

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 СТАБНИКОВ

“ 01 ” листопада 20 22 року

З А В Д А Н Н Я

НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ ЗДОБУВАЧА

АРТЕМЕНКО

Олени

Олександрівни

(прізвище, ім'я, по батькові)

1. Тема роботи Одержання біомаси пивних дріжджів *Saccharomyces
pastorianus*

керівник роботи СТАБНИКОВ Віктор Петрович, проф., зав. каф.,
(прізвище, ім'я, по батькові, науковий ступінь, вчене звання)

затверджені наказом закладу вищої освіти від 31 жовтня 2022 року № 781-кв

2. Строк подання здобувачем роботи 31 січня 2023 р.

3. Вихідні дані до роботи біологічний агент: *Saccharomyces pastorianus*,
цільовий продукт: біомаса пивних дріжджів, об'єм ферментера 1 м³, коефіцієнт
заповнення 0,5

4. Зміст пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно розробити)
РОЗДІЛ 1. Характеристика біомаси пивних дріжджів. РОЗДІЛ 2.
Обґрунтування вибору та характеристика біологічного агента. РОЗДІЛ 3.
Техніко-економічне обґрунтування. РОЗДІЛ 4. Обґрунтування вибору
технологічної схеми. РОЗДІЛ 5. Специфікація обладнання. РОЗДІЛ 6. Опис
технологічної схеми. РОЗДІЛ 7. Контроль виробництва. РОЗДІЛ 8. Охорона
довкілля

5. Перелік графічного матеріалу

Технологічна схема виробництва біомаси пивних дріжджів – 1 аркуш формату
А2. Апаратурна схема виробництва біомаси пивних дріжджів – 1 аркуш
формату А1.

6. Консультанти розділів роботи

| Розділ | Прізвище, ініціали та посада консультанта | Підпис, дата | |
|--------|---|----------------|------------------|
| | | завдання видав | завдання прийняв |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |

7. Дата видачі завдання 01 листопада 2022 року

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

| № | Назва етапів виконання кваліфікаційної роботи | Строк виконання етапів роботи | Примітка |
|----|--|-------------------------------|----------|
| 1 | Характеристика цільового продукту | 01.11.2022 – 10.11.2022 | |
| 2 | Обґрунтування вибору та характеристика біологічного агента | 11.11.2022 – 15.11.2022 | |
| 3 | Техніко-економічне обґрунтування | 16.11.2022 – 27.11.2022 | |
| 4 | Обґрунтування вибору технологічної схеми | 28.12.2022 – 02.01.2023 | |
| 5 | Специфікація обладнання | 02.01.2023 – 09.01.2023 | |
| 6 | Опис технологічної схеми біосинтезу | 10.01.2023 – 15.01.2023 | |
| 7 | Контроль виробництва | 16.01.2023 – 20.01.2023 | |
| 8 | Охорона довкілля | 20.01.2023 – 22.01.2023 | |
| 9 | Оформлення пояснювальної записки | 22.01.2023 – 23.01.2023 | |
| 10 | Виконання графічної частини проекту | 23.01.2023 – 31.01.2023 | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |

Здобувач _____
(підпис)

Керівник роботи _____
(підпис)

Олена АРТЕМЕНКО
(ім'я та прізвище)

Віктор СТАБНІКОВ
(ім'я та прізвище)

РЕФЕРАТ

Кваліфікаційна робота присвячена розробленню технології культивування та обрання найбільш вигідного штама *Saccharomyces pastorianus* – для біосинтезу біомаси пивних дріжджів.

Обрано штама дріжджів *Saccharomyces pastorianus* CBS1483, оскільки даний штама має найбільш вигідні співвідношення собівартості біомаси та поживного середовища та досить невеликий термін культивування у 24 години, за такий час штама накопичує 8 грамів на літр біомаси високою концентрацією біомаси у 35 г на літр. Штама буде об'єктом технологічного процесу одержання біомаси у біореакторі на 1000 л включаючи підготовку посівного матеріалу.

Технологія отримання біомаси передбачає використання одностадійного процесу культивування продуцента.

Кваліфікаційна робота складається зі вступу, восьми розділів, списку використаних джерел (36 найменувань) та технологічної схеми та апаратурної (формат А2). Загальний обсяг роботи – 62 сторінки, 7 рисунків, 8 таблиць.

Ключові слова: пиво, *Saccharomyces pastorianus*, біомаса, дріжджі, культивування.

ЗМІСТ

| | |
|---|----|
| РЕФЕРАТ | 4 |
| ВСТУП..... | 7 |
| РОЗДІЛ 1. ХАРАКТЕРИСТИКА БІОМАСИ ПИВНИХ ДРІЖДЖІВ | 9 |
| РОЗДІЛ 2. ОБГРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТА ХАРАКТЕРИСТИКА БІОЛОГІЧНОГО АГЕНТА..... | 12 |
| 2.1. Обґрунтування вибору біологічного агента та поживного середовища для його культивування..... | 12 |
| 2.2. Морфолого-культуральні та фізіолого-біохімічні ознаки біологічного агента | 19 |
| 2.3. Таксономічний статус..... | 21 |
| РОЗДІЛ 3. ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБГРУНТУВАННЯ | 24 |
| 3.1. Потреба у цільовому продукті | 24 |
| 3.2. Розрахунок потужності виробництва..... | 24 |
| 3.3. Розрахунок кількості виробничих циклів для отримання річної потреби цільового продукту. | 25 |
| 3.4. Розрахунок кількості стадій підготовки посівного матеріалу..... | 25 |
| 3.5. Біосинтез цільового продукту..... | 26 |
| 3.5.1. Шляхи катаболізму ростового субстрату у біологічного агента | 26 |
| 3.5.2. Біотрансформація ростового субстрату у цільовий продукт | 27 |
| РОЗДІЛ 4. ОБГРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ВИРОБНИЦТВА | 35 |
| 4.1. Обґрунтування вибору умов культивування та типу ферментера..... | 35 |
| 4.2. Обґрунтування вибору стадії підготовки повітря | 36 |
| 4.3. Вибір мийних та дезінфікуючих засобів | 37 |
| 4.4. Особливості підготовки та стерилізації поживного середовища..... | 39 |
| РОЗДІЛ 5. СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ | 40 |
| РОЗДІЛ 6. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ БІОСИНТЕЗУ ЦІЛЬОВОГО ПРОДУКТУ | 42 |
| РОЗДІЛ 7. КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА | 49 |
| 7.1. Мікробіологічний контроль | 49 |

| | |
|---|----|
| 7.2. Визначення концентрації джерел азоту та вуглецю..... | 51 |
| 7.3. Визначення концентрації цільового продукту..... | 52 |
| РОЗДІЛ 8. ОХОРОНА ДОВКІЛЛЯ..... | 54 |
| 8.1. Аналіз технологічної схеми виробництва біомаси пивних дріжджів <i>Saccharomyces pastorianus</i> | 54 |
| 8.2. Характеристика рідких відходів біосинтезу..... | 56 |
| 8.3. Характеристика твердих відходів біосинтезу..... | 57 |
| 8.4. Характеристика газоповітряних відходів виробництва біомаси дріжджів | 58 |
| Список використаної літератури..... | 60 |

ВСТУП

Сучасний стан біотехнології, біоінженерії та біоіндустрії в Україні можна охарактеризувати наявністю достатнього наукового й технічного потенціалу, при наявності високої ринкової потреби промислових харчових сполук (амінокислот, вітамінів, молочної і лимонної, глюконової кислот, та ін.), при необхідності збереження енергії та збільшення кормової бази та харчових білків, охорони здоров'я та захисту екосистем довкілля [1].

Біотехнологія - вагомий і перспективний фактор розвитку світового виробництва, практично у всі що знаходить застосування у світовій економіці і демонструє значні потенційні переваги. Так, біотехнологія допомагає боротися з хворобами, розвиває та покращує медицину, забезпечує населення планети доступними, життєво необхідними препаратами. Значний потенціал біотехнологія має у боротьбі із голодом, вирішуючи проблеми браку їжі для країн, що розвиваються, допомагаючи довкіллю тазнижуючи ризик токсичного забруднення ґрунтів та ґрунтових вод, підвищуючи ефективність сільського господарства. Багато різних технологій нині замінюються біотехнологіями, котрі використовують ферменти і мікроорганізми, особливо у харчовій галузі та сфері переробки сільськогосподарських, промислових та побутових відходів, очищення і використання стічних вод, отримання біогазу і добрив [2].

Актуальність: На сьогоднішній день виробництво алкогольних напоїв ринку (зокрема пива): потребує у постійному рості та потребує все нових і нових штамів дріжджів, які б задовольняли основні потреби як у органолептичних властивостях так і у здешевленні виробництва, що напряду відображає кількість біомаси яку можна отримати на одному і тому самому поживному середовищі – суслі. Так як попит на дану продукцію з кожним роком зростає і відбір нових більш продуктивних і дешевих в отриманні штамів дріжджів наразі є дуже актуально і перспективною темою [3].

| | | | | | | | | |
|------------------|-------------------------|--------------------|---------------|-------------|---------------------------------|--------------------|--------------|----------------|
| | | | | | <i>НУХТ БТЕК 05.01.09 КР ПЗ</i> | | | |
| <i>Зм</i> | <i>Арк.</i> | <i>№ документа</i> | <i>Підпис</i> | <i>Дата</i> | | | | |
| <i>Розробник</i> | <i>Артемченко О. О.</i> | | | | <i>ВСТУП</i> | <i>Літера</i> | <i>Аркиш</i> | <i>Аркишів</i> |
| <i>Керівник</i> | <i>Стадніков В. П.</i> | | | | | | 7 | 62 |
| <i>Н. контр</i> | | | | | | <i>Кафедра БТМ</i> | | |
| <i>Консильт</i> | | | | | | | | |
| <i>Зав. каф.</i> | <i>Стадніков В.П.</i> | | | | | | | |

Новизна: Нині виробництво дріжджів необхідне для потреб пивзаводів, підприємств та для домашнього використання. Тому є необхідність нових селективних чи генетично модифікованих штамів для культивування, тож дана тема є новою і дуже актуально [4].

РОЗДІЛ 1. ХАРАКТЕРИСТЕКА БІОМАСИ ПИВНИХ ДРІЖДЖІВ

Пивні дріжджі це продукт мікробного синтезу, який представляє собою висушену біомасу дріжджів у формі порошку чи біологічно-активних добавок в залежності від цілей застосування. Сухі пивні дріжджі можуть містити захисне середовище, що вносяться перед сушінням чи наповнювач на якому їх іммобілізують. Зазвичай сухі пивні дріжджі це активна іммобілізована культура яка застосовується для виготовлення пива для розведення посівного матеріалу дріжджів для ферментації сусла. Пресова н пивні дріжджі зазвичай мають форму таблеток та виступають як біологічно-активна добавка виготовлення з біомаси дріжджів другої чи третьої генерації після виготовлення пива (відхід виробництва) до раціону харчування. Основним компонентом пивних дріжджів є культура або суміш культур (раса) дріжджів роду *Saccharomyces*, *Shizosacharomyces* та ін. В залежності від цілі застосування. В більшості використовують раси дріжджів при виробництві (раси є сумішню штамів дріжджів, які не міняють своїх властивостей при пересівах) чи використовують деякі штами дріжджів метод зберігання культури котрих дозволяє при пересівах не втрачати своїх властивостей, тобто зимазної та мальтазної активності (зброджування глюкози і мальтози відповідно), а також звісно активності утворення етанолу, що є важливим для виробництва пива [5, 6, 8].

Кінцевим продуктом біосинтезу є біомаса дріжджів, котра у подальшому відділяється від культуральної рідини, концентрується, пресується або висушується за умовами при котрих дріжджі зберезуть свою життєздатність та активність. У даній роботі буде представлено у якості пивних дріжджів представника, що іменується *Sacharomyces pastorianus* .

| | | | | | | | |
|---|------------------------|--------------------|---------------|-------------|---------------------------------|-------------|---------------|
| | | | | | <i>НУХТ БТЕК 05.01.09 КР ПЗ</i> | | |
| <i>Зм</i> | <i>Адк.</i> | <i>№ документа</i> | <i>Підпис</i> | <i>Дата</i> | | | |
| <i>Розробник</i> | <i>Артеменко О. О.</i> | | | | <i>Літера</i> | <i>Аркш</i> | <i>Аркшів</i> |
| <i>Керівник</i> | <i>Стадніков В. П.</i> | | | | | 9 | 62 |
| <i>Н. конто</i> | | | | | <i>Кафедра БТМ</i> | | |
| <i>Консильт</i> | | | | | | | |
| <i>Зав. каф.</i> | <i>Стадніков В.П.</i> | | | | | | |
| <i>РОЗДІЛ 1. ХАРАКТЕРИСТИКА БІОМАСИ ПИВНИХ ДРІЖДЖІВ</i> | | | | | | | |

Даний вид дріжджів використовується для виготовлення витриманого пива типу «Лагер». Оскільки вид є специфічним для виготовлення конкретного виду пива порівняльний вибір найбільш продуктивного представника буде зводитися до вибору найбільш активного, але найменш вартісного у виробництві штама [8, 9].

Хімічний склад дріжджових клітин складає (%): воду 72-75; сухі речовини – 25-28, зокрема (% на СР): білки та і інші азотисті сполуки 37-50; вуглеводи 35-45; жири 1,6-2,5; зольні елементи 6-10. Зольні речовини складаються з макроелементів, зокрема фосфору, калію, магнію, кальцію і мікроелементів – заліза, алюмінію і міді. Щоб утворилася повноцінна біомаса дріжджів, у живильному середовищі мусить бути азот, фосфор, калій та магній, також форми вуглеводів, котрі легко заствоюються мікроелементи та й інші речовини. Джерелом вуглецю для дріжджів являються моно- і дицукри, а в умовах аерації – спирти та альдегіди і органічні кислоти. Азотним джерелом є розчинні органічні та неорганічні сполуки азоту [8].

Основна характеристика пивних дріжджів це мальтазна та зимазна активність, зокрема концентрація етанолу яку може надати певний штам дріжджів, зокрема стійкість культури при пересівах,

Сухі пивні дріжджі містять до 10 % вологи. Зовнішній вигляд товарних дріжджів у сухій та в пресованих формах, *рис 1.1*



Рис 1. 1. Зовнішній вигляд товарних сухих пивних дріжджів [7].

Властивості дріжджових клітин оптимальні параметри для ферментації сусла при приготуванні пива 9-10 °С, рН: 4.5...5.5 , анаеробні умови [6, 10].

Продуценти

Основним продуцентом біомаси пивних дріжджів для виготовлення лагеру є штами *Sacharomyces pastorianus* . Сумарний відсоток дріжджів у готовій сухій біомасі має становити не менше аж 95 % [8].

Склад препаратів і форма випуску

Формою випуску в більшості випадків є суха біомаса, що є висушена культура в захисному середовищі, що має вигляд сухих гранул з вологістю 5-10 %. Термін зберігання до 12 місяців. Пресовані дріжджі є фільтрованою вологою біомасою концентрованого дріжджового молочка. Вологість становить до 70%. Терміном зберігання є місяць. Сухі дріжджі фасуються в достатньо роздрібно у упаковки від 15 до 100 г, пресовані у пачки по 100-200 гр. До 1 кг фасують дріжджі при оптових продажах[7].

Дія препарату:

Опісля внесення дріжджового препарату до сусла за рахунок споживання дріжджами вуглеводів сусла виділяється алкоголь, а також вуглекислий газ та продукти не повної ферментації. Які зумовлюють всі органолептичні та фізико-хімічні властивості пива в яке перетворюється сусло після циклу повної ферментації [9].

Дозування:

Усереднене дозування наступне:

Для зброджування 20-30 л сусла необхідно 11,5-12 г сухих пивних дріжджів.

Температура ферментації 9-12 °С [10].

РОЗДІЛ 2. ОБГРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТА ХАРАКТЕРИСТИКА БІОЛОГІЧНОГО АГЕНТА

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

Пивні дріжджі являються препаратом на основі біомаси із вологістю 10-15 %, якщо є сухими, 20-25 % якщо є пресованими. Власне препарат містить або концентрат пресованого дріжджового молока або із сухі дріжджеві клітини у захисному середовищі. Усі види хлібопекарських дріжджів мають такі властивості та показники, а саме: загальна активність, активність по гідролізу певних цукрів, глюкози, мальтози інших та продуктивність по вуглекислому газу. Продуктивність вимірюється по біосинтезі етанолу, так як дані дріжджі використовуються у його біосинтезі[4].

Порівняльна характеристика біологічних агентів-продуцентів:

Так як цільовий продукт є біомасою дріжджів, котру отримують культивуванням у аеробних умовах на основі лише представники роду *Saccharomyces cerevisiae*, зокрема представники *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces pastorianus* обираємо продуцентів які володіють концентрацією біомаси та мають необхідні властивості для приготування відповідної продукції [9, 10, 11].

Для порівняльної характеристики та вибору продуцента будемо залучати наступних продуцентів, тобто знайдених для обрання у якості основного ферментуючого компоненти для приготування пиву Лагер: *Saccharomyces cerevisiae* (Turbo yeast; Gert Strand AB), *Saccharomyces pastorianus* DBVPG 6253, *Saccharomyces pastorianus* CBS1483.

| | | | | | | | | |
|------------------|------------------------|--------------------|---------------|-------------|---|--------------------|-------------|---------------|
| | | | | | <i>НУХТ БТЕК 05.01.09 КР ПЗ</i> | | | |
| <i>Зм</i> | <i>Арк.</i> | <i>№ документа</i> | <i>Підпис</i> | <i>Дата</i> | РОЗДІЛ 2. ОБГРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТА ХАРАКТЕРИСТИКА БІОЛОГІЧНОГО АГЕНТА | <i>Літера</i> | <i>Аркш</i> | <i>Аркшів</i> |
| <i>Розробник</i> | <i>Артеменко О. О.</i> | | | | | | 12 | 62 |
| <i>Керівник</i> | <i>Стадніков В. П.</i> | | | | | <i>Кафедра БТМ</i> | | |
| <i>Н. кантр</i> | | | | | | | | |
| <i>Консульт</i> | | | | | | | | |
| <i>Зав. каф.</i> | <i>Стадніков В. П.</i> | | | | | | | |

**Порівняльна характеристика біологічних агентів для біосинтезу
дріжджової біомаси[12,11,10].**

| Продуцент | Склад поживного середовища (г/л) | Умови культивування: температура °С, рН, час культивування (год) | Концентрація біомаси г/л | Література |
|--|---|---|--------------------------|---|
| <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (Turbo yeast; Gert Strand AB), | Глюкоза – 20 Бакто-Пептон – 20 Дріжджовий екстракт – 10 | t=37 °С рН - 4,5 ; T = 48 | 4,8 | <i>Claire M. H, Loveridge, Iain S. D. Diane, Kelly S. L // Co-production of bioethanol and probiotic yeast biomass from agricultural: application of the rural biorefinery concept // Hull et al. AMB Express journal.-2014-. Vol 4 - . N 64 P 1–8.</i> |
| <i>Saccharomyces pastorianus</i> DBVPG 6253 | Гліцерин – 20 Дріжджовий екстракт – 10 Пептон – 20 | t = 24 °С рН – 5,0 T = 49 | 25,7 | <i>Manuela Taccaria, Loura Canonico, Francesca Comitina, Iaria, Mannazzub Maurizio Ciania // Screening of yeasts for growth on crude glycerol and optimization of biomass production // Bioresource Technology.- 2012-. Vol 110 - . N 1 P. 488-495</i> |

| | | | | |
|--|--|--|---|---|
| <p><i>Saccharomycetes pastorianus CBS1483.</i></p> | <p> KH_2PO_4 – 3 $\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ – 5 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,5 Суміш цукрів: Глюкоза – 5,6 г Мальтоза – 8,4 Мальтотріоза - 6 </p> | <p> t=20 °C pH – 5,0 T = 24 </p> | <p> Розрахункова концентрація біомаси становить: 8 г/л. Обмеження іде по джерелу азоту. </p> | <p> <u>Anja Brickwedde</u>, <u>Marcel van den Broek</u>, <u>Jan-Maarten A. Geertman</u>, <u>Frederico Magalhães Niels G. A. Kuijpers</u>, <u>Brian Gibson</u>, <u>Jack T. Pronk</u> and <u>Jean-Marc G. Daran</u> // Evolutionary Engineering in Chemostat Cultures for Improved Maltotriose Fermentation Kinetics in <i>Saccharomyces pastorianus</i> Lager Brewing Yeast. Food microbiology.-2017.- Vol 6 - . N 10 P 1145-1148 </p> |
|--|--|--|---|---|

Перевірочний розрахунок поживного середовища для *Saccharomyces pastorianus* CBS1483

Оскільки у джерелі, що описує даного продуцента не вказана концентрація біомаси необхідно буде розрахувати теоретично можливий рівень біомаси на вказаному поживному середовищі.

Вміст вуглецю у поживному середовищі

Суміш цукрів з однаковим вмістом вуглецю та брутто-формулами виступають головним субстратом та джерелом карбону у обраному середовищі.

Розрахунок загальної кількості вуглецю у суміші цукрів на прикладі глюкози:

Хімічна формула у лактози ідентична глюкози - $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$, саме тому будемо рахувати по ній. 50% від кількості субстрату використовують клітини для біосинтезу і набору біомаси, але інша частина субстрату

витрачається на холосте окиснення саме тому при підрахунку загальної кількості вуглецю вона буде знижена аж до 50%. Відсоток вуглецю у лактозі (шість атомів молекулярною масою дванадцять кожний): $\frac{100 \times 72}{180}$

$$w_1 = 40 \%$$

Розраховуємо масу вуглецю у 20 г/л суміші цукрів :

$$G = (40 \cdot 20) / 100 = 8 \text{ г/л}$$

Вміст вуглецю в біомасі

У біомасі є 50 % вуглецю від сухої маси, так як заданої концентрації біомаси не є надано. Порахуємо максимальний вихід біомаси за порохованого числа вуглецю, тобто з 8 г вуглецю може утворитися 8 г біомаси враховуючи витрати на холосте(порожнє)окиснення у 50 %.

Вміст азоту в поживному середовищі

Джерелом азоту є амоній сульфат.

Розрахунок вмісту азоту у сульфаті амонію

Вміст азоту у сульфаті амонію становить 21 % виходячи з формули [12].

$$\begin{aligned} &\text{У } 5 \text{ г/л сульфату амонія} \\ &\text{міститиме } G_1 = (4 \cdot 21) / 100 \\ &= 0,84 \text{ г/л} \end{aligned}$$

Вміст азоту в біомасі

У зв'язку з тим, що заданої концентрації біомаси не є надано будемо рахувати, що маємо 10 % азоту від сухої маси. Розраховуємо максимальний вихід біомаси за порохованої кількості азоту : дане число становитиме 8,2 г на літр біомаси.

Висновок : лімітувальним фактором є вуглець, у поживному середовищі вистачить компонентів для синтезу і біомаси у кількості 8 г/л. [13, 14].

Опис таблиці та обрання продуцента:

Культивування, *Saccharomyces cerevisiae* (*Turbo yeast; Gert Strand AB*), є вдоста затратним з економічної точки зору: по-перше час культивування досягає аж 48 годин, а це майже у 2 довше за найближчий час культивування продуцентів, до того ж температура культивування вища за температур, ніж єу попередніх штамів. По- друге середовище має вдоста багато дороговартісних компонентів, зокрема як пептон та дріжджовий автолізат, і звідси маємо високу вартість поживного середовища культивування. По-третє , штам має найбільш низьку продуктивність по біомасі, і це найбільш важливий параметр саме при масовому виробництві дріжджів для застосування у виробництві як харчових виробів так і алкогольних напоїв [12].

Saccharomyces pastorianus DBVPG 6253. Має ті ж недоліки, що і попередній штам сахароміцетів, що криється у досить дорогому поживному середовищі через високий вміст дорогих компонентів, зокрема пептону та дріжджового екстракту проте штам має найвищий показник концентрації біомаси та відносно невеликий термін культивування тож штам може претендувати на обрання для виробничого культивування [10].

Поживне середовище для культивування штаму *Saccharomyces pastorianus CBS1483*. є вдоста складним . Однак в той же час досить дешевим оскільки компоненти є визначеним хімічними сполуками, що мають досить низьку вартість. Культивується штам досить швидко. Орієнтовний час культивування становить 24 години, а концентрація біомаси яку дає штаму невисока але відносно не низька порівняно зі штамом *Saccharomyces cerevisiae* (*Turbo yeast; Gert Strand AB*), і становить 8 грамів на літр. Температура культивування та рН досить схожі з іншими порівняльним штамми продуцентів. Максимальна концентрація біомаси становить до 8 г/л. Даний штам за переліченими вище ознаками може бути найбільш вигідний [11].

Для більш обгрунтованого вибору продуценту наведемо порівняльну характеристику за вартістю поживного середовища та продуктивності (табл

Таблиця 2.2

Порівняння вартості поживних середовищ штамів-продуцентів [15-23]

| Продуцент | Склад поживного середовища | Концентрація компонентів (г/л) | Ціна компонентів в (грн/кг) | Вартість компонентів в (грн) | Загальна вартість поживного середовища за 1 л |
|--|---|--------------------------------|-----------------------------|------------------------------|---|
| <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (Turbo yeast; Gert Strand AB), | Глюкоза | 20 | 27,55 | 0,54 | 15,16 |
| | Бактеріальний екстракт | 20 | 720 | 13 | |
| | Пептон | 10 | 162 | 1,62 | |
| <i>Saccharomyces pastorianus</i> CBS1483. | KH ₂ PO ₄ | 3 | 55 | 0,165 | 1,15 |
| | (NH ₄) ₂ SO ₄ | 5 | 10 | 0,05 | |
| | MgSO ₄ *7H ₂ O | 0,5 | 7 | 0,0035 | |
| | Глюкоза | 5,6 | 36 | 0,2 | |
| | Мальтоза | 8,4 | 30 | 0,252 | |
| Мальтотріоза | 6 | 40 | 0,24 | | |
| <i>Saccharomyces pastorianus</i> DBVPG 6253 | Гліцерин | 20 | 41 | 0,82 | 11,26 |
| | Дріжджовий екстракт | 10 | 720 | 7,2 | |
| | Пептон | 20 | 162 | 3,24 | |

Примітка 1 Ціни компонентів поживних середовищ взяті із українських промислових інтернет магазинів, станом на 2019 рік, і компоненти закордонного виробництва переведені у ціну нацвалюти згідно до чинного курсу долар-гривня станом на 04.03.2021.

У табл. 2.2 наведена ціна компонентів поживних середовищ та 1 л середовища для культивування продуцентів *Saccharomyces cerevisiae* (Turbo

yeast; Gert Strand AB), *Saccharomyces pastorianus CBS1483*, *Saccharomyces pastorianus DBVPG 6253*. Ціни відповідно становлять 15,26; 1,15 та 11,26 гривні за 1 л відповідно.

Перший штам(*Saccharomyces cerevisiae* (Turbo yeast; Gert Strand AB),) має найдорожче поживне середовище через високу концентрацію у ньому дорогих компонентів саме білкового походження. *Saccharomyces pastorianus DBVPG 6253* має середнє по ціні поживне середовище. Та має кілька дорогих компонентів у складі при цьому їх вміст незначний і ціна на середовище відповідно теж є в доста високою. Штам *Saccharomyces pastorianus CBS1483*. Має найменшу вартість поживного середовища визначеного складу.

Таблиця 2.3

Умовна вартість одиниці цільового продукту

| Біологічний агент | Вартість 1л середовища грн | Максимальна концентрація біомаси г/л | Умовна вартість біомаси грн/г розраховуючи на л середовища | Тривалість культивування, год | Питома продуктивність, г/год |
|--|----------------------------|--------------------------------------|--|-------------------------------|------------------------------|
| <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (Turbo yeast; Gert Strand AB), | 14,24 | 4,8 | 2,96 | 48 | 0,1 |
| <i>Saccharomyces pastorianus CBS1483</i> . | 1,15 | 8 | 0,15 | 24 | 0,33 |
| <i>Saccharomyces pastorianus DBVPG 6253</i> | 11,26 | 25,7 | 0,43 | 49 | 0,52 |

З таблиці видно, що штам *Saccharomyces cerevisiae* (*Turbo yeast; Gert Strand AB*), має найменшу продуктивність по біомасі за 1 гривню, так як ціна поживного середовища перебиває концентрацію біомаси. Але штам *Saccharomyces pastorianus* *DBVPG 6253* є повною протилежністю попередньому, тут ціна поживного середовища нижча, а продуктивність по біомасі є найвища а це вкрай важливо для великих обсягів виробництва.

Saccharomyces pastorianus *CBS1483* є «золотою серединою» оскільки відносно високу концентрацію біомаси досить низьку ціну середовища культивування та середню швидкість генерації біомаси. Саме комбінація вище зазначених трьох параметрів-характеристик продуцента на середньому рівні і роблять штам найбільш вигідним як для виробництва так і для простоти культивування.

2.2. Морфолого-культуральні та фізіолого-біохімічні ознаки біологічного агента

Клітини дріжджів *Saccharomyces pastorianus* мають кулясту або округлу трішки витягнуту форму, бувають наявні бруньки. Клітинна стінка складається переважно із глюканів та мананів, які розташовані у два шари, а між ними є проміжок з білкових молекул, а над манановим шаром, що знаходиться вгорі знаходиться прошарок другого його фосфорильованого похідного (фосфоманану) шарів первинного й вторинного. Первинний шар є матричним скелетом. Джіжджі можуть утворювати спори для розмноження, хоча частіше це роблять брунькуванням[13].

Розмножуватися можуть як статеву, вегетативно (брунькування) так і безстатеву, при рості та розмноженні можуть утворювати частинно псевдоміцелій особливо під час брунькування, коли дочірні клітини не відділяються від материнських, але це рідкість. Більш конкретизована будова дріжджової клітини дріжджів *Saccharomyces pastorianus* (рис. 2.1)

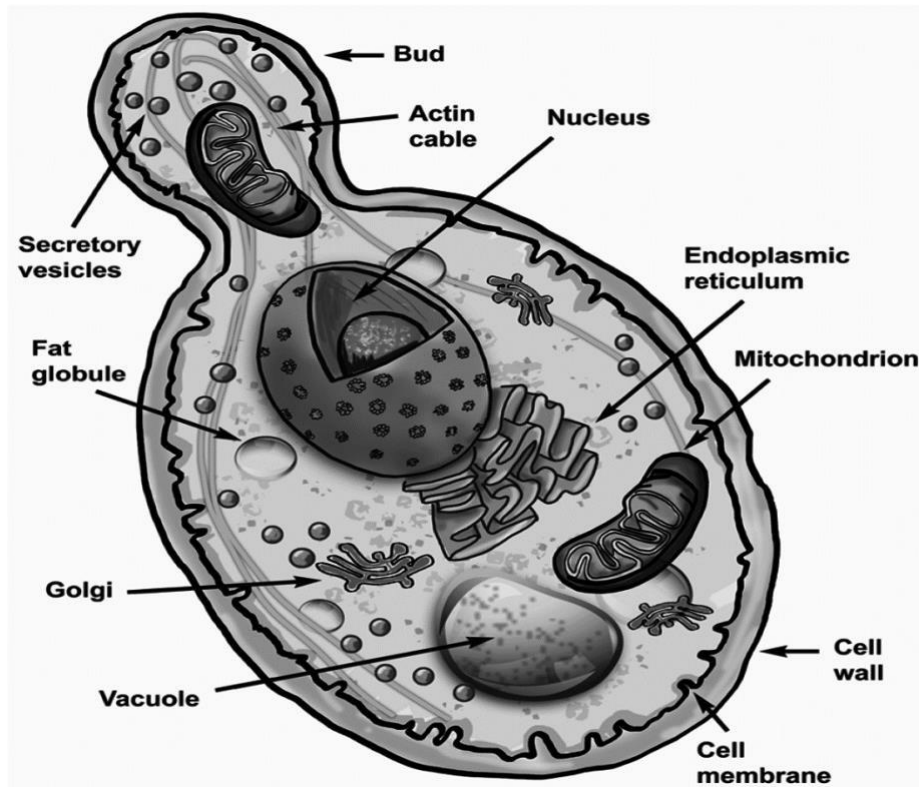


Рис. 2.1...Будова дріжджової клітини [24].

Вдоста реалістичне та чітке зображення дріжджової клітини можна побачити саме під світловим мікроскопом, що має збільшення на 40 чи на 90, бо розмір клітин досить великий 5- 10 мкм (*рис. 2.2*) [13].

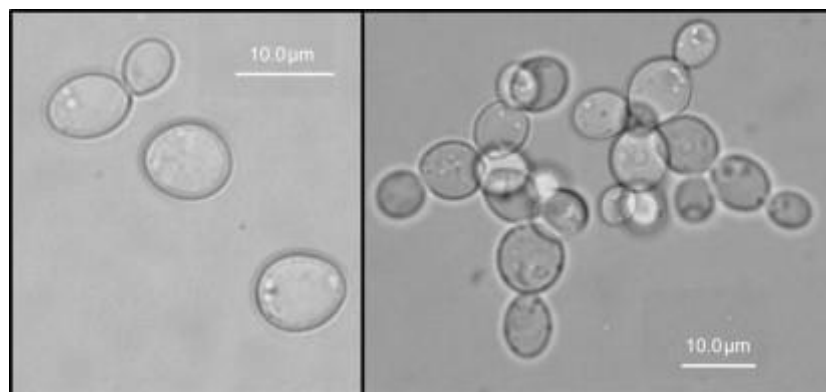


Рис. 2.2. Світлова мікроскопія дріжджів [25]

Забарвлення колоній на агаризованих поживних середовищах зазвичай від біло-кремово-жовтий до жовтуватого і темніє із старінням колонії (*рис. 2.3*)

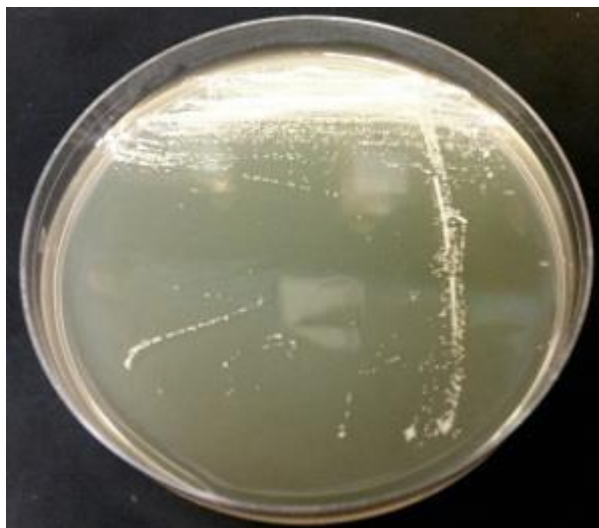


Рис. 2.3. Saccharomyces pastorianus на агаризованих поживних середовищах [26]

Дані дріжджі за типом харчування є хемоорганогетеротрофами, так як використовують як донор електронів, джерело вуглецю – органічні речовини, а джерело енергії – хімічні сполуки. По відношенню до осмотичного тиску є осмотолерантними. Температурний діапазон оптимальних умов росту *Saccharomyces pastorianus* складає приблизно 30-35 ° С. Може рости в межі рН від 4,2 до 5,5; оптимальне значення 4,5-5 [13, 11].

По відношенню до кисню є аеробами та факультативні анаеробами, тобто потребують кисень щоб відбувалися окиснювальні процеси дихання в звичайних умовах, а в безкисневих умовах переходять на бродильний тип метаболізму. Можуть асимілювати та споживати різні моно і дицукриди, такі як глюкоза маноза, галактоза, сахароза мальтоза целобіоза, деякі поліцукри такі, як, декстрин, крохмаль(лише в аеробних умовах), можуть споживати пептон, і інші [13].

2.3. Таксономічний статус

Дріжджі як і гриби класифікують за видами їх розмноження (статеве, безстатеве, вегетативне), за фізіологічними ознаками, також класифікують за наявністю або відсутністю статевого розмноження. Оскільки дріжджі є подібними до грибів – це дуже гетерогенна група мікроорганізмів; але на

відміну від бактерій їх класифікація часто змінювалася : одні таксони з'являлися інші зникали; також класифікацією дріжджів у один і той час займалися різні науковці і до того ж без однакових критеріїв для класифікації(як у бактерій) тому у різних класифікаціях одні і ті ж таксони називаються по-іншому. Зазвичай при ідентифікації уже відомих видів грибів наводять декілька класифікацій [9].

Перші класифікації ґрунтувались лише на морфолого-фізіологічних властивостях грибів, наступні класифікації враховувала і належність видів до певних місць існування і їх адаптацію до цих умов [9].

У 1980 -1990 р.р. було розроблену першу класифікацію дріжджів, що ґрунтувалася на морфолого-культуральних і фізіолого-біохімічних ознаках. А саме у 1984 р.

У 2000-х років було створено класифікацію Куртсцмана та використано у її створенні таких підходів до класифікації: 1) використання молекулярних методів дослідження, 2) швидке оновлення старих та опублікування нових класифікацій грибів.

А аж у 2006 р. було опубліковано філогенетичну класифікацію аскоміцетних дріжджів, у котрій було реалізовано генетичні методи аналізу для класифікації дріжджів (*табл. 2.4*). Дана класифікація була опублікована на сайті www.fieldmuseum.org/myconet. Але зараз інформація про таксономію грибів постійно поновлюється в режимі «on-line» На сьогодні ця інформація міститься в таких базах даних як GenBank, Myconet [9]

**Класифікації *Saccharomyces cerevisiae* за 3 класифікаціями (1984 рік;
Куртсмана 2000 рік; Філогенетична класифікація аскоміцетних
дріжджів.)**

| Таксономічна група | Класифікація 1984 р [9] | Класифікація Куртсмана(2000 р.) [9] | Філогенетична класифікація дріжджів(2006 р.) [9] |
|---------------------------|--------------------------------|--|---|
| Відділ | - | - | - |
| Підвідділ | <i>Ascomycotina</i> | - | <i>Ascomycotina</i> |
| Клас | <i>Hemiascomycetes</i> | <i>Hemiascomycetes</i> | <i>Saccharomycetes</i> |
| Порядок | <i>Endomycetales</i> | <i>Saccharomycetales (Endomycetales)</i> | <i>Saccharomycetales</i> |
| Родина | <i>Saccharomycetaceae</i> | <i>Saccharomycetaceae</i> | <i>Saccharomycetaceae</i> |
| Рід | <i>Saccharomyces</i> | <i>Saccharomyces</i> | <i>Saccharomyces</i> |
| Вид | <i>pastorianus</i> | <i>pastorianus</i> | <i>pastorianus</i> |

РОЗДІЛ 3. ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБГРУНТУВАННЯ

3.1. Потреба у цільовому продукті

Ринок пива України досить важливий хоча б тому, що одне робоче місце у індустрії створює до 10 місць у суміжних галузях. Пивна промисловість — одна із найсучасніших, оскільки виробники прагнуть підпорядковувати стандарти новим технологіям. Особливість українського пивного ринку — обсяг тримають 4 міжнародні компанії. Влітку 2017 року бельгійський концерн AB InBev і турецька компанія Anadolu Efes підписали договір, за яким об'єднали свої філії в Україні. Ця обставина стала ключовою для українського ринку.

Якісне пиво «низового бродіння» - лагери – вважаються найвищим класом пивоварної майстерності.

Низове бродіння (лагер) – пиво зброджується з застосуванням дріжджів *Saccharomyces pastorianus* при температурі 5-15°C. Лагер дозріває протягом 1-4 місяців (іноді довше). Відрізняється легким смаком з гірчинкою, а в ароматі відчуваються ледь вловимі квіткові відтінки. Лагери підходять до багатьох страв. Таке пиво зустрічається найчастіше (частка споживання на ринку досягає 70%). Покупцями українського пива є Алжир, Молдова. Найбільшу частку експорту займають компанії: «Оболонь», Carlsberg Ukraine, «Перша приватна пивоварна компанія» та «САН ІнБев Україна» [1].

3.2. Розрахунок потужності виробництва

Один з лідерів-виробників пива в Україні - «Перша приватна броварня» здійснює управління 2-ма пивзаводами — у Львові та в Радомишлі, загальна потужність яких з другої половини 2016 року становить 350 000 л пива на рік, з яких 70% лагерного.

| | | | | | | | | |
|------------------|-------------|------------------------|---------------|-------------|--|--------------------|-------------|---------------|
| | | | | | <i>НУХТ БТЕК 05.01.09 КР ПЗ</i> | | | |
| <i>Зм</i> | <i>Арк.</i> | <i>№ документа</i> | <i>Підпис</i> | <i>Дата</i> | РОЗДІЛ 3. ТЕХНІКО- ЕКОНОМІЧНЕ ОБГРУНТУВАННЯ | <i>Літера</i> | <i>Аркш</i> | <i>Аркшів</i> |
| <i>Розробник</i> | | <i>Артеменко О. О.</i> | | | | | 24 | 62 |
| <i>Керівник</i> | | <i>Стадніков В. П.</i> | | | | <i>Кафедра БТМ</i> | | |
| <i>Н. контр</i> | | | | | | | | |
| <i>Консульт</i> | | | | | | | | |
| <i>Зав. каф.</i> | | <i>Стадніков В.П.</i> | | | | | | |

Для отримання 25 л пива необхідно 12 г сухих пивних дріжджів. Далі вирахуємо кількість лагерного пива, яку було вироблено: $500\ 000\ л \times 70\% = 245\ 000\ л$ лагерного пива було вироблено. Якщо для отримання 30 л пива потрібно 12 г сухих дріжджів, то маємо: $12\text{г}/30\text{л} = X/245\ 000\ л$; $X = 98$ кг сухих дріжджів на рік потрібно для вироблення лагерного пива.

3.3. Розрахунок кількості виробничих циклів для отримання річної потреби цільового продукту.

Приймаємо кількість робочих днів на рік – 330. Ефективний фонд робочого часу $Neф. = 330 \times 24 = 7920$ год.

Розрахуємо цикл роботи ферментера:

$T_{цф} = T_{ф} + T_{др} = 24 + 10 = 34$ (год), де $T_{ф}$ – тривалість виробничої ферментації (біосинтезу); $T_{др}$ – тривалість допоміжних робіт.

Кількість циклів за рік становитиме: $N_{ц} = 233$

Об'єм культуральної рідини, який треба одержати за цикл: $V_{КРц} = V_{КРр\dot{ч}} / n_{ц} = 98 / 233 = 0,420\ м^3$

Вибираємо ферментер об'ємом 1 м³ з коефіцієнтом заповнення $K_з = 0,5$. Об'єм культуральної рідини становить $V_{к.р} = 0,5\ м^3$, що більше за розрахований, тобто обраний вірно.

3.4. Розрахунок кількості стадій підготовки посівного матеріалу

Так як процес основної ферментації потребує попередньої кількості посівного матеріалу. Який готується кількома послідовними стадіями культивування із послідовними пересівами спочатку у колби на качалки а потім у інокулятор та посівні апарати, до того коли кількість посівного матеріалу досягне 2500 л (10% від об'єму заповнення виробничого ферментера,). Аби досягти його потрібної кількості інокулят буде готуватися із засіву на скошеному агаризованому середовищі, із послідовним культивуванням потім в колбах, а у кінці з застосування кількох послідовних ферментерів-інокуляторів, аби забезпечили необхідний досить великий об'єм посівного матеріалу, котрий потребує робочий ферментатор із поправкою на коефіцієнт заповнення (робочий об'єм ферментера (V_p)), в нашому випадку це :

Геометричний об'єм ферментера $V_f = 1\text{ м}^3$
Робочий об'єм ферментера
розраховується:

$$V_p = 0,5 \times V \quad (1.1)$$

$$V_p = 0,5 \times 1000 = 500 \text{ л} \quad (1.2)$$

Кількість (об'єм) інокуляту становить 10% від об'єму поживного середовища для кожного ферментера.

Ця кількість для промислового буде становити:

$$V_i = 0,1 \times 500 = 50 \text{ л} [2]. \quad (1.3)$$

Такий об'єм посівного матеріалу можна отримати культивуванням в ферментері об'ємом 100 л із коефіцієнтом заповнення 0,5. Кількість поживного середовища буде становити 450 літрів.

Кількість інокуляту для одержання 50 л культуральної рідини становить: $V_{i1} = 50 \times 0,1 = 5 \text{ л} \quad (1.4)$ посівного матеріалу.

Такий об'єм посівного матеріалу можна отримати культивуванням в ферментері об'ємом 10 л з коефіцієнтом заповнення 0,5. Кількість поживного середовища буде становити 45 л.

Для одержання 5 л посівного матеріалу потрібно:

$$V_{i2} = 5 \times 0,1 = 0,5 \text{ л} \quad (3.2) \text{ посівного матеріалу.}$$

Кількість поживного середовища буде становити 4,5 л.

Такий об'єм посівного матеріалу можна отримати культивуванням продуцента в колбах на качалці об'ємом 750 мл.

Отже, кількість стадій приготування посівного матеріалу- 3 (ферментери від 10 до 100 л і колби на качалках) + ферментер для виробничої ферментації.

3.5. Біосинтез цільового продукту

3.5.1. Шляхи катаболізму ростового субстрату у біологічного агента

Під час росту *Saccharomyces pastorianus* на середовищі , що містить за основу субстрату- суміш моносахаридів, основним з котрих є глюкоза тож на її

прикладі буде наведена карта біосинтезу цільового продукту. Глюкоза катаболізується на піруват в гліколізі [27]. У якому утворюється половина попередників основних метаболітів для біосинтезу біомаси, зокрема фосфогліцерат. ФЕП, фруктозо-6- фосфат, піруват, котрі є попередниками половини амінокислот.

3.5.2. Біотрансформація ростового субстрату у цільовий продукт

Потім піруват перетворюється на ацетил КоА за участі дигідроліпоаміддегідрогенази (КФ 1.8.1.4), котрий включається у ЦТК [27]. Де утворюється друга частина попередників 20 основних амінокислот , пуринів, піримідинів. А ще невід`ємним джерелом потрібних інтермедіатів для біосинтезу останніх і ароматичних амінокислот є пентозофосфатний цикл. У котрому утворюється еритрозо-4-фосфат і фосфорибозилпірофсфат.

Жирні кислоти утворюються за допомогою полімеризації ацетил-КоА через Ацил- переносний-білок (АПБ).

Особливою властивістю даного продуцента є спецефічні для дріжджів полісахариди манан і глюкан з манози і глюкози особливо через фосфорильовані похідні.

А також характерним є еукаріотична особливість - синтез лізину через аміноадипінову кислоту [8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16]. Схема перетворення глюкози на біомасу наведено на *рис.*

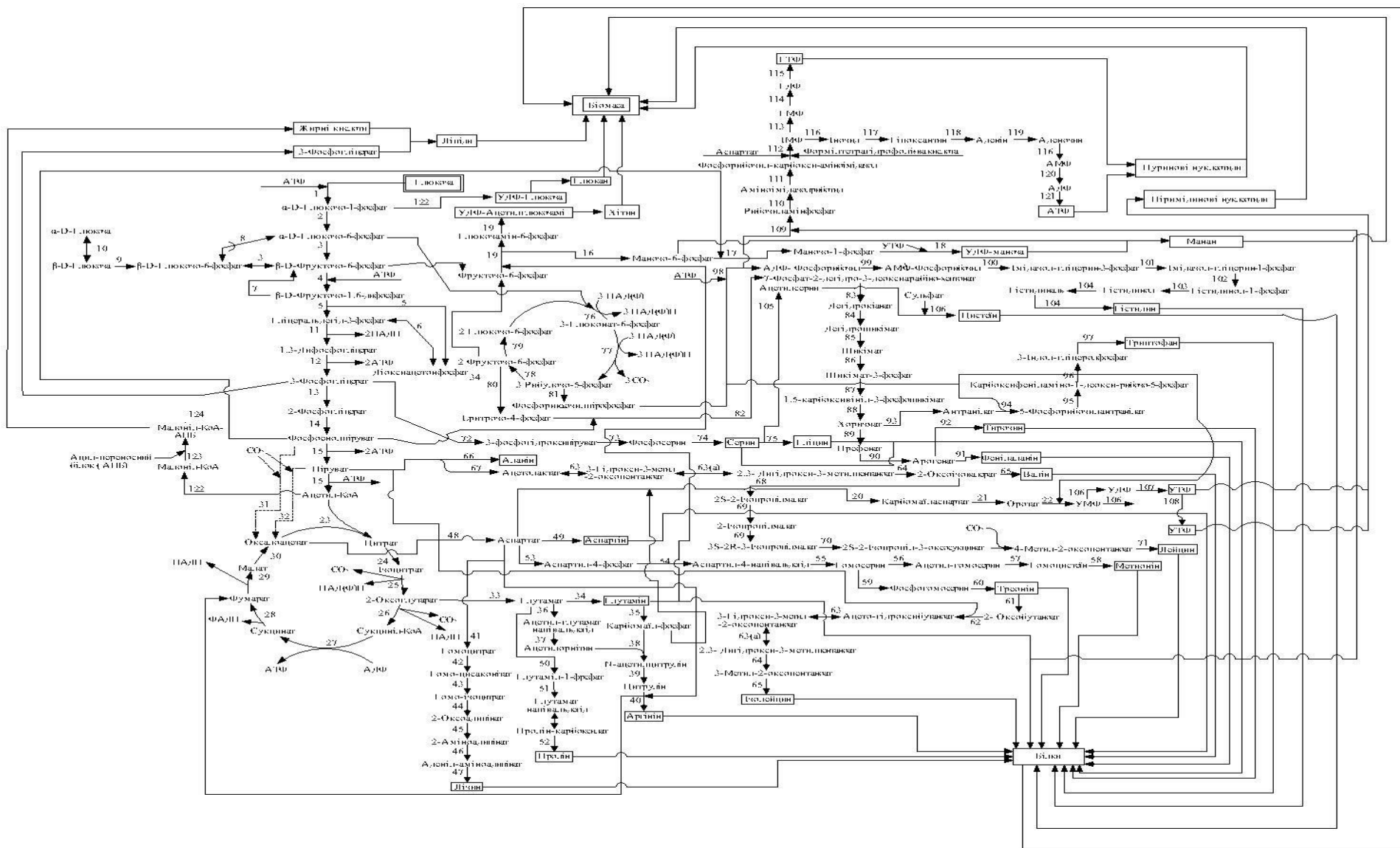


Рис. 3.1. Схема біотрансформації ростового субстрату у цільовий продукти у *Saccharomyces pastorianus*

Умовні позначення: Суцільна лінія - основні шляхи метаболізму, штрихова- анаплеротичні реакції.

Ферменти: 1- глюкокіназа (КФ2.7.1.2); 2- фосфофруктомутаза (КФ 5.4.2.2); 3- глюкозо-6-фосфатизомераза (КФ 5.3.1.9); 4 – фосфофруктокіназа (КФ 2.7.1.11); 5 – фруктозо-бифосфатальдолаза клас 2 (КФ4.1.2.13); 6 – тріозофосфатизомераза (КФ 5.3.1.1); 7 – фруктозо-1,6-бифосфатаза клас 2 (КФ3.1.3.11); 8- глюкозо-6-фосфатизомераза (КФ 5.3.1.9), глюкозо-6-фосфатепімераза (КФ 5.1.3.15); 9 – гексокіназа (КФ 2.7.1.1); 10 – альдозо-1-епімериза (КФ 5.1.3.3); 11- гліцеральдегід- 3-фосфатдегідрогеназа (КФ 1.2.1.12); 12- фосфогліцераткіназа (КФ 2.7.2.3); 13 – 2.3 –бифосфатзалежна фосфогліцератмутаза (КФ5.4.2.11); 14 – енолаза (КФ 4.2.1.11)); 15- піруваткіназа (КФ 2.7.1.40) [27], 16 - манозо-6-фосфатизомераз (КФ 5.3.1.8); 17 фосфоманнозомутаза (КФ 5.4.2.8); 18- манозо-1-фосфатгуанілтрансфераза(КФ 2.7.7.13); 19 – глюкозаминфруктозотрансфераза(КФ 2.6.1.17); 20- глюкозаминацетилтрансфераза (КФ 2.3.1.4), фосфоацетилглюкозаминмутаза(КФ 5.4.2.3), ацетилглюкозаминдифосфорилаза(КФ 2.7.7.23), хітинсинтаза (КФ 2.4.1.16) ; 21- дигідрооротаза (КФ 3.5.2.3), дигідрооротатдегідрогеназа (КФ 1.3.1.14); 22- оротатфосфорибозилтрансфераза (КФ 2.4.2.10), орнітинфосфатдекарбоксилаза (КФ 4.1.1.23); 23- цитратсинтаза (КФ 2.3.3.1); 24 - аконитатгідратаза (КФ4.2.1.3); 25 - и(КФ 1.1.1.42); 26 - дигідроліпоамтддегідрогенази (КФ 1.8.1.4); 27 - сукцинил-КоА синтетаза, альфа-субодиниця (КФ 6.2.1.5); 28 - и цитохром b 556 субодиниця; 29 — фумаратгідратаза, клас II (КФ 4.2.1.3); 30 — малатдегідрогеназа (КФ 1.1.1.37); 31 —фосфоенолпіруваткарбоксилаза (КФ 4.1.1.31); 32 - піруваткарбоксилаза (КФ 6.4.1.1) 33 – глутаматсинтетаза

НАДН/НАДФН залежна (КФ, 1.4.1.13), глутаматсинтетаза НАДН залежна(КФ, 1.4.1.14); 34 – глутаминсинтетаза(КФ6.3.1.2); 35 –карбомаїл-фосфат синтетаза (КФ

6.3.5.5); 36- ацетилглутаматсинтетаза (КФ 2.3.1.1), и(КФ 2.7.2.8), ацетил-гама-глутаминфосфатредуктаза (КФ 1.2.1.38); 37 – ацетил-орнитинаминотрансфераза (КФ 2.6.1.11) 38 – ацетил-орнитин-карбомал-трансфераза (КФ.2.1.3.9); 39- ацетил-орнитиндеацетилаза (КФ 3.5.1.16); 40-

аргініно-сукцинатсинтаза (КФ 6.3.4.5), аргініно-сукцинатліаза (КФ 4.3.2.1);41 – аспартаткиназа (КФ 2.7.2.4), аспартат-напівальдегіддегідрогеназа (КФ 1.2.1.11);

42 - тетрагідродипіконатсинтетаза (КФ 4.3.3.7), дипіконіатредуктаза (КФ 1.17.1.8); 43 – ацетилтрансфераза (КФ 2.3.1.89), 44 – аминотрансфераза (КФ 2.6.1.-), 45 ацетилдіамінопімелатдіацетилаза (КФ 3.5.1.47); 46 – діамінопімелатепимераза (КФ 5.1.1.7); 47 – діамінопімелатдекарбоксилаза (КФ 4.1.1.20); 48 – аспартатаминотрансфераза (КФ 2.6.1.1); 49 – аспаргінсинтетаза (КФ 6.3.1.1); 50 – глутаматкиназа (КФ 2.7.2.11) 51 – глутамат-напівальдегіддегідрогеназа (КФ 1.2.1.41); 52 – пролін-карбоксилатредуктаза (КФ 1.5.1.2); 53 – аспартаткиназа (КФ 2.7.2.4); 54 – аспартат-напівальдегіддегідрогеназа (КФ 1.2.1.11); 55 – гомосеріндегідрогеназа (КФ 1.1.1.3); 56 – гомосерин-ацетилтрансфераза (КФ

2.3.1.31); 57 – ацетил-гомосерінліаза (КФ 2.5.1.49), цистеїн-гама-синтетаза (КФ

2.5.1.48); 58 – гомосерін-метил-трансфераза (КФ 2.1.1.10), бетаїн-гомоцистеїн- метил-трансфераза (КФ 2.1.1.5), метионинсинтаза кобаламин незалежна (КФ 2.1.1.14), метионинсинтетаза кобаламін залежна (КФ 2.1.1.13); 59 – гомосеринкиназа (КФ 2.7.1.39); 60 – треонинсинтетаза (КФ 4.2.3.1); 61 – треоніндеаміназа (КФ

4.3.1.19); 62 – ацето-лактатсинтетаза (КФ 2.2.1.6); 63(а) – кето-редуктоизомераза (КФ 1.1.1.86), (в) 2-ацетолактатмутаза (КФ 5.4.99.3); 64 –

дигідроксидегидратаза (КФ 4.2.1.9); 65 – трансаміназа В (КФ 2.6.1.42), лізиндегідрогеназа (КФ 1.4.1.9);

66 – аланіндегідрогеназа (КФ 1.4.1.1); 67 – ацетолактатсинтетаза (велика субодиниця) (КФ 2.2.1.6); 68 – 2-ізопропилмалатсинтетаза (КФ 2.3.3.13); 69 – ізопропілмалатдегідрогеназа (КФ 4.2.1.33); 70 – 3-ізопропилмалатдегідрогеназа (КФ 1.1.1.85); 71-лейцинтрансфераза (КФ 2.6.1.6); 72-3-фосфогліцератдегідрогеназа (КФ 1.1.1.95); 73- фосфосеринаминотрансфераза (КФ 2.6.1.52); 74- фосфосеринфосфатаза (КФ 3.1.3.3); 75 – гліцингідроксиметилтрансфераза (КФ 2.1.2.1); 76- глюкозо-6-фосфатгідрогеназа (КФ 1.1.1.49); 77 - глюконат-6-фосфатдегідрогеназа (КФ 1.1.1.44) , фосфоглюконатдегідрогеназа декарбоксілювальна (КФ 1.1.1.343); 78 - трансальдолаза (КФ 2.2.1.1); 79 - глюкозо-6-фосфатізомереза (КФ 5.3.1.9); 80 - транскетолаза (КФ 2.2.1.1); 81-рибозофосфатпірофосфокиназа (КФ 2.7.6.1); 82 -

3-дезоксид-7-фосфоептулонат синтетаза(КФ 2.5.1.54); 83 - дегідрокіанатсинтетаза (КФ 4.2.3.4); 84 - 3-дегідрокіатдегідрогеназа (КФ 4.2.1.10) 85-

шикіматдегідрогеназа (КФ 4.2.1.10); 86 - шікіматкиназа (КФ 2.7.1.71); 87- 3- фосфошикімат-1-карбоксивинілтрансфераза (КФ 2.5.1.19); 88 - хоризматсинтетаза (КФ 2.5.1.19); 89 - хоризматмутаза (КФ 5.4.99.5); 90 - амініотрансфераза ароатична (КФ 2.6.1.57), аспартат-префенатамініотрансфераза (КФ 2.6.1.78), глутамат-префенатамініотрансфераза (КФ 2.6.1.79); 91 - префенатдегідрогеназа (КФ 4.2.1.51), 92- агрогенатдегідрогеназа (КФ 1.3.1.43), агрогенатдегідрогеназа НАДФ⁺ залежна (КФ 1.3.1.78), агрогенатдегідрогеназа НАД(Ф) + залежна (КФ 1.3.1.79); 93 – антранілатсинтетаза (КФ 4.1.3.27); 94 – антранілатфосфорибозилтрансфераза (КФ 2.4.2.18); 95 – фосфорибозилантранілатізомереза (КФ 5.3.1.24); 96 – індол-3-

гліцеролфосфатсинтаза (КФ 4.1.1.48); 97 – триптофансинтетаза (КФ 4.2.1.20); 98

- АТФ-фосфорибозилтрансфераза (КФ 2.4.2.17); 99- АТФ дифосфорибозилтрансфераза (КФ 3.6.1.31); 100- фосфорибозил-АМФ - циклогідролаза (КФ 3.5.4.19), імідазолкарбоксамідізомераза (КФ 5.3.1.16); 101 – імідазол-т(КФ 4.2.1.19); 102 – гістидинолфосфаттрансаминаза (КФ 2.6.1.9); 103 – гістидинолфосфатаза (КФ 3.1.3.15); 104- гістидинолдегідрогеназа (КФ1.1.1.23); 105 – серинацетилтрансфераза (КФ 2.3.1.30); 106 – уридинкіназа (КФ 2.7.4.22); 107 –

нуклеозиддифосфаткіназа (КФ 2.7.4.6); 108 – ЦТФ-синтетаза (КФ 6.3.4.2); 109 – амінодифосфорибозилтрансфераза (КФ 2.4.2.14); 110 – фосфорибозиламінлігаза (КФ 6.3.4.13), фосфорибозилгліцинамідформилтрансфераза (КФ 2.1.2.2), фосфорибозилгліцинамідсинтетаза (КФ 6.3.5.3), фосфорибозилгліцинамідлигаза (КФ 6.3.3.1), 111 – карбоксиаміно-імідазол –рибонуклеотидсинтетаза (КФ 6.3.4.18), карбоксиаміно-імідазолрибонуклеотидсинтетаза (КФ 5.4.99.18); 112 – імідазол-сукцинокарбоксиламідсинтетаза (КФ 6.3.2.6), аденілоксукцинатліаза (КФ 4.3.2.2), ІМФ- циклогідролаза (КФ 2.1.2.3), 113 – інозидмонофосфатдегідрогеназа (КФ 1.1.1.205), ГМФ – синтетаза (КФ 6.3.5.2); 114 – гунідинкіназа (КФ 2.7.4.8); 115-

нуклеозиддифосфаткіназа (КФ 2.7.4.6); 116 – нуклеотидфосфоетераза (КФ

5.; 117 – пуриннуклеозидфосфорилаза (КФ 2.4.2.1); 118 – аденін-діаміназа (

КФ 3.5.6. 2); 119 – пуриннуклеозидфосфорилаза DeoD тип (КФ 2.4.2.1); 120 – аденилаткіназа (КФ 2.7.4.3); 121 – піруваткіназа (КФ 2.7.1.40), и(КФ 2.7.4.6); 122- ацетил- КоА-карбоксілаза (КФ 6.3.4.14), біотинкарбоксілаза (КФ 6.4.1.2); 123 – малил-переносний білок (трансилаза) (КФ 2.3.1.39); 124 –

синтаз жирних кислот субодиниць альфа (КФ 2.3.1.86)(FabS2), 3-оксоаціл(Ацитил-переносний білок) (КФ 2.3.1.179) (FabF); 125- УДФ-езаКФ 2.7.7.9); [17, 28-32].

Висновки:

1. Джерелом вуглецю та енергії в поживному середовищі для *Saccharomyces pastorianus* є глюкоза.
2. Основним шляхом катаболізму глюкози у даного продуцента є гліколіз , що виявляє наявність головного ферменту фосфофруктокінази.
3. Для біосинтезу біомаси у даних дріжджів повинні синтезуватися всі компоненти клітини - ліпіди синтезуються з 3-фосфогліцерину та жирних кислот, які в свою чергу синтезуються з ацетил-КоА; специфічні полісахариди особливо манан і глюкан синтезуються із відповідних уридиндифосфатпохідних моносахаридів, які синтезуються через взаємне перетворення з глюкози, а 3 полісахаридів хітин утворюється з ацетилглюкозаміну, попередниками якого є фруктозо-6-фосфат та глютамін, що синтезується в шляху біосинтезу амінокислот і взаємоперетворенні глюкози. Усі 20 основних амінокислот утворюються відповідно з попередників по родинам(глютаматна, аспартатна, ароматична, піруватна ін). Нуклеїнові кислоти і нуклеотиди синтезуються сепаровано пуринові та піримідинові нуклеотиди, попередники яких еритрозо-4-фосфат і фосфорибозилпірофосфат синтезуються у пентозофосфатному циклі.
4. У *Saccharomyces pastorianus* функціонують дві анаплеротичні реакції: карбоксилювання пірувату в карбоксилювання ФЕП.
5. Амінокислота лізин синтезується із аміноадипінового шляху.

РОЗДІЛ 4. ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ВИРОБНИЦТВА

4.1. Обґрунтування вибору умов культивування та типу ферментера

Saccharomyces pastorianus – це дріжджі, що використовуються в промисловості для виробництва лагерного пива, і був названий на честь Луї Пастера німцем Максом Рессом у 1870 році. Згідно даних, культивування даного мікроорганізму проводиться глибинним способом в аеробних умовах.

Інтенсивність аерації середовища для 4,0 г/О₂/л/год допомагає підвищити швидкість зростання бактерій і активне споживання основних складових субстрату.

Так як культивування передбачає глибинний спосіб у аеробних умовах, то ферментер в якому поводитиметься культивування має бути оснащений сорочкою, в котру подається глуха пара в процесі стерилізації та підтримки температури, приладами вимірювання – температури, тиску та рО₂, а також мати барботер - подача повітря та мішалку для перемішування [3].

Аби задовільнити річну потребу, необхідно використати для культивування ферментер об'ємом 1 м³. Можна використати ферментери, що призначені для культивування мікроорганізмів у аеробних умовах глибинним способом, а саме ферментер типу Minifors компанії Maidilong (Китай), об'ємом 1 м³, який призначений для аеробного культивування на рідких поживних середовищах непатогенних мікроорганізмів. Культивування можна проводити як в періодично, так і в безперервно [4].

| | | | | | | | | |
|------------------|------------------------|--------------------|---------------|-------------|---|--------------------|-------------|---------------|
| | | | | | <i>НУХТ БТЕК 05.01.09 КР ПЗ</i> | | | |
| <i>Зм</i> | <i>Арк.</i> | <i>№ документа</i> | <i>Підпис</i> | <i>Дата</i> | <i>РОЗДІЛ 4. ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ВИРОБНИЦТВА</i> | <i>Літера</i> | <i>Аркш</i> | <i>Аркшів</i> |
| <i>Розробник</i> | <i>Артеменко О. О.</i> | | | | | | 35 | 62 |
| <i>Керівник</i> | <i>Стадніков В. П.</i> | | | | | <i>Кафедра БТМ</i> | | |
| <i>Н. контр</i> | | | | | | | | |
| <i>Консульт</i> | | | | | | | | |
| <i>Зав. каф.</i> | <i>Стадніков В.П.</i> | | | | | | | |

Ферментер Minifors компанії Maidilong (Китай), об'ємом 1 м³ має чотири основні частини:

- Біохімічний прилад, що містить ферментер і допоміжні пристрої, зв'язані з ним гідравлічними, пневматичними і механічними зв'язками;
- Прилади вимірювання - вимірювачі рН і рО₂;
- Прилад регулювання, що має електронні блоки регулювання температури рідини, швидкості обертання мішалки, завдання витрати рідини за чотирма каналами та регулювання рН;
- Автоматичний потенціометра для реєстрації параметрів культивування мікроорганізмів.

4.2. Обґрунтування вибору стадії підготовки повітря

Забір атмосферного повітря

Число мікроорганізмів у повітрі постійно змінюється та залежить від багатьох факторів, зокрема: пори року, часу доби, погоди, місцевості, тому оптимальний забір повітря здійснюється на висоті 20 – 30 м, де кількість часток відносно стабільна та найменша.

Збір повітря відбувається за допомогою повітрозбірника, котрий знаходиться у зоні чистого повітря, віддаленої від зон технологічно шкідливих викидів чи викидів систем витяжної вентиляції. Вхід повітря міститься на висоті не менше 30 м від землі та закривається залізними ґратами. Повітря під дією вентилятора за допомогою повітрозбірної шахти йде до фільтра грубого очищення [5].

Грубе очищення повітря

Фільтри попереднього очищення не лише захищають компресор від забруднень, але й значно знижують кількість контамінантів, котрі могли б потрапити на наступний ступінь очищення.

Попереднє грубе фільтрування повітря відбувається з використанням набивних фільтрів, що містять волокнисті матеріали.

Фільтрування відбувається тому, що частинки рухаються з певною швидкістю і затримуються на поверхні волокна інерційним механізмом осадження.

Стабілізація термодинамічних показників повітря

Щоб стабілізувати термодинамічні показники, повітря, після стадії фільтрування, воно стискається у компресорі так, що його температура підвищується з 15 – 25 °С на вході до 250 °С на виході з неї, а далі подається в теплообмінник та охолоджується. Охолоджена вода, котра подається в теплообмінник, є оборотною.

Щоб стабілізувати потік повітря і попередити його пульсації необхідно мати ланцюг часової затримки і роль може виконувати ресивер. Він вирівнює тиск в системі і забезпечує рівномірну подачу повітря до фільтру [5].

Попередня очистка повітря в головному фільтрі

Попереднє очищення повітря від пилуки і мікроорганізмів (розмір частинок більше 1 мкм) відбувається в головному фільтрі, котрий є циліндричною ємністю зі сферичним дном та кришкою. У середині фільтру знаходяться дві решітки, поміж якими розміщують фільтруючий матеріал. Заміну фільтрувального матеріалу здійснюють 2 рази на рік. У випадку забруднення, зволоження, інфікування фільтруючого матеріалу проводять позачергову його заміну [6].

Очистка повітря в індивідуальному фільтрі

Мембранне видалення контамінантів (розмір частинок більше 0,2 мкм) є заснованим на ситовому ефекті. Індивідуальним фільтруючим матеріалом є скловата типу ЦФД із діаметром волокна 2,5 – 3 мкм. Термостійкість скловати складає 400 °С. Ступінь очищення становить $E = 99,999 \%$ [7].

4.3. Вибір мийних та дезінфікуючих засобів

Миючі засоби повинні бути недорогими та ефективними, це головні критерії за якими обирають миючі речовини.

Для підготовки обладнання, а саме для миття фільтрів, комунікацій і біореакторів різного типу та ємностей актуально застосовувати розчин каустичної соди. Він, котрий є недорогим засобом і ефективно відмиває забруднення різного типу, також каустична сода легко розчиняється в різних пропорціях.

На ринку України ціна каустичної соди коливається в радіусі від 5 до 7 грн/кг. Це робить її однією із найдешевших миючих засобів.

Проте, вона є токсичною та при потраплянні на шкіру можуть з'являтися опіки та подразнення. Саме тому під час роботи використовують захисні засоби: окуляри, гумові рукавички, прогумований хімічностійкий одяг.

Також для дотримання санітарно-гігієнічного стану виробництва необхідно проводити генеральне і щоденне прибирання. Для щоденного і генерального прибирань необхідно застосовувати універсальний миючий засіб, котрий дозволяє обробляти і мити різні поверхні на підприємстві з досить високою ефективністю. На ринку України представлений великий вибір миючих засобів для такого. Користуючись співвідношенням ціна–якість необхідно обрати один з найоптимальніших миючих засобів. Таким засобом є «Азираль АС» . Це рідкий лужний миючий засіб, котрий має наступні переваги :

- Добре видаляє неорганічні та органічні відкладення (жири, масла, денатурований білок, дріжджі, цукор, рослинні пігменти і інше);
- Мала концентрація робочого розчину : від 1 до 5 %, залежно від ступеня забруднення та жорсткості води;
- Необмежена розчинність;
- Піноутворення: незначне.

Ціна миючого засобу є середньою, 30 л коштують менше 400 грн, що є 1 л миючого засобу коштує трохи більше 10 гривень, що є більш економічно доцільно у використанні його на підприємстві. Миючий засіб не несе прямої загрози персоналу на виробництві, що, також,

сильно покращує його конкурентність в порівнянні з іншими миючими засобами [8].

4.4. Особливості підготовки та стерилізації поживного середовища

Для стерилізації компонентів поживного середовища їх потрібно розділити на композиції, стерилізація котрих буде проводитися в автоклаві великого об'єму, збірниках чи робочих ферментерах. Композиції мають різні параметри стерилізації в причину різних хіміко-фізичних компонентів-основних складових композиції [9].

На основі складу поживного середовища складаємо композиції для стерилізації :

Композиція А: Глюкоза, мальтоза, мальтотріоза. Режим стерилізації: 121°C протягом 20 хв) [10]. Склад композиції пояснюється сумісністю компонентів, відсутністю взаємодії між ними та термолабільністю [33].

Композиція Б : KH_2PO_4 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ режим стерилізації: 131°C, 30 хв) [9]. Склад композиції обґрунтовується більш жорсткими умовами стерилізації, що здатні витримати солі, а також відсутністю взаємодії між компонентами цієї композиції та наявністю у попередній композиції солей у реакції з котрими може випасти осад (сульфати і фосфат).

Композиція В: $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (режим стерилізації 131 °C протягом 30 хвилин). Склад композиції пояснюється більш високою температурою стерилізації а також стабільністю. До того ж дана сіль у суміші з фосфатами при високій температурі що потребує винесення даного компоненту у окрему композицію.

При можливості пониження рН до 4,5 у розчині можливо об'єднати композиції Б та В.

РОЗДІЛ 5. СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ

Специфікація обладнання, показано на апаратурній схемі (див. графічна частина), наведена в табл. 5.1.

Таблиця 5.1

Специфікація обладнання ділянки допоміжних робіт та виробничого біосинтезу

| Позиція | Найменування | Кількість | Технічна характеристика (виробник) |
|---------|--|-----------|---|
| З-1 | Збірник для приготування р-ну каустичної соди оснащений паровою сорочкою та мішалкою | 1 | Збірник із нержавіючої сталі (10X15H12T) об'ємом 100 л. Оснащений паровою сорочкою. |
| З-2 | Збірник для приготування ПС | 1 | Збірник із нержавіючої сталі (10X15H12T) об'ємом 100 л. Оснащений паровою сорочкою. |
| ПЗ-5 | Повітрозбірник | 1 | Є Обладнанням металевою сіткою щоб видаляти механічні забруднення. |

| | | | | | | | | | | |
|------------------|------------------------|-------------|--------|------|--|--|--------------------|------|--------|--|
| | | | | | <i>НУХТ БТЕК 05.01.09 КР ПЗ</i> | | | | | |
| Зм | Арк. | № документа | Підпис | Дата | <i>РОЗДІЛ 5. СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ</i> | | Літера | Аркш | Аркшів | |
| <i>Розробник</i> | <i>Артеменко О. О.</i> | | | | | | | 40 | 62 | |
| <i>Керівник</i> | <i>Стадніков В. П.</i> | | | | | | <i>Кафедра БТМ</i> | | | |
| <i>Н. контр</i> | | | | | | | | | | |
| <i>Консульт</i> | | | | | | | | | | |
| <i>Зав. каф.</i> | <i>Стадніков В. П.</i> | | | | | | | | | |

| | | | |
|---------------|---|---|---|
| Ф-6 | Фільтр грубої очистки повітря | 1 | Фільтруючим матеріалом виступає базальтоне волокно, швидкість фільтрування 0,4 м/с, Е = 70 % |
| ПА-18 | Посівний апарат | 1 | Є оснащеним паровою сорочкою, пробовідбірником, Барботажним пристроєм та трубою для перетискування. Матеріал нержавіюча сталь. Об'ємом 150 л |
| 3-19 | Збірник для приготування та стерилізації композицій для посівного апарата | 1 | Збірник із нержавіючої сталі (10X15H12T) об'ємом 100 л. Є оснащеним паровою сорочкою |
| Н-22 | Насос | 1 | Pedrolo-50; Виробник: Ebara, Італія. |
| Фр-26 | Ферментер | 1 | Ферментер лінії Minifors компанії Maidilong (Китай), об'ємом 1 м ³ |
| Н-27, Н-28 | Відцентровий насос | 2 | Відцентровий насос фірми Rudes 3 Fresh550 (Україна) [11] |

РОЗДІЛ 6. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ БІОСИНТЕЗУ

ЦІЛЬОВОГО ПРОДУКТУ

Технологічна схема біосинтезу біомаси має допоміжні роботи (скорочено «ДР» - підготовка і стерилізація поживних середовищ) і технологічний процес (скорочення «ТП» - підготовка посівного матеріалу та біосинтез біомаси з використанням штаму *Saccharomyces pastorianus CBS1483*). А ще технологічну схему, що є наведена в додатку.

ДР 1. Підготовка аераційного повітря

ДР 1.1 Забір атмосферного повітря

Повітрозбірином у найвищій точці забирають атмосферне повітря – на висоті 10 м (висота поверху , кількість поверхів – 1, косий дах споруди(~1,5 м), + 2-3 метри), де розміщують обладнання для того щоб стиснути та очистити повітря.

ДР 1.2. Груба очистка повітря

Очищення повітря від пилу та механічних часток - це обов'язковий крок. Це роблять у фільтрі, із затримуючою здатністю до 80%.

ДР 1.3. Компресування повітря

Повітря стискають у компресорі, до тиску близько 0,4 МПа. Також передбачається підвищення температури повітря, тому надалі мусимо його охолодити.

ДР 1.4. Охолодження повітря та зменшення надлишкової вологості.

Щоб зменшити контамінацію, вдоста різко повітря охолоджують аж до 19 °С у теплообміннику. Далі отримана волога зріджується у ресивері, тобто кінцева вологість становить близько 60 %.

ДР 1.5. Нагрівання повітря

Для запобігання конденсації , на волокнах фільтрів – головного та індивідуального, повітря охоложене у теплообміннику нагрівають до температури тридцяти °С.

| | | | | | | | | |
|------------------|-------------|------------------------|---------------|-------------|---|--------------------|--------------|----------------|
| | | | | | <i>НУХТ БТЕК 05.01.09 КР ПЗ</i> | | | |
| <i>Зм</i> | <i>Арк.</i> | <i>№ документа</i> | <i>Підпис</i> | <i>Дата</i> | | | | |
| <i>Розробник</i> | | <i>Артеменко О. О.</i> | | | <i>РОЗДІЛ 6. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ</i> | <i>Літера</i> | <i>Аркцш</i> | <i>Аркцшів</i> |
| <i>Керівник</i> | | <i>Стадніков В. П.</i> | | | | | 42 | 62 |
| <i>Н. контр</i> | | | | | | <i>Кафедра БТМ</i> | | |
| <i>Консульт</i> | | | | | | | | |
| <i>Зав. каф.</i> | | <i>Стадніков В.П.</i> | | | | | | |

ДР 1.6. Очищення повітря в головному фільтрі

Головним фільтром пропускається нагріте повітря, де ступінь очищення повітря збільшиться аж до $E = 95 \%$.

ДР 1.7. Очищення повітря індивідуальним фільтром

Даний фільтр встановлюють перед посівними апаратами та ферментером (ІФ-8, ІФ-21), зі ступінем очищення $E = 99,99998 \%$.

ДР 2. Приготування і стерилізація допоміжних розчинів

Щоб підтримати рН на заданому рівні і встановлення його на початковий рівень необхідно приготувати розчини титрантів, якими будуть виступати розчини соляної кислоти та гідроксиду натрія.

ДР 2.1. Приготування та стерилізація розчину HCl

У збірник об'ємом 100 л вносять 59 л питної води і 10,85 л 36 % соляної кислоти, перемішують отримуючи 70 л 6 % хлорної кислоти. Стерелізують пропусканням гострої пари при температурі 131 0C впродовж 30 хвилин.

ДР 2.2. Приготування й стерилізація розчину NaOH

На технічних терезах наважують, 16 кг гідроксиду натрію, насипають у збірник на 100 л та додають 65 л питної води. Стерилізацію здійснюють при температурі 131 оC 30 хв.

ДР 3. Приготування й стерилізація поживних середовищ

ДР 3.1 Приготування і стерилізація 500 мл поживного середовища для вирощування інокуляту в колбах на качалках.

Для вирощування інокуляту необхідно приготувати мл поживного середовища (10 % від об'єму середовища стадії 1). Вміст компонентів для приготування 500 мл середовища такий самий як і у виробничого.

ДР 3.1.1 Приготування і стерилізація композиції А

На технічних терезах наважують 2,8 г глюкози, 4,2 г мальтози та 3 г мальтотріози. Наважку поміщають в колбу об'ємом 500 мл, додають воду кількістю 300 ,перемішують, закривають колбу ватно-марлевою пробкою і стерилізують в автоклаві при температурі 121 °C впродовж 20 хв.

ДР 3.1.2 Приготування і стерилізація композиції Б

На технічних терезах наважують 1,5 г гідрофосфату калія і 2,5 г амоній сульфату. Потім переносять у колбу об'ємом 500 мл, додають 100 мл питної води, перемішують. Закривають колбу ватно-марлевою пробкою і стерилізують в автоклаві за температури 131 °С впродовж 30 хв.

ДР 3.1.3 Приготування і стерилізація композиції

На технічних терезах наважують 0.25 г сульфату магнію. Потім переносять у колбу об'ємом 200 мл, додають 100 мл питної води, перемішують. Закривають колбу ватно-марлевою пробкою, стерилізуючи в автоклаві при температурі 131 °С впродовж 30 хв.

ДР 3.2 Приготування і стерилізація 4,5 л поживного середовища для одержання посівного матеріалу в інокулятор об'ємом 10 л.

Оскільки середовище вноситься з поправкою на інокулят(мл) у кількості, що на 10% менша від загального об'єму. Тому остаточний об'єм середовища становитиме 4,5 л.

ДР 3.2.1 Приготування і стерилізація композиції А

На технічних терезах наважують 25,2 г глюкози, 37,8 г мальтози та 27 г мальтотріози. Наважку переміщують у реактор 10 л, додаючи воду у кількості 3 л, перемішують, Закривають реактор і стерилізують при температурі 121 °С протягом 20 хв.

ДР 3.2.2 Приготування На технічних терезах наважують 13,5 г гідрофосфату калію і 22.5 г амоній сульфату. Далі переносять у колбу об'ємом 2000 мл, та й додають 1000 мл питної води, перемішують. Закривають колбу ватно-марлевою пробкою і стерилізують у автоклаві за температури 131 °С впродовж 30 хв.

ДР 3.1.3 Приготування і стерилізація композиції В

Наважують на технічних вагах 2,25 г сульфату магнію. Далі переносять у колбу об'ємом 1000 мл, додають 500 мл питної води, перемішують. Закривають колбу ватно-марлевою пробкою й стерилізують у автоклаві за температури 131 °С впродовж 30 хв

ДР 3.3 Приготування і стерилізація 45 л поживного середовища для одержання посівного матеріалу у інокуляторі об'ємом 100 л.

Так як середовище буде вноситись з поправкою на інокулят(мл) у кількості, що на 10% менша від загального об'єму. Тобто остаточний об'єм середовища становитиме 45 л.

ДР 3.3.1 Приготування і стерилізація композиції А

На технічних вагах наважують 252 г глюкози, 378 г мальтози та 270 г мальтотріози. Наважку переміщують у реактор 100 л, додають воду об'ємом 30 л, перемішують, закривають реактор і стерилізують при температурі 121 °С упродовж 20 хв.

ДР 3.3.2 Приготування і стерилізація композиції Б

Наважують на технічних вагах 135 г гідрофосфату калію й 225 г амоній сульфату. Далі переносять у реактор місткістю 20 л, додають 10 л питної води, перемішують. Закривають реактор і стерилізують в автоклаві за температури 131 °С впродовж 30 хв.

ДР 3.3.3 Приготування і стерилізація композиції В

Наважують на технічних терезах 22,5 г сульфату магнію. Далі переносять у реактор на 10 л, додаючи 5 л питної води, перемішують. Закривають реактор і стерилізують в автоклаві за температури 131 °С впродовж 30 хв.

ДР 3.4 Приготування і стерилізація 450 л поживного середовища для отримання посівного матеріалу для виробничого біосинтезу. Так як середовище вноситиметься з поправкою на інокулят(мл) у кількості, що на 10% менша від загального об'єму. Тож кінцевий об'єм середовища становитиме 450 л.

ДР 3.4.1 Приготування і стерилізація композиції А

На технічних терезах наважують 2520 г глюкози, 3780 г мальтози та 2700 г мальтотріози. Наважку переміщують у реактор 1000 л додають воду у кількості 300 л, перемішують, Закривають реактор і за допомогою насосу

перекачують до ферментеру композицію А. Стерилізують при температурі 121 °С впродовж 20 хв.

ДР 3.4.2 Приготування і стерилізація композиції Б

Наважують на технічних терезах 1350 г гідрофосфату калія і 2250 г амоній сульфату. Далі переносять у реактор на 100 л, додають 100 л питної води, перемішують. Закривають реактор і стерилізують при температурі 131 °С впродовж 30 хв.

ДР 3.4.3 Приготування і стерилізація композиції В

Наважують на технічних вагах 225 г сульфат магнію, далі переносять до реактору об'ємом 100 л, додають 50 л питної води, перемішують. Закривають і стерилізують в автоклаві при температурі 131 °С впродовж 30 хв

ТП 4. Підготовка посівного матеріалу

ТП 4.1 Підтримання колекційної культури

Колекційну культуру *Saccharomyces pastorianus* CBS1483 зберігають як ліофілізовану пористу структуру, використовуючи захисне середовище, так як штам є селекційно виділеним і має схильність до реверсії ознак. Окрім того ж цей спосіб зберігання не потребує додаткового агрегату чи машини для зберігання(зокрема холодильних установок), а ще культура збереже всі свої властивості під час довгих термінів зберігання.

ТП 4.2 Одержання робочої культури на агаризованих середовищах.

Використовуючи середовище Сусло- агар, колекційну культуру поновлюють і надалі потім розсівають мікробіологічною голкою до колоній, що ізольовані на чашки Петрі та вирощують за температури 24-25 °С впродовж 24 годин.

ТП 4.3 Вирощування культури на агаризованих середовищах

Ізольовані колонії (від ТП 4.2), що тримали пересівають у пробірки зі скошеним агаризованим середовищем СА (одна ізольована колонія - для засів однієї пробірки). У пробірки пересівають ізольовані колонії, котрі

знаходяться на відстані почигаючи від 1 см. Час вирощування – 24 год, температура 25 °С.

ТП 4.4 Вирощування культури в колбах на качалках

Щоб виростити посівний матерію до засівної колби об'ємом 5 л додають тримаючи асептику , об'єм композиції А (300 мл) (від ДР 3.1.1), композиції Б (200 мл) (від ДР 3.1.2) та композицію В (від ДР 3.1.3) Загалом виходить 500 мл середовища.

Мішають і розливають по 150 мл в 4 стерильних колби-качалки Ейлермаєра, місткістю 750 мл. Затім вносять посівний матеріал і пробірок з сусло-агаром засіяних даним продуцентом раніше. Параметри культивування : , температура 20 0С, тривалість – 24 години [10].

ТП 4.5 Вирощування культури в інокуляторі об'ємом 10 л (коефіцієнт заповнення 0,5 – отримання культури об'ємом 5 л)

У стерильний інокулятор, стерилізований розбірно в автоклаві, об'ємом 10 л додають стерильні композиції в асептичних умовах, через засівні колби: композиція А (ДР 3.2.1) (3 л), композиція В(ДР 3.2.2) (1 л), композиція В(ДР 3.2.3)(0.5 л). Потім додаємо 2500 мл посівного матеріалу (з

17 колб на

качалках), зі стадії вирощування на качалках (ТП 4.4) через засівну колбу в асептичних умовах, і починають процес культивування.

Параметри культивування : рН-5,0 , температура 20 °С, тривалість -24 години, аерація.

ТП 4.6 Вирощування культури в посівному апараті об'ємом 100 л (коефіцієнт заповнення 0,5 – отримання культури об'ємом 50 л,)

У посівний апарат об'ємом 100 л, в який попередньо вносять в асептичних умовах вносять композицію А (ДР 3.2.1) (30 л), композиція В (ДР 3.2.2) (10 л), композиція В (ДР 3.2.3) (5 л). Потім подають 5 л посівного матеріалу через трубу перетиснення, встановлену через нижній штуцер ферментера з попередньої стадії. Починають процес культивування.

Параметри культивування : рН-5,0 температура 20 0С, тривалість 24 години, аерація [11].

ТП 5. Біосинтез

ТП 5.1 Виробниче культивування

У ферментері із робочим об'ємом 1 м³ здійснюється виробниче культивування. До ферментеру, що містить стерильну композицію А додають стерильну композицію Б (від ДР 3.4.2) (1 л) та стерильну композицію В (від ДР 3.4.3) , Потім вносять 50 л посівного матеріалу через трубу від посівного апарата на 100 л (ТП 4.6). Під час процесу культивування важливо підтримувати концентрацію розчиненого кисню (рО₂) на рівні 40 % [9] (від насичення повітрям). Культивують при температурі 20 °С. Тривалість культивування загальна становить 24 години. Вирощують культуру до набрання максимальної концентрації біомаси у значенні 8 г/л.

рН підтримується на рівні 5,0 автоматичним регулюванням подачею титрантів. Кожні 2-4 годин відбирають проби для аналізу процесу ферментації(концентрації біомаси, кількість вуглецю і азоту у культуральній рідині.

РОЗДІЛ 7. КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА

Протягом виробничого культивування періодично (кожні 2-4 год) для мікробіологічного контролю відбирають проби культуральні рідини щоб визначити концентрацію біомаси, а також вмісту джерела вуглецю (у мелясі це сахароза) і азоту (амонійний азот). Відбирається проба з ферментера об'ємом 200-500 мл, для розподілу по всіх методах контролю.

7.1. Мікробіологічний контроль

Відбувається розсівом на чашки Петрі із агаризованими середовищами і мікроскопуванням. До ізолюваних колоній на чашки Петрі, використовуючи середовище Сабуру (виявлення грибів та дріжджів) та МПА (виявлення бактерій) розсівають культуральну рідину. Культуральну рідину розсівають до ізолюваних колоній на чашки Петрі із використанням середовища Сабуру задля виявлення грибів та дріжджів, та середовище МПА для виявлення бактерій. Так як основну масу сторонніх культур становлять бактерії, по переважно розсів роблять на МПА, паралельно роблячи мікроскопію і посів на чашки Петрі із середовищем Сабуру для виявлення відсутності сторонніх видів дріжджів. Для мікроскопування використовують препарати «роздавлена крапля», готуючи на знежиреному предметному склі, на котре наносять маленьку краплю культуральної рідини, покриваючи скельцем та розглядають із об'єктивом 40x, чи з імерсійною системою на $\times 90$. Перш за все, для оцінення морфолого-культуральних дивляться на характерні особливості колоній продуцента (рис 7.1).

| | | | | | | | | |
|------------------|------------------------|--------------------|---------------|-------------|---|---------------|-------------|---------------|
| | | | | | <i>НУХТ БТЕК 05.01.09 КР ПЗ</i> | | | |
| <i>Зм</i> | <i>Арк.</i> | <i>№ документа</i> | <i>Підпис</i> | <i>Дата</i> | РОЗДІЛ 7. КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА | <i>Літера</i> | <i>Аркш</i> | <i>Аркшів</i> |
| <i>Розробник</i> | <i>Артеменко О. О.</i> | | | | | | 49 | 62 |
| <i>Керівник</i> | <i>Стадніков В. П.</i> | | | | | | | |
| <i>Н. контр</i> | | | | | | | | |
| <i>Консильт</i> | | | | | | | | |
| <i>Зав. каф.</i> | <i>Стадніков В.П.</i> | | | | <i>Кафедра БТМ</i> | | | |



Рис. 7.1 Saccharomyces pastorianus на агаризованих поживних середовищах [12].

Колонії описуються так: круглясті, білі або світло-білі, при старінні колір стає насиченішим.

Готують препарат роздавлена крапля задля мікроскопії: із проби мікробіологічною петлею надбирають трохи суспензії культуральної рідини, потім вносячи краплю фізрозчину, на предметному скельці, а далі за допомогою петлі перемішують та покривають предметним скельцем. Мікроскопію виконують при збільшенні сорока та при дев'яносто з імерсійним маслом (рис 7.2).

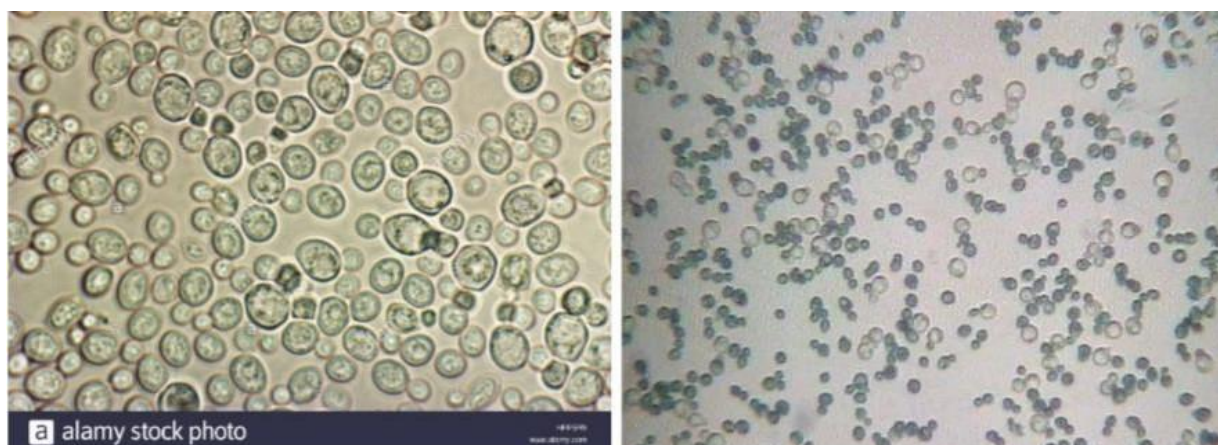


Рис. 7.2 Мікроскопія *Saccharomyces pastorianus* під збільшенням x 90 та x40 [12].

7.2. Визначення концентрації джерел азоту та вуглецю.

Визначення джерела азоту в середовищі

Визначення концентрації амонійного азоту. Амонійний азот з солей - джерелом азоту в середовищі, для виявлення якого використовують метод Неслера, котрий ґрунтується на виникненні забарвленої важкорозчинної сполуки під час взаємодії реактиву Неслера (K_2HgI_4) з аміаком в нейтральних чи лужних розчинах: $2HgI_4 + NH_3 + OH = NH_2Hg_2I_3 + 5I_2 + H_2O$ [4]. Сильно надлишкового числа лугу запобігаємо, тому що відбувається розклад $NH_2Hg_2I_3$ утворюючи гідраргіум оксид. Забарвлена сполука $NH_2Hg_2I_3$ має схильність до утворення негативно заряджених колоїдних частинок. Щоб отримати рівномірну і стійку суспензію до розчину додають захисний колоїд – желатин, полівініловий спирт. Колоїдні розчини жовтого кольору при малому вмісті амоніаку, а при великій концентрації мають коричневий колір. Отримані методом Неслера колоїди, що можуть коагулювати, значно понижають результат аналізу. Щоб визначити аміак до 1 мл супернатанту культуральної рідини додають 1 мл реактиву Неслера. Екстинцію вимірюють використовуючи довжину хвилі 400–425 нм. В залежності від калібрувального графіку визначають концентрацію аміаку. Фотометричному визначенню азоту методом Неслера заважають іони, котрі випадають в осад у лужному середовищі і можуть утворювати нерозчинні сполуки з йодид – йонами та йонами ртуті (магній, марганець, залізо, титан, сульфід-йони та ін.)[13].

Визначення концентрації глюкози (джерела вуглецю)

Глюкоза - основне джерело вуглецю в середовищі, за винятком пептону. Концентрація цього джерела вуглецю визначається модифікованими глюкозооксидазними методами з використанням біосенсорів з іммобілізованою глюкозооксидазою та амперометричним датчиком.

50 мл культуральної рідини відбирають з ферментера, переносячи у центрифужні пробірки і центрифугують при 1500 об/хв 15-20 хв, потім відцентрифуговану суспензію фільтрують через фільтрувальний папір.

Використовуючи окрему ємність, відбирають фільтрат, щоб провести аналізи.

Відбирається певний об'єм проби, потім розводиться у двісті п'ятдесят – тисячу разів, а потім від розведеного розчину відбирають п'ять чи десять мл та й переміщують до буферного розчину системи: KH_2PO_4 — Na_2HPO_4 з рН 7.2. А потім до твєї ж системи подають глюкозооксидазу, що є іммобілізованою на полімері ЕДТ (двадцять мМ на фосфатному буфері, рН шість цілих дві десятих, що має складалася з 10^{-2} М 3,4-етилендіокситіофену, 10^{-3} М етиленгліколу та 30 мг/мл розчину ГОД) суспензійного вигляду.

Вимірюють концентрацію глюкози використовуючи амперометричний перетворювальний прилад, котрий містить традиційну триелектродну систему, де друкований електрод SensLab (SensLab GmbH, Leipzig, Німеччина) поєднує у собі усі три електрода: платиновий робочий, допоміжний, порівняльний. Платинові друковані електроди SensLab досліджують на відтворюваність та працездатність у діапазоні потенціалу від нуля до + шестиста мВ. Датчик амперометричного приладу опускають до розчин-системи з глюкозооксидазою та культуральною рідиною, яка є підготовленою.

Сила струму вимірюється і визначається в нА. Концентрація глюкози може бути визначеною за градуовальним графіком залежності сили струму (нА) та концентрації глюкози (мМ) [14]. Значення, що отримали множать на ступінь розведення, а далі а переводять концентрацію з мМ у г у деякому об'ємі чи г/л. Вміст вуглецю у глюкозі 40 %, так як 1 г глюкози відповідає 0,4 г карбону [13].

7.3. Визначення концентрації цільового продукту.

Непрямий метод. Метод з використанням ФЕК :

Концентрація біомаси у г/л культуральної рідини визначається за допомогою фотоелектроколориметра (ФЕК) - за різниця оптичної густини D клітинної суспензії та еталонного зразка, переводяться у відповідне значення оптичної густини у грами, використовуючи калібрувальний графік.

Концентрація біомаси визначаються за оптичною густиною клітинної суспензії з подальшим перерахунком на кількість г/л з використанням калібрувального графіка відносно еталонного зразка.

Для цього до пробірок вносимо 9 мл дистильованої води та 1мл культуральної рідини. Число розведень становить 5-6 разів, перемішуючи суміш під час кожного розведення. Після останнього розведення міряють оптичну густину на ФЕК (довжина хвилі 540 нм) у кюветі товщиною 10 мм. Щоб якнайточніше визначити, вимірюють три рази підряд і шукають середнє значення. Таке ж роблять із контрольним зразком, що являє собою розведене в стільки ж разів свіже ПС середовище для культивування. Потім отримані значення оптичної густини віднімають та отримують різницю. Використовуючи калібрувальний графік переводять це число у концентрацію біомаси в одиниці грами на літр [16].

РОЗДІЛ 8. ОХОРОНА ДОВКІЛЛЯ

8.1. Аналіз технологічної схеми виробництва біомаси пивних дріжджів

Saccharomyces pastorianus

Біосинтез біомаси з використанням штаму *Saccharomyces pastorianus* CBS1483 включає доферментаційні допоміжні роботи:

- приготування мийних та дезінфікуючих розчинів;
- приготування і стерилізація титрувальних агентів;
- приготування та стерилізація поживного середовища для одержання посівного матеріалу;
- приготування та стерилізація поживного середовища для виробничого біосинтезу біомаси;
- ферментаційні технологічні процеси:
- підготовка посівного матеріалу;
- виробничий біосинтез біомаси.

Доферментаційні допоміжні роботи

Приготування мийних та дезінфікуючих розчинів

Для щоденного та генерального прибирань необхідно застосовувати «Азираль АС» - рідкий лужний миючий засіб, який добре видаляє неорганічні і органічні відкладення (жири, масла, денатурований білок, дріжджі, цукор, рослинні пігменти і інше).

| | | | | | | | | |
|------------------|-------------|------------------------|---------------|-------------|---------------------------------------|--------------------|-------------|---------------|
| | | | | | <i>НУХТ БТЕК 05.01.09 КР ПЗ</i> | | | |
| <i>Зм</i> | <i>Арк.</i> | <i>№ документа</i> | <i>Підпис</i> | <i>Дата</i> | <i>РОЗДІЛ 8. ОХОРОНА ДОВКІЛЛЯ</i> | <i>Літера</i> | <i>Аркш</i> | <i>Аркциф</i> |
| <i>Розробник</i> | | <i>Артеменко О. О.</i> | | | | | 54 | 62 |
| <i>Керівник</i> | | <i>Стадніков В. П.</i> | | | | <i>Кафедра БТМ</i> | | |
| <i>Н. контр</i> | | | | | | | | |
| <i>Консульт</i> | | | | | | | | |
| <i>Зав. каф.</i> | | <i>Стадніков В.П.</i> | | | | | | |

Для миття обладнання, а саме: фільтрів, комунікацій та біореакторів різного типу і ємностей застосовують розчин каустичної соди. Промивна вода разом з відпрацьованими миючими та дезинфікуючими засобами зливається у каналізацію.

Приготування і стерилізація титрувальних агентів

Для підтримання рН на заданому рівні та встановлення його на початковий рівень необхідно приготувати розчини титрантів. В якості яких будуть виступати розчини соляної кислоти 6 % та гідроксиду натрія 6%. Відходи на даному етапі відступні, оскільки титрувальні розчини та їх об'єми

відповідають нормативним показникам.

Приготування та стерилізація поживного середовища для одержання посівного матеріалу та виробничого біосинтезу біомаси

На даному етапі в якості відходів виступає сировина, яка не є відповідною до нормативних показників та пакувальні матеріали, що залишились від її упакування.

Ферментаційні технологічні процеси

Підготовка посівного матеріалу

Оскільки культивування відбувається в аеробних умовах, де використовується стерильне повітря, то маємо великий об'єм відпрацьованого повітря, тобто емісію газоповітряних відходів [34].

Виробничий біосинтез біомаси *Saccharomyces pastorianus CBS1483*

Так як під час виробничого біосинтезу відбувається безперервна подача стерильного повітря, то утворюється об'єм відпрацьованого повітря – емісія газоповітряних відходів.

Рідкі відходи на даному етапі не враховуємо, адже культуральна рідина від ферментера подається до збірника.

8.2. Характеристика рідких відходів біосинтезу

Виробництво біомаси дріжджів здійснюється протягом 30 днів, миття підлоги – щоденно, кожні два тижні – генеральне прибирання. Обладнання обробляють розчинами каустичної соди та «Азираль АС». Об'єми робочих розчинів за весь період виробництва яких складають по 0,5 л відповідно.

Таблиця 8.1

Характеристика рідких відходів виробництва

| Назва рідких відходів | Речовини, що входять до складу відходів | Приблизний об'єм відходів на 1 цикл виробництва, л | Клас небезпеки |
|---------------------------|---|--|----------------|
| 2% розчин каустичної соди | Каустична сода – NaOH | 0,5 | II |
| 0,5% розчин «Азираль АС» | ксаметиленгуанід ин 20% | 0,5 | IV |
| | Усього: | 1 | |

Заходи для зменшення об'ємів рідких відходів

Актуальним є застосувати СІР 6х2500А-2 – двоконтурну автоматичну мийку для зменшення об'ємів мийних на дезінфікуючих розчинів, що зливаються після проведення санітарної підготовки виробництва у каналізацію.

Утилізація рідких відходів

Для очищення стічних вод актуальним буде застосувати дисковий фільтр. Основним елементом фільтру є фільтруючий сегмент, обтягнутий фільтрувальною тканиною. Вода, що надходить у внутрішній простір фільтруючого сегменту, проходить назовні крізь тканину, на якій затримуються дрібні забруднення. Сегменти закріплені на дисковому валу. Дванадцять сегментів утворюють один диск. Кількість дисків визначає грязеемність, а отже і розміри фільтру. Бувають дискові фільтри з 4, 6, 10, 16 і 24 дисками з діапазоном фільтрації 5-200 мкм.

Переваги:

- висока якість очищення;
- висока стійкість до зношування і пошкоджень;
- фільтрація великих обсягів до 730 л / с;
- фільтрація частинок від 5 мкм;
- висока якість очищеної води;
- невелика площа встановлення фільтру (по співвідношенню з ємністю);
- відмінна альтернатива барабанним мікросітчастим фільтрам;
- низькі інвестиційні та експлуатаційні витрати [35].

8.3. Характеристика твердих відходів біосинтезу Розрахунок об'ємів відходів

Відходами на даному етапі можуть служити пакувальні тари для компонентів поживного середовища, миючих та дезінфікуючих розчинів.

Таблиця 8.2

Характеристика твердих відходів виробництва біомаси дріжджів

| Назва твердих відходів | Матеріали, що входять до складу відходів | Приблизний об'єм відходів на 1 цикл виробництва, кг | Клас небезпек |
|---|---|--|----------------------|
| Тара для мийних та дезінфікуючих засобів | Поліпропілен | 0,3 | IV |
| Упаковка для компонентів поживного середовища | поліетилен, полівінілхлорид | 0,3 | IV |
| | Усього: | 0,6 | |

Утилізація твердих відходів

Відходи сортуються, а далі надаються до пунктів вторинної переробки сировини.

8.4. Характеристика газоповітряних відходів виробництва

біомаси дріжджів

Розрахунок об'ємів відходів

До газоповітряних відходів виробництва належать вуглекислий газ, що виділяється при біосинтезі та аерозоль бактерій. Час виробничого біосинтезу становить 34 год, а тривалість підготовки посівного матеріалу в інокуляторах становить – 102 год. Швидкість аерації стерильного стисненого повітря, що подається для забезпечення аеробних умов культивування – 0,06 л/лКР/хв. У виробничому приміщенні встановлюються інокулятор об'ємом 50 л та 1 ферментер із робочим об'ємом 500 л. Тому, приблизний об'єм відпрацьованого повітря становить: $0,06 \cdot (50 \cdot 102) + 0,06 \cdot (500 \cdot 34) = 1326$ л (1,326 м³).

Таблиця 8.3

Характеристика газоповітряних відходів виробництва біомаси дріжджів

| Назва газоподібних відходів | Речовини, що входять до складу відходів | Приблизний об'єм відходів на 1 цикл виробництва, м ³ | Клас небезпек и |
|---|---|---|-----------------|
| Відпрацьоване повітря після ферментації | Вуглекислий газ, аерозоль бактерій | 1,326 | IV |

Утилізація газоповітряних відходів

Очистка газоподібних відходів є обов'язковим етапом для промислових виробництв, що виділяють токсичні й біологічно активні

Принцип роботи біоскрюбера реалізується у дві стадії у двох різних установках. На першому етапі в адсорбері токсичні речовини і кисень розчиняються у воді. У результаті повітря очищується, а забруднена вода відводиться для подальшого очищення. Типи адсорберів: барботажні, насадочні, розпилювальні, форсункові. Метою конструктивних удосконалень адсорберів є збільшення площі поверхні розподілу фаз, що обумовлює ефективність адсорбції.

На другій стадії забруднена вода надходить до аеротенку, де вона піддається регенерації. У ході очистки складні органічні сполуки окиснюються мікроорганізмами активного мулу до кінцевих продуктів з утворенням біомаси за допомогою рідкої фази є спосіб з активним мулом. Інтенсифікація процесу біоочищення відбувається за допомогою чистих культур та їх асоціацій, що адаптовані до певних джерел забруднень.

Цей спосіб за пристроями, що використовуються поділяється на установки для роботи з диспергованим газом і рідиною. За способом із дисперговою формою газу в рідині, в котрій живуть мікроорганізми, вводиться досить розпорошений газ. Забруднений газ безпосередньо вдувають до ємності з активним мулом [36].

Список використаної літератури

1. Швед О . О, О. Б. Миколів О. Б, В . О, Комаровська. В . О, Порохнявець, О . З , Новіков. В . П Екологічна біотехнологія //Навчальний посібник. –2-е вид. –Львів: Львівська політехніка –2011.–368 с.
2. Любова О.В.,Пилипчук О.О.Конспект лекцій «Сільськогосподарська біотехнологія»– Київ, 2016. – 83 с
3. Хлібопекарські дріжджі. [Електронний ресурс]. Режим доступу : http://bearplanet.ru/gribi/dryzhdzhy/hlybopekarsky_dryzhdzhy.html.
4. Виробництво пивних дріжджів Діпломний проект НТУУ КПІ [Електронний ресурс]. Режим доступуhttp://prombiotech.kpi.ua/materials/Atestroboty2015/Bakalavr2017/Terzi_A_Y.PDF.
5. А.Є Мелетьєв, С.Р. Тодосійчук, В.М. Кошова // Технохімічний контроль солоду, пива та безалкогольних напоїв//. : К-, 2007.
6. Електронний ресурс].Режим доступу: https://en.wikipedia.org/wiki/Saccharomyces_pastorianus.
7. Електронний ресурс].Режим доступу: <https://fenix-agro.com/catalog/39/>
8. Пирог.Т.П , Ігнатова О.А Загальна біотехнологія: - К : НУХТ, 2010 – ст 25-99.
9. Т. Пирог, М. Антонюк, О. Скроцька. Харчова біотехнологія, К: - 2016.
10. Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://dachnik.ua/product/drizhdzhi-ryvni-fermentis-safale-us-05-11-5h-frantsiia>.
11. Anja Brickwedde|Marcel van den Broek, Jan-Maarten A. Geertuman, Frederico Magalhães Niels G. A. Kuijpers, Brian Gibson, Jack T. Pronk and Jean-Marc G. Daran // Evolutionary Engineering in Chemostat Culturoes for Improved Maltotriose Fermentation Kinetics in Saccharomyces pastoripanus Lager Brewing Yeast. Food microbiology.-2017.-Vol 6 - . N 10 P 1145-1148

| | | | | | | | | | | |
|------------------|-------------|------------------------|---------------|-------------|---------------------------------------|--|--|--------------------|---------------|-----------------|
| | | | | | <i>НУХТ БТЕК 05.01.09 КР ПЗ</i> | | | | | |
| <i>Зм</i> | <i>Арк.</i> | <i>№ документа</i> | <i>Підпис</i> | <i>Дата</i> | <i>РОЗДІЛ 8. ОХОРОНА ДОВКІЛЛЯ</i> | | | | | |
| <i>Розробник</i> | | <i>Артеменко О. О.</i> | | | | | | <i>Літера</i> | <i>Аркциш</i> | <i>Аркцишів</i> |
| <i>Керівник</i> | | <i>Стадніков В. П.</i> | | | | | | | 60 | 62 |
| <i>Н. контр</i> | | | | | | | | <i>Кафедра БТМ</i> | | |
| <i>Консульт</i> | | | | | | | | | | |
| <i>Зав. каф.</i> | | <i>Стадніков В.П.</i> | | | | | | | | |

12. Cleaire .M. H, Lover,kidgeIain S. D.Dane, Kelly .S .P // Co-production of bioethanol and probiootic yeast biomass from agricultural feedstock: application or the rural biorefinery concept // Hull et al. AMB Express jornal.-2014-.Vol 4 - . N 64 P 1–8.
13. Пирог Т.П. Загальна мікробіологія: Підручник. – К.: НУХТ, 2005. – ст: 102-354.
14. Технологія мікробного синтезу лікарських засобів: Метод. Рекомендації до викон. Курсов роботи для студ. Напряму 6.051401 «Біотехнологія» ден. форм. навч. / Уклад.: Т. П. Пирог, Ю.М Пенчук. – К.: НУХТ, 2011. – ст 17-19.
15. Глюкоза [Електронний ресурс] – Режим доступу: <https://kodkyh.com/p721054688-glyukoza-pinch.html>.
16. Пептон.[Електронний ресурс] – Режим доступу: <https://www.sostoypt.com.ua/pepton-fermentatuvnyj/>.
17. Дріжджовий автолізат [Електронний ресурс] – Режим доступу: <https://alibaiba.com/product-detail/best-price-yeast-extract-60761737505.htm?spm=a2700.8699010.normalList.22.5f5974bdgwTfEz>.
18. Мальтотріоза [Електронний ресурс] – Режим доступу: <https://russian.alibarba.com/g/maltotriose-price.html>.
19. Калій фосфат однозаміщений [Електронний ресурс] – Режим доступу: <https://prom.ua/p229y298037-monokalijfosfat-kalij-fosfornokislyj.html?>.
20. Амоній сульфат [Електронний ресурс] – Режим доступу: <https://prom.ua/p76t935892-sulfat-ammoniya.html>.
21. Сульфат магнія [Електронний ресурс] – Режим доступу: <https://prom.ua/pe5u374591-sulfat-magniya-magnij.html>.
22. Глюкоза [Електронний ресурс] – Режим доступу: https://pischevik.in.ua/dekstooza-gljukoza-kitaj-25-kg?gclid=eaiaiqobchmiw4p0mo-o8aivpwsiax01layzeaayasfaegjz4_d_bwe.
23. Мальтоза [Електронний ресурс] – Режим доступу: https://snobhim.com.ua/moltadekstrin?gclid=EAIAIqObChMI4v20xI-o8AIVAgB7Ch10xQwVEAQYASABEGLvW_D_BoE.

24. [Електронний ресурс] – Режим доступу: <https://www.odpi.com/2306-5710/2/4/30>
25. [Електронний ресурс] – Режим доступу: <https://www.sciencedirect.com/topics/agricultural-and-biological-sciences/sascharomyces-pastorianus>.
26. [Електронний ресурс] – Режим доступу: <https://www.shontybrewery.com/brewing-with-s-eubayanus/>.
27. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://fenix-agro.com/catalog/39/>
28. [Електронний ресурс] – Режим доступу: http://www.kogg.jp/kogg-bin/show_pathway?sce00010.
29. [Електронний ресурс] – Режим доступу: http://www.kogg.jp/kogg-bin/show_pathway?sce00061.
30. [Електронний ресурс] – Режим доступу: http://www.kogg.jp/kogg-bin/show_pathway?sce00250.
31. [Електронний ресурс] – Режим доступу: www.kogg.jp/bin/show_pathway?sce00051.
32. [Електронний ресурс] – Режим доступу: www.kogg.jp/bin/show_pathway?sce00051.
33. Manuela Taccaria , Laura Canonicoa , Francesca Comitini, Iaria , Mannazzub Maurizio Ciania// Screening of yeasts for growth on crude glycerol and optimization of biomass production // Bioresource Technology.-2012-.Vol 110 - . N 1 P . 488-495.
34. Мильчук М.Д. Біотехнологія рослин / М.Д. Мильчук, Т.В. Новак, В.А. Кунах. – К.: Поліграфконсалтинг, 2003. – 250 с.
35. Основи сільсько-господарської біотехнології / Г.С. Муромцев, Р.Г. Бутенко, Т.И. Тихоненко [и др.]. – М.: Агропромиздат, 1990. – 286 с.
36. Популяционные аспекты биотехнологий. – Новосибирск.: Наука, 1990. – 169 с.