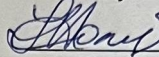


НАЦІОНАЛЬНИЙ ТЕХНІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ УКРАЇНИ
«КИЇВСЬКИЙ ПОЛІТЕХНІЧНИЙ ІНСТИТУТ
імені ІГОРЯ СІКОРСЬКОГО»
Факультет біотехнології і біотехніки

Кафедра біоенергетики, біоінформатики та екобіотехнології

До захисту допущено:

Завідувач кафедри

 Наталія ГОЛУБ

«03» серпня 2025 р.

Дипломний проєкт

на здобуття ступеня бакалавра

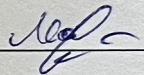
за освітньо-професійною програмою «Біотехнології»

спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія»

на тему: «Біотехнологія одержання омега-3 жирних кислот з культури
Nannochloropsis oceanica»


Виконав:

студент IV курсу, групи ББ-12
Мацкевич Марк Віталійович



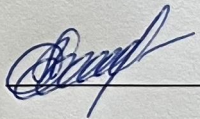
Керівник:

к.т.н., старший викладач
Левтун Ігор Ігорович




Консультант з проектування:

Професор., д.т.н.,
Саблій Лариса Андріївна

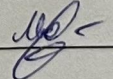


Рецензент:

Доцент кафедри промислової біотехнології та біофармації, к.б.н., с.н.с.
Яловенко Олена Ігорівна



Засвідчую, що у цьому дипломному
проєкті немає запозичень з праць інших
авторів без відповідних посилань.

Студент 

Київ – 2025 року

Національний технічний університет України
«Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського»

Факультет біотехнології і біотехніки

Кафедра біоенергетики, біоінформатики та
екобіотехнології

Рівень вищої освіти – перший (бакалаврський)

Спеціальність – 162 «Біотехнології та біоінженерія»

Освітньо-професійна програма «Біотехнології»

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри

Наталія ГОЛУБ

«21» квітня 2025 р.

ЗАВДАННЯ

на дипломний проєкт студенту

Мацкевичу Марку Віталійовичу

1. Тема проєкту «Біотехнологія одержання омега-3 жирних кислот з культури *Nannochloropsis oceanica*», керівник проєкту к.т.н., старший викладач Левтун Ігор Ігорович, затверджені наказом по університету від «29» травня 2025 р. № 1838-С
2. Термін подання студентом проєкту 3 червня 2025 р
3. Вихідні дані до проєкту: потужність виробництва – 100 т цільового продукту на рік.
4. Зміст пояснювальної записки: вступ; характеристика кінцевого продукту та його метаболічні шляхи, обґрунтування вибору продуцента та його характеристика, обґрунтування вибору технології; технологічні розрахунки виробничої лінії; технологічна частина; технологічні розрахунки апарата; охорона праці та охорона довкілля; висновки.
5. Перелік графічного матеріалу (із зазначенням обов'язкових креслеників, плакатів, презентацій тощо): технологічна схема – 1 арк. А1, апаратурна схема – 1 арк. А1, креслення загального виду реактора-змішувача – 1 арк. А1
6. Консультанти розділів проєкту

| | | | | | | | |
|-----|------|----------|--------|------|--|-------------------|------|
| | | | | | | ДП ББ12.11.000 ПЗ | Арк. |
| | | | | | | | 2 |
| Зм. | Арк. | № докум. | Підпис | Дата | | | |

| Розділ | Прізвище, ініціали та посада консультанта | Підпис, дата | |
|-------------------------------------|-------------------------------------------|----------------|------------------|
| | | завдання видав | завдання прийняв |
| Графічна частина дипломного проекту | Д.Т.Н., професор Саблій Л. А. | 24.04.25р. | 1.06.25р. |

7. Дата видачі завдання

21 квітня 2025р.

Календарний план

| № з/п | Назва етапів виконання дипломного проекту | Термін виконання етапів проекту | Примітка |
|-------|-------------------------------------------|---------------------------------|----------|
| 1 | Вступ | 21.04.2025р - 03.06.2025р | Лб |
| 2 | Розділ 1 | 21.04.2025р - 03.06.2025р | Лб |
| 3 | Розділ 2 | 21.04.2025р - 03.06.2025р | Лб |
| 4 | Розділ 3 | 21.04.2025р - 03.06.2025р | Лб |
| 5 | Розділ 4 | 21.04.2025р - 03.06.2025р | Лб |
| 6 | Розділ 5 | 21.04.2025р - 03.06.2025р | Лб |
| 7 | Висновки | 21.04.2025р - 03.06.2025р | Лб |
| 8 | Креслення | 21.04.2025р - 03.06.2025р | Лб |

Студент

Мацкевич М.В.

Керівник

Левтун І.І.

РЕФЕРАТ

Пояснювальна записка: 125 с., 12 табл., 13 рис., 111 джерел.

У даному дослідженні була обґрунтована методика процес отримання омега-3 жирних кислот з мікроводоростей *Nannochloropsis oceanica*. Для виділення омега-3 жирних кислот біологічним агентом обрано зелені мікроводорості *Nannochloropsis oceanica*, які культивували в фотобіореакторі 3% розчині NaCl з обраним складом мікроелементів. Для видобутку ліпідів використовувалася технологія механічної екстракції - пресування. Було проведено розрахунок матеріального балансу, спроектовані технологічні та апаратурні схеми виробництва. Було обрано основне обладнання та наведено його специфікація, визначені точки і параметри контролю для всіх етапів процесу, що забезпечить високу якість кінцевої продукції. Процеси проводять згідно технічних умов та охорони праці і довкілля. Реактор об'ємом 32 м³ було спроектовано, і проведені розрахунки підтверджують ефективність і працездатність цієї конструкції.

МІКРОВОДОРОСТІ, ЛІПІДИ, ОМЕГА-3 ЖИРНІ КИСЛОТИ,
КРИСТАЛІЗАЦІЯ СЕЧОВИНОЮ

| | | | | | | | | | | |
|-----|------|----------|--------|------|-------------------|--|--|--|--|------|
| | | | | | | | | | | Арк. |
| | | | | | | | | | | 4 |
| Зм. | Арк. | № докум. | Підпис | Дата | ДП ББ12.11.000 ПЗ | | | | | |

ABSTRACT

Explanatory note: 125 p., 12 tables, 13 figures, 111 sources.

This study substantiated a method for obtaining omega-3 fatty acids from *Nannochloropsis oceanica* microalgae. Green microalgae *Nannochloropsis oceanica*, cultivated in a photobioreactor in a 3% NaCl solution with a selected composition of microelements, was selected as the biological agent for the extraction of omega-3 fatty acids. Mechanical extraction technology (pressing) was used to extract lipids. A material balance calculation was performed, and technological and equipment diagrams for production were designed. The main equipment was selected and its specifications were provided, and control points and parameters were determined for all stages of the process to ensure high quality of the final product. The processes are carried out in accordance with technical conditions and occupational health and safety requirements. A 32 m³ reactor was designed, and calculations confirm the efficiency and performance of this design.

MICROALGAE, LIPIDS, OMEGA-3 FATTY ACIDS, UREA
CRYSTALLIZATION

| | | | | | | |
|-----|------|----------|--------|------|-------------------|------|
| | | | | | ДП ББ12.11.000 ПЗ | Арк. |
| | | | | | | 5 |
| Зм. | Арк. | № докум. | Підпис | Дата | | |

ЗМІСТ

| | |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| ВСТУП | 7 |
| РОЗДІЛ 1: ЛІТЕРАТУРНИЙ ОГЛЯД | 9 |
| 1.1 Характеристика кінцевого продукту виробництва..... | 9 |
| 1.2 Загальні метаболічні шляхи біосинтезу омега-3 жирних кислот..... | 15 |
| 1.4 Характеристика біологічного агента | 21 |
| 1.4.1 Обґрунтування вибору продуцента, який використовується в даній технології | 21 |
| 1.4.2 Характеристика продуцента <i>Nannochloropsis oceanica</i> | 25 |
| 1.5 Вибір технології виробництва | 31 |
| 1.5.2. Обґрунтування вибору технології збору біомаси..... | 39 |
| 1.5.3 Обґрунтування вибору технології виділення ліпідів мікроводоростей..... | 44 |
| 1.5.4 Методи розділення та очищення | 56 |
| РОЗДІЛ 2. ТЕХНОЛОГІЧНІ РОЗРАХУНКИ ВИРОБНИЧОЇ ЛІНІЇ ДЛЯ ОДЕРЖАННЯ НЕОБХІДНОГО ПРОДУКТУ | 63 |
| 2.1 Розрахунок кількості сировини | 63 |
| 2.2 Розрахунок та вибір номінальних розмірів та кількостей апаратів.... | 64 |
| РОЗДІЛ 3. ТЕХНОЛОГІЧНА ЧАСТИНА | 67 |
| 3.1 Характеристика сировини, матеріалів та напівпродуктів, що використовують у виробництві | 67 |
| 3.2 Матеріальний баланс | 71 |
| 3.3 Опис технологічної схеми..... | 72 |
| 3.4 Контроль виробництва | 83 |
| РОЗДІЛ 4. ТЕХНОЛОГІЧНІ РОЗРАХУНКИ АПАРАТА..... | 87 |
| 4.1 Конструктивний розрахунок..... | 87 |
| 4.1.1 Розрахунок днища апарату..... | 89 |
| 4.1.2 Розрахунок перемішуючого пристрою | 89 |
| 4.1.3 Розрахунок висоти рівня рідини в апараті та висоти апарату..... | 90 |

| | | | | | | | | |
|-----------|------|---------------|--------|------|--------------------------|-----|-----|---------|
| | | | | | ДП ББ12.11.000 ПЗ | | | |
| Зм. | Арк. | № докум | Підпис | Дата | | | | |
| Розробив | | Мацкевич М.В. | | | ЗМІСТ | Літ | Арк | Аркушів |
| Конс. | | | | | | | 6 | 125 |
| Керівник | | Левтун І.І. | | | НТУУ “КПІ”, ФБТ | | | |
| Затвердив | | | | | | | | |

Перелік умовних позначень

НЖК – ненасичені жирні кислоти

ПНЖК – поліненасичені жирні кислот

ЖК – жирні кислоти

ЕПК – ейкозапентаєнова кислота

ДГК – докозагексеєнова кислота

АЛК – альфа-ліноленова кислота

ДСТУ – Державний стандарт України

ЦВМ – центральний вуглецевий метаболічний шлях

СЖК – шлях синтезу жирних кислот

ПФШ – пентозофосфатний шлях

ЦТК – цикл трикарбонних кислот

СНЖК – синтез насичених жирних кислот

СЖКН – синтез ненасичених жирних кислот

СПК – синтез полікетидів

Ац-КоА – Ацетилкоензим А

ОЖК – окислення жирних кислот

Г6Ф – глюкозо-6-фосфат

ГА3Ф – гліцеральдегід 3-фосфат

Р5Ф – рибоза 5-фосфат

ДГАФ – дигідроксіацетонфосфат

Г3Ф – гліцерин 3-фосфат

| | | | | | | |
|-----|------|----------|--------|------|-------------------|------|
| | | | | | ДП ББ12.11.000 ПЗ | Арк. |
| | | | | | | 8 |
| Зм. | Арк. | № док.м. | Підпис | Дата | | |

EP – ендоплазматичний ретикулум

PLE – екстракція рідиною під тиском

PHSE – екстракція гарячим розчинником під тиском

ASE – прискорена екстракція розчинником

SCWE – екстракція субкритичною водою

SHWE – екстракція перегрітою водою

PWE – екстракція гарячою водою під тиском

EAE – ферментна екстракція

ILs – іонні рідини

DES – глибокоевтектичні розчинники

SPS – розчинники з перемиканою полярністю

SHS – розчинники з перемиканою гідрофільністю

HBS – акцептори водневих зв'язків

HBD – донори водневих зв'язків

SFE – надкритична флюїдна екстракція

PLE – рідинна екстракція під тиском

SCFs – надкритичні рідини

МЕЖК – метилові ефіри жирних кислот

АЕЖК – алкілові ефіри жирних кислот

ТАГ – триацилгліцериди

ДАГ – диацилгліцериди

ВСТУП

В сучасному світі, де питання здоров'я та харчування стають головними, велика увага приділяється пошуку нових, ефективних джерел корисних речовин, які можуть позитивно впливати на фізичний та психічний стан людини. Одним із таких важливих компонентів є Омега-3 жирні кислоти, які відіграють ключову роль у підтриманні здоров'я серцево-судинної системи, нейрологічного функціонування та імунітету [1].

Актуальність теми полягає в тому, що попит на стійкі та екологічно чисті джерела їжі та харчові інгредієнти зростає, а мікроводорості пропагуються як стійке джерело необхідних і біологічно активних ліпідів з високим рівнем омега-3 жирних кислот, порівнянним з більш поширеними продуцентами [1].

Мікроводорості, як фотосинтезуючий автотрофний організм, містять різноманітні біологічно активні сполуки, включаючи ліпіди, білки, полісахариди, які застосовуються серед іншого в харчовій, медичній та паливній промисловості. Мікроводорості вважаються хорошим джерелом морських ліпідів завдяки високому вмісту ненасичених жирних кислот (НЖК) і можуть використовуватися як доповнення/заміна риб'ячого жиру. Висока концентрація докозагексаєнової (ДГК) та ейкозапентаєнової кислот (ЕПК) у ліпідах мікроводоростей призводить до важливих фізіологічних функцій, таких як антибактеріальна, протизапальна та імунна регуляція, що також є передумовою для його розробки та застосування [1].

Мета проєкту

Метою проєкту є ретельне вивчення технологій отримання омега-3 жирних кислот з біомаси мікроводоростей, а також визначення ефективних методів інтеграції цих технологій в промисловий процес для отримання високоякісного кінцевого продукту.

| | | | | | | | |
|------------------|----------------------|----------------|---------------|-------------|--------------------------|------------|----------------|
| | | | | | <i>ДП ББ12.11.000 ПЗ</i> | | |
| <i>Зм.</i> | <i>Арк.</i> | <i>№ докум</i> | <i>Підпис</i> | <i>Дата</i> | ВСТУП | | |
| <i>Розробив</i> | <i>Мацкевич М.В.</i> | | | | | | |
| <i>Конс.</i> | | | | | | | |
| <i>Керівник</i> | <i>Левтун І.І.</i> | | | | | | |
| <i>Затвердив</i> | | | | | | | |
| | | | | | <i>Лім</i> | <i>Арк</i> | <i>Аркушів</i> |
| | | | | | | 10 | 125 |
| | | | | | НТУУ "КПІ", ФБТ | | |

Для досягнення мети передбачено виконання таких задач:

1. Розглянути характеристики цільового продукту, провести літературний огляд стосовно загальних метаболічних шляхів біосинтезу омега-3 жирних кислот та використання водоростей в якості продуцентів. Обґрунтувати вибір продуценту та надати його характеристики (морфологічні, фізіолого-біохімічні, культуральні) для виробництва цільового продукту, особливості його отримання, вирощування та культивування. Розглянути різні технології виробництва цільового продукту, зробити обґрунтування вибору технології одержання омега-3 жирних кислот з обраної культури мікроводоростей;
2. Розрахувати та підібрати обладнання для виробничої лінії задля розробки технологічної схеми для виробництва омега-3 жирних кислот з мікроводоростей для отримання відповідної кількості продукту;
3. Запроектувати технологічну й апаратурну схеми. Навести характеристику сировини, матеріалів та напівпродуктів, що використовують у виробництві. Провести матеріальний баланс та навести методи контролю виробництва;
4. Розрахувати технічні показники обраного типу реактора для проведення реакції обробки сечовиною, надати креслення апарату;
5. Охарактеризувати пропозиції та заходи щодо забезпечення охорони праці, техніки безпеки, охорони довкілля.

| | | | | | | | | | | |
|-----|------|----------|--------|------|-------------------|--|--|--|--|------|
| | | | | | | | | | | Арк. |
| | | | | | | | | | | 11 |
| Зм. | Арк. | № докум. | Підпис | Дата | ДП ББ12.11.000 ПЗ | | | | | |

РОЗДІЛ 1: ЛІТЕРАТУРНИЙ ОГЛЯД

1.1 Характеристика кінцевого продукту виробництва

Омега-3 жирні кислоти — це довголанцюгові поліненасичені жирні кислоти, які мають перші подвійні зв'язки на третьому вуглеці від омега кінця ланцюга жирних кислот [2]. Кожна молекула жирної кислоти має два кінці: метильний (або омега-кінець) і карбоксильний (або альфа-кінець) [2]. Основні омега-3 жирні кислоти включають альфа-ліноленову кислоту (АЛК, C18:3), ейкозапентаєнову кислоту (ЕПК C20:5) і докозагексаєнову кислоту (ДГК C22:6) [2]. Унікальна хімічна структура довгих вуглецевих ланцюгів і множинних подвійних зв'язків надає омега-3 жирним кислотам, особливо ЕПК і ДГК, особливі властивості, які можуть призвести до значної користі для здоров'я [3]. Після естерифікації ЕПК та ДГК можуть вставлятися у фосфоліпідний подвійний шар мембрани, взаємодіяти з оточуючими фосфоліпідами, змінювати ліпідні плоти, впливати на швидкість окислення та шлях передачі сигналу та зменшувати накопичення холестерину в клітинній мембрані [3].

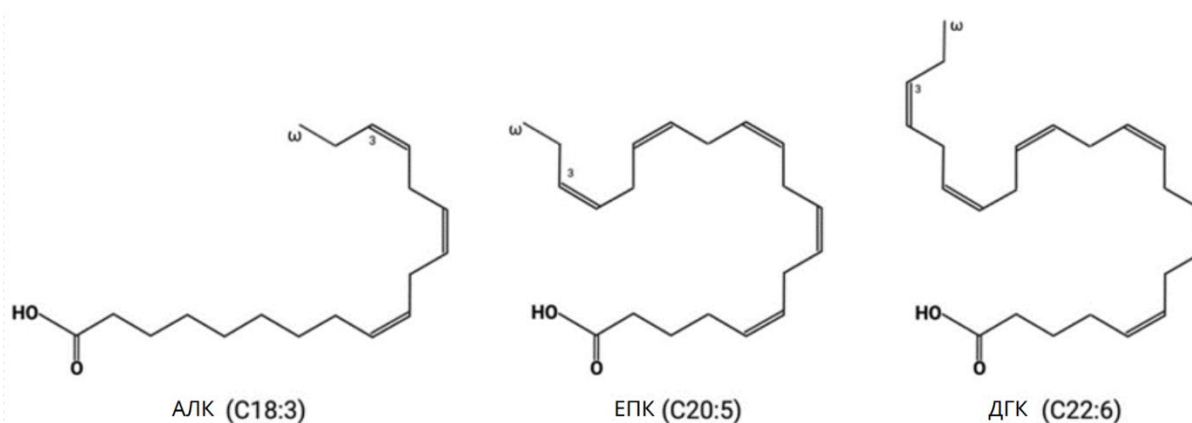


Рис. 1.1.1 - Молекулярна структура трьох основних омега-3 жирних кислот: альфа-ліноленової кислоти (АЛК, C18:3), ейкозапентаєнової

| | | | | | | | |
|-----------|---------------|---------|--------|------|---------------------------|-----|---------|
| | | | | | <i>ДП ББ12.11.000 ПЗ</i> | | |
| Зм. | Арк. | № докум | Підпис | Дата | | | |
| Розробив | Мацкевич М.В. | | | | Літ | Арк | Аркушів |
| Конс. | | | | | | 12 | 125 |
| Керівник | Левтун І.І. | | | | ЛІТЕРАТУРНИЙ ОГЛЯД | | |
| Затвердив | | | | | | | |
| | | | | | НТУУ "КПІ", ФБТ | | |

кислоти (ЕПК, С20:5) і докозагексаєнової кислоти (ДГК, С22:6) [2]

Будучи основними частинами клітинної структури людини, омега-3 жирні кислоти в основному містяться в центральній нервовій системі, яєчках, серці, сітківці ока та імунній системі [3]. Існують переконливі докази того, що омега-3 жирні кислоти можна використовувати як протиракові та протизапальні засоби [4], покращують серцево-судинну, розумову та імунну системи та забезпечують інші переваги для здоров'я нервів, очей, кісток і м'язів [4].

ЕПК і ДГК можуть впливати на мелатонін, гормон, який має вирішальне значення для регуляції сну [5]. Вони можуть модулювати вироблення мелатоніну, змінюючи структуру клітинної мембрани шишкоподібної залози, органу, який відповідає за вироблення цього гормону [5]. Ця зміна, у свою чергу, впливає на режим сну людини [5]. Крім того, існують докази того, що як ЕПК, так і ДГК можуть лікувати та навіть запобігати тривожності та депресії у дорослих [5]. Таким чином, дані переконливо підтверджують ідею про те, що збільшення споживання ЕПК та ДГК може покращити нервову та психічне здоров'я [5]. ЕПК та ДГК також можуть протидіяти шкідливому впливу атрофії м'язів і прискорити нервово-м'язову адаптацію [6]. Вони можуть втручатися в шлях передачі сигналу в різних типах клітин і, таким чином, відігравати превентивну роль у патологічній кальцифікації, як кальцифікація судин і мікрокальцифікація в ракових тканинах. Паралельно ці жирні кислоти покращують якість кісток, запобігаючи розпаду кісток і збільшуючи мінералізацію кісток [6].

Таким чином, ЕПК і ДГК захищають і зміцнюють здоров'я кісток і м'язів [6]. Що стосується зорової системи, омега-3 жирні кислоти можуть запропонувати помітні переваги, оскільки було показано, що вони лікують хворобу сухого ока і допомагають ефективно керувати короткозорістю [6]. Також повідомлялося, що споживання ЕПК та ДГК може знизити ризик розвитку різних типів раку, включаючи рак товстої кишки та молочної

залози [6]. Для хворих на рак омега-3 жирні кислоти можуть взаємодіяти з G-білковими рецепторами GPR40/FFA1 і GPR120/FFA4 як агоністи для полегшення пов'язаних з раком ускладнень, таких як паранеопластичні синдроми, біль, депресія та синдром анорексії-кахексії [7]. Подальші дослідження показали, що ЕПК і ДГК можуть змінювати розподіл фосфатних жирних кислот і положення ліпідного рафта, пригнічувати фактор транскрипції запалення та активувати протизапальний фактор, що дозволяє їм надавати протизапальну дію [7]. Таким чином, корінні ескімоси з Гренландії та японці, які споживають велику кількість омега-3 жирних кислот із морепродуктів, мають меншу кількість випадків інфаркту міокарда та хронічних запальних або аутоімунних розладів [7]. Крім того, вважається, що ЕПК і ДГК можуть знизити ризик серцево-судинних захворювань в цілому [7]. Дослідження показують, що щоденне споживання 2–4 г комбінованих ЕПК та ДГК зменшує серцево-судинні події в осіб із серцево-судинними захворюваннями [7]. Споживання цих жирних кислот може помітно допомогти в пом'якшенні серцево-судинних захворювань [7]. Зокрема, було показано, що омега-3 жирні кислоти зменшують атеросклеротичні серцево-судинні захворювання та знижують артеріальний тиск у людей з гіпертонією [7].

Омега – 3 жирні кислоти - це прозора, світло-жовта рідина, що практично не розчиняється у воді, добре розчиняється в органічних розчинниках, таких як ацетон, етанол (96%), метанол і гептан [8].

На Таб. 1.1.1 вказані основні фізичні властивості омега – 3 жирних кислот [8].

Таб. 1.1.1 – фізичні властивості омега-3 жирних кислот [8]

| Фізичні характеристики | Значення |
|-------------------------|------------------------------------------------|
| Молярна маса | 909,36 г/моль |
| Формула | C ₆₀ H ₉₂ O ₆ |
| Кількість важких атомів | 66 |

| | |
|------------------------|----------------------|
| Температура замерзання | < -20 °С |
| Температура кипіння | > 400 °С |
| Температура спалаху | > 95 °С |
| Тиск парів | Незначний |
| Густина | 0,9 г/мл (при 20 °С) |

Правила маркування, пакування та транспортування

Оскільки цільовий продукт виробляється у рідкій формі і є харчовою добавкою, то правила маркування, пакування та транспортування відповідають чинному законодавству України. Згідно з ним, харчова добавка — це речовина, яка навмисно додається до харчового продукту для досягнення певної технологічної або фізіологічної мети, у тому числі для збагачення раціону (Закон України № 771/97-ВР).

Тому, згідно нормативним документам, було складено ТУ кінцевого продукту:

ТЕХНІЧНІ УМОВИ

Омега-3 жирні кислоти в рідкій формі (харчова добавка)

1. Галузь застосування

Ці технічні умови встановлюють вимоги до харчової добавки "Омега-3 жирні кислоти в рідкій формі", призначеної для вживання людиною з метою збагачення раціону незамінними жирними кислотами. Продукт виготовляється у формі риб'ячої олії з умістом ейкозапентаєнової (ЕПК) та докозагексаєнової (ДГК) кислот.

2. Нормативні посилання

Продукт повинен відповідати вимогам таких нормативних документів:

ДСТУ 4518:2008 – Продукти харчові. Маркування для споживачів

ДСТУ ISO/TS 22002-5:2020 – Продукти харчові. Транспортування та зберігання

| | | | | | | | | | | | |
|-----|------|----------|--------|------|--|--|--|--|--|-------------------|------|
| | | | | | | | | | | ДП ББ12.11.000 ПЗ | Арк. |
| | | | | | | | | | | | 15 |
| Зм. | Арк. | № докум. | Підпис | Дата | | | | | | | |

ДСТУ 7702:2015 – Матеріали полімерні для контакту з харчовими продуктами

ДСТУ EN 15593:2016 – Гігієна пакувальних матеріалів для харчової продукції

ДСТУ ISO 22000:2019 – Системи управління безпечністю харчових продуктів

3. Класифікація продукції

Харчова добавка "Омега-3 в рідкій формі" випускається в пляшках об'ємом 100 мл, 250 мл, 500 мл. Може фасуватися в скляну або полімерну тару, дозволена для контакту з харчовими продуктами.

4. Технічні вимоги

4.1. Органолептичні показники:

Консистенція: однорідна, масляниста рідина

Колір: від світло-жовтого до бурштинового

Запах: характерний для рослинної олії, без сторонніх запахів

Смак: специфічний, допускається легка гіркота

4.2. Фізико-хімічні показники:

Вміст жирних кислот омега-3 (не менше) – 30% масових

Вміст ЕПК – не менше 18%

Вміст ДГК – не менше 12%

Кислотне число – не більше 3,0 мг КОН/г

Перекисне число – не більше 5,0 мекв О₂/кг

5. Вимоги до безпеčnosti

Продукт повинен відповідати вимогам щодо вмісту токсичних елементів, мікробіологічних показників та залишкової кількості пестицидів згідно із санітарними нормами України.

6. Пакування

| | | | | | | |
|-----|------|----------|--------|------|-------------------|------|
| | | | | | ДП ББ12.11.000 ПЗ | Арк. |
| | | | | | | 16 |
| Зм. | Арк. | № докум. | Підпис | Дата | | |

Пакування здійснюється у флакони з полімерних матеріалів, дозволених для контакту з харчовими продуктами. Герметично закупорюється. Етикетка наноситься згідно з ДСТУ 4518:2008.

7. Маркування

На кожній одиниці пакування має бути зазначено:

Назва продукту

Склад

Рекомендоване добове споживання

Дата виробництва і строк придатності

Умови зберігання

Найменування та адреса виробника

Напис: "Не є лікарським засобом"

8. Транспортування та зберігання

Продукт транспортується у чистому, захищеному від світла та вологи транспорті. Зберігати при температурі від +5 до +25 °С у захищеному від світла місці. Після відкриття зберігати у холодильнику не більше 30 днів.

9. Гарантійний строк придатності

24 місяці з дати виробництва за умов дотримання правил зберігання.

| | | | | | | |
|-----|------|----------|--------|------|-------------------|------|
| | | | | | ДП ББ12.11.000 ПЗ | Арк. |
| | | | | | | 17 |
| Зм. | Арк. | № докум. | Підпис | Дата | | |

1.2 Загальні метаболічні шляхи біосинтезу омега-3 жирних кислот

Загальна карта метаболічного шляху (рис. 1.2.1) від різних джерел вуглецю до омега-3 жирних кислот допомагає краще зрозуміти біосинтез омега-3 жирних кислот у різних організмах [9].

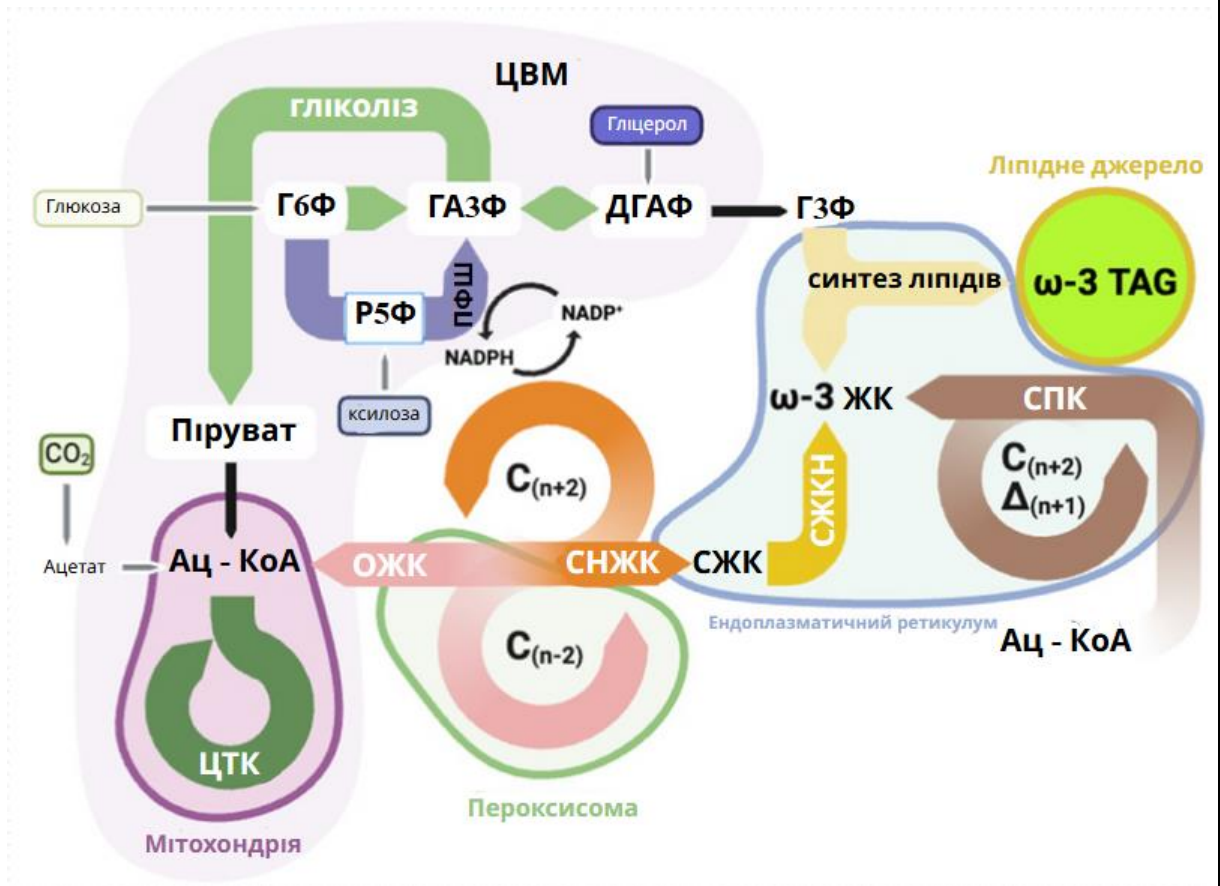


Рисунок 1.2.1 - Метаболічний шлях призначений для синтезу омега-3 жирних кислот, який складається з центрального вуглецевого метаболічного шляху (ЦВМ), шляху синтезу жирних кислот (СЖК) і шляху синтезу ліпідів [10].

(1) Шлях (ЦВМ), включаючи гліколіз, пентозофосфатний шлях (ПФШ) і цикл трикарбонових кислот (ЦТК), сприяє синтезу попередника омега-3 жирних кислот і перетворює різноманітні гетерологічні джерела органічного вуглецю, такі як глюкоза, ацетату та ксилози гліцерину..., у будівельний блок, електроносій та енергію для синтезу жирних кислот. (2) Шлях СЖК включає шлях синтезу насичених жирних кислот (СНЖК), шлях синтезу ненасичених жирних кислот (СЖКН) і альтернативний шлях

| | | | | |
|-----|------|----------|--------|------|
| | | | | |
| Зм. | Арк. | № докум. | Підпис | Дата |

синтезу полікетидів (СПК). Ацетилкоензим А (Ац-КоА) може бути далі перетворений в омега-3 жирні кислоти за допомогою електроносія (NADPH), який утворюється шляхом ПФШ. Однак жирні кислоти можуть перетворюватися на ацетил-КоА через шлях бета-окислення жирних кислот (ОЖК). (3) Шлях синтезу ліпідів передбачає приєднання всіх омега-3 жирних кислот до гліцеринового скелета. Г6Ф, глюкозо-6-фосфат; ГА3Ф, гліцеральдегід 3-фосфат; Р5Ф, рибоза 5-фосфат; ДГАФ, дигідроксіацетонфосфат; Г3Ф, гліцерин 3-фосфат. НЖК, насичені жирні кислоти; омега-3 ЖК, омега-3 жирні кислоти; омега-3 TAG, омега-3 тригліцериди [10].

Синтез омега-3 жирних кислот включає кілька метаболічних шляхів:

1. Центральний вуглецевий обмін (ЦВМ):
 - а) Шлях гліколізу
 - б) Пентозофосфатний шлях (ПФШ)
 - в) Цикл трикарбонових кислот (ЦТК)
2. Шлях бета-окислення жирних кислот (ОЖК)
3. Шлях синтезу насичених жирних кислот (СНЖК)
4. Шлях синтезу довголанцюгових ненасичених жирних кислот (СЖКН)
5. Шлях синтезу ліпідів [10].

Кожен шлях працює синергетично для синтезу омега-3 жирних кислот [10]. Деякі шляхи забезпечують важливі проміжні метаболіти, такі як НАДФН і ацетил-КоА для синтезу омега-3 жирних кислот, але деякі шляхи можуть споживати занадто багато вуглецю для генерування побічних продуктів, таких як етанол, ацетат і цитрат [10]. Покращуюча регуляція шляху синтезу важливих проміжних метаболітів може «перетягнути» потік вуглецю до омега-3 жирних кислот [10]. Докази показують, що виробництво достатньої кількості НАДФН є основним обмежуючим етапом під час процесу синтезу жирних кислот [10]. Таким чином, збільшення кількості

НАДФН має вирішальне значення для накопичення ліпідів і омега-3 жирних кислот усередині клітин [10]. Понижуюча регуляція шляхом блокування гілки шляху до побічного продукту, щоб «штовхнути» потік вуглецю до продукту [10]. Ці модифікації метаболічних шляхів можуть збільшити титр і продуктивність біовиробництва омега-3 жирних кислот [10]. Таким чином, розуміння кожного шляху, пов'язаного з синтезом омега-3 жирних кислот, є важливим для біовиробництва [10].

Декілька джерел вуглецю можуть прямо чи опосередковано входити в метаболічний шлях синтезу омега-3 для біосинтезу омега-3 жирних кислот, таких як глюкоза, гліцерин, ацетат, ксилоза та CO₂ [11]. Ось приклад синтезу омега-3 жирних кислот з глюкози [11]. Глюкоза проходить через гліколіз і розкладається до глюкозо-6-фосфату (Г6Ф) [11]. У той час як частина Г6Ф, що утворюється під час гліколізу, потрапляє в ПФШ і перетворює NADP + на NADPH, NADPH може забезпечити електрон для синтезу жирних кислот як переносник електронів [11]. Після цього під час гліколізу частина Г6Ф перетворюється на ацетил-КоА. Ацетил-КоА також може бути спрямований до циклу ЦТК для генерації енергії в мітохондріях, яка є важливою для виживання клітин та інших видів діяльності [11].

Крім того, ацетил-КоА може входити в шлях СНЖК, слугуючи джерелом вуглецю для синтезу вуглецевого ланцюга омега-3 жирних кислот [11]. Коли ацетил-КоА перетворюється на жирні кислоти з коротким і середнім ланцюгом через СЖКН, ці насичені жирні кислоти можуть увійти в ендоплазматичний ретикулум (ЕР) і бути денасиченими з утворенням довголанцюгових омега-3 жирних кислот [11]. Важливо відзначити, що ці жирні кислоти можуть бути розщеплені назад до ацетил-КоА за допомогою ОЖК, який містить високу енергію і може служити джерелом енергії [11]. Омега-3 жирні кислоти у формі вільних жирних кислот (ВЖК) повинні бути перетворені у формат тригліцеридів для зберігання в клітинах через шлях синтезу ліпідів [11].

1.3 Загальна характеристика мікроводоростей як продуцента

В даний час основним джерелом омега-3 жирних кислот є риб'ячий жир. Інші джерела включають ліпіди/олії, отримані з рослин/овочів, мікроводоростей, грибів/дріжджів і бактерій. На таблиці 1.3.1 [12] узагальнено поточний стан основних джерел омега-3 жирних кислот та їхні обмеження щодо задоволення підвищеного попиту на продукти омега-3 [12].

Таблиця 1.3.1 - Біологічне виробництво омега-3 жирних кислот з різних організмів [12]. $E_{зжк}$ – вміст ЕФК у загальній кількості жирних кислот (%). $E_{мск}$ – вміст ЕФК у масі сухої клітини (%). $D_{зжк}$ – вміст ДГК у загальній кількості жирних кислот (%). $D_{мск}$ – вміст ДГК у масі сухої клітини (%) [12].

| | Організм | ЕПК | | ДГК | |
|-----------------|-------------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| | | $E_{зжк}$ | $E_{мск}$ | $D_{зжк}$ | $D_{мск}$ |
| Мікро-водорості | <i>V. vischeri</i> | 6,3-8,24 | - | - | - |
| | <i>M. subterraneus</i> | 21,7-32,9 | 2,4-3,8 | - | - |
| | <i>N. oceanica</i> | 53-61,9 | 1,8-2,3 | - | - |
| | <i>N. oculata</i> | 13-21,7 | - | - | - |
| | <i>Stauroneis sp.</i> | 20-27 | 0,3-0,7 | - | - |
| | <i>Chlorella sp.</i> | - | - | - | 0.2-1.2 |
| | <i>P. shiwaense</i> | 17-21 | 0,1-0,3 | 34-50 | 0,3-0,5 |
| | <i>G. smaydae</i> | 8,4-10 | 0,1-0,7 | 35-51 | 1,2-3 |
| | <i>Phaeothamnion sp.</i> | 8,3-12 | 0,9-1,5 | 24-36 | 0,2-0,6 |
| | <i>Schizochytrium sp</i> | 41-50 | - | - | - |
| | <i>Nannochloropsis salina</i> | 13-16,3 | 2-3,5 | - | - |
| | <i>Diacronema sp.</i> | 0.8-2 | 0,2-0,7 | 2,8-4 | 0,2-0,7 |
| Гриби | <i>P. irregulare</i> | 0,1-0,6 | - | 0,5-0,8 | |
| | <i>Aurantiochytrium sp.</i> | 8-10,4 | - | 37-40,2 | - |

| | | | | | |
|----------|--------------------------|-----------|---------|-----------|----------|
| | <i>M. alpina</i> | 21,4-26,4 | - | - | - |
| | <i>Y. lipolytica</i> | 45,3-56,6 | 11,9-15 | - | - |
| | <i>M. alpina</i> | 28-31,5 | - | - | - |
| | <i>S. limacinum</i> | 1,6-2,8 | - | 4,9-6,7 | - |
| Бактерії | <i>Myxobacteria spp.</i> | 8,1-10,03 | - | 10-11,9 | - |
| | <i>E. coli</i> | - | - | 31,7-35,3 | - |
| | <i>L. lactis</i> | - | 0-0,01 | - | 0,03-0,1 |
| Рослини | <i>B. napus</i> | 0.3–0.5 | - | 6,5-10,3 | - |
| | <i>C. sativa</i> | 20-24 | - | 3-9 | - |
| | <i>A. hypogaea L.</i> | 56-69 | - | - | - |
| | <i>B. napus</i> | - | - | 9-11 | - |
| | <i>Arabidopsis</i> | 1,8-2,6 | - | 0,1-0,4 | - |
| | <i>Brassica juncea</i> | 12-16 | - | 0,9-1,5 | - |

Враховуючи вище наведені дані (Таблиця 1.3.1), було зроблено висновок, що саме мікроводорості є найкращим продуцентом для майбутнього виробництва, оскільки їхня біомаса містила найбільший відсоток ейкозапентаєнової кислоти і докозагексаєнової кислоти, що є основними омега-3 жирними кислотами.

Мікроводорості — це одноклітинні види, що містять еукаріотів і прокаріотів [12]. Найменші мікроводорості мають розмір лише кілька мікрон, тоді як більші можуть досягати сотні мікрон і широко поширені в океані та прісній воді [12]. Будучи єдиною істотою, яка може де ново ефективно синтезувати омега-3 жирні кислоти в природі, історично склалося так, що люди протягом тривалого часу комерційно використовували мікроводорості як їжу, корм і хімічну речовину високої цінності [12].

Мікроводорості ростуть швидше, ніж тварини та рослини, які вважаються традиційними джерелами омега-3 жирних кислот [12]. Вони містять високий рівень ліпідів із загальним вмістом ліпідів на масу сухої

клітини від 20 до 70% . Крім того, омега-3 жирні кислоти з мікроводоростей не містять холестерину, забруднень і не мають рибного запаху [12].

Ці властивості роблять мікроводорості потенційним альтернативним джерелом виробництва омега-3 жирних кислот. Мікроводорості є адаптованими мікроорганізмами, які можуть рости у фототрофних, гетеротрофних та міксотрофних режимах, диференціюючи їх за допомогою джерел світла, неорганічного та органічного вуглецю [12].

Фотоавтотрофна обробка включає заново генерацію омега-3 жирних кислот з неорганічних джерел вуглецю (CO₂) з використанням світла як джерела енергії за допомогою фотосинтезу [12]. Ця обробка з низьким викидом вуглецю є стійкою та економічно ефективною для виробництва омега-3 жирних кислот, але потреба в освітленні призводить до високих вимог до конструкції фотобіореактора, що обмежує його розробку [12]. Відкриті водойми можуть служити ідеальним середовищем для фототрофних мікроводоростей. Однак вони чутливі до коливань навколишнього середовища, і їх запуск є дорогим [12].

І навпаки, гетеротрофний процес використовує джерела органічного вуглецю, такі як глюкоза, ксилоза, ацетат, стічні води та рослинне борошно, для виробництва омега-3 жирних кислот [12]. Усі ці недорогі джерела органічного вуглецю можна використовувати для виробництва омега-3 жирних кислот шляхом ферментації з високою щільністю клітин у посудинах із нержавіючої сталі без світла. Висока щільність клітин знизить вартість виробництва омега-3 жирних кислот [12].

1.4 Характеристика біологічного агента

1.4.1 Обґрунтування вибору продуцента, який використовується в даній технології

Вибір виду мікроводоростей для подальшого отримання біомаси є важливим завданням, оскільки від цього залежить ефективність виробництва.

При виборі виду мікроводоростей необхідно враховувати наступні фактори:

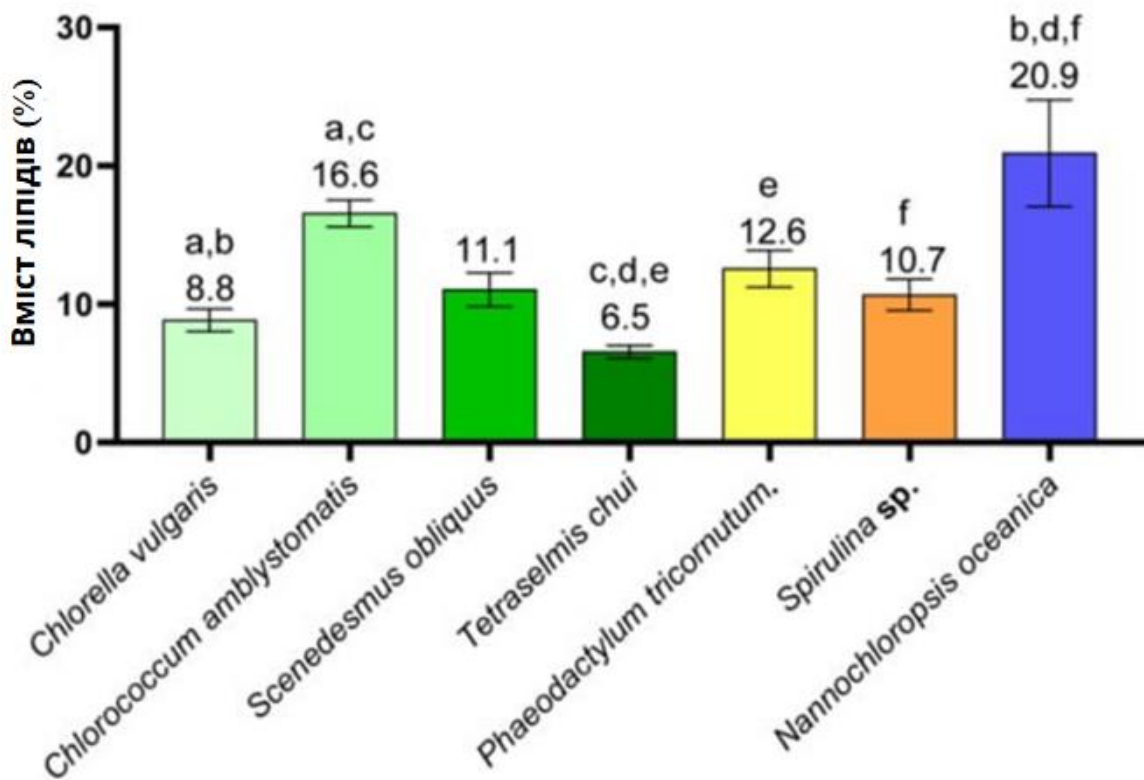
- Вміст жирів. Мікроводорості, які мають високий вміст жирів, є більш перспективними продуцентами омега-3 жирних кислот.
- Швидкість росту. Мікроводорості, які мають швидкий темп росту, дозволяють скоротити час виробництва біопалива.
- Умови культивування. Мікроводорості, які можна культивувати в простих та недорогих умовах, є більш економічно вигідними.
- Вміст інших цінних речовин. Крім жирів, мікроводорості можуть містити інші цінні речовини, такі як білки, вітаміни, мінерали. Вміст цих речовин також може бути важливим фактором при виборі виду мікроводоростей [12].

Згідно дослідженню “Мікроводорості як стійкі біофабрики корисних ліпідів: оцінка вмісту жирних кислот і антиоксидантної активності” [12], було надано огляд мікроводоростей, які найчастіше використовуються як біомаса або інгредієнти, з використанням ефективного методу екстракції ліпідів, спрямованого на уточнення профілів жирних кислот відповідно до видів мікроводоростей, вирощених у сольовому розчині (*Nannochloropsis oceanica* , *Phaeodactylum tricornutum* , *Tetraselmis chui*) або прісноводних середовищах (*Chlorella vulgaris* , *Chlorococcum amblystomatis* , *Scenedesmus obliquus* , *Spirulina* sp.). Вибрані мікроводорості є одними з найбільш культивованих видів у Європі.

Вміст ліпідів у мікроводоростей *Chlorella vulgaris* , *Chlorococcum amblystomatis* , *Scenedesmus obliquus* , *Tetraselmis chui* , *Phaeodactylum tricorutum* , *Spirulina sp.* і *Nannochloropsis oceanica* було визначено за допомогою гравіметрії та описано на рисунку 1.4.1.1 і в таблиці 1.4.1.1 *N. oceanica* була мікроводорістю з найвищим вмістом ліпідів ($20,9 \pm 3,4\%$), за якою йшли *C. amblystomatis* , *P. tricorutum* , *S. obliquus* і *Spirulina sp.*, відповідно. Найменший вміст ліпідів мали мікроводорості *C. vulgaris* і *T. chui* ($8,8 \pm 0,7\%$ і $6,5 \pm 0,4\%$ відповідно). Вміст ліпідів у *N. oceanica* значно відрізнявся від вмісту *C. vulgaris*, *T. chui* та *Spirulina sp.* ($p < 0,05$) [12].

У результаті аналізу жирнокислотного складу мікроводоростей було встановлено, що найбільший вміст ейкозапентаєнової кислоти (ЕПК, C20:5 ω -3) характерний для *Nannochloropsis oceanica* (30,8%) та *Phaeodactylum tricorutum* (27,3%). Зважаючи на високу концентрацію цільової омега-3 жирної кислоти та ефективність накопичення ліпідів за умов контролю культивування параметрів, саме *Nannochloropsis oceanica* була обрана як перспективний продуцент для промислового виробництва омега-3 жирних кислот. Цей вид демонструє високу продуктивність біомаси, стійкість до стресових умов вирощування та значний потенціал для біотехнологічної оптимізації. Враховуючи світові тенденції розвитку аквакультури, фармацевтики та харчових добавок, використання *Nannochloropsis oceanica* для отримання омега-3 жирних кислот є доцільним і економічно обґрунтованим.

| | | | | | | |
|-----|------|----------|--------|------|-------------------|------|
| | | | | | ДП ББ12.11.000 ПЗ | Арк. |
| | | | | | | 25 |
| Зм. | Арк. | № докум. | Підпис | Дата | | |



Літери, що збігаються (a–f), позначають статистично значущі відмінності між видами мікробіодоростей, тобто одна й та сама літера позначає значні відмінності ($p < 0,05$, тест Крускала–Уолліса з подальшим аналітичним порівнянням Данна).

Рисунок 1.4.1.1 Вміст ліпідів у *Chlorella vulgaris* , *Chlorococcum amblyostomatis* , *Scenedesmus obliquus* , *Tetraselmis chui* , *Phaeodactylum tricornutum* , *Spirulina sp.* і *Nannochloropsis oceanica* (виражено у відсотках % від біомаси) [12].

| | | | | |
|-----|------|----------|--------|------|
| | | | | |
| Зм. | Арк. | № докум. | Підпис | Дата |

Таблиця 1.4.1.1 Профіль жирних кислот (ЖК) *Chlorella vulgaris*, *Chlorococcum amblystomatis*, *Scenedesmus obliquus*, *Tetraselmis chui*, *Phaeodactylum tricornutum*, *Spirulina sp.*, і *Nannochloropsis oceanica* за ГХ-МС [12]. ЖК виражаються у відносній кількості (%), а значення є середніми для п'яти аналітичних зразків (n = 5) ± стандартне відхилення [12].

| ЖК | <i>Chlorophyta</i> | | | | <i>Bacillariophyta</i> | <i>Cyanobacteria</i> | <i>Ochrophyta</i> |
|----------------------------------------------------|---------------------------|-----------------------------------|-----------------------------|-------------------------|----------------------------------|----------------------|---------------------------------|
| | <i>Chlorella vulgaris</i> | <i>Chlorococcum amblystomatis</i> | <i>Scenedesmus obliquus</i> | <i>Tetraselmis chui</i> | <i>Phaeodactylum tricornutum</i> | <i>Spirulina sp.</i> | <i>Nannochloropsis oceanica</i> |
| C16:3 $\Delta^{7,10,13}$ (ω -3) | 14.2±0.8 | 0.8 ± 0.0 | 0.7± 0.1 | 1.3 ± 0.2 | 0.2 ± 0.0 | - | - |
| C16:4 $\Delta^{4,7,10,13}$ (ω -3) | - | 12.7 ± 0.6 | 15.5± 1.4 | 14.5± 1.8 | 0.6 ± 0.0 | - | - |
| C18:3 $\Delta^{9,12,15}$ (ω -3) | 26.3±1.4 | 21.9 ± 0.9 | 35.0± 2.7 | 18.3± 2.4 | 1.8 ± 0.1 | - | - |
| C18:4 $\Delta^{6,9,12,15}$ (ω -3) | - | 4.0 ± 0.2 | 4.7 ± 0.4 | 6.3 ± 0.9 | 0.5 ± 0.0 | - | - |
| C20:4 $\Delta^{5,11,14,17}$ (ω -3) | - | - | - | - | 0.3 ± 0.0 | - | - |
| C20:5 $\Delta^{5,8,11,14,17}$ (ω -3) | - | 10.7 ± 0.6 | - | 4.2 ± 0.6 | 27.3 ± 1.5 | - | 30.8 ± 2.4 |
| C22:6 $\Delta^{4,7,10,13,16,19}$ | - | - | - | - | 0.6 ± 0.1 | - | - |

1.4.2 Характеристика продуцента *Nannochloropsis oceanica*

Nannochloropsis oceanica - це одноклітинна мікроводорість, яка мешкає в морських середовищах по всьому по всьому світу. Для культивування *Nannochloropsis oceanica* вирощують у ставках або в більш інтенсивних системах біореакторів [14].

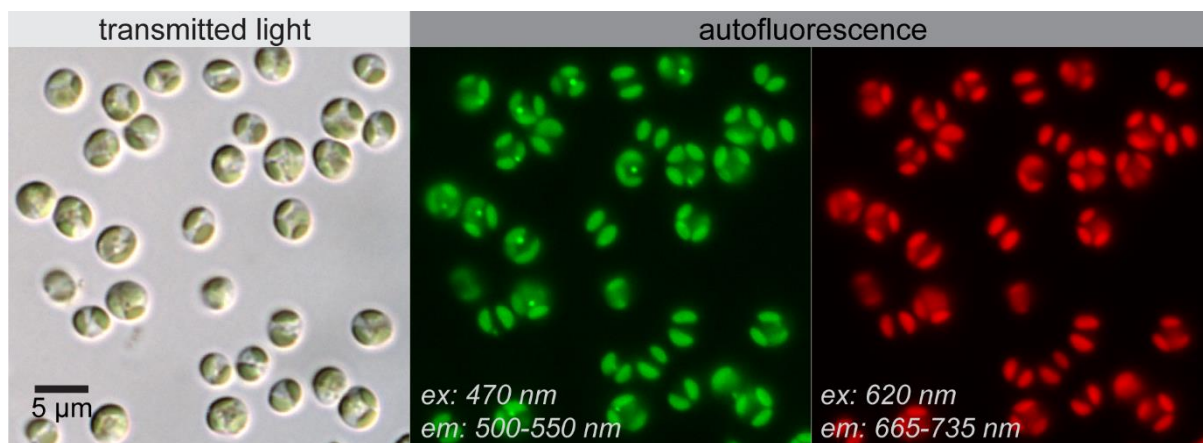


Рисунок 1.4.2.1. Клітини дикого типу *N. oceanica*, що синхронно діляться, зображені з використанням диференціального інтерференційного контрасту (DIC) (ліворуч), а потім за допомогою широкопольної флуоресцентної мікроскопії із застосуванням вказаних наборів фільтрів (праворуч). Автофлуоресценція походить від хлоропласта (зелений і червоний канали) та багатого на каротиноїди «червоного тіла» (лише зелений канал) [14].

Nannochloropsis oceanica накопичує високий рівень ліпідів, особливо при вирощуванні в стресових умовах. А високу частку вмісту ліпідів у *N. oceanica* складають триацилгліцерини, які легко переетерифікуються для отримання біодизеля [14]. Штами *N. oceanica* вважаються хорошими кандидатами для розробки біопалива третього покоління. Ці мікроводорості є потенційно екологічно стійким джерелом ліпідів, оскільки вони можуть збирати поживні речовини зі стічних вод і вуглекислого газу, що утворюється при спалюванні викопного палива [14].

Nannochloropsis oceanica використовується в аквакультурі як цінний корм, що містить поліненасичені жирні кислоти, необхідні вітаміни та

амінокислоти, а також енергію [15]. Зокрема, ейкозапентаєнова кислота (ЕПК) виробляється у відносно високих концентраціях. Дієтичні омега-3 жирні кислоти мають позитивний вплив на здоров'я людини, зокрема, на здоров'я коронарних судин. *Nannochloropsis oceanica* досліджується як потенційне джерело омега-3 жирних кислот для харчових добавок та кормових добавок для тварин [15].

Одноклітинна мікроводорість *Nannochloropsis oceanica* була вперше описана в 2002 році [15]. Вид був названий океанічним, оскільки він зустрічається в морському середовищі, а типовий зразок був зібраний з Тихого океану, біля узбережжя Японії [15].

Рід *Nannochloropsis* був запропонований Хіббердом [16] для об'єднання дуже дрібних, зелених евстигматофітових водоростей, які містять хлорофіл а, але не хлорофіл b або c. *Nannochloropsis* був раніше класифікували як морську хлорелу [17]. Всі види *Nannochloropsis* є морськими, за винятком *N. limnetica*, який живе у прісній воді [18].

Таблиця 1.4.2.1. Таксономічне положення *Nannochloropsis oceanica* [18]

| Таксон | Номенклатура | Коментар |
|------------|-------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------|
| Домен | Еукаріоти (<i>Eukaryota</i>) | |
| Царство | Хромісти (<i>Chromista</i>) | |
| Підцарство | Гетероконти (<i>Heterokontophyta</i>) | |
| Відділ | Охрофіти (<i>Ochrophyta</i>) | = <i>Heterokontophyta</i> «Гетероконтофітові водорості» |
| Клас | Евстигматофіцієві водорості (<i>Eustigmatophyceae</i>) | Одноклітинні водорості; фотосинтезуючі автотрофи |

| | | | | |
|-----|------|----------|--------|------|
| | | | | |
| Зм. | Арк. | № докум. | Підпис | Дата |

| | | |
|--------|---------------------------------------------|-----------------------------------------|
| Ряд | Евстигматальні (<i>Eustigmatales</i>) | |
| Родина | Монодопсидові (<i>Monodopsidaceae</i>) | Клітини без слизових шарів; без зооспор |
| Рід | <i>Nannochloropsis</i> | Клітини <5 мкм у максимальному діаметрі |
| Вид | <i>Nannochloropsis oceanica</i> | |

Природне середовище існування та географічне поширення

Nannochloropsis oceanica був зібраний з океанів по всьому світу. Описані штами переважно походять з субтропічних вод Північної півкулі, проте *N. oceanica* також були знайдені поблизу Полярного кола і в Південній півкулі.

Більшість досліджених штамів *N. oceanica* походять з Китаю, Японії та Тайваню [18]. Вид також був ізольований з вод біля західної Норвегії [19], Середземного та Червоного морів біля Ізраїлю [15], Середземного моря біля Єгипту [20], Кувейту, західного узбережжя Індії [20], Аргентини та затоки Десепши-Бей, Новий Південний Уельс, Австралія [18].

Очікується, що подальші дослідження вод Південної півкулі виявлять більше різноманіття всередині роду [18].

Наннохлоропсисоподібні види були знайдені в антарктичних озерах. Вони, ймовірно, більш близькі до прісноводного *N. limnetica* [21].

Перспективи використання

Nannochloropsis наразі використовується у виробництві концентратів мікроводоростей для рибних інкубаторів.

Дослідники сподіваються реалізувати потенціал мікроводоростей як сталого джерела біопалива та здорових продуктів харчування; однак

| | | | | | | | |
|-----|------|----------|--------|------|--|-------------------|------|
| | | | | | | ДП ББ12.11.000 ПЗ | Арк. |
| | | | | | | | 30 |
| Зм. | Арк. | № докум. | Підпис | Дата | | | |

біологічні властивості окремих штамів, а також методи культивування та екстракції потребують вдосконалення для зниження витрат, перш ніж виробництво стане комерційно життєздатним [22].

Вирощування

Історично мікроводорості збирали з природних ставків та озер [23].

Зараз мікроводорості зазвичай вирощують у промислових кількостях у двох системах: «відкритих» ставках і “закритих” фотобіореакторах. Ці системи можуть використовувати солону воду, переробляти поживні речовини у стічних водах і використовувати викиди вуглекислого газу від електростанцій, що спалюють викопне паливо [24]; [25].

Ставки-іподромі - це відкриті замкнуті канали з рециркуляцією, в яких розчин водоростей підтримується в постійному русі за допомогою лопатевого колеса. Фотобіореактори складаються з масиву вузьких прозорих трубок або пластин, що містять рециркулюючий розчин водоростей. Ці системи максимізують кількість світла, яке можна вловити, і дозволяють підтримувати одновидові культури протягом тривалого часу. Закрита система вимагає наявності зон дегазації для видалення розчиненого кисню і бульбашок, а також для поповнення вуглекислого газу [25]. Існує кілька різних конструкцій фотобіореакторів, включаючи трубчасті, плоскі пластини, колонки і біоплівкові системи [26].

Існують різні типи методів культивування, від періодичного до безперервного [27]. При періодичному культивуванні клітини мікроводоростей збільшуються від однієї інокуляції, наприклад, у пробірці, послідовно через збільшення об'єму до кінцевої культури, наприклад, у відкритому водоймищі. Всю культуру збирають безпосередньо перед досягненням стаціонарної фази. Безперервні культури підтримуються на рівні, близькому до максимальної швидкості росту, шляхом регулярного відбору частини культури і заміни втраченого об'єму свіжим середовищем.

| | | | | | | | | | | | |
|------|------|----------|--------|------|--|--|--|--|--|-------------------|------|
| | | | | | | | | | | ДП ББ12.11.000 ПЗ | Арк. |
| | | | | | | | | | | | 31 |
| Зм.. | Арк. | № докум. | Підпис | Дата | | | | | | | |

Культури *Nannochloropsis* часто досягають щільності приблизно 3×10^7 клітин мл^{-1} , але можуть досягати 1900×10^7 клітин мл^{-1} (або $67,3 \text{ г л}^{-1}$) в реакторах з плоскими пластинами [28].

Морфологія клітини

Nannochloropsis - одноклітинний грушоподібний, кулястий або овальний організм розміром $2-4 \times 3-5 \text{ мкм}$ [14]. Клітини поодинокі. Клітинна стінка гладенька, з невеликим сосочком (пробочкоподібна структура). Суха маса клітини становить приблизно $3-6 \text{ пг клітини}^{-1}$ [27];[28].

Nannochloropsis має відносно товсті, жорсткі клітинні стінки, приблизно $85-113 \text{ нм}$ завтовшки [29]. Структура клітинної стінки була досліджена у *M. gaditana* [30]. Клітинна стінка складається приблизно на 75% з целюлози, а решта - з біополімерів водоростей, білків, інших вуглеводів та мінералів. Внутрішня плазматична мембрана з'єднана розпірками з бішаром клітинної стінки. Внутрішній шар клітинної стінки виготовлений на основі целюлози, тоді як тонший зовнішній шар - на основі альгінану. Від зовнішньої альгінанової стінки відходять відростки довжиною $< 100 \text{ нм}$ [29].

Структура альгінану *Nannochloropsis* не повністю з'ясована, але, як видається, він складається з довгих, прямих, насичених аліфатичних ланцюгів з ефірними поперечними зв'язками, які можуть бути похідними від жирних кислот $\text{C}18$ [30]. Припускають, що водорості *Nannochloropsis* подібні до кутану, який міститься в таких рослинах, як агава та клівія [30].

Один жовто-зелений хлоропласт прилягає до клітинної стінки (рис. 1.2.3.2.). Хлоропласти *Nannochloropsis* мають кілька смуг ламел, по три тилакоїди в кожній. Пластида оточена чотирма мембранами, причому зовнішня мембрана ендоплазматичного ретикулуму є безперервною з мембраною ядерної оболонки [16].

Основними світлозбиральними допоміжними пігментами є ефіри каротиноїдів віолаксантину та вохеріаксантину. Ці каротиноїди передають

світлову енергію на хлорофіл а і захищають фотосинтетичний апарат від надлишку світла, гасячи флуоресценцію [31].

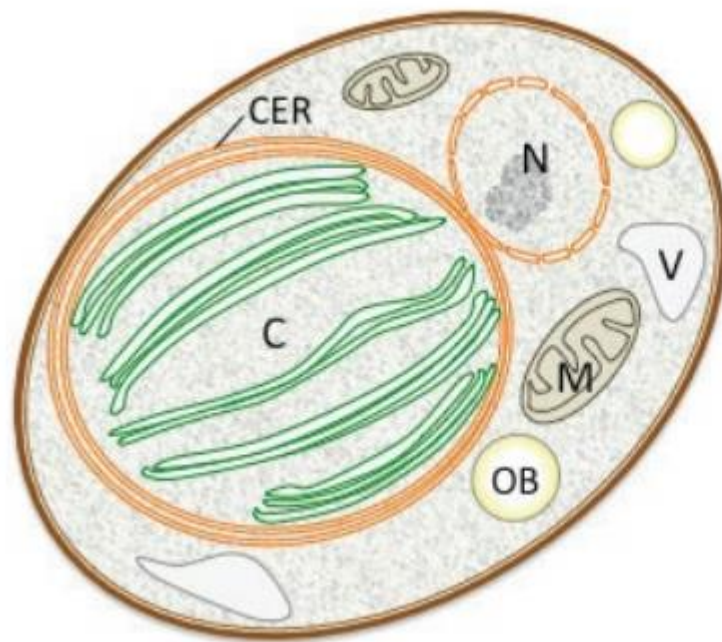


Рисунок 1.4.2.2. Клітинна структура *Nannochloropsis* за умов надлишку поживних речовин [23].

C - хлоропласт (пластида); CER - ендоплазматична сітка хлоропластів; M - мітохондрія; N - ядро; OB - олійне тільце (ліпідна крапля); V – везикула [23].

Клітини *Nannochloropsis* містять у цитоплазмі нерухомі гранульовані включення та везикули, а також, як правило, мітохондрію та тільце Гольджі [14]. Клітини *N. oceanica* також можуть містити рефрактерні тільця та червоне тільце (червонувата глобула). Ці ліпідні червоні тільця характерні для евстигматофітів, стають більшими і темнішими з віком клітин [31]. Під час розмноження червоне тільце повністю успадковується однією з дочірніх клітин. Функція червоних тілець незрозуміла. Деякі автори [32] описують червоні тільця як «очні плями»; однак очні плями є окремими органелами, присутніми у деяких джгутикових водоростей, включаючи евстигматофітові водорості, і вважається, що вони беруть участь у фотосприйнятті [31].

Поодинокі червоні тільця також відрізняються від ліпідних крапель (рис. 4), яких може бути декілька [31].

Краплі ліпідів зберігають жирні кислоти. Синтез ліпідів, ймовірно, відбувається двома окремими шляхами: прокаріотичним шляхом, пов'язаним з хлоропластом, та еукаріотичним шляхом, пов'язаним з ендоплазматичним ретикулумом [16]. Перші етапи синтезу жирних кислот для синтезу ТАГ відбуваються в хлоропласті. Після нещодавніх досліджень хламідомонади незрозуміло, чи наступні етапи синтезу ТАГ відбуваються в мембранах пластид, ендоплазматичному ретикулумі, чи в обох цих органелах. Очікується, що синтез ЕПК у *Nannochloropsis* відбувається в ендоплазматичному ретикулумі [33].

Наявність піреноїдоподібної структури у *Nannochloropsis* відмічали [16] та інші. Піреноїди - це CO₂-концентруючі структури, пов'язані з хлоропластом, проте [16] не побачили чіткого зв'язку між піреноїдоподібними структурами та хлоропластами. Подальші дослідження не підтвердили наявності піреноїдів [31].

1.5 Вибір технології виробництва

Процес виробництва омега-3 жирних кислот з мікроводоростей можна умовно поділити на дві частини: напрацювання біомаси з високим вмістом ліпідів та її переробка.

1.5.1. Обґрунтування вибору технології культивування мікроводоростей *Nannochloropsis oceanica*

Nannochloropsis oceanica виробляє велику кількість жирних кислот. В одному дослідженні профілі жирних кислот відрізнялися між видами та штамами наннохлоропсису, причому штами *Nannochloropsis oceanica* містили від 2,90 до 8,35% ЕПК [34].

Відносний вміст ліпідів змінюється з часом і за різних умов живлення. [26] вирощували *Nannochloropsis oceanica* в умовах надлишку

| | | | | | | | | | | |
|-----|------|----------|--------|------|--|--|--|--|--|------|
| | | | | | | | | | | Арк. |
| | | | | | | | | | | |
| Зм. | Арк. | № докум. | Підпис | Дата | | | | | | 34 |

та нестачі поживних речовин. Концентрація поліненасичених жирних кислот омега-3 та омега-6 помітно не змінювалася за різних умов живлення; проте насичені та мононенасичені жирні кислоти зростали за умов нестачі поживних речовин (Таблиця 1.5.1.1). За низьких поживних умов продукція жирних кислот досягла $280,8 \text{ мг} \cdot \text{г}^{-1}$ (або 28% від сухої маси) через 16 днів (Таблиця 1.5.1.1). Вивчаючи вплив різних рівнів освітлення, [35] виміряли максимальну продукцію жирних кислот $408,2 \text{ мг} \cdot \text{г}^{-1}$ (або 41% від сухої маси) в умовах високого освітлення через 20 днів культивування. Ліпіди *Nannochloropsis oceanica* також включають холестерин і фітостерини.

Таблиця 1.5.1.1. Концентрації жирних кислот ($\text{мг} \cdot \text{г}^{-1}$ сухої маси) у штамі *N. oceanica* за різних поживних умов, за даними [26].

| День | Надлишок Нітратів та Фосфатів | | | Нестача Нітратів та Фосфатів | | |
|-------------------------------|-------------------------------|-----------------|----------------|------------------------------|-----------------|-----------------|
| | 8 | 12 | 16 | 8 | 12 | 16 |
| Насичені жирні кислоти | 24.0 ± 0.7 | 27.0 ± 1.7 | 38.8 ± 4.2 | 29.9 ± 1.6 | 74.6 ± 2.1 | 122.4 ± 6.0 |
| Мононенасичені жирні кислоти | 22.5 ± 0.6 | 23.9 ± 3.0 | 32.7 ± 2.5 | 24.6 ± 3.3 | 55.9 ± 0.8 | 97.2 ± 3.1 |
| Поліненасичені жирні кислоти | 44.4 ± 1.4 | 46.4 ± 5.7 | 53.9 ± 6.0 | 45.2 ± 2.1 | 55.9 ± 7.4 | 61.2 ± 3.0 |
| Омега-3 жирні кислоти | 41.5 ± 2.7 | 43.2 ± 3.6 | 49.3 ± 3.9 | 43.2 ± 1.1 | 45.0 ± 5.1 | 46.8 ± 2.4 |
| Омега-6 жирні кислоти | 2.8 ± 1.5 | 3.2 ± 2.6 | 4.7 ± 2.1 | 2.0 ± 2.1 | 10.9 ± 2.5 | 14.5 ± 0.6 |
| Загальний вміст жирних кислот | 90.8 ± 0.7 | 97.3 ± 10.1 | 125 ± 10.9 | 99.6 ± 6.4 | 186.3 ± 4.6 | 280.8 ± 6.0 |

Середнє \pm SD, кількість зразків = 3.

Насичені жирні кислоти: C14:0, C16:0, C18:0; Мононенасичені жирні кислоти: C16:1n-7, C18:1n-9; Поліненасичені жирні кислоти: C18:2n-6,

C20:4n-6, C20:5n-3 (ЕПК). Омега-3 жирні кислоти: C20:5n-3 (ЕПК); Омега-6 жирні кислоти: C18:2n-6, C20:4n-6.

Nannochloropsis oceanica - облигатний фотоавтотроф з факультативною гетеротрофністю. Як фотоавтотроф, *Nannochloropsis oceanica* фіксує вуглекислий газ за допомогою фотосинтезу. При міксотрофному рості мікроводорості використовують як органічне джерело вуглецю, так і фіксований вуглекислий газ [36] [37]. Культура, забезпечена органічним вуглецем, може чергувати гетеротрофний ріст вночі і міксотрофний вдень [36]. [38] повідомляють, що міксотрофний ріст з додаванням глюкози збільшує швидкість росту *N. oculata*. Здатність *Nannochloropsis oceanica* рости в гетеротрофних умовах, тобто в темряві, незрозуміла. У гетеротрофній культурі *Nannochloropsis* використовує органічний вуглець як джерело енергії і не фотосинтезує. [37] виявили, що *Nannochloropsis* однаково добре росте в фотоавтотрофних і гетеротрофних системах; в міксотрофній культурі штам виробляє вдвічі більше біомаси, ніж штамми, вирощені в інших системах. І навпаки, [39] повідомили про штам *N. oculata*, який взагалі не міг рости гетеротрофно. Аналогічно, [40] виявили, що лише чотири з дванадцяти досліджених штамів *Nannochloropsis* були здатні до гетеротрофного росту, і що гетеротрофний ріст у цих чотирьох штамів був дуже повільним. Швидкість росту біомаси мікроводоростей збільшується зі збільшенням інтенсивності світла до максимальної точки, після чого швидкість росту знижується через фотоінгібування [25]. Ця точка максимуму може змінюватися залежно від температури, стану поживних речовин та умов росту клітин, що ускладнює порівняння між дослідженнями. Наприклад, використовуючи той самий модельний штам *N. oceanica* IMET1, отримали максимальну і пригнічену швидкість росту при 53 і 132 мкмоль фотонів $\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$, відповідно, при вирощуванні в мікропланшетах; тоді як [35] отримали максимальну продуктивність при 331 мкмоль фотонів $\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$ при вирощуванні в культуральних пробірках. У

| | | | | | | | | | | |
|-----|------|----------|--------|------|-------------------|--|--|--|--|------|
| | | | | | | | | | | Арк. |
| | | | | | | | | | | 36 |
| Зм. | Арк. | № докум. | Підпис | Дата | ДП ББ12.11.000 ПЗ | | | | | |

щільних культурах мікроводоростей, наприклад, у фотобіореакторах, окремі клітини мікроводоростей зазнають впливу світла різної інтенсивності завдяки постійній циркуляції культурального розчину. Світло втрачає інтенсивність, коли проникає в культуру, тому клітини можуть переміщатися з ненасичених світлових зон в насичені протягом декількох секунд [41]. Коли клітини швидко переміщуються між темними і світлими зонами, наприклад, кожні 10 мс, продуктивність може бути вищою, ніж якщо клітини піддаються впливу такої ж кількості світла без коливань [25]. Миготливі світлодіоди (LED) використовують цей ефект для оптимізувати ріст у фотобіореакторах. Однак тривалий вплив світла високої інтенсивності на верхній поверхні культури може призвести до фотоінгібування. У системах з сонячним освітленням інтенсивність світла змінюється протягом дня і може призвести до фотоінгібування під час максимального опромінення близько полудня [42]. Коли інтенсивність світла змінюється протягом тривалого періоду часу, мікроводорості регулюють концентрацію пігментів, що збирають світло, в процесі фотоакліматизації [43].

Мікроводорості також здатні акліматизуватися до змін у спектрі світла. Параметри фотосинтезу змінюються залежно від довжини хвиль, на які потрапляє світло. При вирощуванні під синім світлом *Nannochloropsis* має більшу продуктивність біомаси, ніж під червоним [44].

1.5.1.1 Потреба в поживних елементах

В середньому співвідношення вуглецю, азоту і фосфору в морському планктоні дуже схоже на співвідношення цих елементів у морській воді - приблизно 100:16,7:1,85 відповідно. Щоб забезпечити зростання біомаси мікроводоростей, ці поживні речовини повинні бути присутніми в культуральному розчині приблизно в такому співвідношенні [25].

У великомасштабній аквакультурі мікроводоростей морську воду доповнюють азотом, фосфором і мікроелементами за допомогою комерційних добрив, а також вуглекислим газом протягом світлового дня

| | | | | | | |
|-----|------|----------|--------|------|-------------------|------|
| | | | | | ДП ББ12.11.000 ПЗ | Арк. |
| Зм. | Арк. | № докум. | Підпис | Дата | | 37 |

[25]. У лабораторії *Nannochloropsis* зазвичай культивують на середовищі Гійярда F/2 [45], склад середовища вказаний на Таблиці 1.5.1.2.

Таблиця 1.5.1.2. Компоненти середовища F/2, за Гійяром [45].

| Компонент | Кількість, мг·л ⁻¹ |
|---------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------|
| Нітрат натрію (NaNO ₃) | 75 |
| Фосфат натрію одноосновний (NaH ₂ PO ₄ ·H ₂ O) | 5 |
| Метасилікат натрію (Na ₂ SiO ₃ ·9H ₂ O) ^a | 33 |
| ЕДТА динатрій (Na ₂ ·EDTA ⁺) | 4,36 |
| Хлорид заліза (FeCl ₃ ·6H ₂ O ⁺) | 3,15 |
| Купрум(II) сульфат (CuSO ₄ ·5H ₂ O) | 0,01 |
| Цинк сульфат (ZnSO ₄ ·7H ₂ O) | 0,022 |
| Кобальту хлорид (CoCl ₂ ·6H ₂ O) | 0,01 |
| Марганцю хлорид (MnCl ₂ ·4H ₂ O) | 0,18 |
| Молібдат натрію (Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O) | 0,006 |
| Тіамін·HCl | 0,1 |
| Біотин | 0,5 мкг·л ⁻¹ |
| Вітамін B12 | 0,5 мкг·л ⁻¹ |
| Солона вода | До 1 літра |

Маніпулювання концентрацією поживних речовин у розчині змінює швидкість росту та накопичення ліпідів у *Nannochloropsis*. За умов низького вмісту азоту та фосфору біомаса та вміст білка зменшуються, тоді як концентрація жирних кислот зростає [26]. Профіль жирних кислот *N. oceanica* також змінюється при обмеженні поживних речовин (Таблиця 2). Аналогічне збільшення продукції ліпідів у *N. oceanica*, що страждає від нестачі азоту, було відмічено [46].

Відповідно до результатів [26], азотне виснаження значно збільшило концентрацію жирних кислот C14:0, C16:0, C16:1n-9 і C18:1n-9, але не призвело до значних змін в ЕПК. Хлорофіл а, віолаксантин і каротиноїди

знижувалися за низького вмісту азоту, але концентрація зеаксантину зростала, що призводило до зміни кольору клітин із зеленого через жовтий до світло-жовтого [46]. Припускають, що таке збільшення зеаксантину забезпечує фотозахист від надлишку світла, яке не може бути використане для фотосинтезу. Після повторного введення нітрату в систему клітини швидко відновлювалися і знову набували зеленого кольору.

Додавання індол-3-оцтової кислоти (ІОК), природного ауксину, до культур *N. oceanica* призводить до зміни швидкості росту та профілю жирних кислот. Після початкової лаг-фази концентрація клітин у культурах, оброблених ІОК, подвоюється. У *N. oceanica* CASA CC201 продукція ЕПК зросла з 1,87% від ТЖК (загальних жирних кислот) до 10,76% при додаванні ІОК у концентрації 40 ppm.

1.5.1.2 Температура

Nannochloropsis oceanica добре росте приблизно до 30 °С. [20] зазначають, що швидкість росту швидко знижується до нуля за температури 30-35 °С; проте [47] зафіксував значний ріст за 35 °С. Оптимальна температура росту *N. oceanica* в лабораторних культурах становить 25-29 °С, причому оптимальна температура зростає зі збільшенням інтенсивності світла.

З іншого боку, культури *N. oculata* здатні залишатися життєздатними протягом 18 місяців при зберіганні в лабораторному холодильнику при температурі 3-5 °С [47]. Прісноводний вид *N. limnetica* добре пристосований до холодної води з температурою, що наближається до 0 °С.

Низька температура обмежує вуглецевий обмін у мікрowodоростей і може призвести до фотоінгібування, навіть за умов низької освітленості [43]. Це може обмежити продуктивність у культурах на відкритому повітрі, коли вода прогрівається із запізненням на початку дня. Загальне виробництво жирних кислот зростає з підвищенням температури від 14 до 30 °С за

| | | | | |
|-----|------|----------|--------|------|
| | | | | |
| Зм. | Арк. | № докум. | Підпис | Дата |

підвищеного вмісту вуглекислого газу; проте вміст ЕПК у відсотках від ТЖК зменшується [48].

Однак, дослідження показало, що вміст ЕПК був сприятливий за низької температури та середньої солоності, досягаючи піку при 19 °С та 3,0% (мас./мас.), причому температура була найбільш впливовим фактором. Це було очікувано, оскільки температура є добре відомим модулятором ліпідного метаболізму в мікрководоростях. Крім того, зниження температури культивування зазвичай призводить до збільшення рівня ненасичених жирних кислот, зокрема до збільшення плинності мембран [49]. Це підвищення рівня ненасичених жирних кислот також спостерігалось спеціально для *N. oceanica*. У [50] спостерігалось збільшення вмісту ЕПК з 3,1 г·г⁻¹ DM до 5,0 г·г⁻¹ DM у діапазоні температур 30–15 °С при використанні плоскопанельного фотобіореактора (культури об'ємом 1,8 л) та подібного середовища на основі Nutribloom. Аналогічно, у посиланні [51] було виявлено, що вміст ЕПК досягає піку приблизно на рівні 3,7 г·г⁻¹ DM при 17 °С. Однак вміст ЕПК залишався відносно стабільним, знизившись лише до 2,9 г·г⁻¹ DM для біомаси, отриманої при 31 °С. В обох дослідженнях знижена температура культивування також призвела до зниження темпів росту, що суттєво вплинуло на кінцеву продуктивність ліпідів [51].

1.5.1.3 Солоність

Солоність є значним фактором для вмісту ЕПК, з невеликим негативним впливом з обох боків на рівні 3,0% (мас./об.). Подібне спостереження було зроблено у близькоспорідненої *N. gaditana* [52]. Тут рівень ЕПК у біомасі (% від загальної кількості жирних кислот) досяг піку при вмісті солі 30–35 г·л⁻¹ (3,0–3,5% мас./об.) і значно знизився при збільшенні до 40 г·л⁻¹ (4,0% мас./об.). Аналогічно, [53] продемонструвало, що вміст ЕПК у *Nannochloropsis* sp. UTEX2379 був дещо вищим (3,6% сухої речовини) при 27 г NaCl·л⁻¹ порівняно з 40 г NaCl·л⁻¹ (3,3% сухої речовини). Однак, вміст збільшився ще більше до 4,3%

сухої води, коли солоність знизилася до $13 \text{ г NaCl} \cdot \text{л}^{-1}$, загальна тенденція, що також спостерігалася для *N. oceanica* та *N. oculata* [54].

Nannochloropsis oceanica добре росте при концентрації солі $22\text{-}49 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$, що еквівалентно $63\text{-}140\%$ морської води, а найкраще росте при підвищеному вмісті вуглекислого газу $31 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$, тобто 89% морської води [48]. При вирощуванні у воді з нижньою межею цього діапазону солоності вміст ЖК і ЕПК у відсотках від ЖК зростає.

Отже, враховуючи попереднє дослідження, було обрано такі параметри культивування:

Обраний безперервний тип культивування. Для сприяння руйнуванню клітинних стінок використаємо прісну воду як середовище з солоністю 3% .

Найвищий вміст ЕПК (до $5,0 \text{ г} \cdot \text{г}^{-1} \text{ DM}$) досягається за низької температури $15\text{-}19 \text{ }^\circ\text{C}$, хоча при цьому зменшується загальна швидкість росту. Тому для максимізації саме концентрації ЕПК, доцільно культивувати за температури $17\text{-}19 \text{ }^\circ\text{C}$.

Висока інтенсивність світла (до $331 \text{ мкмоль фотонів} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$) сприяє високій продуктивності загальних ліпідів (до 41% с.м.). Обрана довжина хвилі – $400\text{-}450 \text{ нм}$, оскільки вирощуванні під синім світлом *Nannochloropsis* має більшу продуктивність біомаси. Однак, щоб уникнути фотоінгібування, у фотобіореакторах бажано використовувати перемінне або миготливе освітлення (LED) з короткими циклами ($\sim 10 \text{ мс}$), що імітує природне світлове коливання всередині культури.

Обмеження азоту та фосфору збільшує загальний вміст ліпідів, але не суттєво впливає на концентрацію ЕПК. Для підвищення абсолютної продукції ЕПК, оптимально використовувати балансоване середовище (обрано F/2), що забезпечує стабільну біомасу з високим вмістом ЕПК. Додавання індол-3-оцтової кислоти (ІОК) у концентрації 40 ppm подвоює біомасу і збільшує частку ЕПК до $10,76\%$ ТЖК, що є значним приростом у порівнянні з контрольними умовами ($1,87\%$).

1.5.2. Обґрунтування вибору технології збору біомаси

Збір мікроводоростей передбачає видалення біомаси мікроводоростей з культивуаційного розчину для подальшої переробки [41]. Існує багато різних методів і комбінацій методів, які можна використовувати для збирання мікроводоростей залежно від масштабу виробництва та видів мікроводоростей. Дослідження оптимальних методів збирання тривають, оскільки зневоднення є великою витратою у виробництві мікроводоростей [41].

Найбільш поширеними методами збирання, що використовуються у великомасштабному виробництві мікроводоростей, є наступні:

- Флокуляція. Цей процес зазвичай використовується як попередня обробка в поєднанні з іншими методами збирання [55]. Флокуляція змушує клітини мікроводоростей агрегуватися, збільшуючи розмір частинок. Для флокуляції часто використовують солі металів, хоча це залежить від кінцевого використання мікроводоростей.

- Центрифугування. Цей метод відокремлює клітини мікроводоростей від розчину через різницю в щільності [41].

- Відстоювання/седиментація. Під дією сили тяжіння мікроводорості осідають на дно відстійників. Седиментація є відносно повільним процесом [55] [56].

- Флотація розчиненим повітрям. Цей метод часто використовують у поєднанні з флокуляцією. Б бульбашки газу, що проходять через суспензію мікроводоростей, прилипають до частинок, змушуючи їх спливати на поверхню і дозволяючи збирати їх [56].

- Фільтрація. Тверді частинки утримуються, коли розчин мікроводоростей продавлюється через фільтрувальну мембрану за допомогою вакууму, тиску або сили тяжіння [56].

Після збору врожаю біомаса мікроводоростей може бути додатково висушена або перероблена для вилучення необхідних речовин [41].

Рециркуляція води, що залишається після збору врожаю, зменшує водний слід систем вирощування мікроводоростей, однак може вплинути на ріст наступних культур. Рециркуляція живильного середовища може призвести до покращення або зменшення росту наступних культур *Nannochloropsis*, залежно від різних факторів, наприклад, додавання засобів для збирання врожаю.

Для концентрування клітин використовуються стратегії осадження з використанням таких методів як: гравітаційне осадження, центрифугування, флотація, фільтрація та ін. Переваги та недоліки можливих стратегій вказані в таблиці 1.4.1

Таблиця 1.5.2.1 Порівняння методів що використовуються для згущення суспензії мікроводоростей [57].

| Метод | Опис методу | Переваги | Недоліки |
|-----------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Фільтрація | У процесі фільтрації використовується напів-проникна мембрана, яка може утримувати мікроводорості на мембрані, дозволяючи рідкому середовищу проходити крізь нього, залишаючи біомасу водоростей для збору | Не висока вартість масштабування, можливість використання води після процесу | Невелика швидкість процесу, забруднення і закупорка мембрани, обмежений обсяг, можливе пошкодження клітинної стінки |
| Центрифугування | Центрифугування відокремлює клітини мікроводоростей від культурального середовища на основі щільності та розміру частинок кожного компонента за | Оптимальна швидкість процесу та його продуктивність. | Значні витрати енергії та зусиль, а також ризик клітинних пошкоджень є характерними |

| | | | | |
|-----|------|----------|--------|------|
| | | | | |
| Зм. | Арк. | № докум. | Підпис | Дата |

| | | | |
|------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| | допомогою відцентрової сили | | особливостями процесу. |
| Гравітаційна седиментація | Осідання або спливання частинок дисперсної фази (твердих крупинок, крапельок рідини, бульбашок газу) в рідкому або газоподібному дисперсійному середовищі в гравітаційному полі або полі відцентрових сил | Економічність процесу з реутилізацією водних ресурсів. | Невисока швидкість, можливість деградації продукту, чутливість до концентрації клітин. |
| Хімічна флокуляція | Процес, під час якого вільно плаваючі одноклітинні клітини мікрободоростей об'єднуються, утворюючи більшу частинку, відому як флок, шляхом додавання хімічного флокулянта для видалення поверхневого заряду клітин | Низькодоступні та недорогі хімічні флокулянти, широко використовуються в промисловості | хімічні речовини не є екологічно чистими через їх високу токсичність, і їх необхідно видаляти за допомогою додаткових процесів обробки, що збільшує вартість виробництва |
| Флотація розчиненим повітрям | генерує бульбашки повітря шляхом насичення культури стисненим повітрям, а потім вивантаження | Економічність та простота впровадження у великомасштабному виробництві | Висока собівартість через енергоспоживання та хімікати обмежує |

| | | | | |
|------|------|----------|--------|------|
| | | | | |
| Зм.. | Арк. | № докум. | Підпис | Дата |

| | | | |
|-----------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| | культури при атмосферних умовах | | можливості використання. |
| Флотація | використовує дрібні бульбашки, які прикріплюються до клітин мікроводоростей, щоб сприяти плаванню клітин на поверхні культурального середовища для легкого збору | Відносно висока ефективність збору, проста процедура експлуатації та висока продуктивність обробки за низької вартості | Обмежений вихід продукту внаслідок слабкої ефективності флотації. |
| Біологічна флокуляція | Процес, під час якого вільно плаваючі одноклітинні клітини мікроводоростей об'єднуються, утворюючи більшу частинку, відому як флок, шляхом додавання біологічного флокулянта для видалення поверхневого заряду клітин | Біологічні флокулянти дешевші у використанні, і зазвичай не потребують попередньої обробки перед подальшою обробкою | Відсутність повторного використання води, вища витрата енергії, ніж у інших флокулянтів, потреба у вищій концентрації флокулянтів для досягнення тих самих результатів |
| Електрофлотація | застосовує операцію електролізу для генерації мікробульбашок з електрода для захоплення вільно плаваючих мікроводоростей | Висока ефективність, метод також дозволяє одночасне руйнування клітин при використанні змінного струму | Висока витрата енергії (до 16 кВт·год/кг біомаси), підвищена температура може пошкодити систему, |

| | | | | |
|------|------|----------|--------|------|
| | | | | |
| Зм.. | Арк. | № докум. | Підпис | Дата |

ДП ББ12.11.000 ПЗ

Арк.

45

найкращого видалення культуральної рідини та досягнення максимальної ефективності збору біомаси, в ході процесу використовується фільтр-прес із вертикальними плитами.

1.5.3 Обґрунтування вибору технології виділення ліпідів мікроводоростей

Для отримання сполук, що цікавлять, з клітин мікроводоростей, присутніх у самій клітинній стінці або внутрішньоклітинно, необхідно провести екстракцію [58]. Головною метою методів екстракції є отримання високого виходу бажаних сполук без шкоди для якості та активності, а також збереження побічних продуктів, мінімізація кількості витраченої енергії та утворення відходів, оптимізація процесу (робоча температура, тиск, місткість, побічні реакції та розділення) та масштабованість [59].

Традиційно жирні кислоти отримували з мікроводоростей за допомогою звичайних методів екстракції розчинником. Ці методи включають твердо-рідинну та рідинно-рідинну екстракції, в яких використовуються органічні розчинники, такі як гексан, толуол, дихлорметан, ацетон та інші [59]. Однак сьогодні існує загальна думка, що розчинники, що використовуються в процесах екстракції, повинні бути безпечними, недорогими та нетоксичними [59,60,61]. Отже, нещодавні дослідження зосереджені на розробці технологій екстракції для отримання екстрактів мікроводоростей без використання (або мінімізації використання) токсичних органічних розчинників або шляхом заміни їх «зеленішими» розчинниками, такими як етанол та глибоко евтектичні розчинники [58,59]. Тим не менш, необхідно використовувати неагресивні умови екстракції, щоб не мати негативного впливу на сполуки, присутні в клітинах мікроводоростей, такого як деградація ліпідів, яка може відбуватися за високих температур [61,62].

Екстракцію біологічно активних сполук (а саме жирних кислот) з мікроводоростей, таких як *Nannochloropsis*, проводили з використанням кількох різних технологій, включаючи ультразвук [64], мікрохвилі, надкритичні та субкритичні рідини та високий тиск [65], серед інших.

Процеси екстракції можуть включати дуже важливий крок, а саме попередню обробку біомаси для збільшення/покращення виходу екстракції, отриманої шляхом порушення клітинної стінки [59]. Жорсткість клітинної стінки може перешкоджати проникненню звичайних органічних розчинників, таких як гексан, у клітину, запобігаючи або ускладнюючи контакт між розчинником та внутрішньоклітинними сполуками [61]. Таким чином, попередня обробка робить біоактивні сполуки, присутні в клітинах, більш біодоступними [63]. Методи руйнування клітинної стінки можуть бути механічного, хімічного, фізичного або ферментативного характеру, такі як гомогенізація під високим тиском, лужний лізис, ультразвукова обробка та ферментативний гідроліз [65]. Мікроводорості *Nannochloropsis* були описані як такі, що мають жорстку, міцну клітинну стінку [65], що є результатом їхнього складу, що складається із зовнішнього гідрофобного триламінарного шару на основі альгенанів та внутрішнього шару на основі целюлози (з'єданого розпірками з плазматичною мембраною), що перешкоджає екстракції внутрішньоклітинних сполук [62]. Таким чином, для збільшення виходу екстракції бажана/необхідна попередня обробка для порушення клітинної стінки.

Мікрохвильова екстракція

Мікрохвильова технологія може бути використана для підвищення виходу біоактивних сполук шляхом руйнування клітинних стінок і використовується як доповнення в методології екстракції.

Мікрохвилі – це сигнали змінного струму з частотою від 0,3 до 300 ГГц, які перетворюють електромагнітну енергію на тепло відповідно до полярності сполук. Полярні сполуки переорієнтовуються в напрямку

електричного поля, і коли мікрохвильове поле змінюється, вони обертаються з високою швидкістю. Якщо присутні іони, вони мігрують, коли змінюється електричне поле. Електромагнітна енергія потім перетворюється на тепло завдяки тертю між сполуками або іонами [66]. Мікрохвильове нагрівання – це безконтактне джерело тепла, яке одночасно нагріває всі цільові реагенти порівняно з кондуктивним нагріванням. Джерело тепла може проникати в біоматеріал, взаємодіючи з полярними молекулами, такими як вода, і рівномірно нагрівати весь зразок [67]. Підвищення температури спричинить випаровування молекул води, що чинить тиск на клітинні стінки. Це розриває клітинні стінки, що вивільняє внутрішньоклітинні компоненти в середовище. Використання мікрохвиль також сприяє екстракції, оскільки водневі зв'язки порушуються, а розчинені іони, шляхом міграції, збільшують проникнення розчинника в матрицю [59]. Мікрохвильова екстракція вважається швидким та економічно ефективним методом отримання біологічно активних сполук [66, 67] і часто використовується для екстракції різних сполук з мікроводоростей.

Ультразвукова екстракція

Ультразвукова екстракція – це ще одна технологія, що використовується для руйнування клітинних стінок і, як наслідок, збільшення виходу екстракції, яка іноді застосовується одночасно з мікрохвильовою екстракцією.

Ця технологія базується на явищі кавітації. Коли рідина піддається ультразвуковій обробці, утворюються кавітаційні бульбашки, які можуть спричинити імпульсивний колапс. Інтенсивна обробка ультразвуком рідини генерує звукові хвилі, які поширюються в рідині, що призводить до чергування циклів високого та низького тиску. Кавітація – це явище, що виникає внаслідок сильного колапсу малих вакуумних бульбашок, що утворюються в циклі низького тиску, під час циклу високого тиску. Під час кавітації навколо клітин утворюються сили зсуву струменями рідини

високого тиску та високої швидкості, що призводить до «механічного» руйнування структури клітин, тим самим покращуючи перенесення матеріалу [67]. Це зменшує розмір частинок та збільшує контакт між розчинником та сполуками, що екстрагуються [59]. Збільшення виходу екстракції пояснюється мікропотоками та посиленням масопереносом внаслідок кавітації та колапсу бульбашок, що призводить до руйнування клітин [68]. Ця технологія, як згадувалося раніше, може покращити вихід екстракції та зменшити кількість використовуваного розчинника, а також час і витрати на екстракцію, оскільки знижується температура, необхідна для процесу екстракції [68].

Екстракція рідиною під тиском

Екстракція рідиною під тиском (PLE), також відома як екстракція гарячим розчинником під тиском (PHSE) або прискорена екстракція розчинником (ASE), – це технологія екстракції, заснована на використанні розчинників під тиском за високих температур, хоча завжди нижче їх критичних точок, за умов, що підтримують розчинники в рідкому стані під час процесу екстракції. Коли вода використовується як екстракційний розчинник, загальні принципи та вимоги до інструментів однакові, хоча інші важливі параметри мають значний вплив, і технологію можна назвати екстракцією субкритичною водою (SCWE), екстракцією перегрітою водою (SHWE) або екстракцією гарячою водою під тиском (PWE) [69].

Умови рідинної екстракції під тиском забезпечують підвищену швидкість масопереносу, підвищену розчинність сполук, що екстрагуються, та зниження в'язкості розчинника та поверхневого натягу [63,69]. Нижча в'язкість розчинника та поверхневий натяг дозволять йому легше проникати в матрицю, досягаючи глибших ділянок та збільшуючи контакт з поверхнею, що покращить масоперенос до розчинника, що призведе до збільшення швидкості екстракції [69]. Як згадувалося раніше, коли вода використовується як розчинник, на екстракцію також впливає діелектрична

| | | | | | | | | | | | |
|-----|------|----------|--------|------|--|--|--|--|--|-------------------|------|
| | | | | | | | | | | ДП ББ12.11.000 ПЗ | Арк. |
| | | | | | | | | | | | 50 |
| Зм. | Арк. | № докум. | Підпис | Дата | | | | | | | |

проникність (ϵ) води. Коли вода нагрівається до високих температур, залишаючись у рідкому стані, ϵ , яка є мірою полярності розчинника, значно зменшується [65,69]. Якщо це значення зменшити до значень, близьких до значень органічних розчинників (при нагріванні), вода може бути корисною альтернативою. Навіть якщо це може бути можливо не для всіх застосувань, SWE можна розглядати як «найзеленіший» з PLE [69].

Порівняно з традиційними процесами екстракції, PLE має численні переваги, такі як вища селективність, коротший час екстракції, швидші процеси екстракції та менша кількість органічних розчинників [59,69]. Крім того, можливість автоматизації є ще однією перевагою цієї методики, оскільки вона допомагає зменшити варіації між екстракціями, що підвищує відтворюваність [69].

Ензимно-асистована екстракція (ЕАЕ)

Ферментна екстракція (ЕАЕ) – це ще одна технологія/метод, який використовується для отримання жирних кислот з мікроводоростей. Як згадувалося раніше, мікроводорості мають клітинні стінки, які, залежно від їхнього складу, можуть перешкоджати доступу екстракційного розчинника до внутрішньоклітинних сполук. У цьому сенсі існує необхідність розірвати або, принаймні, зруйнувати клітинну стінку, щоб можна було здійснити екстракцію таких сполук. Альгенан/целюлозна стінка *Nannochloropsis* особливо стійка до хімічної або механічної обробки [70], і в багатьох випадках існує потреба застосовувати їх комбінації для збільшення потенціалу екстракції, як описано в попередніх розділах. Досить перспективною альтернативною стратегією для подолання цього обмеження є використання ферментів, які, відповідно до своєї природи, можуть гідролізувати структурні компоненти клітинної стінки. Це пошкодить цілісність клітинної стінки, тим самим забезпечуючи легший доступ екстракційного розчинника до внутрішньоклітинних сполук, а також сприяючи їх витоку [71]. У цьому сенсі, для мікроводоростей

Nannochloropsis можна застосовувати целюлазу, що передбачає деградацію внутрішнього шару на основі целюлози. Основними параметрами обробки, які впливають на фермент, а отже, і на ефективність екстракції, є дозування ферменту, рН, температура, час та швидкість гомогенізації (перемішування) [60,71]. Комбінацію різних ферментів, яка є стратегією, що використовується для збільшення виходу екстракції [60], необхідно ретельно оцінювати, оскільки їхня взаємодія може мати антагоністичний ефект, протилежний бажаному синергетичному [71].

Іонні рідини (ILs) та глибокоектктичні розчинники (DES)

Останнім часом виник попит на розчинники, здатні екстрагувати ліпіди, серед інших сполук, з різних «матриць», включаючи мікроводорості, без такого шкідливого впливу на навколишнє середовище, як традиційно використовувані органічні розчинники. Це спонукало дослідників досліджувати інші типи розчинників, включаючи іонні рідини (ILs) та глибокоектктичні розчинники (DES).

Іонні рідини – це клас розчинників, які, як згадувалося вище, вивчалися як альтернативи традиційно використовуваним розчинникам для екстракції кількох сполук з мікроводоростей. Іонні рідини – це розчини солей, що мають температуру плавлення нижче 100 °С, деякі з яких можуть бути навіть рідкими (розплавленими) за кімнатної температури, а їхній склад містить як аніони, так і катіони, звідси й їхня назва [72]. Властивості цих розчинників можна змінювати шляхом комбінації та перестановки аніонів і катіонів, що входять до їх складу, що надає розчинникам різної полярності, термостабільності, гідрофобності та в'язкості, які можна налаштувати відповідно до конкретної мети, для якої вони призначені [58,72]. Крім того, всередині IL існує підклас, відомий як розчинники, що перемикаються, двох типів яких, а саме: розчинники з перемиканою полярністю (SPS) та розчинники з перемиканою гідрофільністю (SHS), які

були розроблені перемикальні диференціальні електроліти (DES) для вирішення випадків, коли потрібне відділення сполук від розчинників [75].

Екстракція надкритичними флюїдами (SFE)

Надкритична флюїдна екстракція (SFE), разом з рідинною екстракцією під тиском (PLE), ймовірно, є найпоширенішим методом екстракції для отримання біоактивних компонентів з природних джерел [69]. Надкритична флюїдна екстракція використовує розчинники при тиску та температурі вище їх критичного [59,69]. Оскільки розчинювальна здатність надкритичної рідини залежить від щільності, її можна змінювати, змінюючи тиск та температуру екстракції, що робить її придатною як розчинник для екстракції [67]. В умовах, що використовуються в SFE, надкритичні рідини (SCFs) мають особливі фізико-хімічні властивості, що відрізняються від газів та рідин, зазвичай набуваючи вищої щільності, ніж газ, але зберігаючи подібну в'язкість та коефіцієнт дифузії [69]. Щільність SCF подібна до щільності рідини, і її можна змінювати, змінюючи температуру та тиск. Низька в'язкість та висока коефіцієнт дифузії SCFs забезпечують кращі транспортні властивості порівняно з рідинами [59]. Хоча можна використовувати різні розчинники, найпоширенішим є вуглекислий газ (CO₂) завдяки його помірному критичному тиску (7,4 МПа) та низькій критичній температурі (31,1 °C) [67]. Надкритичний CO₂ (SC-CO₂) має кілька переваг, оскільки він має м'які критичні умови, є нетоксичним, негорючим, невибуховим та некорозійним. Крім того, він легкодоступний та дешевий, легко відділяється від екстракту, інертний до продукту. Вуглекислий газ, будучи газом за кімнатної температури, може бути легко видалений з екстракту порівняно з іншими методами екстракції [59]. Ще однією перевагою є те, що властивості SCF можна регулювати змінами тиску та температури, що безпосередньо впливає на щільність, що робить метод дуже селективним, що є головною перевагою, коли метою є екстракція сполук зі складних матриць. Цей метод також має перевагу в можливості

проведення фракціонування під час декомпресії лише за допомогою двох або більше етапів декомпресії, що корисно для розділення компонентів в екстракті [69].

У статті [76] досліджували використання SC-CO₂ для екстракції омега-3 жирних кислот з *Nannochloropsis sp.*, попередньо механічно обробленого діатомовою землею. Результати показали, що залежно від тиску та температури процесу селективність екстракції можна адаптувати до отримання більшої кількості ЕПК або докозагексаєнової кислоти (ДГК). Зокрема, при використанні найвищих тисків (550 бар) та температур (75 °C) вихід ЕПК збільшувався, тоді як найвищі показники відновлення ДГК були отримані за м'якших умов (400 бар та 50 °C). Також було оцінено вплив швидкості потоку CO₂ на вихід як ЕПК, так і ДГК, і автори визначили, що вони безпосередньо корелюють, оскільки спостерігалось збільшення виходу обох омега-3 жирних кислот (збільшення на ~45 та 70% відповідно) при подвоєнні швидкості потоку [76].

Механічні методи

Прес-експелер

Експелерний прес або олійний прес – один із найпростіших і найстаріших методів вилучення олії з олійного насіння. Простий, але ефективний метод механічного дроблення також використовується для вилучення олії з біомаси водоростей [77]. Висушена біомаса водоростей зберігає вміст олії, яку потім можна віджати за допомогою олійного преса. Принцип, що лежить в основі цієї методики, полягає у застосуванні високого механічного тиску для дроблення та руйнування клітин, а також для вичавлювання олії з біомаси водоростей. Застосування тиску в певному діапазоні підвищує ефективність екстракції, але занадто високий тиск призведе до зниження відновлення ліпідів, збільшення тепловиділення та проблем із задушенням [78]. Характеристики біомаси водоростей сильно різняться, особливо за їхніми фізичними властивостями, залежно від

морфологічних відмінностей різних штамів, і потрібні різні спеціалізовані конфігурації пресів (шнековий, експелерний, поршневий тощо). Зазвичай відновлення олії становить 70–75%. Іноді для покращення вилучення олії механічне дроблення використовується в поєднанні з хімічними методами. Однак, методи пресування є дорогими та передбачають тривалий час обробки [79]. Крім того, механічне пресування зазвичай вимагає вхідних матеріалів з дуже низьким вмістом вологи, а сушіння біомаси водоростей, що є енергоємним процесом, може становити до 30% від загальних виробничих витрат. На відміну від рослинних олій, які можна легко витягти шляхом подрібнення насіння з екстракцією розчинником, вивільнення олії з клітин водоростей ускладнюється жорсткою структурою клітинної стінки [80]. Основним технічним недоліком є наявність пігментів разом з олією. Перед перетворенням на олію пігменти необхідно видалити або екстракцією розчинником, або адсорбцією активованим вугіллям, що знову ж таки збільшує вартість. Іншими основними недоліками цього методу є висока вартість обслуговування, вимога до кваліфікованої робочої сили та менша ефективність порівняно з іншими методами [81].

Вибивання бісеру

Подрібнення бісером – це механічний метод руйнування клітин, при якому пряме пошкодження клітин спричиняється концепцією високошвидкісного обертання суспензії біомаси з дрібними кульками [82]. У бісерних млинах клітини руйнуються внаслідок впливу дрібних кульок на клітини. Усі типи клітин, включаючи клітини мікродоростей, можна обробляти вищезазначеним методом. Струшувальні посудини та струшувані кульки – це два поширені типи бісерних млинів. У струшувальних посудинах клітини пошкоджуються шляхом струшування всієї культуральної посудини. Зазвичай кілька посудин струшують на вібраційній платформі, і цей тип бісерного млина підходить для зразків, що потребують подібних умов обробки руйнуванням. Отже, цю установку можна

використовувати виключно в лабораторному масштабі [83]. Кращої ефективності руйнування та екстракції можна досягти за допомогою другого типу, де кульки перемішуються разом з культурою клітин. Оскільки обертовий мішал всередині культуральної посудини генерує тепло, посудини оснащені охолоджувальними кожухами для захисту термочутливих біомолекул. Безсумнівно, комбінований ефект перемішування, зіткнення та подрібнення кульок забезпечує ефективніший процес руйнування [84]. Аналогічно, зневоднення водоростевої суспензії не потрібне, на відміну від методу пресування експелером, і це сприяє зниженню витрат на обробку. Для різних типів клітин використовуються різні кульки; оптимальний діаметр кульок для клітин мікрowodоростей становить 0,5 мм, а оптимальна об'ємна частка завантаження кульок становить близько 0,5 мм. Кульки, виготовлені з діоксиду цирконію-кремнезему, оксиду цирконію або карбїду титану, можуть підвищити швидкість руйнування та ефективність екстракції клітин мікрowodоростей, ймовірно, завдяки їхній більшій твердості та щільності [85].

Ультразвукова екстракція

Ультразвукова екстракція ліпїдів – це альтернативний метод, позбавлений труднощів, пов'язаних зі звичайними методами механічного руйнування. Процес простий, з легкими умовами налаштування, що забезпечує вищу чистоту кінцевого продукту та усуває необхідність обробки стічних вод, що утворюються під час процесу. Крім того, цей метод є більш економічним та екологічним, і його можна виконати за дуже короткий час з високою відтворюваністю. Витрати енергії дуже малі порівняно з традиційними методами, і його можна використовувати за нижчих температур [86]. При використанні рідких культур існують два основні механізми, за допомогою яких ультразвук може пошкодити клітини, а саме: кавітація та акустичний потік. Кавітація – це утворення мікробульбашок в результаті застосування ультразвуку, що, у свою чергу, може створювати

| | | | | | | | | | | | |
|-----|------|----------|--------|------|--|--|--|--|--|-------------------|------|
| | | | | | | | | | | ДП ББ12.11.000 ПЗ | Арк. |
| | | | | | | | | | | | 57 |
| Зм. | Арк. | № докум. | Підпис | Дата | | | | | | | |

тиск на клітини, змушуючи їх руйнуватися [87], а акустичний потік сприяє перемішуванню культури водоростей [88]. Ультразвукові хвилі генерують тимчасову та стабільну кавітацію завдяки швидким циклам стиснення/декомпресії, що відбуваються під час обробки. Нестационарні коливання призведуть до тимчасової кавітації, яка зрештою вибухне. Кавітаційна імплізія створює надзвичайно локалізовані теплові ударні хвилі, які руйнують клітини мікр водоростей [89]. Таким чином, ультразвукова обробка розтріскує клітинну стінку та мембрану через ефект кавітації [90]. Мікропотокове утворення та посилений масообмін внаслідок кавітації та колапсу бульбашок є двома критичними кроками для визначення ефективності екстракції ліпідів [91].

Рупор і ванна – це два основні типи ультразвукових апаратів, і обидва процесори зазвичай використовуються в періодичних операціях, але також можуть бути адаптовані для безперервної роботи [92]. П'єзоелектричні генератори, виготовлені з кристалів цирконата-титанату свинцю, використовуються в рупорах, які вібрують з амплітудою 10–15 мм, тоді як ванни ультразвукових апаратів використовують перетворювачі, розміщені на дні реактора для генерації ультразвукових хвиль. У ванночному типі ємність і форма реактора визначають кількість і розташування перетворювачів [93]. Основною перевагою процесу ультразвукової обробки є те, що він генерує відносно низькі температури порівняно з мікрохвильовими реакторами та автоклавами, що призводить до меншої термічної денатурації біомолекул.

Крім того, це не вимагає додавання кульок або хімікатів, які потрібно видалити пізніше в процесі, що, у свою чергу, призведе до збільшення витрат [94]. Однак тривала ультразвукова обробка призводить до утворення вільних радикалів, що може негативно вплинути на якість видобутої олії [95].

Отже, провівши аналіз даних літературних даних, найбільш оптимальними та підходящими методами для виробництва є екстракція

надкритичним CO₂ та екстракція на пресі. Оскільки виробництво є багатотоннажним доцільно використовувати метод пресування, враховуючи його простоту виконання та легкість масштабування. Також завдяки тому, що метод є механічним, склад екстракту не буде знаходитися під впливом розчинників, що забезпечить чистоту його складу, що є надважливим для виробництва продукції, яка є харчовою добавкою.

1.5.4 Методи розділення та очищення

Основне завдання цього етапу технології – виділення чистого та безпечного продукту.

Згідно патенту US 9.416,336 B2 [96] після утворення екстракту подальше розділення та очищення може призвести до отримання продуктів більш високої чистоти для палива, здоров'я, краси, косметичних та нутрицевтичних продуктів.

У контексті даного винаходу проста дистиляція – це грубе відокремлення ЕЕЖК від більшості інших ліпідів, розчинників, не прореагувавших нафтопродуктів, олій, що не прореагували у вихідній сировині, та інших небажаних матеріалів, що містяться у ЕЕЖК. Відсутність фракціонування не передбачено для розрізнення різних ЕЕЖК за винятком, можливо, надзвичайно коротких або надзвичайно довгих ЕЕЖК.

Молекулярна дистиляція є зручним прикладом методу розділення та очищення, який може бути використаний для розділення ЕЕЖК у способі, що описаний у цьому патенті [96]. Молекулярна дистиляція включає процес з коротким впливом на дистильовану рідину підвищених температур, принаймні частковому вакуумі в дистиляційному просторі і короткий шлях між конденсатором і випарником. Молекулярна дистиляція - це процес, який зазвичай використовується для очищення олій і є придатним для використання в поєднанні з водоростями похідних складних ефірів даного винаходу. Молекулярна дистиляція також відома тим, що забезпечує

переваги для натуральних продуктів, де токсичність інших методів розділення на основі розчинників може скомпromетувати продукт, і може працювати при нижчому тиску, ніж вакуумна дистиляція. Молекулярна дистиляція також може бути використана для розділення ЕЕЖК та інших ефірів жирних кислот на високоцінні фракції, такі як паливна фракція, Омега-7/9 паливну фракцію, фракцію Омега-7/9 та фракцію Омега-3 [96].

У даному винаході процес фракціонування ефіру жирної кислоти може включати відокремлення насичених жирних кислот від ненасичених жирних кислот. Хоча хроматографія та інші методи можуть бути використані, кристалізація сечовини особливо добре підходить для такого розділення [96].

Кристалізація сечовини є ще одним методом, який може бути використаний для відокремлення та очищення фракцій ЕЕЖК. Фракціонування вільних жирних кислот на основі сполук, що включають сечовину, може бути застосовано до фракціонування вільних жирних кислот може бути застосована до ЕЕЖК, отриманих з водоростей [96].

Карбамідні комплекси утворюються між молекулами сечовини та "гостьовими" молекулами, як правило, насиченими жирними кислотами, що використовуються для отримання олії з водоростей [96].

В даному винаході ЕЕЖК є "гостьовими" молекулами і вони функціонують подібно до жирних кислот [96]. Кристалізація сечовини забезпечує простий і ефективний спосіб відокремлення насичених жирів від більш цінних Омега (3, 6, 7 або 9) жирних кислот, як показано на рис. 1.4.2.

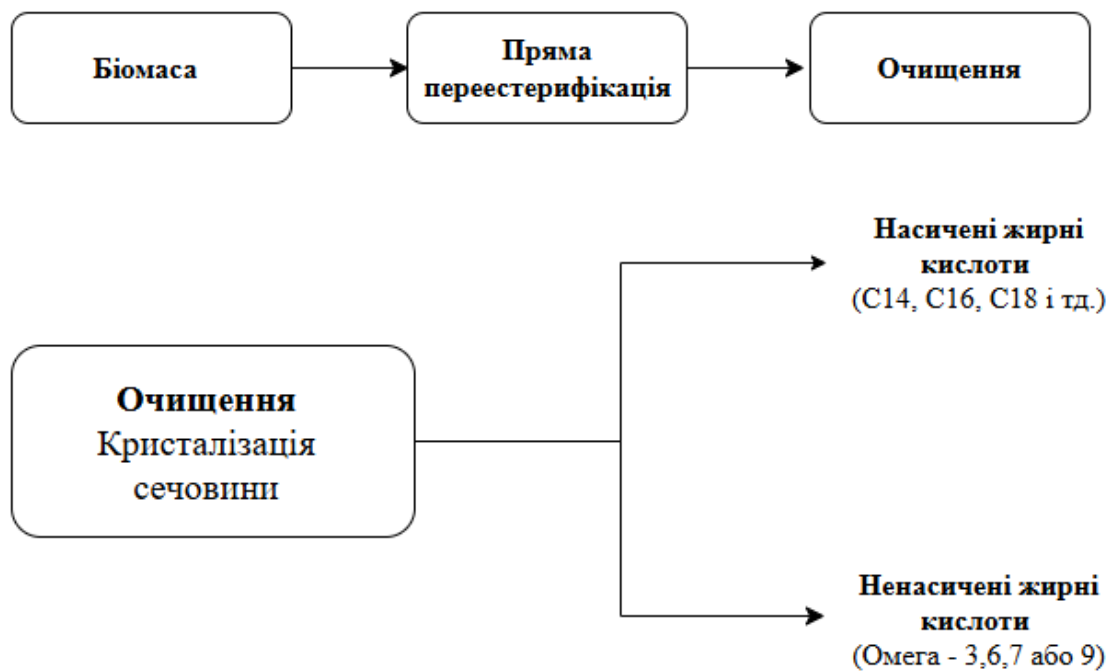


Рисунок 1.5.4.1 - процес прямої переестерифікації з використанням кристалізації сечовини [96]

У процесі кристалізації сечовини відокремлення, концентрування та/або очищення алкілових ефірів жирних кислот, спочатку сирій продукт ЕЕЖК обробляють сечовиною в присутності етанолу. Отриману реакційну суміш кип'ятять зі зворотним холодильником при температурі близько 80°C протягом 2 годин. Після зворотного холодильника реакційну суміш охолоджують до кімнатної температури (приблизно 18-24°C) і потім зберігають у холодильнику при температурі близько 4°C протягом ночі (період близько 7-12 годин). Етап охолодження використовується для забезпечення повної кристалізації, що супроводжується утворенням карбаміду, суспендованих у поліненасичених жирних кислотах (ПНЖК) [96].

Кристалізовану суспензію потім фільтрують, бажано під вакуумом, щоб відокремити кристали сечовини і фільтрат, багатий на ПНЖК. Фільтрат, багатий на ПНЖК, можна промити водою для видалення сечовини, і

екстрагується неполярним розчинником, таким як гексан. Шар неполярного розчинника потім відокремлюють, наприклад, за допомогою центрифуги, і концентрують, наприклад, під вакуумом на роторному випарнику, щоб отримати багатий на ПНЖК продукт ЕЕЖК, що складається з Омега 3, 6, 7 та/або 9 жирних кислот [96].

Відокремлені кристали сечовини розчиняють у гарячій воді (приблизько 90°C) протягом 2 годин. Потім реакційну суміш охолоджують приблизно до 40°C і екстрагують неполярним розчинником, наприклад, гексаном. Шар неполярного розчинника відокремлюють за допомогою центрифуги і концентрують на роторному випаровувачі, в результаті чого утворюється багатий на насичені жири продукт ЕЕЖК, що містить С14, С16 і С18 жирних кислот [96].

Кристалізація сечовини може бути виконана з використанням метанолу або етанолу в якості спиртового розчинника. Співвідношення *біомаса:сечовина* може варіюватися від 1:1 до 1:10, в той час як співвідношення *біомаса:етанол* може варіюватися від 1:2 до 1:50. Температура кристалізації карбаміду залежить від використовуваного розчинника і може варіюватися в межах 60-85°C [96].

Якщо відокремлення насиченого ЕЕЖК від ненасиченого ЕЕЖК є недостатнім для отримання бажаного продукту(ів), процес можна повторити будь-яку кількість разів, використовуючи або фракцію фільтрату сечовини, або з фракцією кристалів карбаміду для отримання кращого розділення [96].

Описані вище методи розділення та очищення можуть бути використані окремо або в комбінації для отримання бажаної фракції, що містить жирні кислоти. Фракція, що містить жирні кислоти, можуть бути ЕЕЖК, МЕЖК, С3-6 спиртові ефіри жирних кислот або навіть їх суміші. В одному варіанті реалізації, ненасичені жирні кислоти або їхні ефіри, отримані кристалізацією сечовини, можуть бути додатково очищені молекулярною дистиляцією для отримання цінних жирних кислот, що містять фракції, такі як Омега-7 і Омега-3, як показано на рис. 1.4.3 [96].

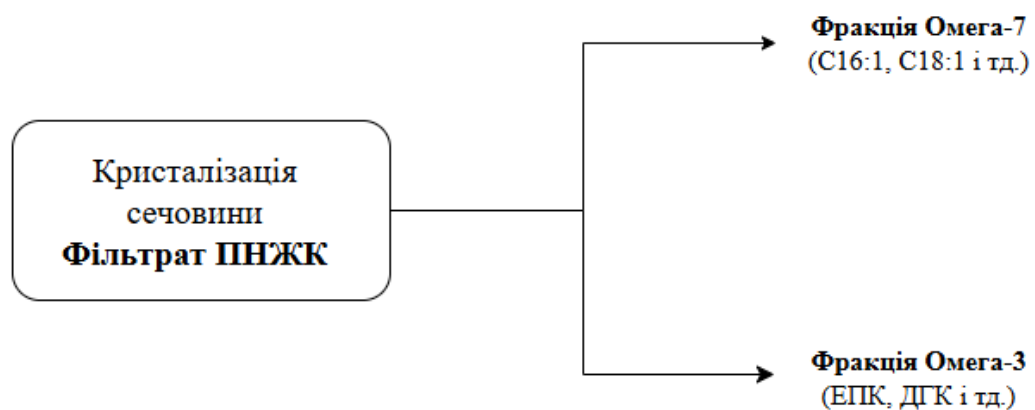


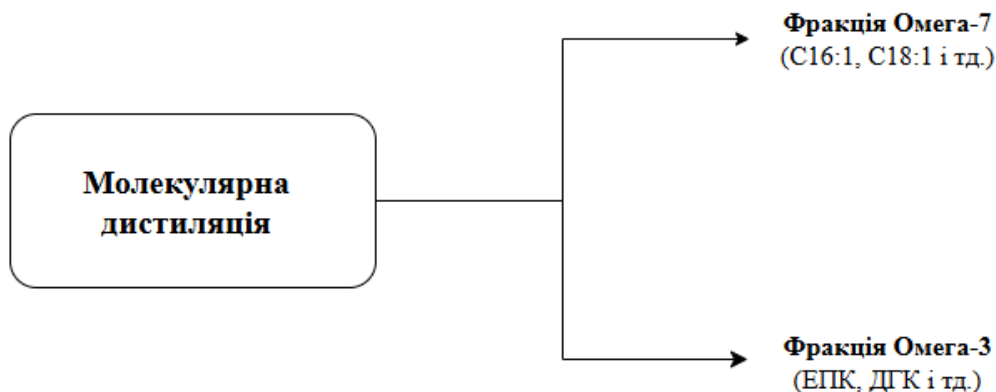
Рисунок 1.5.4.2 - метод розділення та очищення ліпідів використовуючи поєднання молекулярної дистиляції та кристалізації сечовини [96]

Проста дистиляція до кристалізації сечовини може бути використана для забезпечення більш чистого розділення в процесі кристалізації сечовини та/або молекулярної дистиляції [96].

Молекулярна дистиляція може розділити продукти на дві, три або більше різних фракцій, як зазначено вище, або молекулярна дистиляція може використовуватися в поєднанні з кристалізацією карбаміду для

подальшого очищення фракцій жирних кислот отриманих в процесі молекулярної дистиляції, як показано на рис. 5 [96].

Молекулярна дистиляція



Кристалізація сечовини:

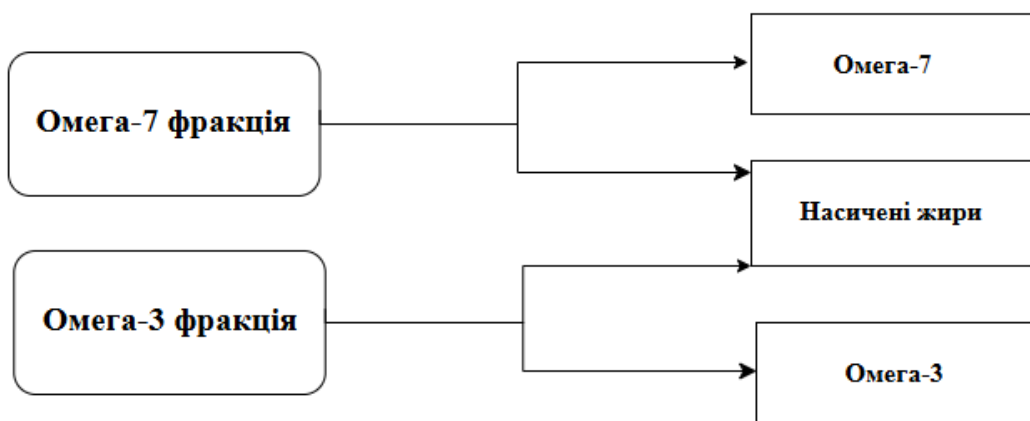


Рисунок 1.5.4.3 – кінцеві продукти при розділенні та очищенні ліпідів використовуючи поєднання молекулярної дистиляції та кристалізації сечовини [96]

Враховуючи важливість чистоти продукту та економічну вигідність, нами було вибрано метод очищення за допомогою кристалізації сечовини. Задля забезпечення повного відділення гексану пропонується проводити додаткове очищення на мембранному фільтрі.

| | | | | |
|-----|------|----------|--------|------|
| | | | | |
| Зм. | Арк. | № докум. | Підпис | Дата |

Загальний опис обраної технології

Для того, щоб забезпечити відповідну потужність виробництва без втрат середовища та фінансів, було обрано напівперіодичний спосіб при безперервному культивуванні, періодичному зборі, видобутку олії та виділенні омега-3 жирних кислот кожні 10 днів або 36 разів на рік.

Культура *Nannochloropsis oceanica* вирощується у трубчастих фотобіореакторах, в якості поживного середовища обрано прісну воду (солоність 3‰). Для підвищення абсолютної продукції ЕПК, використовується балансоване середовище (обрано F/2), що забезпечує стабільну біомасу з високим вмістом ЕПК. Аерація відбувається сумішшю повітря та CO₂. Для відділення біомаси мікродоростей від поживного середовища використовуємо фільтр-прес. Виділення ліпідів з біомаси відбувається механічним методом на пресі, та подальшого виділення омега-3 жирних кислот методом кристалізації сечовини з додатковим етапом фільтрації через мембранний фільтр задля чистоти готової продукції.

| | | | | | | | | | | |
|-----|------|----------|--------|------|-------------------|--|--|--|--|------|
| | | | | | | | | | | Арк. |
| | | | | | | | | | | 65 |
| Зм. | Арк. | № докум. | Підпис | Дата | ДП ББ12.11.000 ПЗ | | | | | |

РОЗДІЛ 2. ТЕХНОЛОГІЧНІ РОЗРАХУНКИ ВИРОБНИЧОЇ ЛІНІЇ ДЛЯ ОДЕРЖАННЯ НЕОБХІДНОГО ПРОДУКТУ

Середня потужність нашого виробництва, згідно вихідних даних, - 1000 т/рік. Отже, метою розділу є розробка технологічної схеми для виробництва омега-3 жирних кислот з мікродоростей для отримання 1111 м³/рік продукту (враховуючи, що його густина 900 кг/м³).

Нами було обране партійне виробництво з частотою запуску 36 рази на рік, що допоможе нам з розрахунком кількості сировини та обладнання для однієї партії.

2.1 Розрахунок кількості сировини

Середня кількість кінцевого продукту на одну партію [98]:

$$V_{\omega 3} = \frac{1111}{36} = 30,86 \text{ м}^3 \quad (2.1)$$

Це становить 27,8 т. Відповідно до наукової статті “Мікродорості як стійкі біофабрики корисних ліпідів: оцінка вмісту жирних кислот і антиоксидантної активності” [14], вміст омега-3 жирних кислот у ліпідній фракції *Nannochloropsis oceanica* становить 46,1%. Кількість ліпідів, що потрібна для виробництва партії продукту [98]:

$$m_{\text{ліп}} = \frac{m_{\omega 3}}{W_{\omega 3}} = \frac{27,8}{0,461} = 60,3 \text{ т}, \quad (2.2)$$

де $m_{\text{ліп}}$ – маса ліпідної фракції, т; $m_{\omega 3}$ – маса омега-3 жирних кислот, яку необхідно одержати, т; $W_{\omega 3}$ – відсоток вмісту омега-3 жирних кислот [98].

Звідси об’єм ліпідів становить 67 м³.

За запропонованою технологією культивування мікродорості, вміст ліпідів складає 30%. Кількість біомаси, що необхідно наростити [98]:

$$m_{\text{бм}} = \frac{m_{\text{ліп}}}{W_{\text{ліп}}} = \frac{60,3}{0,3} = 201 \text{ т}, \quad (2.3)$$

| | | | | |
|------------------------------------|---------------|---------|--------|------|
| ДП ББ12.11.000 ПЗ | | | | |
| Зм. | Арк. | № докум | Підпис | Дата |
| Розробив | Мацкевич М.В. | | | |
| Конс. | | | | |
| Керівник | Левтун І.І. | | | |
| Затвердив | | | | |
| ТЕХНОЛОГІЧНІ РОЗРАХУНКИ | | | | |
| | | | Літ | Арк |
| | | | 66 | 125 |
| НТУУ “КПІ”, ФБТ | | | | |

де $m_{\text{бм}}$ – суха біомаса, т; $m_{\text{ліп}}$ – маса ліпідів, яку необхідно одержати, т;
 $W_{\text{ліп}}$ – відсоток вмісту ліпідів [98].

Концентрація біомаси становить $2,1 \text{ кг/м}^3$, або $0,0021 \text{ т/м}^3$. Загальний об'єм виробництва [98]:

$$V_{\text{заг}} = \frac{m_{\text{бм}}}{C_{\text{бм}}} = \frac{201}{0,0021} = 95\,714,3 \text{ м}^3, \quad (2.4)$$

де $m_{\text{бм}}$ – маса біомаси, $C_{\text{бм}}$ – концентрація біомаси [98].

Розраховуємо кількість розчину мікроелементів для культурального середовища [98]. За рецептурою концентрація мікроелементів в культуральному середовищі становить 1 мг/дм^3 , або $0,001 \text{ кг/м}^3$

$$m_{\text{МЕ}} = V_{\text{заг}} \cdot C_{\text{МЕ}} = 95\,714,3 \cdot 0,001 = 95,714 \text{ кг}, \quad (2.5)$$

де $V_{\text{заг}}$ – загальний об'єм, $C_{\text{МЕ}}$ – концентрація мікроелементів [98]

2.2 Розрахунок та вибір номінальних розмірів та кількостей апаратів

Розраховуємо об'єм і кількість фотобіореакторів. Оберемо апарат з робочим об'ємом 15 м^3 . Тоді номінальний об'єм апарату при коефіцієнті заповнення становитиме 22 м^3 . Розрахуємо кількість ФБР [98]:

$$N = \frac{V_{\text{заг}}}{V_{\text{роб}}} = \frac{95\,714,3}{15} = 6381 \text{ шт.}, \quad (2.6)$$

де $V_{\text{заг}}$ – загальний об'єм, $V_{\text{роб}}$ – робочий об'єм апарату [98]

Оберемо їх розташування в 9 рядів по 709 шт.

Розраховуємо об'єм і кількість змішувачів для приготування культурального середовища. Оскільки відбір та виділення олії відбувається кожні 5-6 днів, то і доповнення ФБР відбувається з аналогічною частотою. Отже, об'єм разового приготування поживного середовища та разового збору біомаси становить [98]:

$$V_1 = \frac{V_{\text{заг}}}{n_{\text{від}}} = \frac{95\,714,3}{15} = 6381 \text{ м}^3, \quad (2.7)$$

де $V_{\text{заг}}$ – загальний об'єм, $n_{\text{від}}$ – кількість відборів з фотобіореактору за період партії [98]

| | | | | | | | | | | |
|-----|------|----------|--------|------|--|--|--|--|-------------------|------|
| | | | | | | | | | ДП ББ12.11.000 ПЗ | Арк. |
| | | | | | | | | | | 67 |
| Зм. | Арк. | № докум. | Підпис | Дата | | | | | | |

Обираємо кількість відповідно кількості рядів ФБР – 9. Тоді робочий об’єм кожного змішувача становитиме [98]:

$$V_2 = \frac{V_1}{9} = \frac{6381}{9} = 709 \text{ м}^3 \quad (2.8)$$

де V_1 - об’єм разового приготування середовища [98]

Розраховуємо об’єм і кількість змішувача для приготування розчину мікроелементів. Оскільки приготування культурального середовища відбувається кожні 5-6 днів, то і приготування розчину мікроелементів відбувається з аналогічною частотою. Отже, об’єм разового приготування становить [98]:

$$V_3 = \frac{m_{\text{МЕ}}}{n_{\text{від}}} = \frac{95,714}{15} = 6,38 \text{ дм}^3, \quad (2.8)$$

де $m_{\text{МЕ}}$ – маса розчину мікроелементів, $n_{\text{від}}$ – кількість відборів з фотобіореактору за період партії [98]

Оскільки об’єм не великий - встановлюємо один для всіх змішувачів культурального середовища. Враховуючи коефіцієнт заповнення 0,7, номінальний об’єм апарату має становити 9 дм³.

Розраховуємо номінальний розмір та кількість збірників для обробки надкритичним CO₂, кількістю – 61. Тоді робочий об’єм кожного збірника становитиме [98]:

$$V_{361} = \frac{V_1}{61} = \frac{6381}{9} = 709 \text{ м}^3 \quad (2.9)$$

де V_1 - об’єм разового збору біомаси [98]

Враховуючи коефіцієнт заповнення 0,7, номінальний об’єм апарату має становити 1013 м³. Кількість установок для екстракції та фільтрів відповідна. Продуктивність кожного апарату становить [98]:

$$P_{\text{фп}} = \frac{V_{361}}{6} = \frac{709}{6} = 181,2 \text{ м}^3/\text{д} = 7,55 \text{ м}^3/\text{год} \quad (2.10)$$

де V_{361} – робочий об’єм кожного збірника [98]

Розраховуємо продуктивність екструдера. Для цього розраховуємо масу біомаси разового збору [98]:

$$m_{\text{бм1}} = V_1 \cdot C_{\text{бм}} = 6381 \cdot 0,0021 = 13,4 \text{ т} \quad (2.11)$$

Продуктивність преса становить [98]:

$$P^E = \frac{m_{\text{бм1}}}{6} = \frac{13,4}{6} = 2,23 \text{ Т/д} = 0,093 \text{ Т/год} = 93 \text{ кг/год} \quad (2.12)$$

де $V_{\text{зб1}}$ – маса біомаси разового збору [98].

Задля раціонального енергоспоживання та економності підприємства, було обрано 3 реактора для екстракції за допомогою сечовини [98]. Отже, їх номінальний об'єм становить (за коеф. заповненості 0,7) [98]:

$$V_{\text{н}} = \frac{\frac{1}{3}V_{\text{ліп}}}{0,7} = \frac{\frac{1}{3}67}{0,7} = 31,9 \text{ м}^3 \quad (2.13)$$

Згідно відповідних нормативних документів номінальний об'єм обираємо 32 м³ [97].

| | | | | | | | | | | |
|-----|------|----------|--------|------|-------------------|--|--|--|--|------|
| | | | | | | | | | | Арк. |
| | | | | | | | | | | 69 |
| Зм. | Арк. | № докум. | Підпис | Дата | ДП ББ12.11.000 ПЗ | | | | | |

РОЗДІЛ 3. ТЕХНОЛОГІЧНА ЧАСТИНА

3.1 Характеристика сировини, матеріалів та напівпродуктів, що використовують у виробництві

Таблиця 3.1.1 – Характеристика сировини, матеріалів та напівпродуктів

| Найменування | Категорія і номер НТД, згідно якого перевіряється сировина | Показники, що обов'язкові для перевірки, та їх нормативне значення | Примітка показник |
|------------------------------|------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------|
| 1. Основна сировина: | | | |
| Вода із свердловин | ДСанПін2.2.4-171-10 | Органолептичні, мікробіологічні, рівень рН, жорсткість | Для приготування теплоносія та промивання |
| Гексан | ISO 9001 | Усі показники згідно до стандарту | Для екстракції та виділення сечовини |
| Етанольний розчин сечовини | ISO 9001 | Усі показники згідно до стандарту | Для проведення кристалізації сечовини |
| Вуглекислий газ | ISO 9001 | Усі показники згідно до стандарту | Для аерації при культивуванні |
| 2. Допоміжна сировина | | | |

| | | | | | | | | | | | | |
|-----------|---------------|---------|--------|------|-----------------------------|--|--|--|--|------------------------|-----|---------|
| | | | | | ДП ББ12.11.000 ПЗ | | | | | | | |
| Зм. | Арк. | № докум | Підпис | Дата | ТЕХНОЛОГІЧНА ЧАСТИНА | | | | | | | |
| Розробив | Мацкевич М.В. | | | | | | | | | Літ | Арк | Аркушів |
| Конс. | | | | | | | | | | | 70 | 125 |
| Керівник | Левтун І.І. | | | | | | | | | НТУУ "КПІ", ФБТ | | |
| Затвердив | | | | | | | | | | | | |

| | | | |
|---------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------------|
| Нітрат натрію | ISO 9001 | Усі показники згідно до стандарту | Для приготування розчину мікроелементів |
| Дигідрофосфат натрію | ДСТУ ISO 3360:2008 “Кислота фосфорна та фосфати натрію технічні (зокрема для харчової промисловості)” | Усі показники згідно з ДСТУ | Для приготування розчину мікроелементів |
| Трихлорид заліза | ДСТУ EN 1744-5:2022 | Усі показники згідно до ДСТУ | Для приготування розчину мікроелементів |
| Динатрієва сіль етилендіамінотетраоцтової кислоти | ДСТУ Б В.2.7-90:2011 | Усі показники згідно до ДСТУ | Для приготування розчину мікроелементів |
| Мідний купорос | ДСТУ 2463-94 Купорос залізний технічний. Технічні умови | Усі показники згідно до ДСТУ | Для приготування розчину мікроелементів |
| Молибдат натрію | ДСТУ ISO 6353-1:2012 Хімічні реактиви. | Усі показники згідно до ДСТУ | Для приготування |

| | | | | |
|-----|------|----------|--------|------|
| | | | | |
| Зм. | Арк. | № докум. | Підпис | Дата |

ДП ББ12.11.000 ПЗ

Арк.

71

| | | | |
|-------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------|-----------------------------------------|
| | Реактиви для хімічного аналізу. Частина 1. Загальні методи випробування | | розчину мікроелементів |
| Сульфат цинку | ДСТУ ISO 6353-1:2012 Хімічні реактиви. Реактиви для хімічного аналізу. Частина 1. Загальні методи випробування | Усі показники згідно до ДСТУ | Для приготування розчину мікроелементів |
| Хлорид кобальту (II) 6-водний | Кобальт хлористий 6-водний. ТУ | Усі показники згідно до ТУ | Для приготування розчину мікроелементів |
| Хлорид марганцю (II) 4-водний | Реактиви. Марганцю (II) хлорид 4-водний. Технічні умови | Усі показники згідно до ТУ | Для приготування розчину мікроелементів |
| Вітамін В1 | ДСТУ EN 14122:2019 | Усі показники згідно до ДСТУ | Для приготування розчину мікроелементів |
| Біотин | ДСТУ 7111:2009 Білково- | Усі показники згідно до ДСТУ | Для приготування |

| | | | | |
|------|------|----------|--------|------|
| | | | | |
| Зм.. | Арк. | № докум. | Підпис | Дата |

ДП ББ12.11.000 ПЗ

Арк.

72

| | | | |
|------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------|
| | вітамінні добавки. Загальні технічні умови | | розчину мікроелементів |
| Вітамін В12 | ДСТУ 7111:2009 Білково- вітамінні добавки. Загальні технічні умови | Усі показники згідно до ДСТУ | Для приготування розчину мікроелементів |
| Натрій гідроксид | ISO 2479 | Усі показники згідно до стандарту | Для приготування розчину мікроелементів та регуляції значення рН |

3. Напівпродукти

| | | | |
|----------------------------|----------------------------------------|------------------------------------------------------------------|------------------------------------------|
| Біомаса мікроводоростей | Згідно технологічного регламенту | Усі показники у відповідності до технологічного процесу | Після екстракції ліпідів |
| Поживне середовище | Згідно технологічного регламенту | Усі показники у відповідності до технологічного процесу | Після фільтрування на фільтр-пресі |
| Олія | Згідно технологічного регламенту | Усі показники у відповідності до технологічного процесу | Після екстракції ліпідів |

| | | | | |
|------|------|----------|--------|------|
| | | | | |
| Зм.. | Арк. | № докум. | Підпис | Дата |

ДП ББ12.11.000 ПЗ

Арк.

73

| 4. Матеріали | | | |
|------------------|------------------|------------------|------------------------------|
| Гумові рукавички | ISO 374-1:2018 | Зовнішній вигляд | Для персоналу |
| Губки | ISO 6916- 1:2009 | Зовнішній вигляд | Для мийки посуду, обладнання |

3.2 Матеріальний баланс

Таблиця 3.2.1 - Матеріальний баланс процесу виробництва омега-3 жирних кислот з мікроводоростей *Nannochloropsis oceanica* .

| Використано | | | Отримано | | |
|----------------------------------------------------|----------------------------------------------|---------------|------------------------------------------------------|----------------------------------------------|-----------|
| Стадія | Назва сировини, матеріалів та напівпродуктів | Кількість, кг | Стадія | Назва сировини, матеріалів та напівпродуктів | Маса, кг |
| ДР 6.1. Стадія приготування розчину мікроелементів | Вода | 6,06 | ДР 6.1. Стадія приготування розчину мікроелементів | Розчин мікроелементів | 6,38 |
| | Сталий склад мікроелементів | 0,32 | | | |
| ДР 6.2. Стадія Приготування поживного середовища | Вода | 6 380 993, 62 | ДР 6.2. Стадія Приготування поживного середовища ВВМ | Поживне середовище | 6 381 000 |
| | Розчин мікроелементів | 6,38 | | | |
| ТП 8. Стадія відділення біомаси | Біомаса з середовищем | 6 381 000 | ТП 8. Стадія відділення біомаси | Біомаса | 13400 |
| | | | | Культуральна рідина | 6 367 600 |
| | Біомаса | 13 400 | | Суміш ліпідів | 4020 |

| | | | | |
|-----|------|----------|--------|------|
| | | | | |
| Зм. | Арк. | № докум. | Підпис | Дата |

ДП ББ12.11.000 ПЗ

Арк.

74

| | | | | | |
|--------------------------------------------|----------------------------|---------|--------------------------------------------|---------------------------|---------|
| ТП 9 Стадія екстракції ліпідів на пресі | | | ТП 9 Стадія екстракції ліпідів на пресі | Жмих | 9380 |
| ТП 10.1. Стадія обробки сечовиною | Суміш ліпідів | 15 035 | ТП 10.3. Стадія фільтрації | Неочищена фракція омега-3 | 27 767 |
| | Етанольний розчин сечовини | 30 070 | | Кристали сечовини | 17 338 |
| ТП 10.4. Стадія промивання й екстрагування | Неочищена фракція омега-3 | 27 676 | ТП 10.4. Стадія промивання й екстрагування | Суміш | 83 300 |
| | Гексан | 55 534 | | Відпрацьована вода | 138 835 |
| | Дистильована вода | 138 835 | | | |
| ТП 10.5. Стадія відділення гексану | Суміш | 83 300 | ТП 10.5. Відділення гексану | Омега -3 | 27 800 |
| | | | | Гексан | 55 500 |
| ВСЬОГО | 13 125 947,4 | | ВСЬОГО | 13 125 947,4 | |

3.3 Опис технологічної схеми

ДР 1 Підготовка виробництва

В ході стадії проводяться роботи з метою охорони здоров'я персоналу, створення безпечних умов праці та для забезпечення високої якості продукції.

Перед кожним використанням обладнання його перевіряють на справність, а також перевіряють заземлення, електромережі та аварійне обладнання. Для очищення обладнання використовують мийні засоби, які розчиняють у воді та нагрівають до температури 70-80°C. Це дозволяє видалити з обладнання будь-які забруднення, які можуть зашкодити біомасі. Після промивання обладнання стоки направляють до ПВ12.1.

ДР 2 Підготовка повітря для аерації

| | | | | | | | | | | | |
|-----|------|----------|--------|------|--|--|--|--|--|-------------------|------|
| | | | | | | | | | | ДП ББ12.11.000 ПЗ | Арк. |
| | | | | | | | | | | | 75 |
| Зм. | Арк. | № докум. | Підпис | Дата | | | | | | | |

За для аерації мікрободоростей в процесі культивування, необхідна суміші з вуглекислим газом, для приготування якої використовується попередньо очищене повітря. Також окрім постачання вуглекислого газу до клітин водоростей, повітря виконує функцію ерліфтного перемішування.

ДР 2.1 Забір повітря

Повітря забирають з атмосфери через забірну шахту висотою 4-6 м. Повітрозабірник 3-1 типу АІІ серії 5.903-20 (виробник «Engineering srl.»), який розташований поза станцією подачі повітря, допомагає в процесі збору повітря. Для нагнітання повітря використовується повітродувка Н-2. Температура коливається від -20 °С до 45 °С. В ході стадії відбувається контроль тиску, використовується манометр загальнотехнічний моделі ДМ 05100.

ДР 2.2 Попередня очистка повітря

Стадія проводиться для затримки часток, розмір яких більший, ніж 18 мкм. Здійснюється за допомогою волокнистого касетного фільтра Ф-3 виду ФБВ 200. Ефективність очистки 80%. В ході стадії відбувається контроль тиску, використовується манометр загальнотехнічний моделі ДМ 05100.

ДР 2.3 Очистка на індивідуальних фільтрах

Подальше очищення повітря проводять задля виділення часток діаметром до 0,3 мкм. Використовується фільтр тонкої очистки Ф-4 (модель НЕРА, виробник ВЕНТ-ФІЛЬТР), ефективність якого 99,97% . Контроль тиску відбувається за допомогою манометру загальнотехнічного моделі ДМ 05100.

ДР 2.4 Збагачення повітря вуглекислим газом

Оскільки використання чистого CO₂ може призвести до закиснення живильного середовища, вуглекислий газ із резервуару Б-5 періодично додається до суміші з повітрям за допомогою дозатора Д-6 моделі РН-QT20 (виробник «Coregion K -Tron»), в який вбудований редуктор, щоб забезпечити мікрободорості джерелом вуглецю. Враховуючи це, у технології

| | | | | | | | | | | |
|-----|------|----------|--------|------|-------------------|--|--|--|--|------|
| | | | | | | | | | | Арк. |
| | | | | | | | | | | 76 |
| Зм. | Арк. | № докум. | Підпис | Дата | ДП ББ12.11.000 ПЗ | | | | | |

використовується барбатажне повітря на стадії культивування. Підготовлене повітря пускають до трубопроводу П0.

ДР 3. Приготування води для культивування

Підприємство використовує воду зі свердловини глибиною 90 метрів. Для очищення води пропонується система фільтрації, що складається зі 3 фільтрів. Після забору, вода зі свердловини потрапляє на фільтр грубої очистки Ф-4 - волокнистого касетного фільтра виду ФБВ 200, за допомогою якого проходить видалення часток, розмір яких більший, ніж 18 мкм. Після цього, проходить очистка за допомогою Ф-8 – мембранний фільтр виготовлений зі 12X18H10T. Задля ефективного видалення високомолекулярних органічних і хлорорганічних речовин також використовується вугільний фільтр Ф-10, моделі Ecosoft FPA 1465 СТ (виробник Ecosoft, Україна). Ефективність очищення: 99,9% домішок. Температурний контроль 10-30 °С. За її використання видаляються органічні та неорганічні забрудники, мікроорганізми та солі $\text{Ca}(\text{HCO}_3)_2$, $\text{Mg}(\text{HCO}_3)_2$, CaSO_4 , MgSO_4 , CaCl_2 і MgCl_2 . Після очищення, вода подається насосом Н-11 до трубопроводу В3.

ДР 4 Підготовка теплоносіїв

ДР 4.1 Приготування теплоносія

Оскільки реактор-змішувач Р-35 на стадії обробки сечовиною ТП10.1 оснащений сорочкою для підтримання температури, в ході стадії відбувається нагрівання води до температури 90 °С, що використовується в якості теплоносія. Нагрівання води здійснюється за допомогою калорифера К-12. Корпус калорифера виготовлений з оцинкованої сталі. Як нагрівальний елемент використовується - ТЕН (трубчастий нагрівальний елемент) з нержавіючого металу, зі збільшеною зоною тепловіддачі (оребріння), що дає максимальне збільшення коефіцієнта тепла, що передається з нагрівача. Управління калорифером відбувається за

| | | | | | | | | | | |
|-----|------|----------|--------|------|-------------------|--|--|--|--|------|
| | | | | | | | | | | Арк. |
| | | | | | | | | | | 77 |
| Зм. | Арк. | № докум. | Підпис | Дата | ДП ББ12.11.000 ПЗ | | | | | |

допомогою пульта керування. Відпрацьована вода подається до калорифера К-12 зі стадії ТП10.1 та для повторного використання. В ході стадії проводять контроль температури за допомогою термоперетворювач опору. Апарат моделі ТСП-1088 має діапазоном температур: $-50...+500$ °С, також виготовлений зі сталі 12Х18Н10Т. Готовий нагрівний елемент транспортується насосом Н-13 моделі БГ12 - 4 з робочим тиском 50МПа (виробник ТОВ "ТПК"МАЙСТЕРНЯ ПРИВОДНИХ ТЕХНОЛОГІЙ") до реактора-змішувача Р-35.

ДР 4.2 Приготування охолоджуючого агенту

Оскільки реактор Р-37 на стадії кристалізації ТП10.2 оснащений сорочкою для охолодження, в ході стадії відбувається підготовка охолоджуючого агенту за допомогою кондиціонеру К-14, виготовлений зі сталі 12Х18Н10Т. Оскільки в якості агенту використовується вода, після завершення стадії вона подається до К-14 зі стадії ТП10.2 для повторного використання. В ході стадії проводять контроль температури за допомогою термоперетворювач опору. Апарат моделі ТСП-1088 має діапазоном температур: $-50...+500$ °С, також виготовлений зі сталі 12Х18Н10Т. Готовий охолоджуючий елемент транспортується насосом Н-15 моделі БГ12 - 4 з робочим тиском 50МПа (виробник ТОВ "ТПК"МАЙСТЕРНЯ ПРИВОДНИХ ТЕХНОЛОГІЙ") до реактора-змішувача Р-37.

ДР 5 Приготування етанольного розчину сечовини

Приготування етанольного розчину сечовини проводиться у реакторі –змішувачі Р-17 моделі СЕон-6,3, виробник Україна, куди за допомогою Д-16 моделі РН-QT20 (виробник «Corerion К -Трон») подається 10% сечовини та 90% етанолу 80%. Перемішування здійснюється за допомогою турбінних мішалок. Змішувачі обладнані шнековими дозаторами. Утворений розчин за допомогою насосу Н-18 моделі БГ12 - 4 з робочим тиском 50МПа (виробник ТОВ "ТПК"МАЙСТЕРНЯ ПРИВОДНИХ ТЕХНОЛОГІЙ") подається до стадії ТП 10.1. Проводиться контроль рівня рідини за допомогою

| | | | | | | | | | | |
|-----|------|----------|--------|------|-------------------|--|--|--|--|------|
| | | | | | | | | | | Арк. |
| | | | | | | | | | | 78 |
| Зм. | Арк. | № докум. | Підпис | Дата | ДП ББ12.11.000 ПЗ | | | | | |

концентратоміру (моделі LCI-KL50KPK), контроль температури за допомогою термоперетворювач опору (моделі ТСП-1088 з діапазоном температур: -50...+500 0С, виготовлений зі сталі 12Х18Н10Т) та контроль рівню рН, що проводять за допомогою рН-метра моделі рН electrode.

ДР 6 Приготування поживного середовища

ДР 6.1 Підготовка розчину мікроелементів

Для підвищення абсолютної продукції ЕПК, обрано використовувати балансоване середовище (обрано F/2), що забезпечує стабільну біомасу з високим вмістом ЕПК. Підготовка розчину мікроелементів проводиться у змішувачі Р-20, куди за допомогою дозатору Д-19 моделі РН-QT20 (виробник «Сорегіон К -Трон») додають сталий склад мікроелементів: Нітрат натрію (NaNO_3) ($75 \text{ мг}\cdot\text{л}^{-1}$), Фосфат натрію одноосновний ($\text{NaH}_2\text{PO}_4\cdot\text{H}_2\text{O}$) ($5 \text{ мг}\cdot\text{л}^{-1}$), Метасилікат натрію ($\text{Na}_2\text{SiO}_3\cdot 9\text{H}_2\text{O}$)^a ($33 \text{ мг}\cdot\text{л}^{-1}$), ЕДТА динатрій ($\text{Na}_2\cdot\text{EDTA}^+$) ($4,36 \text{ мг}\cdot\text{л}^{-1}$), Хлорид заліза ($\text{FeCl}_3\cdot 6\text{H}_2\text{O}^+$) ($3,15 \text{ мг}\cdot\text{л}^{-1}$), Купрум(II) сульфат ($\text{CuSO}_4\cdot 5\text{H}_2\text{O}$) ($0,01 \text{ мг}\cdot\text{л}^{-1}$), Цинк сульфат ($\text{ZnSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$) ($0,022 \text{ мг}\cdot\text{л}^{-1}$), Кобальту хлорид ($\text{CoCl}_2\cdot 6\text{H}_2\text{O}$) ($0,01 \text{ мг}\cdot\text{л}^{-1}$), Марганцю хлорид ($\text{MnCl}_2\cdot 4\text{H}_2\text{O}$) ($0,18 \text{ мг}\cdot\text{л}^{-1}$), Молібдат натрію ($\text{Na}_2\text{MoO}_4\cdot 2\text{H}_2\text{O}$) ($0,006 \text{ мг}\cdot\text{л}^{-1}$), Тіамін.НСІ ($0,1 \text{ мг}\cdot\text{л}^{-1}$), Біотин ($0,5 \text{ мкг}\cdot\text{л}^{-1}$), Вітамін В12 ($0,5 \text{ мкг}\cdot\text{л}^{-1}$). Розчин доводять 950 мл 3% розчином NaCl. Перемішування здійснюється за допомогою турбінних мішалок. Змішувачі обладнані шнековими дозаторами. Оскільки розчин мікроелементів, під час приготування поживного середовища додається 0,5 мл розчину на 1 л води. Утворений розчин за допомогою насосу Н-21 моделі БГ12 - 4 з робочим тиском 50МПа (виробник ТОВ "ТПК"МАЙСТЕРНЯ ПРИВОДНИХ ТЕХНОЛОГІЙ") подається до стадії ДР 6.2. Проводиться контроль рівня рідини за допомогою концентратоміру (моделі LCI-KL50KPK) та контроль рівню рН, що проводять за допомогою рН-метра моделі рН electrode.

ДР 6.2 Приготування поживного середовища

| | | | | | | | | | | |
|------|------|----------|--------|------|-------------------|--|--|--|--|------|
| | | | | | | | | | | Арк. |
| | | | | | | | | | | 79 |
| Зм.. | Арк. | № докум. | Підпис | Дата | ДП ББ12.11.000 ПЗ | | | | | |

В ході літературного огляду, було обрано технологію культивування продуцента, де поживним середовищем обрано прісну воду як середовище з солоністю 3‰, задля кращого руйнування стінок. Приготовану з ДР 2 воду змішують із солями в змішувачі Р-23 при постійному перемішуванні за допомогою турбінної мішалки. З стадії ДР6.1 розчин мікроелементів за допомогою насосу Н-21 подається до Р-23. Проводиться контроль значення рН готового поживного середовища. Значення має дорівнювати 6,4-7,4. Його доводять концентрованим розчином 1М NaOH. Отримане поживне середовище подають насосом Н-24 моделі БГ12 - 4 з робочим тиском 50МПа (виробник ТОВ "ТПК"МАЙСТЕРНЯ ПРИВОДНИХ ТЕХНОЛОГІЙ") до стадії ДР 6.3 для стерилізації. Проводиться контроль рівня рідини за допомогою концентратоміру (моделі LCI-KL50КРК), контроль температури за допомогою термоперетворювач опору (моделі ТСП-1088 з діапазоном температур: -50...+500 0С, виготовлений зі сталі 12Х18Н10Т) та контроль рівню рН, що проводять за допомогою рН-метра моделі рН electrode.

ДР 6.3 Стерилізація поживного середовища в автоклаві

Процес стерилізації проводять в автоклаві АВ-25, куди насосом Н-23 подаються розчини готового поживного середовища від стадії ДР6.2 після змішувача Р-22. Реакція відбувається протягом 25 хвилин, тиск - 0,2 МПа, при температурі - 130°С. Протягом процесу відбувається контроль тиску, значення якого має бути 0,2 МПа (манометр загальнотехнічний моделі ДМ 05100) та контроль температури, значення якої дорівнює 130°С (термоперетворювач опору моделі ТСП-1088 з діапазоном температур: - 50...+500 0С, виготовлений зі сталі 12Х18Н10Т). Готове стерилізоване поживне середовище транспортується насосом моделі БГ12 - 4 з робочим тиском 50МПа (виробник ТОВ "ТПК"МАЙСТЕРНЯ ПРИВОДНИХ ТЕХНОЛОГІЙ") Н-26 до ФР-29 для виробничого культивування.

ТП 7 Виробниче культивування

| | | | | | | | | | |
|-----|------|----------|--------|------|--|--|--|--|------|
| | | | | | | | | | Арк. |
| | | | | | | | | | 80 |
| Зм. | Арк. | № докум. | Підпис | Дата | | | | | |

Оскільки кінцевий продукт є харчовою добавкою, щоб уникнути контамінацій та забруднення посівного матеріалу було запропоновано проводити культивування на стерилізованому середовищі для утворення монокультури.

Підготовлене стерилізоване поживне середовище від стадії ДР6.3 поступає насосом Н-26 до вертикального трубчастого фотобіореактора ФР-30 змінного об'єму, де воно змішується з інокулянтном з лабораторії, який вносять через дозатор Д-27 моделі РН-QT20 (виробник «Coreion K -Tron»). Суміш повітря та вуглекислого газу зі трубопроводу П0 подається періодично (протягом 10 хвилин раз на 4 години) через інжектор з витратою 60 дм³/год. Одночасно з цим відбувається перемішування культуральної рідини завдяки ерліфтній системі. Процес культивування відбувається за температури 17–19 °С. Враховуючи циркадні ритми, обрано режим освітлення 16 годин світло та 8 годин темрява. Для забезпечення необхідного освітлення та утримання потрібної температури в реакторі використовуються світлодіодні лампи Л-28. Ці лампи генерують світло в діапазонах довжин хвиль від 400-450 нм. Ефективність освітлення становить від 300 до 320 мкмоль/(м²·с). Щоб уникнути фотоінгібування, використовується перемінне або миготливе освітлення з короткими циклами (~10 мс), що імітує природне світлове коливання всередині культури.. Температура регулюється за допомогою датчика та системи контролю з кількома каналами управління. Протягом процесу відбувається контроль температури (термоперетворювач опору моделі ТСП-1088 з діапазоном температур: -50...+500 0С, виготовлений зі сталі 12Х18Н10Т) та контроль рівню рН, що проводять за допомогою рН-метра моделі рН electrode. Культивування відбувається безперервно, що передбачає постійне надходження поживного середовища та одночасне видалення частини культуральної рідини та відпрацьоване повітрям із киснем, який виділяється під час життєдіяльності мікроорганізмів. Відпрацьоване повітря

| | | | | | | | |
|-----|------|----------|--------|------|--|-------------------|------|
| | | | | | | ДП ББ12.11.000 ПЗ | Арк. |
| Зм. | Арк. | № докум. | Підпис | Дата | | | 81 |

фільтрується за допомогою касетного фільтра Ф-30 та надходить у атмосферу. Рідкі відходи направляються до стадії ПВ12.1. Протягом процесу відбувається контроль температури (термоперетворювач опору моделі ТСП-1088 з діапазоном температур: -50...+500 0С, виготовлений зі сталі 12Х18Н10Т). та контроль рівню рН, що проводять за допомогою рН-метра моделі рН electrode.

ТП 8. Відділення біомаси мікроводоростей від поживного середовища

Процес відбувається у фільтр-пресі ФП-31, до якого зі стадії ТП8 поступає біомаса з поживним середовищем. Апарат моделі Hbracol 400, виробник США, оснащений 40 пластинами з індивідуальною площею фільтрації 400 см², забезпечує загальну площу фільтрації в діапазоні від 3 до 12,5 м². Це забезпечує продуктивність фільтр-преса 7 м³/хв. Процес здійснюється під тиском до 0,8 МПа. Проводиться контроль рівня рідини за допомогою концентратоміру (моделі LCI-KL50КРК) та контроль тиску (манометр загальнотехнічний моделі ДМ 05100). Відділення культуральна рідина відправляється на продаж. Біомаса надходить до наступної стадії.

ТП 9. Екстракція ліпідів на пресі

Біомаса з фільтр-пресу ФП-31 переробляється в екструдері Е-32 моделі ЕШК-80, виробник ТехноМашБуд, Україна. Продуктивність апарату до 200 кг/годину, потужність 22 кВт. Отримана екстракція насосом Н-33 надходить до наступної стадії. Побічний продукт стадії – жмих. Оскільки він містить до 7% олії, його транспортують на продаж як добриво. Проводиться контроль температури за допомогою термоперетворювач опору (моделі ТСП-1088 з діапазоном температур: -50...+500 0С, виготовлений зі сталі 12Х18Н10Т).

ТП 10. Виділення та очищення

ТП 10.1 Обробка сечовиною

| | | | | | | | | | | |
|-----|------|----------|--------|------|-------------------|--|--|--|--|------|
| | | | | | | | | | | Арк. |
| | | | | | | | | | | 82 |
| Зм. | Арк. | № докум. | Підпис | Дата | ДП ББ12.11.000 ПЗ | | | | | |

Процес проводиться в Р-35 (СЕон-63, Україна) при 60 °С (нагрівання рідиною) та перемішування 1750 об/хв з додаванням етанольного розчину сечовини, що подається через об'ємний дозатор Д-34 моделі РН-QT20 (виробник «Corerion K -Tron») зі стадії ДР5. Реактор виготовлений на замовлення зі сталі 12Х18Н10Т.

Реакцію проводять протягом 2 години. Карбамідні комплекси утворюються між молекулами сечовини та молекулами поліненасичених жирних кислот. Отриману суміш подають насосом Н-36 моделі БГ12 - 4 з робочим тиском 50МПа (виробник ТОВ "ТПК"МАЙСТЕРНЯ ПРИВОДНИХ ТЕХНОЛОГІЙ") до Р-37 для подальшої кристалізації. Проводиться контроль температури за допомогою термоперетворювач опору (моделі ТСП-1088 з діапазоном температур: -50...+500 0С, виготовлений зі сталі 12Х18Н10Т).

ТП 10.2 Кристалізація

Р-37 зі встроєним змішувачем виконаний під замовлення зі сталі 12Х18Н10Т. Суміш охолоджують до -8°С протягом 24 годин та утворення кристалів. Далі суміш за допомогою насоса Н-38 моделі БГ12 - 4 з робочим тиском 50МПа (виробник ТОВ "ТПК"МАЙСТЕРНЯ ПРИВОДНИХ ТЕХНОЛОГІЙ") подають для фільтрації до нутч-фільтра Ф-39. Етап охолодження використовується для забезпечення повної кристалізації, що супроводжується утворенням карбаміду, суспендованих у поліненасичених жирних кислотах. Проводиться контроль температури за допомогою термоперетворювач опору (моделі ТСП-1088 з діапазоном температур: -50...+500 0С, виготовлений зі сталі 12Х18Н10Т).

ТП 10.3 Фільтрування

Здійснюється за допомогою нутч-фільтра Ф-39 місткість 2,0 м³. Фільтр емальований працює під розрідженням, площа фільтрації 0,8 м², відкритого типу (у збірнику фільтрату створюється вакуум) з емальованими ґратами,

вироблений з неірж. сталь 12X18H10T. Кристали карбаміду відправляють на подальшу переробку та виділення C14, C16 і C18 жирних кислот. Проводиться контроль рівня рідини за допомогою концентратоміру (моделі LCI-KL50KPK) та контроль рівню рН, що проводять за допомогою рН-метра моделі рН electrode.

ТП 10.4 Промивання й екстрагування

Промивання проходить в відстійнику В-41, який обладнаний душем. У відстійнику відбувається промивання жирних кислот, а також фракціонування омега-3 жирних кислот за допомогою реакції з гексаном, який використовується як неполярний розчинник. При цьому промивання і екстрагування відбуваються одночасно. Гексан подається зі складу за допомогою дозатору Д-40 моделі РН-QT20 (виробник «Coperion K -Tron»).

Після промивання суміш відстоюється протягом 40 хвилин для повного фракціонування та відокремлення води. Далі суміш подають насосом Н-42 моделі БГ12 - 4 з робочим тиском 50МПа (виробник ТОВ "ТПК"МАЙСТЕРНЯ ПРИВОДНИХ ТЕХНОЛОГІЙ") до відстійника В-43 для відділення гексану.

Забруднена вода відправляється на стадію знешкодження відходів ЗВ13. Проводиться технічний контроль обладнання та хімічний контроль промивання і нейтралізації (рН=7,2). Проводиться контроль рівня рідини за допомогою концентратоміру (моделі LCI-KL50KPK) та контроль рівню рН, що проводять за допомогою рН-метра моделі рН electrode.

ТП 10.5 Відділення гексану

Подану суміш до відстійнику В-43 моделі СЕнв-32, виробник Україна, відстоюють для відділення фракції омега – 3 жирних кислот та гексану. Оскільки гексан має більшу густину, він буде осідати, що дозволяє його відокремити. Тому першим зливають гексан та насосом Н-44 транспортують до збірника Зб-49. Далі насосом Н-45 моделі БГ12 - 4 з робочим тиском 50МПа (виробник ТОВ "ТПК"МАЙСТЕРНЯ ПРИВОДНИХ

| | | | | | | | | | |
|-----|------|----------|--------|------|--|--|--|-------------------|------|
| | | | | | | | | ДП ББ12.11.000 ПЗ | Арк. |
| Зм. | Арк. | № докум. | Підпис | Дата | | | | | 84 |

ТЕХНОЛОГІЙ") омега-3 жирні кислоти відправляються до стадії фільтрації ТП10.6. Проводиться контроль рівня рідини за допомогою концентратоміру (моделі LCI-KL50KPK) та контроль рівню рН, що проводять за допомогою рН-метра моделі рН electrode. Проводиться технічний контроль обладнання.

ТП10.6 Фільтрування

Задля чистоти кінцевого продукту та додаткового видалення гексану проводиться фінальна очистка омега-3 жирних кислот за допомогою фільтрації. Процес відбувається за допомогою мембранного фільтру Ф-46 (збірний). Отримано кінцевий продукт, який насосом Н-47 відправляється до цистерни Ц-48, виготовленої на замовлення з нержавіючої сталі 12Х18Н10 Т, для подальшої стадії пакування, маркування та відвантаження ПМВ11. Гексан, що відділили, надходить до збірника Зб-49. Задля подальшої переробки та очищення, насосом Н-50 моделі БГ12 - 4 з робочим тиском 50МПа (виробник ТОВ "ТПК"МАЙСТЕРНЯ ПРИВОДНИХ ТЕХНОЛОГІЙ") гексан надходить до цистерни Ц-51, виготовленої на замовлення з нержавіючої сталі 12Х18Н10 Т, що транспортується до очисної ділянки.

ПМВ11. Пакування, маркування та відвантаження

ПМВ11.1 Розлив, укупорення та етикетування

Кінцевий продукт подається до пристрою ФП-51 для розливу у полімерну тару місткістю 0,25 дм³. Стерильна та підготовлена до розливу тара надходить зі складу. Після цього, продукт надходить до пристрою ФП-52 для укупорення стерильними корками зі складу. Далі за допомогою пристрою ФП-53 готові флакони загвинчуються кришкою. Розфасований продукт готовий до маркування та відправляється до пристрою ГФ-54. Пакування проводиться згідно ТУ з дотриманням правил гігієни та безпеки. Готовий розфасований продукт маркується згідно ТУ та відповідно до вимог законодавства. Проводиться контроль якості продукту, перевірка герметичності упаковки, відповідність ваги та зовнішнього вигляду.

| | | | | | | | | | | | |
|-----|------|----------|--------|------|--|--|--|--|--|-------------------|------|
| | | | | | | | | | | ДП ББ12.11.000 ПЗ | Арк. |
| Зм. | Арк. | № докум. | Підпис | Дата | | | | | | | 85 |

ПМВ11.2 Пакування та відвантаження

За допомогою обладнання ФП-55 відбувається пакування готового продукту у коробки. Продукт транспортується для відвантаження за допомогою пристрою ФП-56. В ході стадії відбувається контроль упаковки згідно ТУ. Упакований та перевірений продукт розміщується у транспортну тару для подальшого зберігання та відвантаження.

ПВ 12. Переробка відходів

ПВ12.1 Переробка рідких відходів

Уся відпрацьована вода збирається у цистерни та відправляється на найближчі очисні споруди.

ПВ12.2 Переробка твердих відходів

Не відпрацьовані фільтри промиваються водою і направляються до стадії ДР 1. Відпрацьовані фільтри утилізуються на полігоні загального призначення.

Жмих з ТП 10.1 транспортується для реалізації в якості добрив, що принесе додатковий прибуток підприємству.

Кристали карбаміду з ТП 11.3 транспортуються до виробничої дільниці для виділення С14, С16 і С18 жирних кислот.

ЗВ 13. Знешкодження відходів

Забруднена вода зі стадії ТП11.4 транспортується на відповідну дільницю для утилізації.

3.4 Контроль виробництва

Таблиця 3.4.1 - Точки і параметри контролю виробництва

| Стадія процесу, місце заміру параметра або відбору проби | Параметр, що контролюється, одиниці вимірювання, вид контролю | Частота контролю | Норми технологічного режиму та допустимі | Метод контролю параметра, тип приладу |
|----------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------|------------------|------------------------------------------|---------------------------------------|
|----------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------|------------------|------------------------------------------|---------------------------------------|

| | | | | |
|-----|------|----------|--------|------|
| | | | | |
| Зм. | Арк. | № докум. | Підпис | Дата |

| | | | | |
|------------------------------------------------------|---------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|
| ДР 1.1. Приготування миючих розчинів | Температура розчинення | Постійно | $t_{\text{розчинення}}=40$ $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$ | Термометри чний |
| | Температура використання | | $t_{\text{використання}}=4$ $0-50\text{ }^{\circ}\text{C}$ | Термометри чний |
| | Концентрація каустичної соди | | $C=50\%$ | Хімічний метод, перевірка концентраці ї |
| ДР 2.1. Забір повітря з атмосфери | Температурний режим | Постійно | $t=-20-45\text{ }^{\circ}\text{C}$ | Термометри чний |
| ДР 2.2. Попередня очистка повітря | Чистота забору повітря | Під час процесу очистки | $E=80\%$ | Перевірка ступеню очищення |
| ДР 2.3. Очищення на індивідуальних фільтрах | Чистота забору повітря | Під час процесу очистки | $E=99,97\%$ | Перевірка ступеню очищення |
| ДР 3. Підготовка води | Температурний режим | Під час процесу очистки | $t=10-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ | Термометри чний |
| | Чистота забору | | $E=99,9\%$ | Перевірка ступеню очищення |
| ДР 4.1. Приготування теплоносія | Температурний режим | Під час процесу підготов- ки | $t=90\text{ }^{\circ}\text{C}$ | Термометри чний |

| | | | | |
|-----|------|----------|--------|------|
| | | | | |
| Зм. | Арк. | № докум. | Підпис | Дата |

| | | | | |
|-----------------------------------------------|------------------------------------|------------------------------|----------------------------------|----------------|
| ДР 4.1. | Температурний режим | Під час процесу підготовки | $t = -8^{\circ}\text{C}$ | Термометричний |
| ДР 5. | Співвідношення компонентів розчину | Під час завантаження апарату | Технічний регламент підприємства | Дозування |
| ДР 6.1. | Співвідношення компонентів розчину | Під час завантаження апарату | Технічний регламент підприємства | Дозування |
| ДР 6.2. | Час приготування | Під час процесу підготовки | $T = 20$ хв | Годинник |
| | Компоненти середовища | | Технічний регламент підприємства | Дозування |
| | pH | | pH=7,4 | pH-метр |
| ДР 6.3. | Час | Під час процесу | $T = 25$ хв | Годинник |
| | Тиск | | $P = 0,2$ МПа | Манометр |
| | Температурний режим | | $t = 130^{\circ}\text{C}$ | Термометричний |
| ТП 7. Виробниче культивування мікроводоростей | Час | Під час процесу | $T = 25$ хв | Годинник |
| | Тиск | | $P = 0,2$ МПа | Манометр |
| | Температурний режим | | $t = 30^{\circ}\text{C}$ | Термометричний |

| | | | | |
|-------------------------------------|---------------------|-----------------|---------------|----------------|
| ТП 8. Відділення біомаси | Тиск | Під час процесу | P=0,2 МПа | Манометр |
| ТП 9. Екстракція ліпідів на пресі | Тиск | Під час процесу | P=0,1-0,2 МПа | Манометр |
| | Температура | | t=60 °C | Термометричний |
| ТП 10.1. Обробка сечовиною | Час | Під час процесу | T=60 хв | Годинник |
| | Температурний режим | | t=60 °C | Термометричний |
| ТП 10.2. Кристалізація | Час | Під час процесу | T=24 год | Годинник |
| | Температурний режим | | t=-8 °C | Термометричний |
| ТП 10.3. Фільтрація | Час | Під час процесу | T=40 хв | Годинник |
| ТП 10.4. Промивання та відстоювання | Час | Під час процесу | T=40 хв | Годинник |
| | Температура | | t=60 °C | Термометричний |
| ТП 10.5. Відділення гексану | Час | Під час процесу | T=5 хв | Годинник |
| | Температура | | t=25 °C | Термометричний |

| | | | | |
|-----|------|----------|--------|------|
| | | | | |
| Зм. | Арк. | № докум. | Підпис | Дата |

РОЗДІЛ 4. ТЕХНОЛОГІЧНІ РОЗРАХУНКИ АПАРАТА

4.1 Конструктивний розрахунок

Середня густина кінцевого продукту – 900 кг/м^3 . Об'єм ректора, згідно з технологією, яку ми обрали, - 32 м^3 .

Проаналізувавши рисунок 4.1.1 [97], оптимальним рішенням буде оснащення реактора-змішувача пропелерною мішалкою із частотою обертання 1750 об/хв .

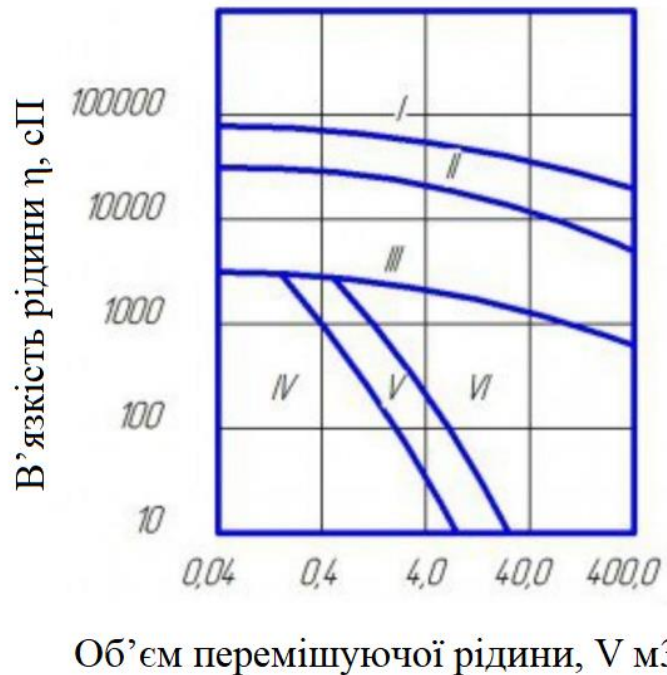


Рисунок 4.1.1 – Номограма для вибору типу мішалки в залежності від в'язкості та об'єму рідини: I – лопастна модифікована; II – лопастна; III – турбінна; IV – пропелерна, 420 об/хв ; V – пропелерна, 1150 об/хв ; VI – пропелерна, 1750 об/хв [97].

Вихідні дані для розрахунку:

- Робочий об'єм апарату, м^3 : $V = 22,3$.
- Коефіцієнт заповнення: $\varphi = 0,7$.

| | | | | | | | |
|-----------|------|---------------|--------|------------------------|--------------------------------------------|-----|---------|
| | | | | | ДП ББ12.11.000 ПЗ | | |
| Зм. | Арк. | № докум | Підпис | Дата | | | |
| Розробив | | Мацкевич М.В. | | | Лім | Арк | Аркушів |
| Конс. | | | | | | 90 | 125 |
| Керівник | | Левтун І.І. | | | ТЕХНОЛОГІЧНІ РОЗРАХУНКИ АПАРАТУ | | |
| Затвердив | | | | НТУУ "КПІ", ФБТ | | | |

Номинальний об'єм апарату обчислюється за формулою [98]:

$$V_H = \frac{V_{\text{ліп}}}{K_3} = \frac{22,3}{0,7} = 31,9 \text{ м}^3 \approx 32 \text{ м}^3 \quad (4.1)$$

Відповідно до ТУ обираємо типовий реактор з еліптичним днищем і еліптичною знімною кришкою (тип 0), з наступними технічними даними:

- $V_H = 32 \text{ м}^3$ – номінальний об'єм.
- $F_p = 39 \text{ м}^2$ – площа поверхні теплообміну рубашки.
- $d_b = 95, 110, 130 \text{ мм}$ – діаметр валу мішалки.
- $H_p(\varphi=0,75) = 3,64 \text{ м}$, $H_p(\varphi=0,5) = 2,51 \text{ м}$. – висота рівня рідини.

Таблиця 4.1.1 Основні технічні дані реакторів з еліптичними кришками [97]

| Номинальний об'єм v_n , м^3 | Діаметр апарата D , мм | Площа поверхні теплообміну сорочки F_p , м^2 | Площа поверхні теплообміну змійовика F_3 , м^2 | | Діаметр валу мішалки d_b , мм | Висота рівня рідини $H_{ж}$, м | |
|----------------------------------------|--------------------------|---------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------|---------|---------------------------------|---------------------------------|---------------|
| | | | 1-й ряд | 2-й ряд | | $\varphi=0,75$ | $\varphi=0,5$ |
| 0,1 | 500 | 0,7 | - | | 40 | 0,42 | 0,29 |
| 0,16 | 600 | 0,9 | | | | 0,47 | 0,33 |
| 0,25 | 700 | 1,3 | | | | 0,5 | 0,38 |
| 0,4 | 800 | 1,9 | | | | 0,66 | 0,46 |
| 0,63 | 1000 | 2,5 | | | 40; 50; 65 | 0,68 | 0,48 |
| 1,0 | 1200 | 3,4 | 2,8 | - | 50; 65 | 0,76 | 0,54 |
| 1,25 | | 4,4 | - | | 50; 65; | 0,93 | 0,65 |
| 1,6 | | 5,8 | | | | 1,16 | 0,81 |
| 2,0 | 1400 | 6,5 | 3,5 | - | 80 | 1,09 | 0,77 |
| 2,5 | | 7,8 | - | | | 1,33 | 0,93 |
| 3,2 | 1600 | 8,5 | 5,2 | 9,5 | 65; 80 | 1,33 | 0,93 |
| 4,0 | | 11,3 | - | - | | 1,63 | 1,11 |
| 5,0 | 1800 | 12,0 | 4,9 | 9,1 | 65; 80; | 1,63 | 1,13 |
| 6,3 | | 14,8 | 11,5 | 20,7 | | 95 | 2,01 |
| 8,0 | 2000 | 17,0 | - | - | 80; 95 | 2,08 | 1,44 |
| 10,0 | 2200 | 20,0 | 12,4 | 22,9 | | 2,16 | 1,50 |

| | | | | | | | |
|------|------|------|------|------|-----------------|------|------|
| 12,5 | 2400 | 21,0 | - | - | 80; 95; 110 | 2,27 | 1,58 |
| 16 | 2400 | 25,5 | 13,4 | 24,6 | | 2,86 | 1,97 |
| 20 | 2600 | 33,5 | - | - | | 3,04 | 2,10 |
| 25 | 2800 | 38,0 | 12,8 | 24,9 | 95; 110; 130 | 3,28 | 2,26 |
| 32 | 3000 | 39,0 | 12,8 | 24,9 | | 3,64 | 2,51 |
| 40 | 3200 | 54,0 | - | - | | 4,00 | 2,76 |
| 50 | 3000 | 69,7 | 12,8 | 24,9 | | 5,57 | 3,79 |
| 63 | 3200 | 82,8 | - | - | | 6,14 | 4,18 |

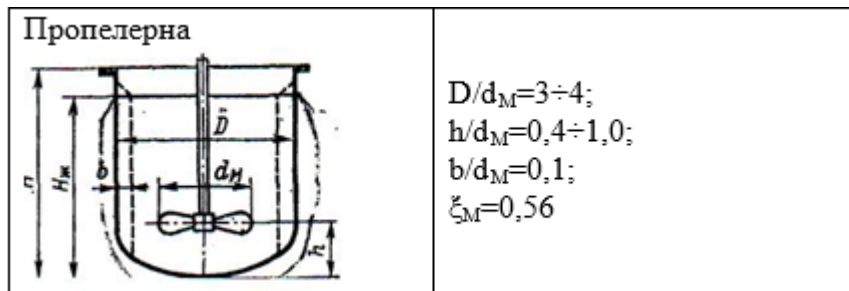


Рис.4.1.2 Основні співвідношення пропелерної мішалки [97]

4.1.1 Розрахунок днища апарату

Еліптичні днища за ТУ для апарату вказаного діаметра мають наступні характеристики [97]:

- $D_{вн} = 3000$ мм – внутрішній діаметр апарату
- $h_1 = 0,1$ м - висота основи еліптичного днища.
- $h_B = 0,75$ м – висота еліптичної частини днища.
- $V_d = 4224,9$ дм³ – об'єм днища.
- $S = 40$ мм – товщина стінки еліптичного днища.
- $F = 10,7$ м²

Повна висота днища апарату [98]:

$$H_{дн} = h_1 + h_B = 0,1 + 0,75 = 0,85 \text{ м} \quad (4.2)$$

4.1.2 Розрахунок перемішуючого пристрою

Відповідно до обґрунтування, наведеного в минулому підрозділі, обираємо пропелерну мішалку.

Основні співвідношення для такого типу мішалки [98]:

- $D/d_M=3\div 4$ (в розрахунках було прийнято 4)

| | | | | |
|-----|------|----------|--------|------|
| Зм. | Арк. | № докум. | Підпис | Дата |
|-----|------|----------|--------|------|

- $h/d_M=0,4 \div 1$ (в розрахунках було прийнято 0,7)
- $b/d_M=0,1$
- $\varepsilon_M=0,56$

На кожні 20 м³ рідини рекомендовано встановлювати одну мішалку.
Тож використаємо 2.

Діаметр мішалки [98]:

$$d_M = D/4 = 3/4 = 0,75 \text{ м} \quad (4.3)$$

де, D – внутрішній діаметр апарату, м.

Із стандартного ряду приймаємо $d_M = 800$ мм.

Висота від днища до мішалки [98]:

$$h = 0,7 \cdot d_M = 0,7 \cdot 0,8 = 0,56 \text{ м} \quad (4.4)$$

Стандартне число обертів мішалки згідно з обраною технологією $n = 1750$ об/хв = 29,17 об/с.

4.1.3 Розрахунок висоти рівня рідини в апараті та висоти апарату

Повний об'єм реактора [98]:

$$V = V_{\text{ц}} + 2V_{\text{дн}} \quad (4.5)$$

Відповідно, об'єм циліндричної частини [98]:

$$V_{\text{ц}} = V_{\text{н}} - 2V_{\text{дн}} = 32 - 2 \cdot 4,2249 = 23,5502 \text{ м}^3 \quad (4.6)$$

Висота циліндричної частини [98]:

$$H_{\text{ц}} = \frac{V_{\text{ц}}}{F} = \frac{V_{\text{ц}} \cdot 4}{\pi \cdot D^2} = \frac{23,5502 \cdot 4}{\pi \cdot 3^2} = 3,3334 \text{ м} \quad (4.7)$$

Висота рівня рідини в циліндричній частині [98]:

$$H_{\text{цр}} = \frac{V_{\text{ц}} \cdot 4}{\pi \cdot D^2} \cdot K_3 = \frac{23,5502 \cdot 4}{\pi \cdot 3^2} \cdot 0,7 = 2,3334 \text{ м} \quad (4.8)$$

Висота стовпа рідини [98]:

$$H_{\text{р}} = H_{\text{цр}} + H_{\text{дн}} = 2,3334 + 0,85 = 3,183 \text{ м} \quad (4.9)$$

Загальна висота реактора [98]:

$$H_{\text{реакт}} = H_{\text{ц}} + 2 \cdot H_{\text{дн}} = 3,3334 + 2 \cdot 0,85 = 5,033 \text{ м} \quad (4.10)$$

4.1.4 Розрахунок глибини воронки

Параметр висоти завантаження апарату [98]:

$$(\Gamma)\gamma = 8 \frac{H_p}{D} + 1 = 8 \frac{3,183}{3} + 1 = 9,488 \quad (4.11)$$

Параметр гідравлічного опору мішалки E знаходять за формулою [98]:

$$E = \frac{\gamma}{\xi_m \cdot z_m \cdot Re_{\zeta}^{0,25}} = \frac{9,488}{0,56 \cdot 2 \cdot (2,45 \cdot 10^6)^{0,25}} = 0,214 \quad (4.12)$$

Критерій Рейнольдса [98]:

$$Re_{\zeta} = \frac{n \cdot d_m^2 \cdot \rho}{\mu} = \frac{29,17 \cdot 0,8^2 \cdot 900}{4,5 \cdot 10^{-3}} = 3,73 \cdot 10^6 \quad (4.13)$$

де, n – число обертів мішалки, c⁻¹, μ – коефіцієнт динамічної в'язкості рідини, Па · с .

Ψ₁ = 0,4 – значення параметру розподілення

За значенням параметру Ψ₁ знаходимо параметр глибини воронки B:

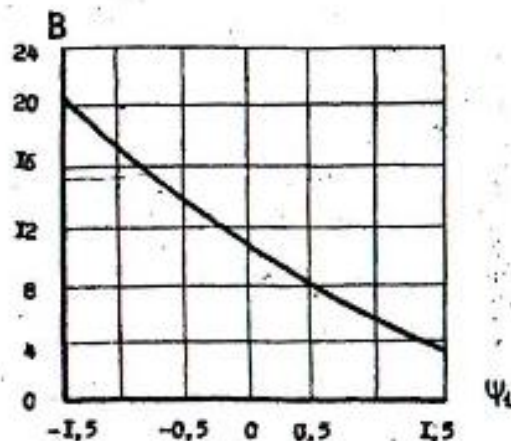


Рис.4.1.4.1. Параметр глибини воронки B=f(ψ₁) [98]

З Рисунку 4.1.4.1, B = 8.

Глибину воронки знаходять за формулою [98]:

$$h_B = \frac{B n^2 d_m^2}{2} = \frac{8 \cdot 29,17^2 \cdot 0,8^2}{2} = 2178,28 \text{ (м)} \quad (4.14)$$

Гранично допустима глибина воронки [98]:

$$h_{gr} = H_p - h = 3,183 - 0,56 = 2,623 \text{ (м)} \quad (4.15)$$

де h – висота встановлення мішалки над днищем.

Перевіряємо, чи виконується співвідношення [98]:

$$Q_H = m \cdot C_{\text{ліп}} \cdot (t_k - t_n) = 20100 \cdot 1900 \cdot (60 - 20) = 6528 \text{ МДж} \quad (4.19)$$

Теплота, що виділяється в результаті дисипації механічної енергії від перемішуючих пристроїв [98]:

$$Q_{\text{дис}} = N \cdot \tau_{\text{пер}} = 183000 \cdot 3600 = 6588 \text{ МДж} \quad (4.20)$$

Втрати теплоти в навколишнє середовище при нагріванні [98]:

$$Q_{\text{втр}} = 0,02 \cdot Q_H = 0,02 \cdot 6528 = 130,56 \text{ МДж} \quad (4.21)$$

$Q_{\text{втр}}$ – втрати, приймаємо за 2% від загального Q_H .

Тоді рівняння теплового балансу запишемо у вигляді [98]:

$$Q_T = 6528 + 130,56 - 6588 = 70,56 \text{ МДж} \quad (4.22)$$

де Q_T – теплота, що відводиться теплоносієм;

Теплоносій – вода, визначаємо витрату води [98]:

$$G_B = \frac{Q_T}{C_B(t_1 - t_2)} = \frac{70560000}{4187 \cdot (90 - 75)} = 1123,5 \text{ кг/с} \quad (4.23)$$

де t_1 – температура теплоносія на вході в рубашку; t_2 – температура теплоносія на виході з рубашки; C_B – 4,187 кДж/кг, питома теплоємність води при температурі 15 °С.

Визначаємо площу поверхні теплопередачі реактора [98]:

$$\Delta t_{\delta} = t_1 - t_n = 90 - 20 = 70^\circ\text{C}$$

$$\Delta t_m = t_1 - t = 90 - 60 = 30^\circ\text{C} \quad (4.24)$$

$$\frac{\Delta t_{\delta}}{\Delta t_m} = \frac{70}{30} = 2,3 > 2, \text{ тоді:} \quad (4.24)$$

$$\Delta t_{cp} = \frac{\Delta t_{\delta} - \Delta t_m}{\ln \frac{\Delta t_{\delta}}{\Delta t_m}} = \frac{70 - 30}{\ln \frac{70}{30}} = 47,2 \quad (4.25)$$

де t_n – температура екстракту до нагрівання.

Тепловіддача від рідини, що перемішується до стінки апарату, що знаходиться в рубашці.

Критерій Нусельта [98]:

$$Nu = 0,76 \cdot Re^{0,67} \cdot Pr^{0,33} = 0,76 \cdot (3,73 \cdot 10^6)^{0,67} \cdot 28,5^{0,33} = 58070,7 \quad (4.26)$$

Критерій Прандтля [98]:

$$Pr = \frac{c_{\text{ліп}} \cdot \mu_{\text{ліп}}}{\lambda} = \frac{1900 \cdot 4,5 \cdot 10^{-3}}{0,3} = 28,5 \quad (4.27)$$

$$Nu = \frac{\alpha_1 \cdot D_{\text{вн}}}{\lambda} \quad (4.28)$$

$$\alpha_1 = \frac{\lambda \cdot Nu}{D_{\text{вн}}} = \frac{0,3 \cdot 58070,7}{3} = 5807,1 \frac{\text{Вт}}{\text{м}^2 \cdot \text{К}} \quad (4.29)$$

Зазвичай, тепловіддача в рубачці відбувається в умовах вільної конвекції [98]:

$$t_{\text{cp}} = \frac{t_1 + t_2}{2} = \frac{90 + 75}{2} = 82,5^\circ\text{C} \quad (4.30)$$

$$t_{\text{cm}} = \frac{t_1 + t_{\text{cp}}}{2} = \frac{60 + 82,5}{2} = 71,25^\circ\text{C}$$

$$Gr \cdot Pr = H_p^3 (t_{\text{cp}} - t_{\text{ст}}) \nu = 3,183^3 \cdot (82,5 - 71,25) \cdot 34 \cdot 10^9 = 12,3 \cdot 10^{12} \quad (4.31)$$

Тоді, критерій Нусельта [98]:

$$Nu = C \cdot (Gr \cdot Pr)^a = 0,15 \cdot (12,3 \cdot 10^{12})^{0,33} = 3131,55 \quad (4.32)$$

Коефіцієнт тепловіддачі від стінки апарата до води [98]:

$$\alpha_2 = \frac{\lambda Nu}{H_p} = \frac{0,638 \cdot 3131,55}{3,183} = 627,7 \frac{\text{Вт}}{\text{м}^2 \cdot \text{К}} \quad (4.33)$$

де, λ – теплопровідність води при t_{cp} .

Коефіцієнт теплопередачі становить [98]:

$$K = \frac{1}{\frac{1}{\alpha_1} + \frac{\delta_{\text{ст}}}{\lambda_{\text{ст}}} + \frac{1}{\alpha_2}} = \frac{1}{\frac{1}{5807,1} + \frac{0,04}{17,5} + \frac{1}{627,7}} = 246,85 \frac{\text{Вт}}{\text{м}^2 \cdot \text{К}} \quad (4.34)$$

де, $\lambda_{\text{ст}}$ – теплопровідність для нержавіючої сталі (17,5), $\delta_{\text{ст}}$ – товщина стінки апарата (0,04 м).

Необхідна поверхня теплообміну реактора [98]:

$$F = \frac{Q_T}{K \cdot t \cdot \Delta t_{\text{cp}}} = \frac{70560000}{246,85 \cdot 3600 \cdot 47,2} = 1,68 (\text{м}^2) \quad (4.35)$$

Розрахована площа теплообміну, є меншою ніж стандартна, тобто забезпечує необхідну температуру у перемішувачі протягом його роботи.

| | | | | | | | | | |
|-----|------|----------|--------|------|--|--|--|--|------|
| | | | | | | | | | Арк. |
| | | | | | | | | | 97 |
| Зм. | Арк. | № докум. | Підпис | Дата | | | | | |

РОЗДІЛ 5. ОХОРОНА ПРАЦІ ТА ОХОРОНА ДОВКІЛЛЯ

Відповідно до Закону України «Про охорону праці» № 2694-ХІІ від 14.10.1992 року (зі змінами) роботодавець зобов'язаний забезпечити безпечні та нешкідливі умови праці на кожному робочому місці згідно з вимогами чинного законодавства та нормативно-правових актів [99].

Виробництво харчових добавок, зокрема Омега-3 жирних кислот у рідкій формі або капсулах, пов'язане з обробкою біологічної сировини (риб'ячий жир, рослинні олії), використанням допоміжних технологічних речовин і обладнання, що потребує дотримання суворих стандартів безпеки.

Основні фактори ризику на виробництві Омега-3:

1. Контакт з небезпечними хімічними речовинами (дезінфектанти, мастила, розчинники) [100];
2. пожежонебезпечність (горючі жири й олії) [101];
3. травмонебезпека під час обслуговування механічного, теплового та електричного обладнання [102];
4. мікробіологічні ризики при порушенні санітарного режиму [103].

Можливі надзвичайні ситуації:

1. Пожежа через займання олійних продуктів.
2. Розлив або витік хімічних речовин.
3. Механічні пошкодження обладнання.
4. Порушення температурного режиму зберігання.
5. Надзвичайні ситуації техногенного або природного характеру.

| | | | | | | | | |
|------------------|-------------|----------------------|---------------|-------------|----------------------------------------------|------------|------------------------|----------------|
| | | | | | ДП ББ12.11.000 ПЗ | | | |
| <i>Зм.</i> | <i>Арк.</i> | <i>№ докум</i> | <i>Підпис</i> | <i>Дата</i> | | <i>Лім</i> | <i>Арк</i> | <i>Аркушів</i> |
| <i>Розробив</i> | | <i>Мацкевич М.В.</i> | | | ОХОРОНА ПРАЦІ ТА ОХОРОНА ДОВКІЛЛЯ | | 100 | 125 |
| <i>Конс.</i> | | | | | | | | |
| <i>Керівник</i> | | <i>Левтун І.І.</i> | | | | | НТУУ "КПІ", ФБТ | |
| <i>Затвердив</i> | | | | | | | | |

Заходи охорони праці та безпеки:

1. Організаційно-технічні заходи:

впровадження системи управління охороною праці (СУОП) згідно з Порядком функціонування СУОП, затвердженим наказом Мінсоцполітики № 221 від 22.08.2018 [104];

проведення первинного, повторного, позапланового та цільового інструктажів згідно з Типовим положенням про навчання з питань охорони праці, наказ № 15 від 26.01.2005 [105];

забезпечення працівників сертифікованими засобами індивідуального захисту (ЗІЗ) — згідно з НПАОП 0.00-4.26-96 [106];

розміщення обладнання згідно з принципами ергономіки та пожежної безпеки [101].

2. Інженерно-технічні заходи:

обладнання приміщень системами вентиляції, пожежогасіння, сигналізації — згідно з Правилами пожежної безпеки в Україні (НАПБ А.01.001-2014) [101];

облік і контроль викидів згідно з вимогами екологічного законодавства (Закон України «Про охорону навколишнього природного середовища», № 1264-ХІІ) [107];

застосування сертифікованого технологічного обладнання відповідно до Технічного регламенту безпеки машин, затвердженого постановою КМУ № 62 від 30.01.2013 [108].

Особливі вимоги до безпеки на виробництві Омега-3:

Безпечні технології: Вибір технології має ґрунтуватися на оцінці ризиків та дотриманні принципів НАССР — згідно з наказом Мінагрополітики № 590 від 01.10.2012 [109].

| | | | | | | | | | | | | |
|-----|------|----------|--------|------|--|--|--|--|--|--|-------------------|------|
| | | | | | | | | | | | ДП ББ12.11.000 ПЗ | Арк. |
| Зм. | Арк. | № докум. | Підпис | Дата | | | | | | | | 101 |

Безпечне обладнання: Обладнання має відповідати санітарно-гігієнічним та технічним нормам, затвердженим МОЗ та Держпродспоживслужбою.

Правильне поводження з хімічними речовинами: дотримання вимог НПАОП 0.00-4.33-99 щодо безпечного зберігання та використання речовин [110].

Навчання та інструктаж персоналу:

Інструктажі мають охоплювати:

- загальні правила охорони праці;
- використання ЗІЗ;
- дії у разі аварійних ситуацій (пожежа, витік, травмування);
- особливості безпечної експлуатації конкретного обладнання та роботи з біологічною/хімічною сировиною.

Профілактика нещасних випадків:

1. Планові перевірки обладнання та систем безпеки (електрообладнання, вентиляція, ППБ);
2. Санітарно-гігієнічний контроль виробничих умов — згідно з ДСП 9.9.5.035-2002 [111];
3. Профілактичні медичні огляди відповідно до наказу МОЗ № 246 від 21.05.2007 [111].

ВИСНОВОК

1. В ході літературного огляду було наведено фізико-хімічні властивості омега-3 жирних кислот та наведено основні метаболічні шляхи їх біосинтезу. Було визначено, що одним з найперспективніших продуцентів омега-3 жирних кислот є мікрководорості. Вони є економічно вигідним, біологічно чистим джерелом ліпідів, що в найближчому майбутньому стануть основним джерелом виділення омега-3. В результаті аналізу літературних джерел визначено, що ряд мікрководоростей, які знаходяться як у морських, так і у прісноводних середовищах, можуть виробляти ліпіди, придатні для виробництва омега-3 жирних кислот. Обрано *Nannochloropsis oceanica* як джерело ліпідів для виробництва. Розроблено напівперіодичний спосіб при безперервному культивуванні, періодичному зборі, видобутку олії та виділенні омега-3 жирних кислот кожні 10 днів або 36 разів на рік. Також за допомогою сечовини, отриманою в результаті кристалізації, можливе виробництво продукту збагаченого жирними кислотами C14, C16 і C18. В цілях додаткового прибутку також на продаж йдуть жмих та кильтуральна рідина що можуть слугувати матеріалом для виробництва певних видів біопалива, або слугувати добривом.
2. Розраховано та підібрано обладнання для виробничої лінії задля розробки технологічної схеми для виробництва омега-3 жирних кислот з мікрководоростей задля отримання відповідної кількості продукту.

| | | | | | | | |
|------------|-------------|----------------|---------------|-------------|--------------------------|-----|-----|
| | | | | | ДП ББ12.11.000 ПЗ | | |
| Зм. | Арк. | № докум | Підпис | Дата | | | |
| Розробив | | Мацкевич М.В. | | | ВИСНОВОК | | |
| Конс. | | | | | | | |
| | | | | | | 103 | 125 |
| Керівник | | Левтун І.І. | | | НТУУ "КПІ", ФБТ | | |
| Затвердив | | | | | | | |

3. Спроектовано технологічну і апаратурну схеми виробництва омега-3 жирних кислот з використанням ліпідів мікроводоростей *Nannochloropsis oceanica*, включаючи основні етапи та обладнання, таке як реактор об'ємом 32 м³ з пропелерною мішалкою.
4. Обрані та розраховані основні технологічні параметри обладнання для виробництва омега-3 жирних кислот, включаючи реактор об'ємом 32 м³ з висотою 5,033 м та діаметром 3 м. Розроблено креслення реактора, що враховує необхідні технічні параметри для ефективного виробництва.
5. Охарактеризовано пропозиції та заходи щодо забезпечення охорони праці, техніки безпеки, охорони довкілля відповідно до державних стандартів.

| | | | | | | |
|-----|------|----------|--------|------|-------------------|------|
| | | | | | ДП ББ12.11.000 ПЗ | Арк. |
| | | | | | | 104 |
| Зм. | Арк. | № докум. | Підпис | Дата | | |

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Recent Advances in Microalgal Biotechnology / ed. by H. Gerken, D. Z. Sun, J. Liu. OMICS International, 2016. URL: <https://doi.org/10.4172/978-1-63278-066-9-67>
2. Shahidi F., Ambigaipal P. Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids and Their Health Benefits. Annual Review of Food Science and Technology. 2018. Vol. 9, no. 1. P. 345–381. URL: <https://doi.org/10.1146/annurev-food-111317-095850>.
3. Effects of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid on plasma membrane fluidity of aortic endothelial cells / M. Hashimoto et al. Lipids. 1999. Vol. 34, no. 12. P. 1297–1304. URL: <https://doi.org/10.1007/s11745-999-0481-6>.
4. Eicosapentaenoic acid reduces membrane fluidity, inhibits cholesterol domain formation, and normalizes bilayer width in atherosclerotic-like model membranes / R. P. Mason et al. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes. 2016. Vol. 1858, no. 12. P. 3131–3140. URL: <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2016.10.002>.
5. Yokoi-Shimizu K., Yanagimoto K., Hayamizu K. Effect of Docosahexaenoic Acid and Eicosapentaenoic Acid Supplementation on Sleep Quality in Healthy Subjects: A Randomized, Double-Blinded, Placebo-Controlled Trial. Nutrients. 2022. Vol. 14, no. 19. P. 4136. URL: <https://doi.org/10.3390/nu14194136>
6. Sharma T., Mandal C. C. Omega-3 fatty acids in pathological calcification and bone health. Journal of Food Biochemistry. 2020. Vol. 44, no. 8. URL: <https://doi.org/10.1111/jfbc.13333>

| | | | | | | | | | | |
|------------------|----------------------|----------------|---------------|-------------|---------------------------------------|--|--|------------|------------|----------------|
| | | | | | ДП ББ12.11.000 ПЗ | | | | | |
| <i>Зм.</i> | <i>Арк.</i> | <i>№ докум</i> | <i>Підпис</i> | <i>Дата</i> | СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ | | | <i>Лім</i> | <i>Арк</i> | <i>Аркушів</i> |
| <i>Розробив</i> | <i>Мацкевич М.В.</i> | | | | | | | | 105 | 125 |
| <i>Конс.</i> | | | | | | | | | | |
| <i>Керівник</i> | <i>Левтун І.І.</i> | | | | | | | | | |
| <i>Затвердив</i> | | | | | | | | | | |
| | | | | | НТУУ “КПІ”, ФБТ | | | | | |

7. Simopoulos A. P. Omega-3 Fatty Acids in Inflammation and Autoimmune Diseases. *Journal of the American College of Nutrition*. 2002. Vol. 21, no. 6. P. 495–505. URL: <https://doi.org/10.1080/07315724.2002.10719248>
8. Gupta J., Gupta R. Nutraceutical Status and Scientific Strategies for Enhancing Production of Omega-3 Fatty Acids from Microalgae and their Role in Healthcare. *Current Pharmaceutical Biotechnology*. 2020. Vol. 21, no. 15. P. 1616–1631. URL: <https://doi.org/10.2174/1389201021666200703201014>
9. Geddes B. A., Oresnik I. J. Physiology, genetics, and biochemistry of carbon metabolism in the alphaproteobacterium *Sinorhizobium meliloti*. *Canadian Journal of Microbiology*. 2014. Vol. 60, no. 8. P. 491–507. URL: <https://doi.org/10.1139/cjm-2014-0306>
10. Xie, D., Miller, E., Tyreus, B., Jackson, E. N., and Zhu, Q. (2016). “Sustainable production of Omega-3 Eicosapentaenoic acid by fermentation of metabolically engineered *Yarrowia lipolytica*” in *Quality living through Chemurgy and Green chemistry*. ed. P. C. K. Lau (Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg), 17–33.
11. Linares C., Lozano J. A., Aguilar D. A., García-Fernández P., Vicente F. Artificial Intelligence in Intensive Care Medicine: Applications, Risks, Ethical and Legal Challenges // *Journal of Clinical Medicine*. – 2023. – Vol. 12, № 22. – P. 6973. – DOI: <https://doi.org/10.3390/jcm12226973>
12. Microalgae as Sustainable Bio-Factories of Healthy Lipids: Evaluating Fatty Acid Content and Antioxidant Activity / T. A. Conde et al. *Marine Drugs*. 2021. Vol. 19, no. 7. P. 357. URL: <https://doi.org/10.3390/md19070357>
13. *Nannochloropsis* species, *N. oceanica* sp. nov. (*Eustigmatophyceae*). *Phycologia* 41, 273-279.

14. Wen, Z.-Y., and Chen, F. (2003). Heterotrophic production of eicosapentaenoic acid by microalgae. *Biotechnol. Adv.* 21, 273–294. doi: 10.1016/S0734-9750(03)00051-X
15. Xu Y. Biochemistry and Biotechnology of Lipid Accumulation in the Microalga *Nannochloropsis oceanica*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2022. URL: <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.2c05309>
16. Suda, S., Atsumi, M., and Miyashita, H. (2002). Taxonomic characterization of a marine
17. Hibberd, D.J. (1981). Notes on the taxonomy and nomenclature of the algal classes *Eustigmatophyceae* and *Tribophyceae* (synonym *Xanthophyceae*). *Botanical Journal of the Linnean Society* 82, 93-119.
18. Pan, K., Qin, J., Li, S., Dai, W., Zhu, B., Jin, Y., Yu, W., et al. (2011). Nuclear monoploidy and asexual propagation of *Nannochloropsis oceanica* (*Eustigmatophyceae*) as revealed by its genome sequence. *Journal of Phycology* 47, 1425-1432.
19. Fawley, M.W., Jameson, I., and Fawley, K.P. (2015). The phylogeny of the genus *Nannochloropsis* (*Monodopsidaceae*, *Eustigmatophyceae*), with descriptions of *N. australis* sp. nov. and *Microchloropsis* gen. nov. *Phycologia* 54, 545-552.
20. Sandnes, J.M., Källqvist, T., Wenner, D., and Gislerød, H.R. (2005). Combined influence of light and temperature on growth rates of *Nannochloropsis oceanica*: linking cellular responses to large-scale biomass production. *Journal of Applied Phycology* 17, 515-525.
21. Ashour, M., Elshobary, M.E., El-Shenody, R., Kamil, A.-W., and Abomohra, A.E.-F. (2019). Evaluation of a native oleaginous marine microalga *Nannochloropsis oceanica* for dual use in biodiesel production and aquaculture feed. *Biomass and Bioenergy* 120, 439-447.

22. Bielewicz, S., Bell, E., Kong, W., Friedberg, I., Priscu, J.C., and Morgan-Kiss, R.M. (2011). Protist diversity in a permanently ice-covered Antarctic Lake during the polar night transition. *The ISME Journal* 5, 1559-1564.
23. Al-Hoqani, U., Young, R., and Purton, S. (2017). The biotechnological potential of *Nannochloropsis*. *Perspectives in Phycology* 4, 1-15.
24. Hamed, I. (2016). The evolution and versatility of microalgal biotechnology: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 15, 1104-1123.
25. Chisti, Y. (2007). Biodiesel from microalgae. *Biotechnology Advances* 25, 294-306.
26. Hulatt, C.J., Wijffels, R.H., Bolla, S., and Kiron, V. (2017). Production of fatty acids and protein by *Nannochloropsis* in flat-plate photobioreactors. *PLOS ONE* 12:e0170440, 1-17.
27. FAO (1996). Manual on the production and use of live food for aquaculture (Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations).
28. Zou, N., Zhang, C., Cohen, Z., and Richmond, A. (2000). Production of cell mass and eicosapentaenoic acid (EPA) in ultrahigh cell density cultures of *Nannochloropsis* sp. (Eustigmatophyceae). *European Journal of Phycology* 35, 127-133.
29. Skrede, A., Mydland, L.T., Ahlstrøm, Ø., Reitan, K.I., Gislerød, H.R., and Øverland, M. (2011). Evaluation of microalgae as sources of digestible nutrients for monogastric animals. *Journal of Animal and Feed Sciences* 20, 131-142.
30. Scholz, M.J., Weiss, T.L., Jinkerson, R.E., Jing, J., Roth, R., Goodenough, U., Posewitz, M.C., et al. (2014). Ultrastructure and composition of the *Nannochloropsis gaditana* cell wall. *Eukaryotic Cell* 13, 1450-1464.
31. Eliáš, M., Amaral, R., Fawley, K.P., Fawley, M.W., Němcová, Y., Neustupa, J., Přibyl, P., et al. (2017). Eustigmatophyceae. In *Handbook of the Protists*, J.M. Archibald, A.G.B. Simpson, C.H. Slamovits, L. Margulis,

- 55.Christenson, L., and Sims, R. (2011). Production and harvesting of microalgae for wastewater treatment, biofuels, and bioproducts. *Biotechnology Advances* 29, 686-702.
- 56.Alhattab, M., Ghaly, A., and Hammoud, A. (2015). Microalgae harvesting methods for industrial production of biodiesel: Critical review and comparative analysis. *Journal of Fundamentals of Renewable Energy and Applications* 5:1000154, 1-26.
- 57.Rawat I., Ranjith Kumar R., Mutanda T., Bux F. Biodiesel from microalgae: A critical evaluation from laboratory to large scale production. *Applied Energy*. 2013. Вып. 103. С. 444–467.
- 58.Raj, T.; Morya, R.; Chandrasekhar, K.; Kumar, D.; Soam, S.; Kumar, R.; Patel, A.K.; Kim, S.H. Microalgae Biomass Deconstruction Using Green Solvents: Challenges and Future Opportunities. *Bioresour. Technol.* 2023, 369, 128429.
- 59.Michalak, I.; Chojnacka, K. Algal Extracts: Technology and Advances. *Eng. Life Sci.* 2014, 14, 581–591.
- 60.Zhao, K.; Zhang, L.; Zhang, M.; Tian, H.; He, D.; Zheng, J. Response Surface Optimization of Enzyme Pretreatment Improves Yield of Ethanol-Extracted Lipids from *Nannochloropsis oceanica*. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 2022, 124, 2100200.
- 61.Jiménez Callejón, M.J.; Robles Medina, A.; Macías Sánchez, M.D.; Esteban Cerdán, L.; González Moreno, P.A.; Navarro López, E.; Hita Peña, E.; Grima, E.M. Obtaining Highly Pure ЕПК-Rich Lipids from Dry and Wet *Nannochloropsis gaditana* Microalgal Biomass Using Ethanol, Hexane and Acetone. *Algal Res.* 2020, 45, 101729.
- 62.Alhattab, M.; Kermanshahi-Pour, A.; Brooks, M.S.L. Microalgae Disruption Techniques for Product Recovery: Influence of Cell Wall Composition. *J. Appl. Phycol.* 2019, 31, 61–88.

63. Kröger, M.; Klemm, M.; Nelles, M. Hydrothermal Disintegration and Extraction of Different Microalgae Species. *Energies* 2018, 11, 450.
64. Guo, H.; Cheng, J.; Mao, Y.; Qian, L.; Yang, W.; Park, J.Y. Synergistic Effect of Ultrasound and Switchable Hydrophilicity Solvent Promotes Microalgal Cell Disruption and Lipid Extraction for Biodiesel Production. *Bioresour. Technol.* 2022, 343, 126087.
65. Gallego, R.; Bueno, M.; Chourio, A.M.; Ibáñez, E.; Saldaña, M.D.A.; Herrero, M. Use of High and Ultra-High Pressure Based-Processes for the Effective Recovery of Bioactive Compounds from *Nannochloropsis oceanica* Microalgae. *J. Supercrit. Fluids* 2021, 167, 105039.
66. Pan, J.; Muppaneni, T.; Sun, Y.; Reddy, H.K.; Fu, J.; Lu, X.; Deng, S. Microwave-Assisted Extraction of Lipids from Microalgae Using an Ionic Liquid Solvent [BMIM][HSO₄]. *Fuel* 2016, 178, 49–55.
67. Mubarak, M.; Shaija, A.; Suchithra, T.V. A Review on the Extraction of Lipid from Microalgae for Biodiesel Production. *Algal Res.* 2015, 7, 117–123.
68. Adam, F.; Abert-Vian, M.; Peltier, G.; Chemat, F. “Solvent-Free” Ultrasound-Assisted Extraction of Lipids from Fresh Microalgae Cells: A Green, Clean and Scalable Process. *Bioresour. Technol.* 2012, 114, 457–465.
69. Herrero, M.; Sánchez-Camargo, A.d.P.; Cifuentes, A.; Ibáñez, E. Plants, Seaweeds, Microalgae and Food by-Products as Natural Sources of Functional Ingredients Obtained Using Pressurized Liquid Extraction and Supercritical Fluid Extraction. *TrAC Trends Anal. Chem.* 2015, 71, 26–38
70. Maffei, G.; Bracciale, M.P.; Broggi, A.; Zuorro, A.; Santarelli, M.L.; Lavecchia, R. Effect of an Enzymatic Treatment with Cellulase and Mannanase on the Structural Properties of *Nannochloropsis* Microalgae. *Bioresour. Technol.* 2018, 249, 592–598.

- 71.Zuorro, A.; Maffei, G.; Lavecchia, R. Optimization of Enzyme-Assisted Lipid Extraction from *Nannochloropsis* Microalgae. *J. Taiwan Inst. Chem. Eng.* 2016, 67, 106–114.
- 72.Orr, V.C.A.; Rehmann, L. Ionic Liquids for the Fractionation of Microalgae Biomass. *Curr. Opin. Green Sustain. Chem.* 2016, 2, 22–27.
- 73.Bligh, E.; Dyer, W. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.* 1959, 37, 911–917.
- 74.Mehariya, S.; Fratini, F.; Lavecchia, R.; Zuorro, A. Green Extraction of Value-Added Compounds Form Microalgae: A Short Review on Natural Deep Eutectic Solvents (NaDES) and Related Pre-Treatments. *J. Environ. Chem. Eng.* 2021, 9, 105989.
- 75.Cai, C.; Chen, X.; Li, F.; Tan, Z. Three-Phase Partitioning Based on CO₂-Responsive Deep Eutectic Solvents for the Green and Sustainable Extraction of Lipid from *Nannochloropsis* sp. *Sep. Purif. Technol.* 2021, 279, 119685.
- 76.Leone, G.P.; Balducchi, R.; Mehariya, S.; Martino, M.; Larocca, V.; Di Sanzo, G.; Iovine, A.; Casella, P.; Marino, T.; Karatza, D.; et al. Selective Extraction of ω -3 Fatty Acids from *Nannochloropsis* sp. Using Supercritical CO₂ Extraction. *Molecules* 2019, 24, 2406.
- 77.Demirbas, A. (2009). Production of biodiesel from algae oils. *Energ. Source* 31, 163–168. doi:10.1080/15567030701521775
- 78.Ramesh, D. (2013). “Lipid identification and extraction techniques,” in *Biotechnological Applications of Microalgae: Biodiesel and Value-added Products*, ed. F. Bux (Boca Raton, FL: CRC Press), 89–97.
- 79.Boldor, D., Kanitkar, A., Terigar, B. G., Leonardi, C., Lima, M., and Breitenbeck, G. A. (2010). Microwave assisted extraction of biodiesel feedstock from the seeds of invasive Chinese Tallow tree. *Environ. Sci. Technol.* 44, 4019–4025. doi:10.1021/es100143z

80. Johnson, M. B., and Wen, Z. (2009). Production of biodiesel from the microalga *Schizochytrium limacinum* by direct transesterification of algal biomass. *Energy Fuels* 23, 5179–5183. doi:10.1021/ef900704h
81. Ramesh, D. (2013). “Lipid identification and extraction techniques,” in *Biotechnological Applications of Microalgae: Biodiesel and Value-added Products*, ed. F. Bux (Boca Raton, FL: CRC Press), 89–97.
82. Lee, S. J., Yoon, B. D., and Oh, H. M. (1998). Rapid method for the determination of lipid from the green alga *Botryococcus braunii*. *Biotechnol. Tech.* 12, 553–556. doi:10.1023/A:1008811716448
83. Geciova, J., Bury, D., and Jelen, P. (2002). Methods for disruption of microbial cells for potential use in the dairy industry – a review. *Int. Dairy J.* 12, 541–553. doi:10.1016/S0958-6946(02)00038-9
84. Lee, A. K., Lewis, D. M., and Ashman, P. J. (2012). Disruption of microalgal cells for the extraction of lipids for biofuels: processes and specific energy requirements. *Biomass Bioenergy* 46, 89–101. doi:10.1016/j.biombioe.2012.06.034
85. Hopkins, T. R. (1991). “Physical and chemical cell disruption for the recovery of intracellular protein,” in *Purification and Analysis of Recombinant Proteins*, eds R. Seetharam and S. Sharma (New York, NY: Marcel Dekker), 57–84.
86. Chemat, F., Zill, E. H., and Khan, M. K. (2011). Applications of ultrasound in food technology: processing, preservation and extraction. *Ultrason. Sonochem.* 18, 813–835. doi:10.1016/j.ultsonch.2010.11.023
87. Suslick, K. S., and Flannigan, D. J. (2008). Inside a collapsing bubble: sonoluminescence and the conditions during cavitation. *Annu. Rev. Phys. Chem.* 59, 659–683. doi:10.1146/annurev.physchem.59.032607.093739
88. Khanal, S. K., Grewell, D., Sung, S., and Leeuwen, J. (2007). Ultrasound applications in wastewater sludge pretreatment: a review. *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* 37, 277–313. doi:10.1080/10643380600860249

98. Ружинська Л.І. Проектування реакторів біотехнологічних та фармацевтичних виробництв. Навч. посібник/ Укладачі: Л.І. Ружинська, І А Буртна, В.М.Поводзинський, В.Ю. Шибецький – К.: НТУУ «КПІ», 2014 – 130 с.
99. Закон України «Про охорону праці» : [закон від 14.10.1992 № 2694-ХІІ] // Відомості Верховної Ради України. — 1992. — № 49. — Ст. 668. — [Електронний ресурс]. — Режим доступу: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/2694-12>
100. Закон України «Про забезпечення санітарного та епідемічного благополуччя населення» : [закон від 24.02.1994 № 4004-ХІІ] // Відомості Верховної Ради України. — 1994. — № 27. — Ст. 218. — [Електронний ресурс]. — Режим доступу: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/4004-12>
101. НАПБ А.01.001-2014. Правила пожежної безпеки в Україні : наказ МВС України від 30.12.2014 № 1417. — [Електронний ресурс]. — Режим доступу: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z1410-14>
102. НПАОП 0.00-1.28-10. Правила охорони праці під час експлуатації електроустановок : затв. наказом Мінпраці України від 21.01.2010 № 31. — Київ : Мінпраці України, 2010.
103. ДСП 9.9.5.035-2002. Санітарні правила та норми щодо виробництва біологічно активних добавок : затв. постановою Головного державного санітарного лікаря України від 01.08.2002 № 35. — [Електронний ресурс]. — Режим доступу: <https://moz.gov.ua/uploads/5/2634-dsp9950352002.pdf>
104. Наказ Міністерства соціальної політики України від 22.08.2018 № 221 «Про затвердження Типового положення про навчання з питань охорони праці» — [Електронний ресурс]. — Режим доступу: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z1146-18>

| | | | | | | | | | | | |
|-----|------|----------|--------|------|--|--|--|--|--|-------------------|------|
| | | | | | | | | | | ДП ББ12.11.000 ПЗ | Арк. |
| Зм. | Арк. | № докум. | Підпис | Дата | | | | | | | 117 |

105. Наказ Держнаглядохоронпраці України від 26.01.2005 № 15 «Про затвердження Типового положення про порядок проведення навчання і перевірки знань з питань охорони праці» — [Електронний ресурс]. — Режим доступу: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z0231-05>
106. НПАОП 0.00-4.26-96. Типове положення про засоби індивідуального захисту працівників : затв. наказом Держнаглядохоронпраці від 29.10.1996 № 170. — Київ : Держнаглядохоронпраці, 1996.
107. Закон України «Про охорону навколишнього природного середовища» : [закон від 25.06.1991 № 1264-ХІІ] // Відомості Верховної Ради України. — 1991. — № 41. — Ст. 546. — [Електронний ресурс]. — Режим доступу: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/1264-12>
108. Постанова Кабінету Міністрів України від 30.01.2013 № 62 «Про затвердження Порядку проведення навчання з питань охорони праці» — [Електронний ресурс]. — Режим доступу: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/62-2013-п>
109. Наказ Міністерства охорони здоров'я України від 01.10.2012 № 590 «Про затвердження Вимог до розроблення, впровадження та застосування постійно діючих процедур, що базуються на принципах системи аналізу небезпечних факторів та контролю у критичних точках (НАССР)» — [Електронний ресурс]. — Режим доступу: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z0736-12>
110. НПАОП 0.00-4.33-99. Положення про порядок зберігання, обліку і застосування хімічних речовин на підприємствах : затв. наказом Держнаглядохоронпраці України від 10.04.1999 № 63. — Київ, 1999.

111. Наказ Міністерства охорони здоров'я України від 21.05.2007 № 246 «Про затвердження Порядку проведення профілактичних медичних оглядів працівників певних категорій» — [Електронний ресурс]. — Режим доступу: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z0846-07>

| | | | | | | |
|-----|------|----------|--------|------|-------------------|------|
| | | | | | ДП ББ12.11.000 ПЗ | Арк. |
| Зм. | Арк. | № докум. | Підпис | Дата | | 119 |

ДОДАТКИ
ДОДАТОК А

Специфікація обладнання

| Позиція | Позначення | Найменування | К- сть | Маса кг | Примітки |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|-----------------------------------------------|-----------|------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| З-1 | | Повітрозабірник типу АІІ серії 5.903-20 | 1 | | Виробник: «Engineering srl.» Висота : 8000 мм Нержавіюча сталь 12Х18Н10 Т |
| Н-2 | | Повітродувка ROBOX EVOLUTION- DV | 1 | | Нержавіюча сталь 12Х18Н10 Т |
| КП-1.1, КП-2.1, КП-3.1, КП-6.2, КП-25.1, КП-29.3, КП-31.1, КП-32.2, КП-41.3 | РІ | Манометр | 9 | | Манометр загальнотехнічний Модель: ДМ 05100 Призначений для вимірювання надлишкового тиску рідин, газу і пари |
| Ф-3 Ф-7 | | Волокнистий касєтний фільтр ФБВ 200 | 1 | 3,1 | Нержавіюча сталь 12Х18Н10 Т |
| Ф-4 Ф-30 | | Фільтр тонкої очистки типу ХЕПА | 2 | | Збірний |
| Б-5 | | Балон | 1 | | Нержавіюча сталь 12Х18Н10 Т |
| Ф-8 Ф-46 | | Мембранний фільтр | 2 | | Збірний |
| Ф-10 | | Вугільний фільтр | 1 | | моделі Ecosoft FPA 1465 СТ (виробник Ecosoft, Україна) |

| | | | | |
|-----|------|----------|--------|------|
| Зм. | Арк. | № докум. | Підпис | Дата |
|-----|------|----------|--------|------|

ДП ББ12.11.000 ПЗ

Арк.

120

| | | | | | |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|-------------------------------------------------------|----|--|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Д-6 Д-16 Д-19 Д-22 Д-27 Д-34 Д-40 | | Дозуючі пристрої | 7 | | Об'ємно-ваговий дозатор Модель: РН-QT20 Обладнаний конструкцією Quick Change для вибору форми дозуючого інгредієнту Матеріал конструкції : неіржавіюча сталь AISI 316L Виробник: «Сорегіон К-Трон» |
| Р-17 | | Реактор для приготування етанольного розчину сечовини | 1 | | Апарат із плоским днищем, плоскою з'ємною кришкою і мішалкою. Виробник: «САРРЗ» Об'єм: 32 м ³ Робочий тиск: до 0,07 МПа Основний матеріал : Ст3сп, 12Х18Н10Т Густина робочого середовища : до 2000 кг/м ³ , Температура : від -40°С до +350°С |
| КП-17.1, КП-20.2, КП-23.2, КП-29.1, КП-35.2, КП-37.1, КП-41.1, КП-43.1, КП-46.1, КП-49.1, | ЛІ | Концентратомір | 10 | | Марка: LCI-KL50KPK Виробник : СВ «Альтера» Конструктивне виконання: компактне Максимальний тиск : 10 бар |

| | | | | | | | | | |
|-----|------|----------|--------|------|-------------------|--|--|--|------|
| | | | | | | | | | Арк. |
| | | | | | | | | | 121 |
| Зм. | Арк. | № докум. | Підпис | Дата | ДП ББ12.11.000 ПЗ | | | | |

| | | | | | |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|-----------------------------------------------|----|--|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| | | | | | Температура середовища : -10...+140 °С Вимірювальна комірка - РЕЕК |
| К-12 | | Електро-калорифер | 1 | | Нержавіюча сталь 12Х18Н10 Т |
| К-14 | | Кондиціонер | 1 | | Нержавіюча сталь 12Х18Н10 Т |
| КП-12.1, КП-14.1, КП-17.2, КП-20.2, КП-23.2, КП-51.1, КП-25.2, КП-29.2, КП-32.1, КП-35.1, КП-37.2, КП-41.2, КП-43.2, КП-45.2 | ТІ | | 14 | | Термоперетворювач опору Модель: ТСП-1088 Виробник: «Термоприлад» Діапазон температур: -50...+500 °С Захисна арматура : сталь 12Х18Н10Т |
| Р-20 Р-23 | | Реактор для приготування поживного середовища | 2 | | реактор із плоскими кришкою і днищем та мішалками Виробник: ТОВ "ФОРП" Номінальний об'єм : 200 м ³ Коефіцієнт заповнення - 0,8. Маса : 273 кг Тиск : 0,6МПа Матеріал – пластик Допустима температура робочого середовища : до +110 °С |

| | | | | |
|------|------|----------|--------|------|
| | | | | |
| Зм.. | Арк. | № докум. | Підпис | Дата |

ДП ББ12.11.000 ПЗ

Арк.

122

| | | | | | |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|----------------------|----|----|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| КП-23.3, КП-29.4, КП-41.4 | QI | Датчик рН-метра | 3 | | <p>Модель: pH electrode InLab Routine Pro-ISM Виробник: «Mettler Toledo» Комбінований електрод із скляним корпусом, вбудованим датчиком температури, призначений для використання загальних лабораторних задач. Характеризується швидкою дією та хімічною стійкістю. Діапазон вимірів: рН 0-14 Температурний діапазон 0- 100 °С Тип датчика: комбінований електрод</p> |
| Н-11 Н-13 Н-15 Н-18 Н-21 Н-24 Н-26 Н-33 Н-36 Н-38 Н-42 Н-44 Н-45 Н-47 Н-50 | | Насос відцентрований | 15 | | <p>Насос Модель: БГ12-4 Робочий тиск : 50МПа Матеріал : нержавіюча сталь</p> <p>Виробник: ТОВ "ТПК"МАЙСТЕРНЯ ПРИВОДНИХ ТЕХНОЛОГІЙ"</p> |
| К-10 | | Електронагрівач | 1 | | Збірний |
| Ав-25 | | Автоклав ВК-75М | 1 | 80 | Об'єм стерилізаційної камери — 75 дм3 Напруга — 380 В |

| | | | | |
|------|------|----------|--------|------|
| | | | | |
| Зм.. | Арк. | № докум. | Підпис | Дата |

ДП ББ12.11.000 ПЗ

Арк.

123

| | | | | | |
|-------|--|-------------------------|---|--|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| | | | | | Номінальна потужність — 6 кВт Керування напівавтоматичне. |
| Ф-30 | | Фільтр стерилізуючий | 1 | | НЕРА-фільтр для фінішної очистки повітря класу Н14 Виробник: «Remark- Kaysen» Лінійна швидкість : 1,5 м/с Продуктивність : 5400 м ³ /год*м ² Мінімальна ефективність : 99,995% |
| ФР-29 | | Фотобіореактор | 1 | | Трубчатий фотобіореактор змінного об'єму виготовлений на замовлення компанією GRUF НВ, Чехія. |
| Л-28 | | Світлодіодна лампа | 1 | | Довжини хвиль в діапазонах 400 – 450 нм |
| ФП-31 | | Фільтр-прес | 1 | | Моделі Hbracol 200 Нержавіюча сталь 12Х18Н10 Т |
| Е-32 | | Прес-екструдер | 1 | | Продуктивність до 200 кг/год |
| Р-35 | | Реактор | 1 | | Реактор цільнозварний з еліптичним днищем та кришкою, суцільною сорочкою. Розрахований для роботи з високим тиском. Марка: СЕон-16 Коефіцієнт заповнення: 0,9 |

| | | | | |
|------|------|----------|--------|------|
| | | | | |
| Зм.. | Арк. | № докум. | Підпис | Дата |

ДП ББ12.11.000 ПЗ

Арк.

124

