

НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ

Інститут (факультет) біотехнології та екологічного контролю

Кафедра біотехнології і мікробіології

Освітній ступінь бакалавр

Спеціальність 162 «Біотехнології та біоінженерія»

Освітньо-професійна програма «Біотехнологія»
(цифра і слова)
(назва)

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри біотехнології і мікробіології

Пирог Т.П.
«17» березня 2020 року

ЗАВДАННЯ

НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ ЗДОБУВАЧА

Храпачевського Владислава Євгеновича

(прізвище, ім'я, по батькові)

1. Тема роботи Культивування *Lactobacillus acidophilus* для отримання Ацидофіліну

керівник роботи Буценко Людмила Миколаївна доцент, к. б. н.,

(прізвище, ім'я, по батькові, науковий ступінь, місце зв'язку)

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

2. Строк подання здобувачем роботи 01 червня 2020 року

3. Вихідні дані до роботи Біологічний агент: *Lactobacillus acidophilus*
цільовий продукт: ацидофілін

4. Зміст розрахунково-пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно розробити): Характеристика цільового продукту, Обґрунтування вибору та характеристика біологічного агента, Техніко-економічне обґрунтування, Біосинтез цільового продукту, Матеріальний баланс і розрахунок обладнання, Специфікація обладнання, Опис технологічної схеми, Контроль виробництва, Автоматизація ділянки виробництва.

5. Перелік графічного матеріалу: Апаратурна схема біосинтезу бактеріальної маси *L. acidophilus*, Апаратурна схема виділення та очистки бактеріальної маси *L. acidophilus*, технологічна схема виробництва ацидофіліну, схема шляхів катаболізму *L. acidophilus*, схема автоматизації ділянки виробництва.

6. Консультанти розділів роботи

Розділ	Прізвище, ініціали та посада консультанта	Підпис, дата	
		завдання видав	завдання прийняв
10	Клименко Олег Миколайович доцент к.т.н., кафедра автоматизації та комп'ютерних технологій систем управління	23.04.2020	24.05.2020

7. Дата видачі завдання «17» березня 2020 року _____

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№ з/п	Назва етапів виконання кваліфікаційної роботи	Строк виконання етапів роботи	Примітка
1	РОЗДІЛ 1. Характеристика цільового продукту	20.03.2020-25.03.2020	
2	РОЗДІЛ 2. Обґрунтування вибору та характеристика біологічного агента.	25.03.2020-1.04.2020	
3	РОЗДІЛ 3. Техніко-економічне обґрунтування	1.04.2020-10.04.2020	
4	РОЗДІЛ 4. Біосинтез цільового продукту	10.04.2020-20.04.2020	
5	РОЗДІЛ 5. Обґрунтування вибору технологічної схеми	20.04.2020-1.05.2020	
6	РОЗДІЛ 6. Матеріальний баланс і розрахунок обладнання	1.05.2020-5.05.2020	
7	РОЗДІЛ 7. Специфікація обладнання	05.05.2020-10.05.2020	
8	РОЗДІЛ 8. Опис технологічної схеми	10.05.2020-15.05.2020	
9	РОЗДІЛ 9. Контроль виробництва	15.05.2020-23.05.2020	
10	РОЗДІЛ 10. Автоматизація ділянки виробництва	23.04.2020-24.05.2020	

Здобувач _____ Храпачевський В. С.
(підпис) (прізвище та ініціали)

Керівник роботи _____ Буценко Л. М.
(підпис) (прізвище та ініціали)

РЕФЕРАТ

Дипломна робота присвячена розробленню технологічної та апаратурної схеми біосинтезу, очистки та підготовки сухої закваски на основі *L.acidophilis*, з якої виготовляється кисло-молочний продукт ацидофілін. В даному дипломному проекті показані технологічні особливості: біосинтезу, виділення цільового продукту та апаратура яка для цього використовується, було складено порівняльну характеристику апаратів для кращого розуміння вибору, а також описано технологічні особливості одержання сухих заквасок на основі молочно-кислих бактерій та їх якісного контролю після виготовлення. Проект розглядає різні способи проведення технологічних процесів які є найбільш зручними та перспективними, для отримання найбільшої вигоди при найменш можливих витратах. Апаратурна схема включає в себе розміщення апаратури підведення та розміщення комунікаційних вузлів, технологічна – основні та допоміжні процеси.

Курсова робота складається з вступу, 4 розділів списку використаної літератури (61 найменувань літературних джерел) апаратурної та технологічної схем формату А3. Загальний обсяг роботи - 115 сторінок, 19 таблиць, 8 рисунків та 1 діаграма.

Ключові слова: *L.acidophilis*, біосинтез, ацидофілін, виділення, суха закваска.

ЗМІСТ

РЕФЕРАТ.....	2
Вступ.....	4
РОЗДІЛ 1. ХАРАКТЕРИСТИКА ЦІЛЬОВОГО ПРОДУКТУ.....	6
РОЗДІЛ 2. СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ	14
РОЗДІЛ 3. ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБГРУНТУВАННЯ	24
РОЗДІЛ 4. БІОСИНТЕЗ ЦІЛЬОВОГО ПРОДУКТУ.....	30
РОЗДІЛ 5. ОБГРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ.....	35
РОЗДІЛ 6. МАТЕРІАЛЬНИЙ БАЛАНС ТА РОЗРАХУНОК ОБЛАДНАННЯ.....	57
РОЗДІЛ 7. КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА.....	75
РОЗДІЛ 8. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ.....	82
РОЗДІЛ 9. КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА.....	94
РОЗДІЛ 10. АВТОМАТИЗАЦІЯ ВИРОБНИЦТВА.....	106
СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ.....	112
ГРАФІЧНА ЧАСТИНА	

ВСТУП

Людина і навколишнє середовище перебувають у стані біологічної рівноваги. Мікроби-симбіонти, які є складовою частиною макроорганізму, не тільки формують мікрофлору організму людини, але і безпосередньо беруть участь у регулюванні багатьох фізіологічних реакцій і процесів, які в ньому відбуваються. Вони оберігають організм людини від заселення патогенними бактеріями, сприяють процесам травлення, регулюють обмін речовин, синтезують вітаміни і деякі незамінні амінокислоти, формують імунну відповідь на неспецифічну резистентність організму новонародженого, знешкоджують токсичні речовини тощо. Під дією екологічних факторів, неправильного і недостатнього харчування, антибіотикотерапії, інфекційних і неінфекційних захворювань, імунодефіцитних станів може змінюватися кількісний і якісний склад мікрофлори людини. Це, в свою чергу, може привести до розвитку захворювань шлунково-кишкового тракту, порушення обміну речовин (гіповітаміноз, анемії, гіпотрофія та ін.) [1]

Особливо гострою проблема дисбактеріозів в Україні та світі стала в останні роки. Це пов'язано перш за все з аварією на ЧАЕС, з широким використанням пестицидів, різних харчових добавок, консервантів, барвників в продуктах харчування, з недостатнім і нераціональним харчуванням більшості населення країни, з підвищенням інфекційної і неінфекційної захворюваності.

Згідно досліджень середній українець став споживати менше не тільки м'яса, а й молока, фруктів, риби. У наборі продуктів переважають і значно перевищують раціональну норму: олія (176,6%), картопля (148,1%), хліб і хлібопродукти (123,3%), цукор (130,4%). Сьогодні в Україні так харчується близько 50—60% усього населення.

					НУХТ БТЕК 04.02.34 ДП ПЗ		
		№ докум.	Підпис				
		<i>Храпачевський В</i>			Літ.	Арк.	Акрушів
<i>Керівник</i>		<i>Буценко Л. М.</i>				4	2
<i>Реценз.</i>					Кафедра БТМ		
<i>Н. Коитр.</i>							
<i>Затверд.</i>		<i>Пирог Т.П.</i>					

Слід відмітити, що середнє споживання деяких видів продуктів (м'ясо, яйця, риба і рибопродукти, фрукти, ягоди) у багатодітних родинах у 2 рази нижче за середній рівень. Розбіжності в харчуванні в домогосподарствах з різним рівнем забезпеченості ще більші. [2]

Таким чином ми маємо підвищений ризик появи дисбактеріозу, виникнення хвороб шлунку та кишкового тракту, а значить і проблеми пов'язані з імунітетом, оскільки мікрофлора шкт просто не поновлюється.

Ацидофілін є саме тим продуктом, що має входити до основних в нашому раціоні. На сьогодні закваски на основі цієї палички мають попит, як на підприємстві, так і в домашніх умовах. А отже технологія виготовлення не повинна стояти на місці. Удосконалення технологічних процесів отримання продукту та його виділення дозволить збільшити об'єми виробництва за підвищення попиту на молочні продукти на основі ацидофільної закваски.

Метою даного дипломного проекту є проектування ділянки виробництва, включаючи апаратурну, технологічну та автоматизаційну схеми, сухої закваски ацидофіліну. Продуковану молочно-кислими бактеріями *Lactobacillus acidophilus*.

Актуальність теми. На сьогодні правильне харчування напряму залежить від забезпеченості громадян, і вважається дорогим задоволенням, а просте споживання молока не здатне забезпечити наш організм необхідною кількістю корисних бактерій. Виробництво кисло-молочних продуктів на основі заквасок є одним шляхів вирішення цієї проблеми. Особливу увагу слід приділити забезпеченню молочних виробництв вітчизняними заквасками, це дасть змогу здешевити собівартість продукту, а також підтримати українського виробника.

Новизна. Новизною дипломного проекту є зміна стандартного живильного МРС середовища на його модифіковану версію під назвою GS. Оновлене живильне середовище містить мінімально необхідну кількість компонентів у своєму складі, що вдвічі здешевшує собівартість витрат на живильне середовище. Але при цьому кількісний та якісний склад підібрано

таким чином, що вихід продукту при цьому залишається на тому самому рівні, що й за стандартного поживного середовища. Також до технології виділення було додано сепаратор-культофугу, що була розроблена спеціально для роботи з культуральними рідиною та дозволяє пришвидшити процес завдяки функції скидання осаду на повному ході. А процес дробіння, що було додано в технологію, дозволяє отримати більш якісну закваску, спрощує її дозування.

РОЗДІЛ 1. ХАРАКТЕРИСТИКА ЦІЛЬОВОГО ПРОДУКТУ

Ацидофілін – кисломолочний продукт, що отримують шляхом збродження молока кисломолочною ацидофільною паличкою. Ацидофілін виготовляється на основі молочних заквасок згідно «ГОСТ 34372-2017 Закваски бактеріальні для виробництва молочної продукції.» на основі молока, яке спочатку пастеризують за температури 85-90°C, потім охолоджують до температури в 45-50°C та додають до нього 4-5% закваску ацидофільних бактерій при постійному перемішуванні. Закваска культивується в термостаті при температурі 42-45°C. [3]

Згідно «ГОСТ 34372-2017 Закваски бактеріальні для виробництва молочної продукції.» заквасочна продукція має таку класифікацію:

- Бактеріальні закваски (далі БЗ) і бактеріальні концентрати (далі БК) залежно від фізичного стану і способу виробництва поділяють:
 - на рідкі;
 - заморожені;
 - сухі.
- БЗ і БК залежно від числа видів мікроорганізмів, що входять до їх складу поділяють на:
 - моновидові;
 - полівидові.
- БЗ і БК залежно від кількості вхідних штамів кожного виду поділяють на:
 - одноштамові;
 - багатоштамові.

					НУХТ БТЕК 04.02.34 ДП ПЗ			
		№ докум.	Підпис					
		<i>Храпачевський В</i>			РОЗДІЛ 1.	Літ.	Арк.	Акрушів
<i>Керівник</i>		<i>Буценко Л. М.</i>			ХАРАКТЕРИСТИКА		6	2
<i>Реценз.</i>					ЦІЛЬОВОГО ПРОДУКТУ	Кафедра БТМ		
<i>Н. Коитр.</i>								
<i>Затверд.</i>		<i>Пирог Т.П.</i>						

- БЗ і БК залежно від температурних інтервалів розвитку входять до їх складу видів і розділяються на:
 - мезофільні;
 - термофільні;
 - мезофільні-термофільні.

Органолептичні показники заквасок представлені у таблиці 1.1:

Органолептичні показники заквасок

Таблиця 1.1

Назва показника	Характеристика і норма для БЗ і БК		
	Рідкі	Заморожені	Сухі
Зовнішній вигляд	однорідна рідина	Однорідна заморожена маса і / або гранули різної форми і розмірів	Порошкоподібна маса, і / або гранули різної форми і розмірів, і / або таблетки
Колір	Від світло-кремового до світло-коричневого або колір наповнювача		
Маса вологи, %	-	-	2-6%

Продукція, що потім виготовляється на основі ацидофільної закваски на виробництві має відповідати «ДСТУ 4540:2006. Напої ацидофільні» [4]

Ацидофілін має такі органолептичні показники:

- **Зовнішній вигляд та консистенція.** Однорідна, в'язка, з непорушеним згустком (за термостатного способу виробництва напоїв) або порушеним згустком (за резервуарного способу виробництва). Дозволено для ацидофіліну та ацидофільно-дріжджового молока газоутворення у вигляді окремих бульбашок газу, яке викликане життєдіяльністю мікрофлори закваски.

- **Колір.** Рівномірний за всією масою. Молочно-біли.
- **Смак і запах.** Чистий, кисломолочний. Без сторонніх присмаків і запахів. Для ацидофіліну та ацидофільно-дріжджового молока, крім того, освіжаючий, ледь гострий з незначним дріжджовим запахом.

Фізико-хімічні показники:

- Масова частка жиру, % - 0...6
- Масова частка білка, %, не менше ніж – 2.7
- Кислотність:
 - титровна, °Т – 75...130
 - активна, рН – 4.7...3.9
- Пероксидаза або кисла фосфатаза – відсутня
- Температура під час випуску з підприємства, °С – 4+2

Ацидофілін може виготовлятися на основі тільки *Lactobacillus acidophilus*, але через те молочнокисла паличка схильна до утворення слизу до продукту додають інші види молочнокислих бактерій або стрептококи. Властивості:

- Нормалізує мікрофлору кишківника, витісняє патогенні бактерії.
- Підвищує імунітет.
- Зменшує алергічні реакції.
- Покращує травлення.
- Зменшує неприємний запах із ротової порожнини.
- Засвоюється у будь-якому віці.[5]

Сфери застосування. Даний продукт є універсальним, тому широко застосовуються, як в харчовій, так і у фармацевтичній промисловості. В останній входить до складу пробіотичних препаратів («Ацилакт», «Лінекс» , «Аципол» та ін.). На його основі виготовляють дієтичні продукти для підтримання нормальної мікрофлори та схуднення, також використовується для виготовлення ацидофільного молока (Рис.1.1, Рис.1.2), що активно використовується у дитячому харчуванні з перших днів

життя, оскільки молочно кисло-молочні бактерії супроводжують людину від самого початку її життя і є найбільш дружніми для людського організму. Ацидофільні молочні продукти поділяють на декілька груп:

- Кисломолочні напої:
 - Моновидні(один або декілька штамів *Lactobacillus acidophilus*)
 - Полівидні(*Lactobacillus acidophilus* в поєднанні з іншими заквасочними мікроорганізмами: лактококи, біфідобактерії, пропіоновокислі бактерії та інші види лактобацил)
- Сухі продукти (закваски прямого вживання)
- Інші молочні продукти:
 - Морозиво
 - Коктейлі
 - Сири



Рис. 1.1. Ацидофільний йогурт компанії Genesis.



Рис. 1.2. Ацидофільна закваска компанії VIVO.

За сучасного ритму життя, досить широкого використання набули прості сухі бактеріальні закваски, які не протрібно вносити в молоко і чекати поки пройде процес сквашування. Досить просто додати теплої кип'яченої

води, трохи взбовтати та вжити заквасочний продукт, але так само, ці самі закваски використовувати в приготуванні домашніх молочно-кислих продуктів. Так, наприклад, одне з державних підприємств у Києві – Інститут продовольчих ресурсів випускає свої закваски під торговою маркою «Іпровіт» (*Рис.1.3.*)



Рис.1.3. Бактеріальна закваска з ацидофільною паличкою виробництва Іпровіт.

Але найбільш відомим кисло-молочним продуктом, що виробляється на основі моновидної закваски до якої входить *Lactobacillus acidophilus* 317/402 є «Наріне» (*Рис.1.4.*, *Рис.1.5.*)



Рис.1.4. Суха закваска «Наріне» у пакетиках саше.



Рис.1.6. Суха закваска «Наріне» у флаконах.

Також, під назвою «Наріне» продається вже готова кисло-молочна продукція у вигляді йогуртів та інших кисломолочних продуктів.(Рис.1.6.)



Рис.1.6. Йогурт «Наріне» з додаванням смако-ароматичних добавок. Оскільки, вже готові кисло-молочні напої не є лікарськими засобами або БАД, то для її вживання не розроблено ніяких відповідних рекомендацій.

РОЗДІЛ 2. ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТА ХАРАКТЕРИСТИКА БІОЛОГІЧНОГО АГЕНТА.

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

Lactobacillus acidophilus - гомоферментативна лактобацила, що спеціалізується на проживанні в шлунково-кишковому і урогенітальному трактах ссавців і птахів. Вона супроводжує людину від народження і протягом усього його життя, надаючи цілий комплекс корисних послуг, головна з яких - активна участь в системі захисту організму господаря від шкідливої дії небажаних мікроорганізмів (запобігання зростанню патогенних бактерій і стримування на безпечному рівні популяцій умовно-патогенних мікробів).

Вибір ацидофільної палички обумовлений тим, що вона є одним з найбільш цінних представників порівняно невеликої групи мікроорганізмів, які отримали статус «дружніх людині», вона супроводжує людину від самого народження до самої смерті. З її допомогою отримують ацидофілін - кисломолочний продукт, який виготовляється шляхом сквашування пастеризованого коров'ячого молока, ацидофільна паличка, яка входить до складу закваски для ацидофіліну, володіє високою антагоністичною активністю по відношенню до широкого спектру патогенних і умовно-патогенних бактерій, включаючи стафілококи (у тому числі Золотистий стафілокок). Потрапивши в кишечник людини, ацидофільна паличка виділяє амінокислоти (низин, лізин, лакталін, нікозін), витісняє шкідливі мікроби і пригнічує процеси гниття. Наряду з ацидофіліном виробляють ацидофільне молоко, ацидофільне кисле молоко і ацидофільну пасту. Ацидофілін нормалізує травну діяльність шлунково-кишкового тракту, покращує обмінні процеси організму, сприяє відновленню природного імунітету. [6]

					НУХТ БТЕК 04.02.34 ДП ПЗ			
		№ докум.	Підпис					
		<i>Храпачевський В</i>			РОЗДІЛ 2. ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТА ХАРАКТЕРИСТИКА БІОЛОГІЧНОГО АГЕНТА	Літ.	Арк.	Акрушів
Керівник		<i>Буценко Л. М.</i>					14	2
Реценз.					Кафедра БТМ			
Н. Коитр.								
Затверд.		<i>Пирог Т.П.</i>						

Доцільність організації виробництва лікувально-дієтичних кисломолочних продуктів на основі закваски ацидофільних паличок необхідна в зв'язку з тим, що ацидофільні молочнокислі бактерії володіє високою антагоністичною активністю щодо патогенної та умовно-патогенної мікрофлори. Антагоністична активність ацидофільних молочнокислих паличок корелює з вираженою сануючою ефективністю проти різних форм кишкових захворювань. Особливий інтерес викликає продукування деякими штамами *L. acidophilus* специфічних антибіотичних речовин, званих Бактеріоцини. Бактеріоцини - речовини білкової природи (поліпептиди), зазвичай з вузьким спектром бактерицидної дії. При обробці протеазами вони втрачають активність, що дозволяє легко відрізнити їх від інших бактерицидних речовин. Розрізняють декілька груп бактеріоцинів, що утворюються молочнокислими бактеріями:

- лантибіотіки - модифіковані бактеріоцини, біосинтез яких кодується особливими плазмідами і відбувається в більшості випадків на рибосомах (I);
- термостабільні пептиди, які зазнали мінімальної модифікації, синтезовані на рибосомах (II);
- термолабільні пептиди великого розміру (III);
- складні бактеріоцини, що містять ліпідні або білкові компоненти (IV). [7]

Для складання порівняльної характеристики було обрано ще два штами бактерій: *Lactobacillus plantarum* та *Lactobacillus brevis*. Дані мікроорганізми були розглянуті для порівняння, оскільки також відносяться до роду *Lactobacillus* і широко використовуються для сворення пробіотичних препаратів та поживних харчових продуктів. А також схожі за своїми властивостями. *Lactobacillus plantarum* - володіє кислото утворюючою активністю, антагоністичною активністю щодо патогенних і умовно-патогенних мікроорганізмів. *Lactobacillus brevis* - володіє добре вираженою антагоністичною активністю по відношенню до патогенних мікроорганізмів, а саме стафілококів, клебсієл, хелікобактеру і грибів роду *Candida*. Має

достатню активність кислотоутворення (120°T), має стійкість до ряду антибіотиків: цефокситину, цефотетаном, тетрацикліну, метронідазолу, тейкопланіну, валкоміцину.

Для порівняння обраних біологічних агентів складено *таблицю 2.1*. За результатами таблиці можна виділити переваги обраного біологічного агента.

Особливості отримання біомаси *Lactobacillus acidophilus* ATCC-4356, *Lactobacillus plantarum* ST31 та *Lactobacillus brevis* BA-13

Таблиця 2.1

Продуцент	Поживне середовище (г / л):	Умови культивування	Кількість життєздатних клітин, КУО/мл	Література
<i>Lactobacillus acidophilus</i> -ATCC-4356	глюкоза – 6.9; дріжджовий екстракт – 38; MgSO ₄ *7H ₂ O- 0.6; MnSO ₄ *4H ₂ O- 0.03; Ацетат натрію- 1; FeSO ₄ *7H ₂ O-0.03; K ₂ HPO ₄ - 0.16; KH ₂ PO ₄ - 0.55;	T=37°C, t= 31 год., pH= 6.0-6.5	10 ⁹	<i>Pedram, N., Ataei, S.A.</i> Optimization of a Modified GS Medium for a Probiotic Strain (<i>L.acidophilus</i> ATCC4356) // APPLIED FOOD BIOTECHNOLOGY, 2014, 1(1): 25-29
<i>Lactobacillus Plantarum</i> ST31	Пептон- 10; Глюкоза - 20 дріжджовий екстракт – 20 мл; K ₂ HPO ₄ - 2; Твін 80 - 80; Ацетат натрію- 3; MgSO ₄ *7H ₂ O- 0.2; MnSO ₄ *4H ₂ O- 0.05;	T=37-38°C, t= 48год. pH= 6.8-7.0	10 ⁸	<i>Todorov S., Gotcheva B., Dousset X. Etc.</i> Influence of Growth Medium on Bacteriocin Production in <i>Lactobacillus Plantarum</i> ST31 // Biotechnology & Biotechnological Equipment, 14:1, 50-55, DOI: 10.1080/13102818.2000.10819062

Закінчення таблиці 2.1.

<p><i>Lactobacillus brevis</i> ВА-13</p>	<p>Дистильована вода – 1,0; пептон – 10,0; дріжджовий екстракт – 0,5; лактоза – 10,0; NaCl – 5,0; MgCl₂ – 5,0; L-цистеїн солянокислий – 1,0; твін-80 – 1,0 мл; агар-агар – 0,75;</p>	<p>T=37°C, t= 24год. рН= 6,3-7.0</p>	<p>10⁷</p>	<p>Пат. №2190015.Воробьев А.А., Зальцман А. С., Болотов В. Д. Штамм <i>lactobacillus brevis</i> ba-13, используемый для приготовления пробиотических препаратов и продуктов питания//Опуб. 15.10.2015</p>
--	---	--	-----------------------	---

З таблиці 2.1 можна зробити висновок, що *Lactobacillus acidophilus*- АТСС-4356 має найбільший показник концентрації клітин – 10⁹ КУО/мл. Найнижча концентрація біомаси спостерігається при культивуванні *Lactobacillus brevis* ВА-13 – 10⁷, але даний продуцент має перевагу у часі культивування (24 год проти 31 год у *L. acidophilus* АТСС-4356). Оскільки таке порівняння не можна вважати повним, порівняємо вартість поживних середовищ, які використовують дані біологічні агенти у процесі культивування.

Вартість складових поживного середовища

Таблиця 2.2

Прод уцент	Компонентпоживного середовища, г/л	Ці на компонен -та, грн/кг	Вартість компонента (грн) на 1 л середовища	Джерело інформації Ціна вказана станом на травень 2020року*
<i>Lacto bacillus acidophilus- ATCC-4356</i>	глюкоза – 6,9	40	0,276	https://prom.ua/ua/p183020259-glyukoza-dekstroza-pischevaya.html
	MgSO ₄ *7H ₂ O- 0.6;	27	0,67	https://kiev.flagma.ua/uk/glyuten-kukuruzny-ot-proizvoditelya-o5034594.html
	дріжджовий екстракт – 38	320	12,16	https://russian.alibaba.com/product-detail/Wellgreen-Yeast-Cell-Wall-Extract-Yeast-60824948335.html?spm=a2700.8699010.normalList.1.647d18ddj3p7xv&s=p
	MnSO ₄ *H ₂ O- 0.03;	15	0,00073	https://zakupka.com/p/71334867

				6-sulfat-marganca-marganec- sernokislyy/?e=1&i=glRQD7xj7VPQ3 GSzysg-kZKfc1HrNsucfVw_raPpJHc- e5SHu2t2_x- TVCA5uhsBHTT14vWQZFBtB3XIE HiKimQvtIiqbuDyC96QnRSJIV5QK- 45prdOfZOxDwBjjc_5MohNEYHZPn sU9HywQHgLalaF8L2POfZ7Icn7IZ- IHrjuiN60K9BMyAOV_CIWE_PfFQx aWcbeOl- ArK6Ej5LGA==&gclid=Cj0KCQjwnv 71BRCOARIsAIkxW9FoXtOI2CVxux H6kIQIcJwTKUdVICtTbUJ- SsblIJGn07Ax8Dv9ILEaAp1qEALw_ wcB
	Ацетат натрію- 1	41	0,041	https://snabhim.com.ua/uk- ua/acetat-natr-yu-bezvodnij- farm?gclid=Cj0KCQjwnv71BRCOARI

				sAlkxW9FD-BIRsxwxqK57mXg_3PodBjfJF-EJz3BLvnxa0t1K7ax2BnubzWQaAteSEALw_wcB
	FeSO ₄ *7H ₂ O-0.03;	7	0,00021	https://dnepropetrovsk.flagma.ua/uk/zhelezny-kuporos-o1098352.html
	K ₂ HPO ₄ - 0.16;	59,4	0,0095	https://prom.ua/ua/p616272109-kalij-fosfornokislyj-zameschennyj.html
	KH ₂ PO ₄ - 0.55;	120	0,066	https://prom.ua/ua/p151620028-kalij-fosfornokislyj-zameschennyj.html
Вартість 1 л середовища – 13,22 грн				
<i>Lacto bacillus Plantarum ST31</i>	Пептон- 10;	750	7,5	https://www.systopt.com.ua/pepton-fermentatyvnyj/
	дріжджовий екстракт – 20	320	6,4	https://russian.alibaba.com/product-detail/Wellgreen-Yeast-Cell-Wall-Extract-Yeast-60824948335.html?spm=a2700.8699010.normalList.1.647d18ddj3p7xv&s=p

Глюкоза-20	40	0,8	https://prom.ua/ua/p821623627-laktoza-pisch.html
Натрій ацетат -5,0;	41	0,2	https://snabhim.com.ua/uk-ua/acetat-natr-yu-bezvodnij-farm?gclid=Cj0KCQjwnv71BRCOARIsAlkxW9FD-BIRsxwxqK57mXg_3PodBjfJF-EJz3BLvnxa0t1K7ax2BnubzWQaAteSEALw_wcB
K_2HPO_4 - 2;	120	0,24	https://prom.ua/ua/p964040119-agar-agar.html
ТвіН 80 - 80;	160,5	12,8	https://russian.alibaba.com/product-detail/animal-feed-yeast-autolysate-60813595163.html?spm=a2700.8699010.normalList.7.6a7e37f8uXEHI1
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$ - 0.2	27	0,0054	https://labstatus.com.ua/p360229551-gidrolizat-kazeina-pankreaticheskij.html

	MnSO ₄ *4H ₂ O- 0.05;	15	0,00075	https://zakupka.com/p/71334867-6-sulfat-marganca-marganec-sernokislyy/?e=1&i=glRQD7xj7VPQ3GSzysg-kZKfc1HrNsucfVw_raPpJHce5SHu2t2_x-TVCA5uhsBHTT14vWQZFBtB3XIEHiKimQvtliqbuDyC96QnRSJIV5QK-45prdOfZOxDwBjjc_5MohNEYHZPnsU9HywQHgL
Вартість 1 л середовища –27,9грн				
<i>Lactobacillus brevis</i> BA-13	Пептон – 10,0;	1344	13,44	http://agar.com.ua/Peptone_fermentative
	Дистильована вода – 10мл;	6,9 грн/л	0,069	https://prom.ua/ua/p909751147-voda-distillirovannaya-rogatin.html
	Дріжджовий екстракт – 0,5;	320	0,16	https://russian.alibaba.com/product-detail/Wellgreen-Yeast-Cell-Wall-Extract-Yeast-60824948335.html?spm=a2700.869901

				0.normalList.1.647d18ddj3p7xv&s=p
Лактоза – 10,0;	34	0,034		https://prom.ua/ua/p8216236
NaCl, 2,0	3,5	0,004		https://prom.ua/ua/p270109670-natriya-hlorid-400.html
MgCl ₂ – 5,0;	13	0,065		https://kiev.flagma.ua/uk/magniy-hloristy-o5119455.html
L-цистеїн солянокислий – 1,0;	780	0,078		https://prom.ua/ua/p617661207-tsistein-gidrohlorid-100g.html
твін-80 – 1,0 мл;	108	0,1		http://soap4life.com.ua/catalog/polisorbate_80_tween_80
агар-агар – 0,75;	800	0,6		https://prom.ua/ua/p964040119-agar-agar.html
Вартість 1 л середовища – 14,54грн				

*Для зручності оцінки цінової політики у таблиці було наведено прями посилання на компоненти для поживних середовищ за найбільш вигідними цінами.

Отже, з даної таблиці можна зробити висновок щодо цін на компоненти поживних середовищ, в даному випадку велику роль грає склад компонентів поживного середовища, оскільки поживне середовище *Lactobacillus acidophilus*-

ATCC-4356 було розроблене та скомпоноване таким чином, що у ньому знаходяться лише найпотрібніші компоненти, які напряму мають вплив на ріст та кислотну активність даного штаму. Таким чином за показником ціни на компоненти даний штам є вигіднішим порівняно з конкурентами.

**Узагальнююча таблиця показників мікроорганізмів,
Lactobacillus acidophilus-ATCC 4356, *Lactobacillus Plantarum* ST31 та *Lactobacillus brevis* BA-13**

Таблиця 2.3

Біологічний агент	Вартість 1л середовища, грн	Кількість клітин в 1 мл	Тривалість культивування, год	Концентрація цільового продукту, синтезованого за годину, кл /год
<i>Lactobacillus acidophilus</i> -ATCC 4356	13,22	1×10^9	31	$322580645 = 3 \times 10^8$
<i>Lactobacillus Plantarum</i> ST31	27,9	1×10^8	48	$2083333 = 2 \times 10^6$
<i>Lactobacillus brevis</i> BA-13	14,5 4	1×10^7	24	$4166666 = 4 \times 10^6$

Узагальнивши усі дані в таблиці 2.3 можна зробити висновок, що *Lactobacillus acidophilus*- ATCC-4356 має найкращий показник ціни на поживне середовище та більшу кількість живих клітин ніж конкуренти, що робить його найвигіднішим продуцентом для виробництва заквасочної продукції, а показник часу інкубації в молоці дає можливість швидше отримати кисло-молочний продукт у подальшому виробництві.

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

Морфолого-культуральні ознаки. *Lactobacillus acidophilus* грамм позитивна паличка з закругленими кінцями, розміром зазвичай 0,6-0,9x1,5-6 мкм, розташовуються поодинці, парами або у вигляді коротких ланцюжків. Нерухомі. Джгутиків не утворюють. На відміну від *L. bulgaricus* і *L.lactis* не містять гранул метакроматину. Не утворюють спор.

Колонії зазвичай шорсткі (R-форма). Мікроскопічне дослідження зазвичай виявляє скручені або пухнасті волокнисті виступи з темної волокнистої масою в центрі колонії. Глибинні колонії мають неправильну форму з радіальними або розгалуженими виступами. Не мають характерного забарвлення (Рис.2.2.1).

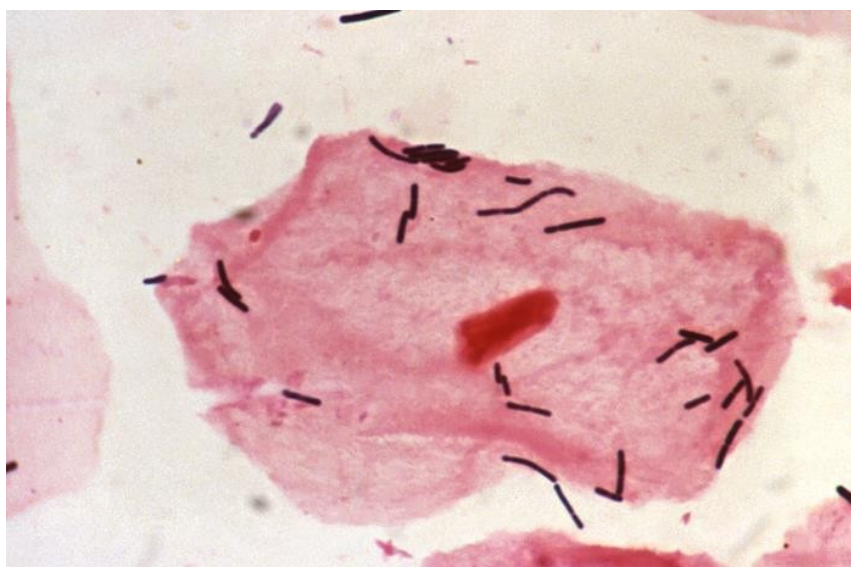


Рис.2.2.1. Бактерії *Lactobacillus* навколо вагінальних епітеліальних клітин.

Фізіолого-біохімічні ознаки. Ацидофільна паличка є факультативним анаеробом. Хемоорганогетеротроф. Не зростає при 15 °С, може не рости при 22 °С; зазвичай зростає при 45 °С і може рости при 48 °С; оптимум в межах

35-38 °C. Зростає при початкових значеннях рН від 5,0 до 7,0 з оптимумом в межах рН 5,5-6,0. Для росту потребують присутності ацетату або мевалонової кислоти, рибофлавіну, пантотената кальцію, ніацину і фолієвої кислоти. Не потребують добавках тіаміну, піридоксалу і тимідину. Зазвичай не потребують вітаміну В12 (Ціанкобаламін). Мутантні штами можуть потребувати дезоксирибозидів. Енергію отримує шляхом гомоферментативного бродіння з утворенням DL-молочної кислоти.

Пептидоглюкан клітинної стінки відноситься до типу L-лізин-D-аспарат; тейхоева кислота зазвичай відсутня; у деяких штамів виявляються невеликі кількості гліцерин-тейхоевої кислоти. Клітинні стінки не містять якихось помітних гексоз і пентоз. Штами проявляють серологічну різноманітність і не дають групових реакцій. Слід додати до наведеного опису, що дослідники відзначають високу стійкість штамів ацидофільної палички до лужної реакції середовища (зростання при рН 8,3), наявності в середовищі 0,4% фенолу, жовчі (20%) або кухонної солі (2%) і пов'язують цю особливість з її адаптацією до специфічної ніші природного місцеперебування. Ще одна властивість, характерна для ацидофільної палички - здатність пригнічувати ріст ряду представників патогенних, умовно-патогенних і технічно-шкідливих мікроорганізмів. Як відомо, в основі цієї властивості лежать механізми неспецифічного і специфічного антагонізму. Тут, однак, необхідно відзначити, що неспецифічний антагонізм проявляють не тільки штами *L.acidophilus*, але і багато інших груп і види молочнокислих бактерій, тоді як специфічний антагонізм, це скоріше штамова, ніж видова властивість ацидофільної палички.

Середя проживання. Природним місцем життя ацидофільної палички є травний і уrogenітальний тракти ссавців, включаючи людину, і птахів.

Таксономічний статус біологічного агента згідно з фенотиповою та філогенетичною систематиками. Фенотипова систематика - сукупність морфолого-культуральних та фізіолого-біохімічних ознак, які критеріями для згрупування мікроорганізмів у таксони різного рангу. Таксономія - найменування груп організмів (таксонів), встановлення їх меж

підпорядкування. Філогенетична систематика- область систематики, що займається ідентифікацією та проясненням еволюційних взаємин серед різних видів життя на землі.

Фенотипова систематика(Перше видання Бергі). Царство *Procaryotae* складається з 4х відділів: *Gracilicutes*(грамнегативні еубактерії, які мають клітинну стінку), *Firmicutes*(грампозитивні еубактерії, які мають клітинну стінку), *Tenericutes*(еубактерії, які не мають клітинної стінки), *Mendosicutes*(архебактерії).

L. acidophilus відноситься до відділу *Firmicutes* – грампозитивні еубактерії, які мають клітинну стінку, де входить до 19 частини-грампозитивні паличкоподібні бактерії, які не утворюють спор. Родина- *Lactobacillaceae*, рід- *Lactobacillus*, вид- *Lactobacillus acidophilus*.

Філогенетична систематика(Друге видання Бергі). За другим виданням Бергі філогенетична класифікація, згідно аналізу нуклеотидних послідовностей 16S рРНК, бактерії поділяються на 11 основних груп. Грампозитивні бактерії утворюють одну групу, яка складається з двох підгруп: клостридії(з низьким вмістом ГЦ у ДНК) та атикноміцети(з високим вмістом ГЦ у ДНК). *L. acidophilus* належить до групи клостридій. Домен-*Bacteria*, відділ- *Firmicutes*, клас-*Bacilli*, ряд-*Lactobacillales*, родина- *Lactobacillaceae*, рід-*Lactobacillus*, вид- *Lactobacillus acidophilus*.

Особливості метаболізму. Ферментує амігдалин, целлобіозу, фруктозу, галактозу, лактозу, мальтозу, саліцин, сахарозу і трегалозу. Деякі штами ферментують глікоген (зазвичай слабо). Деякі штами ферментують мелібіози і / або раффінозу.

РОЗДІЛЗ. ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБГРУНТУВАННЯ

Молочні продукти є невід’ємною частиною повноцінного харчування. Молочні продукти входять до складу багатьох страв, є джерелами білку та незамінних амінокислот. А молочно-кисла продукція виступає джерелом корисних бактерій, що допомагають нам зміцнити наш імунітет та відновити нашу мікрофлору після хвороби, а також підтримувати її повсякденно. Саме тому молочна індустрія займає одне з провідних місць у галузі сільсько-господарської промисловості та харчової індустрії.

Згідно даних Державної служби статистики в середньому враховуючи всі молочні господарства та ферми на території України за 2018 рік було вироблено близько 10 млн. тон молока різного гатунку (рис. 3.1). [8]

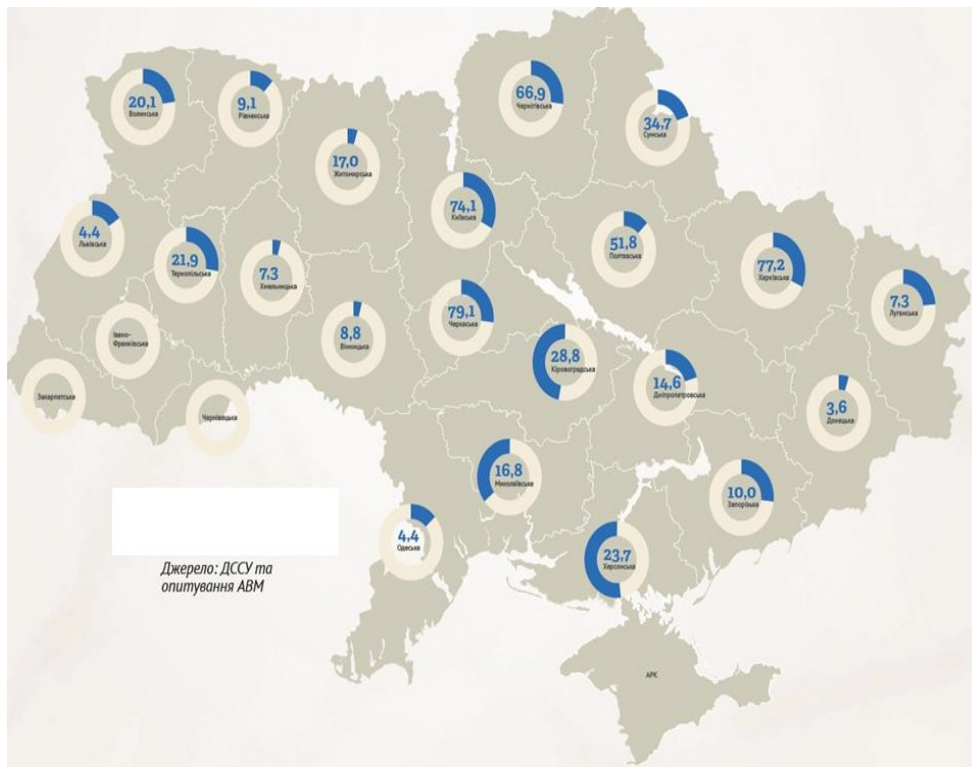
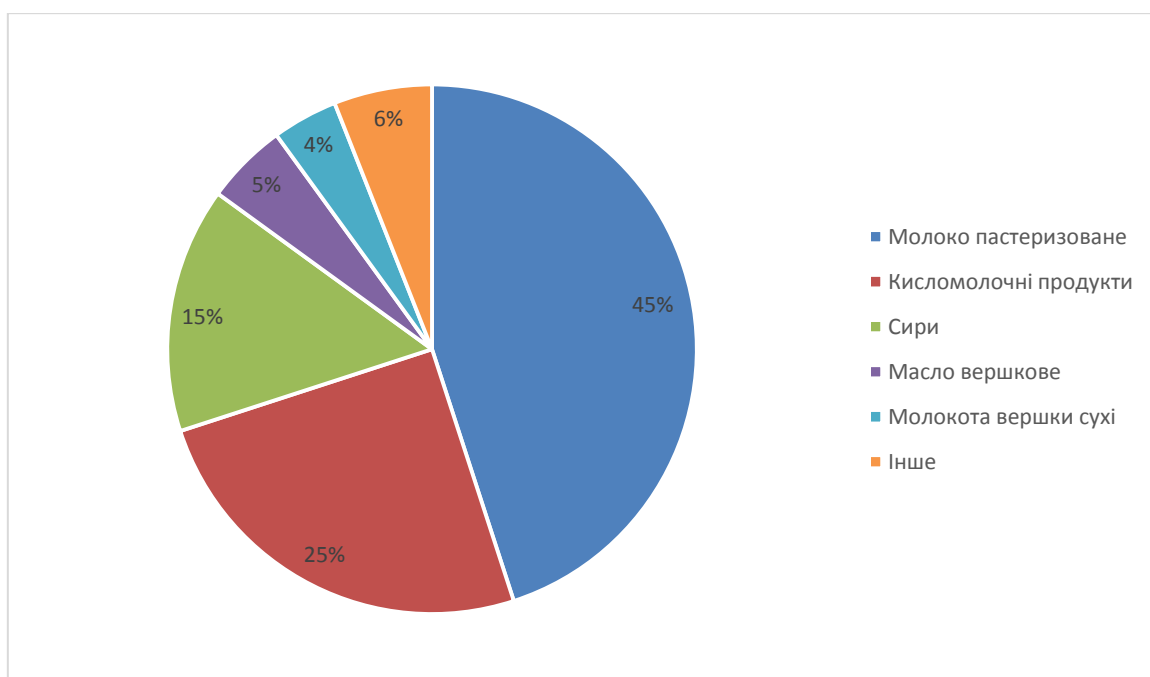


Рис. 3.1. Виробництво молока по областям, тис. тон.

				НУХТ БТЕК 04.02.34 ДП ПЗ			
	№ докум.	Підпис		РОЗДІЛЗ. ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБГРУНТУВАННЯ	Літ.	Арк.	Акрушів
	Храпачевський В					5	2
Керівник	Буценко Л. М.				Кафедра БТМ		
Реценз.							
Н. Коитр.							
Затверд.	Пирог Т.П.						

За даними журналу «Молоко і ферма», незважаючи на те, що в Україні виробляють таку величезну кількість молока, на жаль, на заводи потрапляє лише 42% від загальної кількості, оскільки більша частина цього продукту відходить на експорт. [9]

Отже для внутрішніх виробництв країни залишається близько 4.2 млн . тон. Після покупки молока заводом воно розподіляється згідно структури. За статистикою брендового агентства «Колого» молочні вироби за структурою розподіляються таким чином (Діаграма 3.2) [10]:



Діаграма 3.2. Структурний розподіл молочної продукції в Україні.

З вищезазначеної діаграми бачимо, що кисломолочні продукти займають друге місце за загальною кількістю виробленої молочної продукції, а отже й попит на відповідні закваски буде достатнім.

Тепер, коли ми бачимо попит на закваски, потрібно визначити, в якій кількості потрібна саме ацидофільна закваска. Розглядаючи ринок кисломолочної продукції РБК-Україна відзвітувало, що від сумарної долі кисломолочного ринку на кефір, простоквашу, сметану, ряжанку та аналогічних продуктів припадає близько 66.3% , на йогурт 16,3% , інші 16.4% розподіляються між іншими продуктами, що виробляються в меншій

кількості. На долю ацидофільної продукції припадає 2% від усього об'єму.
[11]

Хоча відсоток ацидофільної продукції виглядає дуже малим у відсотках від загальної кількості продукції, але кількість молока, що припадає на річну потребу ацидофіліну є величезним, тому для успішної роботи підприємства, що буде засновано на базі Інституту продовольчих ресурсів у м. Києві, що вже має базу для випуску сухих заквасок. Обрахуємо загальну підприємчу потребу в ацидофільній заквасці. Обрахуємо долю молочнокислої продукції 25% від 4200000 дорівнює 1050000тон з яких 2% тобто 21000 тон або 21000000кг. припадає на ацидофільні продукти. Вирахуємо потребу в самій заквасці: 21000000 кг молока переводимо в літри 204479907літрів. 1грам закваски використовують на 3 літри молока, отже $204479907/3=68159969$ грам або 6815,9кг.- загальна річна потреба в ацидофільній заквасці.

3.1. Розрахунок потужностей виробництва.

Слід враховувати, що ринок заквасочної продукції достатньо наповнений компаніями-конкурентами, як вітчизняного, так і закордонного виробника.

Закваски закордонного виробника:

- Danisco (Данія), постачає закваски для виробництва сирів, сиру, кисломолочних продуктів в широкому асортименті;
- Chr. Hansen (Данія), що включають широкий асортимент заквасок для промислової переробки молока, складені за унікальними рецептурами;
- SACCО (Італія), які застосовуються для промислового виробництва різноманітних сирів, сиру, йогурту, кефіру та багатьох інших видів кисломолочної продукції;
- MicroMilk (Італія), призначені для промислового виробництва сирів, сиру, кисломолочних продуктів;
- TecnoLatte (Італія), що використовуються в промисловому і домашньому виробництві різних сирів та ін.

- Genesis (Болгарія), застосовуються для промислового виробництва різноманітних сирів, сиру, йогурту, кефіру та багатьох інших видів кисломолочної продукції;

На частку брендів Danisco і Chr. Hansen, які поставляються не тільки з Данії, але і з виробництв, розташованих в Німеччині, Франції, Словенії, в 2018 р доводилося 60% всього імпорту заквасок в грошовому вираженні.

Вітчизняні виробники:

- VIVO (Україна), включають асортиментну лінійку малопорційних заквасок для йогуртів, кефіру, сиру і сметани.
- Іпровіт (Україна), закваски для промислового виробництва молочно-кислих продуктів типу: йогурт, кефір, сирів та ін. [12]

На жаль, закваски вітчизняного виробника, більше орієнтовані на домашнє використання.

Проаналізувавши ринок, можемо зробити висновок, що для успішного забезпечення молодого підприємства роботою на протязі всього року, буде достатньо забезпечувати 3% від потреби ринку. Тобто річна потреба, що буде забезпечуватись нашим підприємством складе 204,5 кілограми/рік.

3.2. Розрахунок об'єму ферментера та кількості виробничих циклів

1) Приймаємо кількість робочих днів на рік – 300.

Ефективний фонд робочого часу складає $N_{\text{еф}} = 300 * 24 = 7200$ год.

2) Розрахуємо цикл роботи ферментера:

$$T_{\text{цф}} = T_{\text{ф}} + T_{\text{др}} = 31 + 14 = 45 \text{ (год)}, \text{ де}$$

$T_{\text{ф}}$ – тривалість виробничої ферментації (біосинтезу); $T_{\text{др}}$ – тривалість допоміжних робіт (допоміжні роботи включають: миття та огляд (4 год), перевірка на герметичність (2 год), стерилізація (2 год), охолодження (1 год), завантаження середовища (2 год), засів (1 год), вивантаження культуральної рідини (1 год).

3) Вага біомаси за цикл:

$$G_{\text{цм}} = G_{\text{м}} * T_{\text{ц}} / T_{\text{р}} * 24 = 204,5 * 45 / 300 * 24 = 1,28 \text{ кг/цикл.}$$

4) Кількість циклів на рік становитиме:

$$n_{\text{ц}} = N_{\text{еф}} / T_{\text{цф}} = 7200 / 45 = 160 \text{ циклів/рік}$$

5) Розрахуємо об'єм культуральної рідини за цикл, але, оскільки ми не маємо заданої концентрації біомаси для цього розрахунку, приймаємо її рівною 4г/л (приблизна концентрація біомаси для молочно-кислих бактерій – 3...6 г/л)

$$V_{кр} = 1.1 * \frac{1,28 * 0,9}{4 * (1 - 0,2)} = 0,395 \text{ м}^3$$

Знаходимо найближчий до цього значення ферментер у додатку 4. $V = 0,63 \text{ м}^3$ з коефіцієнтом $K_{зп} = 0,6$. Оскільки для забезпечення гарного масобміну при культивуванні необхідно, щоб коефіцієнт заповнення був в межах 0,5-0,65 обираємо ферментер об'ємом 630л .

Коефіцієнт заповнення буде наступний:

$$K_3 = 0,395 / 630 = 0.62$$

3.3. Розрахунок кількості стадій підготовки посівного матеріалу

Для вирощування *L.acidophilis* використовують ферментер об'ємом $0,63 \text{ м}^3$ та $K_{зп} = 0,62$. Оскільки наш продуцент є анаеробом, то витрат через краплинонос не буде

Виробничий біосинтез здійснюють у ферментері з робочим об'ємом

$$V_{роб1} = 0,63 \text{ м}^3$$

Об'єм готового поживного середовища для виробничого ферментера:

$$V_{псф} = V_{ф} / (1 + X_{ф}) = 395 / (1 + 0,1) = 359 \text{ л.}$$

Витрати посівного матеріалу на засів виробничого ферментера:

$$V_{пмф} = V_{ф} - V_{псф} = 395 - 359 = 36 \text{ л.}$$

При вибраному коефіцієнті заповнення ферментера $K_{зф} = 0,6$ його приблизний геометричний об'єм ферментера складає:

$V_{гф} = V_{ф} / K_{зф} = 395 / 0,6 = 607,6$. Отже, найближчий за номінальним об'ємом ферментер $V_{нф} = 0,63 \text{ м}^3$.

$$K_3 = 395 / 630 = 0,62$$

Оскільки краплиноносу немає, ми не враховуємо втрати через колектор.

Кількість посівного матеріалу становитиме 10% від об'єму поживного середовища . Отже, кількість поживного середовища становитиме:

Кількість поживного середовища в посівному апараті становить:

$$V_{\text{пспа}} = V_{\text{па}} / (1 + X_{\text{па}}) = 36 / (1 + 0,1) = 32,72 \text{ л.}$$

Необхідна кількість посівного матеріалу для засівання посівного апарата:

$$V_{\text{пмпа}} = V_{\text{па}} - V_{\text{пспа}} = 36 - 32,72 = 3,28 \text{ л.}$$

При вибраному коефіцієнті заповнення посівного апарата $K_{\text{зпа}} = 0,6$ його приблизний геометричний об'єм складатиме:

$$V_{\text{гпа}} = V_{\text{па}} / K_{\text{зпа}} = 36 / 0,6 = 60 \text{ л}$$

Серед стандартних посівних апаратів найближчий за об'ємом – 60 л.

Уточнюємо коефіцієнт заповнення:

$$K_{\text{зпа}} = V_{\text{па}} - V_{\text{гпа}} = 36 / 60 = 0,6$$

Уточнений коефіцієнт відповідає вимогам $K_{\text{зп}} = 0,6$

Кількість поживного середовища в колбах становить:

$$V_{\text{пск}} = V_{\text{ін}} / (1 + X_{\text{ін}}) = 3,28 / (1 + 0,1) = 2,98 \text{ л.}$$

Необхідна кількість посівного матеріалу для засівання колб:

$$V_{\text{пмк}} = V_{\text{кол}} - V_{\text{пск}} = 3,28 - 2,98 = 0,3 \text{ л.}$$

Розрахуємо кількість колб $K_{\text{зп}} = 0,2 \quad 3,28 / 0,2 = 16,4 \text{ л.}$

$16,4 / 0,75 = 21,86$ тобто потрібно 22 колби.

РОЗДІЛ 4. БІОСИНТЕЗ ЦІЛЬОВОГО ПРОДУКТУ

4.1. Шляхи катаболізму ростового субстрату у біологічного агента

L. acidophilis ферментує амігдалин, целлобіозу, фруктозу, галактозу, лактозу, мальтозу, саліцин, сахарозу і трегалозу. Деякі штами ферментують

	глікоген (зазвичай слабо), а також, ферментують мелобіози і/або раффінозу.						
	№ докум. Молочнокислі бактерії використовують вуглеводи як джерело вуглецю						
Керівник	Храпачевський В. В. Буценко Л. М.	РОЗДІЛ 4. БІОСИНТЕЗ	Літ.	Арк.	Акрушів		
Реценз.		ЦІЛЬОВОГО ПРОДУКТУ			2		
Н. Коитр.					Кафедра БТМ		
Затверд.	Пирог Т.П.						

утворюює тільки одну молочну кислоту (вона становить не менше 90 % усіх продуктів бродіння).

Джерелом вуглецю та енергії (ростовим субстратом) у поживному середовищі для синтезу біомаси є глюкоза. [13]

Щоб детально розібрати схему катаболізму глюкози через гліколіз, скористаємося базою даних KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes), в базі даних станом на 07.05.2019 зареєстровано лише 4 представники бактерій роду *L. acidophilis* (*L. acidophilis* NCFM, *L. acidophilis* 30SC, *L. acidophilis* LA-14, *L. acidophilis* FSI4), тому для подальших досліджень обираємо мікроорганізм, який схожий за своїми метаболічними шляхами *L. acidophilis* 30SC [14].

Перший етап гліколізу починається з перетворенням глюкози за участю АТФ на глюкозо-6-фосфат, за допомогою ферменту *фосфоглюкомутази* [КФ : 5.4.2.2]. Далі глюкозо-6-фосфат під дією ферменту *глюкозо-6-фосфатізомераза* [КФ 5.3.1.9] перетворюється на фруктозо-6-фосфат. За участю 1 моля АТФ та ферменту *6-фосфофруктокінази* [КФ 2.7.1.11] фруктозо-6-фосфат окиснюється до фруктозо-1,6-фосфат .

Утворення діоксіацетонфосфату за участю ферменту *трифосфатізомерази* [КФ : 5.3.1.1] відбувається спряжено з утворенням гліцеральдегідом-3-фосфат з фруктозо-1,6-фосфат за допомогою ферменту *фруктозо-біфосфатальдолази* [КФ : 4.1.2.13]. Гліцеральдегід-3-фосфат окиснюється до 1,3-дифосфогліцерату з вивільненням 2 моля НАДН при участі ферменту – *гліцеральдегід-3-фосфатдегідрогенази* [КФ : 1.2.1.12].

Перетворення 1,3-дифосфогліцерату на 3-фосфогліцерат спряжено з фосфорилуванням АДФ і утворенням АТФ за допомогою ферменту

фосфогліцераткінази [КФ 2.7.2.3]. В цьому перетворенні АТФ утворюється в результаті фосфорилування на рівні субстрату.

Піруват утворюється при окисненні спочатку 2-фосфогліцерату за участі 8 – *2,3-біфосфогліцерат залежної фосфогліцератмутази* [КФ : 5.4.2.11] до фосфоенолпірувату. В свою чергу фосфоенолпіруват з утворенням 2 моля АТФ перетворюється на піруват за допомогою *піруваткінази* [КФ 2.7.1.40].

У присутності *L-лактатдегідрогенази* [КФ 1.1.1.27] піруват відновлюється до лактату. Лише невелика частина пірувату декарбоксилюється та перетворюється на оцтову кислоту, етанол і CO_2 , а також ацетоїн.

Ферменти:

- 1) Фосфоглюкомутаза [КФ : 5.4.2.2];
- 2) Глюкозо-6-фосфат ізомераза [КФ : 5.3.1.9];
- 3) 6-фосфофруктокіназа [КФ : 2.7.1.11];
- 4) Фруктозо-біфосфатальдолаза [КФ : 4.1.2.13];
- 5) Трифосфатізомераза [КФ : 5.3.1.1];
- 6) Гліцеральдегід-3-фосфатдегідрогеназа [КФ : 1.2.1.12];
- 7) Фосфогліцераткіназа [КФ : 2.7.2.3];
- 8) 2,3-біфосфогліцерат залежна фосфогліцератмутаза [КФ : 5.4.2.11];
- 9) Енолаза [КФ : 4.2.1.11];
- 10) Піруваткіназа [КФ : 2.7.1.40];
- 11) L-лактатдегідрогіназа [КФ 1.1.1.27]

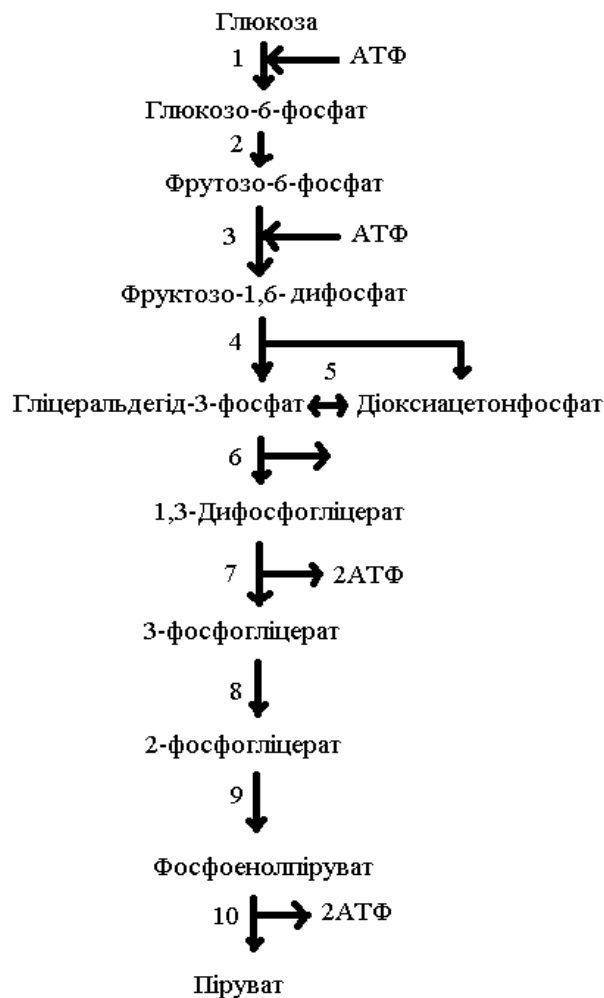


Рис.4.1 – Метаболізм вуглеводів *L. Acidophilus*

4.2 Біотрансформація ростового субстрату у цільовий продукт

Оскільки основним продуктом нашого виробництва є саме біомаса бактерій, то процес біосинтезу біомаси лактобактерій можна поділити на такі етапи: синтез білків; синтез полісахаридів; синтез ліпідів.

Синтез білків

Глюкоза за гліколітичним шляхом перетворюється на піруват, який за допомогою *піруватдегідрогенази* [КФ:2.3.1.12] утворює ацетил-КоА. Ацетил-КоА йде в цикл трикарбонових кислот та на синтез ліпідів. В ЦТК з ізоцитрату під дією *ізоцитратдегідрогенази* [КФ:2.3.3.1] утворюється 2-оксоглутарат, який є попередником чотирьох амінокислот: глутамату,

глутаміну, аргініну та проліну. Оксоглутарат під дією *2-оксоглутаратдегідрогенази* [КФ:2.3.1.61] перетворюється у сукциніл-КоА, який каталізується ферментом *сукциніл-КоА синтетази* [КФ:6.2.1.4 6.2.1.5] у сукцинат. З сукцинату під дією *сукцинат дегідратази* [КФ:1.3.5.1] отримуємо фумарат. Фумарат під дією *фумарат гідратази* [4.2.1.2] перетворюється на малат. Під дією *малатдегідрогенази* [КФ:1.1.5.4] з малату утворюється оксалоацетат, який є попередником таких амінокислот, як аспартат, лізин, метіонін, треонін та ізолейцин. Піруват є попередником амінокислот піруватної родини: аланіну, валіну, лейцину та серину.

Складнішим є синтез ароматичних амінокислот. Еритрозо-4-фосфат та фосфоенолпіруват конденсуються з утворенням C_7 – сполуки(7фосфо-2-дегідро-3-дезоксид-арабіногептонат), яка в подальшому циклізується за допомогою ферменту *3-дегідроквінат синтази* [КФ:4.2.3.4], таким чином отримуємо проміжний продукт хоризмат з якого через антранілат(за допомогою *антранілат синтетази* [КФ:4.1.3.27]) отримуємо триптофан. Фенілаланін синтезується через перфенову кислоту за допомогою *перфенатгідратази* [КФ:4.2.1.5], з фенілаланіну за допомогою циклізації та ферменту *фенілаланінгідроксилазою* [КФ:1.1.4.16.1] отримуємо тирозин . Попередником гістидину є 5-фосфорибозилпірофосфат, який утворюється з рибозо-5-фосфату, що надходить з пентозофосфатного циклу.

Синтез пуринів та піримідинів . Попередниками піримідинових нуклеотидів є карбамоїлфосфат та аспартат. Рибозо-5-фосфат, утворений у пентозофосфатному циклі, активується перетворенням у 5-фосфорибозил-1-пірофосфат за участю фермента *рибозо-фосфат пірофосфокіназа* [КФ: 2.7.6.1]. Реакція 5-фосфорибозил-1-пірофосфату з ортоатом під дією *оротат фосфорибозилтрансферази* [КФ: 2.4.2.10] дає оротидинмонофосфат, який далі декарбосилується в уридинмонофосфат .

Синтез пуринових нуклеотидів починається з 5 – фосфорибозил-1-пірофосфату, імідазольний нуклеотид утворюється у реакції що каталізується *амідофосфорибозилтрансферазою* [КФ: 2.4.2.14]. Три атоми піримідинового кільця, необхідні для утворення пуринового кільця з імідазольного

нуклеотиду, надходять із бікарбонату, аспартату та фомілтетрагідрофолієвої кислоти. Замикання кільця дає інозимонофосфат (пуриновий нуклеотид, ІМФ). Додаткові реакції приводять від ІМФ до АМФ або до ГМФ, з подальшим утворенням АТФ та ГТФ.

Синтез ліпідів

Попередником синтезу фосфоліпідів є діацил-3-фосфогліцерин, який утворюється внаслідок двох послідовних приєднань ацильної частини від ацил-АПБ до спиртової групи 3-фосфогліцерину. Діацил-3-фосфогліцерин активується за участю ЦТФ під дією *фосфатидцитиділтрансферази* з утворенням ЦДФ-діацилгліцерину, який за участі серину та *фосфатидилсеринсинтази* утворює фосфатидилсерин.

Попередником жирних кислот є ацетил-КоА. Першою реакцією у синтезі жирних кислот є утворення ацетил-АПБ з ацетил-КоА та АПБ. Далі під дією *3-кетואцил-АПБ-синтетази* ацетил-АПБ утворює ацетоацетил-АПБ, який за участі *3-кетואцил-АПБ-редуктази* перетворюється на β -гідроксибутирил. β -гідроксибутирил під дією *β -гідроксиацил-АПБ-дегідратази* утворює кротоніл-АПБ, який за участі НАДФН та *еноіл-АПБ-редуктази* перетворюється на бутирил-АПБ. Точкою розгалуження синтезу насичених та ненасичених жирних кислот є β -гідроксидеканоіл-АПБ (C_{10} -АПБ).

Синтез вуглеводів

Попередниками пептидоглікану, який входить до клітинної стінки лактобактерій, є УДФ-N-ацетилмурамова кислота та УДФ-N-ацетилглюкозамін, які синтезуються з глюкозамін-6-фосфату. Фосфатна група з положення 6 переноситься у положення 1 з утворенням глюкозамін-1-фосфату, який далі за участі ацетил-КоА та *ацетилтрансферази*, дає N-ацетилглюкозамін-1-фосфат, який зв'язується з УДФ. На останньому етапі УДФ-N-ацетилглюкозамін реагує з ФЕП з утворенням УДФ-N-ацетилмурамової кислоти.

Ферменти:

- 1) Фосфоглюкомутаза [КФ : 5.4.2.2];

- 2) Глюкозо-6-фосфат ізомераза [КФ : 5.3.1.9];
- 3) 6-фосфофруктокіназа [КФ : 2.7.1.11];
- 4) Фруктозо-біфосфатальдолаза [КФ : 4.1.2.13];
- 5) Трифосфатізомераза [КФ : 5.3.1.1];
- 6) Гліцеральдегід-3-фосфатдегідрогеназа [КФ : 1.2.1.12];
- 7) Фосфогліцераткіназа [КФ : 2.7.2.3];
- 8) 2,3-біфосфогліцерат залежна фосфогліцератмутаза [КФ : 5.4.2.11];
- 9) Енолаза [КФ : 4.2.1.11];
- 10) Піруваткіназа [КФ : 2.7.1.40];
- 11) L-лактатдегідрогіназа [КФ 1.1.1.27]

ЦТК:

- 12) піруватдегідрогеназа [КФ:2.3.1.12]
- 13) ізоцитратдегідрогеназа [КФ:2.3.3.1]
- 14) 2-оксоглутаратдегідрогенази [КФ:2.3.1.61]
- 15) сукциніл- КоА синтетази [КФ:6.2.1.4]
- 16) сукцинат дегідратази [КФ:1.3.5.4]
- 17) фумарат гідратази [4.2.1.2]
- 18) малатдегідрогенази [КФ:1.1.5.4]

Синтез феніл аланіну:

- 19) 3-дезоксид-7-фосфогептулат синтетаза [КФ:2.5.1.54]
- 20) 3-дегідроквінат синтази [КФ:4.2.3.4]
- 21) антранілат синтетази [КФ:4.1.3.27]
- 22) перфенатгідратази [КФ:4.2.1.5]
- 23) фенілаланінгідроксилазою [КФ:1.14.16.1]
- 24) перфенат дегідрогеназа [КФ:1.3.1.12]
- 25) тирозин аміотрансфераза [КФ:2.6.1.5]

Синтез пептидоглікану:

- 26) фосфоглюкозамін мутаза [КФ: 5.4.2.10]
- 27) N-ацетилтрансфераза [КФ: 2.7.7.23 2.3.1.157]
- 28) УДФ-N-ацетилгалактозамін дифосфорилаза [КФ: 2.7.7.23]

29) УДФ-N-ацетилглюкозамін 1-карбоксивинілтрансфераза [КФ:
2.5.1.7]

30) УДФ-N-ацетилмурамат дегідрогенази [КФ: 1.3.1.98]

31) УДФ-N-ацетилмурамат – аланін лігаза [КФ: 6.3.2.8]

32) УДФ-N-ацетилмурамілаланін-D- глутамат лігаза [КФ: 6.3.2.9]

Синтез піримідинів:

33) дигідрооратат дегідрогеназа (фумарат) [КФ: 1.3.98.1]

34) оротат фосфорибозилтрансфераза [КФ: 2.4.2.10]

35) оротидин-5'-фосфат- декарбоксилаза [КФ: 4.1.1.23]

36) уридилат кіназа [КФ: 2.7.4.22]

37) апіраза [КФ: 3.6.1.5]

38) ЦТФ синтаза [КФ: 6.3.4.2]

39) ЦТФ кіназа [КФ: 2.7.4.25]

Синтез пуринів:

40) рибозо-фосфат пірофосфокіназа [КФ: 2.7.6.1]

41) амідифосфорибозилтрансфераза [КФ: 2.4.2.14]

42) ІМП- циклогідролаза [КФ: 2.1.2.3 3.5.4.10]

43) аденілосукцина синтаза [КФ: 6.3.4.4]

44) аденілосукцинат ліази [КФ: 4.3.2.2]

45) аденілаткіназа [КФ: 2.7.4.3]

46) піруваткіназа [КФ: 2.7.1.40]

47) ГМФ редуктаза [КФ: 1.7.1.7]

48) гуанілат кінази [ЄС: 2.7.4.8]

49) піруваткіназа [КФ: 2.7.1.40]

РОЗДІЛ 5. ОБГРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ

5.1. Обґрунтування способу культивування

Культивування *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 здійснюється глибинним способом в ферментерах. Таким чином забезпечуються анаеробні умови, так як *L. acidophilus* ATCC 4356 є анаеробом. Також глибинне культивування має ряд переваг перед поверхневим і дозволяє:

- значно зменшити виробничі площі;
- повністю автоматизувати і механізувати процес;
- покращити санітарно-гігієнічні умови праці;

L. acidophilus ATCC 4356 – анаеробний штам, тому для його культивування аерація не потрібна.

Вирощування культури здійснюється періодичним способом, для забезпечення максимального виходу біомаси, за рахунок рівномірного розподілення клітин в середовищі. Також перевагою періодичного культивування є зручність регулювання рН середовища.

Оптимізована температура для культивування *L. acidophilus* ATCC 4356 - 37°C, а оптимальне значення рН близьке до нейтрального (рН 6-6,5), тож є ризик контамінації сторонніми мікроорганізмами. Тому для запобігання цього потрібно провести стерилізацією обладнання і комунікацій, поживного середовища. [14].

Отже, процес вирощування даного продуцента здійснюється за періодичного глибинного культивування в анаеробних та стерильних умовах.

5.1.1 Обґрунтування вибору миючих засобів

Щоб обрати дезинфікувальний чи миючий засіб, необхідно врахувати

					НУХТ БТЕК 04.02.34 ДП ПЗ			
		№ докум.	Підпис					
		<i>Храпачевський В</i>			РОЗДІЛ 5. ОБГРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГ. СХЕМИ	Літ.	Арк.	Акрюшів
<i>Керівник</i>		<i>Буценко Л. М.</i>					37	2
<i>Реценз.</i>						Кафедра БТМ		
<i>Н. Коитр.</i>								
<i>Затверд.</i>		<i>Пирог Т.П.</i>						

його вартість та витрати на оброблення потрібної площі виробничого приміщення. Середня витрати миючого чи дез. засобу становить 100 мл на 1 м²(згідно з методичними рекомендаціями МОЗУ).Для порівняння миючих та дез. засобів наводимо *таблицю 5.1.1.*

Таблиця 5.1.1.

Узагальнена характеристика деяких миючих та дезинфікувальних засобів, що можуть використовуватися у виробництві біомаси *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356

Назва*	Об`єкт миття чи дезінфекції	Концентрація робочого розчину %	Загальна площа чи об`єм миття за весь період виробництва м ² , (л)	Кількість робочого розчину за весь період виробництва , л	Вартість 1 л, чи кг засобу, грн	Загальна вартість миття за період виробництва протягом року, грн
Хлоратоїн	Стіни , підлога, вікна, двері, інвентар , тара	0,2	365,93	11709,8	240	2810352
Каустична сода	Обладнання, інвентар, комунікації	2,0	166500 л	166500 л	30	4995000
Хлорне вапно	Стіни, підлога, двері, вікна, комунікації	2,0	365,93	11709,8	22	257615,6

Кальцино ана сода	Обладнан ня, інвентар, комунікац ії	2,0	166500 л	166500 л	28,8	4795200
Біомой	Обладнан ня комунікац ії, інвентар, тара	0,3	166500 л	166500 л	102	16983000
Екохім 17	Обладнан ня, комунікац ії	3,0	166500 л	166500 л	26	4329000

Проаналізувавши дані наведені у *табл 5.1.1* , можна зробити наступні висновки:

- Для миття та дезінфекції обладнання, комунікацій, інвентарю, тари доцільно використовувати засіб «Біомой»
- Для миття та стін, підлоги, вікон, дверей є доцільним миття розчином засобу Хлоратоїн, оскільки він безпечніший для людини ніж хлорне вапно і до того ж при біотехнологічних процесах з виробництва пробіотичних препаратів не висувається жорстких умов щодо забезпечення стерильної чистоти та використання дуже активних дезинфіктантів, що можуть бути шкідливими для людини, До того ж оскільки об'єкт культивування і не несе небезпеки оскільки не є патогенним.

Засіб «Біомой» через 1-2 місяці слід замінити на інший наприклад на лізоформін чи подібний по застосуванню засіб. Аби уникнути утворення дез-резистентних мікроорганізмів, проте упродовж першої річної ферментації можна не змінювати засіб протягом 30 днів. [15]

5.2. Обґрунтування стадій виділення і очистки цільового продукту

Ацидофілін - це кисломолочний продукт, який виробляється з використанням таких заквасочних мікроорганізмів, як ацидофільна молочнокисла паличка, лактококи і приготована на кефірних грибках закваска. Причому, всі заквасочні мікроорганізми використовуються в рівних кількостях. І саме сукупність усіх цих мікроорганізмів, а так само їх рівне ставлення, обумовлює корисність цього продукту. Він являє собою однорідну, в міру в'язку рідину молочно-білого кольору. Іноді в продукті може спостерігатися газоутворення, у вигляді окремих вічок.

Отже, основою майбутнього продукту буде сама бактеріальна культура, то ж після ферментації її потрібно правильно обробити:

- Перш за все культуральну рідину потрібно охолодити для того, щоб не дати клітинам бактерій перейти до фази відмирання.
- Після охолодження культуральну рідину потрібно відділити та очистити від залишків поживного середовища та культуральної рідини.
- Наступним етапом слугує підготовка бактеріальної маси до висушування, тобто додавання її до захисного середовища.
- Одним з найважливіших процесів в отриманні сухих заквасок є сама сушка, оскільки саме від неї залежить відсоток живих клітин, правильно підібраний режим допоможе зберегти активність культури та її життєздатність
- Завершальним процесом є подрібнення сушеної маси в порошкоподібну, це потрібно для більшої точності фасування та дозування сухої бактеріальної маси у тару.
- Коли процес отримання сухої порошкоподібної маси буде завершено, потрібно обрати упаковку, від якої буде залежити насамперед надійність збереження продукту, зручність у використанні,

безпеку транспортування та, звісно, економічність випуску в обраній тарі.

5.2.1.Зберігання культуральної рідини

Після ферментації культуральна рідина перекачується до збірника, де охолоджується до 25°C, за такої температури життєві процеси в клітині сповільнюються, це дозволяє запобігти переходу клітин до фази відмирання, до моменту залучення їх до подальшого процесу виробництва.

5.2.3.Обґрунтування форми випуску

Заквасками називають чисті культури або суміші культур мікроорганізмів, що використовують при виготовленні кисломолочних продуктів, кисловершкового масла і сирів. Склад мікрофлори підбирають таким чином, щоб забезпечити для кожного виду продукту властивий йому запах, смак, консистенцію. Бактеріальні закваски виготовляють згідно **ГОСТ 34372-2017 Закваски бактеріальні для виробництва молочної продукції**.

Види заквашувальних препаратів. У молочній промисловості застосовують в основному рідкі закваски та закваски, висушені сублімаційно, а також сухі, рідкі і глибоко заморожені бактеріальні концентрати, бактеріальні препарати. Термін зберігання сухих заквасок, бактеріальних препаратів і концентратів складає 3–4 місяці, рідких заквасок – 10 діб (в умовах холодильника).

- Рідкі закваски готують на стерильному молоці. Фасують рідкі закваски у флакони по 20, 50 і 100 см³. Перевагою таких заквасок є висока активність мікрофлори, бактеріальна чистота, недоліком – незначний термін зберігання (до 3 тижнів при 4–6 °С і до 5 діб за кімнатної температури). Використовують такі закваски на молочних підприємствах, розташованих недалеко від лабораторій з виробництва бактеріальних препаратів. Концентрація живих клітин у рідких заквасках становить 10⁷–10⁸ клітин в 1 см³.
- Сухі закваски – зневоднені рідкі закваски в захисному середовищі. Рідку закваску в кількості 30 % вносять у захисне середовище – водний розчин, що містить: сахарозу (10 %), цитрат натрію (5 %), глутамат

натрію (2,5 %) і желатозу (5%). Суміш перемішують, фасують у флакони по 1 см³ (одна порція), заморожують і висушують шляхом сублімаційного сушіння. Суху закваску можна зберігати не більше 8 місяців за температури 3–8 °С. Кількість молочнокислих бактерій в 1 г сухої закваски становить 10⁷ –10⁸ клітин. Допускається наявність сторонніх мікроорганізмів (не більше 1–2 клітин в 1 г закваски). Наявність БГКП в 1 г сухої закваски недопустимо. До недоліків сухих заквасок відносяться зниження активності молочнокислих бактерій і можливість потрапляння сторонньої мікрофлори.

- Сухі і рідкі бактеріальні концентрати готують шляхом культивування чистих культур молочнокислих бактерій на спеціальних рідких поживних середовищах з наступним відділенням клітин від культуральної рідини. Далі отриманий концентрат вносять у захисне середовище, охолоджують, розливають по пеніцилінових флаконах і для отримання сухих концентратів проводять видалення вологи способом сублімаційного висушування. В якості поживних середовищ використовують молочну сироватку з додаванням кукурудзяного екстракту (або амінокисотно–мінерально–вітамінного комплексу), буферних солей (цитрату або ацетату натрію) і стимуляторів росту (сульфату марганцю, аскорбінової кислоти та ін.) Концентрація клітин молочнокислих бактерій в рідких концентратах не менше 1,5•10¹¹ в 1 см³, у сухих – не менше 1,5–3,0•10¹¹ в 1 г. Термін зберігання сухих концентратів – не більше 8 місяців за температури 3–8 °С, рідких – до 2 місяців при тій же температурі. Деякі сухі закваски готують з бактеріальної маси (бактеріального концентрату) в захисному середовищі. Такі сухі закваски за складом мікрофлори ідентичні сухому бактеріальному концентрату і відрізняються від нього лише за кількістю клітин бактерій – містять приблизно в 100 разів менше бактеріальних клітин, ніж бактеріальний концентрат (за причини великого розведення бактеріальної маси захисним середовищем). [17]

За проведеним порівнянням, можемо бачити, що рідкі закваски хоч і мають високу активність, але в той же час не можуть довго зберігатися та транспортуватися на великі відстані, а отже, значно знижує вигоду від її виготовлення. Концентрати є досить перспективними видом готових заквасок але, їх виготовлення є складнішим, оскільки концентрація клітин повинна бути значно вищою. Оптимальним варіантом суха форма заквасок, вона дозволяє зберігати готову продукцію більший проміжок часу, дозволяє транспортувати продукцію на великі відстані, а також не потребує такої великої концентрації клітин.

5.2.3.Відділення клітинної маси

Для відокремлення біомаси на сьогоднішній день застосовуються такі методи:

- центрифугування;
- фільтрація;
- флотація;
- сепарація.

Нашим продуктом є клітини, а значить нашим основним завданням є збереження життєздатності.

* **Фільтрація.** Всі вживані в даний час види фільтрів, барабанні, дискові, стрічкові, тарілчасті, карусельні вакуум-фільтри, фільтр-преси різних конструкцій, мембранні фільтри використовують один і той же принцип – затримання біомаси на пористій фільтруючій перегородці. Діаметр пор може перевищувати розміри клітин, що практично не знижує ефективність фільтрації. Навіть якщо перша невелика порція біомаси проскакує через фільтр, в подальшому по мірі проходження рідини діаметр капілярних каналів звужується через прилипання частинок до стінок, утворюються скупчення клітин у фільтруючій поверхні, що перешкоджають проходженню нових порцій біомаси через фільтр. У міру потовщення шару біомаси на фільтрі швидкість потоку рідини через нього падає.

* **Флотація** – виділення з рідких середовищ твердих часток або часток іншої рідини за допомогою продування крізь неї газу. Флотація заснована на прилипанні часток, які треба виділити до пухирців газу. Її основним недоліком є досить високий відсоток втрат біомаси, що в нашому процесі має найбільший пріоритет, а також цей процес потребує більше часу.

* **Центрифугування** – метод, що використовує відцентрову силу для розділення фаз. Розділення проходить через фільтрувальний елемент або металеву сітку. Але центрифугування має меншу ефективність порівняно з останнім методом – сепарацією, а саме великі енергозатрати. Ще одним негативним фактором є те, що ефективність розділення та якість виконання процесу залежить від діаметру барабану та потужності ротора.

* **Сепарація** – процес відділення твердої фази від рідкої, оснований на відділенні часточок з різними характеристиками. Рушійною силою процесу являється відцентрова сила.

На відміну від інших центрифуг в сепараторові є пакет конічних тарілок, закріплених на валу ротора. Суспензія, що розділяється, через розподільну трубу і внутрішню порожнину тарілотримача подається до нижньої (периферичною) частини міжтарільчатого простору барабана. При цьому важчі частинки твердої фази відкидаються до нижніх поверхонь тарілок, сповзають вниз і накопичуються на стінці барабана у вигляді твердого осаду або суспензії, що згущує. Освітлена рідка фаза відводиться з верхньої частини барабана.

Сепаратори використовують для розділення, концентрування, очищення, прояснювання, для поетапної обробки рідини, наприклад, послідовного відділення грубодисперсного осаду з тонкодисперсних суспензій, для виконання двох або більше операцій по переробці рідких сумішей.

Для сепарації клітин від залишків поживного середовища та більшої чистоти культуральної рідини будемо використовувати сепаратор-очищувач. По технологічному призначенню сепаратори поділяються на 4

групи: ***сепаратори-роздільники** - для розділення суміші взаємно нерозчинних рідин;

***сепаратори-згущувачі** - для концентрування або згущення суспензій і емульсій (наприклад, відділення кашалотовою жиру, застосовуваного для піногасіння, від культуральної рідини);

***сепаратори-прояснювачі** - для виділення твердих суспензій з рідини (наприклад, відділення ферментів після висалювання, осадження розчинниками й т.д.);

***комбіновані сепаратори** (одне- або багатосекційні) - для одночасного або послідовного виконання двох або більше операцій переробки рідкої суміші.

Нині найбільше застосування у мікробіологічній промисловості одержали сепаратори-прояснювачі, оскільки, наприклад, при глибинному методі культивування, коли для піногасіння використовують різні жири, необхідно відділяти отриману КР від жиру перед подальшою її обробкою, тому що часточки жиру будуть перешкоджати нормальному технологічному процесу, особливо при концентруванні, осіданні та розпиленні. При виборі сепаратора-прояснювача можуть бути використані два типи сепараторів залежно від типу барабана:

***сепаратори тарілчасті** - для розділення суспензій з невеликою різницею у відносній густині поділюваних фаз (при цьому можна виділяти частки розміром від 0,01 мкм); Тарілчаста сепарація послугувала створенню спеціалізованого апарату, що має назву культофуга, запропонована на ринку компанією «Alfa laval» Culturefuge - це спеціально розроблена серія сепараторів для щадної обробки клітинних культур та іншого біологічного матеріалу, чутливого до зсуву. Унікальна порожниста шпindelна концепція забезпечує легке прискорення подачі рідини до швидкості обертання сепаратора, тим самим мінімізуючи лізис клітин. Це запобігає викиду небажаних внутрішньоклітинних білків або мінімізує руйнування крихких білкових осадів. Таким чином, врожайність збільшується, а операції вниз за течією оптимізуються. Дана концепція дозволяє проводити скидання

відділеної бактеріальної маси на повному ході, тобто це значно пришвидшує виробництво та оптимізує процес, що робить його швидшим та продуктивнішим ніж за використання центрифуги .

***сепаратори багатоканерні з циліндричними вставками** - для розділення суспензій зі значною різницею у відносній густині фаз. [18,19]

Оскільки ми маємо справу з культуральною рідиною, в якій міститься величезна кількість дрібних часток та бактеріальних клітин, робимо висновок, що нам підходить саме сепаратор-культуфуга.

5.2.4.Метод сушіння бактеріальної маси

Тепер, коли ми визначилися з формою випуску(суха), слід обрати та визначитися з методом сушіння бактеральної культури. Видалення вологи з напівпродуктів мікробного синтезу є однією з кінцевих операцій у виробництві. Сушка є вельми енергоємний, складний, взаємообумовлений комплекс хімічних, теплових і дифузійних процесів.

Основним методом сушіння продуктів мікробіологічного синтезу є теплове при атмосферному тиску, під вакуумом або під глибоким вакуумом при температурах в інтервалі від -30 до +60°C. Можливе сушіння в електромагнітному полі, але внаслідок високої вартості установок для діелектричного нагрівання для зневоднювання продуктів мікробіологічного синтезу майже не використовують.

Сушарки, що застосовуються в мікробіологічній промисловості, можна характеризувати за способом подачі продукту і теплоносія в сушильні камери, а також по гідродинамічним умовами їх роботи. Сьогодні для сушіння вказаних продуктів найбільш широко використовують сушарки, принцип дії яких ґрунтується на **конвективному** методі підведення тепла (пневматичні, аерофонтанні, з киплячим шаром, розпилювальні). Передача тепла здійснюється за допомогою гарячого повітря, інертних, топкових газів. Рушійною силою процесу є різниця температур сушильного агента і поверхні матеріалу. Найкращими серед конвективних апаратів треба вважати такі, які дозволяють проводити сушіння протягом декількох секунд.

При *контактній сушці* матеріал нагрівається в результаті безпосереднього зіткнення з гарячими поверхнями (плитами, вальцями і т. п.). На цьому принципі засновані шафові і вальцові сушарки. Проте вони малоприсадибні для сушки термолабільних препаратів і мають ряд недоліків.

Вальцові сушарки найбільш часто використовуються для сушки кормових дріжджів з вмістом сухих речовин до 20-25%. Процес сушіння проводиться при суворому контролі температурного режиму, щоб уникнути денатурації білків. На вальцових сушарках межа температури теплоносія становить 70-80 ° С. У барабан, який закритий з торців кришками, подається пар. У торців барабанів зверху встановлюються клини, що утворюють між барабанами ванну, в яку безперервно надходить концентрат біомаси. При обертанні барабана клітинна біомаса змочує їх поверхню тонким шаром, який висушується до вологості 8-10%. Така сушарка є досить дешевою у використанні, але оскільки за стандартом вологість повинна не перевищувати 6%, а також наш продуцент є досить чутливим та вибагливим до температурних режимів, вона має істотні недоліки.

Розпилюючі сушарки. Спосіб сушіння розпиленням має низку переваг у порівнянні з іншими методами сушіння. Процес сушки протікає надзвичайно швидко (15-30 с), частки в зоні підвищеної температури мають насичену поверхню, температура якої близька до температури адиабатного випаровування чистої рідини. Завдяки миттєвій сушці і невисокій температурі розпорошених частинок матеріалу висушений продукт виходить хорошої якості. Наприклад, не відбувається денатурації білків, окислення, втрат вітамінів і т.д. Цей метод часто застосовується для сушіння харчових продуктів, органічних солей і барвників, біологічних і фармацевтичних препаратів та інших термочутливих матеріалів. Метод сушки розпиленням має і недоліки: великі питомі габарити сушильної установки при сушінні з початковою температурою повітря (100-150) ° С; порівняно дороге і складне обладнання для розпилення і виділення висушеного продукту з

відпрацьованих газів. А також, потребує підготовки стерильного повітря, оскільки розпилення проводять тиском повітря.

Вакуумна сушка за низьких температур. Зазвичай пробіотичні бактеріальні культури і закваски попередньо заморожуються для запобігання їх псування і подальшого використання. Другий етап отримання культури - ліофілізація, тобто висушування у вакуумі замороженої бактеріальної маси. На практиці подібний метод має два значні недоліки. По-перше, ліофілізація вимагає значних енерговитрат на сам процес, і, по-друге, деякі бактерії малостійкі при температурах нижче 0 ° С. Доктор Петра Ферст і професор кафедри інжинірингу харчових виробництв та технології виробництва молочних продуктів Технічного університету Мюнхена Ульріх Кулозік розробили методику вакуумної сушки при температурах вище 0 ° С (Low Temperature Vacuum Drying, LVTD) стосовно до виробничих процесів в харчовій промисловості. Завдяки висушування культур в вакуумі при температурах вище 0 ° С більшість бактерій зберігають життєздатність без змін у своїй клітинній структурі. Команда вчених з Фрайзінг (Німеччина) в журналі *Journal of Biotechnology* опублікувала результати роботи з трьома бактеріальними лініями. Оптимальні умови висушування залежать від конкретної культури бактерії, наприклад вихід *Lactobacillus bulgaricus* після вакуумного висушування при позитивних температурах в 10 разів перевищує аналогічний показник після стандартної ліофілізації. У дослідженні встановлено, що інші бактерії поведуться в тих же умовах інакше, що підтверджується визначенням відмінностей в жирно-кислотному складі мембран досліджуваних бактерій. Але даний метод було протестовано лише в умовах лабораторії, тобто він ще не був застосований у промислових масштабах, також під час випробувань виникали проблеми у процесі бродіння, оскільки зміна рН впливає на виживаємість кліти.

Сублімаційні сушки. Сублімація (ліофілізація) - це перехід твердої речовини при нагріванні в газоподібний стан, минаючи стадію рідини. Сублімації сушіння найбільш придатна для живих мікроорганізмів, деяких видів ферментів і інших термолабільних продуктів. В цьому випадку

найменше інактивуються ферменти, добре зберігається життєздатність клітин. Переваги даної сушки: вологи видаляється при низьких температурах, що практично виключає термоінактивації продукту; зберігається стабільна структура матеріалу (не відбувається руйнування або конгломерації частинок); практично виключається видалення летючих компонентів, що висушується, порушення його хімічного складу; полегшується можливість отримання сухого продукту в фасованому і стерильному вигляді.

Успіх ліофілізації залежить від якості використовуваних клітин, від того, наскільки вони життєздатні і в яких умовах вирости. Вирощують досить велику кількість клітин так, щоб в суспензії містилося не менше 10⁸ клітин / мл. Їх збирають в період максимальної стабільності і життєздатності культури, тобто в пізньої експоненційної або ранньої стаціонарної фазах росту. Вживання ліофілізованих клітин залежить від специфічних особливостей виду і штаму, стадії росту і концентрації клітин, складу захисних середовищ, режиму ліофілізації, умов реактивації. Після ліофілізації для виведення клітин зі стану анабіозу створюють умови, що знижують осмотичний шок і стрес, що виникає при розтині ампул. При ліофілізації вода з об'єктів видаляється без порушення нативної структури білка, формується пухка структура. Вона має властивості високої розчинності і регідратації. [21,22,23]

Отже, тепер, розглянувши можливі варіанти, можна зробити висновок, що на даний момент процес ліофілізації є найбільш підходящим. Для процесу сублімаційного сушіння будемо використовувати сублімаційну сушарку моделі «FD-500»

Розглянемо процес ліофілізації більш докладно. Процес ліофілізації проходить у кілька стадій:

1) Глибока заморозка клітин в ампулах в спеціальній робочій камері. Чим швидше температура прийде до необхідного значення, тим швидше в процесі сушіння піде випаровування льоду з досліджуваного об'єкта.

2) Первинне висушування - випаровування льоду із замороженого розчину і його осідання на конденсорі. Для цього процесу по всій системі створюється вакуум.

3) Вторинне висушування - пари води переносять за рахунок парціального тиску на змійовик конденсора.

Цей метод оптимальний для швидкорозчинних культур, оскільки містить низький продуцент води в ліофілізованому препараті. Також перевагою ліофілізації є те, що вона дозволяє уникнути руйнування і дегенерації культури, найбільш оптимальна для штамів з високою термостійкістю і високою окиснюваністю. А рівномірний розподіл неорганічних з'єднань всередині досліджуваної культури в ході проведення методу дозволяє уникнути його затвердіння. При використанні цього методу спостерігається легкість здійснення стерильних операцій: обладнання для цього методу герметично, ступінь його стерильності висока, що зменшує ймовірність забруднення досліджуваної культури. Крім того недолік кисню сприяє стерилізації що веде до припинення росту мікробних контамінантів.

Ліофілізовану культуру зберігають при температурі нижче 5 градусів. В ході довгих років досліджень помічена цікава закономірність: зі зниженням температури зростає збереженість клітин. Тому при кімнатній температурі зберігати культури не рекомендується. При реактивації ліофілізовану культуру переводять в суспензію відразу після розтину ампул, додаючи в кожен стерильною рідкого середовища. Суспензію в ампулах добре перемішують і переносять в пробірки з рідким середовищем. Після ретельного перемішування відбирають суспензії і наносять на тверду напіврідку середу того ж складу. Необхідно перевіряти чистоту культури до ліофілізації і після неї. Для цього суспензію клітин стерильно розводять і роблять посів штрихом на тверді середовища. Пробірки та чашки з середовищем інкубують при оптимальній температурі і, як тільки починається їх зростання, роблять пересів на свіжу середу, щоб переконатися в чистоті культури. Зростання бактерій, які зазнали ліофілізації, часто починається після тривалої лаг-фази. Тому не можна робити заключні

висновки про загибель клітин, якщо інкубація не була достатньо тривалою. [24, 25]

І не слід забувати, що процес ліофілізації потребує попередньої підготовки клітин, а саме додавання захисного середовища.

5.2.5. Подрібнення

Після того, як процес ліофілізації буде закінчено, пласти сухої бактеріальної культури потрібно подрібнити для залучення її до подальшого процесу виготовлення закваски. Процес подрібнення та його методи можуть проводитися абсолютно по різному.

Подрібнювання може проходити шляхом розколювання, здавлювання, стирання, удару та зламу. Але знову перед нами постає задача збереження належного рівня життєздатності та активності бактерій. Таким чином апарат повинен проводити подрібнення якомога м'якше. Найчастіше для подрібнення використовують дробарки різного типу, валкові, ударні та ін. [26]

Звісно, окрім збереження життєздатності бактерій, дробіння дозволяє оптимізувати масообмін, а за допомогою сита для просіювання з різним діаметром пор можна регулювати розмір часток згідно побажанням замовника.

То ж для встановлення найбільш підходящого апарату використані механізми різної конструкції: валковий млин з ударностираючою дією, двушпинделевий гомогенізатор з ріжучим ефектом, і дезинтегратор з удароцентробіжним принципом подрібнення. В експериментальній роботі використовували ліофільно висушену в середовищі культивування мікробну масу живих антагоністично активних штамів *Bifidobacterium bifidum* №1. В процесі перемолу через певні інтервали часу брали виїмки і визначали специфічну активність біфідобактерій, порівнюючи її з вихідними показниками. В результаті проведеної роботи було встановлено, що між тривалістю помелу і кількістю живих мікробних клітин існує зворотна непрямолінійність зв'язку, тобто чим довший час перемолу, тим нижче показник специфічної активності і відсоток технологічних втрат. При підборі

подрібнювачів різної конструкції за показниками продуктивності, ступеня інактивації клітин біфідобактерій і мінімальних технологічних втрат була встановлена можливість використання як гомогенізатора, так і валкового млина.[27]

Таким чином ми маємо два апарати, що задовольняють наші технологічні потреби. Тому будемо орієнтуватися на цінову політику апаратури. Таким чином можна бачити, що гомогенізатор буде дорожчим за валковий млин, а значить для здешевлення виробництва обираємо валковий млин моделі «SM-200».

5.3.Обґрунтування вибору допоміжних робіт

5.3.1.Обґрунтування складу середовища

Практика розробки захисних середовищ свідчить, що для мінімізації загибелі клітин склад кріопротектора для кожного виду бактерій повинен включати збалансований якісно і кількісно набір компонентів. При цьому істотне значення мають кількість клітин в бактеріальній суспензії, її евтектичних параметри, а також характер температурного впливу при заморожуванні і зневодненні .

Уніфікація захисних середовищ, що застосовуються у виробництві пробіотиків, передбачає обмеження кількості використовуваних компонентів, необхідних у складі кріопротекторів для жорстких режимів сублімації. При таких режимах висушування негативний біологічний і структуродеформуючий ефект нівелюється, як правило, збільшенням концентрації кріопротектора в бактеріальній суспензії. При цьому домогтися поліпшення структури сухої біомаси значно складніше, ніж отримати необхідну кількість живих клітин у сухому препараті. Підбір варіантів захисних середовищ базувався на результатах попередніх досліджень [28,29].

Було досліджено вплив складу захисного середовища, що було уніфіковане під виготовлення пробіотичних препаратів на основі молочно-кислих бактерій. (Біфідобактерин, Лактобактерин, Ацилакт). Склад випробуваних інгредієнтів показано в таблиці 5.3.1

Порівняльна характеристика компонентів захисного середовища

Склад поживного середовища			Ефект	
Структуро- утв. компонент	Сахароза	Молоко	Биопротекторний, % збереження життєздатних клітин	Структуро- утворюючий, % некондиційних зразків
Желатин	+	+	50,2±2,9	< 10
Na-КМЦ	+	+	50,6±2,3	20-50
Крохмал	+	+	51,0±3,1	> 50
ПВП	+	+	50,4±2,7	20-50
-	+	+	49,9±2,7	> 80

До їх складу було введено сполуки, які підвищують стійкість молочнокислих бактерій до заморожування та сушінні: білкові (молоко) та вуглеводний компонент (сахароза), а також проведено дослід з вибору та впливу структуроутворюючих компонентів. Відомо, що введення останніх позитивно впливає на розчинність бактеріальних препаратів. Дослід Показав, що усі структурні компоненти майже однакові результати(таблиця 5.3.2)

Таблиця 5.3.2

Результати досліджень захисного середовища на препаратах.

Препарати	Склад бактеріальної суспензії для розливу		Об'єм препарату розлитого у флакон, мл	Відповідність ліофілізованого препарату до НД	
	Бактеріальна наважка частин	Захисне середовище		Біологічний параметр, %	Фізичні параметри(відсутність виражених дефектів структури), %
СЖ. частин		Молоко, частин			

Лактобакте рин	9	2	2	2±0,2	100	Не менше 92
Біфідобакте рин	8-9	1-2	2	2±0,2	100	Не менше 96
Ацилакт	9	2	2	2±0,2	100	Не менше 94

За отриманими даними можемо зробити висновок, що структуроутворюючі компоненти мають приблизно однаковий ефект, тому обираємо за показником ціни та зручності стерилізації на виробництві. [30]

Бактеріальна маса *L.acidophilis* у перпараті ацилакт має такий склад захисного поживного середовища [31]:

- сахароза (10%)
- желатин (4%)
- молоко знежирене (17%)

Ці компоненти є універсальними та найбільш збалансованими за такими показниками як ціна універсальність та захисні властивості. Сахароза є джерелом вуглецю, желатин слугує кріопротектором, а молоко є джерелом білку та корисних сполук.

5.3.2.Обґрунтування підготовки вентиляційного повітря.

Виробництво сухих заквасок не є фармацевтичним, тобто стерильним, тому підготовка стерильного вентиляційного повітря не потрібна, але норми проектування підприємств молочної промисловості рекомендують встановлювати вентиляційні системи у цехах, де є відкриті ділянки виробництва, а отже ризик контамінації. Повітря виробничих приміщень – потенційне джерело забруднення продукції, тому його очищення є одним з ключових завдань підготовки виробництва. Під вентиляційним повітрям розуміють повітря, очищене від часток та мікроорганізмів у системі підготовки дво- або триступінчатої фільтрації, яке надходить до приміщень виробництва нестерильної продукції.

Перш за все, трубу забору повітря потрібно встановити на даху таким чином, щоб нижня частина отвору забору повітря знаходилася на

відстані 2м від крівлі даху. Фільтрувальна система буде складатися з фільтру жорсткої очистки від механічних часточок та пилу, фільтру тонкої очистки, а також НЕРА фільтру, що має клас очистки G-12. У холодну пору року повітря повинно підігріватися до комфортної температури, задля створення належних умов праці для персоналу.

5.3.3.Обґрунтування вибору первинної упаковки

Згідно ГОСТ 34372-2017 закваски бактеріальні для виробництва молочної продукції сухі та заморожені БЗ упаковують в умовах, що забезпечують запобігання потрапляння сторонніх мікроорганізмів, в пакети з вологонепроникного комбінованого матеріалу або полімерної плівки, дозволених до використання в якості пакувального матеріалу для харчових продуктів, або в ємності, наприклад флакони. Допускається пакування пакетів під вакуумом або в атмосфері інертного газу. Допускається використання інших пакувальних матеріалів і транспортної упаковки, дозволених для контакту з харчовими продуктами, що забезпечують збереження якості і безпеки БЗ при їх перевезеннях, зберіганні та реалізації.

Наразі, на ринку сухих заквасок представлені в основному два типи тари, це скляні флакони та пластикові флакони об'ємом 10 мл. Також згідно ГОСТу ми можемо використовувати будь який тип упаковки, що надійно захищає від потрапляння вологи та інших фізичних чинників, а також сторонніх мікроорганізмів в продукт. Звісно, одна з ключових умов- це це безпечність відносно харчової продукції. Одним з альтернативних типів упаковки є упаковки типу саше. Вони широко застосовуються як в фармацевтичній, так і в харчовій промисловості. Такий тип упаковки зарекомендував себе з кращої сторони, адже до упаковок саше висувують жорсткі вимоги:

- Вологостійкість та непроникність
- Захист від пилу та мікрочасток
- Захист від повітря
- Згідно ГОСТ 12302-2013 Пакети з полімерних плівок і комбінованих матеріалів, пакети повинні бути нетоксичними і не повинні мати

шкідливий вплив на людину при їх використанні в нормальних кімнатних і атмосферних умовах (температура - від мінус 20 ° С до плюс 30 ° С, тиск - 760 мм рт.ст.).

Такий тип упаковки має ряд переваг. Вони займають манше місця порівняно з флаконами, а отже, в упаковку до якої входить 4 флакони по 10мл. до 7-ми таких пакетиків. Пакетики саше краще захищають від впливу сонячних променів, оскільки вони не прозорі, та складаються з декількох шарів. Транспортування саше є надійнішим за скляні флакони, оскільки їх неможливо розбити. А найголовніше, це ціна виробництва таких упаковок, вона є нижчою за флакони у 1.5-2 рази. [32]

5.3.4.Маркування

Інформацію, що відповідає вимогам, наносять на пакувальну одиницю БЗ за допомогою етикетки або вказують безпосередньо на пакувальному матеріалі або в товаросупровідних документах.

Дату виготовлення наносять будь-яким способом, що забезпечує її чітке прочитання.

Кожна пакувальна одиниця повинна містити наступну додаткову інформацію:

- склад мікрофлори, представлений шляхом перерахування видових назв культур, що входять в БЗ і БК. і / або бактеріальну формулу, представлену аналогічним способом;

- кількість одиниць активності БЗ або БК або кількість мікроорганізмів, виражене в КУО / г (см3), при вказівці маси нетто або об'єму БЗ або БК в одиниці упаковки;

- номер партії БЗ. [33]

РОЗДІЛ 6. МАТЕРІАЛЬНИЙ БАЛАНС І РОЗРАХУНОК ОБЛАДНАННЯ.

Згідно з ТЕО потреба в пробіотику складає $G_{нд} = 204,5$ кг/рік. Така кількість за $T_{рд} = 300$ днів. За даними максимальний вихід пробіотика складає 10^9 КУО/мл за 31 год, і досягається за умов росту штаму *Lactobacillus acidophilus* ATCC4356 на середовищі такого складу (г/л) [34]:

$G1 = \text{глюкоза} - 6.9;$

$G2 = \text{дріжджовий екстракт} - 38;$

$G3 = \text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} - 0.6;$

$G4 = \text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O} - 0.03;$

$G5 = \text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} - 0.03;$

$G6 = \text{Ацетат натрію} - 1;$

$G7 = \text{K}_2\text{HPO}_4 - 0.16;$

$G8 = \text{KH}_2\text{PO}_4 - 0.55;$

Всього – $C_{\Sigmaп} = 47,3$ г/л.

Для подальших розрахунків приймаємо наступні початкові дані:

$T_{цф} = T_{ф} + T_{др} = 31 + 14 = 45$ (год), де

$T_{ф}$ – тривалість виробничої ферментації (біосинтезу); $T_{др}$ – тривалість допоміжних робіт (допоміжні роботи включають: миття та огляд (4 год), перевірка на герметичність (2 год), стерилізація (2 год), охолодження (1 год), завантаження середовища (2 год), засів (1 год), вивантаження культуральної рідини (1 год).

$K_1 = 1,1$ – коефіцієнт запасу часу, що враховує можливість нестерильних операцій;

					НУХТ БТЕК 04.02.34 ДП ПЗ		
		№ докум.	Підпис				
		<i>Храпачевський В</i>			Літ.	Арк.	Акрушів
<i>Керівник</i>		<i>Буценко Л. М.</i>				57	2
<i>Реценз.</i>					Кафедра БТМ		
<i>Н. Коитр.</i>							
<i>Затверд.</i>		<i>Пирог Т.П.</i>			РОЗДІЛ 6. МАТЕРІАЛЬНИЙ БАЛАНС І РОЗРАХУНОК		

- Коефіцієнт заповнення ферментера $K_{\phi}=0,66$
- Коефіцієнт заповнення посівного апарата $K_{пп} = 0,6$;
- Коефіцієнт заповнення колб $K_{кол} = 0,2$;
- Коефіцієнт заповнення збірника $K_{зб} = 0,8$

Сумарні втрати при виділенні готового продукту (сума всіх втрат на стадіях виділення готового продукту), частка $E_{св} = 0,20$;

кількість посівного матеріалу для виробничих ферментерів, частка $(0,05-0,1) X_{\phi} = 0,1$;

кількість посівного матеріалу для посівних апаратів, частка $(0,02-0,1) X_{па} = 0,1$;

кількість посівного матеріалу для інокуляторів, частка $(0,02-0,1) X_{ін} = 0,1$; кількість посівного матеріалу для качалочних колб, частка $(0,02-0,1) X_{кол} = 0,1$;

6.1. Розрахунок партій продукту (виробничих циклів)

Кількість продукту на добу:

$$G_{нтд} = G_{нд} / T_{рд} = 204,5 / 300 = 0,68 \text{ кг/добу.}$$

Кількість готового продукту за цикл:

$$G_{цк} = G_{нтд} \cdot T_{цф} / T_{рд} \cdot 24 = 204,5 \cdot 45 / 300 \cdot 24 = 1,278 \text{ кг/цикл.}$$

Об'єм КР, що зливається за одну ферментацію (цикл):

$$V_{кр} = K_1 \cdot G_{цк} \cdot T_{цф} / C \cdot (1 - E_{св}) = 1,1 \cdot 1,278 \cdot 0,9 / 4 \cdot (1 - 0,2) = 0,395 \text{ м}^3$$

Кількість ферментацій (циклів) на рік:

$$N_{цк} = G_{нд} / G_{цк} = 204,5 / 1,278 = 160.$$

6.2 Розрахунок об'ємів поживного середовища та посівного матеріалу для виробничого біосинтезу

Об'єм готового поживного середовища для виробничого ферментера:

$$V_{псф} = V_{\phi} / (1 + X_{\phi}) = 395 / (1 + 0,1) = 359 \text{ л.}$$

Витрати посівного матеріалу на засів виробничого ферментера:

$$V_{пмф} = V_{\phi} - V_{псф} = 395 - 359 = 36 \text{ л.}$$

При вибраному коефіцієнті заповнення ферментера $K_{зф} = 0,6$ його приблизний геометричний об'єм ферментера складає:

$V_{\text{ф}} = V_{\text{ф}}/K_{3\text{ф}} = 395/0,6 = 607,6$. Отже, найближчий за номінальним об'ємом ферментер $V_{\text{нф}} = 0,63 \text{ м}^3$.

$$K_3 = 395/630 = 0,62$$

6.3 Приготування та стерилізація поживного середовища для виробничого біосинтезу в ферментері

Згідно з прийнятим складом поживного середовища для виробничого біосинтезу загальні витрати компонентів на визначений об'єм поживного середовища $V_{\text{псф}}$ складають:

$$G_{\text{ф}} = V_{\text{псф}} \cdot C_{\Sigma\text{ф}} = 359 \cdot 47,3 = 16,98 \text{ кг, в тому числі покомпонентно, кг:}$$

Глюкоза $G1 = G_{\text{ф}} \cdot C1/C_{\Sigma\text{ф}} = 16,98 \cdot 6,9/47,3 = 2,476$

дріжджовий екстракт $G2 = G_{\text{ф}} \cdot C2/C_{\Sigma\text{ф}} = 16,98 \cdot 38/47,3 = 13,641$

$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ $G3 = G_{\text{ф}} \cdot C2/C_{\Sigma\text{ф}} = 16,98 \cdot 0,6/47,3 = 0,215$

$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ $G4 = G_{\text{ф}} \cdot C2/C_{\Sigma\text{ф}} = 16,98 \cdot 0,03/47,3 = 0,010$

$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ $G5 = G_{\text{ф}} \cdot C2/C_{\Sigma\text{ф}} = 16,98 \cdot 0,03/47,3 = 0,010$

Ацетат натрію $G6 = G_{\text{ф}} \cdot C2/C_{\Sigma\text{ф}} = 16,98 \cdot 1/47,3 = 0,358$

K_2HPO_4 $G7 = G_{\text{ф}} \cdot C2/C_{\Sigma\text{ф}} = 16,98 \cdot 0,16/47,3 = 0,057$

KH_2PO_4 $G8 = G_{\text{ф}} \cdot C2/C_{\Sigma\text{ф}} = 16,98 \cdot 0,55/47,3 = 0,197$

3.3.2. Розрахунок кількості води для приготування поживного середовища для виробничого ферментера

Кількість води визначають за наступною формулою $V_{\text{вф}} = V_{\text{псф}} - G_{\text{ф}} - V_{\text{фк}}$, де

$V_{\text{фк}} = V_{\text{псф}} \cdot K_{\text{кон}}$ – розбавлення виробничого поживного середовища конденсатом пари при його стерилізації, $K_{\text{кон}}$ - частка конденсату у загальній кількості води, що йде на приготування поживного середовища.

Залежно від способу та обладнання, яке використовують для стерилізації компонентів поживного середовища, величина $K_{\text{кон}}$ може складати:

- у разі стерилізації компонентів у колбах в автоклаві $K_{\text{кон}} = 0$
- у разі стерилізації компонентів безпосередньо у реакторі-змішувачі або безпосередньо у ферментері $K_{\text{кон}} = 0,1-0,15$
- у разі стерилізації компонентів в УБС $K_{\text{кон}} = 0,2$

Оскільки об'єм поживного середовища у ферментері складає $V_{\text{псф}} = 359$ л, приймаємо рішення щодо використання для стерилізації безпосередньо у реакторі-змішувачі.

Тоді кількість конденсату становитиме $V_{\text{фк}} = V_{\text{псф}} \cdot K_{\text{кон}} = 359 \cdot 0,1 = 35,9$ л.

Кількість води необхідної для розбавлення компонентів поживного середовища буде :

$$V_{\text{вф}} = V_{\text{псф}} - G_{\text{ф}} - V_{\text{фк}} = 359 - 16,98 - 35,9 = 306,12 \text{ л.}$$

Для спрощення розрахунків приймемо, що густина компонентів поживного середовища приблизно дорівнює густині води, тобто 1 л = 1 кг. 306,12 л води необхідно розподілити між трьома композиціями: глюкозою та дріжджовим екстрактом (композиція А), Сульфатними солями марганцю, магнію та заліза (композиція Б) та Натрій ацетатом з фосфатними солями (Композиція В).

Композиція А: Розраховуємо кількість води для розчинення покомпонентно, л:

$$\text{Глюкоза } V_{1\text{в}} = V_{\text{вф}} \left(\frac{C_1}{C_{\Sigma\text{Ф}}} \right) = 306,12 \left(\frac{6,9}{47,3} \right) = 44,479 \text{ л.}$$

$$\text{дріжджовий екстракт } V_{2\text{в}} = V_{\text{вф}} \left(\frac{C_2}{C_{\Sigma\text{Ф}}} \right) = 306,12 \left(\frac{38}{47,3} \right) = 245,931 \text{ л}$$

Отже, для приготування композиції А використаємо 290,41 л води, стерилізація буде проходити в реакторі-змішувачі.

Композиція Б: Розраховуємо кількість води для розчинення покомпонентно, л:

$$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O } V_{3\text{в}} = V_{3\text{в}} \left(\frac{C_3}{C_{\Sigma\text{Ф}}} \right) = 306,12 \left(\frac{0,6}{47,3} \right) = 3,883 \text{ л}$$

$$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O } V_{3\text{в}} = V_{3\text{в}} \left(\frac{C_3}{C_{\Sigma\text{Ф}}} \right) = 306,12 \left(\frac{0,03}{47,3} \right) = 0,194 \text{ л}$$

$$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O } V_{3\text{в}} = V_{3\text{в}} \left(\frac{C_3}{C_{\Sigma\text{Ф}}} \right) = 306,12 \left(\frac{0,03}{47,3} \right) = 0,194 \text{ л}$$

Отже, для приготування композиції Б використаємо 4,271 л води, стерилізація буде проходити в ферментері.

Композиція В:

$$\text{Ацетат натрію } V_{3\text{в}} = V_{3\text{в}} \left(\frac{C_3}{C_{\Sigma\text{Ф}}} \right) = 306,12 \left(\frac{1}{47,3} \right) = 6,471 \text{ л}$$

$$\text{K}_2\text{HPO}_4 \quad V_{3\text{в}} = V_{3\text{в}} \left(\frac{C_3}{C_{\Sigma\text{Ф}}} \right) = 306,12 \left(\frac{0,16}{47,3} \right) = 1,035 \text{ л}$$

$$\text{KH}_2\text{PO}_4 \quad V_{3\text{в}} = V_{3\text{в}} \left(\frac{C_3}{C_{\Sigma\text{Ф}}} \right) = 306,12 \left(\frac{0,55}{47,3} \right) = 3,559 \text{ л}$$

Отже, для приготування композиції Б використаємо 11,065 л води, стерилізація буде проходити в ферментері.

Отже, кількість води, яка необхідна для розчинення компонентів композицій, становитиме, л:

Композиція А $V_{AB}=290,586$

Композиція Б $V_{BB}=4,271$

Композиція В $V_{BV}=11,065$

Розраховуємо кількість конденсату по композиціях, л:

Композиція А $V_{1к}=V_{фк} \cdot (V_{AB} / V_{в})=35,9(290,586 / 306,12)=34,08$

Композиція Б $V_{2к}=V_{фк} \cdot (V_{BB} / V_{в})=35,9 \cdot (4,271 / 306,12)=0,5$

Композиція В $V_{3к}=V_{фк} \cdot (V_{BV} / V_{в})=35,9 \cdot (11,065 / 306,12)=1,32$

Формування композицій:

Таблиця 6.1

Склад композицій для стерилізації поживного середовища в ферментері

Компонент поживного середовища	Вміст г/л	Кількість для приготування середовища, кг (л)	Композиція	Об'єм композиції, V, л
Глюкоза	,9	2,476	А	306,527
Дріжджовий екстракт	8	13,641		
Вода		290,41		
Конденсат		34,08		34,08
MgSO ₄ *7H ₂ O	,6	0,215	Б	4,506
MnSO ₄ *4H ₂ O	,03	0,010		

FeSO ₄ *7H ₂ O	,03	0,010		
Вода		4,271		
Конденсат		0,5		0,5
Ацетат натрію		0,358	В	11,677
K ₂ HPO ₄	,16	0,057		
KH ₂ PO ₄	,55	0,197		
Вода		11,065		
Конденсат		1,32		1,32
Всього			359 л	

6.3.3 Приготування та стерилізація поживного середовища для вирощування посівного матеріалу штаму в посівному апараті об'ємом 63 л

Кількість поживного середовища в посівному апараті становить:

$$V_{\text{пспа}} = V_{\text{па}} / (1 + X_{\text{па}}) = 36 / (1 + 0,1) = 32,72 \text{ л.}$$

Необхідна кількість посівного матеріалу для засівання посівного апарата:

$$V_{\text{пмпа}} = V_{\text{па}} - V_{\text{пспа}} = 36 - 32,72 = 3,28 \text{ л.}$$

При вибраному коефіцієнті заповнення посівного апарата $K_{\text{зпа}} = 0,6$ його приблизний геометричний об'єм складатиме:

$$V_{\text{гпа}} = V_{\text{па}} / K_{\text{зпа}} = 36 / 0,6 = 60 \text{ л}$$

Серед стандартних посівних апаратів найближчий за об'ємом – 60 л.

Уточнюємо коефіцієнт заповнення:

$$K_{\text{зпа}} = V_{\text{па}} - V_{\text{гпа}} = 36 / 60 = 0,6$$

Уточнений коефіцієнт відповідає вимогам $K_{\text{зп}} = 0,6$

6.3.4 Приготування та стерилізація поживного середовища для виробничого біосинтезу в посівному апараті геометричним об'ємом 60 л.

Згідно з прийнятим складом поживного середовища для вирощування посівного матеріалу загальні витрати компонентів на визначений об'єм поживного середовища $V_{\text{пс}}$ складають:

$$G_{\text{ф}} = V_{\text{псф}} \cdot C_{\Sigma\text{ф}} = 32,72 \cdot 47,3 = 1,547 \text{ кг, в тому числі покомпонентно, кг:}$$

$$\text{Глюкоза} \quad G1 = G_{\text{ф}} \cdot C1/C_{\Sigma\text{ф}} = 1,547 \cdot 6.9/47.3 = 0,226$$

$$\text{дріжджовий екстракт} \quad G2 = G_{\text{ф}} \cdot C2/C_{\Sigma\text{ф}} = 1,547 \cdot 38/47.3 = 1,243$$

$$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} \quad G3 = G_{\text{ф}} \cdot C2/C_{\Sigma\text{ф}} = 1,547 \cdot 0.6/47.3 = 0,0196$$

$$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O} \quad G4 = G_{\text{ф}} \cdot C2/C_{\Sigma\text{ф}} = 1,547 \cdot 0.03/47.3 = 0.00098$$

$$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} \quad G5 = G_{\text{ф}} \cdot C2/C_{\Sigma\text{ф}} = 1,547 \cdot 0.03/47.3 = 0.00098$$

$$\text{Ацетат натрію} \quad G6 = G_{\text{ф}} \cdot C2/C_{\Sigma\text{ф}} = 1,547 \cdot 1/47.3 = 0.033$$

$$\text{K}_2\text{HPO}_4 \quad G7 = G_{\text{ф}} \cdot C2/C_{\Sigma\text{ф}} = 1,547 \cdot 0.16/47.3 = 0.0052$$

$$\text{KH}_2\text{PO}_4 \quad G8 = G_{\text{ф}} \cdot C2/C_{\Sigma\text{ф}} = 1,547 \cdot 0.55/47.3 = 0.018$$

Стерилізація компонентів в композиціях буде проводитись в окремих реакторах гострою парою, приймаємо $K_{\text{кон}} = 0,1$, тоді загальна кількість конденсату становитиме: $V_{\text{пак}} = V_{\text{псп}} \cdot K_{\text{кон}} = 32,72 \cdot 0,1 = 3,272$ л.

Загальна кількість води необхідної для розбавлення компонентів поживного середовища буде: $V_{\text{впа}} = V_{\text{псп}} - G_{\text{заг2}} - V_{\text{пак}} = 32,72 - 1,547 - 3,272 = 27,901$ л

27,901 л води необхідно розподілити між трьома композиціями: глюкозою та дріжджовим екстрактом (композиція А), Сульфатними солями марганцю, магнію та заліза (композиція Б) та Натрій ацетатом з фосфатними солями (Композиція В).

Композиція А: Розраховуємо кількість води для розчинення покомпонентно, л:

$$\text{Глюкоза} \quad V_{1\text{в}} = V_{\text{вф}} \cdot (C_1/C_{\Sigma\text{ф}}) = 27,901 \cdot (6.9/47.3) = 4,07$$

$$\text{дріжджовий екстракт} \quad V_{2\text{в}} = V_{\text{вф}} \cdot (C_2/C_{\Sigma\text{ф}}) = 27,901 \cdot (38/47.3)$$

$$= 22,415 \text{ л}$$

Отже, для приготування композиції А використаємо 26,485 л води, стерилізація буде проходити в реакторі-змішувачі.

Композиція Б: Розраховуємо кількість води для розчинення покомпонентно, л:

$$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O } V_{3\text{B}} = V_{3\text{B}} (C_3 / C_{\Sigma\Phi}) = 27,901 (0.6/47.3) = 0,354 \text{ л}$$

$$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O } V_{3\text{B}} = V_{3\text{B}} (C_3 / C_{\Sigma\Phi}) = 27,901 (0.03/47.3) = 0,018 \text{ л}$$

$$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O } V_{3\text{B}} = V_{3\text{B}} (C_3 / C_{\Sigma\Phi}) = 27,901 (0.03/47.3) = 0,018 \text{ л}$$

Отже, для приготування композиції Б використаємо 0,39 л води, стерилізація буде проходити в ферментері.

Композиція В:

$$\text{Ацетат натрію } V_{3\text{B}} = V_{3\text{B}} (C_3 / C_{\Sigma\Phi}) = 27,901 (1/47.3) = 0,59 \text{ л}$$

$$\text{K}_2\text{HPO}_4 \quad V_{3\text{B}} = V_{3\text{B}} (C_3 / C_{\Sigma\Phi}) = 27,901 (0.16/47.3) = 0,094 \text{ л}$$

$$\text{KH}_2\text{PO}_4 \quad V_{3\text{B}} = V_{3\text{B}} (C_3 / C_{\Sigma\Phi}) = 27,901 (0.55/47.3) = 0,324 \text{ л}$$

Отже, для приготування композиції Б використаємо 1,008л води, стерилізація буде проходити в ферментері.

Отже, кількість води, яка необхідна для розчинення компонентів композицій, становитиме, л:

Композиція А $V_{\text{AB}} = 26,485$

Композиція Б $V_{\text{BB}} = 0,39$

Композиція В $V_{\text{BV}} = 1,008$

Розраховуємо кількість конденсату по композиціях, л:

$$\text{Композиція А } V_{1\text{K}} = V_{\text{фк}} \cdot (V_{\text{AB}} / V_{\text{B}}) = 3,272(26,485 / 27,901) = 3,126$$

$$\text{Композиція Б } V_{2\text{K}} = V_{\text{фк}} \cdot (V_{\text{BB}} / V_{\text{B}}) = 3,272 \cdot (0,39 / 27,901) = 0,046$$

$$\text{Композиція В } V_{3\text{K}} = V_{\text{фк}} \cdot (V_{\text{BV}} / V_{\text{B}}) = 3,272 \cdot (1,008 / 27,901) = 0,118$$

Формування композицій:

Таблиця 6.2

Склад композицій для стерилізації компонентів для вирощування посівного матеріалу в посівному апараті

Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	Кількість для приготування 32,72л середовища, кг (л)	Композиція	Об'єм композиції, V, л
Глюкоза	6,9	0,226	А	27,954
Дріжджовий	38	1,243		

екстракт				
Вода		26,485		
Конденсат		3,106		3,126
MgSO ₄ *7H ₂ O	0,6	0,0196	Б	0,412
MnSO ₄ *4H ₂ O	0,03	0,00098		
FeSO ₄ *7H ₂ O	0,03	0,00098		
Вода		0,39		
Конденсат		0,046		0,046
Ацетат натрію	1	0,033	В	1,064
K ₂ HPO ₄	0,16	0,0052		
KH ₂ PO ₄	0,55	0,018		
Вода		1,008		
Конденсат		0,118		0,118
Всього			32,72л	

6.3.5 Приготування та стерилізація поживного середовища для вирощування штаму в колбах.

Кількість поживного середовища в колбах становить:

$$V_{\text{пск}} = V_{\text{ін}} / (1 + X_{\text{ін}}) = 3,28 / (1 + 0,1) = 2,98 \text{ л.}$$

Необхідна кількість посівного матеріалу для засівання колб:

$$V_{\text{пмк}} = V_{\text{кол}} - V_{\text{пск}} = 3,28 - 2,98 = 0,3 \text{ л.}$$

Згідно з прийнятим складом поживного середовища для вирощування посівного матеріалу загальні витрати компонентів на визначений об'єм поживного середовища $V_{\text{пс}}$ складають:

$$G_{\text{ф}} = V_{\text{псф}} \cdot C_{\Sigma\text{ф}} = 2,98 \cdot 47,3 = 0,140 \text{ кг, в тому числі покомпонентно, кг:}$$

$$\text{Глюкоза} \quad G1 = G_{\text{ф}} \cdot C1 / C_{\Sigma\text{ф}} = 0,140 \cdot 6,9 / 47,3 = 0,020$$

$$\text{дріжджовий екстракт} \quad G2 = G_{\text{ф}} \cdot C2 / C_{\Sigma\text{ф}} = 0,140 \cdot 38 / 47,3 = 0,112$$

$$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} \quad G3 = G_{\text{ф}} \cdot C2 / C_{\Sigma\text{ф}} = 0,140 \cdot 0,6 / 47,3 = 0,0018$$

$$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O} \quad G4 = G_{\text{ф}} \cdot C2 / C_{\Sigma\text{ф}} = 0,140 \cdot 0,03 / 47,3 = 0,000089$$

$$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} \quad G5 = G_{\text{ф}} \cdot C2 / C_{\Sigma\text{ф}} = 0,140 \cdot 0,03 / 47,3 = 0,000089$$

$$\text{Ацетат натрію} \quad G_6 = G_{\phi} \cdot C_2 / C_{\Sigma\phi} = 0,140 \cdot 1 / 47,3 = 0,00296$$

$$K_2HPO_4 \quad G_7 = G_{\phi} \cdot C_2 / C_{\Sigma\phi} = 0,140 \cdot 0,16 / 47,3 = 0,00047$$

$$KH_2PO_4 \quad G_8 = G_{\phi} \cdot C_2 / C_{\Sigma\phi} = 0,140 \cdot 0,55 / 47,3 = 0,00163$$

Стерилізація компонентів в композиціях буде проводитись в окремих реакторах гострою парою, приймаємо $K_{\text{кон}} = 0,1$, тоді загальна кількість конденсату становитиме: $V_{\text{пак}} = V_{\text{псп}} \cdot K_{\text{кон}} = 2,98 \cdot 0,1 = 0,298$ л.

Загальна кількість води необхідної для розбавлення компонентів поживного середовища буде: $V_{\text{впа}} = V_{\text{псп}} - G_{\text{заг2}} - V_{\text{пак}} = 2,98 - 0,140 - 0,298 = 2,542$ л

2,542 л води необхідно розподілити між трьома композиціями: глюкозою та дріжджовим екстрактом (композиція А), Сульфатними солями марганцю, магнію та заліза (композиція Б) та Натрій ацетатом з фосфатними солями (Композиція В).

Композиція А: Розраховуємо кількість води для розчинення покомпонентно, л:

$$\text{Глюкоза } V_{1в} = V_{\text{вф}} \cdot (C_1 / C_{\Sigma\phi}) = 2,542 (6,9 / 47,3) = 0,37 \text{ л}$$

$$\text{дріжджовий екстракт } V_{2в} = V_{\text{вф}} \cdot (C_2 / C_{\Sigma\phi}) = 2,542 (38 / 47,3) = 2,042 \text{ л}$$

Отже, для приготування композиції А використаємо 2,412 л води, стерилізація буде проходити в автоклаві.

Композиція Б: Розраховуємо кількість води для розчинення покомпонентно, л:

$$MgSO_4 \cdot 7H_2O \quad V_{3в} = V_{3в} \cdot (C_3 / C_{\Sigma\phi}) = 2,542 (0,6 / 47,3) = 0,032 \text{ л}$$

$$MnSO_4 \cdot 4H_2O \quad V_{3в} = V_{3в} \cdot (C_3 / C_{\Sigma\phi}) = 2,542 (0,03 / 47,3) = 0,0016 \text{ л}$$

$$FeSO_4 \cdot 7H_2O \quad V_{3в} = V_{3в} \cdot (C_3 / C_{\Sigma\phi}) = 2,542 (0,03 / 47,3) = 0,0016 \text{ л}$$

Отже, для приготування композиції Б використаємо 0,0352 л води, стерилізація буде проходити в автоклаві.

Композиція В:

$$\text{Ацетат натрію } V_{3в} = V_{3в} \cdot (C_3 / C_{\Sigma\phi}) = 2,542 (1 / 47,3) = 0,054 \text{ л}$$

$$K_2HPO_4 \quad V_{3в} = V_{3в} \cdot (C_3 / C_{\Sigma\phi}) = 2,542 (0,16 / 47,3) = 0,0086 \text{ л}$$

$$KH_2PO_4 \quad V_{3в} = V_{3в} \cdot (C_3 / C_{\Sigma\phi}) = 2,542 (0,55 / 47,3) = 0,0296 \text{ л}$$

Отже, для приготування композиції В використаємо 0,0922 л води,

стерилізація буде проходити в автоклаві.

Отже, кількість води, яка необхідна для розчинення компонентів композицій, становитиме, л:

Композиція А $V_{AB}=26,485$

Композиція Б $V_{BB}=0,39$

Композиція В $V_{BV}=1,008$

Розраховуємо кількість конденсату по композиціях, л:

Композиція А $V_{1к}=V_{фк} \cdot (V_{AB} / V_B)=0,298(2,412 / 2,542)=0,283$

Композиція Б $V_{2к}=V_{фк} \cdot (V_{BB} / V_B)=0,298 \cdot (0,0352 / 2,542)=0,0041$

Композиція В $V_{3к}=V_{фк} \cdot (V_{BV} / V_B)=0,298 \cdot (0,0922 / 2,542)=0,0108$

Формування композицій:

Таблиця 6.3

Склад композицій для стерилізації компонентів для вирощування посівного матеріалу в колбах

Компонент поживного середовища	Вміст, л	Кількість для приготування середовища, кг (л)	Композиція	Об'єм композиції, л
Глюкоза	6,9	0,020	А	2,548
Дріжджовий екстракт	3,8	0,112		
Вода		2,412		
Конденсат		0,283		0,283
MgSO ₄ *7H ₂ O	0,6	0,0018	Б	0,037
MnSO ₄ *4H ₂ O	0,03	0,000089		
FeSO ₄ *7H ₂ O	0	0,000089		

	,03			
Вода		0,0352		
Конденсат		0,0041		0,0041
Ацетат натрію	1	0,00296	В	0,09726
K ₂ HPO ₄	0	0,00047		
	,16			
KH ₂ PO ₄	0	0,00163		
	,55			
Вода		0,0922		
Конденсат		0,0108		0,0108
Всього			2,98л	

**МАТЕРІАЛЬНИЙ БАЛАНС НА ОДИН ЦИКЛ ВИРОБНИЧОГО
БІОСИНТЕЗУ**

№ з/п	Використано		Отримано	
	Назва сировини і напівпродукту	Кількість, кг, л	Назва кінцевого продукту, відходів та втрат	Кількість, кг, дм ³
	2	3	4	5
1.	ПРИГОТУВАННЯ ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА ДЛЯ ВИРОЩУВАННЯ ІНОКУЛЯТУ В КОЛБАХ (мг, мл)			
1.1.	Глюкоза	0,020	Нестерильне ПС	2,98
1.2.	Дріжджовий екстракт	0,112		
1.3.	MgSO ₄ *7H ₂ O	0,0018		
1.4.	MnSO ₄ *4H ₂ O	0,000089		
1.5.	FeSO ₄ *7H ₂ O	0,000089		
1.6.	Ацетат натрію	0,00296		
1.7.	K ₂ HPO ₄	0,00047		
1.8.	KH ₂ PO ₄	0,00163		
1.9.	Вода	2,5394		
	Всього:	2,98	Всього:	2,98
2.	СТЕРИЛІЗАЦІЯ ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА В АВТОКЛАВІ (мл)			
2.1.	Нестерильне ПС	2,98	Стерильне ПС	2,98
	Всього:	2,98	Всього:	2,98
3.	ОТРИМАННЯ ПОСІВНОГО МАТЕРІАЛУ ПІД ЧАС КУЛЬТИВУВАННЯ В КОЛБАХ (мг,мл)			
3.1.	Стерильне ПС	2,98	Посівний	3,28

			матеріал	
3.2.	Посівний матеріал з колби	0,3		
	Всього:	3,28	Всього:	3,28
4.	ПРИГОТУВАННЯ ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА ДЛЯ ІНОКУЛЯТОРА 60 (кг, л)			
4.1.	Глюкоза	0,226	Нестерильне ПС	29,43
4.2.	Дріжджовий екстракт	1,243		
4.3.	MgSO ₄ *7H ₂ O	0,0196		
4.4.	MnSO ₄ *4H ₂ O	0,00098		
4.5.	FeSO ₄ *7H ₂ O	0,00098		
4.6.	Ацетат натрію	0,033		
4.7.	K ₂ HPO ₄	0,0052		
4.8.	KH ₂ PO ₄	0,018		
4.9.	Вода	26,886		
	Всього:	29,43		29,43
5.	СТЕРИЛІЗАЦІЯ ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА ДЛЯ ІНОКУЛЯТОРА 60(л)			
5.1.	Нестерильне ПС	29,43	Стерильне ПС	32,72
5.2.	Конденсат	3,27		
	Всього:	32,72	Всього:	32,72
6.	ОТРИМАННЯ ПОСІВНОГО МАТЕРІАЛУ В ІНОКУЛЯТОРІ (кг, л)			
6.1.	Стерильне ПС	32,72	Посівний матеріал	32,72
6.2.	Посівний матеріал з колби	3,28		3,28

6.3	Втрати(частка)	*	Втрати (кількість)	*
	Всього:	36	Всього:	36
7.	ПРИГОТУВАННЯ ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА ДЛЯ ФЕРМЕНТЕРА (кг, л)			
7.1	Глюкоза	2,476	Нестерильне ПС	323,8
7.2	Дріжджовий екстракт	13,641		
7.3	MgSO ₄ *7H ₂ O	0,215		
7.4	MnSO ₄ *4H ₂ O	0,010		
7.5	FeSO ₄ *7H ₂ O	0,010		
7.6	Ацетат натрію	0,358		
7.7	K ₂ HPO ₄	0,057		
7.8	KH ₂ PO ₄	0,197		
7.9	Вода	305,766		
	Всього:	323,8	Всього:	323,8
8.	СТЕРИЛІЗАЦІЯ ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА ДЛЯ ФЕРМЕНТЕРА (л)			
8.1	Нестерильне ПС	323,8	Стерильне ПС	3108,8
8.2	Конденсат	35,2		345,2
	Всього:	359	Всього:	359
9.	ВИРОБНИЧИЙ БІОСИНТЕЗ (л)			
9.1	Стерильне ПС	359		359
12.2	Посівний матеріал з посівного апарата і інокулятора	36		36

12.3	Втрати(частка)	*	Втрати (кількість)	*
	Всього:	395	Всього:	395

6.4 Розрахунок технологічного обладнання.

6.4.1. Розрахунок кількості виробничих ферментерів.

Приблизний загальний геометричний об'єм ферментерів при заданому $K_{зф}=0,62$ m^3

$$V_{фг} = V_{ф}/K_{зф} = 395/0,62 = 0,63 \text{ м}^3$$

Вибираємо з таблиці найближчий за номінальним об'ємом ферментер:

$$V_{фг} = 0,63 \text{ м}^3.$$

Кількість виробничих ферментерів при заданому K_3 :

$$N_{фр} = V_{фг}/V_{фг} = 0,63/0,63 = 1 \text{ – приймаємо } 1.$$

Уточнюємо коефіцієнт заповнення вибраних з таблиці ферментерів:

$$K_{зф} = V_{ф}/(V_{фг} \times N_{фг}) = 395/(0,63 \times 1) = 0,62$$

Оскільки уточнений коефіцієнт заповнення не перевищує задані межі (0,5-0,65) приймаємо до установки кількість ферментерів $N_{фг}=1$.

6.4.3 Розрахунок кількості інокуляторів

Приблизний загальний геометричний об'єм інокулятора при заданому $K_{ін}=0,6$:

$$V_{гін} = V_{ін}/K_{ін} = 36/0,6 = 60 \text{ л}$$

Вибираємо найближчий за об'ємом інокулятор $V_{інт} = 60$ л

Кількість інокуляторів апаратів при заданому $K_{ін}$

$$N_{ін} = V_{гін}/V_{ін} = 36/60 = 0,6 \text{ - приймаємо } 1$$

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

$$K_{зін} = V_{гін}/V_{ін} \cdot N_{ін} = 36/60 \cdot 1 = 0,6$$

Оскільки уточнений коефіцієнт заповнення не перевищує заданих меж (0,5-0,65) приймаємо до установки кількість ферментерів $N_{інт}=1$.

6.4.5 Розрахунок кількості колб.

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

$$V_{\text{колг}} = V_{\text{кол}}/K_{\text{кол}}=3,28/0,2= 16,4 \text{ л}$$

Об'єм 1 колби

$$V_{\text{колг}}=750 \text{ мл}$$

Кількість колб при заданому $K_{\text{кол}}= 0,2$

$$N_{\text{кол}} = V_{\text{колг}}/ V_{\text{колг}}=16,4/0,75= 21,86 \text{ приймаємо } 22 \text{ колб.}$$

6.4.6 Розрахунок кількості реакторів-змішувачів для приготування композицій А, Б, В

Уточнюючий розрахунок кількості реакторів-змішувачів для приготування середовища для виробничого біосинтезу в ферментері об'ємом 5 м^3

4.6.1 Підбираємо геометричний об'єм реактор-змішувача для композиції А ферментера при заданому $K_{зб}=0,8$

$$V_{\text{Аг}} = V_{\text{А}} / K_{зб}=306,527/0,8=383,15 \text{ л}$$

Вибираємо найближчий за об'ємом реактор $V_{\text{рт}}= 400 \text{ л}$

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

$$N_{\text{р}} = V_{\text{Аг}}/ V_{\text{рт}}=383,15/400=0,95 \text{ Приймаємо до установки } 1 \text{ реактор}$$

Уточнюємо коефіцієнт заповнення вибраних з таблиці ферментерів, частка,

$$K_{зр} = V_{\text{А}}/ V_{\text{рт}} \cdot N_{\text{р}}=306,527/400 \cdot 1=0,76$$

Оскільки дане значення $K_{зр}$ знаходиться в прийнятих межах (0,7-0,85).

Приймаємо до установки кількість реакторів для приготування композиції А $N_{\text{рт}}= 1$.

4.6.2 Підбираємо геометричний об'єм реактор-змішувача для композиції Б, В ферментера

Приблизний загальний геометричний об'єм реактора-змішувача при заданому $K_{зб}=0,8$

$$V_{\text{Бг}} = V_{\text{Б}}/ K_{зб}=(4,506+11,672)/0,8 = 20,22 \text{ л}$$

Вибираємо найближчий об'єм реактор

$$V_{\text{рт}}= 25 \text{ л}$$

Кількість реакторів при заданому $K_{зб}$

$$N_p = V_{Бг} / V_{рт} = 16,178/25 = 0,63 \text{ приймаємо } 1.$$

Уточнюємо коефіцієнт заповнення вибраних ферментерів, частка, $K_{зр}$

$K_{зр} = V_{Б} / V_{рт} \cdot N_p = 20,22/25 \cdot 1 = 0,80$ Оскільки дане значення $K_{зф}$ лежить в прийнятих межах (0,7-0,85). Приймаємо до установки кількість реакторів для приготування композиції А $N_{рт} = 1$.

4.6.3 Підбираємо геометричний об'єм реактор-змішувача для композиції А для інокулятора.

Приблизний загальний геометричний об'єм реактора-змішувача при заданому $K_{зб} = 0,8$

$$V_{Бг} = V_{Б} / K_{зб} = 27,954/0,8 = 34,94 \text{ л}$$

Вибираємо найближчий об'єм реактор

$$V_{рт} = 40 \text{ л}$$

Кількість реакторів при заданому $K_{зб}$

$$N_p = V_{Бг} / V_{рт} = 34,94/40 = 0,87 \text{ приймаємо } 1.$$

Уточнюємо коефіцієнт заповнення вибраних ферментерів, частка, $K_{зр}$

$K_{зр} = V_{Б} / V_{рт} \cdot N_p = 27,954/40 = 0,7$ Оскільки дане значення $K_{зф}$ лежить в прийнятих межах (0,7-0,85). Приймаємо до установки кількість реакторів для приготування композиції А $N_{рт} = 1$.

Уточнюємо коефіцієнт заповнення вибраних ферментерів, частка, $K_{зр}$

$$K_{зр} = V_{Б} / V_{рт} \cdot N_p = 10,22/15 = 0,68$$

Приймаємо до установки кількість реакторів для приготування композиції А $N_{рт} = 1$.

4.6.4. Підбираємо геометричний об'єм збірника для приготування HCl та NaOH на стадії виробничого біосинтезу.

Розрахунок титрантів ведеться за пропорцією 2мл. на 1л. середовища

Необхідна кількість 6 % HCl – $395 \cdot 2 = 790$ м л

Необхідна кількість 6 % NaOH на стадії виробничого біосинтезу.

Необхідна кількість 6 % NaOH – 790м л.

Оскільки об'єми титрантів є досить малими, їх приготування буде проведено в колбах, а NaOH буде стерилізуватися в автоклаві.

6.5. Умовний розрахунок стадій виділення та очистки.

За попередніми розрахунками за один цикл 1.28кг. закваски. Врахуємо відсоток втрат під час виділення та очистки 20%:

$$1,28/(1-0,2)= 1,6 \text{ кг/цикл}$$

Таким чином отримуємо значення в 1.6 кг за цикл з урахуванням втрат, а значить в 395л культуральної рідини реально буде міститися 1.6 кг біомаси. Тепер обрахуємо кількість біомаси на кожному з етапів.

- 1) Сепарування. На даному етапі ми умовно втрачаємо 5%(0,08кг) біомаси, а значить на наступний етап ми будемо мати 1,52кг біомаси.
- 2) Ліофілізація. На цьому етапі ми умовно втратимо 10%(0.16кг). На етап подрібнення в нас залишиться 1.36кг.
- 3) Подрібнення несе за собою умовні втрати в 3%(0.048кг). До останнього етапу- пакування ми матимемо 1,312кг.
- 4) Пакування забезпечує нам 2%(0,032) втрат , як результат ми отримуємо остаточну кількість продукту 1.28кг.

РОЗДІЛ 7. СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ

Устаткування	Позначення	Характеристика устаткування
Дозатор об'ємно-ваговий	Д-1, Д-3, Д-8, Д-9, Д-20, Д-22	Дозатор фірми «АСВІК ЦЕНТР» ДВП-6. 1) Виробнича потужність 25кг/хв. 2) Дискретність задання дози 2г. 3) Об'єм бункеру 150л. 4) Розміри: 630*850*1750мм [36]
СІР-мийка	СІР-2	Комплексна СІР станція на дві ємності по 1000л компанії «іпоха» Матеріал: нержавіюча сталь Розміри: 5000*6400*1900 мм [37].
Реактор-змішувач РСМ-40		1) Матеріал: Нержавіюча сталь AISI 316L 2) Об'єм: 40 л. 3) Потужність: 1000об/хв 4) тип мішалки: Якірна 5) Діаметр: 480мм 6) Висота: 1800мм. 7) Можливість автоматизованої стерилізації [38]
Посівний апарат	П-6	Ферментер на 60 л фірми «Pharm technologies» ». Хар.: 1) НЖ сталь, магнітна або якорна мішалка (з наклонними лопостями), 2) діапазон швидкостей від 1 до 2000 об/хв. 3) Повний автоматичний контроль усіх показників реактора, онлайн датчик біомаси. 4) Розміри: 750*950*750 мм. 5) Титрувальніе обладнання автоматичне [39]

					НУХТ БТЕК 04.02.34 ДП ПЗ		
		№ докум.	Підпис				
		<i>Храпачевський В</i>			Літ.	Арк.	Акрушів
Керівник		<i>Буценко Л. М.</i>				82	2
Реценз.					Кафедра БТМ		
Н. Коитр.							
Затверд.		<i>Пирог Т.П.</i>			12		

РОЗДІЛ 7.
СПЕЦИФІКАЦІЯ

Насос відцентровий SM	Н-7, Н-14, Н-16, Н-18, Н-19, Н-24, Н-26	1) Продуктивність 72 м ³ / год, 2) Максимальний робочий тиск 10 бар, 3) Максимальна температура рідини, що перекачується 120 ° С, 4) Напір 55м. 5) Матеріал проточної частини: нержавіюча сталь AISI 304, AISI 316. 6) Габаритні розміри, мм., не більше: -Довжина 527 -Ширина 275 -Висота 270 [40]
Реактор-змішувач PCM-400		1) Матеріал: Нержавіюча сталь AISI 316L 3) Об'єм: 400л. 2) Потужність: 250 об/хв 3) тип мішалки: Якірна 4) Діаметр: 760мм 5) Висота: 2450мм. 6) Можливість автоматизованої стерилізації 7) Можливість підключення до СІР 8) Тип ущільнення мішалки: торцьове [41]
Ферментер	Ф-13	Ферментер 630 л фірма виробник «Pharm technologies». Хар.: 1) НЖ сталь, 2) магнітна або якорна мішалка (з наклонними лопостями), 3) діапазон швидкостей від 1 до 2000 об/хв. Повний автоматичний контроль усіх показників реактора, онлайн датчик біомаси. 4) Розміри: 800*1100*1450 мм. 5) Титрувальні обладнання автоматичне [42]

Збірник -охолоджувач	ЗБ-15	<p>1)Матеріал:нержавіюча сталь AISI 316</p> <p>2) об'єм 630 літрів</p> <p>3) Комплектація: -Перемішуючі пристрої; -Рубашки обігріву або охолодження; -Теплоізоляція; -Пульти управління; -Люки, оглядові вікна;</p> <p>4) Габаритні розміри, мм L x B x H: 1470x1120x1780 [43]</p>
Сепаратор культофуга Culturefuge 100	СК-36	<p>1) Продуктивність, від 200 до 2000 л/год</p> <p>2) Частота обертання барабана, об / хв 7 000</p> <p>3) Час набору барабаном робочого числа обертів, хв. 3 - 5</p> <p>4) Потужність електродвигуна, кВт 5,5</p> <p>5) Кількість масла для заливання в масляну ванну, л. 6 – 7</p> <p>6) Тиск очищеної рідини на виході, МПа °С 0,25 - 0,3</p> <p>7) Видалення анаеробних і аеробних колоній бактерій і суперечка, до, 0С 90</p> <p>8) Тиск буферної води, МПа (кг / см²), не менше 0,25 (2,5)</p> <p>9) Габаритні розміри, мм., не більше: - довжина 990 - ширина 800 - висота 1 250 [44]</p>
Реактор-змішувач РСМ-15	РЗ-38	<p>1)Матеріал: Нержавіюча сталь AISI 316L</p> <p>3)Об'єм:15л.</p> <p>2) Потужність: 250об/хв</p> <p>3)тип мішалки: Якірна</p> <p>4)Діаметр: 350мм</p>

		<p>5) Висота: 1350мм. 6) Можливість автоматизованої стерилізації 7) Можливість підключення до СІР 8) Тип ущільнення мішалки: торцьове [45]</p>
Реактор-змішувач РСМ-70	РЗ-40	<p>1) Матеріал: Нержавіюча сталь AISI 316L 2) Об'єм: 70 л. 3) Потужність: 1000об/хв 4) тип мішалки: Якірна 5) Діаметр: 680мм 6) Висота: 2170мм. 7) Можливість автоматизованої стерилізації 8) Можливість підключення до СІР 9) Тип ущільнення мішалки: торцьове [46]</p>
Сублімаційна сушка моделі FD-500	СС-44	<p>1) Максимальна продуктивність льоду = 60л. 2) Максимальна витрата охолоджуючої води = 12 м³/ч при тиску Р=0.2 МПа 3) Максимальна витрата стисненого повітря 10л/хв. Р=0.6...1МПа 4) Витрата пари на стерилізацію = 80 кг/ч Р= 0.2...0.3 МПа 5) Витрата пари на розморожування = 30 кг/ч Р=0.2...0.3 МПа 6) Габарити обладнання 3800*1400*2600 мм 7) Вага складає 3000кг Експлуатаційні дані 1) Швидкість охолодження полиці= 60 хв 2) Діапазон температур складає від 80 до -50°С 3) Швидкість нагріву полиці 1\хв 4) Граничний вакуум камери 2Па</p>

		<p>5) Швидкість вакуумування камери складає 30 хв(від 1 атмосфери до 10 Па в порожньому стані)</p> <p>6) Гранична температура конденсатора = - 70°C</p> <p>Матеріали з яких виготовлена сушарка :</p> <p>Камера- силікат алюмінію</p> <p>1) Ізоляція камери-поллізоціануратний пенопласт</p> <p>Розміри та площа полиць</p> <p>Розмір- 600*900*20 мм</p> <p>Кількість полиць – бшт + 1 запасна</p> <p>Площа полиці 3.24 м²</p> <p>Відстань між полицями – 75мм [47]</p>
Валковий млин SM-200	BM-45	<p>1)Вихідний матеріал: м'який, середньої твердості, міцний, еластичний, волокнистий</p> <p>2)Принцип подрібнення: зрушення, різка</p> <p>3)Початковий розмір часток :* <60 х 80 мм</p> <p>4)Кінцева тонкість: * 0,25 - 20 мм</p> <p>5)Швидкість при 50 Гц (60 Гц) 1500 об / хв</p> <p>6)Периферійна швидкість ротора 9,4 - 11,4 м / с</p> <p>7)Діаметр ротора 129,5 мм</p> <p>8)Тип ротора паралельно-секційний ротор / 6-дисковий ротор</p> <p>9)Типи воронок стандартна, довгоствольна</p> <p>10)Матеріал гарнітури: нержавіюча сталь, сталь для подрібнення без намолено важких металів, карбід вольфраму</p> <p>11)Розмір сит трапецеїдальні отвори 0,2 / 0,50 / 0,75 / 1,00 / 1,50 мм</p> <p>12)квадратні отвори 2,00 / 4,00 / 6,00 / 8,00 / 10,00 / 20,00 мм</p>

		<p>13) Системи збору проби / обсяги: collecting receptacle 5 l / optional: 30 l collecting unit 0.25 / 0.5 l cyclone-suction combination (0.25 l - 30 l)</p> <p>Привід 3-фазний двигун</p> <p>14) Потужність приводу 2,2 кВт</p> <p>15) Тип електромережі: 3-фазна</p> <p>16) Гальмо двигуна: Так</p> <p>17) Ступінь захисту : IP 54 [48]</p>
Лінія дозування та фасування упаковок саше модель S140	ЛПС-46	<p>Технічні характеристики:</p> <p>Можлива ширина «саше», мм 70 - 140</p> <p>Можлива довжина «саше», мм 100 - 200</p> <p>Максимальний обсяг «саше», см³ 250</p> <p>Продуктивність * 90</p> <p>Максимальний діаметр катушки з плівкою, мм 400</p> <p>Максимальна ширина плівки, мм 400</p> <p>Внутрішній діаметр бабіни, мм 70/76</p> <p>Споживана потужність, кВт (залежить від комплектації) 2 [49]</p>

РОЗДІЛ 8. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ

ДР 1. Санітарна підготовка виробництва та персоналу.

ДР1.1 Підготовка мийних та дезинфікувальних засобів

ДР 1.1.1. Приготування робочого розчину засобу Хлоратоїн для миття приміщення.

Для миття приміщення необхідно приготувати робочий розчин. Для цього на технічних вагах важать концентрат хлоратоїну та переносять у реактор. Закривають кришку та перемішують 5 хвилин з водою.

ДР 1.1.2. Приготування робочого розчину засобу Біомой для миття та дезинфекції обладнання.

Для миття та дезинфекції обладнання необхідно полова об'ємів цього обладнання робочого розчину у даному випадку засобу Біомой. Концентрація робочого розчину 0,3%. На технічних вагах зважують концентрат Біомою, переносять у реактор та доливають води. Вмикають мішалку і перемішують протягом 15 хв до повного розчинення.

ДР 1.2 Підготовка виробничих приміщень

ДР1.2.1 Генеральне прибирання

Генеральне прибирання проводиться 1 раз на місяць. Мийка проводиться розчином хлоратоїну. Миються як підлога так і стіни, двері, вікна.

ДР1.2.2 Щоденне прибирання

Щоденне прибирання. Мийка здійснюється лише для підлоги. Перед початком роботи персонал повинен пройти санітарно-гігієнічну підготовку, а саме миття рук туалетним або господарським милом та дезінфікацію 70%-им етиловим спиртом. Також обов'язковим є наявність медичного халату та шапочки.

ДР1.3 Підготовка обладнання

					НУХТ БТЕК 04.02.34 ДП ПЗ			
		№ докум.	Підпис					
		Храпачевський В			РОЗДІЛ 8. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ	Літ.	Арк.	Акрушів
Керівник		Буценко Л. М.					82	2
Реценз.						Кафедра БТМ		
Н. Коитр.								
Затверд.		Пирог Т.П.						

ДР1.3.1 Миття обладнання

Миття та обладнання буде проводитися вручну . Мийка проводиться мийним засобом «Біомой» (його робочим розчином) з конц 0,3%. Температура миття 80 °С.

ДР1.3.2 Технічний огляд обладнання

Обладнання проходить такі етапи: Загальний технічний огляд, перевірка на герметичність, пробний пуск, настройка параметрів

Технічний огляд апаратури проводять після миття та перед запуском процесу аби виявити наявність чи присутність дефектів у ній.

ДР1.3.3 Перевірка на герметичність.

Дана стадія стосується в першу чергу основного ферментера , інокулятора. Для цього у апарат на якому герметично затягнута вся арматура подається аераційне повітря до набору надлишкового тиску у 0,1-0,2-МПа, Перекривають прохід повітря, та фіксують показання манометра на протязі 40-60 хв. Якщо падіння тиску не перевищує 0,01 МПа – апарат є герметичним. Якщо дане значення перепаду тиску перевищує 0,01 МПа проводять перевірку і знаходять місце розгерметизації методом омилення апарата(його опорних з`єднань).

Апарат і місця з`єднань деталей апарата перевіряють мильним розчином, для цього на ферментер та місця з`єднань наносять мильний розчин та чекають певний час, у місцях розгерметизації виникають невеликі бульбашки повітря, операція триває 30-40 хв. При знаходженні місця розгерметизації затягують з`єднальну арматуру. І повторюють операцію, якщо це не дало результатів то міняють прокладки з`єднань.

ДР1.3.4 Стерилізація.

Стерилізація проводиться подачею гострої пари у апарат за температури 135 °С, упродовж 1 години.

ДР 1.4. Підготовка персоналу

Перед початком роботи персонал повинен пройти навчання, атестацію та санітарно-гігієнічну підготовку, а саме миття рук туалетним або

господарським милом та дезінфікацію 70%-им етиловим спиртом. Також обов'язковим є наявність медичного халату та шапочки.

ДР 5. Приготування титрувальних розчинів.

ДР 5.1. Приготування 6% розчинів HCl та NaOH.

Готуємо два титрувальні розчини HCl та NaOH з концентрацією 6%, для регулювання рівня рН під час стерилізації розчинів солей та нормалізації рівня рН перед початком ферментації та під час її перебігу, оскільки лактобацила виділяє молочну кислоту, що знижує рН та зменшує продуктивність біосинтезу.

Розчини титрантів готуються з розрахунку 2мл. розчину на 1 літр середовища. Розчини титрантів для інокулятора готуються в колбах. HCl не стерилізується, оскільки він додається до нестерильного поживного середовища. Розчин NaOH будемо готувати за запасом, а саме-вдвічі більше, оскільки половина розчину піде на відновлення рівня рН до нейтрального, а інша половина буде використана для корекції рівня рН під час ферментаційного процесу. Розчин NaOH готуємо у колбах та стерилізуємо а автоклаві за температури 131°C впродовж 20 хв.

Розчини титрантів для посівного апарату:

HCl: $2 * 2,98 = 5,96$ мл.

NaOH: $2 * 2,98 = 5,96$ мл.

Розчини титрантів для посівного апарату:

HCl: $2 * 32,72 = 65,44$ мл.

NaOH(беремо подвійний об'єм розчину) : $4 * 32,72 = 130,88$ мл.

Розчини титрантів для ферментера:

HCl: $2 * 359 = 718$ мл.

NaOH(беремо подвійний об'єм розчину) : $4 * 359 = 1436$ мл.

ДР 6. Приготування та стерилізація поживних середовищ.

ДР 6.1. Приготування і стерилізація поживного середовища для вирощування інокуляту в колбах.

Для приготування поживного середовища, для культивування в колбах наведемо розрахункову *таблицю 6.1*. Для здешевлення процесу виробництва об'єднаємо композиції солей Б і В.

ДР 6.1.1 Приготування і стерилізація композиції А.

За допомогою аналітичних терезів зважуємо компоненти композиції А, та перемішуємо з теплою водою у колбі, стерилізація буде проходити в автоклаві за температури 112°C упродовж 30 хв.

ДР 6.1.2 Приготування і стерилізація композиції Б.

Композиції солей Б відважують на аналітичних терезах та засипають у колбу та наповнюють теплою водою для кращого розчинення компонентів, через дуже малу кількість солі не вступають в реакцію, тому додавання титрантів до композиції на даному етапі не є обов'язковим. Стерилізація солей проходить за температури 131 °С впродовж 30 хв.

Таблиця 8.1

Розрахунок поживного середовища для вирощування в колбах.

Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	Кількість для приготування 2,98 середовища, кг (л)	Композиція	Об'єм композиції, V, л
Глюкоза	6,9	0,020	А	2,83
Дріжджовий екстракт	38	0,112		
Вода		2,695		
MgSO ₄ *7H ₂ O	0,6	0,0018	Б	0,15
MnSO ₄ *4H ₂ O	0,03	0,000089		
FeSO ₄ *7H ₂ O	0,03	0,000089		
Вода		0,0393		
Ацетат натрію	1	0,00296		

K ₂ HPO ₄	0,16	0,00047		
KH ₂ PO ₄	0,55	0,00163		
Вода		0,103		
Всього			2,98л	

ДР 6.2. Приготування і стерилізація поживного середовища для вирощування інокуляту в посівному апараті на 60л.

Таблиця 8.2

Розрахунок поживного середовища для вирощування в посівному апараті на 60л.

Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	Кількість для приготування 32,72л середовища, кг (л)	Композиція	Об'єм композиції, V, л
Глюкоза	6,9	0,226	А	27,954
Дріжджовий екстракт	38	1,243		
Вода		26,485		
Конденсат		3,106		3,126
MgSO ₄ *7H ₂ O	0,6	0,0196	Б	1,476
MnSO ₄ *4H ₂ O	0,03	0,00098		
FeSO ₄ *7H ₂ O	0,03	0,00098		
Ацетат натрію	1	0,033		
K ₂ HPO ₄	0,16	0,0052		
KH ₂ PO ₄	0,55	0,018		
Вода		1,398		
Конденсат		0,146		0,146
Всього			32,72л	

ДР 6.2.1 Приготування і стерилізація композиції А.

Для змішування композиції А використовуємо реактор-змішувач на 40 літрів з сорочкою для нагріву, за допомогою об'ємно-вагового дозатора зважуємо необхідні складові та доливаємо теплої води, після чого проводимо стерилізацію композиції А у реакторі-змішувачі за 112°C упродовж 30 хв.

ДР 6.2.2 Приготування і стерилізація композиції Б.

Композицію Б через її малий об'єм можна змішувати у великій колбі на 3л з коефіцієнтом заповнення 0,5. Відважуємо необхідні компоненти на аналітичних терезах, засипаємо їх у колбу, та доливаємо теплої води. Тепер, коли солі розчинилися у воді, їх вносять до посівного апарату. Після чого підкислюємо за допомогою HCl до рН-4.5 для того, щоб солі не реагували між собою під час стерилізації. Стерилізуємо за температури 131 °C впродовж 30 хв. Після стерилізації до Композиції Б додають композицію А та підлужнюють до рН 7.0 за допомогою 6%-го NaOH.

ДР 6.3. Приготування і стерилізація поживного середовища для біосинтезу в ферментері.

Таблиця 8.3

Розрахунок поживного середовища для ферментера

Компонент поживного середовища	Вміст г/л	Кількість для приготування середовища, кг (л)	Композиція	Об'єм композиції, V, л
Глюкоза	,9	2,476	А	306,527
Дріжджовий екстракт	8	13,641		
Вода		290,41		
Конденсат		34,08		34,08

MgSO ₄ *7H ₂ O	,6	0,215	Б	16,183
MnSO ₄ *4H ₂ O	,03	0,010		
FeSO ₄ *7H ₂ O	,03	0,010		
Ацетат натрію		0,358		
K ₂ HPO ₄	,16	0,057		
KH ₂ PO ₄	,55	0,197		
Вода		15,336		
Конденсат		1,82		
Всього		359 л		

ДР 6.3.1 Приготування і стерилізація композиції А.

Композицію А стерилізуємо у збірнику-змішувачі на 400літрів. За допомогою об'ємно-вагового дозатора відважуємо необхідну кількість інгредієнтів та заповнюємо реактор необхідною кількістю теплої води і перемішують. Стерилізація проходить за 112°C упродовж 30 хв.

ДР 6.3.2 Приготування і стерилізація композиції Б.

Композицію Б відважують за допомогою об'ємно-вагового дозатора у реактор на 25 літрів та наливають необхідну кількість теплої води і перемішують. Після перемішування композицію Б переливають у ферментер, де її підкислюють НСІ до рівн рН-4.0-4.5, після чого стерилізують за температури 131 °С впродовж 30 хв. Після закінчення стерилізації, до ферментера перекачують композицію А, підлюжнюють за допомогою NaOH до значення рН 7.0.

ДР 7. Приготування та стерилізація захисного середовища.

Захисне середовище має такий склад: сахарозу(10%), знежирене молоко(17%) та желатин(4%), дані компоненти розраховуються у відсотках від загальної ваги біомаси клітин. З попередніх розрахунків маємо, що до процесу ліофілізації біомаса мала вагу 1,52кг. Сахароза- 0,152кг, Желатин- 0,06кг, Знежирене молоко -0,26кг. Оскільки в складі є желатин, його стерилізують окремо, тому доцільно буде розділити його на дві композиції.

ДР 7.1. Приготування та стерилізація захисного середовища.

ДР 7.1.1. Приготування та стерилізація сахарози та знежиреного молока.

Компоненти поживного середовища, а саме: сахарозу, знежирене молоко з дистильованою водою(у співвідношенні 1:2) вносять у ректор змішувач РЗ-40 і перемішують до однорідної маси. Потім стерилізують за температури 112°C та тиску 0.2МПа упродовж 20 хв.

ДР 7.1.2. Приготування та стерилізація желатину.

Желатин готують в окремому реакторі РЗ-36, оскільки його стерилізують в реакторі при температурі 130°C (тиск 0,18 МПа) на протязі 2 год. Перед тим, як простерилізувати желатин, його розводять з водою у співвідношенні 1:10 та перемішують за температури 40-45 °С. Після желатин залишають набухати(час залежить від якості желатину). Коли желатин набухне, його перемішують до розчинення та стерилізують.

Після стерилізації желатин охолоджують та перекачують у реактор РЗ-40 з сахарозо-молочним середовищем, де перемішують до однорідної маси та стерилізують при 112°C та тиску 0.2МПа упродовж 20 хв.

ТП 8. Підготовка посівного матеріалу

ТП 8.1. Підтримання колекційної культури

Колекційну культуру *Lactobacillus acidophilus* АТТС 4356 зберігають у ампулах у ліофілізованому вигляді. Кожні 3-4 місяці здійснюють пересіви. Завжди при роботі з колекційною культурою дотримуються асептичних умов.

ТП 8.2. Вирощування культури в колбах

В колбу об'ємом 1 л в асептичних умовах вносять композицію А (від ДР 6.1.1), композицію Б (від ДР 6.1.2) та перемішують. Далі розливають в 4 в колби об'ємом 200 мл таким чином, щоб простір між рівнем середовища і пробкою був мінімальний.

Для одержання посівної культури використовують флакони (ампули) з ліофілізованою робочою культурою лактобактерій (10^8 — 10^9 КУО/см³) (від ТП 8.1), у які вносять фізіологічний розчин хлориду натрію (1 см³ на дозу), ретельно перемішують і переносять у колби з поживним середовищем. Вирощують культуру в термостаті при 37⁰С упродовж 31 год.

По закінченню процесу проводять мікробіологічний аналіз культуральної рідини кожної колби.

Після проведення мікробіологічного контролю посівний матеріал з колб вносять в стерильну засівну колбу об'ємом 1 л.

ТП 8.3. Вирощування культури в посівному апараті 60 л

Композицію А (від ДР 6.2.1) та посівний матеріал (від ТП 3.2) подають в посівний апарат з композицією Б (від ДР 6.2.2). Тривалість культивування складає 31 год при 37⁰С.

Кожні 2 години з інокулятора відбирають проби культуральної рідини для мікробіологічного контролю та визначення концентрації біомаси, яка для посівного матеріалу 31 годину культивування повинна становити 10^9 КУО/мл.

ТП 9. Біосинтез

Виробниче культивування здійснюють у ферментері з робочим об'ємом 630 л за таких параметрів: температура (37±1) °С; рН 6,0—6,5 (регулюють 6%-м розчином NaOH(від ДР 5.1)); тривалість 31 год. Упродовж процесу біосинтезу періодично (щогодини на 10 хв) вмикають перемішувальний пристрій (70 об/хв). В ферментер, де міститься композиція Б (від ДР 6.3.2) за допомогою насоса надходить композиція А (від ДР 6.3.1) і вносять посівний матеріал (від ТП 8.3). Також додатково додають 290 л дистильованою водою.

Через кожні 2 год культивування з ферментера відбирають проби культуральної рідини для мікробіологічного контролю і визначення концентрації живих клітин. Процес культивування зупиняють після досягнення концентрації лактобактерій на рівні 10^9 КУО/см³ та стабілізації рівня рН, що свідчить про закінчення росту та розмноження клітин. [50,51].

По закінченню біосинтезу, культуральну рідину перекачують до збірника та охолоджують до 25°C.

ТП 10. Сепарація клітин

ТП.10.1. Сепарація клітин від залишків поживного середовища.

Охолоджена до 25°C в збірнику ЗБ-34 культуральна рідина подається у культофугу СК-36 та сепарується протягом 15хвилин при 4000об/хв. Просепарована клітинна маса подається на стабілізацію ТП4.1 [52]

ТП11.Одержання напівфабрикату

ТП.11.1. Стабілізація біомаси.

Клітинна маса була просепарована, її подають у РЗ-40, перемішують з захисним середовищем протягом 7-10 хв за температури 35-40 °С. та передають на заморожування ТП5.1.

ТП12.Сушіння препарату

ТП.12.1. Заморожування препарату.

Стабілізована біомаса від ТП4.1 розливається на піддони сублімаційної сушарки СС-44 висотою не більше 1.5 см. Перед процесом сублімаційного висушування проводять заморожування за температури -50 на протязі 20годин.

ТП.12.2. Сублімаційна сушка.

Після того, як заморожування буде закінчено, вмикається вакуумний насос, величина вакуумування дорівнює 13Па. Через годину система підключає циркуляцію теплоносія, що плавно підігріває сушильний матеріал до температури 34°C за якої проходить сушіння на протязі 20ти годин. [53]

ТП13. Подрібнення та аналіз(ситовий)

ТП 13.1. Подрібнення ліофілізованої біомаси. Для подрібнення ліофілізовані пласти вручну переносять до валкового млина ВМ-38. Після

подрібнення проводять ситовий аналіз матеріалу за допомогою сита з діаметром пор 0.3мм. Після чого порошкоподібна маса переходить на наступний етап

ТП14. Фасування, пакування та маркування

ТП 14.1. Фасування закваски в упаковку типу саше та маркування.

Подрібнена порошкоподібна маса від ТП6.1 подається до фасувально-пакувальної машини ФПС-46, де розсипається по пакетикам по 2г. Пакетики приходять на виробництво вже промарковані згідно замовлення заводу виробника, після наповнення пакетика запаюють. Лазером наноситься маркування: номер партії, дата виробництва та кінцева дата споживання.

ТП 14.2. Пакування у вторинну тару.

Пакетики саше упаковують у вторинну упаковку по 7шт. Вторинна упаковка вироблена з картону. Вона поступає на виробництво з вже нанесеною основною інформацією, потім її також маркують відповідно до серії та дати вироблення та кінцевої реалізації.

ТП 14.3. Фасування у транспортівочну тару.

Після того, як автоматична лінія упакує необхідну кількість пакетиків по картонних коробках, персонал може приступити до пакування у транспортівочні ящики, які потім відносять на склад та зберігають відповідно до номера партії, до моменту реалізації.

ТП15.Знешкодження відходів

ТП 15.1. Знешкодження рідких відходів. Перед тим, як почати процес очистки рідких відходів потрібно вирівняти їх значення рН на рівні 6,5 – 7,5. Для очистки рідких відходів будемо використовувати оксітенк. Оксітенки - це споруди біологічної очистки, в яких замість повітря використовується технічний кисень або повітря, збагачене киснем. Основною відмінністю оксітенка від аеротенках, що працює на атмосферному повітрі, є підвищена концентрація мулу. Це пов'язано зі збільшеним масообмінним кисню між газовою і рідкою фазами. Конструктивна схема оксітенку має резервуар круглої форми з циліндричної перегородкою, яка відокремлює зону аерації від зони іловідділення.

Рекомендована концентрація мулу в оксітенках становить 6-8 г / л. Можлива робота даного пристрою і при більш високих концентраціях активного мулу.

Принцип роботи. Стічна вода надходить в зону аерації по трубі. Під впливом швидкісного напору, що розвивається турбоаератором, ілова суміш через вікна надходить в іловідділення, в якому рідина рухається по колу; при цьому відбуваються інтенсивне відділення та ущільнення мулу. Очищена вода проходить через шар зваженого активного мулу, доочищується від різних забруднень, надходить в збірний лоток і відводиться по трубці. Зворотний активний мул опускається по спіралі вниз і через вікна надходить в камеру аерації.

РОЗДІЛ 9. КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА

З метою здійснення мікробіологічного контролю (визначення сторонньої мікрофлори, визначення загальної кількості клітин і кількості живих клітин), а також визначення концентрації вуглецю упродовж культивування періодично (кожні 8 годин) з ферментера відбирають проби культуральної рідини.

Контроль мікробіологічний (мікроскопіювання). Мікроскопіювання проводять у світловому мікроскопі з імерсійною системою. Для приготування препарату на чисте знежирене предметне скло, в асептичних умовах, за допомогою стерильної петлі наносять невелику краплину культуральної рідини. Краплю, яка містить клітини мікроорганізмів, розподіляють по склу за допомогою бактеріальної петлі (діаметр мазка близько 1 см). Мазок висушують при кімнатній температурі до повного випаровування вологи. Потім на сухий препарат за допомогою скляної палички наносять 1-2 краплини імерсійного масла та мікроскопіюють .

За відсутності у зразку сторонньої мікрофлори під час мікроскопіювання можна побачити клітини *Lactobacillus acidophilus*. Клітини даного мікроорганізму мають вигляд великих прямих із закругленими кінцями паличок, які розташовані поодинокі або утворюють ланцюжки (рис. 5.1).

						НУХТ БТЕК 04.02.34 ДП ПЗ		
		№ докум.	Підпис					
		<i>Храпачевський В</i>			РОЗДІЛ 9. КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА	Літ.	Арк.	Акрушів
<i>Керівник</i>		<i>Буценко Л. М.</i>					94	2
<i>Реценз.</i>				Кафедра БТМ				
<i>Н. Коитр.</i>								
<i>Затверд.</i>		<i>Пирог Т.П.</i>						

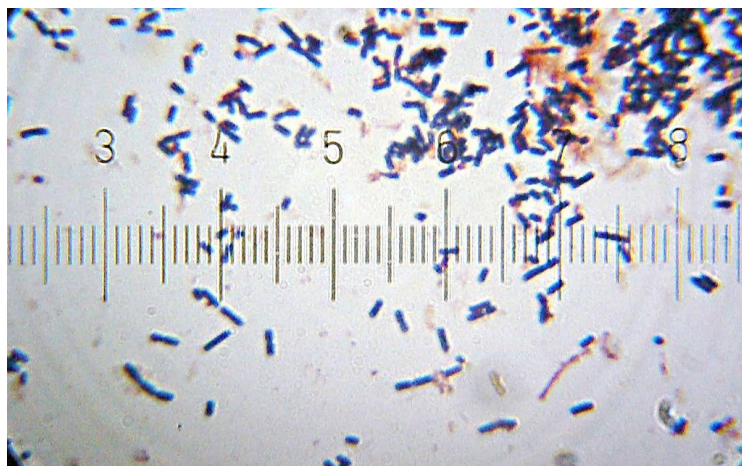


Рис. 5.1. Клітини *Lactobacillus acidophilus* під мікроскопом.

Визначення загальної кількості клітин. При кожному відборі культуральної рідини з ферментера вимірюють оптичну густину отриманої клітинної маси при 595 нм за допомогою спектрофотометра. Оптичну густину за калібрувальним графіком переводять в КУО/см³.

У пробірки із 9 мл стерильної води вносять по 1 мл культуральної рідини. Суміш перемішується, і потім вимірюється оптична густина.

Процес культивування зупиняється після досягнення концентрації бактерій на рівні 10⁹ КУО/см³.

Визначення кількості живих клітин (на етапі підготовки посівного матеріалу). Для визначення життєздатних бактеріальних клітин використовують серійні розведення (метод Коха) з наступним висівом в агаризоване середовище MRS. Кожен зразок культивується в чашках у двох повторностях при 37 °С протягом 31 год .

Визначення концентрації джерела вуглецю. Для культивування *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 використовується поживне середовище, джерелом вуглецю в якому є глюкоза.

Хімічні методи визначення вуглеводів базуються на окисненні вуглеводів, що містять вільну альдегідну або кетонну групу, певними хімічними реактивами – оксидами важких металів: оксидом міді, йодом, сполуками заліза та іншими сполуками. Оксиди металів окиснюючи цукри, відновлюються. Кількість відновленої речовини еквівалентна вмісту вуглеводу в досліджуваному розчині.

Для визначення концентрації глюкози використовується метод гарячого титрування заснований на здатності редукуючих вуглеводів відновлювати в лужному розчині Cu (II) в Cu (I) і полягає в тому, що лужний розчин міді (реактив Фелінга) у процесі кип'ятіння титрують розчином вуглеводу у присутності метиленової сині як індикатора. Особливістю є те, що в розчині I міститься метиленова синь, яка надає синього забарвлення реакційній суміші доти, поки в розчині немає редукувальних речовин. Якщо в реакційну колбу попадає хоч одна надлишкова крапля редукувальних вуглеводів, метиленова синь переходить у безбарвну лейкосполуку.

Спочатку визначають титр (Т) мідно-лужного розчину за кількість вуглеводу, еквівалентну 10 см^3 мідно-лужного розчину, титруванням суміші розчинів I та II стандартним розчином глюкози:

$$T = 1,0 \cdot V,$$

де V – об'єм стандартного розчину вуглеводу, що пішов на титрування, см^3 ; $1,0$ – масова частка глюкози в 1 см^3 стандартного розчину вуглеводу, мг [55].

Визначення рН культуральної рідини. Контроль рН та автоматичне підлужнення середовища, в разі потреби, здійснюється за допомогою рН-датчика встановленого на ферментері. Його значення повинно бути в межах 6,0-6,5.

Контроль стерильності захисного середовища.

Випробування на стерильність захисного середовища, після процесу стерилізації, здійснюють шляхом його висіву на середовище МПА і середовище Сабуро.

Для аналізу у асептичних умовах відбирають 1 мл захисного середовища, яке потім вносять у пробірку зі 9 мл стерильної води. Стерильною градуйованою піпеткою набирають 1,0 мл утвореної суспензії і виливають його в стерильні чашки Петрі. Після цього матеріал заливають 15–20 мл розтопленого й охолодженого до 45–50 °С МПА. Обережно похитуючи чашку, круговими рухами по поверхні стола перемішують у ній матеріал, досягаючи рівномірного розподілу в середовищі. Дослід

здійснюють у трьох повторностях. Чашки залишають закритою до повного застигання агару, а потім перевертають догори дном. Посів на середовище Сабуро здійснюють мікробіологічною петлею над полум'ям пальника. Петлею відбирають утворену суспензію, відкривають чашку Петрі над вогнем з одного боку і зигзагом (штрихом) проводять петлею по поверхні середовища. Дослід також здійснюють у трьох повторностях. Потім закривають чашки та перевертають догори дном.

Посіви на МПА витримують у термостаті за температури $(38\pm 1)^\circ\text{C}$ упродовж 48 год, на середовищі Сабуро – за $(22\pm 1)^\circ\text{C}$ протягом 72 год. Після інкубації посівів на протязі зазначених термінів на середовищах МПА та середовищі Сабуро не повинно спостерігатися жодного росту мікроорганізмів. [54]

Аналіз залишкової вологи

Залишкову вологість оцінювали з використанням вакуумної печі (Gallenkamp). Ліофілізовані культури зважували і висушували при 100°C до тих пір, поки не спостерігалася подальша зміна маси. Невелику кількість повітря, висушеної при проходженні через концентровану H_2SO_4 , пропускали в піч при сушінні. Процентний вміст вологи оцінювали по:

$$\% \text{ вологості} = (W_0 - W_1) / W_0 \times 100,$$

де W_0 - початкова вага зразка, а W_1 - вага зразка після сушіння. Виміри проводилися в трьох примірниках. Вологість продукту за ГОСТ 34372-2017 має становити 2-6% [55]

Аналіз життєздатності бактерій(ліофілізація)

Життєздатний підрахунок бактерій проводять до і після сублімаційної сушки.

окремо. Зібрані клітини або висушений бактеріальний порошок додавали в асептичні фізіологічний розчин для серії розведень (10x). Після цього 1 мл бактеріальної суспензії вводили в чашку з агаром MRS рівномірним покриттям, а потім чашки тримали при 37°C протягом 48

годин. Життєздатність *L. acidophilus* визначали за стандартний методом підрахунку колоній на агаризованому середовища MRS.

Життєздатність клітинної суспензії за наступним рівнянням:

Коефіцієнт пристосованості (%) =

(КУО / мл після ліофілізації) / (КУО / мл після ліофілізації) 100% [57]

Оцінка якості готової закваски

Після отримання готової сухої закваски потрібно провести контроль кислотоутворювальної активності (титрованої °Т та активна рН) згідно з ГОСТ 3624, згідно з ГОСТ 26781. Вимоги титрованої та активної кислотності [58,59]:

- Титрована – 75...130 °Т
- Активна- рН =4,7...3,9

Оцінка мікробіологічних показників:

- Кількість життєздатних молочнокислих бактерій, КУО в 1 г, не менше ніж; — для ацидофільного молока (*Lactobacillus acidophilus*). Згідно з ГОСТ 33951. Норма – $1 \cdot 10^7$ [57].
- Бактерії групи кишкових паличок (коліформи), в 0,1 г Згідно з ГОСТ 32901. Норма- не дозволено. [58]
- Визначення наявності дріжджів і пліснявих грибів, КУО в 1 г. ГОСТ 33566. Норма – гриби 50, дріжджі – $1 \cdot 10^3$. [59]
- Патогенні мікроорганізми, зокрема бактерії роду *Salmonella*, в 25 г. Згідно ГОСТ 31659. Норма- не дозволено. [60]
- *Staphylococcus aureus*, в 1,0 г. Згідно ГОСТ 30347. Норма- не дозволено. [61].

Карта постадійного контролю виробництва біомаси *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356

Номер контрольної точки та стадії	Об'єкт контролю та показник, що визначається	Засоби та методи контролю	Періодичність перевірки та порядок відбору проб	Нормативна характеристика показника, що визначається
1	2	3	4	5
Кх, 1.1.1 Приготування розчину засобу Хлоратоїн	Концентрація розчину Хлоратоїну	Хімічний метод	Після приготування розчину	C=2 %
Кх, 1.1.2 Приготування розчину засобу Біомой	Концентрація розчину Біомой	Хімічний метод	Після приготування розчину	C=0.3%
Кт 1.2.1 Підготовка виробничих приміщень	Підлога, стіни, обладання, чистота	Візуальний огляд	Після прибирання	Чисте приміщення, відсутність пилу та бруду

Кт 1.3.1 Миття розбірних частин обладнанн я	Розбірні частини обладнання, мийний розчин, його температура, чистота	Термометр технічний	Під час проведення операції	T =80 ⁰ C
Кт 1.3.2 Миття обладнання	Мийний розчин для обладнання, температура мийного розчину, чистота	Термометр технічний, годинник	Під час проведення операції	T =80 ⁰ C t- 1 год
Кт 1.3.3 Перевірка на герметичні сть	Герметичніст ь роботи обладнання, час роботи, тиск	Манометр технічний, годинник	Тиск визначається безперервно під час	t- 0,5 год P= 0.07мПа
Кт 1.3.4 Стерилізац ія обладнанн я	Обладнання, температура стерилізації, час	Термометр, годинник	Температура визначається безперервно під час виконання операції	t- 0,5 год T=135 ⁰ C
Кт, КХ 5.1. Стерилізація і приготуванн я NaOH	NaOH, концентрація температура час та тиск.	Манометр технічний, годинник, термометр	Температура та тиск визначається безперервно під час виконання операції	t- 0,5 год T=131 ⁰ C P= 0.18мПа C= 6%

Кт, КМ 6.1.1 Стерилізація і приготування поживного середовища для вирощування в колбах	Поживне середовище температура час та тиск. Мікробіологічна чистота	Манометр технічний, годинник, термометр	Температура та тиск визначається безперервно під час виконання операції, мікроскопіювання	t- 0,5 год T=112 ⁰ С P= 0.2мПа Відсутність сторонньої мікробіоти
Кт, КМ 6.1.2 Стерилізація і приготування поживного середовища для вирощування в колбах	Поживне середовище температура час та тиск. Мікробіологічна чистота	Манометр технічний, годинник, термометр	Температура та тиск визначається безперервно під час виконання операції, мікроскопіювання	t- 0,5 год T=131 ⁰ С P= 0.18мПа Відсутність сторонньої мікробіоти
Кт, КМ 6.2.1 Стерилізація і приготування поживного середовища для вирощування в посівному апараті	Поживне середовище температура час та тиск. Мікробіологічна чистота	Манометр технічний, годинник, термометр	Температура та тиск визначається безперервно під час виконання операції, мікроскопіювання	t- 0,5 год T=112 ⁰ С P= 0.2мПа Відсутність сторонньої мікробіоти
Кт, КМ 6.2.2 Стерилізація і приготування поживного середовища для вирощування в посівному апараті	Поживне середовище температура час та тиск. Мікробіологічна чистота	Манометр технічний, годинник, термометр	Температура та тиск визначається безперервно під час виконання операції, мікроскопіювання	t- 0,5 год T=131 ⁰ С P= 0.18мПа Відсутність сторонньої мікробіоти

Кт, КМ 6.3.1 Стерилізація і приготування поживного середовища для біосинтезу	Поживне середовище температура час та тиск. Мікробіологічна чистота	Манометр технічний, годинник, термометр	Температура та тиск визначається безперервно під час виконання операції, мікроскопіювання	t- 0,5 год T=112 ⁰ С P= 0.2мПа Відсутність сторонньої мікробіоти
Кт, КМ 6.1.3 Стерилізація і приготування поживного середовища для біосинтезу	Поживне середовище температура час та тиск. Мікробіологічна чистота	Манометр технічний, годинник, термометр	Температура та тиск визначається безперервно під час виконання операції, мікроскопіювання	t- 0,5 год T=131 ⁰ С P= 0.18мПа Відсутність сторонньої мікробіоти
Кт, КМ 7.1.1 Стерилізація і приготування захисного середовища	Захисне середовище температура час та тиск. Мікробіологічна чистота	Манометр технічний, годинник, термометр	Температура та тиск визначається безперервно під час виконання операції, мікроскопіювання	t- 20 год T=112 ⁰ С P= 0.2мПа Відсутність сторонньої мікробіоти
Кт, КХ 7.1.2 Стерилізація і приготування захисного середовища	Захисне середовище температура час та тиск. Мікробіологічна чистота	Манометр технічний, годинник, термометр	Температура та тиск визначається безперервно під час виконання операції, мікроскопіювання	t- 2 год T=130 ⁰ С P= 0.18мПа Відсутність сторонньої мікробіоти
КМ Кт 8.1 Вирощування культури в колбах	Культуральна рідина, температура Мікробіологічна чистота, час культивування	годинник, термометр	Температура визначається безперервно під час виконання операції, мікроскопіювання	t- 31 год T=37 ⁰ С Відсутність сторонньої мікробіоти

КМ Кт 8,3 Вирощування культури в посівному апараті	Культуральна рідина, температура Мікробіологі чна чистота, час культивуванн я	годинник, термометр	Температура визначається безперервно під час виконання операції, мікроскопіювання	t- 31 год T=37 ⁰ C Відсутність сторонньої мікробіоти
КМ,Кт.9 Біосинтез	Культуральна рідина, мішалка температура Мікробіологі чна чистота, час культивуванн я	годинник, термометр, тахометр	Температура визначається безперервно під час виконання операції, обертова швидкість мікроскопіювання	t- 31 год T=37 ⁰ C N=70об/хв Відсутність сторонньої мікробіоти
Кт,3,1Сепар ація клітин	Робота сепаратора, частота обертів та тиск на вході.	годинник ,апарат виміру обертів.	Частота обертів контролюється системою апарату постійно, час сепарації .	t=15 хв N=4000об/ хв
Кт,Км,4.1, стабілізація культуральн ої рідини	Культуральна рідина, час перемішування, мікробіологічн ий контроль.	годинник, мікробіоло- гічний контроль	час перемішування, мікробіологічни й контроль- після	t=7-10 хв Відсутніст ь сторонньої мікробіоти

Кт, 5,1 Заморожування препарату	Препарат захисним середовищем температура, час.	3 Термометр технічний, годинник,	Температура визначається безперервно під час заморожування	$T=-50^{\circ}\text{C}$ $t=20\text{год}$
Кт 5.2 Сублімаційне сушіння	Обладнання Тривалість сублімаційного сушіння, температура сушіння, тиск	Манометр, годинник, термометр технічний	Тиск, температура визначається безперервно під час сублімаційного сушіння	$t= 34^{\circ}\text{C}$, $\tau = 20 \text{ год}$, $P=26\text{Па}$
Кт 7.1 Пакування препарату в пакетика-саше та маркування	Пакетик-саше Вага одного пакетика Відповідність номеру серії та дати нанесеної лазером	Ваги Візуальний огляд	Вага пакетика-саше визначається безперервно під час пакування препарату Маркування пакетика-саше визначається безперервно під час пакування препарату	$m=0.2 \text{ г}$, Відповідність дати та номеру серії

Кт 7.2 Пакування у вторинну тару	Пакетик- саше Відповідна кількість в коробці	Візуальни й огляд	Кількість пакетиків- саше визначається після процесу пакування препарату	По 5 пакетів саше в коробці
---	--	----------------------	---	--------------------------------

РОЗДІЛ 10. АВТОМАТИЗАЦІЯ ВИРОБНИЦТВА

Харчова промисловість з кожним роком набирає новий темп розвитку. Прискоренню прогресу в даній галузі господарства сприяє автоматизація управління. Вперше такі системи управління з'явилися в 70-80 роки минулого століття. Саме тоді активно почала впроваджуватися різні види технічних засобів.

Комп'ютери та інша мікропроцесорна техніка, що впровадили в харчову промисловість, сприяла тому, що в даній галузі стали використовуватися найновітніші, технічно складні автоматизовані системи управління. Саме вони привели до того, що був інтегрований в єдине ціле весь виробничий процес на підприємствах харчової промисловості.

До сих пір головним завданням автоматизації даної галузі є формування комп'ютерно-інтегрованого виробництва. Для цього створюються різні комплекси програм, що дозволяють інтегрувати процес управління на підприємстві або заводі. Автоматизується в даному випадку не окремий виробничий процес, а цілий комплекс, який характеризується складними взаємозв'язками між його підсистемами. Останнім часом були розроблені такі автоматизовані системи управління харчової промисловості, які мають широкий спектр функціональних можливостей. Технічні параметри даних систем поставлені таким чином, що система працює оперативно, швидко і надійна. Також вона дуже комфортна у використанні оператором.

Багатофункціональність автоматизованої системи управління харчової промисловості ґрунтується на можливості різноманітного графічного відображення інформації. Так сучасні системи дозволяють оперативно створювати динамічні мнемосхеми, графіки, таблиці і т.п. Робота проводиться не тільки з реальними даними, а й з тими, що були збережені і заархівовані.

					НУХТ БТЕК 04.02.34 ДП ПЗ			
		№ докум.	Підпис					
		<i>Храпачевський В</i>			РОЗДІЛ 10.	Літ.	Арк.	Акрушів
<i>Керівник</i>		<i>Буценко Л. М.</i>			АВТОМАТИЗАЦІЯ		6	2
<i>Реценз.</i>					ВИРОБНИЦТВА	Кафедра БТМ		
<i>Н. Коитр.</i>								
<i>Затверд.</i>		<i>Пирог Т.П.</i>						

Все це дозволяє працювати настільки оперативно, щоб під час вловити сигнали тривоги про аварійну ситуацію, простоях, щоб ефективніше управляти виробництвом і отримувати найкращі результати. При розробці АСУ харчової промисловості застосовуються багатоконтурні системи. У них реалізуються такі чимало важливі принципи для харчової промисловості, як адаптація, компенсація збурень, а також розкриваються структури каскадних систем, системи тривоги і сигналів і т.п.

До ключових переваг впровадження автоматизації можна віднести наступне:

- скорочення часу, який витрачається на виконання конкретної операції;
- зменшення людського фактора;

- підвищення точності виконаних операцій;
- скорочення персоналу;
- уніфікація обладнання;
- можливість впровадження нових технологій і складних операцій;
- збільшення безпеки на окремих ділянках виробництва.

Автоматизація харчових виробництв на сьогоднішній день є однією з ключових тем сучасного ведення бізнесу. Незалежно від галузі виробництва продуктів харчування, модернізація ліній і окремого обладнання з подальшим переходом на автономну роботу - гарантія вигідного вкладення грошових коштів, поліпшення якісних показників підприємства та можливість впровадження сучасних технологій.

10.1. вибір ділянки та її опис

Для опису було обрано ділянку після ферментаційного процесу виділення біомаси *Lactobacillus acidophilis* для виготовлення сухої ацидофільної закваски.

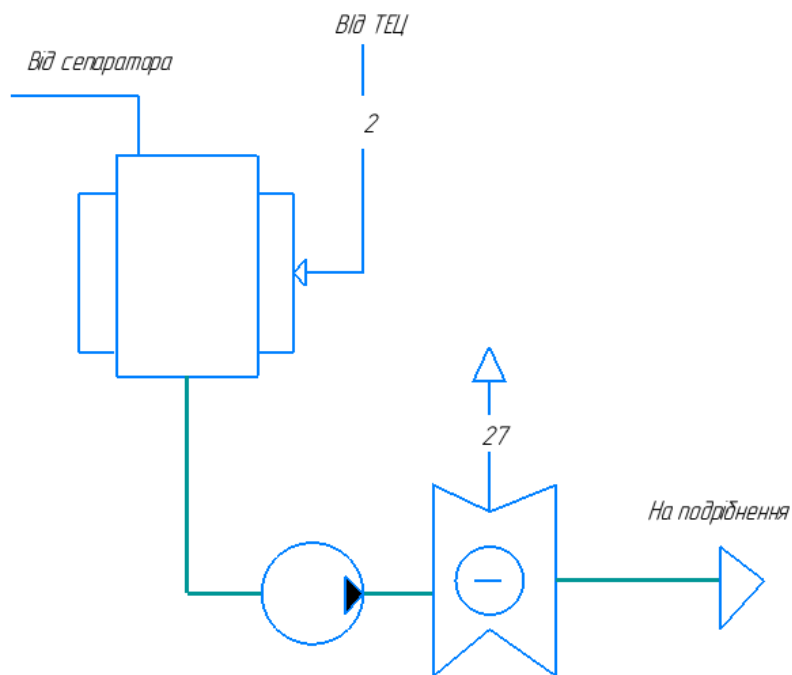


Рис. 10.1 Ділянка автоматизації

На рис.10.1. зображено ділянку, що потрібно автоматизувати. Вона складається з реактора змішувача, насоса та сушарки.

Завдання на автоматизацію

№ зп	Машинна, агрегат, установка	Параметр, місце відбору сигналу	Припустиме значення параметра	Вид автоматизації	Характер контролю чи управління	Засоби управління та контролю, реалізації управляючої дії
1	Реактор-змішувач	Температура в Реакторі	$37 \pm 2^{\circ}\text{C}$	Контроль	Відображення, реєстрація	АРМ оператора
				Регулювання	Стабілізація	Вплив на витрату пари
3	Сублімаційна сушарка	Температура заморозки	$-50^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$	Контроль	Відображення, реєстрація	АРМ оператора
				Регулювання	Стабілізація	Вплив на подачу холодоагента
		Температура сушіння	$32^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$	Контроль	Відображення, реєстрація	АРМ оператора
				Регулювання	Стабілізація	Вплив на подачу теплоносія(масло)
		Вакуумний тиск	$13\text{Па} \pm 0, 2\text{Па}$	Контроль	Сигналізація	АРМ оператора

Специфікація засобів автоматизації

Позиція	Параметр	Місце установки	Найменування характеристика приладу	Тип моделі	Завод виготовлювач
1	2	3	4	5	6
1a	Температура перемішування	Всередині реактора	Температурний датчик з чутливим елементом опору. Діапазон температур -50-250 °С, матеріал чутливого елемента - мідь	TSM 50M	АТ. «Овен»
1б	Температура Перемішування	На щиті	Універсальний нормуючий перетворювач для встановлення в шкаф управління, вихідний сигнал термометра опору/термопари, вихідний сигнал - 4...20 мА, напруга живлення --= 24 В	НПТ1	АТ «Овен»
2a	Температура сушіння чи заморозки	У середині сушарки	Температурний датчик з чутливим елементом опору. Діапазон температур -50-250 °С, матеріал чутливого елемента - мідь	TSM 50M	АТ. «Овен»

2б, 2г	Температура сушіння чи заморозки	На щиті	Універсальний нормуючий перетворювач для встановлення в шкафу управління, вихідний сигнал термометра опору/термопари, вихідний сигнал – 4...20 мА, напруга живлення --= 24 В	НПТ1	АТ «Овен»
1г, 3г,	Температура сушіння чи заморозки	На щиті	Панель управління пневматична, для дистанційного ручного управління виконавчими механізмами, $P_{жив.} = 140$ кПа, управляючий сигнал у ручному режимі – 20...100 кПа	ПП12.2	Таурус, Росія
4	KM1	На щиті	Магнітний пускач, робочий струм 400А, потужність двигуна 200кВт, управляючий сигнал 220В	3RT107 5- 6AP36	SIEMENS
	SB1	По місцю	Магнітний пускач, робочий струм 7А, потужність двигуна 3кВт, управляючий сигнал 220В	3RT201 5- 1AP01	SIEMENS
	SB 2	На щиті	Перемикач 3-х позиційний	3SB321 0-	SIEMENS

Закінчення таблиці 10.3

			(автоматичний- ручний з щита ручний по місцю) з фіксацією	2DA11	
	SA1	На щиті	Двоклавішна кнопочка станція «Пуск»-«Стоп» 1НО+1НЗ,	8LP2T B7113	Lovato
3а	Тиск	У сушарці	Датчик тиску аналоговий електронний з діапазоном вимірювання 0-16 бар±1% універсальний сигнал 4-20 мА.	LEO 779692	LEO

ВИКОРИСТАНА ЛІТЕРАТУРА

- 1) «Пробиотики України»: болеть или не болеть. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://zn.ua>
- 2) *Проданчук М.Г.*, доктор мед. наук, член-кор. АМН України, професор, *Корецький В.Л.*, доктор мед. наук, *Орлова Н.М.*, кандидат мед. наук, ДО ПРОБЛЕМИ БЕЗПЕКИ ХАРЧУВАННЯ НАСЕЛЕННЯ УКРАЇНИ// Інститут екогігієни і токсикології ім. Л.І. Медведя Київська медична академія післядипломної освіти. [Електронний ресурс]. Режим доступу: http://medved.kiev.ua/arh_nutr/art_2005/n05_2_1.htm
- 3) ГОСТ 34372-2017 Закваски бактеріальні для виробництва молочної продукції. Електронний ресурс [режим доступу]: https://allgosts.ru/67/100/gost_34372-2017
- 4) ГОСТ 34372-2017 Закваски бактеріальні для виробництва молочної продукції. [Електронний ресурс]. Режим доступу: https://allgosts.ru/67/100/gost_34372-2017
- 5) *Irkitova A.N., Matsyura A.V.* Ecological and biological characteristics of *Lactobacillus acidophilus*// Uk. J. of Ecology-2017.-Vol 7, №4-Р.214-230
- 6) *Lactobacillus acidophilus*. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <http://www.tgw1916.net>
- 7) *Пирог Т. П.* Загальна мікробіологія. / Т. П. Пирог. – К.: НУХТ, 2010-632с.
- 8) Стагнація та маслозалежність: аналіз молочного ринку України 2018. Електронний ресурс [Режим доступу] : <https://latifundist.com/blog/read/2357-stagnatsiya-i-maslozavisimost-analiz-molochного-rynka-ukrainy-2018>
- 9) Експорт молочних продуктів у першому кварталі 2019 — Україні потрібні нові ринки збуту. Електронний ресурс [Режим доступу] : <http://milkua.info/uk/post/eksport-molocnih-produktiv-u-persomu-kvartali-2019-ukraini-potribni-novi-rinki-zbutu>
- 10) Аналіз ринку мочної продукції. Україна. Електронний ресурс [Режим доступу] : <https://koloro.ua/blog/issledovaniya/analiz-rynka-molochnoy-produktsii-ukrainyi-2015-2016.html>

- 11) Ринок кисло-мочної продукції. Електронний ресурс [Режим доступу] : <https://marketing.rbc.ua/news/2011-10-24/4636>
- 12) Огляд ринку молочних заквасок: найбільші виробники і основні тренди. Електронний ресурс [Режим доступу] : https://www.delfprof.ru/press-center/open_analytics/4860/
- 13) Державний реєстр дез.засобів. Електронний ресурс [режим доступу]: <https://moz.gov.ua/uploads/ckeditor/%D0%92%D1%96%D0%B4%D0%BA%D1%80%D0%B8%D1%82%D1%96%20%D0%B4%D0%B0%D0%BD%D1%96%D0%A0%D0%B5%D1%94%D1%81%D1%82%D1%80%20%D0%BD%D0%B0%20%D0%B4%D0%B5%D0%B7%D0%B7%D0%B0%D1%81%D0%BE%D0%B1%D0%B8%202019.pdf>
- 14) *Машикін М. І., Парши Н. М.* Технологія молока і молочних продуктів: Навчальне видання. — К.: Вища освіта, 2006. — 351 с.: іл.
- 15) *Карлаш Ю.В.* Основи проектування біотехнологічних виробництв: Конспект лекцій для студентів напрямку 6.051401 «Біотехнологія» денної та заочної форм навчання / Уклад.: Ю.В.Карлаш - К: НУХТ, 2013. – 143 с.
- 16) *Пирог Т. П., Ігнатова А. О.* Загальна біотехнологія / Пирог Т. П., Ігнатова А. О. – К.: НУХТ, 2009.-336с.
- 17) Culturefug, Alfa Laval. [Електроннийресурс]. Режим доступу: <https://www.alfalaval.com/products/separation/centrifugal-separators/separators/culturefuge/>
- 18) *Єгоров Н.С., Самуїлов В.Д., Олескін А.В.* Біотехнологія. Проблеми і перспективи/ [Електроннийресурс]. Режим доступу: http://bio-cat.ru/ebook.php?file=egorov_t1.djvu&page=40
- 19) *Хвостова С. А.* МАГІСТЕРСЬКА ДИСЕРТАЦІЯ. Дослідження параметрів процесу термічної сушки біомаси штаму *Cupriavidus eutrophus* В 10646. [Електроннийресурс]. Режим доступу: <https://core.ac.uk/download/pdf/145189063.pdf>

- 20) *Goldberg, J.* Stability of lactic acid bacteria to freezing as related to their fatty acid composition / J. Goldberg, L. Eschar. // *Appl. And Environ. Microbiol.* – 1977. – Vol. 33, No 3. – P. 489-496.
- 21) *Грачева, И.В.* Механизмы повреждений бактерий при лиофилизации и протективное действие защитных сред / И.В.Грачева, А.В.Осин // *Проблемы особо опасных инфекций.* 2016. – №3. – С.5-12.
- 22) *Лагода, И.В.* Сублимационная сушка производственно ценных штаммов молочнокислых бактерий / И.В. Лагода // *Молочная промышленность.* 2003. – №3. – С. 4 7.
- 23) *Черевко О. І., Поперечний А. М.* Процеси и апарати харчових виробництв: підручник / О. І. Черевко, А. М. Поперечний. - 2-е видання, доп. та випр. - Х .: Світ Книг, 2014. -495 с.
- 24) *Демешева М.І, Лимарева Т.Д.* Вплив умов подрібнення на біологічні властивості сухої біомаси біфідобактерій//Філія ФГУП НВО «Мікроген» МОЗ РФ в Томськ «НВО« Віріон »
- 25) *Bauer, S. A. W., Schneider, S., Behr, J., Kulozik, U., & Foerst, P.* Combined influence of fermentation and drying conditions on survival and metabolic activity of starter and probiotic cultures after low-temperature vacuum drying// *Journal of Biotechnology*, 159(4), 351–357. doi:10.1016/j.jbiotec.2011.06.010. Електронний ресурс [режим доступу]: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21723344>
- 26) *Озерська С. М., Пучков Є. О., Іванушкіна Н. Є.* Стандартна процедура ліофілізації бактерій з використанням первинної і вторинної сушки.// Інститут БІОХІМІЇ ТА ФІЗІОЛОГІЇ МІКРООРГАНІЗМІВ ІМ. СКРЯБІНА. Електронний ресурс [режим доступу]: <http://www.vkm.ru/sop/SOP13.pdf>
- 27) *Нечисляев В. А., Орлова Е. В., Бахтин І. А.* Стандартне захисне середовище для ліофілізації пробіотичних препаратів. Електронний ресурс [режим доступу]: <https://cyberleninka.ru/article/n/universalnaya-zaschitnaya-sreda-dlya-liofilizatsii-probioticheskikh-preparatov/viewer>
- 28) *Лактобактерин сухой.* Електронний ресурс [режим доступу]: https://www.rlsnet.ru/tn_index_id_5813.htm

- 29) KEGG. [Електронний ресурс]. Режим доступу:
<https://www.genome.jp/kegg/>
- 30) Пат. №2190015. Воробьев А.А., Зальцман А. С., Болотов В. Д. Штамм *Lactobacillus brevis* ba-13, используемый для приготовления пробиотических препаратов и продуктов питания // Оуб. 15.10.2015
- 31) ГОСТ 12302-2013 Пакети з полімерних плівок і комбінованих матеріалів. Електронний ресурс [режим доступу]:
<http://docs.cntd.ru/document/1200103721>
- 32) ГОСТ 34372-2017 Закваски бактеріальні для виробництва молочної продукції. Електронний ресурс [режим доступу]:
https://allgosts.ru/67/100/gost_34372-2017
- 33) Хромова Н. Ю. Біотехнологічна конверсія зернового сировини для отримання Пробиотичних продуктів і кормових білкових добавок. [Електронний ресурс]. Режим доступу:
http://www.bio.msu.ru/res/Dissertation/768/DISSERTATION_FILENAME/Kharchenko_disser.pdf
- 33) Посівний апарат на 60л Електронний ресурс: [режим доступу]
<http://www.fermenter.ru/>
- 34) СІР-станція на 2 реактори Електронний ресурс: [режим доступу]
https://www.inoxpa.com.ua/uploads/document/Fitxa%20tecnica/Equips/CIP/FT.CIP.3_RU.pdf
- 35) Ферментер на 630л Електронний ресурс: [режим доступу]
http://pharmaspb.com/products/manufacture_equipment/obschefarmatsevticheskoe-oborudovanie/fermentatsiya-73
- 36) Реактор-змішувач РСМ-400. Електронний ресурс [режим доступу]:
<http://www.kft2.com.ua/reaktor400.html>
- 37) Реактор-змішувач РСМ-40. Електронний ресурс [режим доступу]:
<http://www.kft2.com.ua/reaktor40.html>
- 38) Збірник-охолоджувач Електронний ресурс [режим доступу]:
<https://wise-master.com.ua/p595280969-emkosti-nerzhaveyuschej-stali.html>

- 39) Насос відцентровий SM. Електронний ресурс [режим доступу]:
<https://www.prom-nasos.com.ua/catalog/SM/>
- 40) Сепаратор-культофуга Culturefuge 100. Електронний ресурс [режим доступу]:
<https://www.alfalaval.com/products/separation/centrifugal-separators/separators/culturefuge/>
- 41) Реактор-змішувач РСМ-15. Електронний ресурс [режим доступу]:
<http://www.kft2.com.ua/reaktor15.html>
- 42) Реактор-змішувач РСМ-70. Електронний ресурс [режим доступу]:
<http://www.kft2.com.ua/reaktor70.html>
- 43) Сублімаційна сушка FD500. Електронний ресурс [режим доступу]:
<https://www.liofilizador.com/products/showproduct.php?lang=ru&id=97>
- 44) Валковий млин SM-200. Електронний ресурс [режим доступу]:
<https://www.retsch.ru/ru/products/milling/cutting-mills/sm-200/function-features/>
- 45) Дозатор об'єсно-ваговий. Електронний ресурс [режим доступу]:
<https://asvik.kiev.ua/>
- 46) Лінія дозування та фасування упаковок саше модель S140. Електронний ресурс [режим доступу]:
http://www.peterbinder.ru/catalog/gorizontalnye_mashiny_dlya_fasovki_i_upakovki_v_sashe/model_S140/
- 47) *Shu, G., Wang, Z., Chen, L., Wan, H., & Chen, H.* Characterization of freeze-dried *Lactobacillus acidophilus* in goat milk powder and tablet: Optimization of the composite cryoprotectants and evaluation of storage stability at different temperature. *LWT*, 90, 70–76. doi:10.1016/j.lwt.2017.12.013
- 48) *Урмитова Н.С., Бусарев А.В., Селюгин А.С.* Расчет сооружений для очистки производственных сточных вод: Методические указания к практическим занятиям для студентов направления подготовки 270800.62 «Строительство», профиль «Водоснабжение и водоотведение»
- 49) *Н.М.Шульга, А.О.Бовкун, Л.А.Млечко.* Мікроскопіювання у санітарно-мікробіологічному контролі виробництва молочних продуктів. Навчальний посібник. - К.: ІПДО НУХТ, 2008. – 49 с.

- 50) *He Chen, Mengqi Tian, Li Chen, Xiuxiu Cui* Optimization of composite cryoprotectant for freeze-drying *Bifidobacterium bifidum* BB01 by response surface methodology. Електронний ресурс [режим доступу]: <https://doi.org/10.1080/21691401.2019.1603157>
- 51) *Фалендиш Н.О., Терлецька В.А., Зінченко І.М., Федорова Т.О.* Технохімічний контроль в технології галузі: Конспект лекцій для студ. за напрямом підготовки 6.051701 "Харчові технології та інженерія" ден. та заоч. форм навч. – К.: НУХТ, 2012. – 44 с
- 52) ГОСТ 34372-2017 Закваски бактеріальні для виробництва молочної продукції. Електронний ресурс [режим доступу]: https://allgosts.ru/67/100/gost_34372-2017
- 53) *Shu, G., Wang, Z., Chen, L., Wan, H., & Chen, H.* Characterization of freeze-dried *Lactobacillus acidophilus* in goat milk powder and tablet: Optimization of the composite cryoprotectants and evaluation of storage stability at different temperature. *LWT*, 90, 70–76. doi:10.1016/j.lwt.2017.12.013
- 54) *Siaterlis A. Deepika G. Charalampopoulos D.* Effect of culture medium and cryoprotectants on the growth and survival of probiotic lactobacilli during freeze drying. Електронний ресурс [режим доступу]: <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2008.02529.x>
- 55) *He Chen, Mengqi Tian, Li Chen, Xiuxiu Cui* Optimization of composite cryoprotectant for freeze-drying *Bifidobacterium bifidum* BB01 by response surface methodology. Електронний ресурс [режим доступу]: <https://doi.org/10.1080/21691401.2019.1603157>
- 56) ГОСТ 3624-92. Молоко і молочні продукти. Титриметричні методи визначення кислотності. Електронний ресурс [режим доступу]: <http://docs.cntd.ru/document/gost-3624-92>
- 57) ГОСТ 26781-85. ДЕРЖАВНИЙ СТАНДАРТ МОЛОКО. Метод вимірювання рН. Електронний ресурс [режим доступу]: <http://docs.cntd.ru/document/gost-26781-85>
- 58) ГОСТ 32901-2014 Молоко та молочна продукція. Методи мікробіологічного аналізу/ Електронний ресурс [режим доступу]: <http://docs.cntd.ru/document/1200115745>

59) ГОСТ 33566-2015 Молоко и молочная продукция. Определение дрожжей и плесневых грибов. Электронный ресурс [режим доступа]:
<http://docs.cntd.ru/document/1200127751>

60) ГОСТ 31659-2012 (ISO 6579: 2002) Продукты харчові. Метод виявлення бактерій роду Salmonella. Электронный ресурс [режим доступа]:
<http://docs.cntd.ru/document/1200098239>

61) ГОСТ 30347-2016 Молоко і молочна продукція. Методи визначення Staphylococcus aureus. Электронный ресурс [режим доступа]:
<http://docs.cntd.ru/document/1200142424>.