилучення біологічно активних речовин з дезінтегрованої біомаси, ферментів з культур грибів, одержаних поверхневим методом.

Як і в рідинній екстракції, розчинник, за допомогою якого проводять вилучення речовини з твердої сировини, називають екстрагентом, а одержаний розчин – екстрактом, відпрацьовану сировину – рафінатом (*шротом*).

Органічними екстрагентами служать етиловий спирт, гліцерин, оцтова кислота, рослинні олії (персикова, мигдальна, соняшникова). Крім того, застосовують також метиловий та ізопропіловий спирти, ацетон, етиловий етер, бензини, хлороформ, дихлоретан, чотирихлористий вуглець.

Оскільки переважну більшість продуктів мікробного синтезу отримують шляхом глибинного культивування, даний метод екстрагування біомаси практично не використовується. Нині за рахунок використання високоенергетичних гомогенізаторів отриману культуральну рідину разом із біомасою подрібнюють з наступним відділенням залишків біомаси сепаруванням, а з нативного розчину методом рідинної екстракції виділяють

необхідні біологічно активні речовини.

На невеликих виробництвах для проведення твердофазової екстракції можна використовувати звичайні реактори-змішувачі в комплекті з друк-фільтром або фільтрпресом.

Після того, як на фільтрувальній поверхні відклався осад, його вилуговують і промивають водою. Використання при цьому органічних розчинників з міркувань безпеки виробництва і охорони праці не допускається, оскільки фільтр-преси для таких робіт не призначені.

Спеціальними апаратами для твердофазової екстракції крізь нерухомий шар твердої сировини є *перколятори* (або *дифузори*). Перколятори малих розмірів використовують, наприклад, у виробництві хлортетрацикліну. Цей апарат є порожнім циліндром, в якому розташовані три циліндричні вставки (патрони) без кришок, з перфорованими днищами. Патрони заповнюють подрібненим кальцієвим комплексом. Після герметизації крізь патрони перепускають екстрагент (метанольний розчин хлориду кальцію), який подають під тиском знизу. Процес відбувається повільно, тому і з цієї причини (крім того, що організована багатоступенева протитечія) використовують багатокорпусну батарею перколяторів (20 і більше апаратів). Коли активність розчину на виході з першого перколятора стає гранично малою, його виключають зі схеми, а у «хвіст» батареї під'єднують свіжезаповнену колону.

Аналогічно проводять вилуговування ферментних білків з культури грибів, яку одержують поверхневим способом, використовуючи також дифузори. З цією метою використовують також повністю безперервні методи твердофазової екстракції (за екстрагентом і за вихідною сировиною).

Всі ферменти є водорозчинними білками, тому найкращим екстрагентом для них є вода. Для видалення ферментів з дріжджових та бактеріальних клітин клітинні оболонки необхідно зруйнувати використовуючи механічні, хімічні або біологічні методи, оскільки вони мають високий дифузійний опір. Оболонки міцеліальних клітин мають низький дифузійний опір, тому дезінтеграція клітин грибів непотрібна.

На повноту екстрагування ферментів впливають багато факторів: температура, рН, тривалість процесу, конструктивні особливості екстракційних апаратів.

Серед небажаних процесів, що можуть відбуватися після дезінтеграції клітин, – протеоліз власними клітинними протеазами цільового ферменту. Цей процес може відбуватися навіть за умови підтримання низької температури, особливо при очищенні ферменту, оскільки після видалення супутніх білків фермент стає єдиним субстратом протеази. Інактивацію протеаз здійснюють обробкою клітинного екстракту специфічними інгібіторами-комплексонами (ЕДТА, о-фенантролін, оксихінолін), солями ртуті або срібла. Протеази можуть бути видалені також сорбцією на афінних сорбентах. Якщо протеази термолабільні, а цільовий фермент термостабільний, їх можна денатурувати нагріванням клітинних екстрактів.

Конструкції деяких твердофазних екстракторів показано на рис.8.25.

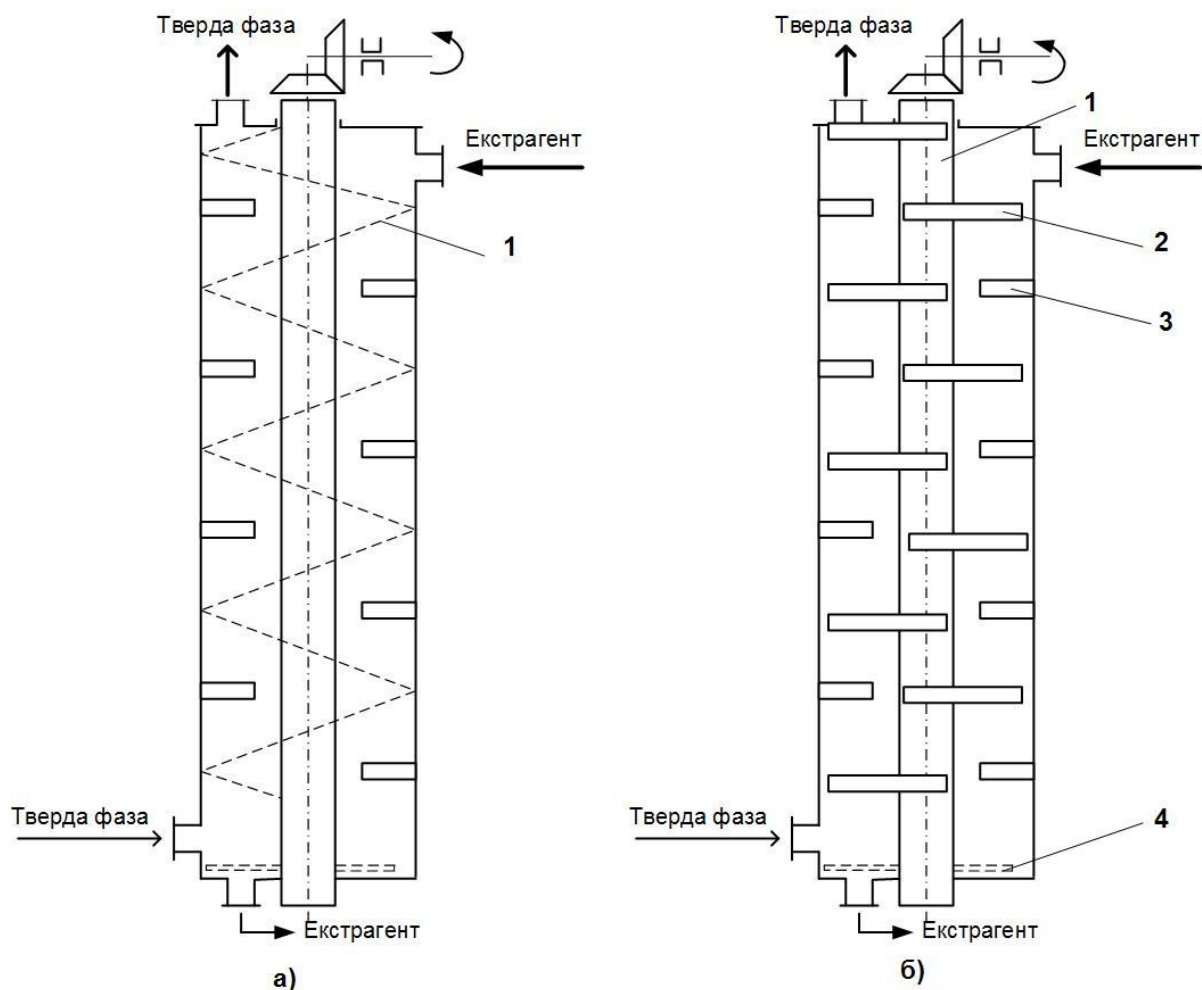


Рис.8.25. Колонні екстрактори: а) з гвинтовим транспортувальним органом (1); б) з лопатевим транспортним органом: 1 – вал; 2 – рухомі лопаті; 3 – нерухомі контролопаті; 4 – роздільне сито.

8.4.2. Осадження

Осадженням називають процес, в якому додавання певних реагентів або зміна фізико-хімічних умов викликає випадання розчиненої речовини (найчастіше це – білок) в осад. Осадження широко застосовується у виробництві ферментів.

Переважає більшість промислово важливих ферментів є водорозчинними білками. Розчини ферментів можуть бути різного походження: екстракти з поверхневих культур мікроорганізмів, фільтрати з гомогенатів рослинних і тваринних тканин, лізати мікроорганізмів, фільтрат культуральної рідини, яку отримують при глибинному вирощуванні мікроорганізмів. Ці розчини ферментів неоднорідні і є складними системами, що містять, крім ферментів, велику кількість розчинених у воді сполук. Виділення ферментів з цієї складної суміші є непростим завданням, оскільки система дуже чутлива до зовнішніх впливів і тому забезпечення високого виходу ферменту в осад вимагає чіткого дотримання умов, за яких

починається агрегування білкових молекул і випадіння їх в осад.

Розчинність білка визначається розподілом гідрофобних і гідрофільних залишків на поверхні молекули. Змінюючи деякі властивості білкових розчинів (температуру, іонну силу, рН) додаванням нейтральних солей, водорозчинних органічних сполук або інших інертних речовин, можна вплинути на гідратний або сольватний шар і викликати агрегацію білкових молекул і випадання їх в осад.

Осадження ферментів органічними розчинниками. Ефект осадження білків пов'язаний з тим, що у присутності органічного розчинника знижується активність води. Зі збільшенням концентрації розчинника знижується здатність води до сольватації заряджених гідрофільних молекул ферменту. Діелектрична постійна розчинника знижується, відбувається витіснення молекул води з поверхні білкової молекули та їх часткова іммобілізація молекулою органічного розчинника внаслідок гідратації білка. Тому молекули води, розміщені на гідрофобних ділянках поверхні білка, можуть бути заміщені на молекули органічного розчинника. При цьому розчинність білків знижується, відбувається агрегування і осадження білкових молекул.

Агрегування білків відбувається під дією електростатичних і Ван-дер-Ваальсових сил, що виникають між окремими білковими молекулами. Гідрофобна взаємодія, ймовірно, має менше значення в результаті впливу органічних розчинників на неполярні ділянки білкової глобули.

Органічний розчинник, який використовують для осадження, повинен повністю змішуватися з водою і не зв'язуватися з ферментом. Найширше для осадження ферментів використовують етиловий спирт, ацетон та ізопропіловий спирт. Рідше застосовують метанол, н-пропанол, діоксан, 2-метоксиетанол й інші спирти, кетон, ефіри та їхні суміші. При виборі розчинника необхідно пам'ятати про його можливу токсичність, вибухонебезпечність і можливість регенерації. З урахуванням цього найбільш придатними для виробництва є етанол й ізопропанол, менше – ацетон. Найбільш перспективним вважається осадження ферментів ізопропанолом. Осадження білків здійснюється за порівняно низької його концентрації (52...53%) і препарати містять на 40...45% менше баластних речовин, ніж за осадження ацетоном і особливо етанолом.

Наявність у розчині деяких іонів може мати стабілізуючу дію на фермент. Так, іони Ca^{+2} здатні до зберігання активності α -амілази, протеїназ, глюкоамілаз; захисною дією характеризуються іони магнію, марганцю, кобальту. Наявність електролітів часто дозволяє знизити витрату осаджувача і покращити структуру осаду.

Фракційне розділення ферментів органічними розчинниками. Різна розчинність ферментів в органічних розчинниках дозволила розробити способи їхнього розділення.

Так, розроблено метод фракційного осадження амілолітичних і протеолітичних ферментів з екстрактів культури *A. oryzae* за допомогою

етилового спирту. За концентрації спирту в розчині 50% осаджується 70...80% протеаз, а амілази осаджуються лише на 5%. Підвищення концентрацій спирту в розчині не приводить до збільшення кількості осаджених протеаз, а амілази майже на 100% осаджуються за концентрації спирту 70%. Використовуючи ці властивості ферментів, розроблено технологію отримання амілаз і протеаз з фільтратів глибинних культур. Для цього у розчин, що містить ферменти, додають етиловий спирт до концентрації 52...54%. З отриманої водно-спиртової суміші за допомогою сепаратора відокремлюють осад протеолітичних ферментів. Потім до водно-спиртової суміші повторно додають етиловий спирт до кінцевої концентрації 72%. З отриманої суміші за допомогою сепаратора виділяють осад амілолітичних ферментів.

8.4.3. Висолювання

Найчастіше для осадження ферментів використовують нейтральні солі (в цьому випадку процес і називають *висолюванням*) або органічні розчинники, як це було показано вище, а також методи, засновані на зміні температури або рН розчину, додаванні високомолекулярних полімерів і ін.

Відомо, що розчинність білків у розчинах солей нижча, ніж в чистій воді. Залежність розчинності від концентрації солі описується рівнянням:

$$\lg S = \beta - KC, \quad (8.17.)$$

де S – розчинність білка, г/л; β, K – константи, що характеризують властивості білка і солі (β залежить також від температури і рН); C – концентрація соли, г/л.

Як видно з рівняння, додавання соли до розчину білка призводить до того, що за певної концентрації солі розчинність білка стає нижчою за його концентрацію у розчині, і білок починає випадати в осад. Ступінь осадження білка залежить від його початкової концентрації у розчині, концентрації соли і властивостей системи. На цьому явищі заснований процес висолювання білків. Він пов'язаний з посиленням орієнтації диполів води іонами солей, що приводить до руйнування шару гідрату навколо молекул білка і його коагуляції.

Найчастіше для проведення висолювання використовують сульфат амонію (завдяки його високій розчинності у воді і низькій вартості), рідше – хлорид натрію. Концентрація солі, що додається у ферментний розчин, зазвичай близька до концентрації насичення і для сульфату амонію складає 70...75 г на 100 мл розчину, що висолюється. Сіль додають у сухому вигляді, невеликими порціями, при постійному перемішуванні, щоб уникнути утворення локальних зон з підвищеною концентрацією соли. Після додавання розрахованої кількості солі осад утворюється не відразу, а протягом деякого часу – від 30 хв до декількох годин.

Різні білки випадвають в осад при різних концентраціях солі у розчині. У

зв'язку з цим процес висолювання використовують не тільки для виділення ферментів, але і для їх очищення від небажаних домішок. Наприклад, осадження глюкоамілази сульфатом амонію у концентрації 60% насичення приводить до неповного виділення цільового продукту. Проте при цьому фермент практично повністю звільняється від супутньої йому глікозилтрансферази, що осідає при концентрації солі 90% насичення.

У осадах, отриманих при висолюванні, міститься від 25 до 80% солі, тому препарати харчового або медичного призначення необхідно піддавати додатковому очищенню (наприклад, за допомогою електродіалізу).

8.4.4. Методи концентрування нативних розчинів

Випарювання – процес утворення парової фази, який відбувається в усій масі рідини і, головним чином, на межі між паровою бульбашкою і рідиною. Випарювання настає при температурі кипіння, за якої тиск насиченої пари рідини дорівнює зовнішньому тиску. Процес пароутворення до настання моменту кипіння називають випаровуванням.

Випарювання є тепловим процесом і його використовують для зневоднення розчинів, суспензій з метою концентрації твердої фази або розчиненої речовини. Процес випарювання проводять у випарних апаратах різної конструкції.

Випарні апарати класифікують за наступними ознаками:

- періодичність дії;
- тип теплоносія;
- метод обігріву;
- розташування і виду поверхні теплообміну (компонування й конструкція поверхні нагрівання);
- розташування робочого середовища;
- режиму та кратності циркуляції розчину.

Цільові продукти мікробного синтезу в основному термолабільні та деякою мірою можуть інактивуватись при температурах вище 50...80 °C протягом 5...15 хв. Тому процеси випарювання повинні відбуватися за режимів, що забезпечують мінімальні втрати цільових продуктів від термічної інактивації.

Для кожного продукту біосинтезу, що концентрується, час перебування у випарному апараті за відповідної температури визначається дослідним шляхом. На підставі дослідних даних вибирається відповідна конструкція випарного апарату, що забезпечує оптимальний час перебування середовища в апараті при заданій продуктивності при мінімальних витратах енергії.

У таблиці 8.3. наведені порівняльні показники випарних апаратів, які застосовуються та рекомендуються до використання в мікробіологічній промисловості. За цими даними можна орієнтовно вибрати необхідний апарат для концентрування конкретного продукту.

Температура нагрівання випарюваного середовища залежить як від *термолабільності* цільових продуктів, так і від *хімічного складу* середовища,

що концентрується. При випарюванні ряду конкретних середовищ приймаються приблизні максимальні температури їхнього нагрівання:

- для кормових дріжджів і біомас інших мікроорганізмів, розчинів амінокислот без вуглеводів – 70...80 °С ;
- для культуральних рідин, що містять вуглеводи та цільові амінокислоти – до 60 °С;
- для культуральних рідин і екстрактів, що містять ферменти, – 30...40 °С;
- для культуральних рідин, що містять вітаміни й антибіотики – 50...60 °С.

У таблиці 8.3. наведена порівняльна характеристика вакуум-випарних апаратів для згущення термолабільних біологічних суспензій (отримання кормових дріжджів, ферментів, антибіотиків, амінокислот, вітамінів).

Таблиця 8.3.

Порівняльна характеристика вакуум-випарних апаратів для згущення термолабільних біологічних суспензій

Показник	Типи апаратів							
	циркуляційні		тонкошарові		плівкові			
	з природною циркуляцією	з примусовою циркуляцією	з пластинчастим теплообміном	з тарілчастим теплообміном	з висхідною плівкою	зі стікаючою плівкою	з перемішуванням плівки	з обертовою поверхнею нагрівання
Максимальна продуктивність за випаровуваною вологою, т/год	120	120	8	7	250	250	0,5	2,5
Коефіцієнт теплопередачі, Вт/(м ² ·°С)	900.. 1800	1500.. 2400	1800.. 2500	1800... 2200	1700... 2700	2000... 3200	2000... 3600	10 000
Максимальна в'язкість концентрованого середовища, Па·с	0,6	1,5	0,4	0,4	1	1	15	15
Час перебування середовища в апараті, хв	60... 150	30..90	3...6	1...3	4...6	2...6	0,1..0,4	0,01... 0,1
Доцільна кількість ступенів випарювання	2...3	1...3	2...3	2...3	1...2	2...4	1	1
Продукти біосинтезу, що концентруються	Кормові біомаси (дріжджі, бактерії й ін.)		Ферменти, антибіотики, вітаміни й ін.		Кормові біомаси, ферменти,		Ферменти, антибіотики, вітаміни,	

			антибіотики, амінокислоти, вітаміни й ін.	мікробні клітини й ін.

Температури кипіння нижче 100 °С досягаються шляхом створення відповідного вакууму у випарних апаратах.

На рис. 8.26. представлена схемароботи тонкоплівкового вакуум-випарного апарату із висхідною плівкою.

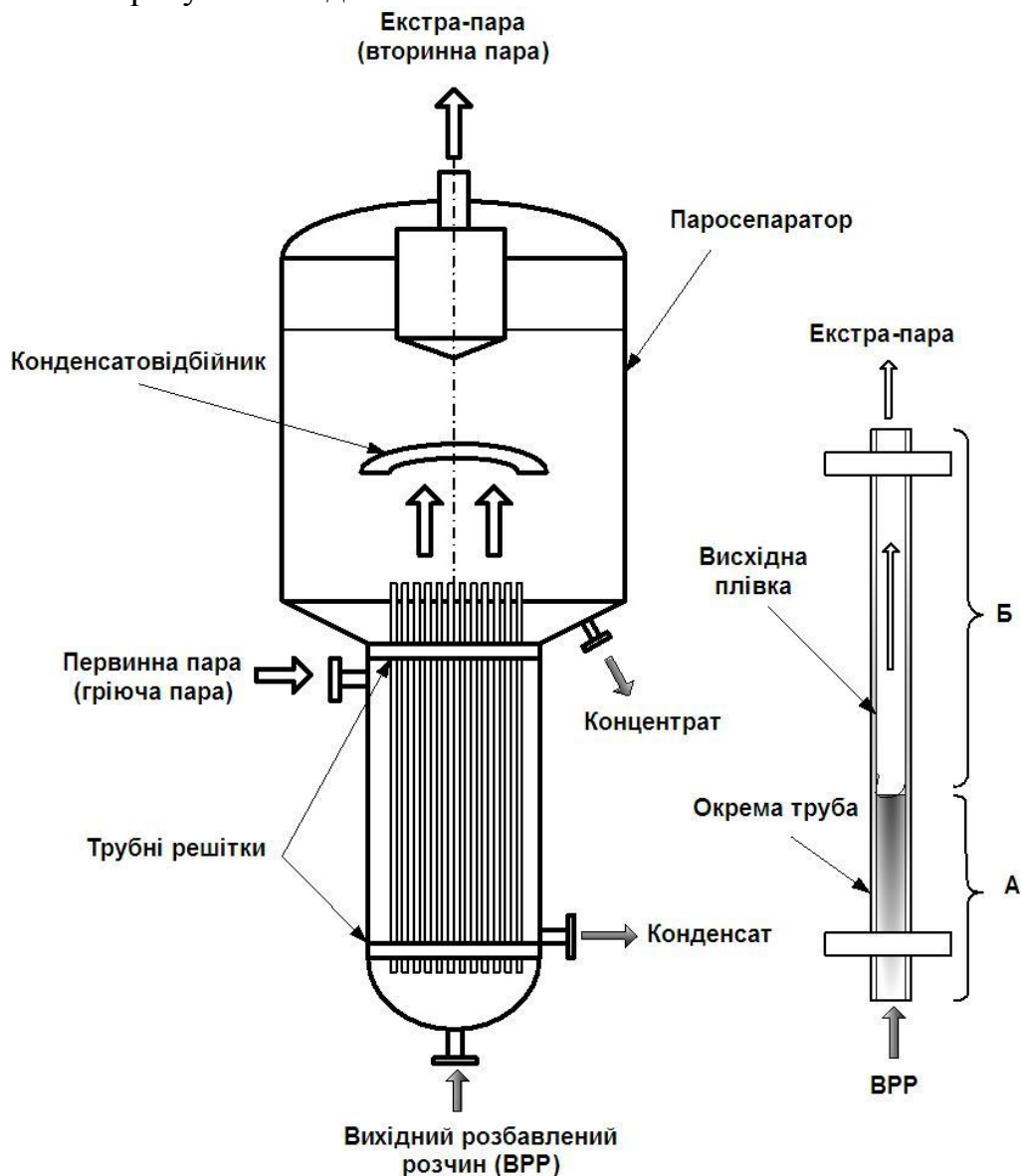


Рис. 8.26. Схема тонкоплівкового вакуум-випарного апарату – використовується для згущення термолабільних розчинів

Сучасним напрямом використання випарних апаратів для концентрування розчинів БАР є використання *роторно-плівкового випарника (РПВ)*.

Випарювання вихідного продукту (сировини) проходить у випарних трубах, усередині яких вбудовано обертовий турбулізуючий механізм роторного типу. Речовина, що переробляється, подається через патрубок у верхній частині кожної із труб. Вона розтікається рівномірно поперечним

перетином труби роторно-плівкового випарника і стікає внутрішньою поверхнею донизу у вигляді плівки під дією сили тяжіння; поверхнею плівки «ковзають» робочі органи роторного механізму. Труба ззовні підігрівається парою до температури випарювання речовини. Оберткові лопаті *роторно-плівкового випарника* створюють у плівці вихрові потоки, що прискорюють у ній тепло- масообмінні процеси, забезпечують ефективний поділ рідкої й парової фаз під час випарювання. При цьому максимально гальмується утворення відкладень на внутрішній поверхні випарної труби.

У результаті більша частина води, стікаючи донизу випарною трубою роторно-плівкового випарника, перетворюється на «вторинну» пару. «Вторинна» пара проходить через сепаратор, при цьому на пластинах сепаратора залишаються найбільші краплі вологи, захоплені парою, які містять концентрат речовини, що випарюється; вони стікають із пластин у піддон сепаратора. Концентрат, що утворився у результаті випарювання речовини, надходить із випарних труб у піддон сепаратора роторно-плівкового випарника. Далі він переміщається шнековим транспортером, вбудованим у сепаратор випарника або відкачується насосом у накопичувач. «Вторинна» пара надходить у конденсатор, де конденсується. Конденсат «вторинної» пари подається у накопичувальну ємність. Роторно-плівковий випарник складається з декількох (від 1 до 7) випарних модулів.

Роторно-плівковий випарник може працювати у мікробіологічній промисловості для виробництва концентратів БАР. Процес відбувається значно швидше, ніж в «традиційних» випарниках, з меншими енерговитратами та більшим коефіцієнтом виходу. Ємності роторно-плівкового випарника виготовляються нержавіючої сталі.

На рис. 8.27– 8.29 представлено зовнішній вигляд, конструктивні особливості та схему роботи роторно-плівкового випарника.

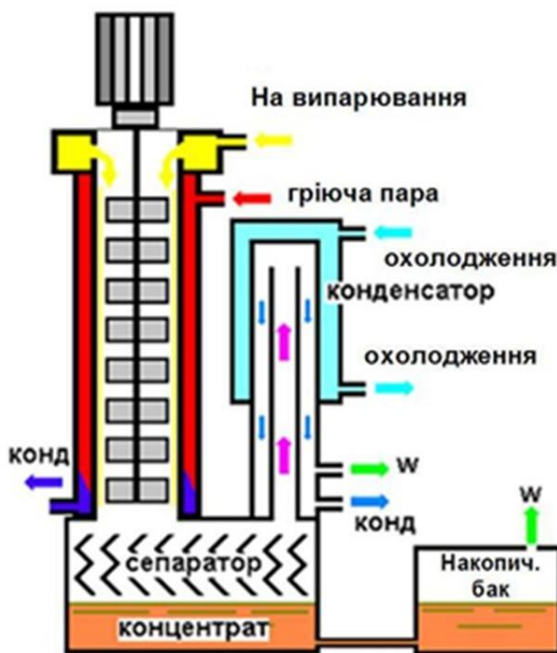


Рис. 8.27. Схема роботи роторно-плівкового випарника

Основними перевагами роторно-плівкового випарника є:

- на нагрівачі не утворюються відкладення при температурі випарювання середовища аж до 150°C;
- використання великої різниці температур між гріючою парою та розчином, що випарюється, дозволяє повністю зберегти склад первинного продукту;
- висока теплонапруженість теплообмінної поверхні та низька металоємність конструкції;
- модульність і технологічність конструкцій;
- високий енергетичний потенціал вторинної пари;
- малий час перебування вихідного продукту в апараті при його вертикальному компонуванні;
- високий ступінь випарювання.



Рис. 8.28. Загальний вигляд лабораторного роторно-плівкового випарника



Рис. 8.29. Загальний вигляд промислового роторно-плівкового випарника

8.4.5. Мембранні методи розділення та концентрування

Звичайна фільтрація використовується для відокремлення від рідини достатньо великих частинок твердої фази (діаметром 50...100 мкм і більше). Для відокремлення дрібніших частинок (діаметром 2...5 мкм), а також для розділення розчинів використовують мембранні способи. До них належать *мікрофільтрація, діаліз, електродіаліз, зворотний осмос і ультрафільтрація*. Особливістю всіх цих методів є застосування напівпроникних мембран.

Переваги мембранних методів розділення біологічних суспензій і розчинів наступні: відсутність температурних, механічних і хімічних дій на продукт, що переробляється; простота апаратурного оформлення, відсутність рухомих деталей; низька енергоємність процесу; можливість забезпечення герметичності і асептики процесу.

Нині використовують два основні способи мембранної фільтрації:

статична (тупикова) фільтрація та *динамічна* (у тангенційному потоці, крос-флоу) фільтрація. Рушійною силою першої є трансмембранний тиск (ТМТ), що діє перпендикулярно поверхні мембрани, а другої – дія тиску потоку рідини вздовж мембрани, яка визначається лінійною швидкістю руху рідини вздовж мембрани. Вказані принципи фільтрації ілюструє рис. 8.30.

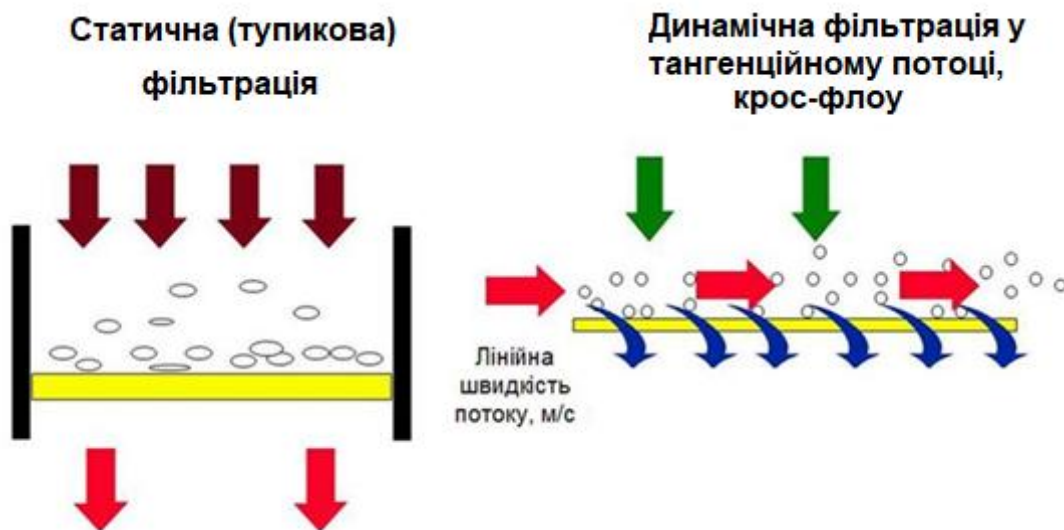


Рис.8.30. Два способи мембранного фільтрування

Ці два способи відрізняються ефективністю фільтрації. Під час першого із збільшенням часу фільтрування та за достатньої кількості часточок проходить швидке забивання пор мембрани і відповідно продуктивність процесу різко падає. У випадку динамічного способу фільтрування повздовжній рух рідини постійно змиває часточки з мембрани і забезпечує постійне співвідношення товщини шару осаду на мембрані та продуктивності фільтрування. Дане порівняння показано на рис.8.31.

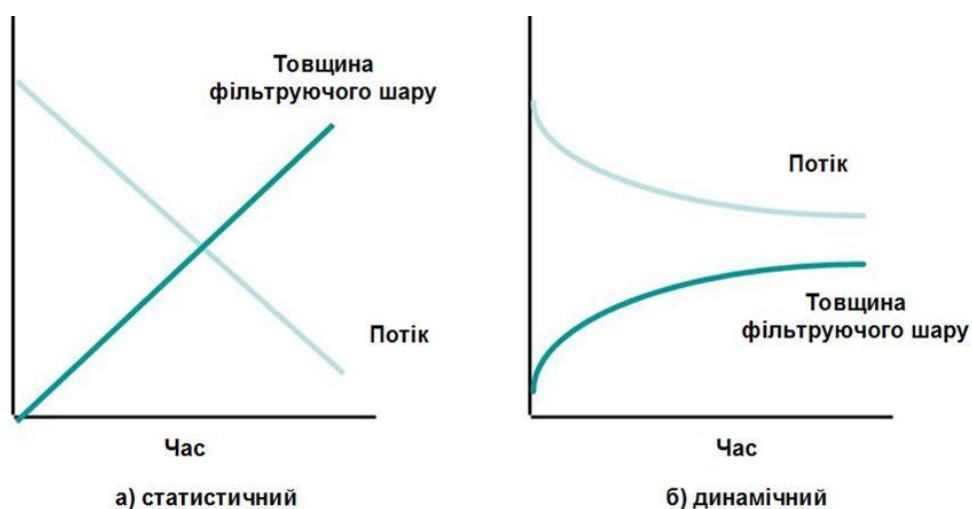


Рис.8.31. Порівняння ефективності фільтрації в залежності від способу мембранної фільтрації: а – статичного; б – динамічного

Конструктивні особливості та зовнішній вигляд фільтраційних модулів,

які використовуються для статичної фільтрації, показано на рис. 8.32.

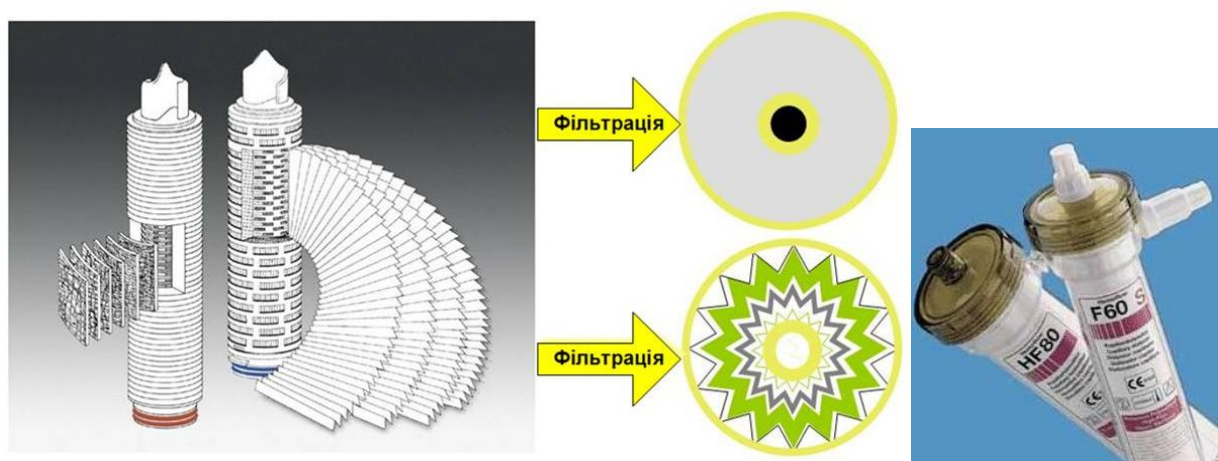


Рис.8.32. Конструкції внутрішніх елементів при статичній фільтрації

Мікрофільтрація – це процес, близький до звичайної фільтрації. Мікрофільтрація через пористі мембрани з діаметром пір від 0,1 до 10 мкм застосовується для відокремлення дрібних частинок твердої фази, зокрема мікроорганізмів (в цьому випадку її називають *стерилізуючою фільтрацією*). Завдяки великому числу пор на одиниці поверхні мембрани (кількість пор досягає 70...80% загального об'єму мембрани) процес мікрофільтрації відбувається з достатньо високою швидкістю. Процес мікрофільтрації зазвичай ведуть при різниці тиску 0,1...0,2 МПа.

Слід зазначити, що інтерес до мікрофільтрації як до способу стерилізації розчинів термолабільних компонентів ферментаційних середовищ останніми роками зріс.

Діаліз та електродіаліз.

Діаліз – процес очищення розчинів високомолекулярних речовин (наприклад, ферментів) від розчинених в них низькомолекулярних речовин за допомогою напівпроникної мембрани.

З одного боку мембрани знаходиться початковий розчин, з іншої – чиста вода. Присутні в розчині низькомолекулярні речовини шляхом дифузії проходять через мембрану і видаляються разом з водою. Це, так званий, діаліз проти води. Білки або інші високомолекулярні речовини, молекули яких більше пор мембрани, залишаються в розчині, і, таким чином, їх розчин очищається від низькомолекулярних домішок. Ступінь очищення залежить від співвідношення кількостей води і розчину, що піддається діалізу, тривалості діалізу і коефіцієнта дифузії. Так, при діалізі ферментного розчину протягом 24 год і співвідношення розчину і води 1:50 кількість домішок (вуглеводів, амінокислот, зольних елементів і ін.) зменшується у 3,5...4 рази, а активність фермента на 1 г сухих речовин зростає в 2,7...3,0 рази. Мембрани для діалізу виготовляють з пергаменту, армованого целофану й інших матеріалів.

Швидкість процесу дифузійного перенесення речовин під час діалізу

невелика. Вона значно вище тоді, коли домішки, що видаляються, заряджені. Для заряджених частинок застосовують *електродіаліз*. Він полягає у пропусканні постійного електричного струму через розчин, що піддається діалізу. При цьому позитивно заряджені іони рухаються через одну мембрану до катода, а негативні іони – через іншу мембрану до анода. Для уникнення зворотної дифузії у процесі електродіалізу використовують селективні мембрани, проникні тільки або для аніонів, або для катіонів. Швидкість електродіалізу визначається в основному силою струму і змінюється у широких межах. Електродіаліз, на відміну від звичайного діалізу, широко застосовують не тільки в лабораторних, але і в промислових умовах, наприклад, для очищення ферментних розчинів після осадження ферментів методом висолювання. Схема роботи електродіалітичної установки показана на рис.8.33.

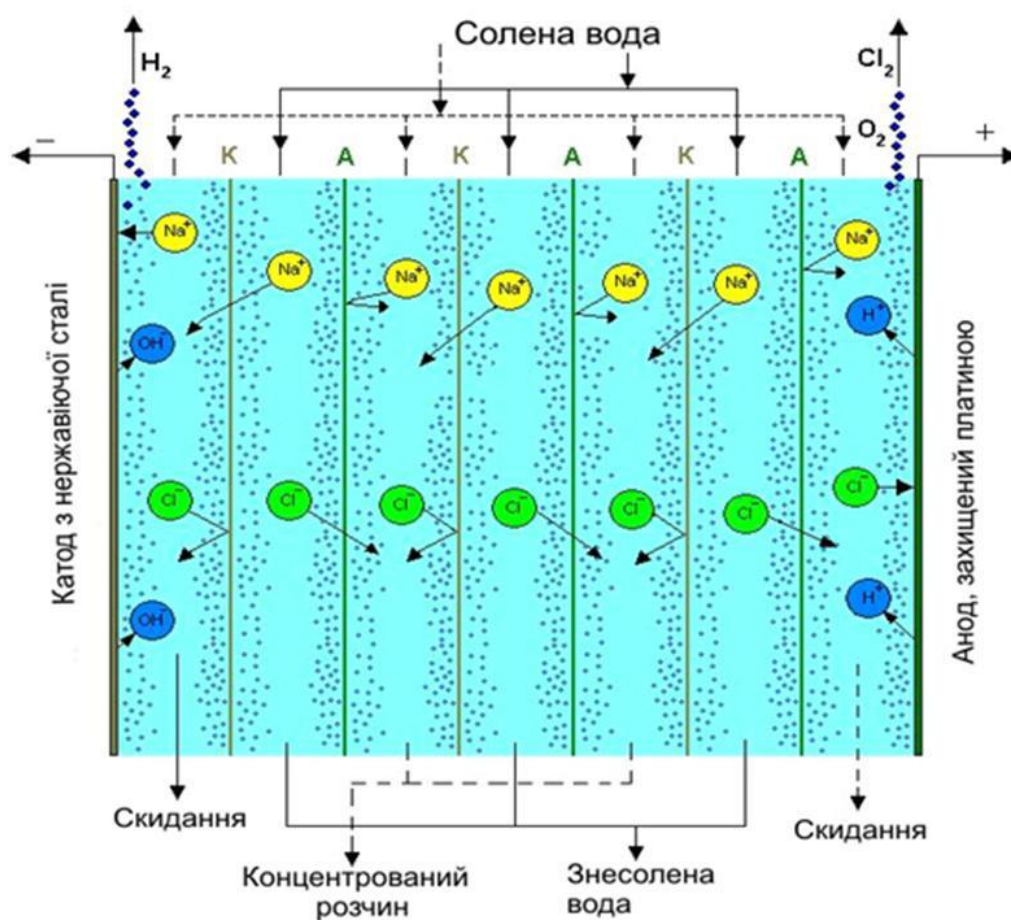


Рис.8.33. Схема роботи електродіалізатора

Ультрафільтрація

Так називають процес очищення та концентрування розчинів високомолекулярних з'єднань (наприклад, ферментів) з одночасним очищенням їх від низькомолекулярних домішок шляхом пропускання розчину через мембрану з порами розміром від 0,01 до 0,1 мкм.

Ультрафільтрування призначене для концентрування розчинених високомолекулярних сполук. Умовно вважають, що молекулярна маса

розчиненої речовини повинна бути більше 500, в усякому разі молекулярна маса молекул розчинника має бути значно меншою від молекулярної маси розчиненої речовини.

Головним елементом ультрафільтраційної мембрани є полімерна плівка. Ця плівка може бути суцільною, вона обмежено набрякає у воді. Через таку плівку речовини проходять тільки завдяки дифузії. Швидкість фільтрування дуже низька. Цей недолік може бути частково усунений при застосуванні анізотропної мембрани, яка складається з тонкого непористого гелевого шару, який нанесено на мікропористу підкладку товщиною 0,1... 1 мкм. Сьогодні для ультрафільтрування і зворотного осмосу використовують поки тільки мікропористі анізотропні та ізотропні мембрани.

На відміну від мікрофільтрації або звичайної фільтрації при ультрафільтрації затримуються окремі молекули розчиненої високомолекулярної речовини; при ультрафільтрації відбувається не розділення фаз, а перерозподіл розчинених в рідкій фазі речовин. Тим часом проблема забивання пор фільтруючого матеріалу, характерна для звичайної фільтрації, має не менше, а можливо, і більше значення.

У таблиці 8.4. представлена характеристика застосування різних мембранних методів розділення в залежності від типів мембран.

Таблиця 8.4.

Порівняльна таблиця використання різних мембранних методів розділення

Застосування	мікрофільтр 0,05-0,3 мкм	ультрафільтр 1 кДа-500 кДа	нанофільтр 150 Да - 1000 Да	зворотний осмос 50-100 Да
Відділення клітин (стерильна фільтрація), виділення біомаси в процесі ферментації (динамічний)	✓			
Очищення та концентрування ферментних і білкових		✓		
Знесолення та фракціонування плазми		✓	✓	
Очищення антибіотиків і вакцин		✓	✓	
Видалення пірогенів і ендотоксинів при одержанні води для ін'єкцій		✓		
Пом'якшення та демінералізація води			✓	✓

Важливою характеристикою будь-якої ультрафільтраційної мембрани є її *селективність*, що визначає ступінь затримання розчиненої речовини.

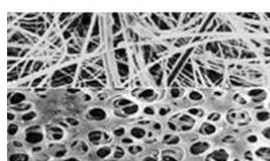
Селективність мембрани залежить від розмірів і форми молекул розчиненої речовини. Слід мати на увазі, що практично у всіх випадках

існують молекули, що затримуються мембраною лише частково.

Для процесу ультрафільтрації характерне явище *концентраційної поляризації*– підвищення концентрації розчиненої речовини поблизу поверхні мембрани. Воно пов'язане з тим, що через мембрану проходять в основному молекули розчинника. Внаслідок цього знижується швидкість фільтрації. Для зменшення концентраційної поляризації застосовують хімічні інгібітори, що перешкоджають утворенню поляризаційного шару, або установки фільтрації спеціальної конструкції, де забезпечується турбулізація потоку або підвищення його швидкості при пропусканні через вузькі канали.

Для зменшення ефекту *концентраційної поляризації* використовують метод *динамічної тангенціальної фільтрації*, коли рідина рухається вздовж поверхні мембрани, і таким чином змиває з поверхні мембрани продукт, що осідає. Для ультрафільтрації, як правило, використовують пористі полімерні мембрани на основі поліуретанів, складних ефірів целюлози, полівінілового спирту й ін. Такі мембрани отримують шляхом опромінювання зарядженими частинками полімерної плівки з подальшим її травленням.

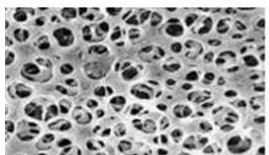
Для забезпечення механічної міцності в умовах гідравлічного тиску основну тонку мембрану прикріплюють до грубішої підкладки товщиною 125...250 мкм. Зразки матеріалів, що використовуються при виготовленні мембран, наведені на рис. 8.34.



Скловолокно

Сартоклин GF (560...)

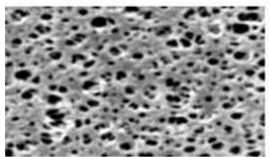
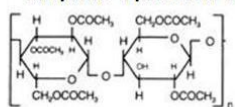
Ацетат целюлози



Ацетат целюлози

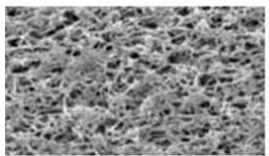
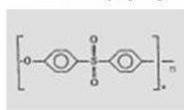
Сартобран Р 523... - Р

Сартобран LV 523... - LV



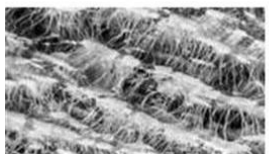
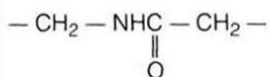
Поліефірсульфон

Сартопор 2 544...



Поліамід

Сартолон 510...



Політетрафторетілен (фторопласт)

Сартофлор GA 518... - GA

Сартофлор LG 518... - LG

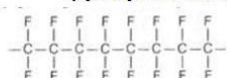


Рис.8.34. Матеріали, що використовуються при виробництві мембран

Ультрафільтраційні мембрани підбирають залежно від розміру молекули речовини (їх діаметру) і за діаметром пор мембран знаходять співвідношення $k = D_{\text{мол}}/D_{\text{пор}}$ яке повинно бути більше 0,5. Тільки у цьому випадку вважають, що мембрана для цього процесу придатна.

Діаметр молекул деяких речовин, мкм:

Вода 0,0003

Солі 0,0004

Лактоза 0,008

Білки молочної сироватки 6,4

Казеїн 0,025...2,0

Яєчний альбумін 4,9

Каталаза (фермент) 10,4

Якщо діаметр молекул речовини невідомий, то його наближено можна розрахувати, за умови, що речовина не утворює асоціатів, використовуючи таку емпіричну залежність рівняння Стокса:

$$D_{\text{мол}} = 0,098 \times M^{0,38} \text{ нм}, \quad (8.18)$$

де M – молекулярна маса речовини, Да.

Наприклад, діаметр молекули води: молекулярна маса H_2O – 18 Да, діаметр молекули:

$$D_{\text{H}_2\text{O}} = 0,098 \times M^{0,38} = 0,098 \cdot 18^{0,38} = 0,29 \text{ нм}$$

Алгоритм підбору мембрани для виділення певної речовини із розрахованим за рівнянням (8.18) діаметром молекули наступний.

1. З таблиці 8.5. вибирають для порівняння декілька мембран з відповідними розмірами пор та визначають для них співвідношення $k = D_{\text{мол}}/D_{\text{пор}}$. Дане співвідношення згідно таблиці 8.6. має бути в межах $0,5 < k < 2,0$. Якщо дана умова для вибраного типу мембрани не виконується, така мембрана для подальших розрахунків не приймається.

Таблиця 8.5.

Характеристика ультрафільтраційних мембран

№	Марка	Матеріал	Середній розмір пор, нм	Продуктивність по дистильованій воді, V_0 , $\text{дм}^3/\text{м}^2 \cdot \text{год}$ ($\text{мл}/\text{см}^2 \cdot \text{хв}$)
1	2	3	4	5
1	УАМ-50П	Ацетатцелюлоза	5,0	1,2 (0,002)
2	УАМ-100П	-//-	10,0	6 (0,01)
3	УАМ-150П	-//-	15,0	14,8 (0,028)
4	УАМ-300П	-//-	30,0	66 (0,11)
5	УАМ-500П	-//-	50,0	186 (0,31)
6	УАМ-1000П	-//-	100,0	1200 (2,0)
7	УПМ-10	Полісульфонамід	1,0	15 (0,025)

Продовження табл. 8.5

1	2	3	4	5
8	УПМ-20	-//-	2,0	60 (0,1)
9	УПМ-50	-//-	5,0	72 (0,12)
10	УПМ-50М	-//-	5,0	180 (0,3)
11	УПМ-100	-//-	10,0	840 (1,4)
12	УПМ-200	-//-	20,0	1560 (2,6)
13	УПМ-П	-//-	5,0	100 (0,16)
14	УПМ-ПП	-//-	5,0	100 (0,16)
15	УФМ-20	Фенілон	2,0	100 (0,16)
16	УФМ-50	-//-	5,0	240,40 (0,4)
17	УФМ-100	-//-	10,0	900 (1,5)

2. За таблицею 8.6. знаходять величину селективності мембрани ϕ_d , вважаючи у першому наближенні, що вона є дійсною.

Таблиця 8.6.

Показники селективності мембран

$D_{\text{мол}}/D_{\text{пор}}$	ϕ_d	$D_{\text{мол}}/D_{\text{пор}}$	ϕ_d	$D_{\text{мол}}/D_{\text{пор}}$	ϕ_d	$D_{\text{мол}}/D_{\text{пор}}$	ϕ_d	$D_{\text{мол}}/D_{\text{пор}}$	ϕ_d
0,500	0,9860	0,650	0,9980	0,9	0,9995	1,3	0,99975	1,7	0,99990
0,550	0,9915	0,700	0,9987	1,0	0,9996	1,4	0,99980	1,8	0,99992
0,575	0,9943	0,750	0,9990	1,1	0,9997	1,5	0,99982	1,9	0,99994
0,600	0,9958	0,800	0,9992	1,2	0,9997	1,6	0,99985	2,0	0,99995

3. Визначають ступінь концентрування $K = X_{1к}/X_{1п}$, де $X_{1к}$ та $X_{1п}$ – кінцева і початкова концентрації речовини на початку і наприкінці концентрування. Ступінь концентрування може бути заданий.

4. Визначають середню концентрацію розчиненої речовини у пермеаті для кожної з обраних марок мембран X ,:

$$X_2^{\text{ср}} = X_{1п} \frac{\frac{1-\phi_d}{1-K\phi_d}}{\frac{1}{1-K\phi_d}}, \text{ кг речовини /кг пермеату; } \quad (8.19.)$$

Якщо розмірність величини $X_{1п}$ задана у відсотках або інших одиницях концентрації, то розмірність одержаної величини X_2 буде у тих же одиницях.

5. Порівнюють втрати речовини з пермеатом із заданими втратами.

У разі коли втрати речовини однієї з мембран виходять за межі заданих втрат, таку мембрану не використовують.

6. Проводять наближений розрахунок робочої поверхні мембран.

а) визначають проникливість за чистою водою

$$G_0: G_0 = A\Delta P, \text{ кг/(м}^2\cdot\text{с); } \quad (8.20.)$$

б) визначають проникливість за дійсним розчином

$$G: G = G_0 (\mu_v / \mu_p), \quad (8.21.)$$

де μ_v , μ_p - динамічні в'язкості води і дійсного розчину.

в) визначають витрату пермеату, кг/с

$$L_\phi = L_\pi (1 - K^{\frac{1}{\phi_d}}), \quad (8.22.)$$

де L_π - витрата вихідного розчину, кг/с.

Проводять порівняння мембран за проникливість за чистою водою. Використовують ту мембрану, проникливість за чистою водою якої більша.

Якщо задано загальну масу вихідного розчину, то одержують загальну кількість пермеату.

г) визначають поверхню фільтрування: $F = L_\phi / G$, м² (8.23.)

д) визначають число елементів в апараті при заданій поверхні елемента.

На практиці застосовують модулі мембрани пластинчастого, трубчастого, рулонного типів, а також апарати з мембранами у вигляді порожнистих волокон. Компактність фільтрувального блока (відношення поверхні фільтрування до об'єму блока) є його істотною характеристикою:

Тип апарату	Компактність, м ² /м ³
З плоскими елементами	200
Трубчастий	100
Рулонний	1 000
Трубчастий з порожними волокнами	30 000

На рис. 8.35-8.37. показані схема роботи установки динамічної тангенціальної ультрафільтрації, її загальний вигляд та апаратурна схема.

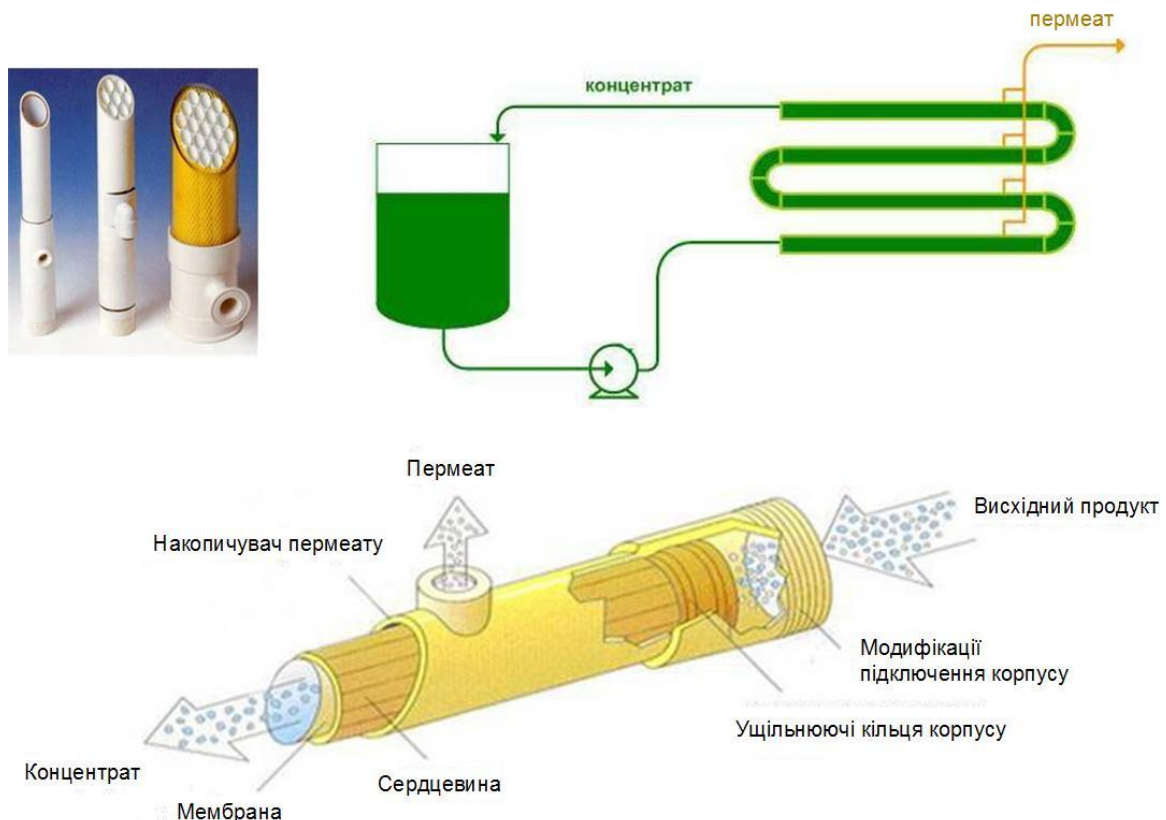


Рис.8.35. Схема роботи трубчастого ультрафільтраційного модуля

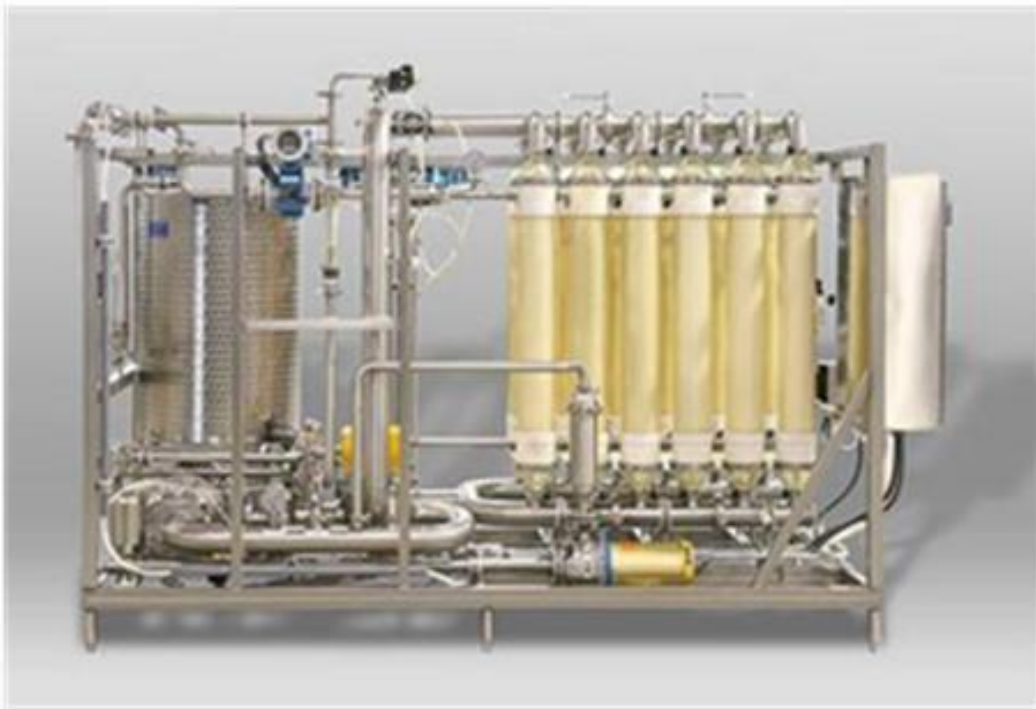


Рис.8.36. Загальний вигляд ультрафільтраційної установки

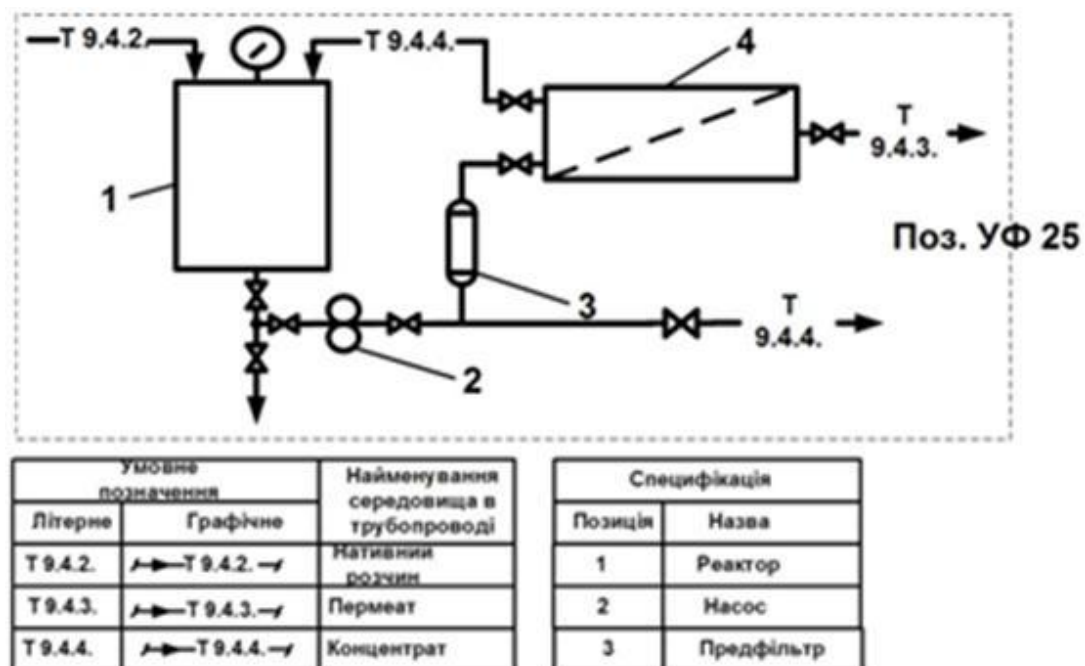


Рис.8.37. Апаратурна схема ультрафільтраційної установки

Зворотній осмос. Якщо розчин деякої речовини відокремлений від чистого розчинника напівпроникною перегородкою (мембраною), то при рівності тиску з обох боків відбувається дифузія чистого розчинника в розчин. Рушійною силою цього процесу є градієнт концентрації, оскільки концентрація розчинника в розчині завжди нижча. Цей процес називають *осмосом*, а його рушійну силу –*осмотичним тиском*. Осмотичний тиск

чисельно рівний зовнішньому тиску, який необхідно прикласти до розчину, щоб процес дифузії через мембрану припинився (точніше, досяг динамічної рівноваги). Якщо до розчину прикласти тиск вище осмотичного, то дифузія молекул розчинника відбуватиметься у протилежному напрямку – з розчину в чистий розчинник. Процес, що супроводжується концентрацією розчину, отримав назву *зворотного осмосу*.

Процес зворотного осмосу принципово аналогічний ультрафільтрації і відрізняється лише тим, що для нього використовують мембрани з порами меншого розміру (до 0,001 мкм) і вищий тиск (7...8 МПа замість 0,3...1 МПа). За допомогою зворотного осмосу зазвичай концентрують розчини низькомолекулярних речовин, що характеризуються високим осмотичним тиском. Зворотний осмос застосовують також для отримання чистого розчинника (наприклад, очищеної води у фармацевтичній промисловості)

Устаткування, що використовується для проведення зворотного осмосу, подібно до установок для ультрафільтрації.

8.4.6. Хроматографія

Хроматографія – це метод розділення та визначення речовин, заснований на розподілі компонентів між двома фазами: рухливою та нерухливою. *Нерухливою* (стаціонарною) фазою служить тверда пориста речовина, що називають сорбентом або плівка рідини, нанесена на тверду речовину. *Рухлива* фаза являє собою рідину або газ, що протікає через нерухливу фазу (іноді під тиском).

Компоненти аналізованої суміші (сорбати) разом з рухливою фазою пересуваються уздовж стаціонарної фази. Нерухливу фазу зазвичай поміщають у трубку, яка має назву хроматографічна колона (колонка). Залежно від сили взаємодії з поверхнею сорбенту (завдяки адсорбції або будь-якому іншому механізму) компоненти будуть пересуватися уздовж колонки з різною швидкістю. Одні компоненти залишаться у верхньому шарі сорбенту, інші, які характеризуються меншим ступенем взаємодії з сорбентом, виявляться в нижній частині колонки, а деякі і зовсім залишать колонку разом з рухливою фазою (такі компоненти називаються неутримані, а час їхнього утримання визначає так званий «мертвий час» колонки). У такий спосіб відбувається швидке розподілення складних сумішей компонентів.

Варто підкреслити наступні переваги хроматографічних методів:

1. Розподіл носить динамічний характер, причому акти сорбції-десорбції поділюваних компонентів повторюються багаторазово. Цим обумовлена значно більша ефективність хроматографічного розподілу порівняно зі статичними методами сорбції та екстракції.

2. При розподілі використовують різні типи взаємодії сорбатів і нерухливої фази: від чисто фізичних до хемосорбційних. Це спричиняє можливість селективного розподілу широкого кола речовин.

3. На поділювані речовини можна накладати різні додаткові поля

(гравітаційне, електричне, магнітне тощо), які, змінюючи умови розподілу, розширюють можливості хроматографії.

4. Хроматографія – гібридний метод, що поєднує одночасний розподіл і визначення декількох компонентів.

5. Хроматографія дозволяє вирішувати як аналітичні завдання (розділення, ідентифікація, визначення), так і препаративні (очищення, виділення, концентрування). Рішення цих завдань можна поєднувати, виконуючи їх у режимі «*on line*».

Численні методи хроматографії класифікують за агрегатним станом фаз, механізмом розподілу та техніки проведення розподілу. Зокрема, за способом проведення процесу хроматографічні методи розподілу розрізняються на *фронтальний*, *витиснювальний* і *елюентний*.

Для вирішення аналітичних завдань використовується *елюентний метод*, він має наступні переваги:

- дає найбільш повний розподіл, оскільки зони сорбатів розділені зонами елюента;

- сорбент безупинно регенерується;

- параметри утримання добре відтворювані.

Елюентна хроматограма, що є залежністю сигналу приладу (вісь ординат) від часу або об'єму рухливої фази (вісь абсцис), являє собою сукупність піків поділюваних компонентів. Зазвичай окремий пік являє собою гаусову криву. Типова хроматограма наведена на рис. 8.38.

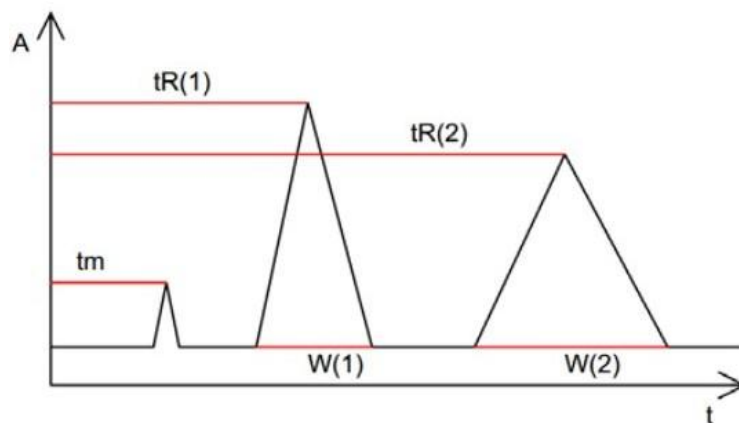


Рис.8.38. Хроматограма суміші двох речовин

Розглянемо надалі **принципи та стандартні умови проведення хроматографічного очищення білків.**

Іонообмінна хроматографія (ІОХ) являє собою метод, що дозволяє розділяти іони та полярні молекули на основі їхнього заряду. Вона може бути використана для розподілу практично будь-яких заряджених молекул, у тому числі великих білків, невеликих нуклеотидів і амінокислот. Взаємодія зразка та сорбенту заснована на оборотній кулонівській взаємодії. Сорбент має на поверхні іонні функціональні групи, які взаємодіють із іонами аналіта протилежного заряду. Вид хроматографії, за якої негативно заряджені групи

сорбенту зв'язують позитивно заряджений аналіт, називається *катіонообміною*. Якщо для зв'язування негативно зарядженого аналіта використовують позитивно заряджений сорбент, то говорять про *аніонообмінну* хроматографію. У процесі вибору виду іонообмінної хроматографії керуються ізоелектричною крапкою білка pI (якщо вона відома), при значенні pH вище pI білок здобуває негативний заряд, якщо нижче, то позитивний.

Білки мають численні функціональні групи, які можуть мати як позитивні, так і негативні заряди. Під час іонообмінної хроматографії білки розділяються відповідно до їхнього сумарного заряду. Розподіл здійснюється зміною pH або концентрації іонів рухливої фази. Зміни вносять поетапно або безперервним градієнтом. Частіше всього зразки елюють градієнтом солі ($NaCl$).

Наприклад, якщо білок має негативний заряд при $pH=7$, то він буде зв'язуватися з позитивно зарядженим сорбентом, у той час як позитивно заряджені білки будуть змиті потоком елюєнта (елюйовані). При зниженні pH білок буде набувати зростаючий позитивний заряд і, зрештою, також буде елюйований, що дасть пік УФ поглинання на детекторі хроматографа. Схема дії іонообмінної хроматографії показана на рис.8.39.

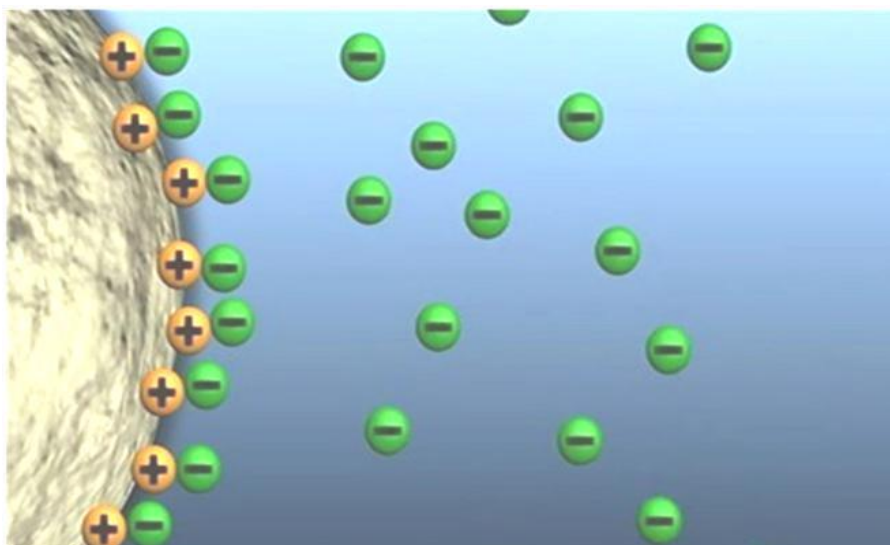


Рис.8.39. Схема дії іонообмінної хроматографії

Гідрофобна хроматографія (ГХ) являє собою метод розподілу, заснований на такій властивості білків, як гідрофобність. Білки, що містять гідрофобні амінокислоти на поверхні, можуть оборотно зв'язуватися з гідрофобними групами сорбенту (феніл, октил, бутіл й ін.). Зразок у буфері з високою іонною силою (наприклад, 1,5 М сульфату амонію) зв'язується із сорбентом. Ця взаємодія підсилюється за рахунок високої іонної сили буфера, тому ГХ ідеальний «наступний крок» після осадження білка сульфатом амонію або елюювання сіллю під час ІОХ. В обох випадках у зразку присутня висока концентрація солі, і він може бути розділений за

допомогою ГХ без додаткової підготовки. Після зв'язування із сорбентом умови змінюються так, що речовини по черзі вимиваються. Елюювання зазвичай здійснюється зменшенням концентрації солі. Зміни вносять поетапним або безперервним зменшенням сольового градієнта. Інші види елюції такі, як градієнт етилен гліколя, додавання денатуруючих агентів (сечовина, гуанідін хлорид й ін.) і детергентів або зміна рН і температури так само можуть бути застосовані.

Сорбенти для гідрофобної хроматографії складаються з ліганда, що містить алкільні або арільні групи, що пов'язаний з інертною матрицею сферичної форми. Матриця містить пори для збільшення внутрішньої поверхні. Схема дії гідрофобної хроматографії показана на рис.8.40.

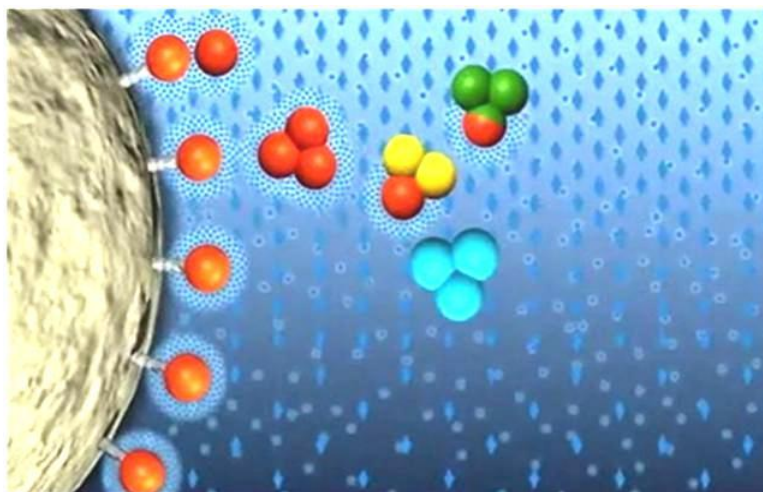


Рис.8.40. Схема дії гідрофобної хроматографії

Гель-фільтрація (ГФ) або ексклюзійна хроматографія (ситова, гель-проникаюча, гель-фільтраційна хроматографія) являє собою метод розподілу молекул відповідно до їх розміру. На відміну від іонообмінної і афінної хроматографії молекули зразка не зв'язуються із сорбентом, таким чином, сполука буфера не впливає на роздільну здатність (відстань між піками) методу.

Отже, важливою перевагою ГФ є те, що умови середовища можуть бути змінені відповідно до типу зразка або вимог для подальших кроків очищення та зберігання. ГФ добре придатна для біомолекул, які чутливі до змін рН, концентрації іонів металів, кофакторів й інших умов середовища. Розподіл може бути виконаний за присутності необхідних іонів, кофакторів, детергентів, сечовини, гуанідін гідрохлориду, за високої або низької іонної сили, при 37°C або на холоді, відповідно до вимог експерименту.

Перехід молекул речовини з рухливої фази в нерухливу та навпаки за рахунок дифузії нічим не ускладнений. Інша ситуація складається усередині гранул сорбенту. Тут дифузія більш-менш ускладнюється через зіткнення молекул речовини, що дифундує, з нитками просторової сітки полімеру або стінками пор.

Якщо розміри молекул зрівнянні із середнім діаметром каналів у гранулах, то ці ускладнення стають досить істотними та дифузія гальмується.

Може скластися таке становище, коли частина внутрішнього об'єму гранул, тобто частина об'єму нерухливої фази (а іноді та весь цей об'єм), виявляється недоступним для молекул речовини, розчиненої в рухливій фазі. Розходження ступеня доступності об'єму нерухливої фази для молекул різних компонентів вихідної суміші речовин є чинником, що визначає можливість їхнього фракціонування. Вочевидь, воно буде відбуватися згідно розмірів молекул. Великі молекули, які зовсім не здатні проникнути усередину гранул, будуть виходити з колонки першими. У той же час дрібні молекули, що вільно дифундують усередину гранул, частина часу будуть перебувати в нерухливій фазі. Таким чином, всі дрібні молекули вийдуть з колонки більш-менш одночасно та значно пізніше, ніж великі. Зрозуміло, що розміри молекул пов'язані з їхніми масами, але аж ніяк не цілком ними визначаються. Це особливо важливо враховувати у випадку макромолекул, розміри яких можуть істотно залежати від щільності упакування поліпептидного або полінуклеотидного ланцюгів. В обмеженні швидкості дифузії через просторову сітку пор всередині гранул чималу роль може відігравати форма молекули. Очевидно, що сферична глобула буде дифундувати інакше, ніж молекула такого ж об'єму, але витягнута у вигляді палички. Схематичне зображення взаємодії кульки сорбента із білками представлена на рис.8.41.

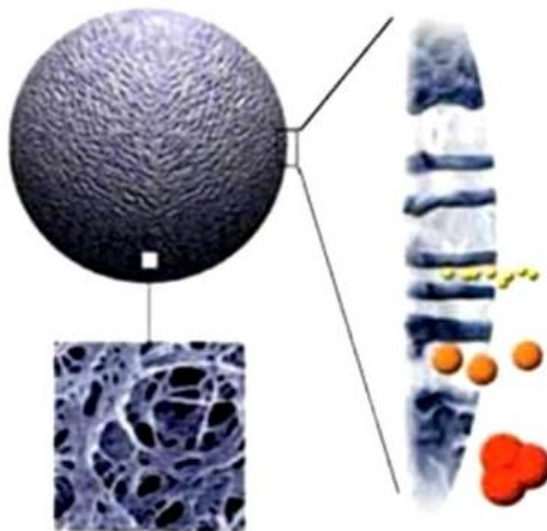


Рис. 8.41. Схематичне зображення кульки сорбента та його електронне наближення

Гель-фільтрація використовується для порівняльного визначення молекулярних мас, на завершальному етапі очищення, для знесолення або швидкої зміни буфера. Схема дії гель-фільтраційної хроматографії показана на рис. 8.42.

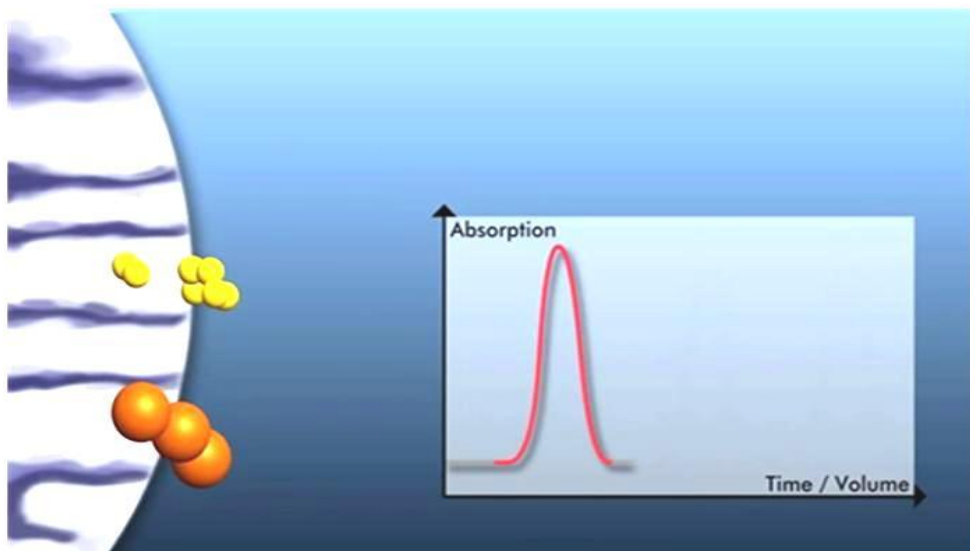


Рис. 8.42. Схема дії гель-фільтраційної хроматографії

Афінна хроматографія (АХ) являє собою метод розподілу біологічних молекул, що заснована на специфічних взаємодіях між білком (або білковим компонентом) і специфічним лігандом, пов'язаним із матрицею. Цей метод характеризується високою селективністю і, отже, забезпечує високу розподільчу здатність, а сама речовина може бути очищена в кілька тисяч разів. Афінна хроматографія є унікальною технологією очищення, оскільки тільки вона дозволяє очистити біомолекули на основі їхніх біологічних функцій або хімічної структури. Очищення білків, яке було б надзвичайно складним або зовсім неможливим з використанням інших методів, можливе завдяки АХ.

Біологічна взаємодія між лігандом і молекулою-мішенню може бути результатом утворення водневих зв'язків, електростатичної, Ван-дер-Ваальсівської або гідрофобної взаємодії. Елюція здійснюється або специфічно – з використанням конкурентного ліганда, або неспецифічно – шляхом зміни рН, іонної сили або полярності. Один цикл афінного очищення дає величезну економію часу порівняно з менш селективними багатоступінчастими процедурами.

Успішне афінне очищення вимагає біоспецифічного ліганда, що може бути ковалентно пов'язаний із хроматографічною матрицею. До ліганду висуваються дві вимоги: по-перше, він повинен зберегти свою спорідненість після вимивання матеріалу, що не зв'язується, по-друге, зв'язок між лігандом і молекулою-мішенню повинен бути оборотним, щоб цільова речовина могла бути вилучена в активній формі. Деякі типові біологічні взаємодії, що часто використовуються в АХ, представлені нижче:

- фермент - субстрат, інгібітор, кофактор;
- антитіло - антиген, вірус, клітина;
- лектин - полісахарид, глікопротеїн, рецептор на клітинній поверхні, клітина;

- нуклеїнові кислоти - комплементарні послідовності, гістони, ДНК або РНК полімерази, білки, що зв'язують нуклеїнові кислоти;
- гормон, вітамін - рецептор, білок-переносник;
- глутатіон - глутатіон-S-трансфераза або пов'язаний з нею протеїн;
- іони металів - білки з полігістидіновим тегом, білки із цистеїновими та або тріптофановими залишками на поверхні.

8.5. Методи отримання сухих БАР: класифікація сушарок, конструктивні особливості типового обладнання

Після різноманітних етапів оброблення культуральних рідин, нативних розчинів та біомас одержують рідкі концентрати ферментів, антибіотиків, органічних кислот, інших біологічно активних сполук, а також концентрати живих вакцин та вологі біошроти. Матеріали такого типу є термолабільними: в умовах підвищених температур вони легко втрачають фрагменти атомарної структури або змінюють просторову конфігурацію, і відтак свою біологічно активну цінність. Залишати ж одержані матеріали довго неможливо, оскільки іноді вже через декілька годин починаються незворотні процеси хімічного та біологічного розкладу одержаних продуктів. З метою збереження та отримання готового продукту використовують процес сушіння.

Сушіння – це процес видалення вологи з вологого матеріалу. Сушіння є кінцевою стадією виробництва багатьох продуктів мікробного синтезу, іноді її застосовують як проміжний процес при отриманні високоочищених препаратів.

Для сушіння біологічних об'єктів застосовують різноманітні способи і установки. Вони розрізняються за агрегатним станом вологи у висушуваному матеріалі (сушіння з рідкого стану або з твердого), а також за способом підведення теплоти (контактна, конвективна і радіаційна).

Вибір способу сушіння залежить від виду початкового матеріалу (концентрований розчин, паста, суспензія), його вологості, термостабільності тощо. Найбільші труднощі зазвичай виникають під час висушування живих мікроорганізмів у виробництві бактерійних препаратів і сухих дріжджів, ферментів, деяких антибіотиків й інших термолабільних препаратів.

Основним методом сушіння продуктів мікробного синтезу є теплове при атмосферному тиску, під вакуумом або під глибоким вакуумом при температурах в інтервалі від -30 до +60°C. Можливе сушіння в електромагнітному полі, але внаслідок високої вартості установок для діелектричного нагрівання для зневоднювання продуктів мікробного синтезу майже не використовують. Сьогодні для сушіння вказаних продуктів найширше використовують сушарки, принцип дії яких ґрунтується на *конвективному* методі підведення тепла (пневматичні, аерофонтанні, з киплячим шаром, розпилювальні). Передача тепла здійснюється за допомогою гарячого повітря, інертних, топкових газів. Рушійною силою процесу є різниця температур сушильного агента і поверхні матеріалу. Найкращими серед конвективних апаратів треба вважати такі, які дозволяють проводити

сушіння протягом декількох секунд.

При *контактній сушці* матеріал нагрівається в результаті безпосереднього зіткнення з гарячими поверхнями (плитами, вальцями і т. п.). На цьому принципі засновані шафові і вальцові сушарки. Проте вони малопридатні для сушки термолабільних препаратів і мають ряд недоліків.

При *радіаційній сушці* теплота передається від нагрітого джерела до висушуваного матеріалу за допомогою інфрачервоного випромінювання. Цей метод застосовується при сушці і сублімації деяких мікробних препаратів.

В процесі *конвективної сушки* теплота підводиться до висушуваного матеріалу за допомогою газоподібного сушильного агента-теплоносія, який служить і для відведення вологи, що випаровується. Цей метод найширше застосовується в біотехнології і покладений в основу роботи розпилюючих, пневматичних, аерофонтанних сушарок і сушарок з киплячим шаром.

Оскільки найпридатнішим для процесів сушіння у біотехнології є процеси конвективного висушування, зупинимось на них докладніше.

Сушильним агентом при конвективному сушінні можуть бути повітря, топкові гази, а в окремих випадках – інертний газ. Інтенсивність сушіння визначається швидкістю теплообміну між сушильним агентом і висушуваним матеріалом, яка залежить від коефіцієнта теплообміну, різниці температур (рушійної сили процесу теплопередачі) і поверхні контакту. Кількість теплоти, що передається висушуваному матеріалу в одиницю часу (у Вт):

$$Q = \alpha(t_c - t_n)F, \quad (8.24)$$

де α – коефіцієнт теплообміну, Вт/(м²·К); t_c і t_n – температури сушильного агента і поверхні матеріалу, С°; F – площа поверхні висушуваного матеріалу, м².

Як можна побачити з рівняння, для підвищення швидкості теплопередачі і, отже, інтенсивності процесу сушіння необхідно прагнути збільшити коефіцієнт теплообміну і поверхню висушуваного матеріалу. Перше досягається, в основному, шляхом створення відповідного аеродинамічного режиму в сушильній установці, друге – подрібненням матеріалу. Можливості підвищення температури сушильного агента, як правило, обмежені термочутливістю препарату.

8.5.1. Пневматичні сушарки

Найбільш простим сушильним апаратом, дія якого заснована на конвективному теплопереносі, є пневматична сушарка (рис.8.43). Повітря, підігріте в калорифері разом з вологим матеріалом, що подається через живильник, поступає у сушильну трубу. Сухі частки препарату відокремлюються від повітря в циклоні, а відпрацьоване повітря подається на додаткове очищення у фільтрі. Пневматичні сушарки застосовуються,

зокрема, у виробництві деяких антибіотиків.

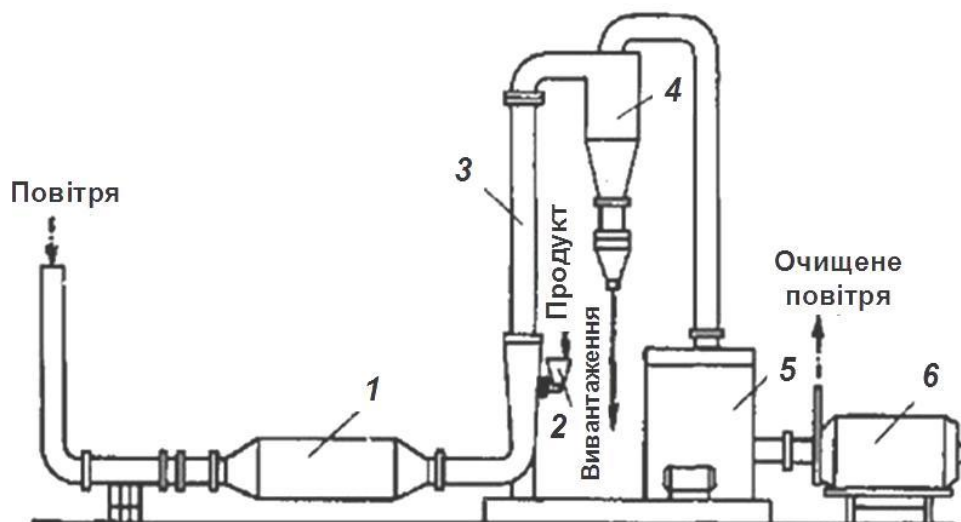


Рис.8.43. Схема пневматичної сушарки: 1 – калорифер; 2 – живильник; 3 – сушильна труба; 4 – циклон-відокремлювач; 5 – фільтр; 6 – вентилятор

Для висушування пастоподібних, сипких і рідких матеріалів використовують сушарки з киплячим шаром, в яких забезпечуються висока інтенсивність тепло- і масообміну, безперервність процесу. На рис. 8.44. зображена установка для сушіння кормового концентрату лізину в суміші з висівками.

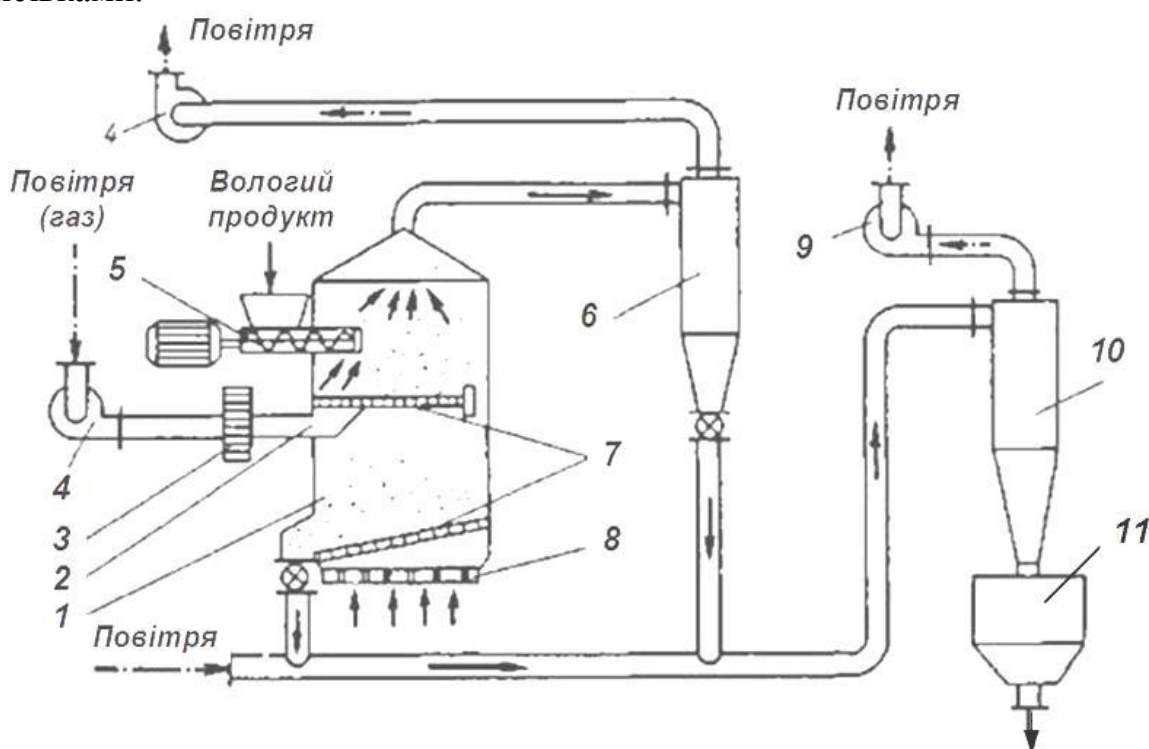


Рис.8.44. Схема сушарки з «киплячим» шаром: 1 – сушильна камера; 2 – газвід; 3, 8 – калорифери; 4, 9 – вентилятори; 5 – гранулятор; 7 – сітки; 6, 10 – циклони; 11 – приймальний бункер.

Сушарка складається з двох камер, розділених подвійною сіткою; дном нижньої камери також служить подвійна сітка. Суміш рідкого концентрату лізину з висівками подається в гранулятор і у вигляді тонких ниток витискається у камеру сушарки. Під дією потоку гарячого повітря частинки пасти відриваються від гранулятора і підсушуються.

Потік нагрітого повітря проходить через сітки першої і другої камер з швидкістю, що забезпечує підтримання гранул у завислому стані і мінімальне винесення частинок з сушарки з відпрацьованим повітрям.

Сушіння гранул в киплячому шарі відбувається спочатку на верхньому, а потім на нижньому ярусі сушарки. Висушені гранули через шлюзовий затвір вивантажуються з апарату і пневмотранспортом подаються до приймального бункера.

8.5.2. Розпилювальні сушарки

Розпилювальні сушарки найширше застосовують для сушіння продуктів мікробного синтезу, оскільки саме вони забезпечують найшвидше сушіння, не потребують точного забезпечення і витримки потоку теплоносія, температура якого може бути порівняно невисокою.

Сушарки цього типу почали застосовувати ще на початку ХХ століття для сушіння молока, крові. Завдяки високій ефективності сьогодні їх застосовують для сушіння будь-яких розчинів, у тому числі розчинів мінеральних солей.

Схема розпилювальної сушарки представлена на рис. 8.45. Основа апарату – циліндричний корпус 1. Днище корпусу може бути конічним (як показано на схемі) або плоским. В останньому випадку висушений матеріал виводиться разом з відпрацьованим повітрям і відокремлюється від нього у потужних циклонах. Через центр кришки корпусу 1 проходить вал електродвигуна. На кінці валу закріплений диск 2 діаметром 100... 400 мм зі спеціальним рельєфом. Диск обертається зі швидкістю 5...40 тис. обертів/хв. Для досягнення такої швидкості між диском та валом встановлюють редуктор, що підвищує швидкість обертання валу електродвигуна. Іноді для обертання валу використовують парову турбінку. Концентрат, що підлягає висушуванню, безперервно подається в апарат через верхній отвір кришки корпусу 1 на диск 2.

Після надходження потоку концентрату до центра диску під дією відцентрової сили рідина заповнює канали рельєфу диска, мікропотоки рухаються до його периферії, зриваються з краю диска і надходять у верхню частину камери у вигляді мікрокрапель. За допомогою дисків можна розпилювати не тільки чисті рідини, але й пасти. Для диспергування рідини використовують також форсунки, роботу яких забезпечують стиснене повітря або пара. Використання форсунок спрощує розпилювання матеріалу, але вимагає відсутності в рідині будь-яких механічних домішок.

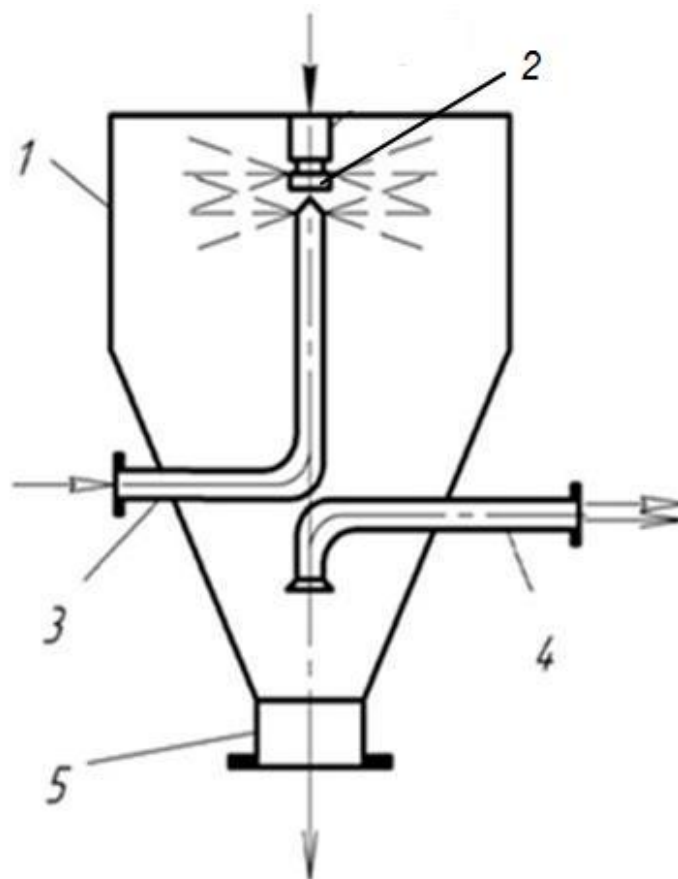


Рис. 8.45. Схема розпилювальної сушарки: 1 – корпус; 2 – розпилювальний пристрій (диск); 3 – введення теплоносія; 4 – відпрацьований теплоносій із залишками сухого продукту; 5 – відведення сухого продукту.

Розпилювальні сушарки з відцентровими дисками називають сушарками Краузе, а з форсунками – сушарками системи «Siccaton».

Одночасно знизу під диск подають потік гарячого газового сушильного агента 3 (повітря, азот, топкові гази, наприклад, продукти згоряння природного газу). Подача газу може бути здійснена і зверху над диском. Вибір способу подачі сушильного агента зумовлений схемою процесу: прямотечією або протитечією. Якщо подачу здійснювати зверху, то сушіння буде організовано прямотечією. Такий метод менш інтенсивний, ніж протитечією, але це сприяє м'якшому режиму сушіння. Попереднє нагрівання агента здійснюють у калориферах, які в свою чергу, обігріваються електроенергією, природним газом або парою. Топкові гази самі по собі мають достатньо високу температуру і не потребують додаткового нагрівання, вони хімічно інертні до матеріалу, що висушується, але можуть забруднити кінцевий продукт.

Після контакту сушильного агента з мікрокрапельками вологого матеріалу відбувається майже миттєве випаровування води, але температура на поверхні матеріалу дорівнює температурі мокрого термометра і ніколи не досягає температури теплоносія. Оскільки перегрівання матеріалу не

відбувається, то ця властивість є особливо привабливою для сушіння термолабільних матеріалів.

Аерозоль, що утворився, рухається до виходу з апарату. Оскільки швидкість аерозолі є малою, регламентується і регулюється, частина висушеного матеріалу седиментує і накопичується в конічній частині апарату 5, а решта (близько 20%) виноситься з відпрацьованим газом 4 у циклони. Зазвичай концентрація твердих частинок в аерозолі становить 2...4 г/м³. Відокремлений від відпрацьованого повітря у циклонах матеріал повертають в сушарку або змішують з основною масою поза сушаркою.

Іноді потрібно висушити матеріал, що містить незначну кількість сухих речовин. Під час сушіння таких матеріалів утворюється і незначна кількість порошкоподібного матеріалу, який може «зависнути» на стінках апарату. Для попередження цього явища деякі сушарки споряджають пристроями, які утворюють біля стінок апаратів повітряні подушки, які не дають можливості осісти порошку на цих стінках. Для попередження осідання порошоків на стінках сушарки в концентраті попередньо розчиняють інертні наповнювачі, доводячи вміст сухих речовин до 13...18%. Практика попереднього розчинення наповнювачів поширена при сушінні ферментних препаратів, оскільки ці наповнювачі не тільки полегшують технологію сушіння, але й виконують функції стабілізаторів кінцевої продукції. Так, наприклад, перед сушінням у концентрованому і охолодженому розчині лужної протеази розчиняють хлорид кальцію. Таке попереднє оброблення концентратів називають *рідинною стандартизацією*.

Згідно з ГОСТ 18906-80 умовне позначення стандартної розпилювальної сушарки складається з декількох букв та цифр. Перша буква – джерело теплової енергії (П – пара, Ж – рідке паливо, Е – електроенергія, Г – газ); друга буква – позначення сушильного агента (В – повітря, Т – топкові гази); перша цифра – максимальна температура теплоносія (3 – до 300°C, 5 – до 500°C, 6 – до 600°C); друга цифра після дефісу – номер моделі; подальші дві букви – тип сушарки (РЦ – сушарка з відцентровим диском, РФ – з форсунковим розпилюванням); цифра після букв – діаметр камери, м; наступна цифра після дефісу – об'єм камери, м³; наступна буква – виконання за вибухозахищеністю (В – вибухозахищена, Н – невибухозахищена); наступна буква – матеріал сушарки, наприклад, К – корозійно стійка сталь; наступна цифра – місце газопідведення (11 – нижнє газопідведення, 21 – верхнє).

В літературі зустрічаються умовні позначення сушарок за старою класифікацією згідно із РТМ-26-01-78-76, наприклад, тип СРЦ-ВК-1,2/0,9 означає сушарку з відцентровим дисковим розпилюванням, з верхнім газопідведенням, з конічним днищем, діаметром 1,2 м і об'ємом 0,9 м³.

Розпилювальні сушарки є досить складними і небезпечними апаратами, оскільки усередині може утворитись вибухонебезпечна суміш органічного пилу і повітря. Тому їх роботу намагаються автоматизувати, використовувати інертні гази, розташовувати їх поза цехом на відкритому

повітрі. Автоматизація до того ж дозволяє інтенсифікувати процес, підвищувати якість продукції, скоротити питомі витрати палива.

Характеристики розпилювальних сушарок подано нижче в таблиці 8.7.

Таблиця 8.7.

Характеристики розпилювальних сушарок типу СРЦ

Тип	Висота цилінд ричної частини, мм	Маса, кг		
		НК нижнє підведення повітря, конічне днище	ВК верхнє підведення повітря конічне днище	ВП верхнє підведення повітря плоске днище
СРЦ-1,2/0,9	800	-	700	-
СРЦ-2,5/9	2000	-	6000	-
СРЦ-2,5/15	3000	-	7500	-
СРЦ-3,2/16	2000	-	9000	8500
СРЦ-3,2/24	3000	-	10000	9500
СРЦ-3,2/30	4000	-	11000	10500
СРЦ-4/40	3000	12500	-	12000
СРЦ-4/50	4000	13700	-	13000
СРЦ-4/60	5000	14900	-	14000
СРЦ-5/80	4000	21500	-	20000
СРЦ-5/100	5000	23500	-	21000
СРЦ-5/120	6000	24500	-	22500
СРЦ-6,5/135	4000	26000	-	24000
СРЦ-6,5/170	5000	27500	-	25000
СРЦ-6,5/200	6000	29000	-	27500
СРЦ-8/300	6000	38000	-	36000
СРЦ-8/350	7000	40000	-	37500
СРЦ-8/400	8000	40000	-	39000
СРЦ-10/550	7000	62000	-	61000
СРЦ-10/785	10000	65000	-	63000
СРЦ-12,5/1100	9000	70000	-	67000
СРЦ-12,5/1500	12000	80000	-	77000

Загальний вигляд сушарки розпилювального типу показано на рис.8.46.

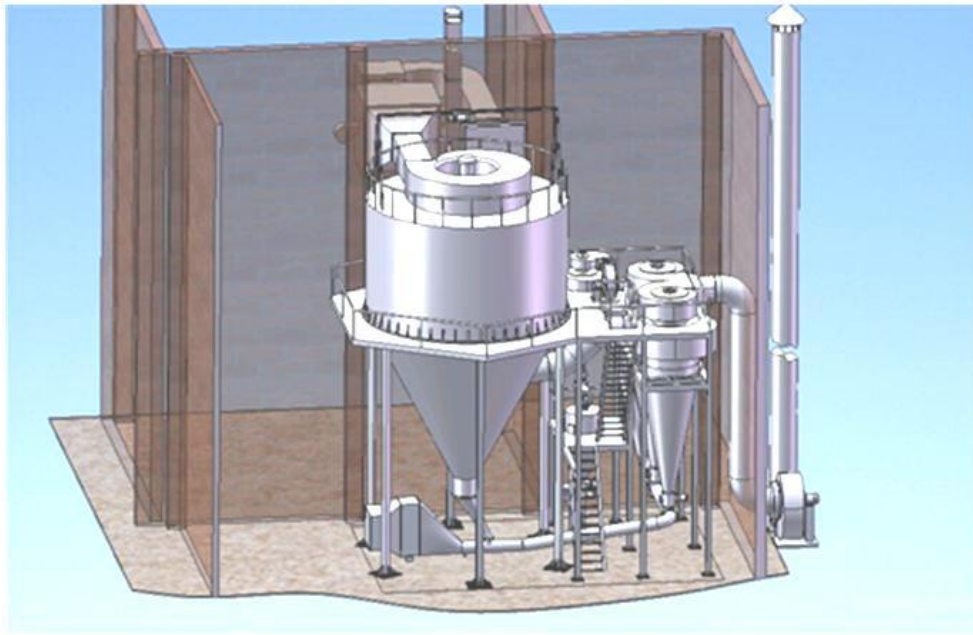


Рис. 8.46. Загальний вигляд сушарки розпилювального типу з верхньою подачею сушильного агента.

8.5.3. Сублімаційні сушарки

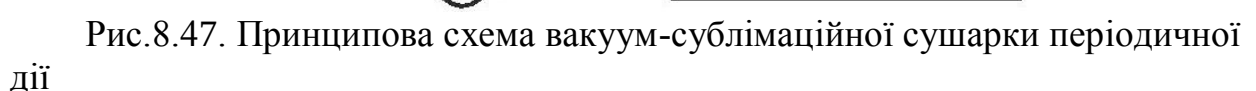
Сушіння сублімацією або ліофільне висушування – один з найефективніших способів зневоднення живої біомаси дріжджів, бактерійних препаратів та інших термолабільних біологічних об'єктів.

При 0°C колоїдна система матеріалів, у тому числі їх волога, замерзає і надалі відбувається процес сублімації, тобто випаровування твердого тіла без його розплавлення, тобто з твердого агрегатного стану вода переходить у пароподібний, проминувши рідку фазу. За такого способу сушіння молекулярна структура матеріалу зберігається майже без змін і висушений матеріал характеризується доброю дисперсністю і пористістю, тим часом як за звичайного сушіння відбувається значне зменшення об'єму матеріалу.

На рис. 8.47 наведено принципову схему вакуум-сублімаційної установки періодичної дії.

У сублімаційній камері 1 розташовані плити 2, на які встановлені кювети 3. В кювети наливають розчин або суспензію, які підлягають сушінню. Деякі технології передбачають попереднє заморожування матеріалу, який у вже подрібненому стані завантажують в кювети.

Камеру герметизують, вмикають холодильну машину ХМ-1, яка прокачує холодоносійкрізь плити 2. Розчин перетворюється в льодяний шар. Розсіл від холодильної машини спрямовують у змійовик, занурений у рідину в ємності 7 (на схемі лінії сполучення і змійовик не показано) з метою охолодження цього розсолу до потрібної температури, яка вище температури сублімації. Сублімаційну камеру з'єднують з конденсатором 5, у якому розташований змійовик або інший теплообмінний пристрій з розвиненою поверхнею 4. Від холодильної машини ХМ-2 у змійовик починають



У деяких, доволі поширених, конструкціях як джерела тепла для сублімації використовують плити з електрообігріванням. Тепло передається радіаційно в діапазоні інфрачервоних електромагнітних хвиль.

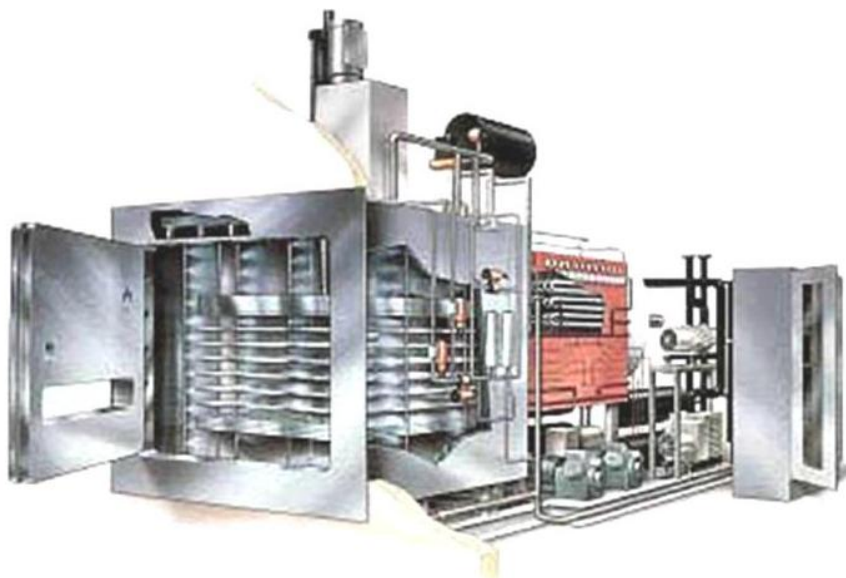


Рис.8.48.Загальний вигляд промислової сублімаційної сушарки

Типи сублімаційних сушарок (ліофілізаторів) із системою СІР наведено в таблиці 8.8.

Фармацевтичні ліофілізатори GLZY-B (CIP)

Таблица 8.8.

Параметри		Од. виміру	Тип ліофілізатору							
			10	13	15	20	25	30	40	50
Ефективна площа полиці		м ²	9,72	12,96	16,1	19,67	25,0	31,5	42	51,0
Ємкість конденсатора		кг	200	260	320	400	500	600	800	1000
Кількість ампул	Ø 16мм	од.	38950	51250	65600	83160	102500	118900	164000	205000
	Ø 22мм	од.	19950	26250	33600	42900	52500	60900	84000	105000
Ємкість піддону для рідини		л	200	260	300	400	500	600	800	1000
Розміри полиці	Ширина	мм	900	1200	1200	1200	1200	1490	1490	1490
	Довжина	мм	1200	1200	1490	1490	1490	1490	1990	1990
Відстань між полицями		мм	100				90			
Кількість полиць		ярус	9+1	9+1	9+1	11+1	14+1	14+1	14+1	17+1

Все більшого поширення набувають сублімаційні сушарки безперервної дії, основним робочим органом в яких служать стрічкові конвеєри.

Як показали розрахунки і експлуатація, сушіння сублімацією за теплоенергетичними показниками приблизно рівноцінне сушінню за умов атмосферного тиску, хоча витрати на побудову сушарки значно вищі.

8.5.4. Вакуум-сушильні шафи

Як і сублімаційні сушарки, вакуум-сушильні шафи призначені для сушіння термолабільних продуктів, але процес відбувається за кімнатної або підвищеної температури, яку витримує матеріал, наприклад, деякі види антибіотиків.

Сушіння відбувається періодично, тобто у шафу на полиці закладають вологий матеріал, створюють вакуум, починають обігрівання шафи паром через порожнини в плитах або електричним струмом. Процес закінчують, коли матеріал матиме певну залишкову вологість, після чого готовий сухий матеріал вивантажують. На рис. 8.49 зображений схематичний вид вакуум-сушильної камери. Ці апарати призначені для сушіння порівняно невеликих кількостей вологого матеріалу.

Характеристики стандартних вакуум-сушильних шаф, нагрівання яких здійснюють паром під тиском 0,4 МПа, наведено в табл. 8.9.

У малотоннажних виробництвах поширення набуло використання лабораторних вакуум-сушильних шаф.

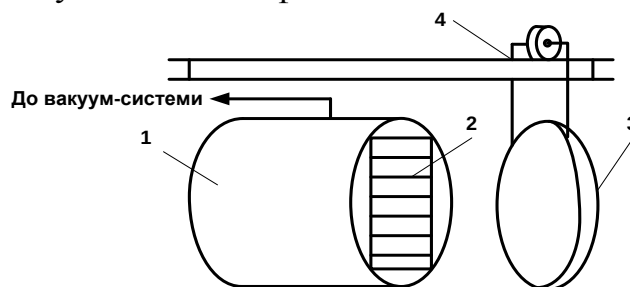


Рис. 8.49 Схема вакуум-сушильної шафи

Таблиця 8.9.

Індекс апарату	ШВС-4,5 ШВС-4,5К*	ШВС-16 ШВС-16К	ШВС-33 ШВС-33К
Поверхня завантаження, м ²	4,5	16	33
Залишковий тиск до, Па	2700	10270	5330
Габарити	1185×1410×2050	1800×1710×2270	2600×2820×2740

* - буква К означає, що апарат виготовлений з нержавіючої сталі.

Запитання для самоперевірки

1. Які товарні форми продуктів мікробіологічного синтезу існують?
2. Зазначте основні методи дезінтеграції біомаси.
3. Дайте характеристику методів розділення фаз культуральної рідини.
4. Охарактеризуйте відомі методи виділення БАР з нативних розчинів.
5. Які нині існують методи концентрування нативних розчинів?
6. Дайте характеристику мембранним методам розділення та концентрування БАР з нативних розчинів.
7. В чому полягає сутність хроматографії?
8. Охарактеризуйте види хроматографічного виділення і очищення БАР.

9. Охарактеризуйте процес сушіння: наведіть визначення, зазначте параметри, види, конструкції сушарок.
10. Що є рушійною силою процесу сушіння?
11. Чому у процесі сушіння продуктів мікробного синтезу використовують вакуум та низькі температури?
12. Охарактеризуйте принцип дії розпилювальної сушарки.
13. Зазначте сутність сублімаційного висушування продуктів.
14. У чому полягає принцип дії вакуум-сушільної установки?

Список літератури до розділу 8

1. Буценко, Л.М. Технології мікробного синтезу лікарських засобів: навч. посібник / Л.М. Буценко, Ю.М. Пенчук, Т.П. Пирог. – К. :НУХТ, 2010. – 323 с.
2. Сидоров, Ю.І. Процеси і апарати мікробіологічної та фармацевтичної промисловості. Технологічні розрахунки. Приклади і задачі. Основи проектування: Навч. посібник. /Ю.І. Сидоров, Р.Й. Влязло, В.П. Новіков - Львів: «Інтелект-Захід», 2008.- 736 с.
3. Стасевич, М.В. Обладнання технологічних процесів фармацевтичних та біотехнологічних виробництв:навч. Посібник для вищ навч. заклад./ М.В. Стасевич, А.О. Милянйч, І.О. Гузьова [та ін.]; за ред. В.П.Новікова. – Вінниця: Нова Книга, 2012. – 408 с.

РОЗДІЛ 9. НОРМАТИВНА БАЗА ПРОЄКТУВАННЯ БУДІВНИЦТВА. ОСНОВНІ ПРИНЦИПИ КОМПОНУВАННЯ БІОТЕХНОЛОГІЧНОГО ОБЛАДНАННЯ У БУДІВЛЯХ

Проектування промислових будівель мікробіологічних виробництв повинно задовольняти, в першу чергу, вимогам досконалої технології, забезпечувати необхідні санітарно-гігієнічні умови для працівників, уможлиблювати зміни технологічного процесу, відповідати вимогам економіки, індустріалізації будівництва, а також естетики.

Дані вимоги до проектування промислових будівель держава регулює відповідними законодавчими актами та нормативними документами.

Питання проектування у будівництві регламентує Держбуд України відповідно до законодавчо затверджених Державних будівельних норм (ДБН). Згідно з класифікатором усі ДБН поділені на 3 частини, кожна з яких поділяється на наступні групи:

1. Організація, керування, економіка будівництва.

2. Норми проектування:

- загальні норми проектування;
- основи та фундаменти;
- інженерне обладнання будівель і споруд (бетонні та залізобетонні конструкції, сталеві конструкції, покрівлі, підлоги);
- зовнішні мережі (опалення, вентиляція і кондиціонування, тепла ізоляція обладнання і трубопроводів);
- споруди транспорту;
- гідротехнічні і енергетичні споруди, меліоративні системи і споруди;
- планування і забудову населених пунктів;
- громадські будівлі;
- промислові підприємства, виробничі будівлі і споруди, допоміжні будівлі (генеральні плани промислових підприємств, виробничі будівлі, споруди промислових будівель);

3. Організація, виробництво та приймання робіт.

Крім загальних норм і правил будівництва, існують галузеві норми, вимоги, правила, інструкції та інші документи стосовно конкретики та специфіки кожної галузі. Наприклад, в мікробіологічній промисловості затверджені норми технологічного проектування гідролізних виробництв, БВК, лізину, бактеріальних засобів захисту рослин тощо.

Галузевий нормативний документ ГНД 09-001-98. «Продукція медичної та мікробіологічної промисловості. Регламенти виробництва лікарських засобів. Зміст, порядок розробки, узгодження та затвердження».

9.1. Зміст ДБН А.2.2-3-2014 «Склад та зміст проєктної документації на будівництво»

Дані Державні будівельні норми (ДБН) встановлюють склад та зміст проєктної документації на нове будівництво, реконструкцію, капітальний ремонт та технічне переоснащення будинків, будівель, споруд будь-якого призначення, їх комплексів або їх частин, лінійних об'єктів інженерно-транспортної інфраструктури.

Згідно ДБН А.2.2-3-2014 є наступні стадії та документи для будівельного проєкту:

- техніко-економічне обґрунтування (ТЕО);
- техніко-економічний розрахунок (ТЕР);
- ескізний проєкт (ЕП);
- концептуальний проєкт (КП) – проходить експертизу в центрі GMP/GDP;
- проєкт (П) – проходить Держекспертизу для об'єктів IV і V категорій складності;
- робочий проєкт (РП);
- робоча документація (Р).

9.1.1. Склад ТЕО для об'єктів виробничого призначення

- вихідні положення, в яких визначається технічна можливість та економічна доцільність проєкту;
- обґрунтування проєктної потужності об'єкта, асортименту продукції, а також можливих шляхів її збуту;
- обґрунтування чисельності нових / додаткових робочих місць;
- дані про наявність сировинної бази;
- дані щодо забезпечення основними матеріалами, енергоресурсами, трудовими ресурсами;
- схеми генплану та інженерних комунікацій;
- основні рішення щодо захисту об'єктів від небезпечних природних і техногенних факторів;
- основні вихідні будівельні та архітектурно-планувальні рішення;
- основні рішення про енергоефективність та забезпечення зниження енерговитратності;
- основні рішення про санітарно-побутове обслуговування персоналу та вибухопожежної безпеки виробництва;
- проєктні терміни закінчення об'єкта;
- економічна ефективність та основні техніко-економічні показники;
- укрупнений бюджет проєкту.

9.1.2. Склад ескізного проєкту (ЕП):

- збір вихідних даних для проєктування;
- коротка характеристика об'єкту;

- дані інженерних досліджень (наявність доступних енергоресурсів, стан ґрунтів / геодезія, стан будівлі і т.д.)
- вивчення технічних умов, визначальних параметрів та вимог до майбутнього виробництва;
- доступність об'єкту для персоналу;
- основні техніко-економічні показники;
- дані постадійного виробництва;
- розробка загальних планів приміщень із зазначенням виробничих і допоміжних зон, зон розташування сервісних систем і лабораторій, побутових приміщень, складських зон.

9.1.3. Склад концептуального проєкту (КП)

- збір вихідних даних для проєктування;
- підбір основного обладнання;
- вивчення технічних умов, визначальних параметрів та вимог до майбутнього виробництва;
- розробка загальних планів приміщень із зазначенням потоків персоналу та матеріалів;
- розробка планів приміщень з розміщенням основного обладнання;
- розробка планів розміщення технічного поверху і допоміжних приміщень;
- принципова схема підготовки стислого повітря (АС);
- принципова схема водопідготовки (АВ);
- принципова схема повітряної підготовки та кондиціонування повітря;
- розробки планів розміщення цехових складів сировини і готової продукції;
- розробка планів приміщень мікробіологічної та хіміко-аналітичної лабораторій ВКК;
- розробка стислої пояснювальної записки з описом основних проєктних рішень;
- попередні графіки виконання робіт.

9.1.4. Склад проєкту (П)

1. Пояснювальна записка (ПЗ)

- вихідні дані для проєктування;
- коротка характеристика об'єкта будівництва та його склад;
- дані інженерних вишукувань;
- відомості щодо потреб у пальному, воді, тепловій та електричній енергії, заходи щодо енергозбереження тощо, окремо на власні потреби та технологію;
- відомості про черговість будівництва та пускові комплекси;
- дані щодо ефективності капітальних вкладень (за необхідності);
- основні рішення та показники генерального плану, інженерних мереж і комунікацій;

- рішення з інженерної підготовки території і захисту будинків, будівель і споруд від небезпечних природних чи техногенних факторів;
- охорона праці;
- розділ інженерно-технічних заходів цивільного захисту (цивільної оборони);
- розділ із забезпечення надійності та безпеки;
- ідентифікація потенційно небезпечних об'єктів будівництва;
- оцінка впливів на навколишнє середовище (ОВНС);
- доступність об'єкта будівництва для маломобільних груп населення (крім об'єктів виробничого призначення);
- оцінка ефективності прийнятих рішень і порівняння техніко-економічних показників проєкту з показниками, які схвалені в ТEO (TEP);
- оцінка економії, отриманої за результатами впровадження енергозберігаючих заходів;
- розділ із науково-технічного супроводу (у разі потреби);
- відомості з обсягами робіт;
- розрахунок класу наслідків (відповідальності) та категорії складності відповідно до ДСТУ-Н Б В.1.2-16.

2. Генеральний план і транспорт .

3. Технологічна частина.

4. Архітектурно-будівельні рішення.

5. Організація будівництва.

9.1.5. Склад стадій робочого проєкту (РП)

Поглиблена розробка розділів, що входять до складу **Проекту**:

- + опрацьовані трасування комунікацій, виходячи з розмірів приміщень та потужностей обладнання;
- + специфікації матеріалів і комплектуючих;
- + уточнені кошториси на матеріали і комплектуючі.

9.1.6. Склад робочої документації (Р)

До складу робочої документації належать:

- робочі креслення;
- паспорт опоряджувальних робіт;
- кошторисна документація;
- специфікації обладнання, виробів і матеріалів;
- опитувальні аркуші та габаритні креслення на відповідні види обладнання та виробів;
- робоча документація на будівельні вироби;
- ескізні креслення загальних видів нетипових виробів.

Примітка. Склад Р може уточнюватися і доповнюватися.

Згідно ДБН А.2.2-3-2014 регламентується перелік необхідних стадій проєкту для об'єктів різних категорій складності, які визначаються згідно з

ДСТУ-Н Б В.1.2-16:2013 (табл. 9.1.).

Так, для виробничих об'єктів I категорії складності проектування здійснюється в одну стадію – робочий проєкт; II категорії – в дві стадії: техніко-економічний розрахунок та робочий проєкт; III категорії – в дві стадії: проєкт та робоча документація; IV і V категорії – в три стадії: техніко-економічне обґрунтування, проєкт та робоча документація.

9.2. Зміст ДСТУ-Н Б В.1.2-16:2013 «Визначення класу наслідків (відповідальності) та категорії складності об'єктів будівництва»

Даний стандарт установлює вимоги та рекомендації щодо визначення класу наслідків (відповідальності) та категорії складності об'єктів будівництва.

Стандарт призначений для застосування замовниками та проєктувальниками, розробниками будівельних норм та стандартів, експертними організаціями, центральним органом виконавчої влади, що реалізує державну політику у сфері державного архітектурно-будівельного контролю.

Згідно стандарту об'єкти будівництва класифікують на:

- категорії складності об'єктів будівництва;
- класи наслідків (відповідальності) будівлі або споруди.

Класифікацію наведено у таблиці 9.1.

9.3. Основні принципи компонування обладнання у будівлях

Винятково важливим завданням на стадії проєктування, так і під час напружування продуктів мікробного синтезу є забезпечення відповідності якості препаратів сучасним вимогам і дотримання принципів і правил Належної виробничої практики НВП (GMP).

Основою для компонування обладнання є:

- технологічна схема;
- специфікаційна таблиця обладнання
- правила компонування;
- стандартні схеми промислових будівель;
- визначені площі допоміжних приміщень;

Таблиця 9.1.

**Класифікація наслідків (відповідальності) та категорії складності об'єктів будівництва згідно
ДСТУ-Н Б В.1.2-16:2013**

Категорії складності об'єктів будівництва	Клас наслідків (відповідальності) будівлі або споруди	Характеристики можливих наслідків відмови будівлі або споруди					
		Можлива небезпека			Об'єм можливого економічного збитку	Втрата об'єктів культурної спадщини	Зупинка функціонування об'єктів комунікацій транспорту, зв'язку, енергетики, інших інженерних мереж
		для здоров'я та життя людей, які постійно знаходяться на об'єкті	для здоров'я та життя людей, які періодично знаходяться на об'єкті	для життєдіяльності людей, які знаходяться поза об'єктом			
		К-сть осіб	К-сть осіб	К-сть осіб	м. р. з. п.	категорії об'єктів	рівень
VI	СС3	Понад 400	Понад 1000	Понад 50000	Понад 150000	Національного значення	Загальнодержавний
IV	СС2	300-400	500-1000	10000-50000	1500-150000	Міського значення	Регіональний
III		50-30	100-500	100-10000	2000-15000	-	Міський
II	СС1	0-50	50-100	До 100	До 2000	-	-
I		0	До 50	До 100	До 2000	-	-

9.3.1. Правила вибору типу будівлі

Компонування починають з вибору типу будівлі, в якій буде розташовано обладнання. При цьому дотримуються таких основних правил:

1. Якщо матеріальні потоки рухаються переважно у горизонтальних напрямках, то обирають одноповерхову будівлю, якщо у вертикальних (наприклад, потоки рідини, або твердої сировини, або напівфабрикатів рухаються самопливом) – багатоповерхову.

2. Якщо технологічний процес супроводжується вивільненням великої кількості тепла, газів, шкідливих речовин, які в результаті аварії можуть потрапити в повітряне середовище приміщення, якщо немає вимог щодо стерильності атмосфери, то обирають будівлю павільйонного типу з встановленням етажерок для закріплення обладнання.

3. Якщо процес повинен перебігати в асептичних умовах, то всю будівлю або її частину огорожують і герметизують відомими методами, наприклад, облаштуванням у приміщеннях стерильних кімнат, тамбурів тощо.

Наприклад, виробництво антибіотика флориміцину потрібно розташовувати у трьох з'єднаних між собою будівлях:

1-ша будівля – підготовка ПС (асептичні умови не потрібні);

2-га будівля – підготовка ПМ і ферментація продуцента (асептичні умови потрібні, головки ферментерів повинні знаходитись в окремому приміщенні і відокремлені суцільним міжповерховим перекриттям);

3-тя будівля – оброблення КР, в основному, відбувається в горизонтальних напрямках, але враховуючи наявність самопливних потоків (потоки фільтратів), потрібно, щоб будівля була двоповерховою. Можливе застосування і одноповерхової з майданчиками для обслуговування апаратів.

Наприклад, виробництво лимонної кислоти відбувається в нестерильних умовах, в основному, в горизонтальних напрямках, тому бажано обрати одноповерхову будівлю, але передбачити в ній стерильне приміщення для блока інокуляції.

Компонування обладнання може бути виконано графічно (розроблення поверхових планів, повздовжніх і поперечних розрізів) або об'ємним методом – створенням реальної або комп'ютерної просторової моделі цеху, що проектується.

Під час розроблення проєкту компонування обладнання графічним методом плани його розташування викреслюють в масштабі 1:100 або 1:50. На плани наносять все без винятку обладнання, що встановлюється у цьому виробничому приміщенні, у тому числі резервні насоси. Кількість планів повинна відповідати кількості поверхів.

Апарати зображують у вигляді зовнішніх контурів. Наприклад, вертикальні циліндричні апарати зображають у вигляді кіл з осями та позначеннями люків і приводів. Розрізи потрібно виконувати так, щоб показати по можливості усі апарати, які встановлюються в цьому приміщенні.

9.3.2. Деякі правила компонування обладнання

1. Обладнання розташовують за принципом технологічного потоку зверху донизу по горизонталі, уникаючи повернення і перехрещення потоків.

2. Велике і важке обладнання встановлюють на власних фундаментах, які спираються на ґрунт або закріплюються на етажерках, не з'єднаних жорстко з каркасом будівлі; це дає можливість реконструкції виробництва без руйнування будівлі в цілому.

Обладнання повинно бути розташовано так, щоб була можливість проведення ремонтів без великих робіт із демонтажу обладнання (наприклад, для ремонту ферментерів повинне бути залишене місце для розміщення поруч двигуна, розібраної мішалки тощо).

3. Якщо обладнання складається з групи однакових одиниць апаратів, то ці групи об'єднують і розташовують в окремому ізольованому приміщенні (наприклад, групи ферментерів об'єднують у ферментаційне відділення, насоси – у насосне відділення, сепаратори – у сепараторне відділення тощо).

4. Сепаратори або центрифуги бажано розташовувати на I-му поверсі на окремих фундаментах і відокремлювати від інших приміщень капітальними звуконепроникними мурами на усю висоту приміщення.

5. Приміщення для ферментерів за їх кількості 20 і більше доцільно розділити на 2 ряди і між ними розташувати інокулятори; за меншої кількості ферментерів доцільно відокремити інокулятори в спеціальному приміщенні, бажано з торця ряду ферментерів.

6. У ферментаційному відділенні доцільно встановлювати суцільне перекриття на рівні 0,8 м нижче верхньої головки ферментера. Цей рівень регулюють або висотою фундаменту, або встановлюють суцільний робочий майданчик для обслуговування ферментерів.

7. Вентиляційне обладнання розташовують у торцях виробничих приміщень.

8. Великі сушарки розпилювального або пневматичного типу бажано розташовувати на відкритих майданчиках, оскільки вони є особливо вибухонебезпечним обладнанням.

9. Стрічкові, барабанні, невеликі розпилювальні сушарки разом з іншим обладнанням із переробки вибухонебезпечних порошків (подрібнювачі, змішувально-фасувальне обладнання тощо), а також обладнання, в якому застосовують органічні легкозаймисті та вибухо- і пожежонебезпечні розчинники, розташовують у приміщеннях, що належать за вибухо- і пожежонебезпекою до класів В-II або В-IIа і мають перекриття або поверхні в стінах, що легко скидаються.

10. У приміщенні необхідно передбачати не менше двох виходів, розташованих у протилежних кінцях.

11. Забороняється захарашувати обладнанням віконні прорізи.

12. У разі встановлення технологічного обладнання ззовні будівлі рекомендується його розташовувати по торцях будівлі або навпроти глухих стін. Якщо це неможливо, то відстань між зовнішнім обладнанням та вікнами

повинна бути не менше 12 м.

13. У розривах між зовнішньою етажеркою і будівлею можна розташовувати лише трубопровідну естакаду.

14. Бажано окремі апарати, в яких використовують природний газ або гас, винести з приміщення. Якщо апарат ставлять навпроти вікна, то для будівель категорій А, Б, В ця відстань повинна бути більше 4 метрів, а для будівель Г, Д – більше 10 м.

15. Виробнича площа відкритої установки, що стоїть окремо, висотою до 30 м не повинна перевищувати 5200 м², а за висоти 30 м і більше – не повинна перевищувати 3000 м². Якщо потрібна більша площа, то установку ділять на секції з відстанню між секціями не менше 15 м. Ширина зовнішніх установок висотою до 18 м не повинна перевищувати 42 м, а висотою більше 18 м – 46 м.

16. Технологічне обладнання із сильними кислотами та лугами розташовують у піддонах з бортом не менше 15 см.

17. Забороняється розташування обладнання з пожеже- і вибухонебезпечними, а також агресивними і токсичними речовинами, над і під допоміжними приміщеннями.

18. Стерильні приміщення відокремлюють глухою стінкою по всій висоті. В них дозволяється прохід тільки через тамбур, споряджений засобами для зберігання стерильності, наприклад, встановленням устаткування для створення підвищеного тиску стерильного повітря в тамбурі.

Проходи

1. Відстань від повздовжніх стін до апаратів реакторного типу повинна бути не менше 2 м або 1,2... 1,5 діаметра найбільшого з апаратів.

2. Ширина основних проходів в місцях, де постійно працюють – не менше 2 метрів.

3. Проходи між апаратами, а також між ними і стіною, повинні бути не менше 1 метра.

4. Прохід між апаратами, які потребують постійного обслуговування – 1,5 метра.

5. Проходи для огляду і регулювання приладів, між рядами насосів – не менше 0,8 метра.

6. Проходи між компресорами – не менше 1,5 метра.

7. Проходи біля віконних прорізів – не менше 1 метра.

8. Потрібно передбачати вільні місця для розбирання і чищення обладнання наприклад, сепараторів, ультрафільтрів тощо.

9. Центральні або основні проходи проектують прямими і вільними для людей і транспорту.

Запитання для самоперевірки

1. Що таке ДБН і на які частини поділені усі ДБН?
2. Що регламентує ДБН А.2.2-3-2014?
3. Охарактеризуйте стадії та документи будівельного проєкту.
4. Що регламентує ДСТУ-Н Б В.1.2-16:2013?
5. Які основні принципи компонування обладнання?
6. Як вибирати будівлі для біотехнологічного виробництва?
7. Зазначте основні правила компонування обладнання.
8. Охарактеризуйте вимоги GMP до будівельного проєктування і компонування обладнання.

Література до розділу 9

1. ДБН А.2.2-3-2014 «Склад та зміст проєктної документації на будівництво».
2. ДСТУ-Н Б В.1.2-16:2013 «Визначення класу наслідків (відповідальності) та категорії складності об'єктів будівництва»
3. Сидоров, Ю.І. Процеси і апарати мікробіологічної та фармацевтичної промисловості. Технологічні розрахунки. Приклади і задачі. Основи проєктування: Навч. посібник. /Ю.І. Сидоров, Р.Й. Влязло, В.П. Новіков – Львів: «Інтелект-Захід», 2008. – 736 с.

Розділ 10. ПРИКЛАДИ ВИКОРИСТАННЯ ТЕХНОЛОГІЧНИХ РОЗРАХУНКІВ У КУРСОВОМУ ПРОЄКТУВАННІ

При виконанні технологічних розрахунків у курсовому та дипломному проєктах виходять із змісту та структури даних проєктів. Так, наприклад, в структурі інженерного дипломного проєкту є відповідні розділи, в яких необхідно робити розрахунки матеріальних потоків по стадіям технологічного процесу. Тут наведено деякі розділи дипломного проєкту «Одержання лакази культивуванням *Coriolus versicolor*» з прикладами технологічних розрахунків.

10.1 Розділ 1. Характеристика цільового продукту біосинтезу

Лаказа (бензендіол, оксидоредуктаза, (ЕС 1.10.3.2.)) – це оксидаза, до складу якої входить мідь. Фермент окислює субстрати, які багаті електронами, фенольного походження із супутнім зменшенням кисню до води.

Лаказа належить до сімейства блакитних мідьвмісних білків, що містять від 1 до 6 атомів міді в молекулі. Більшість лаказ містять у своєму активному центрі чотири атоми міді, які опосередковують окисно-відновний процес і класифікуються на три групи відповідно до спектроскопічних властивостей: мідний тип 1 (T1) або блакитний містить 1 атом міді; тип 2 (T2) або звичайна мідь містить також 1 атом міді; тип 3 (T3) або сполучені двоядерні мідні центри (рис. 10.1).

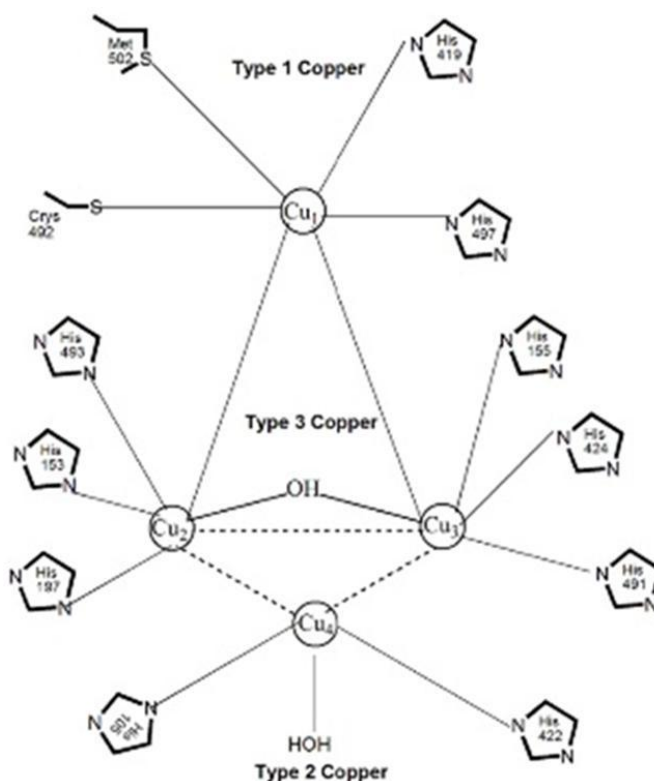


Рис.10.1.Структура мідної координаційної мережі молекули лакази

Оскільки, всі чотири атоми міді повністю окислюються (Cu^{2+}) через це лаказа може декарбоксилувати, деметилувати фенольну та метаоксифенольну кислоти, які є важливими початковими етапами деградації лігніну.

Лаказа зустрічається в багатьох грибах, вищих рослинах та бактеріях. Найбільш вивченими вважаються лакази грибів-базидіоміцетів. Цей фермент у великій кількості присутній в грибах білої гнилі. У грибів лакази переважно позаклітинні.

Молекулярна маса мономерної грибної лакази, переважно, знаходиться в межах 60-110 кДа з 10–50% глікозилювання. До складу вуглеводних компонентів лакази можуть входити арабіноза, маноза, ксилоза, галактоза, глюкоза. Високий вміст вуглеводів у молекулі білка забезпечує термостабільність лакази до 70° С.

Оскільки, всі чотири атоми міді повністю окислюються (Cu^{2+}), то через це лаказа може декарбоксилувати, деметилувати фенольну та метаоксифенольну кислоти, які є важливими початковими етапами деградації лігніну.

Субстратна специфічність ферменту може бути значно розширена при використанні медіаторів. Медіатор - це невелика хімічна сполука, яка безперервно окислюється ферментом лаказа і згодом відновлюється субстратом. Оскільки субстрат через свої розміри не може потрапити в активний центр лакази, медіатор діє як носій електронів між ферментом і субстратом, тим самим долаючи стеричні перешкоди, які існують між ними.

Лакази окислюють велику кількість субстратів, які розділяють на дві групи: донори електрона (фероціанід), донори електрона і протона (феноли і аміни). Типовими субстратами, характерними для більшості відомих лаказ різного походження, є катехол (2-гідроксифенол), 2,6-диметоксифенол, гваякол (2-метоксифенол), *n*-фенілендіамін. Лакази не здатні окисляти тирозин. Більшість лаказ окислюють орто-, мета- і пара-заміщені фенольні сполуки.

Орто-заміщені з'єднання: гваякол, катехол, кавова кислота, пірогалол, протокатехінова кислота та ін. Пара-заміщені з'єднання: гідрохінон, *n*-крезол та ін. Мета-заміщені з'єднання: *m*-фенілендіамін, орцінол, резорцінол й ін. Орто-заміщені сполуки окислюються лаказою з більш високою швидкістю, ніж мета- і пара-заміщені.

Деякі іони металів, такі як Hg^{2+} , Mg^{2+} , Ca^{2+} і Zn^{2+} інгібують лаказну активність, модифікуючи залишки амінокислот або викликаючи конформаційні зміни лаказного глікопротеїну. Жирні кислоти, сульфгідрильні реагенти, гідроксигліцин, дитиотреїтол та глутатіон також є інгібіторами лакази.

Лаказа зустрічається в багатьох грибах, вищих рослинах та бактеріях. Найбільш вивченими вважаються лакази грибів-базидіоміцетів. Цей фермент у великій кількості присутній в грибах білої гнилі. Порівняно з грибовими лаказами, бактеріальні лакази, як правило, більш стійкі при високих значеннях рН та температури. У грибів лакази переважно позаклітинні.

Однак, лакази бактерій бувають внутрішньо- та позаклітинними.

Молекулярна маса мономерної грибної лакази, переважно, знаходиться в межах 60...110 кДа з 10...50% глікозилювання. До складу вуглеводних компонентів лакази можуть входити арабіноза, маноза, ксилоза, галактоза, глюкоза. Високий вміст вуглеводів у молекулі білка забезпечує термостабільність лакази до 70° С. Глікозилювання також впливає на секрецію та активність ферментів. Температурний оптимум грибних лаказ становить 40...60 ° С. Однак, існують лакази з більш низьким (25°С для лакази *Ganoderma lucidum*) або більш високим значенням оптимуму ($\geq 80^{\circ}\text{C}$ для лакази *Marasmius quercophilus*).

Функції лаказ досить різноманітні. Вони каталізують відновлення молекули кисню до двох молекул води, при цьому оминаючи стадію утворення пероксиду водню. В результаті відбувається окислення широкого спектру субстратів: фенолів і ароматичних амінів, неорганічних сполук.

Лакази беруть участь у руйнуванні лігніну, утворенні пігментів у грибових спорах, у патогенезі рослин та в якості факторів вірулентності грибів, у метаболізмі заліза.

Грибні лакази відповідають за детоксикацію, плодоношення, спороношення, патогенність (лаказа є патогенним фактором у багатьох захворюваннях, що викликаються грибами) та деградацію лігніну. Гриби білої гнилі мають здатність до деградації лігніну завдяки високій концентрації лакази, яку вони виробляють, і добре розвинених гіфів, що здатні ефективно проникати в клітини рослин.

За величиною окисно-відновлювального потенціалу (ОВП) усі лакази поділяють на такі групи: низько- (350...450 мВ), середньо- (450...550 мВ) і високо-редокспотенціальні (550...850 мВ) ферменти. Високо-редокспотенціальні лакази зустрічаються, зазвичай, у базидіальних грибів. Поєднання ОВП лаказ з низькою субстратною специфічністю пояснює здатність цих ферментів окислювати широкий спектр стійких субстратів як природного, так і не природного походження.

Маючи надзвичайні властивості, лакази виявляються корисними для багатьох процесів, таких як очищення від барвників, очищення води, дехлорування та як каталізатор для виготовлення ліків та косметики.

Екологічна оцінка показала, що лакази позитивно впливають на екологічне середовище ґрунту і можуть бути використані для його очищення від дихлорфенолу.

Лаказу використовують також в якості окислювача під час виготовлення фарби для волосся. Це дає можливість виключити використання пероксиду водню, що має сильний подразнюючий ефект на шкірні покриви. Відомий ряд патентів, що захищають рецептури миючих засобів з лаказою чи парою лаказа-медіатор, які входять до їх складу.

Лакази широко застосовуються в харчовій промисловості. Наприклад, при виробництві вин, фруктових соків і пива, для освітлення, за рахунок видалення поліфенольних сполук. Лаказу застосовують для видалення кисню

з готового продукту, при виробництві пива, це призводить до збільшення терміну зберігання готового продукту. При виробництві соків можливе використання лакази як окремо, так і в комплексі з ультрафільтрацією, для отримання освітленого продукту без домішок фенолів. Лаказа застосовують при виробництві хлібобулочних виробів. Фермент забезпечує підвищення міцності і зниження липкості тіста, це покращує його оброблюваність, у готового виробу поліпшується пишність і м'якість. Лаказа відіграє певну роль у стабілізації вина.

Препарат лакази, синтезованої *Trametes (Coriolus) versicolor* – Laccase Daiwa Y120 виробник Amano Enzyme USA Co. Ltd. (США), використовується для покращення якості деяких напоїв.

В біотехнологіях використовують такі переваги лаказ, як високий ОВП, широка субстратна специфічність, стабільність, відсутність необхідності використання дорогих кофакторів. А використання редокс-медіаторів робить практичне застосування лаказ більш привабливим: пара лаказа-медіатор зазвичай має більш високий ОВП, ніж у лакази.

З лакази вперше було розроблено екологічно чистий відбілюючий засіб для використання в целюлозно-паперовій промисловості. Препарат на основі лакази, синтезованої *T. versicolor* Lignozym-process (виробник Lignozym GmbH, Німеччина), використовується в целюлозно-паперовій промисловості для делігніфікації і вибілювання.

Препарат на основі лакази Deni Lite II (NovoNordisk&Co) використовується для вибілювання тканин у текстильній промисловості. Крім вибілювання, лаказу використовують для прикріплення функціональних молекул текстильних волокон вовни та бавовни, покращуючи цим їх водовідштовхувальні властивості, збільшуючи стійкість тканини до усадки, міцність на розрив і зменшуючи мнучість тканини. Крім того, доведено, що тканини, оброблені лаказою в присутності ферулової кислоти або гідрохінона, проявляють антибактеріальні властивості.

В Данії, компанія «Novozymes» теж випускає на основі лакази комерційні препарати призначені для вибілювання та обробки текстильних виробів, делігніфікації паперової пульпи.

Виробником ферменту лакази в Китаї, що використовується для вибілювання та обробки текстильних виробів, є торгова компанія Xi'an Sanying Bio – Technology Co., Ltd. Лаказа має вигляд білого порошку, активність ферменту 2000-10000 МО/г.

Таким чином, лакази мають широке застосування у різних сферах виробництва. Однак низька стабільність вільних ферментів обмежує їх промислове використання. Зараз залишається проблемою розробка ефективних методів збереження та підвищення ферментативної активності, що є важливим критерієм їх використання.

10.2 Розділ 2. Обґрунтування вибору та характеристика біологічного агента

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

Лаказа вперше була виявлена у сокові японського лакового дерева *Rhus vernicifera* та описана Бертраном як металовмісна оксидаза у 1985 р. Лакази виробляються також комахами, вищими рослинами, грибами та бактеріями.

Лаказна активність проявляється у великій кількості мікроорганізмів, однак найкращими продуцентами лакази є саме гриби білої гнилі.

Загальну характеристику технологічних особливостей одержання лакази з використанням різних продуцентів наведено у табл. 10.1.

Funalia trogii ТИ 035 накопичує лаказу з найнижчою активністю $51,340 \times 10^3$ МО/л, а фермент, що синтезує *Trametes (Coriolus)*, має досить високу активність 82×10^4 МО/л. Фермент із високою активністю також синтезує *T. pubescens* МВ 89 ($74,3 \times 10^4$ МО/л), однак недоліком цього мікроорганізму є тривалий час культивування – 692 год, порівняно із *F. trogii* ТИ 035 (336 год) та *C. versicolor* МТСС 138 (144 год).

Для подальшого вибору найбільш ефективного біологічного агента, необхідно порівняти вартість 1 л поживного середовища, яка представлена в табл. 10.2.

Таблиця 10.1

Особливості одержання ферменту лаказа базидіоміцетами *T. pubescens* MB 89,
F. trogii ТИ 035, *C. versicolor* MTCC 138

Біологічний агент	Склад поживного середовища, г/л	Тривалість культивування, год	Активність ферменту, 10^{-4} МО/л	Особливості процесу біосинтезу	Література
<i>Trametes pubescens</i> MB 89	Глюкоза – 40 Пептон – 10 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 1; Через 124 год додають $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ – 0,5.	692	74,3	температура - 25°C, рН зменшується від 5,0 до 3,5. n =100 об/ хв. Дробне підживлення: через 302 год додають глюкозу в кількості 3,0 мл/год до кінця культивування (320 г/л)	Galhaup, C., Wagner, H., Hinterstoisser, B., Haltrich D. Increased production of laccase by the wood degrading basidiomycete <i>Trametes pubescens</i> . <i>Enzyme and Microbial Technology</i> . 2002, 30: P529-536.
<i>Funalia trogii</i> ТИ 035	Глюкоза – 10 Пептон – 5 KH_2PO_4 – 0,6 K_2HPO_4 – 0,4 MgSO_4 – 0,5 $\text{MnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,05 $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,001; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,0005 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ – 0,15	336	5,1	температура 26-28 °С, при рН – 6,0 180 об/хв	Клепиков А.А., Шамцян М.М. Скрининг и изучение базидиальных грибов в качестве продуцентов лакказ. <i>Известия СПбГТИ (ТУ)</i> . 2014, 23: 39-42

Продовження таблиці 10.1.

<i>Coriolus versicolor</i> MTCC 138	Крохмаль – 15 Глюкоза – 10 Дріжджовий екстракт – 2,5; D , L–фенілаланін 0,15; Аденін – 0,0275; KH ₂ PO ₄ – 1 MgSO ₄ ·7H ₂ O – 0,5 CaCl ₂ – 0,01 FeSO ₄ ·7H ₂ O – 0,01 MnSO ₄ ·4H ₂ O – 0,001 ZnSO ₄ ·7H ₂ O – 0,001 CuSO ₄ ·5H ₂ O–0,001 2,5-ксилідин – 0,12	144	82,0	температура 28 ° C pH – 5 150 об/хв	Revankar M. S., Lele S.S. Increased production of extra-cellular laccase by the white rot fungus <i>Coriolus versicolor</i> MTCC 138. <i>World Journal of Microbio-logy&Biotechnology</i> . 2006,22:921-926. doi:10.1007/s11274-006-9136-2

Вартість компонентів поживного середовища для культивування *T. pubescens* МВ 89, *F. trogii* ТИ 035, *C. versicolor* МТСС 138

Штам	Компоненти	Конц., компоненту поживного середовища, г/л	Ціна компоненту, грн/кг	Вартість компонентів середовища для 1 л, грн/л	Джерело інформації (1,2,3,4...)*
<i>Trametes pubescens</i> МВ 89	Глюкоза	40	30	1,2	1
	Пептон	10	750	7,5	1
	MgSO ₄ ·7H ₂ O	1	65	0,065	2
	CuSO ₄ ·5H ₂ O	0,5	65	0,0325	3
	Вартість 1 л середовища – 8,8грн				
<i>Funalia trogii</i> ТИ 035	Глюкоза	10	30	0,3	1
	Пептон	15	750	11,25	1
	KH ₂ PO ₄	0,6	60	0,036	2
	K ₂ HPO ₄	0,4	72	0,0288	2
	MgSO ₄	0,5	65	0,025	2
	MnSO ₄ ·7H ₂ O	0,05	153	0,00765	3
	ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0,001	80	0,00008	2
	FeSO ₄ ·7H ₂ O	0,0005	25	0,0000125	2
	CuSO ₄ ·5H ₂ O	0,15	65	0,00975	3
	Вартість 1 л середовища – 11,61 грн				
<i>Coriolus versicolor</i> МТСС 138	Крохмаль	15	24	0,36	2
	Глюкоза	10	30	0,3	1
	Дріжджовий екстракт	2,5	1632	4,08	4
	D , L– фенілаланін	0,15	2000	0,3	2
	Аденін	0,0275	390	0,010725	5
	KH ₂ PO ₄	1	60	0,06	2
	MgSO ₄ ·7H ₂ O	0,5	65	0,03	2
	CaCl ₂	0,01	13	0,00013	2
	FeSO ₄ ·7H ₂ O	0,01	25	0,00025	2
	MnSO ₄ ·4H ₂ O	0,001	153	0,000153	3
	ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0,001	80	0,00008	2
	CuSO ₄ ·5H ₂ O	0,001	65	0,000065	3
	2,5-ксилідин	0,12	600	0,072	6
	Вартість 1 л середовища – 5,22 грн				

Примітка. - * ціни наведено станом на лютий 2020 року.

1. <https://www.systopt.com.ua>
2. <https://prom.ua>
3. <https://flagma.ua/>
4. <http://agar.com.ua/>

5. <https://www.alibaba.com>
6. <https://www.sigmaaldrich.com/>

Дані табл. 10.2, показують, що *C. versicolor* MTCC 138 росте на найдешевшому поживному середовищі (5,22 Грн) в порівнянні з іншими продуцентами лакази. Базидіоміцет *T. pubescens* MB 89 культивується на дорожчому середовищі (8,8 Грн.). Найбільш дороговартісним виявилось середовище для вирощування *F. trogii* ТИ 035 – 11,61 Грн.

Для остаточного результату у виборі біологічного агента на заключному етапі необхідно скористатись узагальнюючою таблицею 10.3, де представлено розрахунок умовної вартості 10^4 МО активності лакази у Грн. Найбільш ефективним виявився продуцент *Coriolus versicolor* MTCC 138 з умовною вартістю 10^4 МО активності у 0,06 Грн.

Таблиця 10.3

Умовна вартість МО активності лакази при культивуванні різних штамів

Біологічний агент	Вартість 1 л поживного середовища, Грн/л	Активність цільового продукту, 10^4 МО/л	Тривалість культивування, год	Умовна вартість продукту, Грн/ 10^4 МО активності
<i>Trametes pubescens</i> MB 89	8,8	74,3	692	0,12
<i>Funalia trogii</i> ТИ 035	11,61	5,1	336	2,29
<i>Coriolus versicolor</i> MTCC 138	5,21	82,0	144	0,06

На підставі даних таблиці 10.1-10.3 за основу розроблення технології отримання лакази було вибрано штам *C. versicolor* MTCC 138 із наступним складом середовища, г/л:

- Крохмаль – 15;
- Глюкоза – 10;
- Дріжджовий екстракт – 2,5;
- D , L–фенілаланін – 0,15;
- Аденін – 0,0275;
- KH_2PO_4 – 1 ;
- $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,5;
- CaCl_2 – 0,01;
- $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,01;
- $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ – 0,001;
- $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,001;
- $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ – 0,001;
- 2,5-ксилідин – 0,12;

- Вода – до 1 л.

Оптимальний діапазон рН для культивування 5,0; температура – 28° С;

Час культивування – 144 год.

10.3. Розділ 3. Техніко-економічне обґрунтування біотехнології одержання лакази для вибілювання тканин

10.3.1. Визначення потреби у цільовому продукті та розрахунок потужності виробництва

Технології використання лакази були інтегровані у вже існуючі процеси, такі як вибілювання і фарбування бавовняних волокон, на які приходится майже 50% усіх тканин, що нині виробляються.

Нині в Україні не існує біотехнології виробництва лакази і цей фермент практично не використовується.

При виробництві сучасних текстильних матеріалів та виробів широко використовуються комплекси хімічних речовин (гіпохлорит кальцію, хлоритна кислота), що мають негативну дію як на отримані текстильні матеріали, так і на екологію виходячи з природи сировини та особливостей технологічних процесів їх виробництва. Нині є досить поширеними тверді гіпохлорити (MeClO), що широко застосовуються як окисники для вибілювання в усьому світі за їх низької вартості. Перспективним напрямком у створенні екологічно чистих технологій є повне виключення хлоромістких речовин під час підготовки текстильних матеріалів.

Застосування лакази в текстильній галузі підприємств в Україні дозволить створити екологічно безпечне виробництво та замінити шкідливі хімікати.

10.3.2. Розрахунок кількості виробничих циклів (партій) продукту

За стандартний зразок препарату було прийнято суху лаказу компанії *Zhuo Zhou Wen Xi Importand Export Co., Ltd.* (Хебей, Китай), що використовується як текстильно-допоміжна речовина із стандартною активністю $A_{\text{ст}} = 5\,000 \text{ МО/г}$.

Кількість даного препарату визначалася в умовних одиницях маси (умов. кг) із визначеною стандартною активністю.

Розрахунок потреби препарату лакази із стандартною активністю $A_{\text{ст}} = 5\,000 \text{ МО/г}$ проводили на підставі статистичних даних з виробництва білизни постільної бавовняної по областях України, що наведені у таблиці 10.4.

Кількість води для вибілюючого засобу на область розраховувалась за формулою:

$V_{\text{відб.зас.}} = P_{\text{вт}} \times V_{\text{в}}$, де $P_{\text{вт}}$ – потужність виробництва тканин, т; $V_{\text{в}}$ – витрати води для вибілювання л/кг.

Кількість лакази для вибілюючого засобу на область розраховувалась за формулою:

$L_{об.} = L \times V_{відб.зас.}$, де L – кількість лакази для вибілювання 1 кг тканин;
 $V_{відб.зас.}$ - кількості води для вибілюючого засобу на область.

Таблиця 10.4.

Виробництво бавовняних тканин по областях України та потреба лакази для вибілювання білизни постільної бавовняної

№	Назва області	Потужність виробництва тканин, тонн	Кількість лакази для вибілюючого засобу, мг/л*	Витрати води для вибілювання, л/кг**	Кількість води для вибілюючого засобу на область, л	Кількість лакази для вибілюючого засобу на область, кг
1	2	3	4	5	6	7
2	Дніпровська	587,1	1	50	29 355 000	29,355
3	Чернівецька	414,9	1	50	20 745 000	20,745
4	Закарпатська	364,5	1	50	18 225 000	18,225
5	Львівська	37	1	50	1 850 000	1,85
6	Харківська	25	1	50	1 250 000	1,25
7	Черкаська	23,2	1	50	1 160 000	1,16
8	Київська	20	1	50	1 000 000	1
9	Житомирська	16	1	50	800 000	0,8
10	Сумська	14	1	50	700 000	0,7
11	Запорізька	13,8	1	50	690 000	0,69
12	Івано-Франківська	13	1	50	650 000	0,65
	Всього:	1 528,5			76 425 000	76,425

1. <http://www.dneprstat.gov.ua/>
2. <https://www.chernigivstat.gov.ua/>
3. <http://www.uz.ukrstat.gov.ua/>
4. <https://www.lv.ukrstat.gov.ua/>
5. <http://kh.ukrstat.gov.ua/>
6. <http://www.ck.ukrstat.gov.ua/>
7. <http://kyivobl.ukrstat.gov.ua/content/>
8. <http://www.zt.ukrstat.gov.ua/>
9. <http://sumy.ukrstat.gov.ua/>
10. <http://www.zp.ukrstat.gov.ua/>
11. <http://www.ifstat.gov.ua/>

Примітка: Дані взяті за 2018 рік

* - інформацію взято з літературного джерела «Method for removing an excess dye with camera or dyed fabric or yarn».

** - інформацію взято з літературного джерела «Производство текстильных изделий».

Відповідно до нормативно-технічної документації до ферментених препаратів типу Г10х вміст сухих речовин в готовому продукті $СР_{гп}$ має складати не менше 95% із ступенем очищення сухого ферменту $СТ_{оч}$ не менше – 75 %, відповідно кількість баластних речовин в сухому товарному ферменті - не більше 25 % .

Згідно попередніх розрахунків (таблиця 10.4) потреба в лаказі прийнята у кількості $G_{нд} = 77$ умов. кг із стандартною активністю $A_{ст} = 5000$ МО/г. За умовами замовника цю кількість лакази потрібно виробити за $T_{рд} = 40$ робочих днів. За даними наведеними вище максимальний синтез лакази культурою *Coriolus versicolor* МТСС 138 досягається за $T_{ф} = 144$ години культивування при цьому активність лакази в культуральній рідині становить $A_{кр} = 820$ МО/мл. Концентрація ферменту в культуральній рідині $P_{кр} = 0,78$ мг/мл, а концентрація біомаси $X_{кр} = 10$ г/л.

Для подальших розрахунків приймаємо наступні початкові дані:

Час циклу роботи ферментера:

$$T_{цф} = T_{ф} + T_{по} = 144 + 5 = 149 \text{ год.}$$

де $T_{ф}$ - 144 год, час культивування; $T_{по}$ – 5 год; час підготовчих операцій: миття та огляд апарату:– 0,5 год; перевірка на герметичність – 0,5 год; підігрів апарату – 0,5 год; стерилізація апарату – 1 год; охолодження апарату – 0,5 год; завантаження середовища – 0,5 год; стерилізація середовища – 0,5 год; охолодження середовища та засів – 1 год.

$K_1 = 1,05$, коефіцієнт запасу (втрати культуральної рідини або посівного матеріалу від можливих нестерильних операцій);

1. Кількість запланованих циклів (партиї) за рік

$$N_{цк} = 24 \times T_{рд} \times K_1 / T_{ц} = 24 \cdot 40 \cdot 1,05 / 149 = 6,7. \text{ Кількість циклів за рік}$$

приймається 7

2. Кількість ум. кг ферменту/цикл:

$$G_{цк} = G_{нт} / N_{цк} = 77 / 7 = 11,0; \text{ де } G_{нт} - \text{річна потужність підприємства, ум.кг/рік; } T_{ц} - \text{час виробничого циклу, год; } T_{рд} - \text{кількість робочих днів на рік.}$$

3. Кількість одиниць активності ферменту, що знаходяться в 1 умовному кг,

$$A_{цк} = A_{ст} \times 1000 = 5\,000 \times 1000 = 5 \times 10^6 \text{ МО/ ум.кг}$$

де $A_{ст}$ – стандартна активність препарату, 5 000 МО/г.

4. Кількість одиниць активності ферменту, що знаходяться в 1 товарному кг фермента в культуральній рідині з врахуванням втрат активності при виділенні

$$A_{крт} = A_{кр} \times 10^6 \times (1 - A_{ак}) / P_{кр} = 820 \times 10^6 \cdot (1 - 0,7) / 0,78 = 3,15 \times 10^8 \text{ МО/кг}$$

де $A_{кр}$ – активність препарату в культуральній рідині, 820 МО/мл; $A_{ак}$ – сумарні втрати активності фермента при виділенні, приймається $A_{ак} = 0,7$ (частка).

5. Кількість абсолютно сухого товарного ферменту за цикл,

$$G_{цк} = A_{цк} \times G_{цк} / A_{крт} = 5 \times 10^6 \times 11,0 / 3,15 \times 10^8 = 17,5 \cdot 10^{-2} = 0,175 \text{ тов.кг}$$

Кількість сухого товарного ферменту із залишковою вологою 5%

$W_{гп} = (1 - CP_{гп}) = 0,05$ (частка) ,
 $G_{гп} = G_{цк} / (1 - W_{гп}) = 0,175 / (1 - 0,05) = 0,184$ тов.кг за цикл
 6. Об'єм культуральної рідини, що зливається за одну ферментацію (цикл) з урахуванням втрат фермента при виділенні $E_{св}$, м³
 $V_{кр} = G_{гп} \times CP_{гп} / (P_{кр} \cdot (1 - E_{св})) = 0,175 \cdot 0,95 / (0,78 \cdot (1 - 0,75)) = 1,134$ м³
 де $E_{св}$ – сумарні втрати фермента при виділенні (сума всіх втрат по стадіям виділення готового продукту, 0,75 (частка).

10.4. Розділ 4. Обґрунтування стадій доферментаційних процесів та виробничого біосинтезу

Для подальшого розрахунку приймаємо наступні вихідні дані:
 - коефіцієнт заповнення ферментера та іншої ферментаційної апаратури для вирощування посівного матеріалу з комбінованим перемішування, частка, (0,5– 0,65); приймаємо $K_{зф} = 0,6$;
 - коефіцієнт заповнення колб, частка $K_{кол} = 0,2$.
 - коефіцієнт заповнення збірника, реактора, частка (0,7-0,8) $K_{зб} = 0,7$.
 - об'єм посівного матеріалу для виробничого ферментеру, посівного апарата, інокулятора та качалочних колб (0,05-0,1), приймаємо $X_{пм} = 0,1$.
 - втрати культуральної рідини при біосинтезі у ферменері, частка (0,1 - 0,2), приймаємо $E_{ф} = 0,16$.
 - втрати посівного матеріалу у процесі його культивування в посівному апараті, частка (0,1 - 0,2), приймаємо $E_{па} = 0,1$.
 - втрати посівного матеріалу у процесі його культивування в інокуляторі, частка (0,05- 0,1), приймаємо $E_{ін} = 0,05$.
 - втрати посівного матеріалу у процесі його культивування в качалочних колбах $E_{к} = 0$

10.4.1. Розрахунок геометричного об'єму ферментера для виробничого біосинтезу

Робочий об'єм ферментера становить:
 $V_{ф} = V_{кр} / (1 - E_{ф}) = 1,134 / (1 - 0,16) = 1,35$ м³ = 1 350 л,
 де $E_{ф}$ – втрати культуральної рідини від краплевиносу, 0,16.
 Приблизний загальний геометричний об'єм ферментера при заданому $K_{ф}$, л
 $V_{фг} = V_{ф} / K_{ф} = 1350 / 0,6 = 2\,250$ л,
 де $K_{ф}$ – коефіцієнт заповнення ферментера, 0,6.
 Обираємо один ферментер з геометричним об'ємом 2 500 л або 2,5 м³ (Додаток 1).
 Уточнюємо коефіцієнт заповнення вибраного з таблиці ферментера, частка, $K_{фг}$
 $K_{фг} = V_{ф} / (N_{ф} \times V_{фг}) = 1\,350 / 1 \times 2\,500 = 0,54$, що в межах діапазону для ферментерів з комбінованим перемішуванням (0,5-0,65).

10.4.2. Розрахунок кількості стадій підготовки посівного матеріалу та геометричних об'ємів ферментаційної апаратури для його вирощування

1. Виробничий біосинтез здійснюють у ферментері, геометричним об'ємом $2,5 \text{ м}^3$ (з барботером та з мішалкою, з коефіцієнтом заповнення 0,54).

Робочий об'єм ферментера ($V_{\text{роб}}$) становить $V_{\text{роб}} = V_{\text{ф}} = 1350 \text{ л}$.

Кількість посівного матеріалу (доза) для ферментера становить 5-10 % від об'єму поживного середовища, приймається $X_{\text{пм1}} = 10\%$ або 0,1 (частка).

Робочий об'єм ферментера $V_{\text{роб1}}$ складається з об'єму поживного середовища $V_{\text{пс1}}$ та об'єму посівного матеріалу $V_{\text{пм1}}$. З врахуванням дози посівного матеріалу $X_{\text{пм1}}$ робочий об'єм ферментера $V_{\text{роб1}}$ складе:

$$V_{\text{роб1}} = V_{\text{пс1}} + V_{\text{пс1}} \cdot X_{\text{пм1}}$$

Звідси, об'єму поживного середовища $V_{\text{пс1}}$ буде:

$$V_{\text{пс1}} = V_{\text{роб1}} / (1 + X_{\text{пм1}}) = 1350 / (1 + 0,1) = 1227 \text{ л}$$

відповідно об'єм посівного матеріалу $V_{\text{пм1}}$ складе:

$$V_{\text{пм1}} = V_{\text{роб1}} - V_{\text{пс1}} = 1350 - 1227 = 123 \text{ л}$$

2. Таку кількість інокуляту можна одержати під час культивування мікроорганізмів у посівному апараті з робочим об'ємом $V_{\text{роб2}}$ з врахуванням втрат при вирощуванні посівного матеріалу за рахунок краплевиносу $E_{\text{па2}} = 10\%$.

$$V_{\text{роб2}} = V_{\text{пм1}} / (1 - E_{\text{па2}}) = 123 / (1 - 0,1) = 136,7 \text{ л}$$

Найближчий за об'ємом посівний апарат має геометричний об'єм $V_{\text{гпа}} = 250 \text{ л}$ (Додаток 1). Тоді коефіцієнт заповнення апарату складе:

$$K_{\text{зап}} = V_{\text{роб2}} / V_{\text{гпа}} = 136,7 / 250 = 0,55$$

що в межах прийнятого діапазону для посівних апаратів з барботером та мішалкою ($K_{\text{зап}} = 0,5-0,65$).

Для отримання посівного матеріалу в посівному апараті з робочим об'ємом $V_{\text{роб2}}$ необхідно приготувати наступну кількість поживного середовища $V_{\text{пс2}}$ з врахуванням дози посівного матеріалу $X_{\text{пм2}} = 10\%$ або 0,1 частки.

$V_{\text{пс2}} = V_{\text{роб2}} / (1 + X_{\text{пм2}}) = 136,7 / (1 + 0,1) = 124,3 \text{ л}$, а об'єм посівного матеріалу $V_{\text{пм2}}$ складе:

$$V_{\text{пм2}} = V_{\text{роб2}} - V_{\text{пс2}} = 136,7 - 124,3 = 12,4 \text{ л}$$

3. Таку кількість інокуляту можна одержати під час культивування мікроорганізмів в інокуляторі з робочим об'ємом $V_{\text{роб3}}$ з врахуванням втрат при вирощуванні посівного матеріалу за рахунок краплевиносу $E_{\text{ін3}} = 5\%$ або 0,05

$$V_{\text{роб3}} = V_{\text{пм2}} / (1 - E_{\text{ін3}}) = 12,4 / (1 - 0,05) = 13,1 \text{ л}$$

Найближчий за об'ємом інокулятор має геометричний об'єм $V_{\text{гін1}} = 20 \text{ л}$ (Додаток 1), його уточнений коефіцієнт заповнення складе:

$$K_{\text{зап}} = V_{\text{роб3}} / V_{\text{гін1}} = 13,1 / 20 = 0,65;$$

що в межах прийнятого діапазону для інокуляторів з барботером та мішалкою ($K_{\text{зап}} = 0,5-0,65$).

Для отримання посівного матеріалу в інокуляторі з робочим об'ємом $V_{\text{роб3}}$ необхідно приготувати наступну кількість поживного середовища $V_{\text{пс3}}$ з

врахуванням дози посівного матеріалу $X_{\text{пм3}} = 10\%$.

$V_{\text{пс3}} = V_{\text{роб3}} / (1 + X_{\text{пм3}}) = 13,1 / (1 + 0,1) = 11,9$ л, а об'єм посівного матеріалу $V_{\text{пм3}}$ складе:

$$V_{\text{пм3}} = V_{\text{роб3}} - V_{\text{пс3}} = 13,1 - 11,9 = 1,2 \text{ л}$$

4. Таку кількість інокуляту можна одержати під час вирощування базидіоміцетів в качалочних колбах геометричним об'ємом $V_{\text{колб}} = 750$ мл. Коефіцієнт заповнення колб становить $K_{\text{зап}} = 0,2$. Враховуючи втрати $E_{\text{кол}} = 0$ об'єм посівного матеріалу $V_{\text{пм4}}$ складе:

$$V_{\text{роб4}} = V_{\text{пм3}} = 1,2 \text{ л.}$$

Кількість качалочних колб для засіву одного інокулятора складає:

$N_{\text{колб}} = V_{\text{роб4}} / (V_{\text{колб}} \times K_{\text{зап}}) = 1,2 / (0,75 \times 0,2) = 8$. Приймаємо 8 качалочних колб.

Для отримання посівного матеріалу в качалочних колбах з робочим об'ємом $V_{\text{роб4}}$ необхідно приготувати наступну кількість поживного середовища $V_{\text{пс4}}$ з врахуванням дози посівного матеріалу $X_{\text{пм3}} = 10\%$ або 0,1 частки.

$V_{\text{пс4}} = V_{\text{роб4}} / (1 + X_{\text{пм4}}) = 1,2 / (1 + 0,1) = 1,09$ л, а об'єм посівного матеріалу $V_{\text{пм3}}$ складе:

$$V_{\text{пм4}} = V_{\text{роб4}} - V_{\text{пс4}} = 1,2 - 1,09 = 0,11 \text{ л}$$

Для зручності результати розрахунку представимо у вигляді таблиці 10.5.

Таблиця 10.5.

Об'єми апаратів для стадії підготовки посівного матеріалу та виробничого біосинтезу

№ стадії	Геометричний об'єм ферментера, $V_{\text{г}}$, л	Коефіцієнт заповнення, $K_{\text{зап}}$, частка	Робочий об'єм ферментера, $V_{\text{роб}}$, л	Об'єм поживного середовища, $V_{\text{пс}}$, л	Об'єм посівного матеріалу, $V_{\text{пм}}$, л
1	2	3	4	5	6
1.	0,750×8 колб	0,2	1,2	1,09	0,11
2.	20	0,55	13,1	11,9	1,2
3.	250	0,55	136,7	124,3	12,4
4.	2 500	0,54	1 350	1 227	123

10.4.3. Приготування поживного середовища по стадіям вирощування посівного матеріалу та вибір режимів його стерилізації

Для виробничого біосинтезу лакази *C. versicolor* МТСС 138 використовується середовище такого складу (г/л):

- Крохмаль – 15;
- Глюкоза – 10;
- Дріжджовий екстракт – 2,5;
- D, L-фенілаланін – 0,15;
- Аденін – 0,0275;

- KH_2PO_4 – 1 ;
- $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,5;
- CaCl_2 – 0,01;
- $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,01;

Мікроелементи: мг/л

- $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ – 1;
- $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 1.

Разом: $C_{\Sigma\phi} = 29,202$

- $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ – 1;
- 2,5-ксилідин, мг/л – 120;
- pH – 5,0.

Для вирощування посівного матеріалу використовується дещо змінений склад поживного середовища:

- Глюкоза – 20;
- L – аспарагін – 2,5;
- D , L–фенілаланін – 0,15;
- Аденін – 0,0275;
- KH_2PO_4 – 1 ;
- $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,5;
- CaCl_2 – 0,01;
- $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,01;

Разом: $C_{\Sigma\text{пм}} = 24,2$ г/л

Розчин мікроелементів(г/л):

$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ – 0,001; $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,001; $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ – 0,002= 0,004, готують окремо і додають до композиції Б перед стерилізацією.

- pH – 5,0.

Глюкоза та амінокислоти (композиція А) є термолабільними речовинами і потребують м'якого режиму стерилізації. Як, правило, композиція А готується і стерилізується в окремому реакторі в достатньо концентрованому вигляді, а потім передається до ферментаційної апаратури.

Солі композиції Б стерилізують при стандартній для солей температурі. Фосфати (композиція В) можуть стерилізуватись окремо, щоб запобігти утворенню нерозчинних фосфатів магнію та кальцію. Але це можна робити разом, якщо попередньо перед стерилізацією розчин солей (Б та В) підкислити хлоридною кислотою до pH 4,0-4,5. Концентрований розчин солей готують в окремому реакторі і передають для стерилізації до ферментаційної апаратури, туди ж додають необхідну кількість води для забезпечення заданої концентрації компонентів поживного середовища.

Окремо готують запасний розчин мікроелементів (з розрахунку на використання в трьох стадіях підготовки посівного матеріалу). Після приготування розчин мікроелементів додають до композиції Б перед стерилізацією на кожній стадії.

4.3.1. Розрахунок кількості компонентів для приготування поживного середовища для качалочних колб

Склад композицій:

Композиція А, г/л: Глюкоза; L – аспарагін; D, L – фенілаланін; аденін;

Композиція Б, г/л: KH_2PO_4 .

Композиція В, г/л: $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; CaCl_2 ; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$.

Композиція Г (розчин мікроелементів): $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$; $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$.

Композицію Г готують окремо для усіх етапів вирощування посівного матеріалу і додають до композиції В перед стерилізацією.

Згідно таблиці 10.7. об'єм поживного середовища становить $V_{\text{пс4}} = 1,09$ л.

Розподіл загального об'єму поживного середовища на композиції приймаємо наступний: композиція А% – 94 % ; Б%- 4%; В% – 2% .

Відповідно об'єми композицій приймаються, мл:

$V_{\text{А4}} = V_{\text{пс4}} \times \text{А\%} = 1,09 \times 0,94 = 1024$; композиція Б $V_{\text{Б4}} = V_{\text{пс4}} \times \text{Б\%} = 1,09 \times 0,04 = 44$; композиція В $V_{\text{В}} = V_{\text{пс4}} \times \text{В\%} = 1,09 \times 0,02 = 22$.

Розрахунок компонентів по композиціям наведено у таблиці 10.6.

Таблиця 10.6.

Об'єм композицій для приготування та стерилізації 1,09 л поживного середовища для качалочних колб

Компонент поживного середовища	Концентрація г/л	Вміст компонента у 1,09 л середовища, г	Вода, мл	Композиція	Об'єм, мл
1	2	3'	4	5	6'
Глюкоза	20	21,8	1000	А	1 024
L – аспарагін	2,5	2,7			
D , L – фенілаланін	0,15	0,16			
Аденін	0,0275	0,03			
KH_2PO_4	1	1,1	44	Б	44
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,5	0,55	22	В	22
CaCl_2	0,01	0,01			
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,01	0,01			
Всього	24,2	26,4	1064		1 090

Розрахунок кількості води для приготування композицій для колб

Оскільки об'єм композицій невеликий їх стерилізують глухою парою в автоклаві, конденсат при розбавленні поживного середовища не враховуємо.

Витрати води на приготування поживного середовища для колб, мл:

$$V_{\text{В}} = V_{\text{пс4}} - G_{\text{пс4}} = 1\,090 - 26,4 = 1064 \text{ мл}$$

Витрати води на приготування композиції А, мл:

$$V_{\text{ВА}} = V_{\text{В}} \times 0,94 = 1064 \times 0,94 = 1\,000 \text{ мл}$$

Витрати води на приготування композиції Б, мл:

$$V_{\text{вБ}} = V_{\text{в}} \times 0,04 = 1064 \times 0,04 = 44 \text{ мл}$$

Витрати води на приготування композиції В, мл

$$V_{\text{вВ}} = V_{\text{в}} \times 0,02 = 1064 \times 0,02 = 22 \text{ мл}$$

4.3.2. Розрахунок кількості компонентів для приготування поживного середовища для інокулятора

Ділимо середовище на такі композиції:

- **Композиція А:** глюкоза, L – аспарагін, D , L–фенілаланін, аденін (режим стерилізації: 112-115 °С, 30 хв, P=0,05 МПа).
- **Композиція Б:** $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, CaCl_2 , KH_2PO_4 (режим стерилізації: 131 °С, 40 хв, P=0,15 МПа).

Згідно таблиці 10.7. об'єм поживного середовища становить $V_{\text{псз}} = 11,9$ л. У відповідності з прийнятим складом поживного середовища для вирощування посівного матеріалу в інокуляторі загальні витрати компонентів на $V_{\text{псз}}$ (л) складуть

$$G_{\text{ін}} = V_{\text{псз}} \cdot C_{\Sigma \text{пм}} = 11,9 \times 24,2 = 288 \text{ г}$$

Розподіл загального об'єму поживного середовища на композиції приймаємо наступний: композиція А% – 94 % ; Б%- 6%.

Відповідно об'єми композицій приймаються, л:

$$V_{\text{Аз}} = V_{\text{псз}} \times \text{А\%} = 11,9 \times 0,94 = 11,19; \text{ композиція Б } V_{\text{Бз}} = V_{\text{псз}} - V_{\text{А}} = 11,9 - 11,19 = 0,71 ;$$

Розрахунок кількості води для приготування поживного середовища для інокулятора

Кількість води визначають за наступною формулою

$$V_{\text{в}} = V_{\text{псз}} - (G_{\text{ін}}/1000) = 11,9 - (302,5/1000) = 11,6 \text{ л}$$

Витрати води на приготування композиції А

$$V_{\text{вА}} = V_{\text{в}} \times 0,94 = 11,6 \times 0,94 = 10,9 \text{ л},$$

Витрати води на приготування композиції А, із врахуванням $K_{\text{кон}} = 10$ % конденсату.

$$\text{Об'єм конденсату } V_{\text{кА}} = 10,9 \times 0,1 = 1,1 \text{ л}$$

$$V_{\text{врА}} = 10,9 - 1,1 = 9,8 \text{ л}$$

Витрати води на приготування композиції Б, л:

$$V_{\text{вБ}} = V_{\text{в}} \times 0,06 = 11,6 \times 0,06 = 0,69 \text{ л}$$

Для запобігання утворенню нерозчинних фосфатів магнію та кальцію солі композицію Б перед стерилізацією доводять до рН 4,0...4,5 0,6 н розчином хлоридної кислоти з розрахунку 2 мл на 1 л розчину. Кількість 0,6 н розчину хлоридної кислоти для підкислення композиції Б становить $0,71 \times 2 = 1,4$ мл.

Стерилізацію композицій А здійснюють в реакторі, а композиції Б здійснюють в автоклаві за рахунок малих об'ємів.

Розрахунок компонентів по композиціям наведено у таблиці 10.7.

Таблиця 10.7.

Об'єми композицій для приготування та стерилізації 11,9 л поживного середовища

Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	Вміст компонента у 11,9 л середовища, г	Вода, л	Конденсат, л	Композиція	Об'єм, л
Глюкоза	20	238	9,8	1,1	А	11,19
L – аспарагін	2,5	29,8				
D , L–фенілаланін	0,15	1,8				
Аденін	0,0275	0,33				
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0,5	6,24	0,69	0	Б	0,71
CaCl ₂	0,01	0,12				
FeSO ₄ ·7H ₂ O	0,01	0,12				
KH ₂ PO ₄	1	11,9				
Всього*		288	10,5	1,1		11,9

* - розчин мікроелементів готується і добавляється до складу кожної композиції Б для вирощування інокуляту перед стерилізацією поживного середовища.

4.3.3. Розрахунок кількості компонентів для приготування поживного середовища для посівного апарату

Ділимо середовище на такі композиції:

- **Композиція А:** глюкоза, L – аспарагін, D , L–фенілаланін, аденін (режим стерилізації: 112-115 °С, 30 хв, P=0,05 МПа).
- **Композиція Б:** MgSO₄·7H₂O, FeSO₄·7H₂O, CaCl₂, KH₂PO₄ (режим стерилізації: 131 °С, 40 хв, P=0,15 МПа).

Згідно таблиці 10.7. об'єм поживного середовища становить $V_{\text{пс2}} = 124,3$ л. У відповідності з прийнятим складом поживного середовища для вирощування посівного матеріалу в посівному апараті загальні витрати компонентів на $V_{\text{пс2}}$ (л) складуть

$$G_{\text{па}} = V_{\text{пс2}} \cdot C_{\Sigma \text{пм}} = 124,3 \times 24,2 = 3008 \text{ г} = 3,0 \text{ кг}$$

Розподіл загального об'єму поживного середовища на композиції приймаємо наступний: композиція А% – 94 % ; Б%- 6%.

Відповідно об'єми композицій приймаються, л:

$$V_{\text{А2}} = V_{\text{пс2}} \times \text{А\%} = 124,3 \times 0,94 = 116,8; \text{ композиція Б } V_{\text{Б2}} = 124,3 - 116,8 = 7,46 ;$$

Розрахунок кількості води для приготування поживного середовища для інокулятора

Кількість води визначають за наступною формулою

$$V_{\text{в}} = V_{\text{пс2}} - G_{\text{па}} = 124,3 - 3,0 = 121,3 \text{ л}$$

Витрати води на приготування композиції А

$$V_{\text{вА}} = V_{\text{в}} \times 0,94 = 121,3 \times 0,94 = 114 \text{ л},$$

Витрати води на приготування композиції А, із врахуванням $K_{\text{кон}} = 10 \%$ конденсату.

$$\text{Об'єм конденсату } V_{\text{кА}} = 114 \times 0,1 = 11,4 \text{ л}$$

$$V_{\text{врА}} = 114 - 11,4 = 102,6 \text{ л}$$

Витрати води на приготування композиції Б,

$$V_{\text{вБ}} = V_{\text{в}} - V_{\text{вА}} = 121,3 - 114 = 7,3 \text{ л}$$

Витрати води на приготування композиції Б, із врахуванням $K_{\text{кон}} = 10 \%$ конденсату.

$$\text{Об'єм конденсату } V_{\text{кБ}} = 7,3 \times 0,1 = 0,73 \text{ л}$$

$$V_{\text{врБ}} = 7,3 - 0,73 = 6,6 \text{ л}.$$

Композицію Б підкислюють 0,6 н нестерильним розчином соляної кислоти з розрахунку 2 мл на 1 л розчину. Кількість 0,6 н розчину соляної кислоти для підкислення композиції В становить $7,5 \times 2 = 15$ мл. Після стерилізації поживне середовище в посівному апараті підлучають до оптимального рівня культивування продуцента ($\text{pH}=5,0$) попередньо простерилізованим 0,6 н розчином гідроксиду натрію.

Розрахунок компонентів по композиціям наведено у таблиці 10.8.

Таблиця 10.8.

Об'єми композицій для приготування та стерилізації 124 л поживного середовища

Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	Вміст компонента у 124,3 л середовища, кг	Вода, л	Конденсат, л	Композиція	Об'єм, л
Глюкоза	20	2,49	102,6	11,4	А	116,8
L – аспарагін	2,5	0,31				
D, L – фенілаланін	0,15	0,019				
Аденін	0,0275	0,0034				
KH_2PO_4	1	0,124	6,6	0,73	Б	7,5
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,5	0,062				
CaCl_2	0,01	0,0012				
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,01	0,0012				
Разом*	кг	3, 0	109,2	12,1		124,3

* розчин мікроелементів готується і добавляється до складу кожної композиції Б для вирощування інокуляту перед стерилізацією поживного середовища.

Композицію А готують та стерилізують в окремому реакторі і після цього передають у посівний апарат. Композицію Б готують та стерилізують в 10 л реакторі і після охолодження передають до 250 л посівного апарата. Розчин мікроелементів додають в посівний апарат перед стерилізацією композиції Б.

4.3.4. Розрахунок кількості компонентів для приготування поживного середовища для виробничого біосинтезу

Середовище ділять на такі композиції:

- **Композиція А:** глюкоза, крохмаль, дріжджовий екстракт, D , L–фенілаланін, аденін (режим стерилізації: 112-115 °C, 30 хв, P=0,05 МПа).
- **Композиція Б:** $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, KH_2PO_4 , CaCl_2 , $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (режим стерилізації: 131 °C, 40 хв, P=0,15 МПа, pH 4,0–4,5).
- **Композиція В:** $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (режим стерилізації: 131 °C, 40 хв, P=0,15 МПа).
- **Композиція Г:** 2,5-ксилідин у 50% розчині етанолу (холодна стерилізація мікрофільтрацією).

Згідно таблиці 10.7. об'єм поживного середовища становить $V_{\text{пс1}} = 1\,227$ л. У відповідності з прийнятим складом поживного середовища для проведення виробничого біосинтезу в ферментері загальні витрати компонентів на $V_{\text{пс1}}$ (л) складуть

$$G_{\text{пф}} = V_{\text{пс1}} \cdot C_{\Sigma \text{пм1}} = 1\,227 \times 29,32 = 35\,853 \text{ г} = 35,98 \text{ кг}$$

Розподіл загального об'єму поживного середовища на композиції приймаємо наступний: композиція А% – 94 % ; Б%- 6%.

Відповідно об'єми композицій приймаються, л:

$$V_{\text{А1}} = V_{\text{пс1}} \text{А\%} = 1\,227 \times 0,94 = 1154 ; \text{ композиція Б } V_{\text{Б1}} = 1227 - 1154 = 73 ;$$

До композиції Г входить термолабільна речовина 2,5-ксилідин, яку необхідно розчинити у 1,85 л 50 % етанолу і стерилізувати «холодною стерилізацією» мікрофільтром з діаметром пор не більше 0,22 мкм. Розчин добавляється до культуральної рідини на 96 години біосинтезу. Кількість розчину 2,5-ксилідину – $V_{\text{кс}} = 2$ л .

Відповідно об'єм поживного середовища для розчинення інших компонентів складе

$$G_{\text{ф1}} = 35,84 \text{ кг}$$

$$V_{\text{пс}} = V_{\text{пс1}} - V_{\text{кс}} = 1227 - 2 = 1\,225 \text{ л}$$

Розрахунок кількості води для приготування поживного середовища для ферментера

Кількість води визначають за наступною формулою

$$V_{\text{в}} = V_{\text{пс1}} - G_{\text{ф1}} = 1225 - 35,84 = 1189 \text{ л}$$

Витрати води на приготування композиції А

$$V_{\text{вА}} = V_{\text{в}} \times 0,94 = 1189 \times 0,94 = 1118 \text{ л},$$

Витрати води на приготування композиції А, із врахуванням $K_{\text{кон}} = 10$ % конденсату.

$$\text{Об'єм конденсату } V_{\text{кА}} = 1118 \times 0,1 = 111,8 \text{ л}$$

$$V_{\text{врА}} = 1118 - 111,8 = 1006,2 \text{ л}$$

Витрати води на приготування композиції Б,

$$V_{\text{вБ}} = V_{\text{в}} - V_{\text{вА}} = 1189 - 1118 = 71 \text{ л}$$

Витрати води на приготування композиції Б, із врахуванням $K_{\text{кон}} = 10 \%$ конденсату.

$$\text{Об'єм конденсату } V_{\text{кБ}} = 71 \times 0,1 = 7,1 \text{ л}$$

$$V_{\text{врБ}} = 71 - 7,1 = 63,9 \text{ л}$$

Розрахунок компонентів по композиціям наведено у таблиці 10.9.

Таблиця 10.9.

Об'єми композицій для приготування та стерилізації 1,227 л поживного середовища

Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	Вміст компонента у 1227 л середовища, кг	Вода, л	Конденсат, л	Композиція	Об'єм, л
Глюкоза	10	12,3	1006,2	111,8	А	1154
Крохмаль	15	18,4				
Дріжджовий екстракт	2,5	3,1				
D, L-фенілаланін	0,15	0,18				
Аденін	0,0275	0,03				
KH_2PO_4	1	1,23	63,9	7,1	Б	73
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,5	0,61				
CaCl_2	0,01	0,012				
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,01	0,012				
$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	0,001	0,0012				
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,001	0,0012				
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0,001	0,0012	0,05	0	В	0,051
Разом:		35,84	1 070	119		1 225

Крохмаль композиції А попередньо необхідно заварити. Крохмаль суспендується у холодній воді, потім його нагрівають до температури 70 – 80 °С і, витримуючи при такій температурі упродовж 20 – 30 хв., проводять розварювання. Далі додають глюкозу та проводять стерилізацію в окремому реакторі.

Солі композиції Б змішують з хлоридною кислотою і розчиняють і стерилізують в реакторі об'ємом 100 л, після цього передають у ферментер.

Композицію Б підкислюють 0,6 н нестерильним розчином хлоридної кислоти з розрахунку 2 мл на 1 л розчину і становить $73 \times 2 = 146$ мл. Після стерилізації поживне середовище у ферментері підключають до оптимального рівня культивування продуцента ($\text{pH}=5,0$) попередньо простерилізованим 0,6 н розчином гідроксиду натрію. Композиція В готується окремо, оскільки вона додається на 4 день культивування.

4.3.5. Розрахунок мікроелементів для вирощування інокуляту

Для вирощування інокуляту окремо готується 100 мл концентрованого розчину мікроелементів в розрахунку на 3 стадії. Це робиться у зв'язку з тим, що кількість таких мікроелементів як: $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$; $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ - є досить незначною. В таблиці 10.10. представлено розрахунок розчину мікроелементів для різних стадій вирощування посівного матеріалу.

Таблиця 10.10.

Розрахунок кількості мікроелементів для різних об'ємів поживного середовища при вирощуванні посівного матеріалу

Об'єм середовища, л	$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, г	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, г	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, г	Заг. маса, г	Об'єм, мл
1,16	0,001	0,001	0,002	0,004	1
12,5	0,0125	0,0125	0,025	0,05	9
123,9	0,124	0,124	0,247	0,495	90
Разом	0,137	0,137	0,274	0,548	100

10.5. Розділ 5. Матеріальний баланс доферментаційних стадій та виробничого біосинтезу та розрахунок технологічного обладнання для приготування і стерилізації поживного середовища (ПС)

10.5.1. Таблиця матеріального балансу

У даному розділі представлені результати продуктового розрахунку матеріальних потоків доферментаційних стадій та виробничого біосинтезу в узгальнюючій таблиці матеріального балансу (таблиця 10.11.).

Таблиця 10.11.

Матеріальний баланс доферментаційних стадій

№ з/п	Використано		Отримано	
	Назва сировини і напівпродукту, стадії	Кількість, кг, дм ³	Назва кінцевого продукту, відходів та втрат	Кількість, кг, дм ³
1	2	3	4	5
1.	ПРИГОТУВАННЯ ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА КОЛБ, г, см ³			
1.1.	Глюкоза	21,80	Нестерильне ПС	1090
1.2.	L – аспарагін	2,727		
1.3.	D , L–фенілаланін	0,164		
1.4.	Аденін (гор.вода)	0,030		

Продовження таблиці 10.11.

1.5.	KH ₂ PO ₄	1,09		
1.6.	MgSO ₄ ·7H ₂ O	0,545		
1.7.	FeSO ₄ ·7H ₂ O	0,011		
1.8.	CaCl ₂	0,011		
1.9.	Вода	1064		
	Всього	1 090	Всього	1090
2.	СТЕРИЛІЗАЦІЯ ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА В АВТОКЛАВІ, см ³			
2.1.	Нестерильне ПС	1 090	Стерильне ПС	1 090
	Всього	1 090	Всього	1 090
3.	ОТРИМАННЯ ПОСІВНОГО МАТЕРІАЛУ В КАЧАЛОЧНИХ КОЛБАХ, г, см ³			
3.1.	Стерильне ПС	1090	Посівний матеріал	1200
3.2.	Посівний матеріал з колб	110		
3.3.	Втрати (частка)	0,00		0
	Всього	1200		1200
4.	ПРИГОТУВАННЯ ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА ДЛЯ ІНОКУЛЯТОРА, кг, дм ³			
4.1.	Глюкоза	0,238	Нестерильне ПС	11,3
4.2.	L – аспарагін	0,030		
4.3.	D , L–фенілаланін	0,002		
4.4.	Аденін (гор.вода)	0,0003		
4.5.	KH ₂ PO ₄	0,012		
4.6.	MgSO ₄ ·7H ₂ O	0,006		
4.7.	FeSO ₄ ·7H ₂ O	0,0001		
4.8.	CaCl ₂	0,0001		
4.9.	Вода	11,02		
	Всього	11,3	Всього	11,3
5.	СТЕРИЛІЗАЦІЯ ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА, дм ³			
5.1.	Нестерильне ПС	11,3	Стерильне ПС	11,9
5.2.	Пара (конденсат)	0,58	(втрат немає)	0
	Всього	11,9	Всього	12
6.	ОТРИМАННЯ ПОСІВНОГО МАТЕРІАЛУ В ІНОКУЛЯТОРІ, дм ³			
6.1.	Стерильне ПС	11,9	Посівний матеріал	12,4
6.2.	Посівний матеріал	1,2		
6.3.	Втрати (частка)	0,05	Втрати (кількість)	0,66
	Всього	13,1	Всього	13,1
7.	ПРИГОТУВАННЯ ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА ДЛЯ ПОСІВНОГО АПАРАТА, кг, дм ³			
7.1.	Глюкоза	2,486	Нестерильне ПС	112,2
7.2.	L – аспарагін	0,311		
7.3.	D , L–фенілаланін	0,019		

Продовження таблиці 10.11.

7.4.	Аденін (гор.вода)	0,004		
7.5.	KH ₂ PO ₄	0,124		
7.6.	MgSO ₄ ·7H ₂ O	0,062		
7.7.	FeSO ₄ ·7H ₂ O	0,001		
7.8.	CaCl ₂	0,001		
7.9.	Вода	109,2		
	Всього	112,2	Всього	112,2
8.	СТЕРИЛІЗАЦІЯ ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА			
8.1.	Нестерильне ПС	112,2	Стерильне ПС	124,3
8.2.	Пара (конденсат)	12,1	(втрат немає)	0
	Всього	124,3	Всього	124,3
9.	ОТРИМАННЯ ПОСІВНОГО МАТЕРІАЛУ В ПОСІВНОМУ АПАРАТІ,(кг, л)			
9.1.	Стерильне ПС	124,3	Посівний матеріал	123,0
9.2.	Посівний матеріал	12,4		
9.3.	Втрати (частка)	0,10	Втрати (кількість)	13,7
	Всього	136,7	Всього	136,7
7.	ПРИГОТУВАННЯ ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА ДЛЯ ФЕРМЕНТЕРА, кг, дм ³			
7.1.	Глюкоза	12,27	Нестерильне ПС	1 106
7.2.	Крохмаль	18,41		
7.3.	Дріжджовий екстракт	3,068		
7.4.	D , L-фенілаланін	0,184		
7.5.	Аденін	0,037		
7.6.	KH ₂ PO ₄	1,227		
7.7.	MgSO ₄ ·7H ₂ O	0,614		
7.8.	CaCl ₂	0,012		
7.13.	Вода	1070		
	Всього	1106	Всього	1 106,0
14.	СТЕРИЛІЗАЦІЯ ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА ДЛЯ ФЕРМЕНТЕРА, дм ³ ,			
14.1.	Нестерильне поживне середовище	1 106	Стерильне поживне середовище	1 225
14.2.	Пара (конденсат)	119		
	Всього	1 225	Всього	1 225
15.	ВИРОБНИЧИЙ БІОСИНТЕЗ, дм ³			
15.1.	Стерильне ПС	1 225	КР на фільтрацію	1 134
15.2.	2,5- ксилідин	2		
15.3.	Посівний матеріал	123		
	Втрати (частка)	0,16	Втрати (кількість)	216
	Всього	1 350	Всього	1 350

10.5.2. Розрахунок об'ємів реакторів-змішувачів для приготування та стерилізації поживного середовища по стадіям доферментаційних процесів та виробничого біосинтезу

Для розрахунку об'ємів використовуємо показники об'ємів композицій, наведені у таблицях 10.6-10.9.

Проводимо розрахунок наближеного геометричного об'єму реактора $V_{\text{нр}}$ при прийнятому коефіцієнті заповнення $K_{\text{зр}} = 0,7-0,85$. За розрахованим значенням $V_{\text{нр}}$ по таблиці (Додаток 1) підбираємо найближчий за об'ємом стандартний реактор $V_{\text{ср}}$. Робимо перевірку на відповідність прийнятого значення $K_{\text{зр}}$ прийнятому діапазону.

$$V_{\text{нр}} = V_{\text{А}}/K_{\text{зр}}; K_{\text{зу}} = V_{\text{А}}/V_{\text{ср}}, \text{ де } V_{\text{А}} - \text{об'єм композиції.}$$

Результати розрахунку представлені у таблиці 10.12.

Таблиця 10.12.

Результати розрахунку ємністої апаратури для приготування та стерилізації поживного середовища

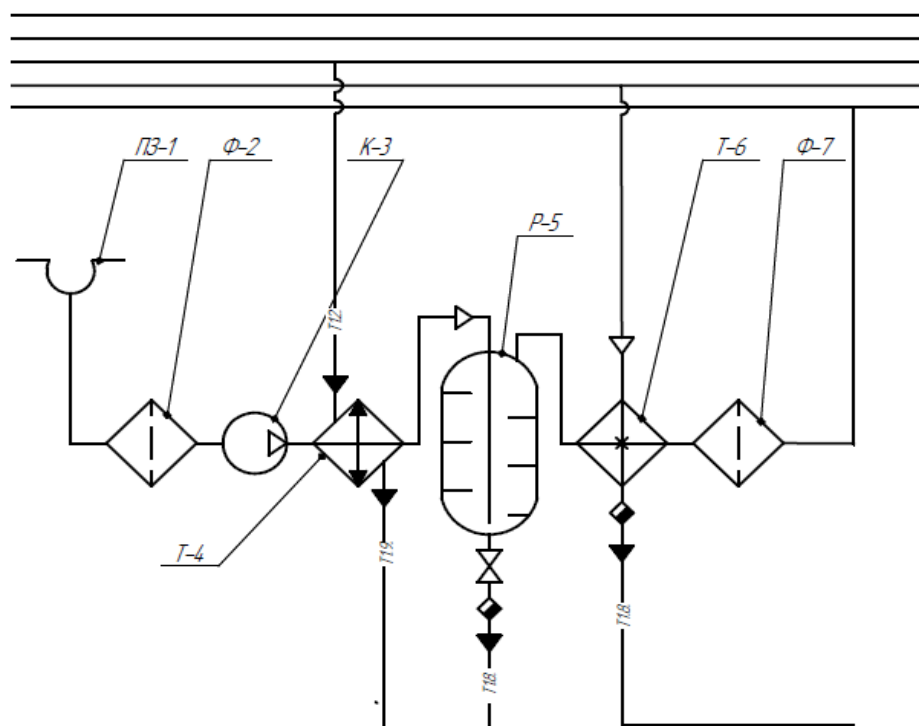
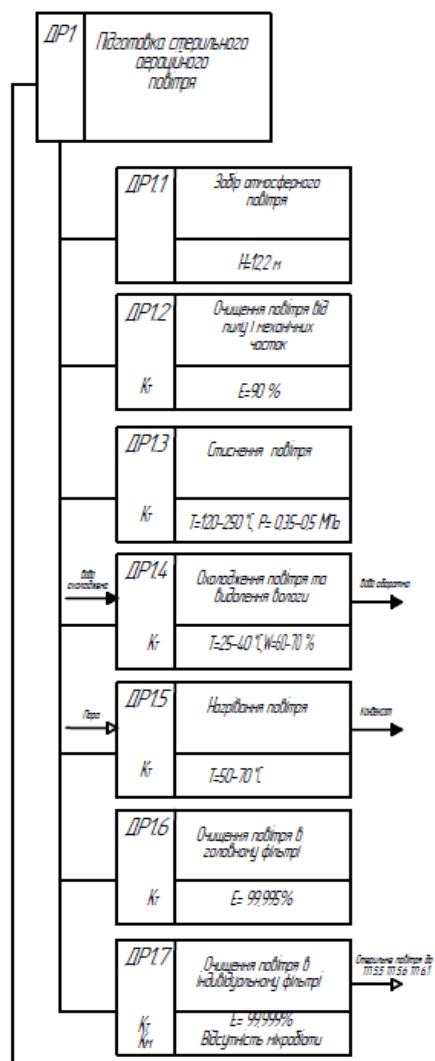
1.	Тип основного апарата	Об'єм композиції, $V_{\text{А}}, \text{дм}^3$	Прийняте значення, $K_{\text{зр}}$	Наближений об'єм апарата $V_{\text{нр}}, \text{дм}^3$	Стандартний об'єм апарата, $V_{\text{ср}}, \text{дм}^3$	Уточнене значення, $K_{\text{зу}}$
	Ферментер					
	Композиція А	1154	0,75	1539	1600	0,72
	Композиція Б	73	0,75	97	100	0,73
2.	Посівний апарат					
	Композиція А	116,8	0,75	156	160	0,73
	Композиція Б	7,5	0,75	10	10	0,75
3.	Інокулятор					
	Композиція А	11,19	0,75	15	15	0,75

Приклади оформлення фрагментів технологічної та апаратурної схем доферментаційних стадій біотехнологічного процесу і процесу виробничої ферментації, а також приклади komponування загальної структури технологічної і апаратурної схем неведені у додатках 2-6.

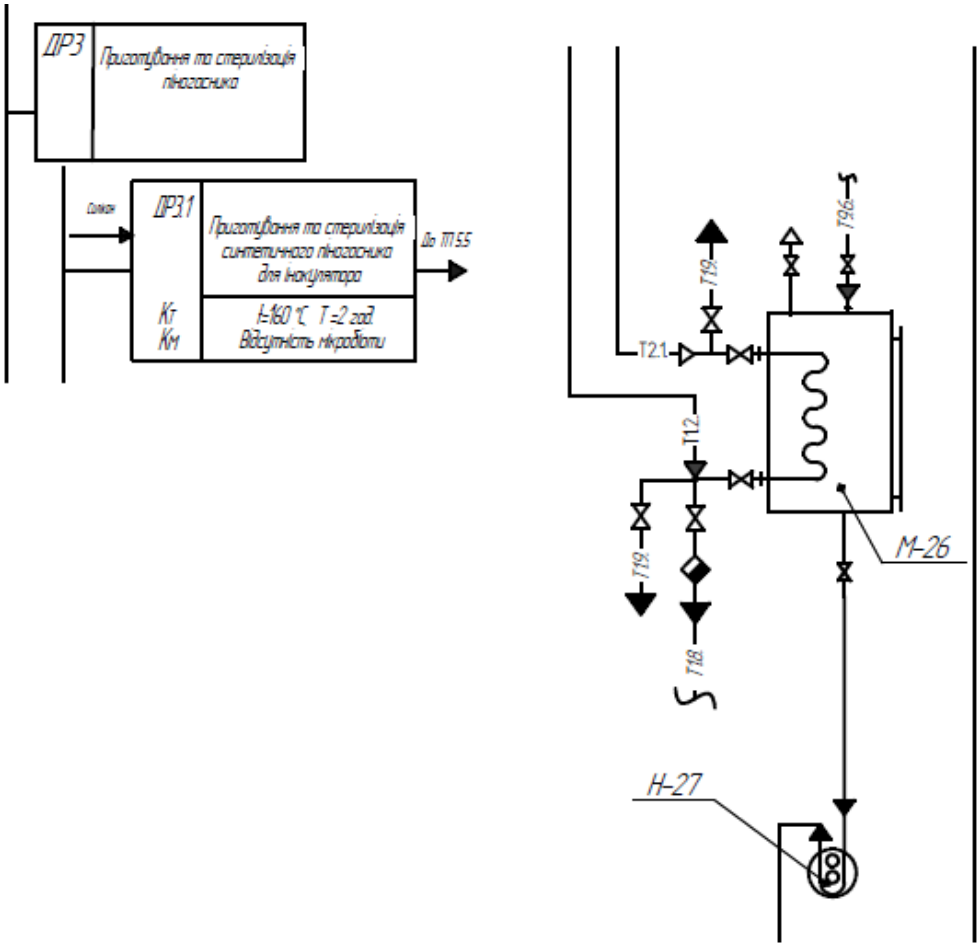
Технічні характеристики ферментерів

Номінальний об'єм, мЗ	Внутрішній діаметр апарата, мм	Потужність приводу, кВт	Частота обертання, хв ⁻¹
0,01	250	0,25-0,75	25-1500
0,02	300	0,25-0,75	25-1500
0,03	350	0,25-0,75	25-1500
0,04	400	0,75-1,5	25-1500
0,06	400	0,75-1,5	20-1500
0,10	500	0,75-3,0	20-1500
0,16	600	0,75-5,5	20-1500
0,25	700	0,75-7,5	16-1250
0,40	800	0,75-11,0	16-1000
0,63	800;1000	0,75-11,0	16-1000
1,00	1000;1200	1,5-15	12,5-750
1,25	1000;1200	1,5-15	12,5-750
1,60	1000;1200	1,5-18,5	12,5-750
2,00	1200;1400	1,5-15	10-750
2,50	1200;1400	1,5-22	10-750
3,20	1200;1600	1,5-30	10-750
4,00	1400;1600	1,5-30	10-750
5,00	1400;1800	1,5-37	8-500
6,30	1600;1800	1,5-45	8-500
8,00	1600;2000	1,5-45	8-500
10,00	1800;2200	1,5-55	8-500
12,50	1800;2400	1,5-55	8-500
16,00	2000;2400;2800	3,0-55	8-500
20,00	2200;2600;3000	3,0-75	6-500
25,00	2400;2800;3200	3,0-90	5-400
32,00	2600;3000;3400	3,5-90	5-400
40,00	2800;3200;3600	3,5-90	5-400
50,00	3000;3400;4000	7,5-110	5-320
63,00	3600;4000;4500	7,5-132	5-250
80,00	3200;3600;4000; 4500;5000	11-132	5-250
100,00	3600;4000;4500;5 000	11-132	5-200

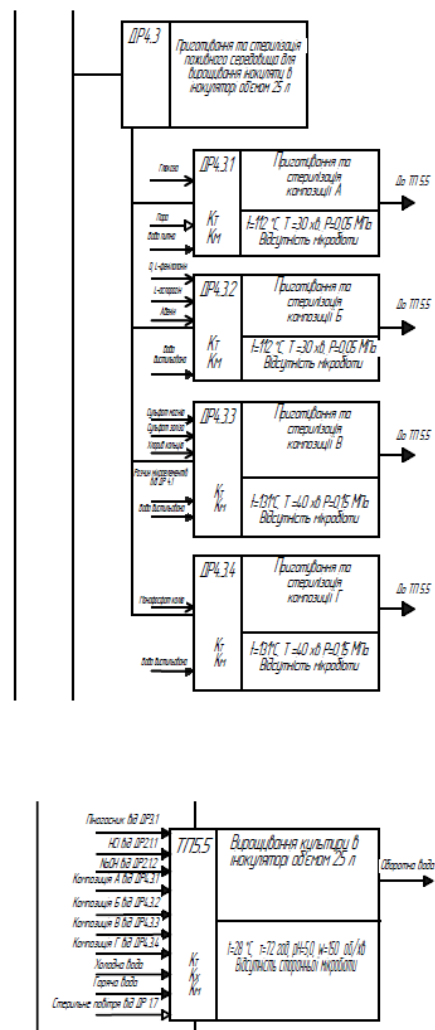
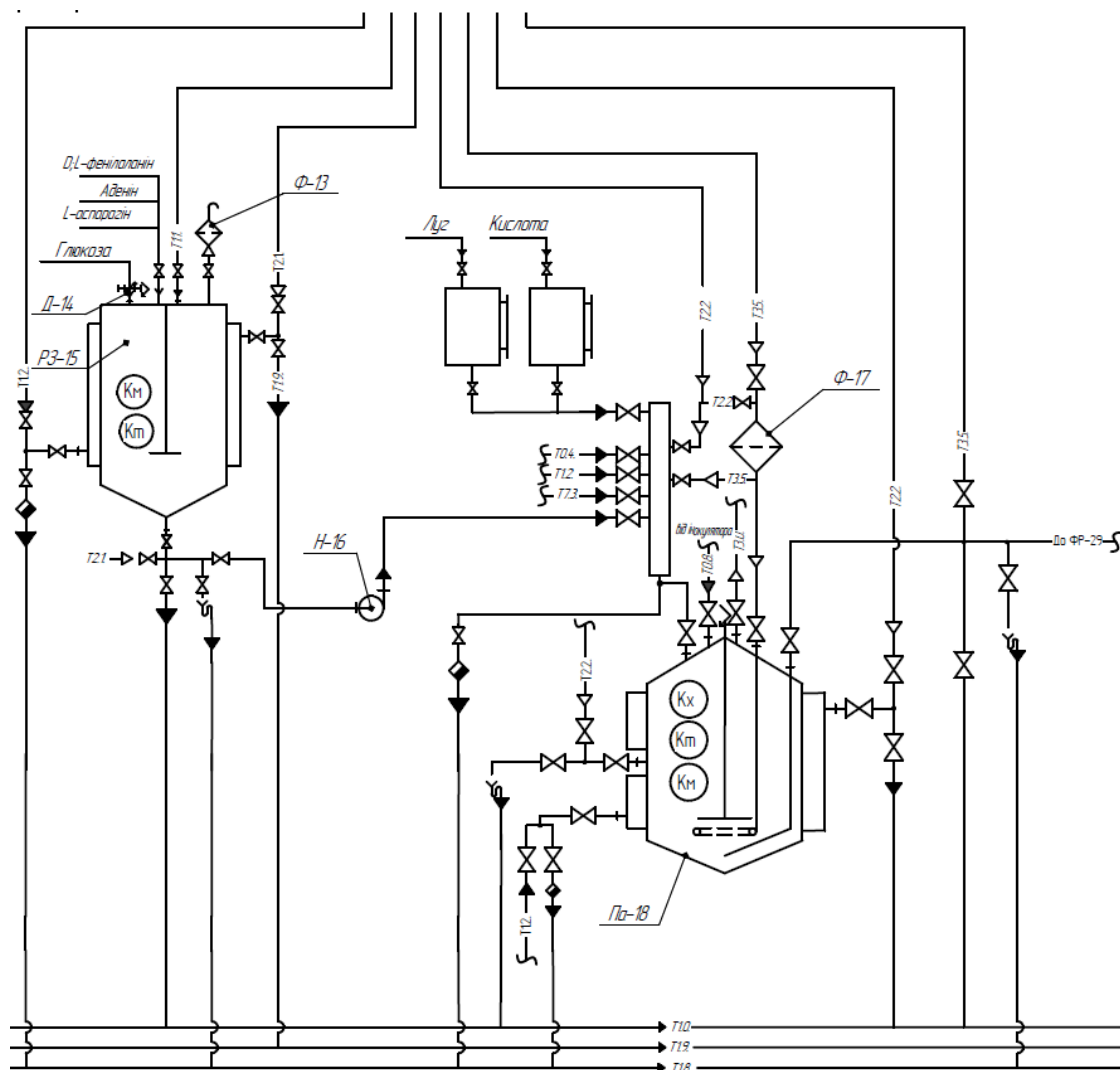
Зображення стадій підготовки аераційного повітря на технологічній і апаратурній схемах



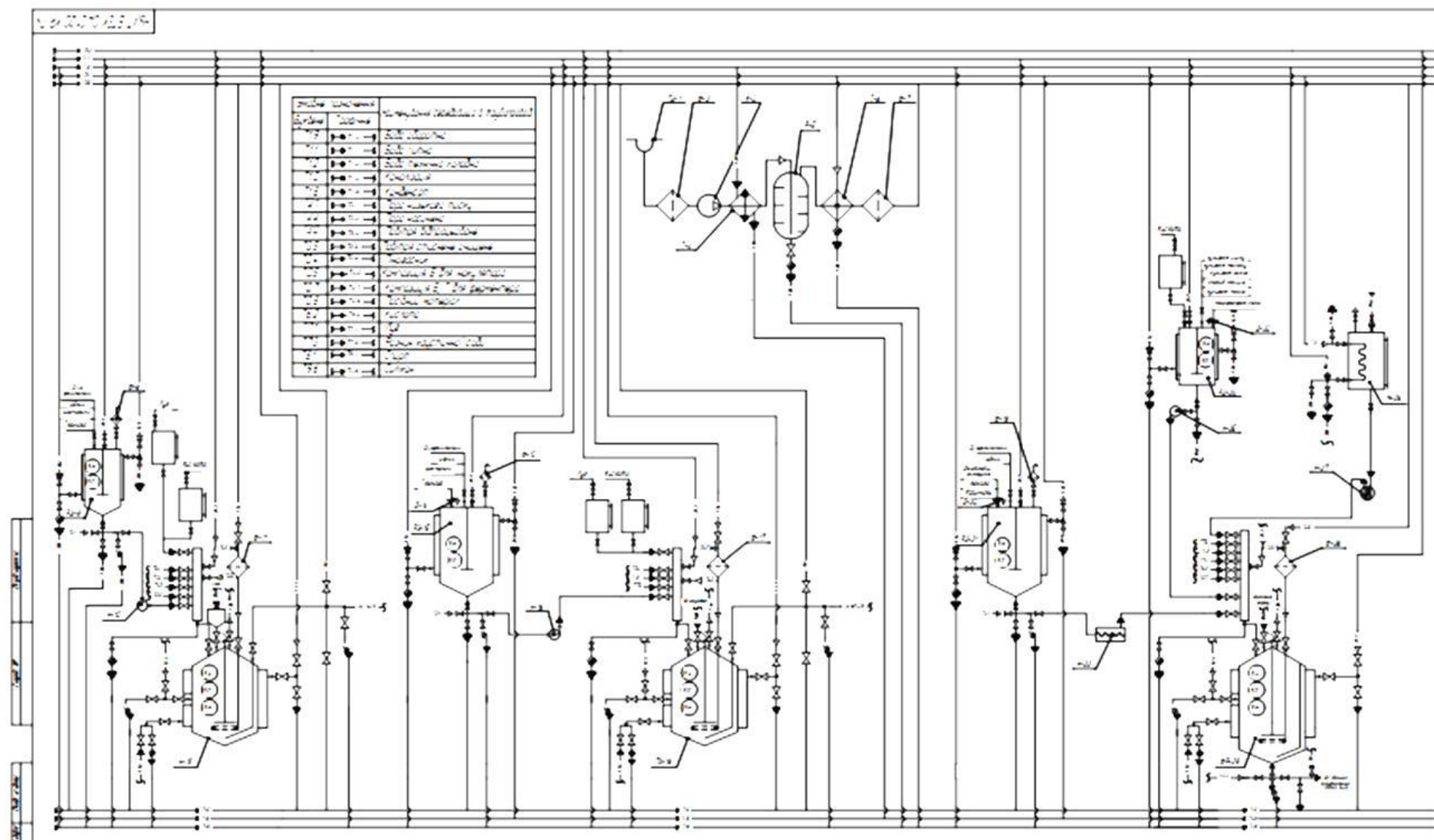
Зображення стадій підготовки піногасника на технологічній і апаратурній схемах



Зображення стадій підготовки поживного середовища і посівного матеріалу на технологічній і апаратурній схемах



Приклад компановки апаратурної схеми



УДК 663.1; 602.42-7; (075.8)

© Ю.В. Карлаш,
В.О. Красінько, 2022
© НУХТ, 2022

ISBN ISBN 978-966-612-278-3

Е л е к т р о н н е н а в ч а л ь н е в и д а н н я

Карлаш Юрій Васильович
Красінько Вікторія Олегівна

Основи проєктування біотехнологічних виробництв

Навчальний посібник

Подано в авторській редакції

НУХТ 01601 Київ-33, вул. Володимирська, 68

elibrary.nuft.edu.ua

Свідоцтво про реєстрацію серія ДК №1786 від 18.05.2004 р.