

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

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

**«До захисту в ЕК»**  
Директор інституту(декан факультету)  
Наталія ГРЕГІРЧАК  
(підпис) (ім'я та прізвище)

«\_\_» \_\_\_\_\_ 20\_\_ р.

**«До захисту допущено»**  
Завідувач кафедри  
Віктор СТАБНІКОВ  
(підпис) (ім'я та прізвище)

«\_\_» \_\_\_\_\_ 20\_\_ р.

**КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА**  
**НА ЗДОБУТТЯ ОСВІТНЬОГО СТУПЕНЯ БАКАЛАВРА**

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

освітньо-професійної програми біотехнології: фармацевтична, промислова, харчова, природоохоронна

на тему: Культивування *Lactobacillus delbrueckii* для виробництва молочної кислоти

Виконав: здобувач 5 курсу, групи 1

ПРИСІДКО Анастасія Олександрівна  
(прізвище, ім'я, по батькові повністю) (підпис)

Керівник УДИМОВИЧ Віктор Миколайович  
(прізвище, ім'я та по батькові повністю) (підпис)

Консультанти \_\_\_\_\_  
(ім'я та прізвище) (підпис)

\_\_\_\_\_ (ім'я та прізвище) (підпис)

\_\_\_\_\_ (ім'я та прізвище) (підпис)

Рецензент Олексій ГОДОВСЬКИЙ  
(ім'я та прізвище) (підпис)

Я як здобувач(ка) Національного університету харчових технологій розумію і підтримую політику університету з академічної доброчесності. Я не надавав(-ла) і не одержував(-ла) недозволеної допомоги під час підготовки цієї роботи. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

Здобувач \_\_\_\_\_  
(підпис)

**Київ – 2025 р.**

# НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ

Інститут (факультет) Біотехнології та екологічного контролю  
Кафедра біотехнології і мікробіології  
Освітній ступінь бакалавр  
Спеціальність 162 «Біотехнології та біоінженерія»  
(код і назва)  
Освітньо-професійна програма «Біотехнології: фармацевтична, промислова, харчова, природоохоронна»  
(назва)

**ЗАТВЕРДЖУЮ**

Завідувач кафедри біотехнології і мікробіології

Віктор СТАБНІКОВ  
“ 01 ” листопада 2024 року

## ЗАВДАННЯ

### НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ ЗДОБУВАЧА

ПРИСІДКО Анастасії Олександрівни

(прізвище, ім'я, по батькові)

1. Тема роботи Культивування *Lactobacillus delbrueckii* для виробництва молочної кислоти

керівник роботи УДИМОВИЧ Віктор Миколайович, PhD з біотехнологій та біоінженерії, ст. викл.

(прізвище, ім'я, по батькові, науковий ступінь, вчене звання)

затверджені наказом закладу вищої освіти від 05 листопада 2024 року № 932-к

2. Строк подання здобувачем роботи 31 січня 2025 р.

3. Вихідні дані до роботи біологічний агент: *Lactobacillus delbrueckii*, цільовий продукт: молочна кислота, об'єм ферментера 1,0 м<sup>3</sup>, коефіцієнт заповнення 0,7

4. Зміст пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно розробити) Характеристика молочної кислоти. Обґрунтування вибору та характеристика біологічного агента. Техніко-економічне обґрунтування молочної кислоти. Обґрунтування вибору технологічної схеми виробництва молочної кислоти. Специфікація обладнання виробництва молочної кислоти. Опис технологічної схеми виробництва молочної кислоти. Контроль виробництва емоолочної кислоти. Охорона довкілля

5. Перелік графічного матеріалу

Технологічна схема виробництва молочної кислоти – 1 аркуш формату А1 та апаратурна схема виробництв молочної кислоти – 1 аркуш формату А1.

## 6. Консультанти розділів роботи

Розділ	Прізвище, ініціали та посада консультанта	Підпис, дата	
		завдання ви- дав	завдання прийняв

7. Дата видачі завдання 01 листопада 2024 року

## КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№	Назва етапів виконання кваліфікаційної роботи	Строк виконання етапів роботи	Примітка
1	Характеристика молочної кислоти	01.11.2024- 18.11.2024	
2	Обґрунтування вибору та характеристика біологічного агента	19.11.2024- 25.11.2024	
3	Техніко-економічне обґрунтування молочної кислоти	25.11.2024- 01.12.2024	
4	Обґрунтування вибору технологічної схеми виробництва молочної кислоти	27.11.2024- 11.12.2024	
5	Біосинтез цільового продукту	27.11.2024- 11.12.2024	
6	Специфікація обладнання виробни молочної кислоти	13.12.2024- 18.12.2024	
7	Опис технологічної схеми біосинтезу молочної кислоти	18.12.2024- 25.12.2024	
8	Контроль виробництва молочної кислоти	05.01.2024- 16.01.2024	
9	Охорона довкілля	17.01.2024- 24.01.2024	
10	Оформлення пояснювальної записки	26.01.2024- 30.01.2024	
11	Виконання графічної частини проекту	19.01.2024- 30.01.2024	

**Здобувач**

\_\_\_\_\_ (підпис)

**Анастасія ПРИСІДКО**

\_\_\_\_\_ (ім'я та прізвище)

**Керівник роботи**

\_\_\_\_\_ (підпис)

**Віктор УДИМОВИЧ**

\_\_\_\_\_ (ім'я та прізвище)

## РЕФЕРАТ

Кваліфікаційна робота присвячена розробці технологічної та апаратурної схем біосинтезу молочної кислоти *Lactobacillus delbrueckii*, який синтезує 161,93 г/л молочної кислоти. Молочну кислоту пропонується використовувати для виробництва лактату натрію, що є одним із компонентів кровозамінних лікарських засобів.

Розрахована потужність біотехнологічного виробництва складає 1806,9 кг молочної кислоти на рік. Технологічна схема біосинтезу молочної кислоти включає допоміжні роботи (підготовка стерильного аераційного повітря, підготовку і стерилізацію титрувального розчину  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ , освітлення розчину меляси, приготування і стерилізація розчину підживлення мікроелементів, а також приготування та стерилізацію поживних середовищ), а також безпосередньо технологічний процес (чотири стадії вирощування посівного матеріалу (у колбах на качалках, в інкуляторах об'ємом 10 л, 100 л) та біосинтез у ферментері об'ємом 1,0 м<sup>3</sup> із коефіцієнтом заповнення 0,7).

Кваліфікаційна робота складається зі вступу, дев'яти розділів, списку використаної літератури (51 найменування), технологічної (формат А1) та апаратурної (формат А1) схем. Загальний обсяг роботи – 82 сторінки, 19 таблиць, 7 рисунків.

**Ключові слова:** молочна кислота, лактат натрію, *Lactobacillus delbrueckii*, біосинтез, кровозамінні лікарські засоби, технологічна схема, апаратурна схема, лікарські засоби.

## ABSTRACT

The qualification work is devoted to the development of technological scheme and manufacturing flow chart for the lactic acid biosynthesis by *Lactobacillus delbrueckii*, which produces 161.93 g/l of lactic acid. Lactic acid is proposed to be used for the production of sodium lactate, which is one of the components of blood substitute drugs.

The estimated capacity of biotechnological production is 1806.9 kg of lactic acid per year. The technological scheme of lactic acid biosynthesis includes preparation of sterile aeration air, preparation and sterilization of  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  solution for pH control, molasses solution lighting, preparation and sterilization of a stock solution of microelement, preparation and sterilization of seed and fermentation media, technological process (three stages of growing seed material (for flask culture, in 10 L, 100 L inoculators) and fermentation in a fermenter 1.0 m<sup>3</sup> with a filling factor of 0.7.

The qualification work consists of an introduction, nine sections, a references (51 items), technological scheme (A1format) and manufacturing flow chart (A1format). The total volume of the work is 85 pages, 19 tables, 7 figures.

Keywords: lactic acid, sodium lactate, *Lactobacillus delbrueckii*, biosynthesis, blood substitutes, technological scheme, manufacturing flow chart, medicinal product.

## ЗМІСТ

РЕФЕРАТ .....	4
ABSTRACT .....	5
ЗМІСТ .....	6
ВСТУП .....	8
РОЗДІЛ 1. ХАРАКТЕРИСТИКА МОЛОЧНОЇ КИСЛОТИ.....	10
1.1 Хімічні властивості .....	10
РОЗДІЛ 2. ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТА ХАРАКТЕРИСТИКА БІОЛОГІЧНОГО АГЕНТА.....	13
2.1. Обґрунтування вибору біологічного агента та поживного середовища для його культивування.....	13
2.2. Розрахунок складу поживного середовища .....	19
2.3. Морфолого-культуральні та фізіолого-біохімічні ознаки біологічного агента	21
2.4. Таксономічний статус біологічного агента .....	23
РОЗДІЛ 3. ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ.....	25
3.1. Потреба у цільовому продукті .....	25
3.2. Обрахунок загальної потужності виробництва молочної кислоти .....	28
3.3. Розрахунок загальної кількості циклів проєктованого виробництва молочної кислоти та об'єму виробничого ферментера.....	28
3.4. Розрахунок кількості необхідних етапів для підготовки посівного матеріалу	29
РОЗДІЛ 4. БІОСИНТЕЗ ЦІЛЬОВОГО ПРОДУКТУ .....	33
РОЗДІЛ 5. ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ.....	36
5.1. Обґрунтування способу культивування і типу ферментера .....	36
5.2. Обґрунтування вибору стадії підготовки аераційного повітря .....	36
5.3 Вибір мийних та дезінфікуючих засобів .....	37
5.4 Особливості підготовки та стерилізації поживного середовища.....	45
5.4.1 Особливості підготовки і стерилізації поживного середовища для одержання інокуляту в колбах на качалках .....	46
2.2.2. Особливості підготовки і стерилізації поживного середовища для виращування інокуляту в посівних апаратах .....	47

2.2.3. Особливості підготовки і стерилізації поживного середовища для виробничого біосинтезу.....	48
2.3. Обґрунтування вибору розчинів для регуляції рН .....	49
РОЗДІЛ 6. СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ .....	50
РОЗДІЛ 7. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ. ....	53
РОЗДІЛ 8. КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА .....	61
8.1. Мікробіологічний контроль .....	61
8.2. Визначення концентрації біомаси .....	62
8.3. Визначення концентрації джерела азоту (кукурудзяного екстракту) .....	62
8.4. Визначення концентрації молочної кислоти.....	63
8.5. Визначення концентрації джерела вуглецю (меляси) .....	63
РОЗДІЛ 9 ОХОРОНА ДОВКІЛЛЯ.....	69
9.1. Аналіз технологічної схеми виробництва молочної кислоти на місця емісії твердих, рідких та газоподібних відходів.....	69
9.2. Перспективи впровадження системи екологізації виробництва молочної кислоти .....	71
9.2.1. Система знешкодження та утилізації рідких відходів. ....	71
9.2.2. Система знешкодження та утилізації твердих відходів .....	73
9.2.3. Система знешкодження газоповітряних викидів.....	73
Перелік літератури:.....	76
ДОДАТКИ.....	<b>Помилка! Закладку не визначено.</b>

## ВСТУП

Молочна кислота виробляється за допомогою хімічного і ферментативного синтезів. Для промислового виробництва молочної кислоти використовується метод молочнокислого бродіння за участі бактерій *Lactobacillus Lactococcus* [1-3].

Завдяки своїм органолептичним, фізіологічним та хімічним властивостям молочна кислота знаходить широке застосування у різних галузях промисловості. Молочна кислота, широко використовуються у виробництві харчових і питних продуктів, а також у фармацевтиці, як компонент для виробництва лікарських засобів (ЛЗ). Використання молочної кислоти, а саме її солей у фармацевтичному виробництві є дуже поширеним. Солі молочної кислоти поповнюють енергетичний баланс організму, допомагають підтримувати необхідний рівень синтезованої організмом крові, беруть участь у регулюванні рН, а також виявляють протипухлинну дію[1-3].

Наприклад, лактат натрію, який є нетоксичною та не подразливою речовиною, входить до складу інфузійних розчинів (розчин Рінгера-лактат), використовується як замітник натрію гідрокарбонату (при незначних ацидозах). Є важливим компонентом кровозамінних та перфузійних стерильних розчинів для внутрішньовенного введення. Натрію лактат належить до залужувальних засобів сповільненої дії. При введенні в судинне русло із натрію лактату вивільняється натрій,  $\text{CO}_2$  і  $\text{H}_2\text{O}$ , які утворюють бікарбонат натрію, що призводить до збільшення лужного резерву крові. Натрію лактат позитивно впливає на серцеву діяльність, а також регенерацію і дихальну функцію крові, чинить дезінтоксикаційну дію, сприяє підвищенню діурезу, покращує функцію печінки і нирок [4-7].

					<b>НУХТ БТЕК 05.01.15 КР ПЗ</b>			
<i>Змн.</i>	<i>Лист</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>	<b>ВСТУП</b>	<i>Літ.</i>	<i>Арк.</i>	<i>Аркушів</i>
<i>Розроб.</i>		<i>Присідко А. О.</i>						8
<i>Консульт.</i>								
<i>Керівник</i>		<i>Удимович В.М.</i>						
<i>Н. Контр.</i>								
<i>Зав. каф.</i>		<i>Стабніков В.П.</i>				<b>Кафедра БТМ</b>		

*Новизною даної роботи є використання *Lactobacillus delbrueckii*, який синтезує 161,93 г/л молочної кислоти [7], з метою забезпечення вітчизняного ринку дешевою сировиною із подальшою переробкою у натрію лактат та інші солі є важливим напрямом по забезпеченню населення банком кровозмііних та перуфузійних ЛЗ на випадок надзвичайних ситуацій, війн або стихійних лих.*

# РОЗДІЛ 1. ХАРАКТЕРИСТИКА МОЛОЧНОЇ КИСЛОТИ

## 1.1 Хімічні властивості

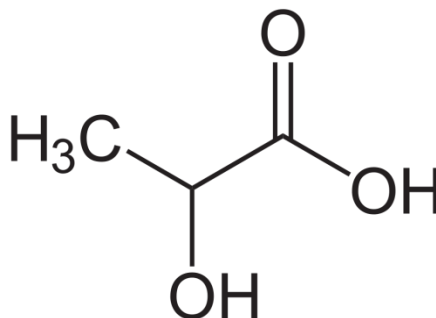


Рис. 1. Структурна формула молочної кислоти [4]

Молярна маса: 90,08 г/моль;

Температура кипіння: 122 °С;

Температура плавлення: 16,8 °С [4];

Молочна кислота (2-гідроксипропанова кислота) — органічна кислота, широко поширена в природі. Це найпростіша 2-гідроксикарбонова кислота з хіральним атомом вуглецю, яка існує у двох енантіомерних формах (рис. 1). Хімічна поведінка молочної кислоти визначається її фізико-хімічними властивостями, серед яких а) кислий характер у водному середовищі; б) біфункціональна реакційна здатність, пов'язана з наявністю карбоксильної та гідроксильної групи, що надає їй велику реакційну універсальність; в) асиметрична оптична активність С2 [5].

**Застосування та механізм дії.** У косметичній промисловості молочна кислота використовується у виробництві гігієнічних та естетичних засобів завдяки її зволожуючій, антимікробній та омолоджуючій дії на шкіру, а також засобів гігієни порожнини рота. Похідні молочної кислоти, такі як лактатні ефіри, широко використовуються через їх гігроскопічні та емульгуючі властивості. У фармацевтичній промисловості використовується як добавка при синтезі дерматологічних препаратів і проти остеопорузу.

					<b>НУХТ БТЕК 05.01.15 КР ПЗ</b>			
<i>Змн.</i>	<i>Лист</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>				
<i>Розроб.</i>		Присідко А. О.			<b>РОЗДІЛ 1. ХАРАКТЕРИСТИКА МОЛОЧНОЇ КИСЛОТИ</b>	<i>Літ.</i>	<i>Арк.</i>	<i>Акруїїв</i>
<i>Консульт.</i>								10
<i>Керівник</i>		Удимович В.М.				<b>Кафедра БТМ</b>		
<i>Н. Контр.</i>								
<i>Зав. каф.</i>		Стабніков В.П.						

Приблизно 70% виробленої молочної кислоти використовується в харчовій промисловості через її роль у виробництві йогурту та сиру. При приготуванні йогуртів він є основним продуктом бродіння *Streptococcus thermophilus* і *Lactobacillus bulgaricus*. Під час виробництва сиру зниження рН внаслідок виділення молочної кислоти викликає агрегацію міцел казеїну. Іноді, залежно від бажаних сенсорних характеристик кінцевого продукту, використовується пряме підкислення молочною кислотою, щоб уникнути ризику розмноження небажаних мікроорганізмів.

У сфері виробництва зерна молочна кислота утворюється спонтанно через наявність мікроорганізмів, які здійснюють молочнокисле бродіння сировини (наприклад, волога обробка кукурудзи), призводить до зміни аромату і смаку препаратів і викликає зниження рН, що перешкоджає розвитку хвороботворних бактерій. Що стосується годівлі тварин, контрольоване молочнокисле бродіння збільшує термін зберігання, смакові якості та поживну цінність силосу. Лактат амонію є чудовим небілковим джерелом азоту, який є кращим для великої рогатої худоби перед сечовиною та цитратом амонію, оскільки він забезпечує молоко з вищою поживною цінністю та не потребує дорогого очищення [5].

**Біосинтез молочної кислоти.** Для хімічного синтезу молочної кислоти ацетальдегід реагують у рідкій фазі та під високим тиском із ціаністим воднем у присутності основи для отримання лактонітрилу. Після його відновлення та очищення дистиляцією додають соляну або сірчану кислоту для гідролізу лактонітрилу до молочної кислоти, яку потім етерифікують метанолом для отримання метиллактату, який відновлюють і очищають дистиляцією. Очищений метиллактат нарешті гідролізують у кислому водному розчині до молочної кислоти та метанолу, останній повертають у той самий процес. Інші хімічні шляхи синтезу молочної кислоти включають розкладання цукрів, що каталізується основами, окислення пропіленгліколю, монооксиду вуглецю та води при високій температурі та тиску, гід-

роліз хлорпропіонової кислоти та окислення пропілену азотною кислотою тощо [5].

## РОЗДІЛ 2. ОБГРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТА ХАРАКТЕРИСТИКА БІОЛОГІЧНОГО АГЕНТА

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

Досліджено виробництво молочної кислоти з бурякової меляси *Lactobacillus delbrueckii* NCIMB 8130. Заміна дріжджового екстракту іншими недорогими джерелами білка не покращила вироблення молочної кислоти. Максимальна концентрація молочної кислоти була досягнута без обробки патоки. Для визначення максимальної концентрації молочної кислоти при оптимальних значеннях змінювали основні компоненти процесу (сахароза, дріжджовий екстракт, CaCO<sub>3</sub>). Сахароза та дріжджовий екстракт мали лінійний вплив на виробництво молочної кислоти, тоді як CaCO<sub>3</sub> не мав значного лінійного впливу. Максимальна концентрація молочної кислоти (88,0 г/л) була отримана при концентраціях сахарози, дріжджового екстракту та CaCO<sub>3</sub> 89,93, 45,71 та 59,95 г/л відповідно [6].

Для штаму *Lactobacillus delbrueckii* NCIM 2025 оптимізацію параметрів виробництва молочної кислоти проводили з використанням тростинної меляси за планом експерименту (DOE) за допомогою програмного забезпечення Qualitek-4 з більшими, тим кращими як якісними характеристиками з вісьмома компонентами середовищ на трьох рівнях в умовах глибинної культури. Вісім факторів із трьома досліджуваними рівнями: дріжджовий екстракт, CaCO<sub>3</sub>, MnSO<sub>4</sub>, pH, температура, патока, сечовина та твін 80. Ці фактори були оптимізовані на основі їхніх співвідношень S/N, отриманих із програмного забезпечення Qualitek-4, та їх значних індивідуальних взаємодій, а також взаємодії один з одним були вивчені. Вплив змішаних джерел N<sub>2</sub>, Tween 80 і MnSO<sub>4</sub> вивчався за їхньою індивідуальною взаємодією та взаємодією між собою. На виробництво молочної кислоти суттєво

					<b>НУХТ БТЕК 05.01.15 КР ПЗ</b>				
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата					
Розроб.		Присідко А. О.			<b>РОЗДІЛ 2. ОБГРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТА ХАРАКТЕРИСТИКА БІОЛОГІЧНОГО АГЕНТА</b>				
Консульт.				Літ.				Арк.	Акривів
Керівник		Удимович В.М.							
Н. Контр.									
Зав. каф.		Стабніков В.П.							
					<b>Кафедра БТМ</b>				
					13				

вплинула взаємодія двох факторів, таких як температура-сечовина, рН-СаСО<sub>3</sub>, температура-Tween 80, але окремо вони мають мінімальний вплив на виробництво молочної кислоти. Індивідуально рН, дріжджовий екстракт, патока та сечовина є найважливішими факторами виробництва молочної кислоти. Менша кількість СаСО<sub>3</sub> і MnSO<sub>4</sub> і Tween 80 посилює вироблення молочної кислоти. Очікуваний вихід молочної кислоти за оптимальних умов становив 98,66%, а фактичний вихід становив 96,8%. Загальне покращення врожайності на 6% у порівнянні з тими ж (мутантними) видами, вирощеними на мелясі тростини з продуктивністю 3,15 г/л у год. Найбільший вихід молочної кислоти становив 96,8 г/л [7].

Різні джерела азоту порівнювали з дріжджовим екстрактом для ефективного виробництва молочної кислоти *Lactobacillus delbrueckii*. Жодне джерело азоту не давало такої високої концентрації молочної кислоти, як для дріжджового екстракту. Ефект дріжджового екстракту міг бути обумовлений вмістом у ньому вітаміну В. Акліматизацію та ультрафіолетовий мутагенез використовували для створення штамів *L. delbrueckii*, які виробляли підвищені концентрації молочної кислоти. Чотири мутанти (Ac-1, Ac-2, Uc-1 і Uc-3) порівнювали з *L. delbrueckii* дикого типу з концентрацією тростинного цукру 100 г/л у ферментаційному середовищі. Усі чотири мутанти виробляли вищі рівні молочної кислоти з підвищеною продуктивністю, ніж дикий тип. Було досліджено молочнокисле бродіння з різних вуглеводів як диким штамом, так і мутантним Uc-3. Найбільш продуктивний мутант Uc-3 порівнювали з диким типом *L. delbrueckii* шляхом ферментації з різними концентраціями гідролізованого тростинного цукру. Найвищу концентрацію молочної кислоти (161,93 г/л) при періодичному бродінні було отримано з 150 г/л меляси з виходом молочної кислоти 90%. Загалом, мутанти продемонстрували більш швидкі темпи росту, коротші фази відставання, вищу продуктивність і більший вихід молочної кислоти [8].

Здійснено порівняння продуцентів молочної кислоти з урахуванням критеріїв вартості поживного середовища для культивування, вартості 1 г цільового продукту та ефективності продуценту. У таблиці 2.2 представлено вартість поживного середовища для кожного вищеперерахованого продуценту. найдешевшим є середовище для культивування молочнокислих бактерій *Lactobacillus delbrueckii*, але це не єдиний фактор на користь вибору даного продуценту молочної кислоти. Таблиця 2.3 несе підсумовуючу інформацію, а саме – кількість вироблено цільового продукту за годину та вартість 1 г цільового продукту. Таким чином, штам бактерій *Lactobacillus delbrueckii* має найнижчу вартість 1 г продукту - 0,11 грн, тому для промислового одержання молочної кислоти обираємо саме цей штам.

## Особливості одержання молочної кислоти за використання різних субстратів

Продуцент	Склад поживного середовища		Тривалість культивування, год	Концентрація продукту	Особливості процесу біосинтезу	Література
	Компонент	Концентрація, г/л				
<i>Lactobacillus delbrueckii</i> NCIMB 8130	Сахароза	89,93	24	88 г/л	T = 45 °C; pH 6-7; 150 rpm;	[6]
	Дріжджовий екстракт	45,71				
	CaCO <sub>3</sub>	59,95				
<i>Lactobacillus delbrueckii</i> NCIM 2025	Дріжджовий екстракт	15	24	96,8 г/л	T = 40 °C; pH 7;	[7]
	MnSO <sub>4</sub>	0,5				
	CaCO <sub>3</sub>	10				
	Tween 80	30				
	Сечовина	10				
<i>Lactobacillus delbrueckii</i>	М'яса	150	48	161,93	T = 39 °C; pH 5,5; 150 rpm;	[8]
	кукурудзяний екстракт	65				
	Розчин мікроелементів	5				

Таблиця 2.2

Вартість поживних середовищ для культивування різних штамів *Lactobacillus delbrueckii* з метою одержання молочної кислоти

Продуцент	Компонент поживного середовища	Концентрація у ПС, г/л	Ціна компонента, грн/кг	Вартість компонента (грн) на 1 л середовища	Джерело інформації (1, 2, 3)*
<i>Lactobacillus delbrueckii</i> NCIMB 8130	Сахароза	89,93	90	8,09	1
	Дріжджовий екстракт	45,71	1 800	82,27	2
	CaCO <sub>3</sub>	59,95	67,08	4,02	3
	Всього – 94,38 грн				
<i>Lactobacillus delbrueckii</i> NCIM 2025	Дріжджовий екстракт	15	1 800	27	2
	MnSO <sub>4</sub>	0,5	142	0,07	3
	CaCO <sub>3</sub>	10	67,08	0,6	3
	Tween 80	30	564	16,92	3
	Сечовина	10	55	0,55	3
	Всього – 45,14				
<i>Lactobacillus delbrueckii</i>	Меляса	150	60	9	4
	кукурудзяний екстракт	65	65	4,225	5
	MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	40	95	3,8	5
	MnSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	2	142	0,284	3
	FeSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	2	70	0,14	5
	NaCl	2	17	0,034	6
	Всього – 17,48				

Примітка. \* - Ціни наведено станом на березень 2024 року. 1 - <https://www.covalent.com.ua/ru/>; 2 - [https://kreon-d.com.ua/ua/product\\_list](https://kreon-d.com.ua/ua/product_list); 3 - <https://klebrig.com.ua/ua/>; 4 - <https://delikatto.com.ua/> 5 - <https://prom.ua/ua> 6 - <https://maudau.com.ua/>

## Розрахунок умовної вартості 1 г молочної кислоти

Продуцент	Концентрація цільового продукту, г/л	Тривалість культивування, год	Кількість утвореного цільового продукту за годину, г/год	Вартість 1 л сировини, грн/л	Умовна вартість 1 г цільового продукту, грн/г
<i>Lactobacillus delbrueckii</i> NCIMB 8130	88	24	3,6	94,38	1,07
<i>Lactobacillus delbrueckii</i> NCIM 2025	96,8	24	4,03	45,14	0,4
<i>Lactobacillus delbrueckii</i>	161,93	48	3,37	17,48	0,11

## 2.2. Розрахунок складу поживного середовища

Тривалість культивування 48 год, концентрація молочної кислоти в культуральній рідині становить 161,93 г/л.

### *Розрахунок вмісту в середовищі джерела вуглецевого живлення*

*Потреби для синтезу молочної кислоти.* Як джерело вуглецю для одержання молочної кислоти використовуються меляса. Вміст вуглеводів у мелясі становить 50 %. Розрахуємо, скільки вуглецю (за елементом С) міститься в 161,93 г молочної кислоти. Молекулярна маса молочної кислоти ( $C_3H_6O_3$ ) становить 90. Отже, у 161,93 г молочної кислоти міститься 36 г Карбону, а в 100 г молочної кислоти  $(36 \times 100) / 161,93 = 22,3$  г Карбону. Далі розрахуємо, у скількох грамах вуглеводів міститься 22,3 г Карбону, враховуючи, що вміст Карбону у вуглеводах меляси становить 40 %. Отже, у 100 г вуглеводів міститься 40 г Карбону, а 22,3 г Карбону міститься у  $(22,3 \times 100) / 40 = 55,75$  г вуглеводів. Оскільки у мелясі міститься 50 % вуглеводів, то для одержання 100 г молочної кислоти, вміст меляси у середовищі повинен бути  $55,75 \times 2 = 111,5$  г/л, або  $\approx 11$  %. Враховуючи, що при вирощуванні мікроорганізмів на вуглеводах (наприклад, глюкозі) близько 40 % субстрату окиснюється до  $CO_2$  для одержання енергії, необхідної для конструктивного метаболізму, вміст меляси у середовищі становитиме  $(111,5 \times 0,4) + 111,5 = 156,1$  г/л  $\approx 16$  %.

*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  $\approx 46$  %.

### *Потреби для синтезу біомаси.*

Кількість м'яси необхідної для синтезу біомаси =  $150,00 - 156,1 = 6,1$  г. Враховуючи 40% втрат субстрату на «холосте окислення» для одержання енергії, тому щоб синтезувати необхідну кількість біомаси у середовище необхідно внести  $x \cdot 0,4 + x = 6,1$ ;  $x = 4,35$  г м'яси. Вміст вуглеводів у м'ясі становить 50 %. У такій кількості м'яси міститься  $4,35 \cdot 0,5 = 2,17$  г Карбону. У біомасі міститься 50 % Вуглецю, тому 2,17 г такого елемента міститься у  $2,17 \cdot 2 = 4,35$  г біомаси.

### *Розрахунок вмісту в середовищі джерела азотного живлення*

*Потреби для синтезу біомаси.* Припустимо, що у біомасі міститься 10 % Нітрогену. Таким чином, у 4,35 г біомаси вміст азоту (за елементом N) становить 0,43 г.

Подуцент молочної кислоти може також асимілювати як джерело азотного живлення органічний Нітроген. Такий тип азоту містить 43 % білків, а до складу таких білків входить близько 16 % Нітрогену.

Для одержання молочної кислоти в промислових умовах використовується середовище, яке містить як джерело органічного Нітрогену кукурудзяний екстракт. Оскільки у 100 г білка міститься 16 г азоту, тоді 0,43 г Нітрогену у  $(100 \cdot 0,43) / 16 = 2,68$  г білку. В перерахунку на дріжджовий екстракт отримуємо 6,25 г/л.

### *Інші компоненти середовища*

Джерелами таких необхідних для росту бактерій елементів, як Сульфур, Магній, Манган, Залізо є сіль сульфату магнію ( $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ), сульфату заліза ( $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ ), сульфату мангану ( $MnSO_4 \cdot 7H_2O$ ), Натрію і Хлору - хлорид натрію ( $NaCl$ ), яка не можуть лімітувати ріст продуцента молочної кислоти (як і інших мікроорганізмів), оскільки зазвичай вноситься у середовище у надлишку.

### 2.3. Морфолого-культуральні та фізіолого-біохімічні ознаки біологічного агента

*Lactobacillus delbrueckii* – це, як правило, факультативні анаероби, мікроаерофільні палички або коки, які не утворюють спор і не дихають. Грампозитивні, мало- або рідко рухливі бактерії, кислотостійкі. Вони паличкоподібні, розміром 0,5–1,2/1,0–10 мікрметрів, колонії на агарі 2–5 мм, без пігменту, ростуть на насичених складних середовищах [9].

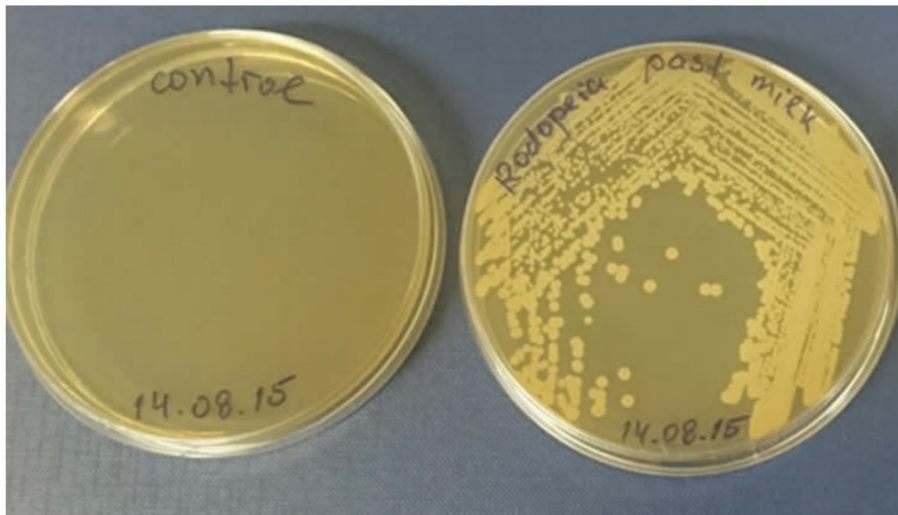
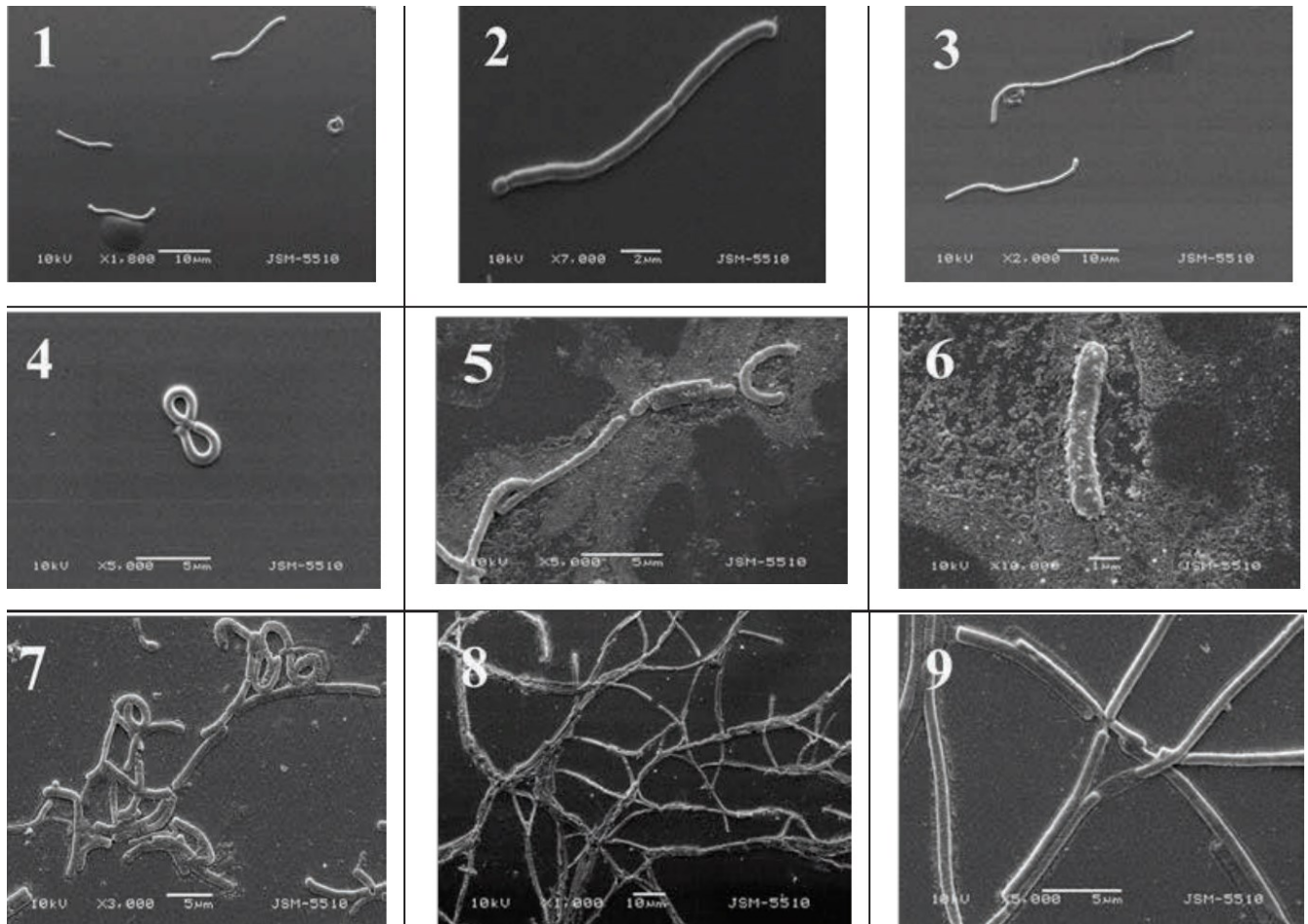


Рис. 2.1. Колонії *Lactobacillus delbrueckii* [9]



**Рис. 3.2. Скануюча електронна мікроскопія різних ізолятів *Lactobacillus delbrueckii*. Збільшення x 1000, x 1800, x 2000, x3000, x5000, x7000 і x10 000 [9]**

Мають цукровий метаболізм, не відновлюють нітрати, не розріджують желатин і каталазонегативні. Лактобактерії містять цис-жирні кислоти і оптимально ростуть при 37-41 °С [9].



**Рис. 3.3. API-CH 50 для *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ідентифікація (11, 12 і 13 – ферментована глюкоза, фруктоза, маноза; 29 – ферментована лактоза) [9]**

#### **2.4. Таксономічний статус біологічного агента**

Бактерія *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* була вперше ідентифікована у 1905 році Стаменом Григоровим, який надав назву *Bacillus bulgaricus* [10].

*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* зазвичай використовується разом із *Streptococcus thermophilus* [11] як закваска для приготування йогурту. Два штами бактерій діють у синергії, *Lactobacillus delbrueckii* виробляє амінокислоти з молочних білків, які потім використовуються *S. thermophilus* [11]. Ці відносини вважаються симбіотичними. Обидва види виробляють молочну кислоту [11], яка надає йогурту терпкий смак і діє як консервант. Життєздатність *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* є надзвичайно важливою, оскільки бактерія необхідна для ефективного бродіння та ефективного

захисту харчових продуктів, які нею виробляються, від псування. Висушування сублимацією є кращим методом збереження життєздатності клітин, але не всі клітини виживають у цьому процесі.

У систематиці бактерій базисом *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* мав назву "*Thermobacterium bulgaricum*" за Orla-Jensen 1919 року. Бактерії стали називатися *Lactobacillus bulgaricus* у 1973 році завдяки роботі Rugosa та Hansen, і була перекласифікована як підвид *Lactobacillus delbrueckii* у 1984 році [12].

Таксономічний статус наступний [13]:

Domain	<i>"Bacteria"</i>
Phylum	<i>Bacillota</i>
Class	<i>Bacilli</i>
Order	<i>Lactobacillales</i>
Family	<i>Lactobacillaceae</i>
Genus	<i>Lactobacillus</i>
Species	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>

## РОЗДІЛ 3. ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ

### 3.1. Потреба у цільовому продукті

Використання молочної кислоти у фармацевтичному виробництві є дуже поширеним. Молочна кислота та її солі були описані в багатьох літературних джерелах для різних медичних застосувань. Вони здатні забезпечувати організм енергією та підтримувати рівень синтезованої організмом крові. Солі кальцію, заліза, натрію та інші солі молочної кислоти виявляють протипухлинну дію, діють як проміжні продукти у фармацевтичному виробництві, для регулювання рН. Тому нинішнє застосування молочної кислоти у фармацевтичній промисловості поділяється на такі категорії [14]:

*Для парантерального введення.* Молочна кислота використовується у фармацевтичному виробництві як електроліт у багатьох парантеральних/в/в. (внутрішньовенні) розчинах, які призначені для поповнення рідини організму або електролітів. Молочна кислота стала одним із основних компонентів багатьох медичних розчинів, таких як лактат Рінгера або Гартмана, а також розчинів для діалізу для звичайних апаратів штучної нирки [14].

*Як розчини для діалізу.* Для лікування ниркової недостатності, безперервний амбулаторний перитонеальний діаліз CAPD (безперервний амбулаторний перитонеальний діаліз), використовує слизову оболонку та органи, що знаходяться в черевній порожнині, як «діалізну мембрану». CAPD досить добре працює для пацієнтів, які можуть це переносити. Дуже часто ацетат натрію використовували як діалізуючу рідину. Його вводять пацієнту через постійний катетер, введений через пупок. Багато дослідників відмічають, що L(+) лактат, нормальний компонент крові, використовується замість ацетату через меншу частоту побічних ефектів [14].

*Системи доставки ЛЗ.* Для імплантованої доставки ліків обирають матеріали на основі лактид-гліколідних сополімерів, які розчиняються на шкірі

					<b>НУХТ БТЕК 05.01.15 КР ПЗ</b>			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата			25	
Розроб.	Присідко А. О.				<b>РОЗДІЛ 3. ТЕХНІКО- ЕКОНОМІЧНЕ ОБҐРУН- ТУВАННЯ</b>	Літ.	Арк.	Акрушів
Консульт.								
Керівник	Удимович В.М.					<b>Кафедра БТМ</b>		
Н. Контр.								
Зав. каф.	Стабніков В.П.							

та поглинаються організмом. Крім того, повідомляється, що полімолочна кислота (PLA) є потенційним об'єктом у якості матриці, що вивільняє ліки. Цей полімер вважається одним з найбільш біосумісних біополімерів. Коли PLA застосовується в організмі людини, він може гідролізуватися до мономеру гідроксильної кислоти, який може легко метаболізуватися через цикл трикарбонних кислот (TCA). Крім того, PLA продемонстрував багато переваг перед іншими відомими біосумісними полімерами, такими як полігідроксиалканоати (PHA), поліетиленгліколь (PEG), полі  $\epsilon$ -капролактон (PCL), завдяки його кращій здатності до термічної обробки. Нове дослідження показало, що також є високий потенціал застосування наноструктурної мембрани PLA, як системи доставки ліків для прогестерону в тваринній моделі [14, 15, 16].

Крім того, молочна кислота у вигляді лактату натрію, разом із іншими солями входять до складу лікарських засобів (ЛЗ), що відносять до груп «кровозамінники та білкові фракції плазми крові» і «Замінники крові та перфузійні розчини». Такими торговими марками на ринку України є вітчизняні ЛЗ «Гекотон, розчин д/інф», «Реосорбілакт, розчин д/інф», «ГЕЛОПЛАЗМА, розчин д/інф» та ХАРТМАНА, розчин д/інф, див. таблицю 1.1 [17]. Дані ЛЗ за своєю природою є кристало- і колоїдними розчинами. Концентрація лактату натрію у цих ЛЗ коливається у межах від 0,3 до 1,9 г. Для розрахунку, щоб забезпечити потребу у виробництві цієї сировини, приймемо середню концентрацію лактату натрію в 100 мл розчину – 1,1 г.

**ЛЗ кровозамінники, що містять у своєму складі лактат натрію**

<b>Назва ЛЗ</b>	<b>Концентрація лактату натрію, на 100 мл р-ну ЛЗ</b>
ГЕКОТОН® розчин для інфузій по 200 мл, 400 мл у пляшках скляних	100 мл розчину містить натрію лактату 1,5 г
РЕОСОРБЛАКТ® розчин для інфузій, по 200 мл або 400 мл у пляшках скляних; по 200 мл або 400 мл у плящці скляній; по 1 плящці в пачці	1 мл розчину містить натрію лактату (у перерахунку на 100 % речовину) 19,0 мг=0,019 г. 100 мл р-н містить лактату натрію - 1,9 г
ГЕЛОПЛАЗМА розчин для інфузій; по 500 мл у мішку Freeflex; по 500 мл у мішку Freeflex, по 20 мішків Freeflex в картонній коробці	100 мл розчину містить натрію лактат - 0,3360 г
ХАРТМАНА РОЗЧИН розчин для інфузій по 200 мл, 250 мл, 400 мл, 500 мл у пляшках	100 мл розчину містить натрію лактату – 0,303 г

Наряду із цивільним населенням, основним споживачем таких ЛЗ є військові, що в умовах війни чи військового стану мають бути 100 % забезпечені запасом кровозамінних ЛЗ, оскільки не завжди можливо забезпечити потребу у свіжій донорській крові.

Враховуючи, що згідно із вказівками медичних служб ЗСУ потреба в препаратах крові та кровозамінниках встановлена із розрахунку: для надання медичної допомоги та лікування уражених звичайною зброєю в медичній роті потрібно різних трансфузійних рідин 0,6 л на одного ураженого, з них крові – 15 %; плазми – 15 %, колоїдних розчинів – 30 % та кристалоїдних розчинів – 40 % [18], то необхідний об'єм кристало- і колоїдних розчинів на 1 особу становить – 0,6 л x 0,7=0,42 л. Станом на 2024 рік, офіційна чисельність ЗСУ становить 880 тис. осіб (<https://mod.gov.ua/>). Таким чином, загальна потреба становить 369 600 л кровозамінних ЛЗ на 1 курс лікування. Прийmemo, що за інтенсивних бойових бій, в середньому серйозне поранення може статися 1 раз на 3 місяці. Таким чином, на рік банк кровозамінних ЛЗ має містити 369 600 л x 4 = 1 478 400 л. Оскільки було прийнято, що в 100 мл розчину в середньому міститься 1,1 г лактату натрію, то в 1 478 400 л л буде міститися:

$1\,478\,400 \text{ л} \times 1,1 \text{ г} / 0,1 \text{ л} = 16\,262\,400 \text{ г}$  або  $16\,262,4 \text{ кг}$  лактату натрію.

Лактат натрію утворюється під час взаємодії молочної кислоти із NaOH [19]. Прийmemo, що втрати під час виробництва становлять 10 %, тоді для виготовлення  $4065,6 \text{ кг}$  лактату натрію необхідно  $16\,262,4 / (1-0,1) = 18\,069,3 \text{ кг}$  молочної кислоти.

### **3.2. Обрахунок загальної потужності виробництва молочної кислоти**

Згідно з даними із відкритих даних в Україні не має власного виробництва молочної кислоти і вся необхідна кількість імпортується, в основному із Китаю та ЕС. Враховуючи, цей факт, пропонуємо виробляти молочну кислоту для задоволення 10 % від загальної потреби, оскільки на ринку існує суттєва конкуренція:

$$18\,069,3 \text{ кг} \times 0,1 = 1806,9 \text{ кг}$$

Розрахувавши потребу у молочній кислоті на рік, треба розахувати, скільки культуральної рідини можна отримати під час культивування *Lactobacillus delbrueckii*, який синтезує  $161,93 \text{ г/л}$  молочної кислоти протягом 48 год [8]. Тоді об'єм культуральної рідини становитиме:

$$\frac{1806,9 \times 1000}{161,93} = 11\,158,5 \text{ л}$$

Далі розраховуємо загальні втрати під час етапів виділення молочної кислоти із культуральної рідини які складають 30 %:

$$11\,158,5 \text{ л} / (1 - 0,3) = 15941 \text{ л}$$

### **3.3. Розрахунок загальної кількості циклів проектного виробництва молочної кислоти та об'єму виробничого ферментера**

Далі розрахуємо, який об'єм культуральної рідини можна отримати за цикл біосинтезу. Згідно із цими даними розрахуємо кількість необхідних етапів підготовки посівного матеріалу. Прийmemo, що кількість робочих трудоднів ( $T_{рд}$ ) = 100, тоді кількість культуральної рідини на добу ( $V_d$ ) становитиме:

$$V_d = C / T_{рд} = 15941/100=159,41$$

Об'єм культуральної рідини за цикл ( $V_{пц}$ ) буде становити:

$$V_{пц} = \frac{K_1 * V_d * T_{цф}}{24} = \frac{1,5 * 159,41 * 56}{24} = 558 \text{ л/цикл}$$

де  $T_{цф}$  – загальний цикл роботи ферментера, який включає тривалість виробничого біосинтезу (48 год) та час підготовки ферментера до роботи (8 год).  $K_1$  – коефіцієнт запасу, що враховує можливість нестерильних операцій  $K_1 = 1,1 - 1,5$ .

Розрахований об'єм культуральної рідини (558 л) можна одержати у ферментері, геометричний об'єм якого складатиме:

$$V_{г} = \frac{V_{пц}}{K_{зап}} = \frac{558}{0,7} = 698 \text{ л}$$

Найближчим за об'ємом є стандартний ферментер на  $1,0 \text{ м}^3$  ( $V_{ф}$ ).

Уточнюємо коефіцієнт заповнення для обраного ферментера:

$K_{зап} = V_{г} / V_{ф} = 698,0 / 1\ 000 = 0,69$ . Розраховане число не перевищує заданого значення, а отже, об'єм ферментера підібраний правильно.

### **3.4. Розрахунок кількості необхідних етапів для підготовки посівного матеріалу**

Отже, за виробничий цикл можна одержати  $V_{пц} = 574$  л культуральної рідини. Врахуємо, що при одержанні культуральної рідини, можливими є її втрати у результаті краплевиносу через колектор відпрацьованого повітря ( $E_{ф}$ ), які складають 10%.

Отже, розрахуємо кількість поживного середовища та посівного матеріалу перед процесом ферментації:

$$V_{роб1} = V_{пц} / (1 - E_{ф}) = 558 / (1 - 0,1) = 620,0 \text{ л}$$

Встановлена доза для посівного матеріалу складає від 5 до 10 % від об'єму поживного середовища. Приймаємо такий показник  $X_{пм1} = 10\%$ . Тому, із врахуванням дози посівного матеріалу  $X_{пм1}$  робочий об'єм ферментера  $V_{роб1}$  складе:

$$V_{\text{роб1}} = V_{\text{пс1}} + V_{\text{пс1}} \cdot X_{\text{пм1}}$$

Звідси, об'єм поживного середовища  $V_{\text{пс1}}$  буде:

$$V_{\text{пс1}} = V_{\text{роб1}} / (1 + X_{\text{пм1}}) = 620,0 / (1 + 0,1) = 563,6 \text{ л,}$$

тоді об'єм посівного матеріалу  $V_{\text{пм1}}$  складе

$$V_{\text{пм1}} = V_{\text{роб1}} - V_{\text{пс1}} = 620,0 - 563,6 = 56,4 \text{ л}$$

Враховуючи втрати у результаті краплевиносу через колектор відпрацьованого повітря в розмірі 10 – 15%, об'єм посівного матеріалу та поживного середовища у посівному апараті буде таким:

$$V_{\text{роб.2}} = V_{\text{пм1}} / (1 - E_{\text{па}}) = 56,4 / (1 - 0,15) = 66,3 \text{ л.}$$

Оскільки попередньо було обрано дозу посівного матеріалу у розмірі 10%, то у посівному апараті об'єм поживного середовища становитиме:

$$V_{\text{пс2}} = V_{\text{роб.2}} / (1 + X_{\text{па}}) = 66,3 / (1 + 0,1) = 60,2 \text{ л,}$$

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

Далі слід розрахувати об'єм посівного матеріалу для посівного апарату, який становить  $V_{\text{пм2}} = V_{\text{роб.2}} - V_{\text{пс2}} = 66,3 - 60,2 = 6,1 \text{ л.}$

Інокулят об'ємом  $V_{\text{роб.2}} = 66,3 \text{ л}$  можна отримати протягом вирощування штаму у посівному апараті з геометричним об'ємом  $V_{\text{ін2}} = V_{\text{роб.2}} / K_{\text{зап}} = 66,3 / 0,7 = 94,7 \text{ л.}$  Для цього обираємо найближчий за розміром стандартний посівний апарат  $V_{\text{спа}} = 100 \text{ л.}$  Перерахований коефіцієнт заповнення складатиме:

$K_{\text{зап2}} = V_{\text{роб.2}} / V_{\text{сін}} = 66,3 / 100 = 0,66.$  Уточнений коефіцієнт заповнення перебуває у вибраних межах для аеробних процесів

Посівний матеріал об'ємом 6,1 л можна отримати шляхом вирощування в інокуляторі із врахуванням подальших втрат у результаті краплевиносу через колектор відпрацьованого повітря (10 – 15%).

Тоді кількість поживного середовища та посівного матеріалу у посівному апараті становитиме:

$$V_{\text{роб.3}} = V_{\text{пм2}} / (1 - E_{\text{ін}}) = 6,1 / (1 - 0,15) = 7,2 \text{ л.}$$

Додавання посівного матеріалу у кількості 10% від об'єму поживного середовища є стандартною практикою для забезпечення належного засіву. Тоді об'єм поживного середовища, для вирощування бактерій в інокуляторі буде складати:

$$V_{\text{пс3}} = V_{\text{роб.3}} / (1 + X_{\text{ін}}) = 7,2 / (1 + 0,1) = 6,5 \text{ л,}$$

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

Об'єм посівного матеріалу для інокулятора становить  $V_{\text{пм3}} = V_{\text{роб.3}} - V_{\text{пс3}} = 7,2 - 6,5 = 0,7 \text{ л.}$

Інокулят об'ємом  $V_{\text{роб.3}} = 7,2 \text{ л}$  можна отримати протягом вирощування штаму у посівному апараті з геометричним об'ємом  $V_{\text{ін2}} = V_{\text{роб.2}} / K_{\text{зап}} = 7,2 / 0,7 = 9,0 \text{ л.}$  Для цього обираємо найближчий за розміром стандартний посівний апарат  $V_{\text{спа}} = 10 \text{ л.}$  Перерахований коефіцієнт заповнення складатиме:

$K_{\text{зап2}} = V_{\text{роб.2}} / V_{\text{сін}} = 7,2 / 100 = 0,72.$  Уточнений коефіцієнт заповнення перебуває у вибраних межах для аеробних процесів

Посівний матеріал об'ємом  $V_{\text{пм4}} = 0,7 \text{ л}$  можна одержати культивуванням штаму у колбах на качалці. Для цього застосовують качалочні колби об'ємом  $V_{\text{колб}} = 750 \text{ мл}$  та коефіцієнтом заповнення  $K_{\text{зк}} = 0,2.$

Тоді кількість колб для отримання посівного матеріалу становитиме:

$$N_{\text{колб}} = V_{\text{пм4}} / (V_{\text{колб}} \cdot K_{\text{зк}}) = 700 / (750 \cdot 0,2) = 4,6, \text{ отже, } 5 \text{ колб.}$$

Отже, для одержання посівного матеріалу необхідно 5 качалочних колб.

Можна зробити висновок, що процес одержання посівного матеріалу для проведення виробничого біосинтезу молочної кислоти у ферментері об'ємом  $1,0 \text{ м}^3$  буде проходити у 4 етапи. Узагальнена інформація щодо кількості стадій виробництва молочної кислоти наведена у табл. 3.2.

**Кількість стадій та апаратів, необхідна підготовки посівного матеріалу  
та виробничого біосинтезу молочної кислоти**

№ стадії	Геометричний об'єм обраного апарату, $V_{г}$ , л	Коефіцієнт заповнення, $K_{зап}$ , частка	Робочий об'єм апарата, $V_{роб}$ , л	Об'єм поживного середовища, $V_{пс}$ , л	Об'єм посівного матеріалу, $V_{пм}$ , л
<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>	<i>6</i>
1	1000	0,7	620	563,6	56,4
2	100	0,66	66,3	60,2	6,1
3	10	0,72	7,2	6,5	0,7
4	0,75×5 колб	0,2	–	0,7	0,7

Отже, за результатами наведених розрахунків, можна зробити висновок, що для біосинтезу молочної кислоти *Lactobacillus delbrueckii* потрібно встановити один ферментер об'ємом 1,0 м<sup>3</sup>, один посівний апарат об'ємом 100 л і один інокулятор об'ємом 10 л.



FRUCTOSE AND MANNOSE METABOLISM

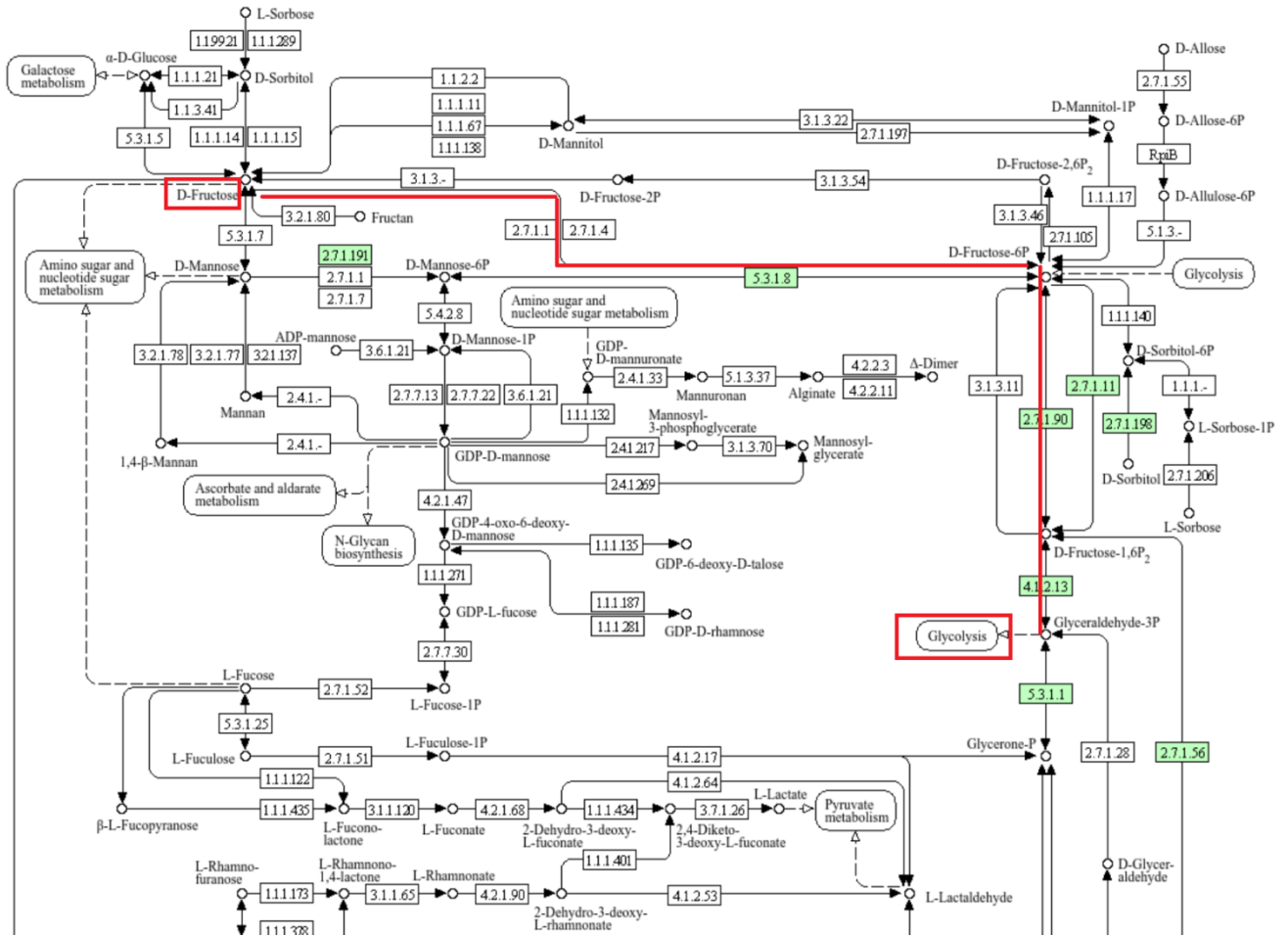


Рис. 4.2. Перетворення д-фруктози до гліцеральдегід-3-фосфату [21]

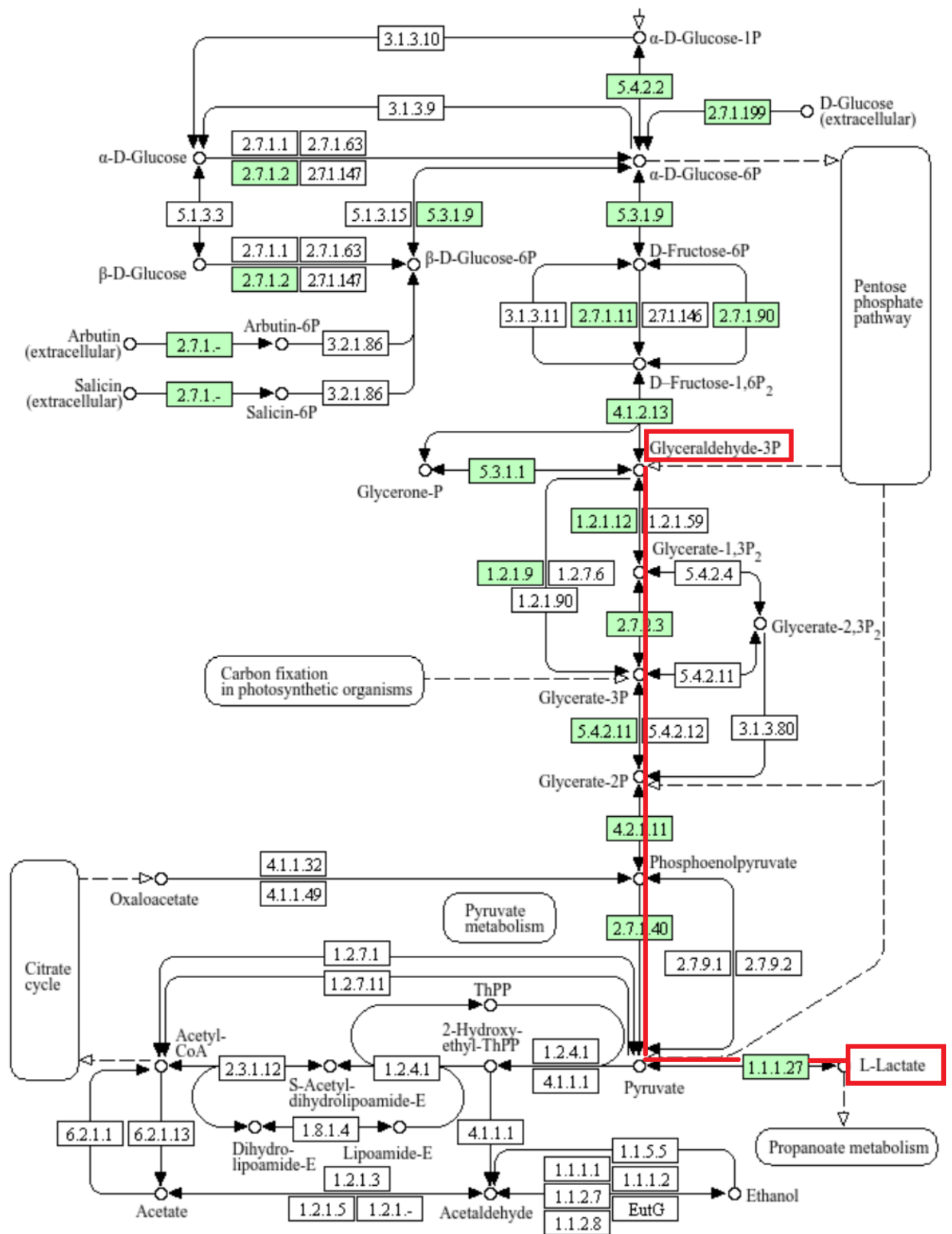


Рис. 4.3. Перетворення гліцеральдегід-3-фосфату у молочну кислоту [22]

## РОЗДІЛ 5. ОБГРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ

### 5.1. Обґрунтування способу культивування і типу ферментера

*Lactobacillus delbrueckii* факультативно анаеробний мікроорганізм. Оскільки він росте на сирих молочних продуктах, він створює та підтримує кисле середовище, необхідне для процвітання, шляхом виробництва молочної кислоти. Оптимально росте при температурах 39–44 °С в анаеробних умовах. Він має складні потреби в харчуванні, які змінюються залежно від середовища. До них відносяться вуглеводи, ненасичені жирні кислоти, амінокислоти та вітаміни [23].

Згідно цільової статті [8], *Lactobacillus delbrueckii* культивується при  $T = 39$  °С та рН 5.5, що відповідає оптимальному діапазону. Необхідні умови процесу культивування продуцента для одержання молочної кислоти наступні:

- 1) Асептичні умови культивування;
- 2) Анаеробні умови культивування;
- 3) Попереднє освітлення м'яса розчином свиногого оцту

### 5.2. Обґрунтування вибору стадії підготовки аераційного повітря

*Lactobacillus delbrueckii* є факультативним анаеробом [24] і для біосинтезу молочної кислоти кисень не потрібен, проте повітря необхідне для створення надлишкового тиску в інокуляторах / ферментерах для підтримання стерильності процесу і для безпосередньої подачі посівного матеріалу через трубу перетиснення. Підготовлене стиснене стерильне повітря у цьому випадку подається через спеціальні фільтри зверху, над поверхнею поживного середовища. Очищення повітря на фільтрах здійснюється завдяки інерційному і дифузійному способам осадження. Підготовка повітря здійснюється у такій послідовності:

					<b>НУХТ БТЕК 05.01.15 КР ПЗ</b>			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата			36	
Розроб.		Присідко А. О.			<b>РОЗДІЛ 5. ОБГРУНТУ- ВАННЯ ВИБОРУ ТЕХ- НОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ</b>	Літ.	Арк.	Акрушів
Консульт.								
Керівник		Удимович В.М.				<b>Кафедра БТМ</b>		
Н. Контр.								
Зав. каф.		Стабніков В.П.						

- на висоті 2-3 м від найвищої точки будівлі, через спеціальні шахти здійснюється регулярних забір порцій атмосферного повітря за допомогою турбокомпресору. Враховуючи висоту ферментера об'ємом 1 м<sup>3</sup> –3,1 м, а також висоту поверху –6 м, косий дах будівлі ~1,5 м, забір повітря виконують на висоті ~ 14 м ;
- Подача порцій відібраного повітря на фільтри попередньої очистки, які необхідні для вловлювання грубих часточок і захисту чутливих елементів / вузлів системи очистки повітря.
- Далі очищене повітря піддається стисненню за допомогою турбокомпресору (до 0,35—0,5 МПа), нагрівається до 120-250 °С і як наслідок підвищується вологість у повітрі.
- Повітря охолоджується за допомогою теплообмінника. Зайва волога видаляється на краплевловлювачі.
- Підготоване повітря подається на фільтри основної очистки із фільтрувальним матеріалом, що виконаний із набивного волокна. Фільтри забезпечують видалення до 98 % мікроорганізмів.
- Подача очищеного повітря по магістральним трубопроводам у виробниче обладнання, крізь індивідуальні фільтри тонкої очистки, що забезпечують ступінь очищення зі ступенем чистоти 99,9999% [24-25].

### 5.3 Вибір мийних та дезінфікуючих засобів

Як зазначалося у попередніх розділах, процес виробництва молочної кислоти *L. delbrueckii* триває 100 днів (див. розділ 3). Під час виробництва використовуються установки для автоматичного перемішування колб, 10 л і 100 л інокулятори, 1000 л ферментер, поживне середовища готується у реакторах, робота із культурою мікроорганізму здійснюється у лабораторії, що обладнанна боксом та іншим необхідним обладнанням. Також передбачається обладнання для виділення (центрифуга та збірник культуральної рідини). Для всього цього обладнання передбачені спеціалізовані приміщення, в яких

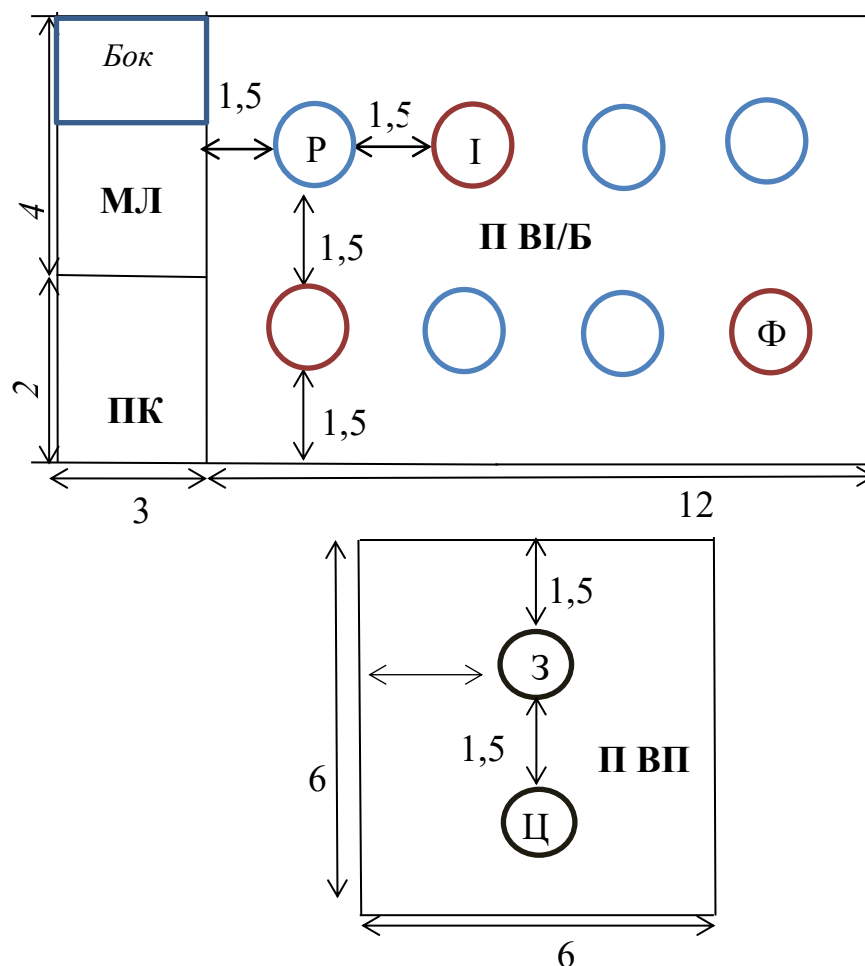
відбуваються відповідні стадії виробництва. Обладнання у приміщеннях розташовується таким чином, що відстань між ним і стінами складає 1,5 м для вільного доступу і зручності під час обслуговування, очистки та обробки. Розміри обладнання наведено у *табл. 5.1*.

*Таблиця 5.1*

**Розміри обладнання, що використовується під час виробництва молочної кислоти**

<b>Обладнання</b>	<b>Геометричний об'єм, л</b>
<i>1</i>	<i>2</i>
Інокулятор	10
Інокулятор	100
Ферментер	1000
Реактор змішувач	10
Реактор змішувач	20
Реактор змішувач	100
Реактор змішувач	100
Реактор змішувач	200
Реактор змішувач	1000
Центрифуга	1000
Реактор (збірник)	1000
<b>Всього</b>	<b>4540</b>

Як видно із значень з *табл. 5.1* загальний об'єм виробничого обладнання складає 4540 л або 4,54 м<sup>3</sup>. Кількість мийних / дезінфікуючих засобів для обробки виробничих приміщень можна розрахувати наступним чином. План приміщень, де ведуться всі процеси схематично зображено на *рис. 5.1*



*Рис. 5.1* Умовне зображення виробничого приміщення

**П ВІ/Б** – приміщення вирощування інокуляту / біосинтезу;

**МЛ** – мікробіологічна лабораторія;

**ПК** – приміщення з установкою автоматичного перемішування колб.

**П ВП** – приміщення виділення продукту

**І, Р, Ф, Ц, З** – інокулятор, реактор-змішувач, ферментер, центрифуга, збірник

В приміщеннях підлога миється щодня (100 разів), а генеральні прибирання (очистка і обробка стін, вікон та підлоги) здійснюється 2 рази на місяць – 7 разів. Згідно із *рис. 5.1*, враховуючи висоту приміщень 6 м, площа підлоги ділянки вирощування інокуляту і виробничого біосинтезу складає  $60 \text{ м}^2$  ( $12 \text{ м} \times 6 \text{ м}$ ), площа стін –  $((12 \text{ м} \times 6 \text{ м}) \times 2 + (6 \text{ м} \times 8 \text{ м})) \times 2 = 240 \text{ м}^2$ , загальна площа –  $60 \text{ м}^2 + 240 \text{ м}^2 = 300 \text{ м}^2$ . Для мікробіологічної лабораторії площа підлоги складає  $3 \text{ м} \times 4 \text{ м} = 12 \text{ м}^2$ , площа стін –  $((3 \text{ м} \times 6 \text{ м}) \times 2 + (4 \text{ м} \times 6 \text{ м})) \times 2 = 84 \text{ м}^2$ , загальна площа –  $96 \text{ м}^2$ . Для приміщення з установкою для автомати-

чного перемішування колб площа підлоги складає  $2 \text{ м} \times 3 \text{ м} = 6 \text{ м}^2$ , площа стін –  $((2 \text{ м} \times 6 \text{ м}) \times 2 + (3 \text{ м} \times 6 \text{ м})) \times 2 = 60 \text{ м}^2$ , загальна площа –  $66 \text{ м}^2$ . Для приміщення виділення продукту площа підлоги складає  $6 \text{ м} \times 6 \text{ м} = 36 \text{ м}^2$ , площа стін –  $((6 \text{ м} \times 6 \text{ м}) \times 2 + (6 \text{ м} \times 6 \text{ м})) \times 2 = 144 \text{ м}^2$ , загальна площа –  $180 \text{ м}^2$ .

Загальна площа поверхні обробки миючими засобами наведена в *табл. 5.2*.

*Таблиця 5.2*

### Розрахунок загальної площі стін та підлоги виробничих приміщень

Приміщення	Площа підлоги, м <sup>2</sup>	Площа стін, м <sup>2</sup>	Загальна площа, м <sup>2</sup>
Ділянка вирощування інокуляту і виробничого біосинтезу	60	240	456
Мікробіологічна лабораторія	12	84	96
Приміщення з качалками	6	60	66
Приміщення виділення продукту	36	144	180
<b>Разом</b>	<b>114</b>	<b>528</b>	<b>798</b>

Для підрахунку сумарних сумарних площ миття /дезінфекції під час виробництва необхідно провести де-які розрахунки, результати яких представлені у *табл. 5.3*. Загальний об'єм культуральної рідини розраховано як  $15941 \text{ л}$ , а об'єм культуральної рідини за 1 цикл становить  $558 \text{ л/цикл}$ , то кількість виробничих циклів (циклів миття) становить:  $15941 \text{ л} / 558 \text{ л/цикл} = 29$  циклів. Необхідно врахувати додаткове миття після останнього циклу і тоді сумарна кількість становить  $30$ .

*Таблиця 5.3*

### Розрахунок площ миття / дезінфекції під час виробничого процесу

Об'єкт	Площа / об'єм об'єкту, м <sup>2</sup> / м <sup>3</sup>	Періодичність миття / дезінфекції під час виробничого процесу	Загальна площа / об'єм, м <sup>2</sup> / м <sup>3</sup>
Обладнання	$4,54 \text{ м}^3$	29	$131,66 \text{ м}^3$
Підлога	$114 \text{ м}^2$	100	$11400 \text{ м}^2$
Стіни, двері, вікна	$528 \text{ м}^2$	7	$3696 \text{ м}^2$

## **Опис вибор і вартісті мийних / дезінфікуючих засобів для промислового виробництва молочної кислоти *L. delbrueckii***

Щоб оцінити доцільність того чи іншого мийного і дезінфікуючих засобів необхідно розрахувати вартість і витрату засобу на  $1 \text{ м}^2 / \text{м}^3$  поверхні / об'єму, що оброблюється. Зазвичай в інструкціях по використанню мийних і дезінфікуючих засобів, зазначена середня витрата робочого розчину в 100 мл на площу в  $1 \text{ м}^2$ . Реактори і інокулятори обладнанні СІР-мийками, що дозволяють автоматизувати процес мийки, ефективно очищувати забруднення з мінімальними витратами води і економити мийні засоби (до 50 % робочого розчину мийного засобу від об'єму апарату). Таким чином, для одного циклу миття знадобиться  $4540 \text{ л} \times 0,5 = 2270 \text{ л}$  робочого розчину мийного засобу, а на весь період виробничого процесу –  $2270 \text{ л} \times 29 = 65\,830 \text{ л}$ . Виходячи із даних *табл. 5.3* загальна площа всіх поверхонь складає  $11400 \text{ м}^2 + 3696 \text{ м}^2 = 15\,096 \text{ м}^2$ . Тоді кількість мийного / дезінфікуючого розчину складає:  $15\,096 \text{ м}^2 \times 100 \text{ мл} = 1509,6 \text{ л}$ .

### **Вибір мийного / дезінфікуючого засобу**

Мийні / дезінфікуючі засоби мають відповідати наступним вимогам:

- Легка водорозчинність і зручність у використанні;
- толерантність до різних типів оброблюваних поверхонь;
- відсутність впливу на готовий продукт;
- ефективність проти широкого спектру мікроорганізмів;
- екологічність і нетоксичність персоналу виробництва.

Вартість мийних / дезінфікуючих засобів, які пропонується використати під час виробництва молочної кислоти, наведено у *табл. 5.4*.

## Мийні / дезінфікуючі засоби, що пропонується використати під час виробництва молочної кислоти

Назва	Концентрація робочого розчину, %	Об'єкт миття / дезінфекції	Площа /об'єм миття / дезінфекції об'єкту, м <sup>2</sup> / м <sup>3</sup>	Кількість робочого розчину за весь період виробництва, л	Вартість 1 л/кг мийного/ дезінфікуючого засобу, грн	Вартість 1 л робочого розчину, грн	Сумарна вартість миття /дезінфекції під час виробництва, грн
НС-CL 45 <sup>1</sup>	1,5 %	Обладнання	131,66	65 830	94,92	1,42	93479
Chemipur S 55 <sup>2</sup>	3,0 %	Обладнання	131,66	65 830	126,8	3,80	250 154
Парастерил <sup>3</sup>	2,5 %	Стіни/підлога/ вікна	15 096	1509,6	250,0	6,25	9435
Chemisept SIL <sup>4</sup>	1,5 %	Стіни/підлога/ вікна	15 096	1509,6	152,0	2,28	3442

**Примітка.** Вартість засобів наведено станом на лютий 2025 р.: 1. <https://klineko.com.ua/shhelochnye-sredstva/hc-cl-45/?srsrtid=AfmBOopDgX4jfpd4fqhv8IDQN0YtXsiGuO1-WeEnA54-sc6ION0e6Xf6>, 2 - <https://klineko.com.ua/kislotnye-sredstva/chemipur-s-55/?srsrtid=AfmBOorjdL88OWLi2c4dk1ryzi32VIHAGVka-dC6eWBCPbIPNAvz0zIE>, 3 - <https://steridez.com/parasteril/>, 4 - <https://klineko.com.ua/nejtralnye-sredstva/chemisept-sil/>

\* **розрахунок вартості 1 л робочого розчину описано для мийного засобу НС-CL 45»:** Ціна 1 л становить 94,92 грн, концентрація його робочого розчину – 1,5 %, тому в 1000 мл робочого розчину міститься 15 мл (0,015 л) концентрату. Таким чином вартість 1,5 % розчину становить: 94,92 грн × 0,015 л = 1,42 грн/л.

## Миючі засоби

**Миючий засіб HC-CL 45** – лужний універсальний непінний рідкий миючий та дезінфікуючий засіб. Склад: луг 15-30%, компонент захисту поверхні 15-30%, дезінфектант, інгібітор корозії. Використовується в системі СІР та для всіх видів машинного очищення (ємності, танки, трубопроводи, виробниче обладнання, тара). Не пошкоджує поверхні з нержавіючої сталі, заліза, алюмінію, жовтої і червоної міді, полімерних матеріалів, гуми і вилужених металів. Зберігає свою ефективність при високій жорсткості води та знижує кількість вапняних відкладень. Робочі концентрації 0,5-2,5 %. Для розрахунку приймемо середню робочу концентрацію у 3,0 % [26].

**Миючий засіб Chemipur S 55** – рідкий кислотний сильнопінний миючий засіб, який призначений для видалення органічних та неорганічних забруднень, накипу. Склад: неорганічна кислота, аніонні ПАВ, розчинник. Розроблений для використання у харчовій промисловості. Використовується за допомогою піногенеруючого обладнання, обладнання високого тиску, методом замочування та ручного очищення. При дотриманні умов інструкції, препарат не пошкоджує поверхні з кислотостійкої сталі, гуми, пластмаси, скла. Робочі концентрації 1,0-5,0 %. Для розрахунку приймемо середню робочу концентрацію у 3,0 % [27].

Порівнявши два миючі засоби, як видно із даних у таблиці 5.4, варто віддати перевагу мийному засобу *HC-CL 45*, оскільки його вартість є майже у 3 рази меншою, ніж вартість засобу *Chemipur S 55*.

## Дезінфікуючі засоби

Дезінфікуючі засоби дозволяють зменшити кількість мікроорганізмів на робочих поверхнях, до встановленого нормативними документами рівня. Під час виробництва молочної кислоти озглянемо використання 2 дезінфікуючих засобів:

**Дезінфікуючий засіб Парастерил** – засіб дезінфекційний готовий до застосування «Парастерил» має бактерицидну, фунгіцидну, віруліцидну дію. Склад: вода підготовлена, N,N-біс (3-амінопропіл) додециламін – не менше 0,075 %; дідецилдіметиламоній хлорид – не менше 0,05 %; алкілдіметилбензиламоній хлорид – не менше 0,04 %; дідецилметилполіоксіетиламоній хлорид – не менше 0,025 %. Засіб ефективний по відношенню до всіх груп мікроорганізмів (в тому числі до санітарно-показових грампозитивних і грамнегативних бактерій (включаючи *Mycobacterium tuberculosis*), бактерій групи кишкової палички, стафілококів, стрептококів, синегнійних паличок, сальмонел тощо; вірусів (поліомієліт, грип, вірусу імунодефіциту людини, кору, епідемічного паротиту; вірусних гепатитів А, В, С та D, норо-, аденовірусів, ротавірусних гастроентеритів, вірусів ЕСНО, Коксакі); дріждеподібних та пліснявих грибів, спороутворюючих мікроорганізмів). Умови зберігання: зберігати у пакуванні ви- робника, в сухому прохłodному місці. Без доступу для загального користування. Захищати від прямих сонячних променів, у віддалених від джерел вогню та тепла. Окремо від лікарських засобів. Температура зберігання +5 °С до +25 °С. Зберігати в недоступному від дітей місці. Робочі концентрації 0,5-5,0 %. Для розрахунку приймемо середню робочу концентрацію у 2,5 % [28].

**Дезінфікуючий засіб Chemisept SIL** – дезінфікуючий рідкий надзвичайно швидкодіючий непінний засіб на основі активованого та стабілізованого концентрату пероксиду водню та іонів срібла. Склад: пероксид, комплексуюча речовина, стабілізатори, іони срібла. Має широкий антимікробний спектр дії. Застосовується у всіх сферах харчової промисловості для дезінфекції попередньо очищених поверхонь. Забезпечує знищення вірусів, бактерій, грибів та їх спор при низькій температурі (5-20°C). Препарат не потребує ополіскування після застосування. Робочі концентрації 1-2 %. Для розрахунку приймемо середню робочу концентрацію у 1,5 % [29].

Проаналізувавши вартості обох дезінфікуючих засобів, для обробки приміщення варто обрати засіб *Chemisept SIL*, оскільки за майже однакової ефективності вартість робочого розчину є меншою майже у 3 рази.

#### 5.4 Особливості підготовки та стерилізації поживного середовища

Біосинтез молочної кислоти здійснюється у ферментері об'ємом 1,0 м<sup>3</sup> з коефіцієнтом заповнення 0,7. Підготовка посівного матеріалу відбувається у чотири стадії (в колбах на качалці, у посівних апаратах об'ємом 10 і 100 л).

Згідно із інформацією із статті [8] склад поживного середовища для вирощування інокуляту:

- глюкоза – 20,0;
- дріжджовий екстракт – 10,0;
- пептон – 10,0;
- ацетат натрію – 10,0;
- розчин мікроелементів – 5,0 мл/л (склад, г/л: сульфат магнію – 40,0, сульфат мангану – 2,0, сульфат заліза – 2,0, хлорид натрію – 2,0);
- рН середовища – 5,5.

Склад поживного середовища для біосинтезу має такий вигляд (г/л):

- Меляса – 150,0;
- Кукурудзяний екстракт – 65,0;
- розчин мікроелементів – 5,0 мл/л;
- рН середовища – 5,5.

Для того аби біосинтез протікав максимально ефективно, обов'язковим є дотримання умов стерильності поживного середовища, яке використовується для вирощування *Lactobacillus delbrueckii*. Компоненти поживного середовища розділяють на відповідні композиції, щоб правильно обрати режими стерилізації.

Для вирощування у колбах на качалках посівного матеріалу потрібен зовсім невеликий об'єм поживного середовища, який стерилізується в автоклаві. Наступні стадії одержання інокуляту та виробничого біосинтезу, підго-

товку компонентів середовища будемо здійснювати в окремих реакторах-змішувачах. Глюкоза, дріжджовий екстракт, пептон, кукурудзяний екстракт стерилізуватиметься окремо через термолабільність. М'яса має бути освітлена свинцевим оцтом перед використанням. Окремо готують 140,9 л розчину підживлення м'яса (100 г/л). Розчин мікроелементів стерилізується окремо і подається у колби / інокулятори / ферментер.

#### 5.4.1 Особливості підготовки і стерилізації поживного середовища для одержання інокуляту в колбах на качалках

На цьому етапі, щоб отримати необхідний об'єм інокуляту, потрібно приготувати 700 мл стерильного поживного середовища. Підготовлене середовище розливаємо у 5 стерильних качалочних колб об'ємом по 750 мл. Стерилізацію компонентів середовища в автоклаві проводимо таким чином:

**Композиція А:** глюкоза, дріжджовий екстракт, пептон (режим стерилізації: 112 °С, тиск 0,05 МПа, час 20 – 30 хв).

**Композиція Б:** ацетат натрію (режим стерилізації: 131°С, 40 хв).

Таблиця 5.5

#### Композиції стерилізації компонентів для вирощування посівного матеріалу в колбах на качалці

Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	Кількість для приготування 700 мл поживного середовища, г	Композиції	Об'єм композиції
Глюкоза	20	14	А	0,5
Дріжджовий екстракт	10	7,0		
Пептон	10	7,0		
Вода		0,5	Б	0,2
ацетат натрію	10,0	7,0		
Вода		0,2		
Всього			700 мл	

## 2.2.2. Особливості підготовки і стерилізації поживного середовища для вирощування інокуляту в посівних апаратах

Підготовка посівного матеріалу передбачає приготування 6,5 і 60,2 л стерильного поживного середовища

*Вирощування інокуляту в посівному апараті об'ємом 10 л*

Для цієї стадії необхідно 6,5 л поживного середовища, склад композиції та умови їх стерилізації аналогічні пункту 2.2.1. Композиція А стерилізується у реакторі на 10 л, а композиція Б – в автоклаві.

**Композиція А:** глюкоза, дріжджовий екстракт, пептон (режим стерилізації: 112 °С, тиск 0,05 МПа, час 20 – 30 хв).

**Композиція Б:** ацетат натрію (режим стерилізації: 131°С, 40 хв).

*Таблиця 5.6*

**Композиції стерилізації компонентів для вирощування посівного матеріалу в інокуляторі об'ємом 10 л**

Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	Кількість для приготування 6,5 л поживного середовища, г	Композиції	Об'єм композиції
Глюкоза	20	122,0	А	5,0
Дріжджовий екстракт	10	61,0		
Пептон	10	61,0		
Вода		4,5		
Конденсат		0,5		
ацетат натрію	10,0	61,0	Б	1,5
Вода		1,5		
Всього			6,5 л	

*Вирощування інокуляту в посівному апараті об'ємом 100 л*

Для цієї стадії необхідно 60,2 л поживного середовища, склад композицій та умови їх стерилізації аналогічні пункту 2.2.1. Композиція А стерилізується у реакторі на 100 л, а композиція Б – на 20 л.

Таблиця 5.7

**Композиції стерилізації компонентів для вирощування посівного матеріалу в інокуляторі об'ємом 100 л**

Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	Кількість для приготування 60,2 л поживного середовища, г	Композиції	Об'єм композиції
Глюкоза	20	1128,0	А	50,0
Дріжджовий екстракт	10	564,0		
Пептон	10	564,0		
Вода		45,0		
Конденсат		5,0		
ацетат натрію	10,0	564,0	Б	10,2
Вода		9,3		
Конденсат		0,9		
Всього			60,2 л	

**2.2.3. Особливості підготовки і стерилізації поживного середовища для виробничого біосинтезу**

Для цієї стадії необхідно 563,6 л поживного середовища, тому потреби у використанні установки безперервної стерилізації немає. Композиція А стерилізується у реакторі на 1000 л. Стерилізацію компонентів середовища проводимо таким чином:

**Композиція А:** м'яса, кукурудзяний екстракт (режим стерилізації: 112 °С, тиск 0,05 МПа, час 20 – 30 хв).

Таблиця 5.8

**Композиції стерилізації компонентів для виробничого біосинтезу у ферментері об'ємом 1,0 м<sup>3</sup>**

Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	Кількість для приготування 563,6 л поживного середовища, г	Композиції	Об'єм композиції
М'яса	50	28,18 кг	А	422,7 л
Кукурудзяний екстракт	65	36,63 кг		
Вода		384,3		
Конденсат		38,4		

### 2.3. Обґрунтування вибору розчинів для регуляції рН

Культивування продуценту і біосинтез молочної кислоти *L. delbrueckii* проводиться за рН на рівні 5,5 за рахунок підлужнення середовища за допомогою розчину  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  тому необхідна попередня підготовка 9 нормального титрувального розчину  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ .

Таблиця 5.9

**Розраховані об'єми та особливості приготування 9 н розчину  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ .**

Об'єм середовища, л	Об'єм, мл	Особливості приготування
0,7	1,4	У колбі на 2 л
6,5	13	
60,2	120,4	
563,6	1127,2	

Отже, технологічна схема, окрім стадій підготовки поживного середовища, включає додаткову стадію з приготування та стерилізації 9 н розчину  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ .

Крім того, необхідно передбачити реактори для приготування та стерилізації композицій, об'ємами: 10 л, 20 л, 2x100 л, 1000 л і 200 л реактор для меляси.

## РОЗДІЛ 6. СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ

Узагальнений перелік обладнання, використовуваного для біосинтезу молочної кислоти наведено у табл. 6.1. Відповідне обладнання представлено у графічній частині (апаратурна схема).

*Таблиця 6.1*

### Специфікація обладнання. Виробництво молочної кислоти

Позиція	Найменування позиції	Кількість	Характеристика обладнання
1	2	3	4
ПЗ-1	Повітрязабірник	1	Повітрязабірник Binetti FDC-125M. Потужність: 382 м <sup>3</sup> /год [30].
Ф-2	Фільтр грубого очищення	1	Фільтр грубої очистки повітря Aerofilter ФВП-Г (G4). Розміри: 800x500 мм. Максимальний тиск: до 12 бар [31].
К-3	Компресор стиснення	1	Компресор WALTER SK 7,5 SXP. Продуктивність компресора: 1000 л/хв. Тиск компресора: 10 бар. Споживана потужність: 7,5 кВт. Габарити: 1240x650x950 мм [32].
Т-4	Теплообмінник-охолоджувач	1	Теплообмінник DAIKIN FDXM50F9/RXM50R. Потужність: 5,0 кВт. Робочий діапазон: -10~+46°C [33].
Р-5	Ресивер	1	Ресивер Повітряний Лідер. Виробник: ООО "ЗЕО Лідер", Україна. Матеріал: нержавіюча сталь. Робочий тиск: 16 бар. Об'єм: 900 л. Робоча температура: 5.. +40 °С. Габарити: 902x1002x2237 мм [34].
Т-6	Теплообмінник-нагрівач	1	Теплообмінник DAIKIN FDXM50F9/RXM50R. Потужність: 5,8 кВт. Робочий діапазон: -15~+18°C. [33].
Ф-7	Фільтр головного очищення	1	Фільтр тонкого очищення стисненого повітря Jablotron F7. Виробник: Чехія. Розміри: 400x220x48мм. Робочий перепад тиску: 450 Па [35].
РЗ-8	Реактор-змішувач для підготовки композиції А	1	Реактор-змішувач PROWIN TOOLS 10 л. Виробник: Тайвань. Розміри: 290 × 310 × 790 мм. Максимальний тиск: 4.1bar / 60psi. Матеріал корпусу: нержавіюча сталь [36].

<b>НУХТ БТЕК 05.01.15 КР ПЗ</b>				
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата
Розроб.	Присідко А. О.			
Консульт.				
Керівник	Удимович В.М.			
Н. Контр.				
Зав. каф.	Стабніков В.П.			
<b>РОЗДІЛ 6. СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ</b>				
			Літ.	Арк.
			Акрівів	
			50	
			<b>Кафедра БТМ</b>	

I-9	Інокулятор	1	Інокулятор BLBIO-10SJ. Об'єм: 10 л. Матеріал корпусу: нержавіюча сталь. Оснащений: барботером, сорочкою і датчиками рН, рО <sub>2</sub> та температури. Габаритні розміри інокулятора складають 890 x 660 x 1600 мм [37].
ІФ-10, ІФ-17, ІФ-25	Індивідуальний фільтр	3	Фільтр F-1 1/2-087-000. Виробник: Італія. Потік повітря: 1020 ÷ 37200 л/хв. Робочий тиск: до 16 бар. Діаметр пор: менше 4 мкм. Температура експлуатації: 1,5...+65 °С [38].
Д-11, Д-13, Д-18, Д-20 Д-23 Д-31	Ваговий дозатор для компонентів середовища	6	Дозатор ваговий FOYER FZ-5000 вібротолковий прямої дії. Виробник: Україна. Діапазон зважування: 0,01-5 кг. Потужність: 360 Вт. Габарити: 680 x 400 x 1300 мм [39].
РЗ-12	Реактор-змішувач для підготовки композиції А	1	Реактор-змішувач DIN-AE 100 об'ємом 100 л. Виробник: Німеччина. Матеріал корпусу: нержавіюча сталь. Наявна пропелерна мішалка (120 об/хв). Габарити: 0.7 м x 1.9 м [40]
РЗ-14	Реактор-змішувач для підготовки композиції Б	1	Реактор-змішувач РТ-20ADSS. об'ємом 20 л. Виробник: Тайвань. Розміри: 350 × 405 × 852 мм. Максимальний тиск: 4.1bar / 60psi. Матеріал корпусу: нержавіюча сталь. [41]
ВН-15 ВН-22, ВН-24 ВН-25 ВН-26 ВН-27	Відцентровий насос для перекачування композиції А	6	Насос харчовий Г2-ОПА. Виробник: Україна. Продуктивність: 10,0 м <sup>3</sup> / год. AISI 304 нержавіюча сталь, Потужність: 1,5 КВт [42].
I-16	Інокулятор	1	Інокулятор BLBIO-100SJ. Об'єм: 100 л. Матеріал корпусу: нержавіюча сталь. Оснащений: барботером, сорочкою і датчиками рН, рО <sub>2</sub> та температури. Габаритні розміри інокулятора складають 1400 x 820 x 2200 мм. [37]
РЗ-19	Реактор-змішувач для підготовки композиції А	1	Реактор-змішувач HG- FJ-1000 Виробник: Shandong HG Engineering Equipment Co., Ltd Китай. Матеріал корпусу: нержавіюча сталь. Наявна пропелерна мішалка. Габарити: 1.36 м x 2.5 м [43]

Закінчення табл. 6.1

РЗ-21	Реактор-змішувач для розчину підживлення меляси	1	Реактор-змішувач LEXSR-200L об'ємом 200 л. Виробник: Німеччина. Матеріал корпусу: нержавіюча сталь. Наявна пропелерна мішалка (120 об/хв). Габарити: 0.8x0.8x2.63 м [44]
Ф-28	Ферментер 1 м <sup>3</sup>	1	Ферментер Mobius® 1000 L. Виробник: Merck, Німеччина. Матеріал корпусу: нержавіюча сталь. Оснащений: барботером, сорочкою і датчиками рН, рО <sub>2</sub> та температури. Діпазон робочих температур: 4 - 40°C Габарити: 1.95 м x 3.1 м [45]
ВН-29	Відцентровий насос для перекачування культуральної рідини у збірник	1	Насос харчовий Г2-ОПА. Виробник: Україна. Продуктивність: 10,0 м <sup>3</sup> / год. AISI 304 нержавіюча сталь, Потужність: 1,5 КВт [42].

## РОЗДІЛ 7. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ.

### *ДР 1. Підготовка аераційного повітря*

#### *ДР 1.1. Забір атмосферного повітря*

Атмосферне повітря відбирають за допомогою повітрязабірника (ПЗ-1) у найвищій точці – на висоті 14 м (враховуючи висоту ферментера об'ємом 1 м<sup>3</sup> –3,1 м, а також висоту поверху –6 м, косий дах будівлі ~1,5 м)

#### *ДР 1.2. Очистка повітря від грубих часток*

Попереднє очищення повітря проводять у фільтрі (Ф-2), що забезпечує ступінь очищення до 90%, затримуючи при цьому частинки діаметром 50 мкм.

#### *ДР 1.3. Стиснення повітря*

Стискання повітря здійснюють у компресорі (К-3), щоб забезпечити аерацію та подолати гідравлічний тиск стовпа рідини у ферментері. Умови процесу: тиск – 0,35 МПа, температура – до 250°C.

#### *ДР 1.4. Охолодження повітря і видалення зайвої вологи*

Стиснене повітря, утворене при компресуванні, (від ДР 1.3) надходить до теплообмінника-охолоджувача (Т-4), де охолоджується до температури 25-30°C. Згодом зайву вологу видаляють за допомогою ресивера (Р-5), де проходить усунення пульсацій руху повітря. На даному етапі показник вологості зменшується до 60%.

#### *ДР 1.5. Нагрівання повітря*

Охоложене повітря (від ДР 1.4) надходить до теплообмінника-нагрівача (Т-6), де нагрівається до температури 45-50°C. На даному етапі показник вологості зменшується до 50%.

#### *ДР 1.6. Очищення повітря у головному фільтрі*

Нагріте повітря (від ДР 1.5) надходить до головного фільтра очистки (Ф-7), який ставлять біля ферментаційних відділень. На даному етапі ступінь очищення складає 95%.

					<b>НУХТ БТЕК 05.01.15 КР ПЗ</b>			
<i>Змн.</i>	<i>Лист</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>				
<i>Розроб.</i>		<i>Присідко А. О.</i>			<b>РОЗДІЛ 7. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ</b>	<i>Літ.</i>	<i>Арк.</i>	<i>Акрушів</i>
<i>Консульт.</i>								55
<i>Керівник</i>		<i>Удимович В.М.</i>				<b>Кафедра БТМ</b>		
<i>Н. Контр.</i>								
<i>Зав. каф.</i>		<i>Стабніков В.П.</i>						

### *ДР 1.7. Очищення повітря в індивідуальному фільтрі*

Повітря (від ДР 1.6) через трубопроводи подається безпосередньо в індивідуальні фільтри кожного з інокуляторів до ТП 4.5, ТП 4.6, ТП 5.1. Ступінь кінцевої очистки повітря складає 99,999%.

### *ДР 2. Приготування розчину свинцевого оцту*

#### *ДР 2.1. Приготування розчину свинцевого оцту для освітлення меляси.*

600 г оцтовокислого свинцю  $Pb(CH_3COO)_2 \cdot 3H_2O$  розтирають у порцеляновій ступці з 200 г оксиду свинцю  $PbO$  в  $100\text{ см}^3$  дистильованої води. Порцелянову ступку з сумішшю кладуть на киплячу водяну баню і нагрівають, перемішуючи до тих пір, поки початково жовта маса не набуде білий чи рожево-білий колір. Потім, перемішуючи, додають частинами  $1900\text{ см}^3$  гарячої дистильованої води і переводять суміш у колбу. Операцію проводять кілька разів, залежно від місткості посудини. Після заповнення колбу залишають у теплом місці від 3 до 5 днів, зрідка перемішуючи вміст дерев'яною паличкою. Після освітлення розчин фільтрують. Відфільтрований розчин зберігають у міцно закоркованих бутелях.

Свинцевий оцет повинен мати сильнолужну реакцію на лакмус і слабколужну на фенол-фталеїн.

### *ДР 3. Освітлення меляси*

#### *ДР 3.1 Освітлення меляси розчином свинцевого оцту*

Під час освітлення розчином свинцевого оцту його додають по  $6-9\text{ см}^3$  на кожні 13 г меляси. У сильнолужних мелясах необхідно попередньо нейтралізувати розчин меляси оцтовою кислотою, розбавленою дистильованою водою у співвідношенні 1:3 у присутності індикатора фенолфталеїну. Колбу з розчином розміщують у термостаті на 15 хв для досягнення температури  $(20,0 \pm 0,1)^\circ\text{C}$ . Піну, що утворилась на поверхні розчину, видаляють краплею етилового ефіру. Розчин доливають дистильованою водою до мітки і перемішують. Перед фільтруванням розчин залишають на 5 хв для осаджування осаду. Розчин фільтрують, покриваючи фільтрувальну лійку годинниковим склом, щоб уникнути випаровування. Перші  $10\text{ см}^3$  фільтрату

зливають. Попередньо видаляють надлишок свинцю. Для цього на кожні 100 см<sup>3</sup> фільтрату додають 0,9 г сухого подрібненого порошку однозаміщеного фосфорнокислого амонію (NH<sub>4</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) для повного розчинення рідину збовтують, а потім 0,2 г гідросульфіту натрію (Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>4</sub>). Перед фільтруванням розчин залишають на 20 хв, фільтрування проводять згідно з попередніми вказівками.

#### ***ДР 4. Приготування і стерилізація розчину підживлення***

##### ***ДР 4.1 Приготування і стерилізація розчину меляси***

Щоб приготувати 140,9 л розчину підживлення через ваговий дозатор у реактор-змішувач (РЗ-21) на 200 л вносять 56,36 кг попередньо зваженої освітленої меляси (від ДР 3.1), додають через лічильник 84,54 л води питної, вмикають перемішувач. Для кращого розчинення компонентів у сорочку реактора подають пару, щоб досягти температури у збірнику на рівні 40 С. Отриманий розчин перекачують насосом у попередньо простерилізований реактор об'ємом 20 м<sup>3</sup>, подають і стерилізують при 112 °С (0,05 МПа) протягом 20-30 хв.

#### ***ДР 5. Підготовка розчину мікроелементів***

##### ***ДР 5.1 Приготування і стерилізація розчину мікроелементів***

Для приготування 3155 мл розчину мікроелементів на технічних вагах зважують 126,2 г сульфату магнію, 6,31 г сульфату мангану, 6,31 г сульфату заліза, 6,31 г хлориду натрію, переносять у колбу на 5 л, доливають за допомогою мірного циліндра на 1 л 3155 мл води дистильованої і закривають ватно-марлевою пробкою. Стерилізують в автоклаві при 0,15 МПа протягом 40 хв.

#### ***ДР 6. Підготовка титрувального розчину Ca(OH)<sub>2</sub> для вирощування інокуляту і промислового біосинтезу***

##### ***ДР 6.1 Приготування і стерилізація 9 н розчину Ca(OH)<sub>2</sub>***

Оскільки молярна маса СаО становить 56 г/моль, то для приготування 9 н розчину на технічних терезах необхідно зважити 56 г х 9 = 504 г порошку

CaO і розвести у 1 л води питної. Для приготування 1262 мл титрувального розчину необхідно зважити 636,04 г порошку CaO, перенести у колбу на 2 л і додати за допомогою лічильника 1262 мл води питної. Вміст колби перемішуємо, колба закривається ватно-марлевым короком і стерилізується в автоклаві (0,15 МПа) протягом 40 хв.

***ДР 7. Приготування та стерилізація поживних середовищ***

*ДР 7.1. Приготування та стерилізація поживних середовищ для культивування у колбах.*

*ДР 7.1.1. Приготування та стерилізація композиції А*

На технічних терезах зважується 14 г глюкози, 7,0 г дріжджового екстракту і 7,0 г пептону. Наважки поміщаються у колбу об'ємом 1 л та розчиняються у 500 мл води питної, попередньо відміряної мірним циліндром. Вміст колби перемішуємо, колба закривається ватно-марлевым короком та проводить стерилізація композиції А у автоклаві за режиму 112 °С, 0,05 МПа впродовж 20-30 хв.

*ДР 7.1.2. Приготування та стерилізація композиції Б*

На технічних терезах зважується 7,0 г ацетату натрію. Наважку поміщаються у колбу об'ємом 500 мл та розчиняють у 200,0 мл води питної, попередньо відміряної мірним циліндром. Вміст колби перемішуємо, колба закривається ватно-марлевым короком та проводить стерилізація композиції Б у автоклаві за режиму 131 °С, 0,15 Мпа впродовж 40 хв.

*ДР 67.1.3. Змішування композицій А і Б*

У колбу об'ємом 1000 мл в асептичних умовах зливають простерилізовані композиції А (від ДР 7.1.1), Б (від ДР 7.1.2). Після завершення процесу здійснюють мікробіологічний контроль.

*ДР 7.2. Приготування та стерилізація поживних середовищ для культивування у посівному апараті об'ємом 10,0 л.*

*ДР 7.2.1. Приготування та стерилізація композиції А*

На технічних терезах зважується 122 г глюкози, 61,0 г дріжджового екстракту та 61,0 г пептону. Наважки поміщаються у реактор-змішувач (РЗ-8)

об'ємом 10 л та подають 4,5 л води питної у реактор. Вмикається перемішувачий пристрій і отриманий розчин перекачують відцентровим насосом до інокулятора (І-9) на 10 л, де стерилізується при 112 °С, 0,05 МПа впродовж 20-30 хв.

*ДР 7.2.2. Приготування та стерилізація композиції Б*

На технічних терезах зважується 61,0 г ацетату натрію. Наважку поміщають у колбу об'ємом 2 л та розчиняють у 1,5 л води питної, попередньо відміряної мірним циліндром. Вміст колби перемішуємо, колба закривається ватно-марлевым короком та проводить стерилізація композиції Б у автоклаві при 131 °С, 0,15 МПа впродовж 40 хв.

*ДР 7.3. Приготування та стерилізація поживних середовищ для культивування у посівному апараті об'ємом 100 л.*

*ДР 7.3.1. Приготування та стерилізація композиції А*

На технічних терезах зважується 1,128 кг глюкози, 564,0 г дріжджового екстракту та 564,0 г пептону. Наважки поміщаються у реактор-змішувач (РЗ-12) об'ємом 100 л та подають 45 л води питної у реактор. Вмикається перемішувачий пристрій і отриманий розчин перекачують відцентровим насосом до інокулятора (І-16) на 100 л, де стерилізується при 112 °С, 0,05 МПа впродовж 20-30 хв.

*ДР 7.3.2. Приготування та стерилізація композиції Б*

Ваговим дозатором зважується 564,0 г ацетату натрію. Наважку поміщають у реактор-змішувач (РЗ-14) об'ємом 20 л та подають 9,3 л води питної у реактор. Вмикається перемішувачий пристрій реактору щоб перемішати його вміст, та проводять стерилізацію у реакторі при 131 °С, 0,15 МПа впродовж 40 хв.

*ДР 7.4. Приготування та стерилізація поживних середовищ для виробничого культивування у ферментері об'ємом 1000 л*

*ДР 7.4.1. Приготування та стерилізація композиції А*

Ваговим дозатором зважується 28,18 кг меляси і 36,63 кг кукурудзяного екстракту. Наважку поміщають у реактор-змішувач (РЗ-19) об'ємом 1000

л та подають 384,3 л води питної у реактор. Вмикається перемішуючий пристрій реактору, щоб перемішати його вміст та проводять стерилізацію у реакторі за режиму 112 °С, 0,05 МПа впродовж 20-30 хв.

### ***ТП 8. Підготовка посівного матеріалу***

#### *ТП 8.1. Підтримання колекційної культури*

Колекційну культуру *Lactobacillus delbrueckii* підтримували в рідкому середовищі GYP за температури 2-4 °С. Культуру переносили на свіже рідке середовище GYP кожні 4 тижні [7].

#### *ТП 8.2. Одержання робочої культури на агаризованих середовищах*

Колекційну культуру *Lactobacillus delbrueckii* розсівають петлею до ізольованих колоній на чашки Петрі із GYP і вирощують при температурі 39±1 °С упродовж 24 год.

#### *ТП 8.3. Вирощування посівного матеріалу у пробірках*

Культуру бактерій *Lactobacillus delbrueckii* із ізольованої колонії переносили у 30 мл стерильного середовища для вирощування (GYP) в пробірки з гвинтовими кришками на 50 мл та інкубували при 39±1 °С протягом 24 годин.

#### *ТП 8.4. Вирощування посівного матеріалу у колбах*

В асептичних умовах у колбу об'ємом 1000 мл із стерильною композицією А і Б (від ДР 7.1.3), додають розчин мікроелементів від ДР 5.1, перемішують і розливають по 140 мл у 7 стерильних качалочні колби об'ємом 750 мл. Доводять рН до 5.5 9 н розчином Са(ОН)<sub>2</sub> від ДР 6.1.

У пробірку з робочою культурою *L. delbrueckii* (від ТП 8.3) вносять 5 мл фізіологічного розчину, суспендують клітини, стерильною піпеткою відбирають отриману суспензію і вносять у качалочні колби із поживним середовищем. Для засіву 1 колби використовують суспензію, одержану з 1 пробірки.

Культивують на качалках (150 об/хв) при температурі 39±1 °С упродовж 24 год і рН 5,5 і здійснюють мікробіологічний контроль. Після прове-

дення мікробіологічного контролю культуральну рідину зливають у засівну колбу об'ємом 1 л.

#### *ТП 8.5. Вирощування культури у посівному апараті об'ємом 10 л*

В інокулятор (І-9) із стерильною композицією А асептично подається композиція Б від ДР 7.2.2, додають розчин мікроелементів від ДР 5.1, вмикається перемішуючий пристрій. Посівний матеріал від ТП 8.4 вноситься через засівну колбу із дотриманням правил асептики. Доводять рН до 5.5 9 н розчином Са(ОН)<sub>2</sub> від ДР 6.1.

Культивування проводиться за температури 39±1 °С, 150 об/хв, рН 5,5 протягом 24 год.

Кожні 4 год з інокулятора відбирають проби культуральної рідини для проведення мікробіологічного контролю.

#### *ТП 8.6. Вирощування культури у посівному апараті об'ємом 100 л*

В інокулятор (І-16) із стерильною композицією А асептично подається композиція Б від ДР 7.3.2, додають розчин мікроелементів від ДР 5.1, вмикається перемішуючий пристрій. Посівний матеріал поступає перетискуванням від ТП 8.5. Доводять рН до 5.5 9 н розчином Са(ОН)<sub>2</sub> від ДР 6.1.

Культивування проводиться за температури 39±1 °С, 150 об/хв, рН 5,5 протягом 24 год.

Кожні 4 год з інокулятора відбирають проби культуральної рідини для проведення мікробіологічного контролю.

### **ТП 9. Виробниче біосинтез**

#### *ТП 9.1 Виробничий біосинтез у ферментері об'ємом 1,0 м<sup>3</sup>*

В ферментер (Ф-28) із стерильною композицією А додають розчин мікроелементів від ДР 5.1, подають із реактора-змішувача (РЗ-21) розчин підживлення меляси, при чому роблять це порційно, кожні 5 год по 15,65 л розчину. Посівний матеріал поступає перетискуванням від ТП 8.6. Доводять рН до 5.5 9 н розчином Са(ОН)<sub>2</sub> від ДР 6.1.

Культивування проводиться за температури 39±1 °С, 150 об/хв, рН 5,5 протягом 48 год.

Протягом культивування ведеться моніторинг споживання карбону та азоту за допомогою методів контролю, вказаних у розділі 5. Кожні 8 год відбирається проба культуральної рідини та досліджується на чистоту мікробіологічної культури. Очікуваний вміст молочної кислоти складає 161,93 г/л.

## РОЗДІЛ 8. КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА

### 8.1. Мікробіологічний контроль

**Контроль чистоти середовищ.** Пробу простерилізованого поживного середовища відбирають в об'ємі, як правило, 50 мл і здійснюють прямим висівом на агаризовані середовища. Контроль здійснюють шляхом розсівання проби простерилізованого поживного середовища (або стерильної композиції поживного середовища перед змішуванням) на чашки Петрі з відповідним агаризованим поживним середовищем і подальшим інкубуванням. Виконання посівів. Посіви здійснюють шляхом відбору 0,1 мл з об'єма проби стерильною піпеткою і нанесення її на поверхню СА – для виявлення грибів і дріжджів і МПА – для виявлення бактерій. Суспензію рівномірно розподіляють по поверхні середовища за допомогою стерильної бактеріологічної петлі або стерильного шпателя Дригальського. Чашки з посівами поміщають у термостат за температури 30...32 °С. Аналіз посівів здійснюють, починаючи з 6...8 години. На поверхні поживних середовищ візуально визначають відсутність ознак росту мікроорганізмів [46].

**Контроль чистоти посівного матеріалу.** Мікробіологічний контроль посівного матеріалу і культуральної рідини можна здійснювати двома методами: прямим висівом на агаризовані поживні середовища і мікроскопіюванням. Прямий висів на агаризоване середовище. Контроль здійснюють шляхом розсівання проби готового посівного матеріалу і культуральної рідини на чашки Петрі з відповідним агаризованим поживним середовищем до ізолюваних колоній (метод виснажувального штриха) і подальшим мікроскопуванням мікроорганізмів з окремих колоній, які виростили на середовищі після інкубування [46].

					<b>НУХТ БТЕК 05.01.15 КР ПЗ</b>			
<i>Змн.</i>	<i>Лист</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>	<b>РОЗДІЛ 8. КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА</b>	<i>Літ.</i>	<i>Арк.</i>	<i>Акрушів</i>
<i>Розроб.</i>	<i>Приїдко А. О.</i>							61
<i>Консульт.</i>								
<i>Керівник</i>	<i>Удимович В.М.</i>							
<i>Н. Контр.</i>								
<i>Зав. каф.</i>	<i>Стабніков В.П.</i>						<b>Кафедра БТМ</b>	

## 8.2. Визначення концентрації біомаси

Пробопідготовка: зразок культуральної рідини центрифугували при 7000 xg протягом 15 хвилин, мікрофільтрували через мембрану 0,22 мкм, двічі промивали (спочатку 0,3 N HCl, а потім дистильованою водою) з подальшим висушуванням при 100°C протягом 24 годин [8].

Концентрацію біомаси клітин визначали за допомогою комбінованого методу, що включає використання калібрувальної кривої ( $y = 1:1297x - 0:045$ ), що корелює результат вимірювання оптичної густини за допомогою спектрофотометра при 600 нм.

## 8.3. Визначення концентрації джерела азоту (кукурудзяного екстракту)

Пробопідготовка: зразок культуральної рідини центрифугували при 7000 xg протягом 15 хвилин, мікрофільтрували через мембрану 0,22 мкм [8]. Амінний азот визначається по методу формольного титрування [47-48].

Білок складається із аміно- і карбоксильних груп, які під час гідролізу пептидних зв'язків вивільняються і у водних розчинах вільні амінокислотні залишки утворюють внутрішньомолекулярні солі, які блокуються формальдегідом з утворенням метиленових похідних амінокислот. Зв'язані аміногрупи втрачають свої властивості, а вільні карбоксильні групи відтитровують розчином лугу. В конічну колбу на 25 мл наливають 3 мл супернатанту культуральної рідини і доливають 0,1%-спиртовий розчин фенолфталеїну і титрують 0,1 н. р-м натрій гідроксиду до почервоніння зразку. Піпеткою набирають 2 мл формольної суміші червоного кольору (суміш 6 мл 20%-го розчину формальдегіду із 0, 1 н. розчином натрій гідроксиду) і додають у зразок, до зникнення червоного відтінку. Після цього титрують р-м NaOH, поки не червоного забарвлення знову не з'явиться. Записують кількість лугу та овизначають кислотне число:

$$X=V*C*k,$$

де V – кількість розчину лугу, використаного на титрування, мл;

C – концентрація розчину натрій гідроксиду;

k – коефіцієнт відповідності 1 мл розчину 1 н. натрій гідроксиду та масі Нітрогену, що дорівнює 14 (мг азоту)/(1 мл 1 н NaOH)

#### **8.4. Визначення концентрації молочної кислоти**

Пробопідготовка: зразок культуральної рідини центрифугували при 7000 xg протягом 15 хвилин, мікрофільтрували через мембрану 0,22 мкм [8]. Отриманий супернатант використовували для визначення концентрації молочної кислоти методом високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) з використанням колонки Rezex ROA 300 мм × 7,8 м (Phenomenex, США) і детектора диференційного показника заломлення (Shimadzu Ultra Fast Liquid Chromatograph, Японія). Рухому фазу (0,005 М H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) подавали зі швидкістю потоку 0,6 мл/хв, а температуру підтримували на рівні 65 °С [49].

#### **8.5. Визначення концентрації джерела вуглецю (меляси)**

Пробопідготовка: зразок культуральної рідини центрифугували при 7000 xg протягом 15 хвилин, мікрофільтрували через мембрану 0,22 мкм [8].

Отриманий супернатант використовували для визначення концентрації меляси методом високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) з використанням колонки Rezex ROA 300 мм × 7,8 м (Phenomenex, США) і детектора диференційного показника заломлення (Shimadzu Ultra Fast Liquid Chromatograph, Японія). Рухому фазу (0,005 М H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) подавали зі швидкістю потоку 0,6 мл/хв, а температуру підтримували на рівні 65 °С [49].

Дані щодо проведення постадійного контролю виробництва молочної кислоти наведено у *табл. 8.1*.

*Таблиця 8.1*

**Карта постадійного контролю виробництва молочної кислоти**

<b>Номер контрольної точки та назва стадії</b>	<b>Об'єкт контролю та показник, що визначається</b>	<b>Засоби та методи контролю</b>	<b>Періодичність перевірки та відбору проб</b>	<b>Нормативні значення показника</b>
Кт 1.1 <i>Забір атмосферного повітря</i>	<b>Повітрозабірник</b> Висота забору повітря	-	Під час купівлі та при встановленні	H = 14 м
Кт 1.2 <i>Очистка від грубих домішок</i>	<b>Очищене повітря</b> Ступінь очистки, перепад тисків	Манометр, перевірка ступеня очищення згідно з паспортом фільтра	Після проходження через фільтр грубої очистки	E = 90%
Кт 1.3 <i>Стиснення повітря</i>	<b>Стиснене повітря</b> Тиск, температура	Манометр, термометр	Після компресування	P = 0,35-0,5 МПа, t = 120-250°C
Кт 1.4 <i>Охолодження і видалення зайвої вологи</i>	<b>Охоложене повітря</b> Температура, вологовміст	Термометр, психрометр	Після охолодження і видалення вологи	t = 25-35°C, W = 60%
Кт 1.5 <i>Нагрівання повітря</i>	<b>Нагріте повітря</b> Температура, вологовміст	Термометр, психрометр	Після нагрівання	t = 40-50°C, W = 50%
Кт 1.6 <i>Очищення у головному фільтрі</i>	<b>Очищене повітря</b> Ступінь очистки, перепад тисків	Манометр, перевірка ступеня очищення згідно з паспортом фільтра	Після проходження через головний фільтр	E = 95%
Кт, Км 1.7 <i>Очищення в індивідуальному фільтрі</i>	<b>Очищене повітря</b> Ступінь очищення, мікробіологічна чистота	Перевірка ступеня очищення згідно з паспортом фільтра, мікробіологічний контроль	Після проходження через індивідуальний фільтр	E = 99,999%, КУО - 0

Кт, 2.1. Приготування розчину свинцевого оцту для освітлення м'ясяси.	Розчин свинцевого оцту Контролюємі параметри рН	Лакмусовий папірець	Після приготування	Свинцевий оцет повинен мати сильнолужну реакцію на лакмус і слаб-колужну на фенол-фталеїн..
Кт, 3.1 Освітлення м'ясяси розчином свинцевого оцту	Розчин м'ясяси Контролюємі параметри: Прозорість розчину	візуально	Після освітлення	Розчин має бути прозорим
Кт, Км, Кх 4.1 Приготування і стерилізація розчину м'ясяси	Розчин м'ясяси Контролюємі параметри стерилізації: температура, тиск, час стерилізації, стерильність	Термометр, манометр, годинник, мікробіологічний контроль	Температура, тиск та час відслідковуються протягом усього процесу стерилізації Мікробіологічний контроль здійснюється після стерилізації, мають бути повністю відсутні сторонні м/о	T = 112 °C; P = 0,05 МПа; t = 20-30 хв, Відсутність мікробіоти
Кт, Км, Кх 5.1 Приготування і стерилізація розчину підживлення мікроелементів	Розчин мікроелементів Контролюємі параметри стерилізації: температура, тиск, час стерилізації, стерильність	Термометр, манометр, годинник, мікробіологічний контроль	Температура, тиск та час відслідковуються протягом усього процесу стерилізації Мікробіологічний контроль здійснюється після стерилізації, мають бути повністю відсутні сторонні м/о	P = 0,15 МПа; t = 40 хв, Відсутність мікробіоти
Кт, Км, Кх 6.1 Приготування і стерилізація 9 н розчину Са(ОН) <sub>2</sub>	Контролюємі параметри стерилізації: температура, тиск, час стерилізації, стерильність	Термометр, манометр, годинник, мікробіологічний контроль	Температура, тиск та час відслідковуються протягом усього процесу стерилізації Мікробіологічний контроль здійснюється після стерилізації, мають бути повністю відсутні сторонні м/о	P = 0,15 МПа; t = 40 хв, Відсутність мікробіоти

Кт, Км 7.1.1. Приготування та стерилізація композиції А	Композиція А Контролюємі параметри стерилізації: температура, тиск, час стерилізації, стерильність	Термометр, манометр, годинник, мікробіологічний контроль	Температура, тиск та час відслідковуються протягом усього процесу стерилізації композиції А; Мікробіологічний контроль здійснюється після стерилізації, мають бути повністю відсутні сторонні м/о.	T = 112 °C; P = 0,05 МПа; t = 20-30 хв, Відсутність мікробіоти
Кт, Км 7.1.2. Приготування та стерилізація композиції Б	Композиція Б Контролюємі параметри стерилізації: температура, тиск, час стерилізації, стерильність	Термометр, манометр, годинник, мікробіологічний контроль	Температура, тиск та час відслідковуються протягом усього процесу стерилізації композиції Б; Мікробіологічний контроль здійснюється після стерилізації, мають бути повністю відсутні сторонні м/о.	T = 131 °C; P = 0,15 МПа; t = 40хв, Відсутність мікробіоти
Кт, Км 7.2.1. Приготування та стерилізація композиції А	Композиція А Контролюємі параметри стерилізації: температура, тиск, час стерилізації, стерильність	Термометр, манометр, годинник, мікробіологічний контроль	Температура, тиск та час відслідковуються протягом усього процесу стерилізації композиції А; Мікробіологічний контроль здійснюється після стерилізації, мають бути повністю відсутні сторонні м/о.	T = 112 °C; P = 0,05 МПа; t = 20-30 хв, Відсутність мікробіоти
Кт, Км 7.2.2. Приготування та стерилізація композиції Б	Композиція Б Контролюємі параметри стерилізації: температура, тиск, час стерилізації, стерильність	Термометр, манометр, годинник, мікробіологічний контроль	Температура, тиск та час відслідковуються протягом усього процесу стерилізації композиції Б; Мікробіологічний контроль здійснюється після стерилізації, мають бути повністю відсутні сторонні м/о.	T = 131 °C; P = 0,15 МПа; t = 40 хв, Відсутність мікробіоти
Кт, Км 7.3.1. Приготування та стерилізація композиції А	Композиція А Контролюємі параметри стерилізації: температура, тиск, час стерилізації, стерильність	Термометр, манометр, годинник, мікробіологічний контроль	Температура, тиск та час відслідковуються протягом усього процесу стерилізації композиції А; Мікробіологічний контроль здійснюється після стерилізації, мають бути повністю відсутні сторонні м/о.	T = 112 °C; P = 0,05 МПа; t = 20-30 хв, Відсутність мікробіоти

Кт, Км 7.3.2. Приготування та стерилізація композиції Б	Композиція Б Контролюємі параметри стерилізації: температура, тиск, час стерилізації, стерильність	Термометр, манометр, годинник, мікробіологічний контроль	Температура, тиск та час відслідковуються протягом усього процесу стерилізації композиції Б; Мікробіологічний контроль здійснюється після стерилізації, мають бути повністю відсутні сторонні м/о.	T = 131 °C; P = 0,15 МПа; t = 40 хв, Відсутність мікробіоти
Кт, Км 7.4.1. Приготування та стерилізація композиції А	Композиція А Контролюємі параметри стерилізації: температура, тиск, час стерилізації, стерильність	Термометр, манометр, годинник, мікробіологічний контроль	Температура, тиск та час відслідковуються протягом усього процесу стерилізації композиції А; Мікробіологічний контроль здійснюється після стерилізації, мають бути повністю відсутні сторонні м/о.	T = 112 °C; P = 0,05 МПа; t = 20-30 хв, Відсутність мікробіоти
Кт, Км 8.1. Підтримання колекційної культури	Колекційна культуру бактерій <i>Lactobacillus delbrueckii</i> Температура, час, мікробіологічна чистота	Термометр, холодильник, мікробіологічний контроль	Температура контролюється під час вирощування культури <i>Lactobacillus delbrueckii</i> у термостаті та при зберіганні у холодильнику. Пересів та мікробіологічний контроль здійснюється кожні 4 тижні згідно цільової статті.	t = 4 тижні., T = 2-4 °C; Відсутність сторонньої мікробіоти
Кт, Км 8.2. Одержання робочої культури на агаризованих середовищах	Культура бактерій <i>Lactobacillus delbrueckii</i> Температура, час, мікробіологічна чистота	Термометр, термостат, мікробіологічний контроль	Температура контролюється під час вирощування культури <i>Lactobacillus delbrueckii</i> у термостаті. Мікробіологічний контроль здійснюється після культивування.	T = 39±1 °C; t = 24 год, Відсутність сторонньої мікробіоти
Кт, Км 8.3. Вирощування посівного матеріалу у пробірках	Культура бактерій <i>Lactobacillus delbrueckii</i> Температура, час, мікробіологічна чистота	Термометр, термостат, мікробіологічний контроль	Температура контролюється під час вирощування культури <i>Lactobacillus delbrueckii</i> у термостаті. Мікробіологічний контроль здійснюється після культивування.	T = 39±1 °C; t = 24 год, Відсутність сторонньої мікробіоти

Кт, Км 8.4. Вирощування посівного матеріалу у колбах	Температура, час, рН, мікробіологічна чистота	Термометр, годинник, рН-метр, мікробіологічний контроль	Температура, рН, швидкість обертів контролюється під час вирощування культури <i>Lactobacillus delbrueckii</i> . Мікробіологічний контроль здійснюється після культивування.	Т = 39±1 °С; рН = 5,5; Швидкість обертів = 150 об/хв; t = 24 год, Відсутність сторонньої мікробіоти
Кт, Км 8.5. Вирощування культури у посівному апараті об'ємом 10 л	Температура, час, рН, об/хв, мікробіологічна чистота	Термометр, годинник, рН-метр, тахометр, мікробіологічний контроль	Температура, рН, швидкість обертів контролюється під час вирощування культури <i>Lactobacillus delbrueckii</i> . Мікробіологічний контроль здійснюється після культивування.	Т = 39±1 °С; рН = 5,5; Швидкість обертів = 150 об/хв; t = 24 год, Відсутність сторонньої мікробіоти
Кт, Км 8.6. Вирощування культури у посівному апараті об'ємом 100 л	Температура, час, рН, об/хв, мікробіологічна чистота	Термометр, годинник, рН-метр, тахометр, мікробіологічний контроль	Температура, рН, швидкість обертів контролюється під час вирощування культури <i>Lactobacillus delbrueckii</i> . Мікробіологічний контроль здійснюється після культивування.	Т = 39±1 °С; рН = 5,5; Швидкість обертів = 150 об/хв; t = 24 год, Відсутність сторонньої мікробіоти
Кт, Км 9.1 Виробничий біосинтез у ферментері об'ємом 1,0 м3	Температура, час, рН, об/хв, концентрація цільового продукту, мікробіологічна чистота	Термометр, годинник, рН-метр, тахометр, мікробіологічний контроль	Температура, рН, швидкість обертів контролюється під час вирощування культури <i>Lactobacillus delbrueckii</i> , а після вирощування і кожні 4 год – мікробіологічний контроль та визначення концентрації біомаси та рибофлавіну	Т = 39±1 °С; рН = 5,5; Швидкість обертів = 150 об/хв; t = 48 год, Відсутність сторонньої мікробіоти С <sub>продукту</sub> = 161,93 г/л;

## РОЗДІЛ 9 ОХОРОНА ДОВКІЛЛЯ

### 9.1. Аналіз технологічної схеми виробництва молочної кислоти на місця емісії твердих, рідких та газоподібних відходів

Промислове виробництво молочної кислоти штамом *Lactobacillus delbrueckii* складається із допоміжних стадій: 1) приготування миючих і дезінфікуючих розчинів; 2) приготування та стерилізація розчину  $Ca(OH)_2$ ; 3) приготування та стерилізація розчину підживлення меляси; 4) приготування розчину підживлення мікроелементів; 5) приготування розчину свинцового оцту; 7) приготування і стерилізація композицій поживних середовищ для вирощування інокуляту та виробничого біосинтезу; виробничих стадій: 1) підготовка посівного матеріалу; 2) біосинтез молочної кислоти.

Узагальнені дані стосовно утворення різних типів відходів під час виконання

У табл. 9.1 представлено інформацію про види відходів, що утворюються під час промислового виробництва молочної кислоти .

					<b>НУХТ БТЕК 05.01.15 КР ПЗ</b>			
							69	
<i>Змн.</i>	<i>Лист</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>		<i>Літ.</i>	<i>Арк.</i>	<i>Аркушів</i>
<i>Розроб.</i>		<i>Присідко А. О.</i>			<b>РОЗДІЛ 9. ОХОРОНА ДОВКІЛЛЯ</b>			
<i>Консульт.</i>								
<i>Керівник</i>		<i>Удимович В.М.</i>						
<i>Н. Контр.</i>								
<i>Зав. каф.</i>		<i>Стабніков В.П.</i>						
						<b>Кафедра БТМ</b>		

## Етапи утворення відходів під час виробництва молочної кислоти

Етап утворення відходів		Тип і опис відходів
Допоміжні стадії	Приготування робочих розчинів миючих та дезінфікуючих засобів	Для очистки обладнання і прибирань у приміщеннях використовуються мийний засіб <b>HC-CL 45</b> і дезінфікуючий засіб <b>Chemisept SIL</b> , які після використання у вигляді водного розчину зливаються у каналізацію. Використані пластикові емності сортуються і відправляються переробку пластику.
	приготування та стерилізація розчину $\text{Ca}(\text{OH})_2$	Рідкі відходи не утворюються, бо розчин $\text{Ca}(\text{OH})_2$ використовуються як регулятор рН під час виробничого процесу. Рідкі відходи можуть утворитися тільки у випадку порушення режиму стерилізації. Використані пластикові емності сортуються і відправляються переробку пластику.
	приготування та стерилізація розчину підживлення меляси	Рідкі відходи утворюються у випадку порушення режиму стерилізації у зв'язку із контамінацією чи утворенням осаду. Тверді відходи утворюються у випадку невідповідності сировини вимогам вхідного контролю відділу якості. Використані пластикові емності сортуються і відправляються переробку пластику.
	приготування розчину підживлення мікроелементів	
	Приготування і стерилізація композицій поживних середовищ для вирощування інокуляту та виробничого біосинтезу	
Виробничі стадії	Підготовка посівного матеріалу	Газоподібні відходи. Оскільки здійснюється подача кисню для забезпечення технічних потреб (надлишок тиску, перетиснення із апарату в апарат) і утворюються не значні об'єми відпрацьованого повітря, які можна повторно використати за рахунок модулю рекуперації повітря. Рідкі відходи не утворюються, оскільки посівний матеріал поступає на наступну стадію вирощування інокуляту або у збірник, після закінчення біосинтезу.
	Біосинтез молочної кислоти	

## 9.2. Перспективи впровадження системи екологізації виробництва молочної кислоти

### 9.2.1. Система знешкодження та утилізації рідких відходів.

Виробництво молочної кислоти займає 100 днів. Чистота приміщень забезпечується миттям підлоги щодня (100 разів) і генеральними прибираннями (очистка стін, підлоги, вікон) 2 рази на місяць. Обладнання обробляють 1,5 % робочим розчином HC-CL 45, у кількості за весь період 65 830 л. Для обробки стін, підлоги, вікон та дверей використовують 1,5 % робочий розчин Chemisept SIL, в кількості 1509,6 л.

Таблиця 9.2

#### Характеристика рідких відходів виробництва ергостерину

Назва рідких відходів	Склад відходів	Об'єм відходів на 1 цикл виробництва, л	Клас небезпеки
1,5 % HC-CL 45	луг 15-30%, компонент захисту поверхні 15-30%, дезінфектант, інгібітор корозії	65 830	III
1,5 % Chemisept SIL	пероксид, комплексуюча речовина, стабілізатори, іони срібла	1509,6	III
	Усього:	67 339,6	

Для очищення отриманого об'єму стічних вод пропонується встановити блочну установку глибокої біологічної очистки стічних вод (СПБО). В установках СПБО реалізовано 7 етапна технологія глибокої біологічної очистки та знезаражування стічних вод:

1. Подача стічних вод на блок «СПБО» Стічні води подаються безпосередньо в блок «СПБО» прямо на вузол механічного очищення. При нерівномірній подачі стічні води надходять в накопичувальну ємність яка служить насосною станцією. З накопичувальної ємності за допомогою фекального на-

соса стічні води направляються в блок повного біологічного очищення «СПБО».

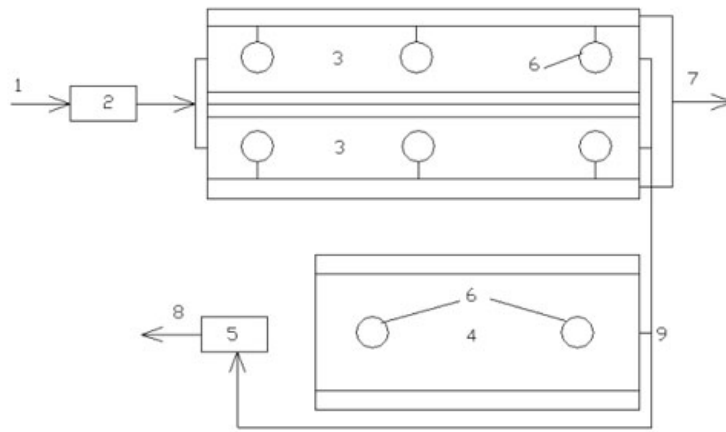
2. Механічне очищення. Стічні води подаються в блок механічного очищення ( I-крок) де видаляються великі забруднення.

3. Аерація й перемішування. Після блоку механічного очищення стічні води самопливом надходять у зону аерації ( II крок), де здійснюється їхнє безперервне перемішування з активним мулом і насичення киснем повітря за допомогою заглибленого електромеханічного аератора.

4. Освітління стічних вод. Освітління стічних вод передбачене у двох камерах відстоювання ( III та IV крок), які становлять єдине ціле із зоною аерації. Стічна рідина протікає через обидві секції відстоювання самопливом, при цьому осаджений мул з першої секції відстоювання повертається в зону аерації безперервно під дією гідродинамічних сил. Активний мул із другої камери відстоювання всмоктується в зону аерації безпосередньо аератором.

5. Знезаражування й доочищення стічних вод. Овітлені стічні води із другої камери відстоювання самопливом надходять у вузол знезаражування ( V крок). Після вузла знезаражуванн вод направляється на зернистий фільтр, що самопромивається, доочистки ( VI крок) и поступає в контактную камеру ( VII крок ).

6. Мулове господарство. Осад із блоку «СПБО» самопливом надходить в муловий колодязь або на установку зневоднювання осаду. Щодобовий обсяг, осідання орієнтовно приймається в кількості 1% від кількості поступаючих стічних вод, і уточнюється в процесі експлуатації. З мулового колодязя осад періодично, один раз у кілька тижнів (місяців) видаляється й вивозиться асенізаційним автомобілем. Кількість і періодичність видалення осаду з мулового колодязя уточнюється в період пусконаладжувальних робіт [50].



**Рис. 9.1 Блочна установка глибокої біологічної очистки стічних вод**  
 1- подача стічних вод; 2- споруди попередньої очистки; 3- основний блок очистки; 4- аеробний стабілізатор; 5- станція зневоднювання осаду; 6- заглибні електромеханічні аератори; 7- випуск очищених стічних вод; 8- видалення осаду; 9- надлишковий активний мул; [50].

### 9.2.2. Система знешкодження та утилізації твердих відходів

Пластикова тара / упаковка накопичується після використання мийних / дезінфікуючих засобів, а також складових поживного середовища.

*Таблиця 9.3*

### Характеристика твердих відходів виробництва молочної кислоти

Назва відходів	Тип пластику	Приблизний об'єм відходів на 1 цикл виробництва, кг	Клас небезпеки
Пластикова тара від мийних/ дезінфікуючих засобів	поліпропілен	1,5	IV
Упаковка від компонентів поживного середовища	полівінілхлорид, поліетилен, поліпропілен	0,5	IV
	Усього:	2,0	

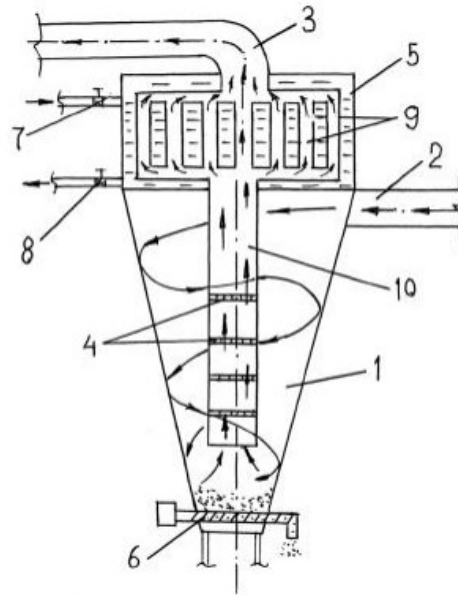
Пластикову тару, упаковку сортують і партіями передають у пункти до пунктів переробки вторинної сировини.

### 9.2.3. Система знешкодження газоповітряних викидів

Під час вирощування інокуляту і виробничого біосинтезу молочної кислоти, повітря необхідне тільки для створення надлишкового тиску в інокуляторах / ферментерах для підтримання стерильності процесу і для безпе-

редньої подачі посівного матеріалу через трубу перетиснення. У відпрацьованому повітрі буду присутні незначні концентрації CO<sub>2</sub> і аерозольні часточки.

Для очищення відпрацьованого повітря можна використати установку, що працює наступним чином. Відпрацьоване повітря надходить до корпусу 1 за допомогою патрубку 2. Повітря в корпусі 1 набуває обертового руху з утворенням відцентрових сил і доцентрового прискорення, напрям якого спрямований внизу. Під дією відцентрових сил тверді частинки витискуються з потоку повітря до стінок корпусу 1 і ущільнюються, а потім потрапляють в нижню частину і можуть бути вивантажені через шнек 6. Очищене в корпусі 1 від твердих частинок повітря надходить в центральну трубу 10, де розташовані решітки 4, що є носіями адсорбуючої речовини. На поверхні решіток відбувається адсорбція вуглекислого газу з повітря, що надходить по трубі 10. Після очищення в центральній трубі 10 від вуглекислого газу, повітря направляється в теплообмінник 9, який має радіаторні елементи, що розташовані в камері кондиціонування 5. Відбувається регулювання температури повітря в камері 5 до необхідної величини. Після кондиціонування повітря з скрубера за допомогою відповідного патрубка 3 подається повторно у систему підготовки вхідного повітря. Перевагою такої установки є те, що вона дозволяє здійснювати комплексно очищення і кондиціонування повітря, а також рекуперацію, в автоматичному режимі без зайвих енергетичних витрат [51].



**Рис. 9.2 Установа очищення відпрацьованого повітря**

1 – корпус скрубера, 2 – підвідний патрубок, 3 – відвідний патрубок, 4 – абсорбційні решітки, 5 – камера кондиціонування, 6 – шнек для вивантаження вловлених пилових часток, 7 – патрубок для вводу рідкого компонента, 8 – патрубок для відведення рідкого компонента, радіаторні елементи: 9 – теплообмінник, 10 – центральна труба для виходу повітря з корпусу 1 [51].

## Перелік літератури:

1. Черниш Є.Ю., Федченко Т. Перспектива використання екологічно безпечних матеріалів на основі біополімерів. Матеріали науково - технічної конференції викладачів, співробітників, аспірантів і студентів факультету технічних систем та енергоефективних технологій (суми, 14–17 квітня 2015 року). Частина 2. -2015. 153-154. [Електронний ресурс]. Режим доступу: [https://essuir.sumdu.edu.ua/bitstream-download/123456789/40163/1/Chernysh\\_Fedchenko.pdf;jsessionid=A2573A50A62F2F6AB2C11D6236B5CD2D](https://essuir.sumdu.edu.ua/bitstream-download/123456789/40163/1/Chernysh_Fedchenko.pdf;jsessionid=A2573A50A62F2F6AB2C11D6236B5CD2D)
2. Процеси та обладнання виробництва волокнистих та плівкових матеріалів / І.М. Жмихов [та ін]. - Мінськ: Вища школа, 2013. - 592 с. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <file:///C:/Users/comfy/Downloads/proizvodstvo-biorazlagaemogo-polimera-polilaktida.pdf>
3. Лубська М.В., Будащ Ю.О. біорозкладні полімерні матеріали на основі полілактиду. Нові наукомісткі технології виробництва матеріалів, виробів широкого вжитку та спеціального призначення. -2016. – с. 254. [Електронний ресурс]. Режим доступу: [https://er.knutd.edu.ua/bitstream/123456789/4419/1/20160428-29\\_%D0%A2%D0%95ZY\\_V1\\_P254.pdf](https://er.knutd.edu.ua/bitstream/123456789/4419/1/20160428-29_%D0%A2%D0%95ZY_V1_P254.pdf)
4. Lactic acid. From Wikipedia, the free encyclopedia. . [Електронний ресурс]. Режим доступу: [https://en.wikipedia.org/wiki/Lactic\\_acid](https://en.wikipedia.org/wiki/Lactic_acid)
5. Castillo Martinez, F. A., Balciunas, E. M., Salgado, J. M., Domínguez González, J. M., Converti, A., & Oliveira, R. P. de S. (2013). Lactic acid properties, applications and production: A review. Trends in Food Science & Technology, 30(1), 70–83. doi:10.1016/j.tifs.2012.11.007
6. Ch. Kotzamanidis, T. Roukas, and G. Skaracis. Optimization of lactic acid production from beet molasses by *Lactobacillus delbrueckii* NCIMB 8130. World Journal of Microbiology & Biotechnology 18: 441–448, 2002.

- [Электронный ресурс]. Режим доступа:  
<https://doi.org/10.1023/A:1015523126741>
7. S. M. Bhatt & S. K. Srivastav. Lactic Acid Production from Cane Molasses by *Lactobacillus delbrueckii* NCIM 2025 in Submerged Condition: Optimization of Medium Component by Taguchi DOE Methodology. *Food Biotechnology*. -2008. -22(2) :115-139. [Электронный ресурс]. Режим доступа: 10.1080/08905430802043107
  8. Beitel S. M., L. Coelho F., Contiero J. Efficient Conversion of Agroindustrial Waste into D(-) Lactic Acid by *Lactobacillus delbrueckii* Using Fed-Batch Fermentation. *Biomed Res Int*. 2020, 22:2020:4194052. doi: 10.1155/2020/4194052.
  9. *Lactobacillus delbrueckii* subsp. bulgaricus. From Wikipedia, the free encyclopedia. [Электронный ресурс]. Режим доступа:  
[https://en.wikipedia.org/wiki/Lactobacillus\\_delbrueckii\\_subsp\\_bulgaricus](https://en.wikipedia.org/wiki/Lactobacillus_delbrueckii_subsp_bulgaricus)
  10. Weiss, N., Schillinger, U., & Kandler, O. *Lactobacillus lactis*, *Lactobacillus leichmannii* and *Lactobacillus bulgaricus*, Subjective Synonyms of *Lactobacillus delbrueckii*, and Description of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* comb. nov. and *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* comb. nov. *Systematic and Applied Microbiology*. -1983. - 4(4), 552–557. [Электронный ресурс]. Режим доступа: doi:10.1016/s0723-2020(83)80012-5
  11. Subspecies *Lactobacillus delbrueckii* subsp. bulgaricus. LPSN - List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://lpsn.dsmz.de/subspecies/lactobacillus-delbrueckii-bulgaricus>
  12. *Lactobacillus delbrueckii* subsp. bulgaricus. BacDive - Explore Bacterial Diversity. [Электронный ресурс]. Режим доступа:  
<https://bacdive.dsmz.de/strain/6449>
  13. Galina Satchanska, Gulesme Mustapha, Valeria Ahad. *Lactobacilli* Count, Morphology Analysis and Biochemical Identification of Lactic Acid Bacteria Isolates from Top Yogurt Brands. *Acta microbiologica bulgarica*. -2017.

- 33(2): 79-85. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://actamicrobio.bg/archive/amb-33-2.pdf#page=34>
14. Alsaheb R. A. A., Aladdin A., Othman N. Z., Abd Malek R., Leng O. M., Aziz R., Enshasy A. El. Lactic acid applications in pharmaceutical and cosmeceutical industries. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 2015, 7(10):729-735.
15. Ao Y.-J., Yi Y., Wu G.-H. Application of PLLA (Poly-L-Lactic acid) for rejuvenation and reproduction of facial cutaneous tissue in aesthetics: A review. *Medicine (Baltimore)*. 2024;103(11):e37506. doi: 10.1097/MD.00000000000037506.
16. Ruiz-Ruiz F., Mancera-Andrade E. Iv., Parra-Saldivar R., Keshavarz T., Iqbal H. M. N. Affiliations Drug Delivery and Cosmeceutical Applications of Poly- Lactic Acid Based Novel Constructs - A Review. *Curr Drug Metab.* 2017;18(10):914-925. doi: 10.2174/1389200218666170919170335.
17. Лактат натрію. Державний реєстр лікарських засобів України <http://www.drlz.com.ua/ibp/ddsite.nsf/all/shlist?opendocument&sklad=%ED%E0%F2%F0%B3%FE%20%EB%E0%EA%F2%E0%F2>
18. ДОВІДНИК “ОПЕРАТИВНО-ТАКТИЧНИХ РОЗРАХУНКІВ З МЕДИЧНОГО ЗАБЕЗПЕЧЕННЯ ВІЙСЬК (СИЛ)” ВП 3-35(42).02. ЛИПЕНЬ 2021
19. JPH04145043A. Production of organic acid salt. [Електронний ресурс] – режим доступу: <https://patents.google.com/patent/JPH03145439A/en>
20. Galactose metabolism - *Lactobacillus delbrueckii* subsp. bulgaricus. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://www.genome.jp/pathway/ldb00052>
21. Fructose and mannose metabolism - *Lactobacillus delbrueckii* subsp. bulgaricus. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://www.genome.jp/pathway/ldl00051>

22. Glycolysis / Gluconeogenesis - *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*.  
[Електронний ресурс]. Режим доступу:  
<https://www.genome.jp/pathway/ldb00010>
23. Hao, P., Zheng, H., Yu, Y., Ding, G., et al. Complete Sequencing and Pan-Genomic Analysis of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* Reveal Its Genetic Basis for Industrial Yogurt Production. PLoS ONE. -2011. -6(1).  
[Електронний ресурс]. Режим доступу: doi:10.1371/journal.pone.0015964
24. Карлаш Ю.В., Красінько В.О. Основи проектування біотехнологічних виробництв [Електронний ресурс]: Навч. посібник. –К.:НУХТ, 2022. – 373 с.
25. Пирог Т.П., Ігнатова О. А. Загальна біотехнологія: підручник / К.:НУХТ, 2009. – 336 с.
26. Миючий засіб HC-CL 45. Інструкція з експлуатації [Електронний ресурс] – режим доступу: <https://klineko.com.ua/shhelochnye-sredstva/hc-cl-45/>
27. Миючий засіб Chemipur S 55. Інструкція з експлуатації [Електронний ресурс] – режим доступу: <https://klineko.com.ua/kislotnye-sredstva/chemipur-s-55/>
28. Дезінфікуючий засіб Парастерил. Інструкція з експлуатації [Електронний ресурс] – режим доступу: <https://its.top/ua/p1424405325-parasteril-sredstvo-dezinfitsiruyuschee.html>
29. Дезінфікуючий засіб Chemisept SIL. Інструкція з експлуатації [Електронний ресурс] – режим доступу: <https://klineko.com.ua/nejtralnye-sredstva/chemisept-sil/>
30. Повітрозабірник Binetti FDC-125M. [Електронний ресурс] – режим доступу: <https://vencon.ua/ua/products/binetti-fdc-125m>.
31. Фільтр грубої очистки повітря (панельний) Aerofilter ФВП-Г (G4)  
[Електронний ресурс] – режим доступу:  
<https://moystroy.com.ua/product/filtr-povitryanyj-panelnyj-gofrovanyj-aerofilter-fvp-g-g4->

- 800h500/?gad\_source=1&gclid=Cj0KCQiAoa5BhCNARIsADVLzZcHRet  
ynwpi6PWvF7ugilcWXfTcqGZfOOYVShi6qp9oODeR1m-  
ss8kaAh3wEALw\_wcB
32. Гвинтовий компресор WALTER SK 7,5 SXP [Електронний ресурс] – режим доступу: <https://kma.ua/uk/reminnogo-privodu-/4021-gvintovij-kompresor-z-reminnim-privodom-walter-sk-75-sxp.html>
  33. DAIKIN FDXM50F9/RXM50R. [Електронний ресурс] – режим доступу: <https://daikin-market.kiev.ua/ua/daikin-fdxm50f9rxm50r.html>
  34. Ресивер Повітряний Лідер [Електронний ресурс] – режим доступу: <https://tusk.ua/ua/product/resiver-vozdushnyij-lider-16-bar-900-l-rv90081801-dlya-kompressora/>
  35. Фільтр Alter Air F7-F9 [Електронний ресурс] – режим доступу: <https://shop.alterair.ua/product/jablotron-f7-filter/>
  36. Реактор-змішувач PROWIN TOOLS [Електронний ресурс] – режим доступу: <https://www.prowin-tools.com/product/pressure-tank/pt-10mdss-stainless-steel-pressure-tank/>
  37. Інокулятор BLBIO-10SJ. [Електронний ресурс] – режим доступу: <https://blanc-labo.fr/wp-content/uploads/2017/11/CATALOG-Bioreactor-System-Innova-2016.pdf>
  38. Санітарний індивідуальний повітряний фільтр Camozzi. [Електронний ресурс] – режим доступу: <https://www.camozzi.ua/catalog/magistralna-pidgotovka-povitrya/magistralni-filtri/filtri-serii-f>
  39. Дозатор ваговий FOYER FZ-5000 [Електронний ресурс] – режим доступу: <https://kozakplus.ua/products/granule-packaging-machines/fz-5000>
  40. Реактор-змішувач LEXSR-200L. [Електронний ресурс] – режим доступу: <https://ru.laboao.com/products/stainless-steel-reactor/100l-150l-200l-300l-industrial-explosion-proof-jacketed-stainless-steel-reactor>
  41. PT-20ADSS 20L [Електронний ресурс] – режим доступу: <https://www.prowin-tools.com/product/pressure-tank/pt-20adss-stainless-steel-pressure-tank/>

42. Насос харчовий Г2-ОПБ. [Електронний ресурс] – режим доступу:  
<https://electrokom.kiev.ua/product/nasos-pishhevoj-g2-opb-2>
43. Реактор-змішувач HG- FJ-1000. [Електронний ресурс] – режим доступу:  
<https://www.hgbeerequipment.com/products/fermentation-tank/more-than-2000l/10000L-10t-fermentation-tank.html>
44. Реактор 200 л [Електронний ресурс] – режим доступу:  
<https://wisemaster.com.ua/ua/p1000166496-reaktor-200-aisi.html>
45. Ферментер Mobius® 1000 L. [Електронний ресурс] – режим доступу:  
[https://www.merckmillipore.com/INTL/en/Mobius-Single-Use-Manufacturing/Mobius-Single-Use-Bioreactors/N76b.qB.fW0AAAFZmkxiYtcY\\_nav](https://www.merckmillipore.com/INTL/en/Mobius-Single-Use-Manufacturing/Mobius-Single-Use-Bioreactors/N76b.qB.fW0AAAFZmkxiYtcY_nav)
46. Красінько В.О. Методи контролю біотехнологічних, фармацевтичних, і харчових виробництв [Електронний ресурс]: конспект лекцій для здобув. освіт. ступ. «бакалавр» спец. 162 «Біотехнології та біоінженерія» освіт.-проф. програми «Біотехнологія» ден. і заоч. форм навч. / В.О. Красінько. – К.: НУХТ, 2019. – 252 с.
47. Schaan K., Hughes P. A comparison of free amino nitrogen and yeast-assimilable nitrogen measurement methods for use in alcoholic fermentation of whey. *J Dairy Sci.* 2024, (9):6592-6601. doi: 10.3168/jds.2023-24324.
48. Формольне титрування. [Електронний ресурс] – режим доступу:  
<https://stemua.science/%D0%9C%D0%B5%D1%82%D0%BE%D0%B4%D0%B8%D0%BA%D0%B8/2807-2/>.
49. Sachin R. Kadam, Sudarshan S. Patil, Kulbhushan B. Bastawde. Strain improvement of *Lactobacillus delbrueckii* NCIM 2365 for lactic acid production. *Process Biochemistry.* -2006. -41: 120–126. [Електронний ресурс]. Режим доступу: doi:10.1016/j.procbio.2005.06.007.
50. ТЕХНОЛОГІЯ ОЧИСТКИ СТИЧНИХ ВОД ГК "ПРОМТЕХВОД" [Електронний ресурс] – режим доступу:  
<http://www.ekvent.com.ua/uk/%D1%82%D0%B5%D1%85%D0%BD%D0%BE%D0%BB%D0%BE%D0%B3%D1%96%D1%97/%D0%BE%D1%87%D0%B8%D1%81%D1%82%D0%BA%D0%B0->

%D1%81%D1%82%D1%96%D1%87%D0%BD%D0%B8%D1%85-  
%D0%B2%D0%BE%D0%B4-%D0%B3%D0%BA-  
%D0%BF%D1%80%D0%BE%D0%BC%D1%82%D0%B5%D1%85%D0  
%B2%D0%BE%D0%B4

51. Патент України на корисну модель № 153571. СКРУБЕР ДЛЯ ОЧИЩЕННЯ І КОНДИЦІОНУВАННЯ ПОВІТРЯ / Лапшин О.Є., Лапшин О.О. Опубл. 19.07.2023, бюл. № 29/2023