

Пояснювальна записка

до дипломного проекту

**на тему: «Розрахунок ферментера для біосинтезу у
виробництві ітаконової кислоти»**

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

Факультет біотехнології і біотехніки

Кафедра біотехніки та інженерії

Рівень вищої освіти – перший (бакалаврський)

Спеціальність – 133 Галузеве машинобудування

Освітньо-професійна програма – “Обладнання фармацевтичних та біотехнологічних виробництв”

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри

_____ В.М. Мельник

(підпис)

(ініціали, прізвище)

«___» _____ 20__ р.

ЗАВДАННЯ

на дипломний проект студенту

Гаврилюку Павлу Івановичу

1. Тема проекту: «Розрахунок ферментера для біосинтезу у виробництві ітаконової кислоти», керівник Мельник Вікторія Миколаївна., затверджені наказом по університету від «___» _____ 2021 р. № _____

2. Термін подання студентом проекту _____

3. Вихідні дані до проекту:

- об'єм ферментера $V = 10 \text{ м}^3$;
- коефіцієнт заповнення ферментера $\varphi = 0,75$;
- температура в ферментері $t_1 = 36^\circ\text{C}$;
- тепловий ефект реакції $\Delta H = 1853,5 \text{ кДж/кг}$;
- час ферментації $\tau = 72 \text{ год}$;
- концентрація ітаконової кислоти в розчині після бродіння $x = 6\% \text{ (мас.)}$;

- температура охолоджуючої води:
початкова $t'_2 = 20^\circ\text{C}$,
кінцева $t''_2 = 22^\circ\text{C}$;
- ферментер обладнано пропелерною мішалкою і барботером, число обертів мішалки $n = 10 \text{ c}^{-1}$;
- витрата повітря на аерацію $V_{\text{п}} = 1000 \text{ м}^3/\text{год}$;
- температура повітря $t_{\text{п}} = 30^\circ\text{C}$.

Теплофізичні властивості робочого середовища брати як для 50% розчину гліцерину.

4. Зміст розрахунково-пояснювальної записки: опис технологічного процесу, призначення та область використання ферментера, технічна характеристика, обґрунтування вибору обраної конструкції, розрахунки, що підтверджують працездатність та надійність конструкції, рекомендації з монтажу та експлуатації, рекомендації з охорони праці, патентний пошук, висновки, перелік посилань на літературу, додатки.

5. Перелік графічного матеріалу: апаратурно-технологічна схема лінії виробництва ітаконової кислоти (A1); Складальні креслення: ферментер з механічним перемішуючим пристроєм та барботером(A1); Кришка(A2), Мішалка(A2)

Опора (A2); Фланець (A3); Штуцер (A3).

6. Дата видачі завдання «___» _____ 2021 р.

Календарний план

№ з/п	Назва етапів виконання дипломного проекту	Строк виконання етапів проекту	Примітка
1	Опис технологічного процесу виробництва ітаконоіої кислоти	16.02.21- 29.02.21	
2	Апаратурно-технологічна схема лінії виробництва ітаконоіої кислоти	18.02.21- 04.02.21	
3	Опис та обґрунтування обраної конструкції	19.02.21- 02.02.21	
4	Патентний пошук	20.02.21- 01.02.21	
5	Розрахунки, що підтверджують працездатність та надійність конструкції	25.02.21- 03.02.21	
6	Рекомендації з охорони праці; рекомендації з монтажу та експлуатації.	28.02.21- 06.02.21	
7	Складальне креслення теплообмінника типу труба в трубі.	30.02.21 - 7.02.21	
8	Оформлення ПЗ	01.02.21- 10.02.21	

Студент

(підпис)

Гаврилюк П. І.

Керівник проекту

(підпис)

Мельник В. М.

Реферат

Дипломний проект на здобуття ступеня «бакалавр» за спеціальністю 133 - Галузеве машинобудування, на тему: «Розрахунок ферментера для біосинтезу у виробництві ітаконової кислоти».

Об'єм дипломного проекту складає 69 сторінок пояснювальної записка та 4 аркуші креслень на перерахунок формату А1 та А3. Пояснювальна записка містить: 5 рисунки, 4 таблиці, перелік посилань складається з 32 літературних джерел.

В дипломному проекті розглянуто лінію для отримання ітаконової кислоти, здійснено розробку ферментеру з механічним перемішуючим пристроєм та барботером, виконано розрахунки, що підтверджують працездатність, надійність апарату та можливість реалізації інженерних рішень.

Перевагами ферментера, є легкість його збірки та обслуговування, очищення та експлуатації. Вони є одним з найбільш надійних, довговічних і високоефективних агрегатів.

Розрахунки та креслення виконані згідно чинних стандартів, з використанням сучасних системних та інформаційних технологій.

Ключові слова: ферментер, ітаконова кислота, перемішуючий пристрій, барботер .

Abstract

Diploma project for the degree of "bachelor" in the specialty 133 - Industrial Engineering, on the topic: "Calculation of the fermenter for biosynthesis in the production of itaconic acid."

The volume of the diploma project is 69 pages of explanatory note and 4 sheets of drawings for recalculation of A1 and A3 format. The explanatory note contains: 5 figures, 4 tables, the list of references consists of 32 references.

The diploma project considers the line for obtaining itaconic acid, developed a fermenter with a mechanical stirring device and a bubbler, performed calculations confirming the efficiency, reliability of the device and the possibility of implementing engineering solutions.

The advantages of the fermenter are its ease of assembly and maintenance, cleaning and operation. They are one of the most reliable, durable and highly efficient units.

Calculations and drawings are made according to current standards, using modern system and information technologies.

Key words: fermenter, itaconic acid, mixing device, bubbler.

ЗМІСТ

Перелік умовних позначень та скорочень	7
ВСТУП	10
1.ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОГО ПРОЦЕСУ ТА ХАРАКТЕРИСТИКА КІНЦЕВОГО ПРОДУКТУ	11
1.1. Характеристика кінцевого продукту	11
1.2. Опис технологічного процесу	14
2.ОПИС ТА ОБГРУНТУВАННЯ ОБРАНОЇ КОНСТРУКЦІЇ	24
3. ФЕРМЕНТЕРИ - АНАЛІЗ ТА УПРАВЛІННЯ РИЗИКАМИ	31
3.1. Ризики, пов'язані з процесами ферментації	32
3.2 Мийка ферментера	34
3.3. Стерилізація живильного середовища в ферментері	35
3.4. Втрата управління процесом культивування	37
3.5. Нестача кисню	37
3.6. Перегрів культури	39
4. ТЕХНІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ФЕРМЕНТЕРА	40
5. РОЗРАХУНКИ, ЩО ПІДТВЕРДЖУЮТЬ ПРАЦЕЗДАТНІСТЬ ТА НАДІЙНІСТЬ КОНСТРУКЦІЇ	41
5.1. Визначення теплофізичних властивостей середовища	41
5.2. Конструктивний розрахунок	42
5.3 Розрахунок механічного перемішуючого пристрою	43
5.4. Розрахунок потужності, що витрачається на перемішування	45
5.5. Тепловий розрахунок	46
6. ОХОРОНА ПРАЦІ	53
6.1 Вимоги щодо створення безпечних умов праці на робочих місцях	53
6.2 Вимоги безпеки праці	54
6.3 Вимоги безпеки до працівників компанії	55
6.4. Заходи щодо електробезпеки	55
6.5 Пожежна безпека	56

7 РЕКОМЕНДАЦІЇ ЩО ДО МОНТАЖУ ТА ЕКСПЛУАТАЦІЇ ФЕРМЕНЕТЕРУ	58
7.1 Підготовка до роботи, технічне обслуговування	58
7.2 Монтаж ферментеру	60
7.3 Ремонт ферментеру.....	62
ВИСНОВОК	65
ПЕРЕЛІК ПОСИЛАНЬ	66

Перелік умовних позначень та скорочень

G – масова витрата, $\text{кг}/\text{с}$;

ρ – густина, $\text{кг}/\text{м}^3$;

λ – коефіцієнт теплопровідності, $\text{Вт}/\text{мК}$;

c – теплоємність, $\text{Дж}/\text{кгК}$;

ν – коефіцієнт кінетичної в'язкості, $\text{м}^2/\text{с}$;

μ – коефіцієнт динамічної в'язкості, $\text{Па}\cdot\text{с}$;

V – об'ємна витрата, $\text{м}^3/\text{с}$;

k – коефіцієнт теплопередачі, $\text{Вт}/\text{м}^2\text{К}$;

α – коефіцієнт тепловіддачі, $\text{Вт}/\text{м}^2\text{К}$;

δ – товщина стінки труби, м ;

r – термічний опір забруднень, $\text{Вт}/\text{м}^2\text{К}$;

$d_{\text{екв}}$ – еквівалентний діаметр, м ;

$d_{\text{вн}}^3$ – внутрішній діаметр кожухової труби, м ;

$d_{\text{зов}}^3$ – зовнішній діаметр кожухової труби, м ;

$d_{\text{вн}}^6$ – внутрішній діаметр теплообмінної труби, м ;

$d_{\text{зов}}^6$ – зовнішній діаметр теплообмінної труби, м ;

Re – критерій Рейнольдса;

Nu – критерій Нусельта;

Pr – критерій Прандтля;

q – поверхнева густина теплового потоку, $Вт/м^2$;

Δp – перепад тиску в апараті, $Па$;

η – коефіцієнт корисної дії;

l – довжина труби, $м$;

ξ – коефіцієнт місцевого опору;

ω – швидкість руху рідини, $м/с$;

N – потужність привода насоса, $Вт$;

n_y – границя стійкості;

φ – коефіцієнт міцності зварних швів;

D_n – зовнішній діаметр фланця, $м$;

D_6 – діаметр болтової окружності, $м$;

d_6 – діаметр болта, $м$;

l_6 – довжина болта, $м$;

u_1 – нормативний зазор, $м$;

k_{np} – прокладочний коефіцієнт;

a – конструктивний додаток до розміру болтів, $м$;

h_n – товщина прокладки, $м$;

b – ширина прокладки, $м$;

k_n – коефіцієнт обтискання прокладки;

E – модуль пружності, $МПа$;

f_6 – площа поперечного перерізу болта, $м^2$;

ν, ψ_1, ψ_2 – конструктивні коефіцієнти;

α_ϕ – коефіцієнт об'ємного розширення фланця, $^{\circ}\text{C}^{-1}$;

α_b – коефіцієнт об'ємного розширення болтів, $^{\circ}\text{C}^{-1}$;

q – зусилля герметизації, МПа ;

$[\sigma]$ – граничне напруження, МПа ;

$[P]$ – допустимий тиск, МПа ;

y_ϕ – піддатливість фланця, $1/(\text{ммН})$;

y_b – піддатливість болтів, $\text{мм}/\text{Н}$;

y_c – піддатливість вільного кільця, $1/(\text{ммН})$;

$[\theta]$ – граничний кут повороту, рад .

Re – критерій Рейнольдса;

Gr – критерій Грасгофа;

Pr – критерій Прандтля;

E – параметр гідравлічного опору;

S – товщина стінки, $[\text{мм}]$;

s – прибавка до розрахункової товщини стінки, $[\text{мм}]$;

D_z – зовнішній діаметр фланця, $[\text{мм}]$;

θ – кут повороту фланця, $[\text{рад}]$;

$[\sigma]$ – допустиме напруження матеріалу, $[\text{МПа}]$.

ВСТУП

Ітаконова кислота широко застосовується як кополімер для карбоксилатних каучуків, у виробництві карбоксильного стирол-бутадієну латексу, для виробництва пластику, для виробництва високоміцного скла, при виробництві адгезійних і фарбувальних агентів, при виробництві карбоксильної акрилової смоли. В органічному синтезі використовується в реакціях гетероциклізації для одержання піролідонів, бутиролактона, метилбутандіола, детергентів, гербіцидів тощо.[1]

Промислове виробництво органічних кислот являє собою складний комплекс взаємопов'язаних фізичних, біофізичних, біохімічних, хімічних, фізико-хімічних процесів і дозволяє застосування багатьох типів апаратури, яке пов'язане між собою матеріальними, енергетичними потоками, створюючими технологічні лінії.

Для розробки вибраного ферментера потрібно було провести конструктивний розрахунок, метою якого є визначити основні розміри біореактора і його основних елементів, також розрахувати потужність що йде на перемішування. Мета теплового розрахунку полягала у визначенні поверхні теплообміну теплообмінних пристроїв апарату.

Розрахований апарат має задовольняти всім вимогам проведення процесу та техніки безпеки, бути герметичним, надійним та зручним в експлуатації.

1. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОГО ПРОЦЕСУ ТА ХАРАКТЕРИСТИКА КІНЦЕВОГО ПРОДУКТУ

1.1. Характеристика кінцевого продукту

Ітаконова кислота - це ненасичена дикарбонова кислота, яка має високий потенціал як біохімічний будівельний матеріал, оскільки її можна використовувати в якості мономеру для виробництва безлічі продуктів, включаючи смоли, пластмаси, фарби та синтетичні волокна.

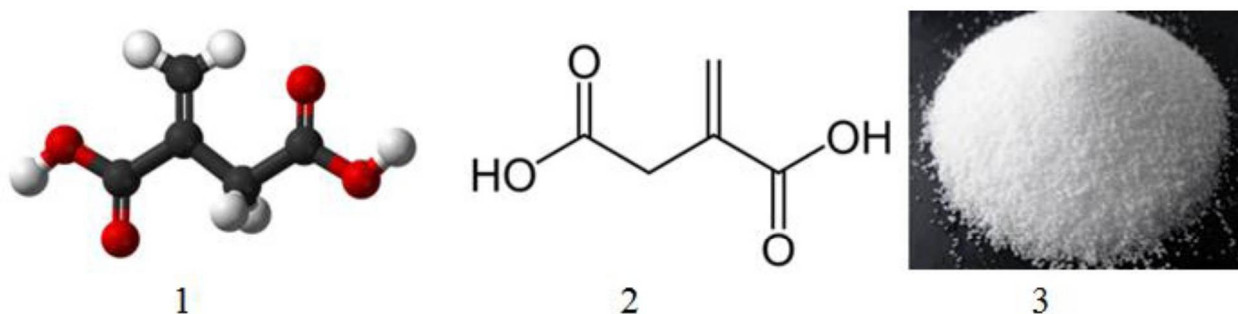


Рис.1. 3D-модель (1), графічна формула (2) та фізичний вигляд (3) ітаконової кислоти

Деякі види *Aspergillus*, такі як *A. itaconicus* та *A. terreus*, виявляють здатність синтезувати цю органічну кислоту, і *A. terreus* може виділяти значну кількість середовища (> 80 г / л). Однак у порівнянні з процесом виробництва лимонної кислоти (титри > 200 г / л) досягнуті титри все ще низькі, а загальний процес є дорогим, оскільки очищені субстрати потрібні для оптимальної продуктивності. Ітаконат утворюється внаслідок ферментативної активності цис-аконітатдекарбоксилази (CadA), кодованої геном *cadA* у *A. terreus*. Клонування гена *cadA* в лимонну кислоту, що продукує гриб *A. niger*, показало, що можна виробляти ітаконову кислоту також в іншому організмі господаря. Цей огляд опише сучасний стан та останні досягнення у розумінні молекулярних процесів, що ведуть до біотехнологічного виробництва ітаконової кислоти.

Ітаконова кислота має широкий спектр застосування у промисловому виробництві смол і застосовується як будівельний матеріал для акрилових пластмас, акрилатних латексів, суперпоглинаючих речовин та засобів проти накипу. Починаючи з 1960-х років виробництво ітаконової кислоти досягається ферментацією *Aspergillus terreus* на цукровмісних середовищах (Willke та Vorlop, 2001). З 1990-х років ітаконова кислота як поновлюваний матеріал викликає великий інтерес. Хоча виробничі витрати на ітаконову кислоту зменшуються в останні роки (4 долари за кг у 2001 році; Willke та Vorlop, 2001), він все ще є цінним продуктом із розрахунковою ціною 2 долари за кг. В даний час очікується, що світові виробничі потужності ітаконової кислоти становитимуть близько 50 тис. Т на рік, при цьому потребуватимуть близько 30 тис. Т (Shaw, 2013, Itaconix Corporation, особисте спілкування). Особливо для виробництва полімерів це представляє інтерес, оскільки в майбутньому він може функціонувати як заміник акрилової та метакрилової кислот, що використовуються для виробництва пластмас (Okabe et al., 2009). Однак для цих застосувань потрібна ще нижча ціна вихідного матеріалу. Сучасні знання про біотехнологічне виробництво ітаконової кислоти нещодавно були переглянуті (Willke and Vorlop, 2001; Okabe et al., 2009). Останній огляд охоплює промислове виробництво ітаконової кислоти та застосування цього продукту. [1]

Ітаконовою (метіленянтарная) кислота - ненасичена двухосновна кислота. Вона може бути отримана хімічним шляхом з лимонною або аконітовою кислотою. Крім того, ітаконовою кислота є продуктом метаболізму деяких видів грибів роду *Aspergillus* і деяких інших. Отримання ітаконової кислоти мікробіологічними способами на підставі використання *A. terreus* було налагоджено в США, Японії і СРСР. Перша згадка про вітчизняне виробництво ітаконової кислоти зустрічається в доступній науково-технічній літературі в 1963 році. Удосконалення технології мікробіологічного синтезу ітаконової кислоти в СРСР розвивалося паралельно з подібним процесом отримання лимонної кислоти. Як лимонна, так і ітаконовою кислоти проводилися методами поверхневого і

глибинного культивування на середовищах з високою концентрацією цукру в умовах обмеження зростання грибам і неральними компонентами середовища (зазвичай залізом і фосфором), при низькому рН середовища і достатнє забезпечення киснем. Багаторічна вдосконалення штамів мікроорганізмів продуцентів ітаконовою кислоти, а також технології проведення ферментації і виділення продукту дозволили досягти наступних виробничих показників: концентрація кислоти в кінці процесу ферментації - до 70 г / л, вихід ітаконовою кислоти від кількості використаного цукру - 60%, залишкова концентрація цукру - 0,1-0,5% мас.

Сучасний обсяг світового ринку ітаконовою кислоти становить близько 80 000 тон на рік при ціні 2-2,5 долара за кілограм, основною сировиною для виробництва є м'яса та значно рідше гідролізати деревини. Зниження вартості ітаконовою кислоти може бути досягнуто за рахунок переходу на більш дешеве рослинне целюлозовмістні сировину, а також об'єднання стадії гідролізу і ферментації в рамках однієї технологічної операції.

В даний час в світі існує тенденції розвитку інтегрованої схеми процесу ферментативного гідролізу-ферментації целюлозної сировини (Simultaneous saccharification and fermentation - SSF) яка отримала найбільший розвиток при виробництві біоетанолу; також SSF схема забезпечує ефективний синтез молочної, оцтової, лимонної і бурштинової кислот. Однак до сих пір жоден процес по SSF схемі не був розроблений для ітаконовою кислоти. Практичне використання полімерів ітаконовою кислоти почалося тільки в середині минулого століття. Полімери на основі похідних ітаконовою кислоти знайшли застосування у виробництві синтетичних волокон, добавок до палива, жорстких пластмас, захисних покриттів і багатьох інших продуктах. У літературі можна зустріти докладний опис механізмів гомополімеризації ітаконовою кислоти, методики полімеризації ітаконового ангідриду, моно- і діалкілових ефірів і амідів ітаконової кислоти. У ряді робіт детально розглянуті механізми радикальної і іонної полімеризації ітаконовою кислоти, наводяться дані про те, що аніонні ініціатори здебільшого викликають ізомеризацію реагентів і

непридатні для використання. Радикальний механізм ж, навпаки, дозволяє отримувати полімери з високими значеннями молекулярних мас як в блоці, так і в інертних розчинниках.

У літературі наводиться достатня кількість відомостей про безліч полімерів, отриманих при полімеризації і кополімеризації похідних ітаконовою кислоти, наводяться дані про їх різні властивості. Однак, процес полімеризації вільної ітаконовою кислоти часто буває утруднений і не дозволяє отримувати полімери з великою молекулярною вагою. Це дозволило зробити висновок про те, що дослідження варто проводити не тільки в напрямку зниження вартості сировини, але і в напрямку оптимізації схеми отримання соєвого молока ітаконовою кислоти.

1.2. Опис технологічного процесу

Технологічна схема отримання ітаконової кислоти глибинним способом представлена на рисунку 2.

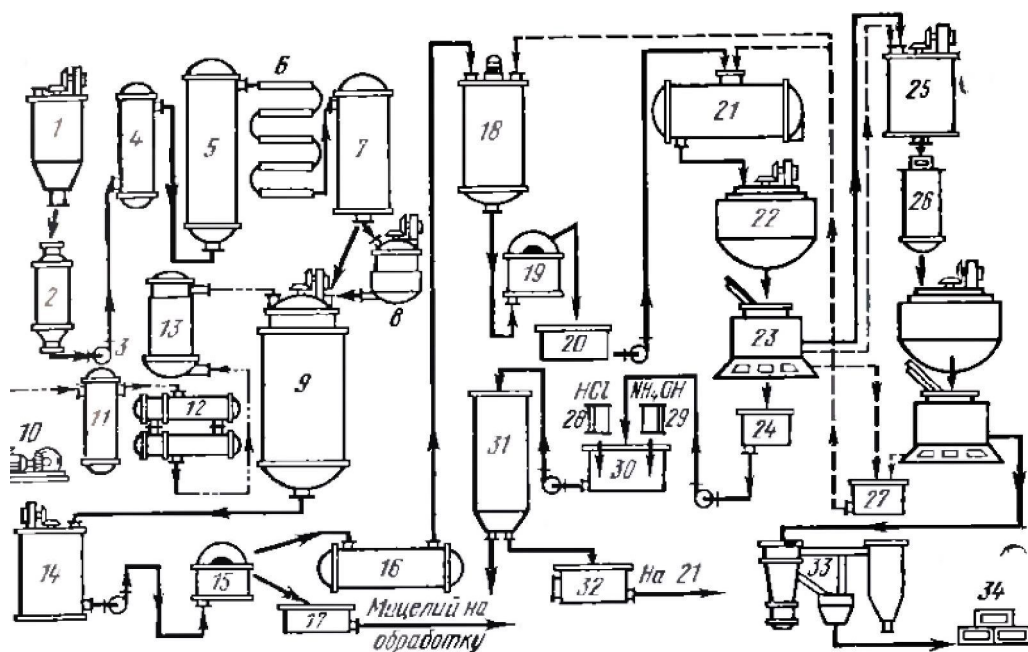


Рис. 2. Технологічна схема отримання ітаконової кислоти глибинним способом: 1-змішувач; 2 - сітчастий фільтр; 3 - центробіжний насос; 4 - стерилізаційна колонка; 5 - витримувач; 6 - охолоджувач; 7 - збірник; 8 - інокулятор; 9 -виробничий ферментер; 10 - компресор; 12 - холодильник; 13 - фільтр; 14 - збірник; 15 - барабанний вакуум-фільтр; 16 - збірник; 17 - збірник міцелію; 18 - збірник-освітлювач; 19 - барабанний вакуум-фільтр; 20

- збірник розчинів; 21 - вакуум-випарний апарат; 22 - кристалізатор; 23 - центрифуга; 24 - збірник фільтрату; 25 - розчинник кристалів; 26 - друк-фільтр; 27 - збірник вихідного розчину; 28 - мірник соляної кислоти; 29 - мірник розчину аміаку; 30 - реактор-змішувач; 31 - аніонітовий фільтр; 32 - збірник розчину; 33 - сушарка; 34 - збірник готової продукції.

Їсіношіта (1932) визнав, що ниткоподібний гриб здатний продукувати ітаконову шлоту, і, отже, описав цей вид як *A. itaconicus*. Біосинтез ітаконової кислоти грибалий час гостро обговорювались, оскільки не було зрозуміло, чи виникає таконова кислота через шлях, що включає частини циклу трикарбонової кислоти ТСА), або альтернативний шлях через цитрамалат або конденсацію ацетил-КоА.

Бентлі та Тіссен (Bentley and Thiessen, 1957a) запропонували шлях біосинтезу ітаконової кислоти, який зображений на малюнку 1. Починаючи з цукрового субстрату, такого як глюкоза, молекули вуглецю переробляються шляхом гліколізу до пірувату. Потім шлях розщеплюється і частина вуглецю метаболізується до ацетил-КоА, виділяючи молекулу вуглекислого газу. Інша частина перетворюється в оксалоацетат, так що раніше виділена молекула вуглекислого газу знову включається. На перших етапах циклу лимонної кислоти утворюються цитрат і цис-аконітат. На останньому етапі, єдиним спеціальним етапом шляху ітаконової кислоти, цис-аконітатдекарбоксилаза (CadA) утворює ітаконову кислоту, що виділяє вуглекислий газ. Цей шлях був підтверджений експериментами-маркерами з міченими ^{14}C і ^{13}C субстратами (Bentley and Thiessen, 1957a; Winskill, 1983; Bonnarne et al., 1995), а також

изначено необхідну ферментативну активність (Jaklitsch et al., 1991).

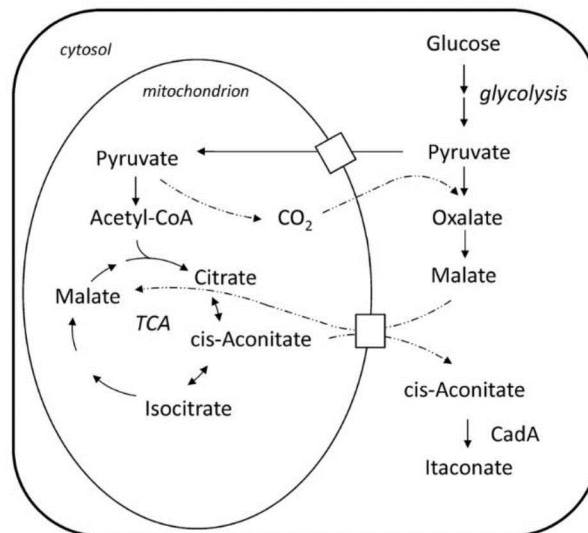


Рис 1.3 Шлях біосинтезу ітаконату та його компартменталізація між цитозолем та мітохондрією в клітині *A. terreus*; Примітка: цис-аконітатний транспорт є спекулятивним.

Утворення карбонових кислот, як лимонна та ітаконова кислота, передбачає переміщення проміжних метаболітів між різними внутрішньоклітинними компартментами та використовує різні ферментативні можливості відповідного компартменту. У випадку з ітаконовою кислотою компартменталізацію шляху аналізували за допомогою фракціонованих клітинних екстрактів, що відрізняють ферментативну активність мітохондріального та цитозольного ферментів. Було встановлено, що ключовий фермент шляху, CadA, знаходиться не в мітохондріях, а в цитозолі (Jaklitsch et al., 1991), тоді як ферменти, що передують цьому шляху, а саме цитрат синтаза та аконітаза, мітохондрії. Однак у цитозольній фракції також виявляється залишковий рівень активності аконітази та цитрат-синтази. Запропонований механізм полягає в тому, що цис-аконітат транспортується через антилатор малат-цитрат у (Jaklitsch et al., 1991), Однак до цих пір не було показано, чи використовує цис-аконітат мітохондріальний малатор-цитратний антипортер, чи використовує інший білок- носій мітохондрій для транслокації в цитозоль.

Окрім *A. terreus*, ітаконову кислоту виробляють також інші гриби, такі як *U. zeae* (Haskins et al., 1955), *U. maydis* (Haskins et al., 1955; Klement et al., 2012), *Candida* sp. . (Tabuchi et al., 1981) та *Rhodotorula* sp. (Kawamura et al., 1981). Подальших досліджень щодо основних принципів реакції, що ведуть до утворення ітаконової кислоти у цих видів, не існує. Однак останні дані (Strelko et al., 2011; Voll et al., 2012) вказують на те, що активність CadA становить загальний шлях до утворення ітаконової кислоти в природі. Зовсім недавно ітаконову кислоту виявили в клітинах ссавців, де вона була знайдена в клітинах, похідних макрофагів (Strelko et al., 2011). Ці клітини також мають активність CadA і мають здатність *de novo* утворювати ітаконову кислоту. Але дотепер у клітинах ссавців не було виявлено конкретного гена, що кодує цю ферментативну активність.

Однак фізіологічна роль ітаконової кислоти в клітинах ссавців досі невідома. Стрілко та ін. (2011) припускають роль ітаконової кислоти як інгібітора метаболічних шляхів, оскільки її описують як ферментативний інгібітор. З одного боку, ітаконова кислота, як відомо, інгібує ізоцитрат-ліазу (Williams et al., 1971; McFadden and Purohit, 1977), яка є вирішальною частиною гліюксилатного шунту, і, отже, може діяти як антибактеріальний засіб. З іншого боку, ітаконова кислота може інгібувати фруктозо-6-фосфат 2-кіназу (Sakai et al., 2004) і таким чином мати прямий вплив на центральний метаболізм вуглецю. У щурів було показано, що ітаконатна діста призводить до зменшення накопичення вісцерального жиру через пригнічений гліколітичний потік (Sakai et al., 2004).

Рівні ітаконової кислоти, які були досягнуті з *A. terreus*, в даний час обмежені приблизно 85 г / л. Хоча це вже значна кількість, її не можна порівняти з виробництвом лимонної кислоти, де титри понад 200 г / л стабільно отримують у промислових процесах. При переведенні на виробництво ітаконової кислоти повинен бути досягнутий максимальний теоретичний титр близько 240 г / л (Li et al., 2011). Цієї мети можна досягти шляхом подальшого розведення нині

У *A. terreus* показано, що ген впливає на продуктивність виробництва ітаконової кислоти, яка є ключовим ферментом гліколізу. Відомо, що 6-фосфофрукто-1-кіназа інгібується цитратом та аденозинтрифосфатом (АТФ). Однак було показано, що усічена версія гена *pfkA* *A. niger* демонструє більш високий вихід лимонної кислоти завдяки зменшенню інгібування цитратом та АТФ (Capuder et al., 2009). Ця урізана версія *pfkA* також мала позитивний вплив на накопичення ітаконової кислоти, коли вона виражена в *A. terreus* (Tevz et al., 2010). Інший інженерний підхід стосується внутрішньоклітинного постачання кисню. Виробництво ітаконової кислоти вимагає постійної аерації, і вже коротке переривання кисню зменшує вихід ітаконової кислоти. З метою зниження чутливості до кисню в *A. terreus* експресували ген гемоглобіну від *Vitreoscilla*. Дійсно, експресія цього гена призводить до збільшення виробництва ітаконової кислоти. Крім того, штами демонстрували краще відновлення після припинення аерації (Bin et al., 2004).

Існує ймовірність того, що генетичний склад *A. terreus* недостатньо ефективний для підтримки виробництва вищих титрів органічних кислот. Отже, стратегія полягає в генетичній інженерії шляху біосинтезу ітаконової кислоти в інший організм-хазяїн, який вже відомий як підтримка виробництва високих титрів органічних кислот. Як уже зазначалося, *A. niger* є таким кандидатом. Унікальним і вирішальним етапом на шляху біосинтезу є декарбоксилювання цис-аконітової кислоти до ітаконової кислоти. Коли ген *cadA* (Kanamasa et al., 2008) був охарактеризований у *A. terreus*, стала можливою генна інженерія шляху до іншого організму. Лі та ін. (2011) експресували ген *A. terreus cadA* у штамі *A. niger* AB 1.13. Для цього ген *cadA* був поміщений під контроль промотора *gpdA* *A. niger*, що забезпечує сильну та конститутивну експресію. Штам *A. niger*, який експресує лише ген *cadA*, має здатність виробляти приблизно 0,7 г / л ітаконової кислоти. Цей рівень не порівнянний із поточними штамми виробництва *A. terreus*, але є перспективною відправною точкою для подальших інженерних етапів. Подальші спроби підвищити врожайність полягають у експресії генів, як

згаданий вище мітохондріальний білок-носій, разом з геном *cadA* (Jore et al., 2011; van der Straat et al., 2012).

Ітаконова кислота як поновлювана органічна кислота викликає зростаючий інтерес для хімічної промисловості через її потенціал замінити продукти на основі сирої нафти, такі як акрилова кислота. Дотепер процеси на основі мікроорганізмів вдосконалювались шляхом класичного розведення штамів та оптимізації стратегій та умов бродіння. Особливо були розширені знання про біотехнологічний процес, включаючи подачу кисню, композиції середовищ та різні системи біореакторів (Kuenz et al., 2012). Щодо складу середовища, було встановлено, що іони міді позитивно впливають на виробництво ітаконової кислоти в генно-інженерному штамі *A. niger* (Li et al., 2012). Однак незрозуміло, які біохімічні реакції відповідають або залучені до такого ефекту. Як уже зазначалося вище, біохімічні реакції та вплив ітаконової кислоти на виробничі хазяї не описані повністю. Шлях катаболізації ітаконової кислоти вимагає подальших досліджень для того, щоб спроектувати виробничий господар з відключеним шляхом розкладання. Вплив ітаконової кислоти на інші метаболічні шляхи також представляє інтерес, оскільки розуміння її фізіологічної ролі може запобігти небажаним побічним ефектам (токсичність, ризик для здоров'я, гальмування шляху) та підвищити безпеку її використання. Крім того, це може бути цікавою мішенню для медичних досліджень, оскільки в клітинах ссавців він був виявлений у метастатичній лінії пухлинних клітин (Strelko et al., 2011). Подальші знання про його роль як інгібітора ферменту можуть допомогти виробити менш стійкі різновиди ферментів, як у випадку з фосфофруктокіназою 2. Ще однією метою для подальшої інженерії є фермент *CadA*, який описується як нестабільний білок. Подовження стабільності *in vivo* може допомогти підвищити ефективність існуючих виробничих потужностей. Також генетична регуляція шляху ітаконової кислоти у *A. terreus* вимагає глибокого аналізу. Лі та ін. (2011) показали, що гени, що беруть участь у шляху біосинтезу (*cadA*), можна ідентифікувати за допомогою транскриптомних

підходів. Однак поки що нічого не відомо про регуляторні механізми, що ведуть до експресії цих генів.

Дослідження молекулярних принципів синтезу ітаконової кислоти показали, що цис-аконітова кислота-декарбоксилаза є спеціальним етапом її біосинтезу у *A. terreus*. Генна інженерія цієї ферментативної стадії також надає іншим мікробним хазяїнам, таким як *A. niger*, виробників ітаконової кислоти.

Ітаконову кислоту, як уже було зазначено, можуть синтезувати деякі штами мікроспопічних грибів роду *Aspergillus* (*Asp. Terreus*, *Asp. Itaconicus*), що вирощуються глибинним або поверхневим способами на поживних середовищах, які містять сахарозу (у вигляді меляси) і навіть продукти гідролізу деревини. Виробництво ітаконової кислоти включає наступні основні технологічні стадії: отримання посівного матеріалу, культивування продуцента глибинним способом, виділення ітаконової кислоти. [3]

Для виробництва ітаконової кислоти глибинним способом використовують відселекціонований штам *Asp. terreus*. Посівний матеріал розмножується в пробірках з агаризованим середовищем (сусло-агар), а потім в колбах на рідкому поживному середовищі. Тривалість кожної стадії складає 2-6 діб, оптимальна температура культивування 30-32 ° С. Отримання ітаконою кислоти здійснюють поверхневим і глибинним методами ферментації. Як продуцентів використовують відселектований гриби штами (*Aspergillus itaconicus*, *Asp. Terreus*).

Процес аналогічний процесам отримання лимонної кислоти. Середовища містять високі концентрації цукрів, зазвичай використовують мелясу, прідефіците фосфору і заліза. Особливістю процесу отримання даної кислоти є висока потреба продуцента в солях цинку, магнію і міді. При поверхневій ферментації протягом 10-12 діб утворюється близько 60% продукту в перерахунку на цукор, частка цільової кислоти в суміші (синтезуються також бурштинова, щавлева і фумарова кислоти) - понад 90%. Зміст ітаконою

кислоти досягає 15-20%, залишкова концентрація цукрів не перевищує 0.6%. На відміну від лимонної, ітаконовою кислота - токсичний продукт, при її концентрації близько 7% зростання продуцента пригнічується, і швидкість продукції кислоти знижується. Токсичність ітаконовою кислоти нейтралізують дробовими добавками гідроксіаммонія, рН середовища при цьому стабілізується на рівні 3.5-3.8. При глибинної ферментації кінцева концентрація ітаконовою кислоти нижче, 4-6%. Товарний продукт - кристалічна ітаконовою кислота 92% змісту, решта - волога (3-6%) і інші кислоти (1-3%).

При отриманні ітаконової кислоти глибинним способом культивування продуцента для росту міцелію і на стадії виробничої ферментації може бути використане середовище однакового складу, але з різною концентрацією компонентів, що входять до його складу (табл. 1).

В апарат для приготування поживного середовища завантажують половину потрібної води, вмикають мішалку, поступово додають соєве борошно так, щоб не утворювались грудки, суміш нагрівають до 90⁰С, витримують при цій температурі 30 хв, додають інші компоненти, перемішують суміш до однорідної маси, додають решту води, вимикають мішалку. Приготовану суміш перепускають через лінію УНС у підготовлений ферментер. Поживне середовище для росту міцелію доцільно засівати попередньо (за 10 -12 год) замоченими в середовищі конідіями з розрахунку 0,75 г конідій на 1м³ середовища. [4]

Таблиця 1 – Склад середовищ для культивування

Компонент середовища	Для росту міцелію, г/л	Для виробничого культивування, г/л
Сахароза	60	60-70
MgSO ₄ ·H ₂ O	6,0	2,0
(NH ₄) ₂ SO ₄	2,7	2,7

Кукурудзяний екстракт	5,5	1,6
pH(HNO ₃ чи H ₂ SO ₄)	2,7-2,9	2,1-2,3
Меляса	60-70	180-200
NaNO ₃	1,0-2,0	1,0-1,5
pH(HNO ₃ чи H ₂ SO ₄)	6,0-7,0	4,5-5,0
Цукор-сирець (тростинний)	60	60
MgSO ₄ ·7H ₂ O	4,0	1,0-3,0
(NH ₄) ₂ SO ₄	3,0	3,0
Кукурудзяний екстракт	1,0	0,5
pH(HNO ₃ чи H ₂ SO ₄)	2,1-2,2	2,0-2,1
(C ₆ H ₁₂ O ₆) ₇ ·NaCl·H ₂ O	70	70
MgSO ₄ ·7H ₂ O	4,0	4,0
(NH ₄) ₂ SO ₄	4,0	4,0
Кукурудзяний екстракт	5,0	1,5
pH(HNO ₃ чи H ₂ SO ₄)	4,6-4,8	4,8-5,0

Біосинтез ітаконової кислоти протікає найбільш інтенсивно при засіві виробничого ферментера культурою, що знаходиться в кінці логарифмічної фази росту, що відповідає приблизно 30 годині від початку ферментації в інокуляторі. Процес синтезу кінної кислоти в ферментері відбувається при постійному перемішуванні та аерації середовища в апараті при температурі 30-36 °С впродовж 36 год. До кінця процесу ферментації вміст ітаконової кислоти повинен становити близько 37-38 г/л.

У культуральній рідині міститься від 3 до 6% ітаконової кислоти, 0,5-1,5% незброджених цукрів, 0,3-0,6% інших органічних кислот і невелика кількість різноманітних солей.

Виділення ітаконової кислоти. Зроджений розчин, попередньо звільнений від грибного міцелію, обробляють активним вугіллям (0,3-0,5%) і фільтрують. Фільтрат упарюють при температурі 50-60 ° С до 1/4 - 1/10 початкового об'єму. Упарений розчин подається в кристалізатор, де охолоджується до 13-15 °С. Кристалізується 75-80% ітаконової кислоти від її вмісту в розчині. Технічна ітаконова кислота відділяється на центрифугу від маточного розчину. Вона містить 3-6 % залишкової вологи, 1-3 % інших органічних кислот та 2-5 % домішок, що не впливає на якість цільового продукту.

Для очищення технічну ітаконову кислоту розчиняють в гарячій воді до 25 %-вої концентрації і освітлюють активним вугіллям (5-8% по масі кислоти). Гарячий розчин фільтрують, а потім кристалізують. В процесі центрифугування кристали кислоти промивають дистильованою водою. Висушені кристали мають наступний склад і властивості(у %): ітаконова кислота - не менше 99, оптична густина - менше 0,02, сульфати- 0,21, хлориди, залізо і важкі метали - 0,005, зола - не більше 0,02.

Маточний розчин випарюють до 30-40% першого основного об'єму і кристалізують вторинно. З цією метою гарячий розчин знову фільтрують і концентрують.

Концентрат повільно охолоджують, а потім центрифугують. Кристали ітаконової кислоти, що випали, промивають дистильованою водою і сушать.

Готову продукцію розфасовують у поліетиленові пакети по 100, 200, 300, 400, 500 г і 1 кг; в паперові чотирьохшарові мішки по 1, 3, 5, 10, 15 і 20 кг. На етикетці вказується: назва підприємства-виробника; найменування препарату; гарантійний термін придатності; номер серії; маса (нетто) у кг. [4,5]

2.ОПИС ТА ОБГРУНТУВАННЯ ОБРАНОЇ КОНСТРУКЦІЇ

Процесу змішування та аерації ферментери поділяють на пристрої з механічним, пневматичним та циркуляційним перемішуванням. Механічні мішалки є найпоширенішим видом у сучасній біотехнологічній галузі. Вони оснащені механічним змішувальним пристроєм, який складається з центрального валу і змішувачів з лопатями різної форми. Апарати з механічними мішалками оснащені світловідбиваючими перегородками - вузькими металевими пластинами, рівновіддалено привареними до внутрішніх стінок реактора в кількості 4-6 штук. Вони запобігають утворенню вихору, перетворюючи круговий рух рідини у вихор, рівномірно розподілений по об'єму.

Перемішування у ферментерах здійснюється 3 способами:

- механічне змішування,
- пневматичне змішування,
- Змішування за допомогою циркуляційних насосів.

Перемішування впливає на перенос маси з газової фази в рідину з трьох причин:

- 1) Збільшує площу контакту фаз, оскільки він розбиває потік повітря на дрібні бульбашки.
- 2) Збільшує час контакту за рахунок циркуляції бульбашок газу в об'ємі рідини, що збільшує вміст газу.
- 3) Збільшує турбулентне зміщення і зменшує товщину нерухомої плівки навколо бульбашки, що призводить до збільшення коефіцієнта масообміну.

+ Усі ці 3 фактори взаємопов'язані та нероздільні;

Перспективи подальшого використання приладів з механічним змішуванням пов'язані з високими показниками масообміну кисню та поживних речовин та значною економією енергії. Компонент, який безпосередньо використовується для руху рідини, є мішалкою. Як показує практика, більшість проблем змішування можна успішно вирішити за допомогою обмеженої кількості конструкцій змішувачів. Існують найбільш характерні сфери застосування та області геометричних взаємозв'язків окремих типів змішувачів. [6]

Перемішуючі пристрої в найбільш загальному випадку можна розділити на швидкохідні і тихохідні. До швидкохідних належать пропелерні та турбінні мішалки різних типів, а також спеціальні типи мішалок, наприклад дискові. Ці мішалки в залежності від форми лопастей і способу їх встановлення можуть створювати радіальний, осьовий і радіально-осьовий потоки рідини в апараті. Загальний вигляд ферментеру наведений на рисунку 3.

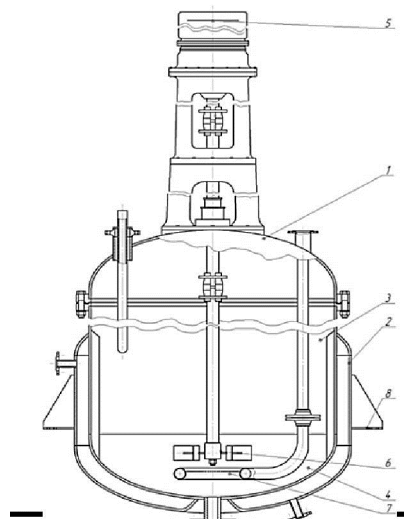


Рис. 2.1. Ферментер: 1 - кришка апарату; 2 - рубашка; 3 - циліндрична обичайка; 4 - еліптичне днище; 5 - мотор-редуктор; 6 - мішалка; 7 - барботер; 8 - опора.

Типи мішалок, що використовуються у ферментерах:

1. Лопатева, використовується для рідин з низькою в'язкістю, а при низькому споживанні газу лопатки великого діаметру є низькошвидкісними мішалками.

2. Турбінна мішалка: а) з прямими лопатями; б) з похилими лопатями. Високошвидкісний змішувач. Вони мають від 4 до 12 лопатей. При використанні з низьким споживанням газу це забезпечує більш інтенсивне перемішування. Кутові лопаті створюють сильну осьову сторону посередині.

3. Турбінна дискова мішалка (відкрита): з прямими лопатями, з вигнутими лопатями, з похилими лопатями, з У-подібними лопатями. Мають більше 2 лез. Використовується для більш в'язких рідин з більшою аерацією.

Мішальний диск запобігає потоку газу по валу мішалки і зміцнює конструкцію. Для більш рівномірного розподілу газу на пристрої. Вигнуті лопаті створюють сильний радіальний потік, а похилі - осьові. У-подібні забезпечують краще перемішування поблизу мішалки і збільшують ширину радіального потоку.

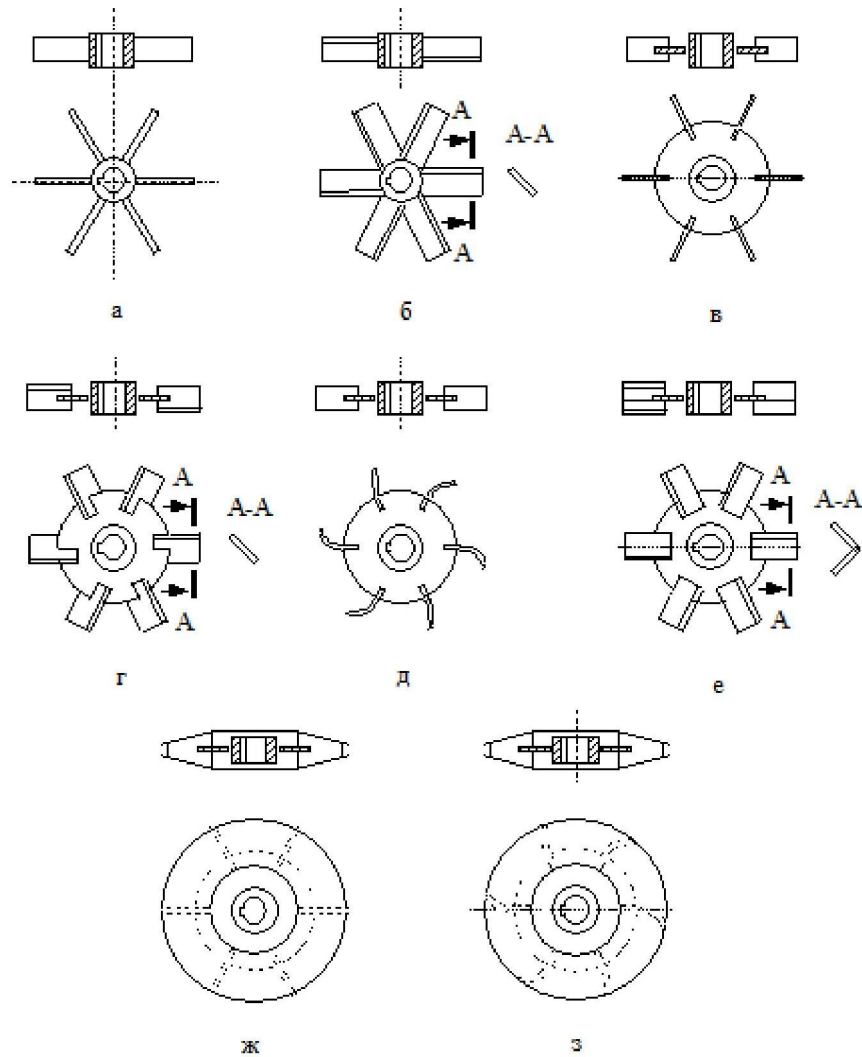


Рис.2.2. Турбінні мішалки: а - з прямими лопатками; б - з похилими лопатками; в - відкрита дискова з прямими лопатками; г - відкрита дискова з похилими лопатками; д - відкрита дискова з криволінійними (загнутими) лопатками; е - відкрита дискова з У-подібними лопатками; ж - закрыта дискова з прямими лопатками; з - закрыта дискова з криволінійними лопатками.

4. Турбінні дискові закриті мішалки з прямими (ж) і з криволінійними лопатками (з). Двостороння закрыта турбінна мішалка аналогічна двосторонньому відцентровому насосу. Вона має більший контакт із середовищем і ефективніше залучає в циркуляцію рідина у валу мішалки, викидаючи її потім в радіальному напрямку. Криволінійні лопаті створюють більший натиск.

Пневматична перемішування може мати місце в чистому вигляді або спільно з механічним перемішуванням. Здійснюється за допомогою барботерів різних конструкцій.

Ефективність роботи мішалки оцінюється наступним чином: де KLF і (КББ) 0- об'ємні коефіцієнти масопередачі при перемішуванні і без перемішування мішалкою (але при подачі повітря барботером); Куд- питома потужність на перемішування (пдв Уж). Виявилося, наприклад, що ефективність перемішування порожнистої трубою на 30% вище ефективності лопатевої мішалки, але менше ніж ефективність турбінних мішалок будь-якого типу. При роботі мішалки в апараті виникає циркуляція рідини, розміри якої обмежені по висоті. Тому для рівномірного перемішування всього обсягу апарату застосовуються багатоярусні мішалки. Число ярусів мішалки і оптимальні розміри визначаються на підставі емпіричних співвідношень. Оптимальна відстань між ярусами мішалок становить 1,5-2 дм. При недостатньо ефективній роботі мішалки можуть виникнути вертикальні стовпи легкої газожидкостної емульсії, яка піднімається вгору найчастіше уздовж вала мішалки. Це явище, коли повітря, що виходить з барботера, не поширюється в об'ємі рідини, а, огинаючи мішалку, направляється, уздовж вала називається захлебівання мішалки. Воно спостерігається тоді, коли подається збільшена витрата повітря і неефективна робота мішалки і відбивних перегородок. Початок захлебівання залежить від конструкції мішалки і особливо конструкції барботера. Для запобігання захлебівання найкращими квадратні і променеві барботери. Утворені в апараті великомасштабні циркуляційні потоки сприяють рівномірному розподілу бульбашок в рідині, але слабо впливають на масоперенос O_2 із газу в рідину. Інтенсифікація массообменного процесу досягається турбулізацією рідини меншого масштабу всередині великих циркуляційних потоків. Тому необхідно прагнути до того, щоб найбільша частина енергії, що витрачається на перемішування, йшла на створення цих турбулентних пульсацій в рідині. Тут доречна аналогія з відцентровим насосом. Макросмешеніє, створюване роботою мішалки,

вимірюється продуктивністю V . Мікросмешення виникає при наявності напорів H , створюваного насосом мішалки. Отже, доцільно застосування мішалки з максимально допустимим відношенням H/V

Швидкохідні мішалки частіше всього потребують встановлення в апаратах з відбиваючих перегородок. Відсутність перегородок призводить до утворення в апараті виру. До тихохідних мішалок належать лопатеві, якірні, рамні. Вони створюють головним чином коловий потік рідини, тобто рідина обертається навкруги осі апарата.

Важливу роль при виборі мішалки відіграють фізичні параметри рідини, що перемішується і, в першу чергу, в'язкість середовища. Для малов'язких рідин, зазвичай, використовують швидкохідні мішалки, для високов'язких - тихохідні. Для перемішування рідин з низькою і середньою в'язкістю використовують турбінні мішалки з прямими лопатками або пропелерні мішалки. [7,8]

Пропелерні мішалки. Лопаті пропелерних мішалок вигнуті по профілю суднового гвинта від 0° у осі до 90° на кінці лопаті. Обертаючись в рідині, лопаті діють на зразок гвинта, а рідина, навколишнє пропелер, як би є гайкою і переміщається в напрямку осі мішалки. Такий гвинтовий рух спричинює осьову течію. Якщо обертання пропелера відбувається за годинниковою стрілкою, то осьовий рух рідини направлений вгору і в посудині виникає циркуляція рідини. Пропелер має зазвичайно три лопаті, причому на вертикальному валу, залежно від висоти шару рідини, встановлюють один або кілька пропелерів. Зазвичай діаметр пропелера дорівнює $0,25-0,3$ діаметра апарату. Швидкість обертання пропелера становить $160-1000$ об/хв. Пропелерні мішалки створюють більш інтенсивні осьові потоки рідини, ніж лопатеві, та більш інтенсивно перемішують рідину. Перемішування пропелерними мішалками поліпшується при установці в апараті відбивних перегородок, за рахунок усунення виру, для унеможливлення явища захлинання мішалки, тощо, та дифузора - короткої циліндричної (іноді конічної) склянки, в якій поміщається пропелер. Дифузор направляє циркуляцію рідини в осьовому напрямку і сприятливо впливає на

перемішування в апаратах з великим відношенням висоти до діаметра, а також у апаратах зі змійовиками та іншими внутрішніми пристроями. Переваги пропелерних мішалок: інтенсивне перемішування, помірний витрата енергії, навіть при значному числі обертів, невисока вартість. Недоліки: мала ефективність перемішування в'язких рідин, невеликий об'єм рідини, яку можна інтенсивно перемішувати. Пропелерні мішалки застосовуються головним чином для інтенсивного перемішування мало в'язких рідин; приготування суспензій і емульсій. Пропелерні мішалки придатні для проведення безперервних процесів. Стандартні пропелерні мішалки випускають з діаметром пропелера 150, 200, 250, 300, 400, 500 і 600 мм [8,9] Для всіх ферментерів з механічними перемішувачами характерна наявність уніфікованого конструкційного елементу, що здійснює первинне диспергування газу. Функції такого диспергатора виконує барботер. Барботер - апарат, у нижній частині якого розташований пристрій (як правило, у вигляді трубок з отворами) для подачі тонкими струменями газу або пари. Принцип роботи барботера зводиться до підведення під шар рідини дрібних бульбашок газу, які потім спричиняють підйом угору часток рідини і тим самим створюють інтенсивне її перемішування. [7]

Ферментери відрізняються об'ємами, розмірами підводом повітря, підведенням чи відведенням тепла, перемішуванням.

В дипломній роботі розроблено ферментер з механічною мішалкою. Оскільки екзотермічна теплота реакції генерує тепло під час бродіння, яке має розсіюватися на цій основі, ми використовуємо шкіру. Повітря також подається у ферментер під час виробництва глютамінової кислоти. Розглядаються два типи обладнання: бульбашкові ферментери та ферментери зі змішувачем. У той же час барабанний ферментер не розчиняє кисень у рідкому середовищі. Тому вибирається ферментер з мішалкою. Для змішування було обрано трьохлопалеву пропелерну мішалку. Тому обрана конструкція ферментера добре підходить для процесу біосинтезу виробника ітаконової кислоти *Asp. Terreus*.

3. ФЕРМЕНТЕРИ - АНАЛІЗ ТА УПРАВЛІННЯ РИЗИКАМИ

Ферментери є найважливішими засобами виробництва в біотехнологічній і біофармацевтичній галузях промисловості. Саме в них протікають процеси

біосинтезу цільових продуктів. Від того, наскільки ферментаційне обладнання адаптовано до процесів біосинтезу, залежить вихід продукту, який багато в чому визначає продуктивність і економічні показники підприємства.

Відомо, що експлуатація ферментерів пов'язана з багатьма факторами ризику, які можна розділити на дві основні групи. До першої відносяться ризики, пов'язані з необхідністю захисту культивованих мікроорганізмів і клітин від сторонньої мікрофлори. До другої - ризики, пов'язані з управлінням процесом ферментації. За численність ризиків процеси ферментації відносять до критичних процесів, а ферментери - до критичного обладнання.

Сучасна світова практика передбачає проведення аналізу та управління ризиками, пов'язаними з критичними процесами і критичним обладнанням. Вона знайшла своє відображення і в ініціативі US FDA (United States Food and Drug Administration), яка реалізувалася в ряді недавно опублікованих документів, що відносяться до cGMP (current Good Manufacturing Practice) [14]. Провідні представники світової біофармацевтичної індустрії активно підтримали американську ініціативу, тому що вона повною мірою відповідає інтересам виробника [5]. На ініціативу US FDA відгукнулися і провідні виробники біофармацевтичного обладнання. Так, фахівці американського заводу, що належить німецькій фірмі Sartorius BBI Systems GmbH (далі для стислості - BBI) - світового лідера з виробництва ферментаційного обладнання, опублікували статтю з аналізу та управління ризиками [6]. У ній показано, як, використовуючи систему управління ризиками, поєднану з системою менеджменту якості, підприємство в повній мірі гарантує якість обладнання і задовольняє всім вимогам замовника. При цьому забезпечується повна відповідність обладнання, що постачається сучасним вимогам cGMP, включаючи його затвердження.

3.1. Ризики, пов'язані з процесами ферментації

Процеси ферментації, що протікають в промислових ферментерах, використовуються для отримання різних продуктів біосинтезу. Ці продукти виробляються з використанням промислових штамів мікроорганізмів або культур клітин тварин, рослин, комах. Незалежно від мікроорганізма- або культури-продуцента, найважливішим завданням ферментації, як правило, є максимальний вихід цільового продукту. Для досягнення цієї мети процес ферментації повинен проходити в оптимальних умовах для біосинтезу продукту. Ці оптимальні умови створюються за допомогою ферментаційного обладнання і тієї інфраструктури, яка забезпечує його функціонування.

Які ж ризики мають місце в процесі ферментації? Їх можна розділити на дві групи:

- 1) ризик зараження культури сторонньої мікрофлорою;
- 2) ризик втрати управління процесом культивування, в тому числі:
 - ризик нестачі кисню для аеробних культур;
 - ризик перегріву культури;
 - ризик зараження культури сторонньої мікрофлорою

Зараження культури мікроорганізмів або клітин сторонньої мікрофлорою призводить до прямих економічних втрат, причому в ряді випадків дуже значним. Відомі промислові виробництва в Західній Європі, в яких вартість продукту, одержуваного з однієї ферментації, становить 1 мільйон Євро. Якщо конструкція ферментера не усуває ризики, пов'язані з порушенням умов асептики при проведенні процесу ферментації, то такі значні кошти, в буквальному сенсі, зливаються в каналізацію. Тому, при виборі ферментерів треба в першу чергу звертати увагу на те, наскільки надійно забезпечується асептика процесу культивування.

Розглянемо основні технологічні операції - джерела зараження культури в ферментері:

- мийка ферментера;
- стерилізація живильного середовища в ферментере;

- стерилізація критичних елементів ферментера, наприклад, ущільнення вала мішалки, фільтрів входить і повітря, що відходить або газу, вентиля нижнього спуску і ін.
- внесення посівної культури;
- внесення технологічних добавок (рН коректора, пеногасителя, компонентів живильного середовища, індукторів цільового біосинтезу);
- подача повітря (газу) в ферментер;
- відбір проб культури;
- відбір врожаю (злив продукту ферментації).

При замовленні ферментера слід враховувати перераховані вище критичні операції і прагнути звести до мінімуму пов'язані з ними ризики. Розглянемо їх по порядку на прикладі ферментерів, що поставляються фірмою VBI.

3.2 Мийка ферментера

Мета мийки - видалити з ферментера забруднення, що залишилися від попередньої ферментації і максимально знизити біологічну навантаження для наступної стадії парової стерилізації. Стратегія управління ризиками тут полягає в застосуванні контрольованого процесу безрозбірного миття СІР (від англ. Cleaning in Place).

Технологія мийки СІР розроблена у відповідь на вимогу cGMP гарантувати якість мийки. Вона дає користувачеві наступні переваги:

гарантовану якість мийки, підтверджене документально;

багаторазову економію часу; економію хімічних

речовин (детергентів); економію енергії;

автоматизацію процесу мийки (економію трудовитрат).

Ферментери комплектуються мобільною системою автоматичної мийки CIP. У цьому випадку на верхню кришку ферментера встановлюється кульова головка CIP з безліччю форсунок. Установка CIP підкочується до ферментера і підключається до нього гнучкими трубопроводами, і за допомогою дозуючих насосів автоматично готує миючі розчини заданої концентрації. Ці розчини подаються насосом під тиском на головку CIP, яка, обертаючись з високою швидкістю, видаляє забруднення з внутрішньої поверхні ферментера. При цьому в розчині миючого засобу циркулює по замкнутому контуру між установкою CIP і ферментерами. Процес миття протікає лічені хвилини. Потім установка CIP проводить ополіскування ферментера від миючого розчину. Воно здійснюється водою очищеної або водою для ін'єкцій, яка також циркулює по замкнутому контуру. При цьому безперервно контролюється електропровідність повертається з ферментера води. Як тільки вона досягає заданого значення, установка CIP автоматично відключається.

Процес миття CIP не тільки високопродуктивний, але і економічний. Так, ферментер Biostat D з робочим об'ємом 100 л миється протягом менш ніж 10 хвилин, на що витрачається близько 100 л води. Традиційна мийка зазвичай триває багато годин з багаторазовим заповненням ферментера миючими розчинами, їх кип'ятінням при працюючій мішалці і подальшим зливом в каналізацію. Потім проводиться ополіскування ферментера багаторазовим заповненням його обсягу водою. При цьому доводиться покладатися на досвід і сумлінність оператора і залучати відділ контролю якості для перевірки якості миття. Як правило, процес традиційної мийки триває весь робочий день, а іноді й довше. В результаті простоює дороге технологічне обладнання, відволікається кваліфікований персонал, спостерігається перевитрата електроенергії, миючих розчинів і технологічних середовищ (води, пари, стисненого повітря).

3.3. Стерилізація живильного середовища в ферментері

Процес стерилізації здійснюється шляхом здачі пара під тиском в «сорочку» апарату при працюючій мішалці. Він контролюється по температурі і часу для забезпечення гарантованої стерильності. Обов'язкова вимога до процесу стерилізації - він повинен бути валідованого.

Інша важлива вимога до процесу стерилізації - збереження ростових властивостей живильного середовища. Тобто живильне середовище не повинна бути «перегріта» при тепловій стерилізації, що призводить до деструкції таких її компонентів як вітаміни і амінокислоти, а результатом «перегріву» стає уповільнення зростання культури і падіння продуктивності процесу ферментації.

Стратегія управління ризиками при стерилізації живильного середовища - проведення процесу в автоматичному режимі. Зрозуміло, що процес стерилізації повинен бути попередньо затверджувати. Стерилізація ферментера в автоматичному режимі зводить до мінімуму основний фактор ризику - вплив «людського фактора». Практика показує, що помилки оператора є головною причиною відсутності стерильності або «перегріву» живильного середовища.

При виборі ферментерів треба звертати увагу на те, як закуповується обладнання відповідає перерахованим вище вимогам. Наприклад, в ферментерах фірми BBI процес стерилізації здійснюється повністю в автоматичному режимі. Контроль процесу здійснюється за температурі і за часом з точністю $\pm 1^{\circ}\text{C}$ і ± 1 хв. Система управління строго виконує програму стерилізації живильного середовища, не допускаючи її «перегріву». Це досягається застосуванням спеціального дозуючого парового клапана, який пов'язаний зворотним зв'язком з системою управління та виключно точно дозує пар в сорочку апарату. Параметри процесу стерилізації можуть бути в діапазоні від 100 до 130 $^{\circ}\text{C}$ по температурі і від 1 до 120 хвилин за часом стерилізації.

Валідація процесу стерилізації проводиться при заводських випробуваннях кожного ферментера. Вона включає в себе повний комплекс випробувань, який має 4 рівня (від простого - до складного) для послідовної перевірки всіх систем, задіяних в процесі. В цілому тривалість багаторазових циклів стерилізації складає більше 100 годин. Замовнику надається повний пакет валідаційної документації, що задовольняє найсучаснішим міжнародним вимогам. При валідації проводиться безкоштовне навчання фахівців замовника всім виконуваним операціям. Це дозволяє користувачеві ферментера в подальшому самостійно виконувати періодичну ревалідацію.

3.4. Втрата управління процесом культивування

Процеси, які відбуваються в ферментерах, вимагають безперервного управління, метою якого, є отримання максимального виходу продукту ферментації. Втрата управління полягає в тому, що ферментер не встигає адекватно реагувати на мінливі потреби культури і не забезпечує підтримання оптимальних умов культивування. Типовими прикладами втрати управління ферментерів є нестача кисню для аеробних культур і перегрів культури.

3.5. Нестача кисню

Культури аеробних мікроорганізмів споживають кисень для свого зростання, причому споживання розчиненого кисню зростає пропорційно зростанню концентрації біомаси. Щоб культура не відчувала кисневого голодування необхідно, щоб ферментер був оснащений засобами, що дозволяють збільшувати швидкість розчинення кисню пропорційно швидкості його споживання зростаючої культурою. Це завдання дуже складна, якщо врахувати що концентрація біомаси зростаючої культури зростає за експоненціальним законом.

Стратегія управління ризиками, пов'язаними з недоліком кисню, полягає в застосуванні сучасних технічних засобів, що підвищують масоперенос кисню в культуральну рідину, а також в застосуванні автоматичної системи підтримки концентрації розчиненого кисню. Найбільш ефективними засобами збільшення швидкості розчинення кисню є:

Пристрій для аерації, що забезпечує утворення безлічі дрібних бульбашок. Система перемішування, що дозволяє збільшувати швидкість обертання мішалки зі зростанням культури до декількох сотень і навіть тисяч обертів на хвилину.

Система відбійних пластин, встановлених на внутрішній стінці ферментера і службовців для інтенсифікації процесу масообміну.

Система аерації, здатна збільшувати витрата подаваного в ферментер повітря пропорційно швидкості росту культури.

Система збагачення киснем повітря, що подається на аерацію.

Система управління концентрацією розчиненого кисню, автоматично змінює швидкість обертання мішалки, витрата повітря і витрата кисню за показаннями датчика розчиненого кисню.

Програмне забезпечення для системи автоматичного управління розчиненим киснем, що дозволяє постачати зростаючу культуру киснем за заданою програмою, що забезпечує максимальний вихід продукту ферментації. Ферментери фірми BBI в повному обсязі оснащені вищепереліченими засобами. Задані значення концентрації розчиненого кисню вносяться оператором зі звичайного персонального комп'ютера в програму SCADA MFCS / win, яка забезпечує їх автоматичну підтримку протягом усього процесу культивування. За бажанням замовника фірма сама може встановити ці значення в програму і продемонструвати їх гарантоване забезпечення під час випробувань, що проводяться на заводі (Factory Acceptance Test).

Деякі культури клітин тварин, рослин і комах чутливі не тільки до високих швидкостей перемішування, а й до наявності газових бульбашок в

культуральної рідини. Для них розроблена ефективна система безпузиркового збагачення середовища киснем через напівпроникну силіконову мембрану.

3.6. Перегрів культури

Аеробні культури мікроорганізмів виділяють тепло в процесі життєдіяльності, кількість якого пропорційно спожитого кисню. При високих концентраціях біомаси тепловиділення досягає великих значень. Якщо не забезпечити ефективне відведення тепла, відбувається зростання температури в ферментері, який може привести до загибелі культури, зниження її продуктивності або до втрати продукту. Зазвичай відведення тепла здійснюється через стінку ферментера подачею охолоджувальної води в сорочку. Ефективність теплообміну залежить від різниці температур культуральної рідини і охолоджуючої води, товщини і матеріалу стінки судини ферментера. Якщо ферментер лабораторний і виготовлений зі скла, проблеми з перегрівом бувають рідко. Якщо ж мова йде про промислових апаратах, виготовлених з нержавіючої сталі, то перегрів - досить часте явище.

Фірма VBI оснастила ферментери, що мають судини з нержавіючої сталі, зовнішніми пластинчастими теплообмінниками. Вони компактні, мають розвинену поверхню теплообміну і забезпечують ефективне відведення тепла навіть при незначній різниці температур між охолоджувальної середовищем і охолоджуючої водою. Тому ці ферментери ніколи не допускають перегріву культури, і дуже економно витрачають енергію на обігрів мікроаерофільних і анаеробних культур. Крім того, ефективна система теплообміну істотно знижує час охолодження ферментера після парової стерилізації, що збільшує коефіцієнт використання цих дорогих і найбільш завантажених засобів виробництва.

4.ТЕХНІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ФЕРМЕНТЕРА

Апарат призначений для культивування *Aspergillus terreus*

1. Номінальний об'єм, м³

10

Робочий об'єм:

7.5

2. Коефіцієнт заповнення

0,75.

3. Тип перемішуючого пристрою

мішалка пропелерна.

5. Частота обертання вала мішалки,с⁻¹

10.

6 . Температура на вході, °С:

- у ферментер 36;

- у рубашку 20.

7. Температура суміші на виході з апарату, оС:

- з ферментера 36;

- з рубашки 22.

8. Габаритні розміри, мм

- внутрішній діаметр корпусу 1800;

- висота 4350.

5. РОЗРАХУНКИ, ЩО ПІДТВЕРДЖУЮТЬ ПРАЦЕЗДАТНІСТЬ ТА НАДІЙНІСТЬ КОНСТРУКЦІЇ

Необхідно розрахувати ферментер для вирощування посівного матеріалу.

Об'єм апарату – $V_p = 10 \text{ м}^3$

ступінь заповнення – $\varphi = 0,75$.

Температура в апараті підтримується на рівні $t_c = 36^\circ\text{C}$.

Витрати повітря у посівному апараті складають $V_r = 1000 \text{ м}^3/\text{год}$.

Тривалість процесу культивування – $\tau_{\text{пр}} = 72 \text{ год} = 259\,200 \text{ с}$

5.1. Визначення теплофізичних властивостей середовища

Теплофізичні властивості за визначальної температури – $t_c = 36^\circ\text{C}$.

Густина ПС :

$$\rho_c = 1050 \text{ (кг/м}^3\text{)}.$$

Коефіцієнт динамічної в'язкості ПС:

$$\mu_c = 1,55 \cdot 10^{-3} \text{ (Па} \cdot \text{с)}.$$

Коефіцієнт кінематичної в'язкості розчину ПС:

$$\nu_c = \frac{1,55 \cdot 10^{-3}}{1050} = 1,45 \cdot 10^{-6} \text{ (м}^2\text{/с)}.$$

Теплоємність розчину ПС [14]:

$$c_c = 3,820 \text{ (кДж/кг} \cdot \text{K)}.$$

Коефіцієнт теплопровідності розчину ПС:

$$\lambda_c = 0,545 \text{ (Вт/м} \cdot \text{K)}$$

5.2. Конструктивний розрахунок

Номінальний об'єм апарату:

$$V_H = 10 \text{ (м}^3\text{)}.$$

Було обрано апарат з еліптичним днищем і еліптичною знімною кришкою (тип 0). За ГОСТ 20680–86 приймаємо внутрішній діаметр апарату [10]:

$$D_{BH} = 1800 \text{ мм} = 1.8 \text{ м}.$$

Оскільки еліптичні днища є стандартними виробами, то за ГОСТ 6533–78 знаходимо решту конструктивних розмірів днища апарату [11]:

Внутрішня поверхня еліптичного днища : $F = 2.98 \text{ м}^2$

Висота відбортової частини: $h_1 = 40 \text{ мм} = 0.025 \text{ м}$

Товщина стінки еліптичного днища : $S_{дн} = 12 \text{ мм} = 0.012 \text{ м}$

Об'єм еліптичного днища : $V_{дн} = 614 \text{ дм}^3 = 0.614 \text{ м}^3$

Маса днища : $m_{дн} = 285.3 \text{ кг}$

Висота еліптичної частини днища :

$$h_{ел.дн} = 0.25 \cdot D_{BH} = 0.25 \cdot 1.8 = 0.45 \text{ м} \quad (5.2)$$

Повний об'єм ферментера:

$$V = V_{ц} + 2 \cdot V_{дн}; \quad (5.3)$$

Звідси об'єм циліндричної частини

$$V_{ц} = V - 2 \cdot V_{дн} = 10 - 2 \cdot 0.614 = 8.772 \text{ м}^3. \quad (5.4)$$

Висота циліндричної частини апарату:

$$H_{ц} = \frac{V_{ц}}{F} = \frac{V_{ц} \cdot 4}{\pi \cdot D_{BH}^2}; \quad (5.5)$$

$$H_{ц} = \frac{8.772 \cdot 4}{3.14 \cdot 1.8^2} = 3.45 \text{ м}.$$

5.3 Розрахунок механічного перемішуючого пристрою

Методика розрахунку перемішуючих пристроїв вертикальних ємнісних апаратів регламентується керівним нормативним документом

С.-Петербурзького філіалу НИИХИММАШ РД 26-01-90-85 [11]. Цей розрахунок проводиться для усіх апаратів із механічними мішалками при проектуванні та реконструкції виробництва.

Обираємо ферментер для вирощування посівного матеріалу з трьохлопалевою пропелерною мішалкою (рис.4) та кільцевим барботером .

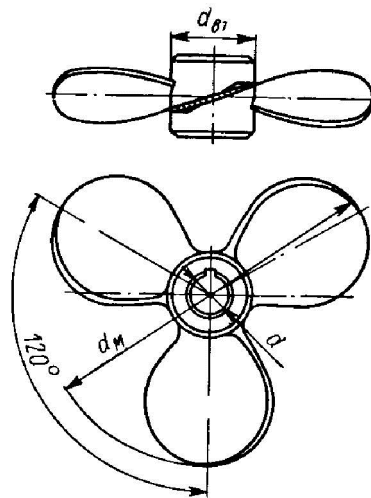


Рис.4. Пропелерна мішалка

Діаметр перемішуючого пристрою визначаємо за формулою:

$$d_m = 0.25D = 1.8 \cdot 0.25 = 0.45 \text{ м}; \quad (5.6)$$

Визначемо основні параметри мішалки

Висота перемішуючого пристрою :

$$h = 0.4 \cdot d_m = 0.4 \cdot 450 = 180 \text{ мм} = 0.18 \text{ м}. \quad (5.7)$$

Висота лопатей: $h_m = 0.2 \cdot d_m = 0.09 \text{ м}$.

Коефіцієнт гідравлічного опору мішалки: $\xi_m = 0.55$

Товщина відбивної перегородки:

$$b = d_m \cdot 0.1 = 450 \cdot 0.1 = 45 \text{ мм} = 0.045 \text{ м} \quad (5.8)$$

Розрахуємо геометричні розміри барботеру.

Висота перемішуючого пристрою над барботером становить:

$$h_{\delta} = 0,25d_m \quad (5.9)$$

$$h_{\delta} = 0,25 \cdot 0,45 = 0,1125 \text{ м}$$

Діаметр барботеру:

$$D_0 = 0,15 \cdot d_m \quad (5.10)$$

$$D_0 = 0,15 \cdot 0,45 = 0,0675 \text{ м.}$$

Діаметр отворів барботеру з відповідною площею:

$$d_0 = 2 \text{ мм} = 0,002 \text{ м. } F = 1,963 \cdot 10^{-5} \text{ м}^2$$

Площа усіх отворів барботера становить:

$$\Sigma F = \frac{V_{\Gamma}}{W_0} = \frac{0,2778}{20} = 0,01389$$

Кількість отворів в барботері:

$$z_{\text{отв}} = \frac{\Sigma F}{F} = \frac{0,01389}{1,963 \cdot 10^{-5}} = 707 \text{ (отворів)} \quad (5.11)$$

де $V_{\Gamma} = 0,2778 \text{ м}^3/\text{с}$. Приймаємо $W_0 = 20 \text{ м/с}$, тоді :

Уточнюємо значення відстані між отворами :

$$t_{\text{отв}_1} = \frac{\pi \cdot D_0}{z_{\text{отв}}} \\ t_{\text{отв}_1} = \frac{3,14 \cdot 0,0675}{707} = 0,003 \text{ м.}$$

Сумарна площа поперечного перерізу отворів барботера:

$$S_{\text{отв}} = \frac{\pi}{4} d_0^2 \cdot z_{\text{отв}}; \\ S_{\text{отв}} = \frac{3,14}{4} \cdot 0,002^2 \cdot 25 = 221,99 \cdot 10^{-5} \text{ (м}^2\text{)}.$$

Висоту рівня рідини в апараті знаходять за формулою:

$$H_p = \frac{4(V_p - V_{\text{дн}})}{\pi D} + h_{\text{дн}};$$

$$H_p = \frac{4(7.5 - 0.614)}{3.14 \cdot 1.8} + 0.45 = 5.323 \text{ м.}$$

5.4. Розрахунок потужності, що витрачається на перемішування

Потужність, що витрачається на перемішування визначають за формулою:

$$N_M = K_N \cdot \rho_c \cdot n^3 \cdot d_M^5;$$

де K_N – критерій потужності, що залежить від інтенсивності перемішування і характеризується центробіжним критерієм Рейнольдса:

$$Re_{\text{ц}} = \frac{\rho_c \cdot n \cdot d_M^2}{\mu_c};$$

$$Re_{\text{ц}} = \frac{1050 \cdot 10 \cdot 0.45^2}{1.55 \cdot 10^{-3}} = 1.37 \cdot 10^6.$$

За графіком нормалі знаходимо значення $K_N = f(Re_{\text{ц}})$:

$$K_N = 0.3.$$

Тоді потужність, що споживається, становить :

$$N_M = 0.3 \cdot 1050 \cdot 10^3 \cdot 0.45^5 = 5.812 \text{ (кВт)}.$$

Розрахункова потужність на валу мішалки:

$$N_p = k_1 \cdot k_2 \cdot \left(\sum k + 1 \right) \cdot N_M;$$

де k_2 – коефіцієнт, що враховує збільшення потужності, що споживається, при пуску чи в результаті збільшення опору середовища при перемішуванні, приймаємо $k_2 = 1.1$.

Коефіцієнт, що враховує ступінь заповнення апарату середовищем:

$$k_1 = \frac{H_p}{D_{\text{вн}}};$$

$$k_1 = \frac{5.323}{1.8} = 2.9.$$

Сума коефіцієнтів, що враховують збільшення потужності через наявність в апараті допоміжних пристроїв :

$$\sum k = 1.5 + 0.2 + 0.1 = 1.8$$

Тоді :

$$N_p = 2.9 \cdot 1.1 \cdot (1.8 + 1) \cdot 5.812 = 51.91 \text{ (кВт)}.$$

Потужність, що витрачається на тертя в сальниковому ущільненні визначається за формулою:

$$N_{\text{ущ}} = 4d_{\text{в}}^2 n \partial_{\text{н}} p e^{(0,2 \cdot (\frac{h_{\text{н}}}{\partial_{\text{н}}}) - 1) f},$$

де діаметр валу $d_{\text{в}} = 65 \text{ мм} = 0,065 \text{ м}$.

$$N_{\text{ущ}} = 4 \cdot 0,065^2 \cdot 0,48 \cdot 0,01 \cdot 0,3 \cdot 10^6 e^{(0,2 \cdot (\frac{0,04}{0,01}) - 1) 0,08} = 23,94 (\text{Вт}).$$

Кінцева встановлена потужність приводного електродвигуна для перемішуючого пристрою ферментера:

$$N_{\text{уст}} = 1,15 \cdot \frac{N_p + N_{\text{ущ}}}{\eta};$$

де $\eta = 0,95$ – ККД редуктора приводу.

Тобто :

$$N_{\text{уст}} = 1,15 \cdot \frac{51,91 + 0,0239}{0,95} = 54,67 (\text{Вт}).$$

Обираємо оптимальне значення номінальної потужності мотор-редуктору $N_{\text{уст}} = 0,1 \text{ кВт}$.

5.5. Тепловий розрахунок

Розрахунок об'ємів поживного середовища і посівного матеріалу:

$$V_p = V_{\text{пс}} + V_{\text{пм}} \quad (5.12)$$

$$V_{\text{пс}} = 0,9 \cdot V_p = 0,9 \cdot 7,5 = 6,75 \text{ м}^3$$

$$V_{\text{пм}} = 0,1 \cdot V_p = 0,1 \cdot 7,5 = 0,75 \text{ м}^3$$

$$\rho_{\text{пм}} = \rho_{\text{пс}} = \rho_{\text{кр}}$$

$$c_{\text{пм}} = c_{\text{пс}} = c_{\text{кр}} = 3,820 \cdot 10^3 \frac{\text{Дж}}{\text{кг} \cdot \text{К}}$$

Розрахунок маси поживного середовища, посівного матеріалу та культуральної рідини :

$$M_{\text{пс}} = \rho_{\text{пс}} \cdot V_{\text{пс}} = 1050 \cdot 6,75 = 7087,5 \text{ кг}$$

$$M_{\text{пм}} = \rho_{\text{пм}} \cdot V_{\text{пм}} = 1050 \cdot 0,75 = 787,5 \text{ кг}$$

$$M_{\text{кр}} = \rho_{\text{кр}} \cdot V_{\text{кр}} = 1050 \cdot 7,5 = 7875 \text{ кг}$$

Надходження енергії у ферментер для вирощування посівного матеріалу відбувається [16]:

1) з поживним середовищем:

$$E_{\text{пс}} = M_{\text{пс}} \cdot C_{\text{пс}} \cdot t_{\text{пс}}$$

$$E_{\text{пс}} = 7\,087.5 \cdot 3820 \cdot 36 = 974.673 \text{ (МДж)}.$$

2) з посівним матеріалом:

$$E_{\text{пм}} = M_{\text{пм}} \cdot C_{\text{пм}} \cdot t_{\text{пм}};$$

$$E_{\text{пм}} = 787.5 \cdot 3820 \cdot 36 = 108.297 \text{ (МДж)}.$$

3) з повітрям:

$$E_{\text{пов}_1} = M_{\text{пов}} \cdot C_{\text{пов}} \cdot t_{\text{пов}} = \rho_{\text{пов}} \cdot V_{\text{г}} \cdot \tau_{\text{пр}} \cdot C_{\text{пов}} \cdot t_{\text{пов}};$$

де $\rho_{\text{пов}} = 1,22 \text{ кг/м}^3$ – густина повітря при температурі 30°C ,
 $C_{\text{пов}} = 1005 \text{ Дж/кг} \cdot \text{К}$ – питома теплоємність повітря,
 $t_{\text{пов}} = 30^\circ\text{C}$ – початкова температура повітря,
 $\tau_{\text{пр}} = 72 \text{ год} = 259\,200 \text{ с}$ – тривалість процесу культивування,
 $V_{\text{г}} = 0,278 \text{ м}^3/\text{с}$ – витрати повітря,
 $E_{\text{пов}_1} = 1,22 \cdot 0,278 \cdot 259\,200 \cdot 1005 \cdot 30 = 2650,5 \text{ (МДж)}.$

4) теплота, що виділяється в результаті дисипації механічної енергії від перемішуючих пристроїв:

$$E_{\text{дис}_1} = N_{\text{уст}} \cdot \tau_{\text{пр}};$$

$$E_{\text{дис}_1} = 100 \cdot 259\,200 = 25,92 \text{ (МДж)}.$$

5) Теплота реакції :

$$E_{\text{р}} = (m_{\text{цук}} \cdot r_{\text{цук}}) / \tau;$$

де $r_{\text{цук}} = 16,5 \text{ МДж/кг}$

$$m_{\text{цук}} = 0,1 \cdot 0,9 \cdot V_{\text{р}} \cdot \rho_{\text{с}};$$

$$m_{\text{цук}} = 0,1 \cdot 0,9 \cdot 7.5 \cdot 1050 = 708.75 \text{ (кг)};$$

$$E_{\text{р}} = \frac{708.75 \cdot 16,5 \cdot 10^6}{36} = 324.84 \text{ (МДж)}.$$

Сумарна кількість надходжень теплоти ферментера :

$$\sum E_{\text{надх}} = E_{\text{пс}} + E_{\text{пм}} + E_{\text{пов}_1} + E_{\text{дис}_1} + E_{\text{р}};$$

$$\sum E_{\text{надх}} = 974.673 + 108.297 + 2650,5 + 25,92 + 324.84 = 3484(\text{МДж}).$$

Витрати теплової енергії здійснюються:

1) з культуральною рідиною:

$$E_{\text{к}} = M_{\text{к}} \cdot C_{\text{к}} \cdot t_{\text{к}};$$

$$E_{\text{к}} = 52500 \cdot 3820 \cdot 30 = 1083 (\text{МДж}).$$

2) з повітрям:

$$E_{\text{пов}_2} = M_{\text{пов}} \cdot C_{\text{пов}} \cdot t_{\text{с}} = \rho_{\text{пов}} \cdot V_{\text{г}} \cdot \tau_{\text{пр}} \cdot C_{\text{пов}} \cdot t_{\text{с}};$$

$$E_{\text{пов}_2} = 1,22 \cdot 0,278 \cdot 259\,200 \cdot 1005 \cdot 36 = 3180,6 (\text{МДж}).$$

3) втрати теплоти в навколишнє середовище при нагріванні:

$$E_{\text{втр}} = 0,02 \cdot (E_{\text{к}} + E_{\text{пов}_2});$$

$$E_{\text{втр}} = 0,02 \cdot (1083 + 3180,6) = 85,3(\text{МДж}).$$

Сумарні витрати становлять:

$$\sum E_{\text{витрат}} = E_{\text{к}} + E_{\text{пов}_2} + E_{\text{втр}};$$

$$\sum E_{\text{витрат}} = 1083 + 3180,6 + 85,3 = 4348,9 (\text{МДж}).$$

Теплове навантаження у інокуляторі становить:

$$E_{\text{т}} = \sum E_{\text{витрат}} - \sum E_{\text{надх}};$$

$$E_{\text{т}} = 4348,9 - 3484 = 864,9 (\text{МДж}).$$

$$Q = E_{\text{т}} = 864,9 \text{ МДж}.$$

$$Q = M_{\text{т}} \cdot C_{\text{т}} \cdot (t_{\text{тк}} - t_{\text{тп}}).$$

$$M_{\text{т}} = \frac{Q}{C_{\text{т}} \cdot \Delta t_{\text{т}}};$$

де $C_{\text{т}} = 4200 \text{ Дж/кг} \cdot \text{К}$ – питома теплоємність теплоносія ,

$\Delta t_{\text{т}} = 10^{\circ}\text{C}$ – різниця між початковою температурами та кінцевою теплоносія,

$$M_{\text{т}} = \frac{864,9 \cdot 10^6}{4200 \cdot 10} = 20592(\text{кг}).$$

Масові витрати теплоносія:

$$G_T = \frac{M_T}{\tau_{\text{пр}}};$$

$$G_T = \frac{20592}{259\,200} = 0,079 (\text{кг/с}).$$

Для визначення поверхні теплообміну необхідно знайти коефіцієнт тепловіддачі від теплоносія у сорочці та від середовища у посівному апараті та коефіцієнт теплопередачі.

Коефіцієнт тепловіддачі від теплоносія:

$$a = \frac{D_c - 2\delta_{\text{ст}} - D}{2};$$

де $\delta_{\text{ст}} = 0,01$ м – товщина стінки,

$D_c = 2,1$ м – діаметр сорочки ферментера,

$$a = \frac{2,1 - 2 \cdot 0,01 - 1,8}{2} = 0,14 (\text{м}).$$

$$b = 0,15 - a = 0,15 - 0,14 = 0,01 (\text{м}).$$

Еквівалентний діаметр:

$$d_{\text{екв}} = \frac{2ab}{a + b};$$

$$d_{\text{екв}} = \frac{2 \cdot 0,14 \cdot 0,01}{0,14 + 0,01} = 0,019 (\text{м}).$$

Середній діаметр ферментера:

$$D_{\text{ср}} = D_c - a;$$

$$D_{\text{ср}} = 2,1 - 0,14 = 1,96 (\text{м}).$$

Критерій Нуссельта визначаємо з критеріального рівняння:

$$Nu_c = 1,35 Re_c^{0,59} \cdot Pr_c^{0,38} \left(\frac{\mu_c}{\mu_{\text{ст}}} \right)^{0,14}.$$

Критерій Рейнольдса:

$$Re_c = \frac{d_M}{v_c} (n d_M + 4 W_\Gamma);$$

$$W_\Gamma = \frac{4 V_\Gamma}{\pi D^2};$$

$$W_\Gamma = \frac{4 \cdot 0,016}{3,14 \cdot 3,6^2} = 0,0015 (\text{м/с}).$$

Тоді:

$$Re_c = \frac{0,9}{1,45 \cdot 10^{-6}} (0,9 \cdot 0,9 + 4 \cdot 0,0015) = 5 \cdot 10^5.$$

Критерій Прандтля:

$$Pr_c = \frac{\mu_c \cdot c_c}{\lambda_c};$$

$$Pr_c = \frac{1,55 \cdot 10^{-3} \cdot 3820}{0,545} = 10,86.$$

$$Nu_c = 1,35 \cdot (5 \cdot 10^5)^{0,59} \cdot 10,86^{0,38} = 7697,35$$

Коефіцієнт тепловіддачі від культуральної рідини у ферментері становить:

$$\alpha_c = \frac{Nu_c \lambda_c}{D};$$

$$\alpha_c = \frac{7697,35 \cdot 0,545}{3,6} = 1165,29 \text{ (Вт/м}^2 \cdot \text{К)}.$$

Визначаємо коефіцієнт тепловіддачі від теплоносія.

Об'ємні витрати теплоносія:

$$V_T = \frac{G_T}{\rho_T};$$

де $\rho_T = 998$ – густина теплоносія при температурі $t_T = 20^\circ\text{C}$.

$$V_T = \frac{0,035}{998} = 0,000035 \text{ (м}^3/\text{с)}.$$

Швидкість руху теплоносія:

$$W_T = \frac{V_T}{ab};$$

$$W_T = \frac{0,000035}{0,14 \cdot 0,01} = 0,025 \text{ (м/с)}.$$

Критерій Рейнольдса:

$$Re_T = \frac{W_T d_{\text{екв}}}{\nu_T};$$

де $\nu_T = 1,01 \cdot 10^{-6} \text{ м}^2/\text{с}$ – кінематична в'язкість теплоносія при температурі $t_T = 20^\circ\text{C}$,

$$Re_T = \frac{0,025 \cdot 0,019}{1,01 \cdot 10^{-6}} = 473,11.$$

Так як $Re_T < 10000$, то критерій Нуссельта визначаємо за критеріальним рівнянням:

$$Nu_T = 0,037 Re_T^{0,8} \cdot Pr_T^{0,43}.$$

Критерій Прандтля:

$$Pr_T = \frac{\mu_T \cdot c_T}{\lambda_T};$$

де $\mu_T = 1,000 \cdot 10^{-3}$ Па · с – коефіцієнт динамічної в'язкості теплоносія при температурі $t_T = 23^\circ\text{C}$,

$c_T = 4190$ Дж/кг · К – питома теплоємність теплоносія при $t_T = 20^\circ\text{C}$,

$\lambda_T = 0,599 \frac{\text{Вт}}{\text{м} \cdot \text{К}}$ – питома теплопровідність теплоносія при $t_T = 20^\circ\text{C}$.

$$Pr_T = \frac{1,000 \cdot 10^{-3} \cdot 4190}{0,599} = 6,99.$$

Тоді:

$$Nu_T = 0,037 \cdot (473,11)^{0,8} \cdot 6,99^{0,43} = 11,78.$$

Коефіцієнт тепловіддачі від теплоносія у сорочці становить:

$$\alpha_{T_1} = \frac{Nu_T \lambda_T}{d_{\text{екв}}}$$
$$\alpha_{T_1} = \frac{11,78 \cdot 0,599}{0,019} = 371,38 \text{ Вт/м}^2 \cdot \text{К}.$$

Коефіцієнт теплопередачі становить:

$$K = \frac{1}{\frac{1}{\alpha_c} + \frac{\delta_{\text{ст}}}{\lambda_{\text{ст}}} + \frac{1}{\alpha_T}};$$

де $\lambda_{\text{ст}} = 16$ Вт/м · К – теплопровідність стінки,

$$K = \frac{1}{\frac{1}{1165,29} + \frac{0,01}{16} + \frac{1}{371,38}} = 239,8 \text{ Вт/м}^2 \cdot \text{К}.$$

Розрахункова поверхня теплообміну:

$$F_p = \frac{Q}{K \cdot \Delta t_{\text{ср}} \cdot \tau_{\text{пр}}};$$

$$F_p = \frac{864,9 \cdot 10^6}{239,8 \cdot 10 \cdot 259 \cdot 200} = 1,39 \text{ м}^2$$

Дійсна поверхня теплообміну:

$$F_d = \pi D_{Hc}$$

$$H_c = H_p - h_{\text{дн}};$$

$$H_c = 5,323 - 0,45 = 4,873 \text{ (м)}.$$

Тоді :

$$F_d = 3,14 \cdot 1,8 \cdot 4,873 = 27,5 \text{ (м}^2\text{)}.$$

Умова теплообміну виконується, оскільки:

$$F_p < F_d.$$

$$1,39 \text{ м}^2 < 27,5 \text{ м}^2$$

Можна зробити висновок, що поверхня теплообміну сорочки апарата забезпечить заданий температурний режим протягом його роботи.

6. ОХОРОНА ПРАЦІ

На основі технологічного регламенту виробництва "ітаконової кислоти" та врахування всіх необхідних вимог щодо охорони праці, пожежі та охорони навколишнього середовища, необхідних розрахунків та розробки заходів щодо забезпечення здорових та безпечних умов праці, протипожежного захисту протягом усієї експлуатації виробниче приміщення.

Охорона праці на підприємстві включає низку заходів, спрямованих на забезпечення безпеки та здоров'я працівників при виконанні ними завдань.

Охорона праці на підприємстві включає низку заходів, спрямованих на забезпечення безпеки та здоров'я працівників при виконанні ними завдань. Основні нормативні вимоги в цій галузі містяться в Трудовому кодексі. Крім того, існує ряд спеціальних нормативних актів із галузевим та міжгалузевим характером.

Заходи з охорони праці спрямовані на запобігання травматизму працівників та усунення ситуацій, які можуть призвести до нещасних випадків або нещасних випадків. У різних компаніях вимоги до безпеки та низка необхідних заходів у зв'язку з характеристиками галузі можуть суттєво відрізнятися. Загалом, ми можемо визначити загальні вимоги. Ось найважливіші з цих вимог.

6.1 Вимоги щодо створення безпечних умов праці на робочих місцях Охорона праці та безпека праці на підприємстві є головним завданням роботодавця та відповідних служб організації.

Роботодавець зобов'язаний розробляти внутрішні правила, проводити інструкції та тести згідно із законодавством та інформувати працівників про всі обставини, від яких залежить безпека праці.

Роботодавець також зобов'язаний створити безпечні умови праці для працівників. Для цього передбачено ряд вимог:

- Використання обладнання та конструкцій, що відповідають вимогам стандартів та інших нормативних актів;

- дотримання термінів регулярного ремонту та обслуговування обладнання;

- Дотримання вимог протипожежного захисту та електробезпеки при обладнанні виробничих та офісних приміщень;

- Встановлення необхідних захисних пристроїв та конструкцій;

- забезпечити належне освітлення та вентиляцію, підтримувати оптимальну температуру на робочому місці;

- своєчасне видалення пилу та відходів виробництва;

- Надання спецодягу та взуття, а також інших засобів індивідуального захисту для працівників відповідно до особливостей виробництва;

- Надання сучасних інструкцій щодо телевізійних та візуальних матеріалів працівникам;

- Створення всіх необхідних сигналізацій на робочих місцях та у виробничих приміщеннях, встановлення знаків безпеки тощо.

6.2 Вимоги безпеки праці

Одним із пріоритетів охорони праці є підтримка робочих місць та виробничих приміщень у безпечному стані. Для цього пред'являються такі вимоги:

кожен працівник, незалежно від посади та робочого місця, відповідає за підтримання порядку на своєму робочому місці;

- повинен вчасно вивозити сміття та підтримувати чистоту робочого місця;

- Паспорти, коридори, шляхи евакуації повинні залишатися вільними;

- прокладка кабелю в робочих місцях повинна виконуватися з дотриманням вимог електробезпеки;

- У разі розливу або розливу речовин на робочому місці або у виробничих приміщеннях, чистка повинна бути проведена негайно.

6.3 Вимоги безпеки до працівників компанії

Неможливо гарантувати безпеку праці без безпосередньої участі самих працівників. Значна частка виробничих аварій та нещасних випадків трапляється через порушення працівниками.

Усі працівники, незалежно від їх посади, зобов'язані:

- знати особливості технологічного процесу на вашому робочому місці;
- знати та виконувати всі вимоги, що стосуються безпечної експлуатації пристроїв на вашому робочому місці;
- мати широкі знання інструктажів з питань охорони праці;

носити уніформу, спецодяг, прийнятий на підприємстві, використовувати засоби індивідуального захисту;

-дотримуватися норм безпеки, що діють у виробничому підрозділі;

-знати та виконувати вимоги знаків безпеки, розміщених на робочому місці;

відповідати вимогам протипожежного захисту та електробезпеки

6.4. Заходи щодо електробезпеки

Електрообладнання цеху живиться від трифазної чотирипровідної промислової електромережі змінного струму напругою 380/220 В із заземленою нейтраллю.

Основними причинами ураження електричним струмом є контакт з відкритими частинами, що знаходяться під напругою, струмопровідними частинами обладнання, що отримують напругу внаслідок руйнування ізоляції, та пошкодженням від дуги [26].

Електрообладнання в цьому магазині закритого типу.

Для забезпечення електробезпеки планується: занулення, захисне відключення, електрична ізоляція струмоведучих частин, електричне розділення мереж, захисні пристрої, блокування, попереджувальні сигналізації, попереджувальні знаки.

Статична електрика може виникати в таких технологічних процесах, як подрібнення, зливання, виливання, перемішування, перемішування та фільтрування електрифікованих рідин під час роботи клинопасових приводів. На підприємстві можливі випадки підвищення рівня статичної електрики. Для захисту від статичних струмів ми використовуємо засоби колективного захисту, такі як: заземлювачі, нейтралізатори, пристрої зволоження, антиелектростатичні речовини, екрануючі пристрої.

В електричних мережах напругою до 1000 В ЗІ представлені робочими та вимірювальними стержнями, ізолюючими струмомірними затискачами, індикаторами напруги, а також діелектричними рукавичками, гумовими матами та ізолюючими опорами. Є захисне обладнання (переносні огорожі), захисні пристрої - електрошафи, закриті суцільними або дротяними огорожами. Проект також передбачає захист електричних мереж від коротких замикань та перевантажень, викликаних вимикачами або запобіжниками.

6.5 Пожежна безпека

У цеху існує низка зон пожежної небезпеки та причин пожежі. Сюди входять сховища, де пакувальні матеріали (картон, пластик), леткі легкозаймисті хімічні реагенти, лабораторні приміщення, де використовуються легкозаймисті та вибухові речовини [24]. Причиною пожежі може бути коротке замикання в електрообладнанні або електропроводці, іскри електричного та механічного походження, розряди атмосферної електрики (прямі удари блискавки в будівлю, введення високих блискавкових потенціалів у приміщення шляхом підключення проводів та інших провідників до будівля.

Пожежна безпека виробничих приміщень забезпечується наступними конструкторськими та інженерними рішеннями, спрямованими на запобігання пожежам та вибухам та забезпечення безпеки від вибухів та пожеж: - плани швидкої евакуації людей та цінних предметів на випадок пожежі;

- довжина аварійних виходів (48 м) і ширина дверей (0,7 м) відповідають ДБН ВЛЛ-7-2002;

- надійне ущільнення мобільних та нерухомих зв'язків технологічного обладнання, своєчасне змащення підшипників машин та механізмів;
- теплоізоляція нагрітих поверхонь обладнання, таких як коробки приладів, куртки, труби;
- систематичний контроль натягу приводних стрічок, стрічок конвеєрів з метою виключення їх ковзання;
- застосування систем управління, попередження та сигналізації

Результати визначення категорій технологічних одиниць, приміщень, що мають загрозу вибуху та пожежі, класифікація вибухонебезпечних та легкозаймистих зон використання електричного обладнання дають підстави вважати їх відповідною категорією В.

7 РЕКОМЕНДАЦІЇ ЩО ДО МОНТАЖУ ТА ЕКСПЛУАТАЦІЇ ФЕРМЕНЕТЕРУ

7.1 Підготовка до роботи, технічне обслуговування

Під час обслуговування пристрою на робочому місці не повинно бути сторонніх осіб. Підлога повинна бути рівною, чистою і не мокрою.

Пристрій, зібраний перед роботою, перевіряється і перевіряється:

- надійність блокування
- затягування болтів;
- надійність кріпильних майданчиків і службових сходів;
- правильність складання і нормальне затягування ущільнювальних пристроїв;
- наявність та правильність установки прокладок контрольно -захисних вимірювальних приладів, місцевий витяг.
- відсутність стороннього тіла, як у пристрої посередині, так і на кришці;

Прилади зі змішувальними пристроями необхідно перевірити на:

- правильність складання та нормальне регулювання ущільнювального пристрою;
- наявність масла в масляних відстійниках і ванні мотор-редуктора;
- контролюється радіальний такт мішалки.

Спочатку потрібно перевірити, чи працює двигун належним чином, увімкнути мішалку на холостому ході на 10 хвилин і перевірити підшипники, щоб уникнути зайвого шуму та нагрівання. Для внутрішньої перевірки двигун повинен бути вимкнений. Огляньте пристрій посередині і при необхідності усуньте всі дефекти. Після успішних випробувань проводяться кілька пробних запусків під навантаженням. Пристрій герметично закривається водою, температура якої становить 5-40 ° С Поступово збільшуйте тиск для роботи (швидкість збільшення якого не повинна перевищувати 0,5 МПа в 1 хвилину). Гідравліка здійснюється наступним чином етапи: для пристроїв з оболонкою - спочатку оболонка, потім корпус. Потім

запустити пристрій та мішалку протягом 1 години. Коли обробка завершена, двигун вимикається. Знизьте тиск, злийте всю воду і висушіть пристрій. Потім перевіряються всі деталі та деталі. Результати випробування можна вважати задовільними лише у тому випадку, якщо під час випробування температура двигуна редуктора, картера та двигуна не перевищувала 60°C , а температури підшипника 70°C , якщо немає ущільнення, відсутність витоку води та чи перепад тиску не перевищує допустимі значення для технологічного процесу. Працівники, які досягли 18-річного віку та успішно закінчили виробниче навчання, інструктаж з безпечного обслуговування суден, атестацію кваліфікаційної комісії, мають право самостійно працювати в обслуговуванні приладів. Наповнення пристрою продуктом, зупинка і включення охолоджуючої рідини або пари, початок і закінчення подрібнення, проведення технологічного процесу, вивантаження продукту відповідно до розроблених технологічних регламентів у бізнесі. Нагрівання корпусу пристрою здійснюється поступово, подаючи пар в оболонку пристрою, тільки після заповнення пристрою рідким середовищем до рівня, що перевищує рівень зварювання (прорізання) вкладиша не менше 100 мм. заповідником. Швидкість зміни температури стінок приладу не повинна бути вищою: як для приладів на чавунній конструкції - $3^{\circ}\text{C} / \text{хв}$, так і на сталевих - $4^{\circ}\text{C} / \text{хв}$, із склокристалічним покриттям сталевих приладів $3^{\circ}\text{C} / \text{хв}$. Коли в гарячий пристрій вводяться холодні продукти, тиск у приладі знижується до мінімуму. Завантаження сипучих матеріалів в апарат відбувається прийом в апарат рідкої фази, необхідно попередньо вставити змішувальний пристрій. У разі несправності пристрій повинен бути зупинений, двигун відключений, причина несправності визначена та усунена. Ремонт пристрою та його частин під час роботи не дозволяється. Пристрій можна зупинити у разі:

- Вогонь;

- несправності або неповна кількість кріплень капота та люка;
 - підвищення тиску вище дозволеної межі;
 - несправності запобіжних клапанів;
 - несправності манометра і неможливість визначити тиск на інші прилади;
 - порушення (відсутність) приладів, що постачаються, та засобів автоматизації.
- виявлення тріщин в основних елементах пристрою, зменшення товщини стінки нижче розрахункової величини, зазорів або кровотеч у зварних швах, струмів у болтових з'єднаннях, зламаних з'єднань, пошкодження емалевого покриття;

7.2 Монтаж ферментеру

Підвісні або нижні консолі використовуються для встановлення ферментера на спеціальній конструкції або фундаменті. Внутрішні пристрої, мобільні пристрої можуть бути вуглецевими. Сталі з подальшим емалюванням або з капіталом 10X17H13M3; 12X18H10T; 10X17H13M2T, корозійно-стійкий сплав ХН65М13 або фторопласт-4. Коли емальований пристрій прибуває до місця призначення протягом 10 днів, перевіряється цілісність і комплектність емальованого скляного виробу. Транспортування деталей, відправлення, прибуття до місця установки або тимчасове зберігання розробляються за схемами, які виконуються в паспорті, при вивантаженні, яке здійснюється без різних поштових операцій та страйків, все повинно бути безперебійно . Встановлення механізму на фундаменті, яке повинно бути зроблено менш ніж за 10 днів до монтажу, призводить до безперервного контролю горизонтальності, контролю за допомогою лічильника рівня води, установки на контрольних пунктах та управління ризиками. Для порівняння положення пристрою використовуються регульовальні гвинти (дуже якісні) або інші кріпильні елементи. Встановлення може здійснюватися за допомогою наявного підйомного обладнання, такого як: Наприклад: електричні ліфти, канатні дороги, кранові вантажівки, підйомні крани тощо. Під час

переміщення пристроїв у приміщенні переконайтесь, що скляні полицки не стираються об підлогу, полиці, полиці, підлогу. Подорожі також заборонені. Між поверхнею емалі та підкладками розміщується гнучкий матеріал, такий як гума, азбест або поверхня. Зварювальні роботи не слід проводити поблизу поверхні емалі. Технічний стан пристрою перевіряється після його встановлення на основу (для пристроїв із нерухомим змішувачем та демонтованим приводом):

- перевірити вертикальність вертикальної осі приводу мішалки;
- Відкрити кришку люка, зняти шпильки, стержні, затискачі та ін. Деталі, що фіксують вал мішалки під час транспортування, та зняти їх з пристрою, дотримуючись захисних заходів;
- Зняти кришку мішалки з приводного штока;
- встановити мотор-редуктор на вхідну стійку;
- Відцентруйте мотор-редуктор за допомогою валу, що змінюється, і з'єднайте за допомогою муфти відповідно до скла. Малювання;
- за допомогою обертання змінного пристрою, перевірки гарячого вентилятора електродвигуна, перевірки правильності шляху, правильності складання, відсутності виходу вала на пошкоджених ділянках;
- якщо ви також хочете перевірити концентричність нижнього кінця ваги змішувача в залежності від частоти навантажень і змінити загальну довжину валу відповідно до вашої схеми.

Встановлення обладнання, мобільних пристроїв, встановлення окремої частини поштової частини:

Зніміть кришку пристрою та встановіть її на стійку металеву конструкцію (опору) з гнучкими ущільненнями (гума, поверхня); Встановіть на кришці стійку варіатора з мотор-редуктором;

Руйнуючись ущільненням, вставте вал мішалки та з'єднайте його з валом - валом двигуна з муфтою, щоб уникнути пошкодження гільзи циліндра та кілець сальника сальника, ущільнень ущільнень підшипників та, якщо торцеві є ущільнення - пара тертя; закріпити підшипник на валу;

перевірити м'якість мішалки вручну;

Перевірте радіальне закінчення мішалки. Перш ніж прикріплювати кришку, на нижню сторону пристрою слід покласти гумовий або обертовий лист, щоб запобігти пошкодженню емалі у випадку випадкового падіння інструментів або кріплень.

7.3 Ремонт ферментеру

Відновлення поверхні скляно-емалевого покриття хімічного обладнання в процесі проекція плазми здійснюється наступним чином.

Пошкоджену ділянку емалевого покриття очищають від залишків продукту реакцій, а також продуктів корозії. Для цього в деревині алюмінієві скребки або інші, потім за допомогою механічної щітки, шліфувальний круг або інші пристрої поверхні конструкційного матеріалу очищений до блиску, без слідів корозії. Ця поверхня не повинна бути гострою кромки, задирки, сколи та інші неоднорідності. Потім ретельно очистіть ділянку просочують спиртом, наносячи просочений рушник на поверхню емалі, щоб видалення та знежирення вологи. Для цього використовується стиснене повітря, попередньо очищений від масла (повітря повинно відповідати ГОСТ 17433 - 80). Підготовка поверхні проводиться не більше ніж за 3 години до заходу ремонт, щоб уникнути повторного забруднення або появи нових ділянок корозії. Для цього можна використовувати стамеску, скребок, шкірку, потім поверхню промивають бензином або ацетоном. Потім поверхню сушать на повітрі при температурі 15-200°C протягом 6 годин. і нанесіть пензликом шар лаку або смоли. Після цього шар сушать протягом 4 годин при температурі 900 ° C. Непошкоджена поверхня покривається азбестовий лист.

Останнім часом розроблено багато методів застосування газових полум'я вихрові та вібраційні покриття захисні покриття порошки. Для цього антикорозійні матеріали формуються сушіння (прожарювання) в печі з наступним охолодженням, потім їх просівають на сито з отриманням частки 160 мкм. Інтервал між сушіння та обприскування не повинні перевищувати однієї години.

Епоксидну смолу нагрівають у печі при температурі 100-110 ° С. протягом 24 годин видаляти бульбашки повітря і поступово охолоджувати при температурі 18-24 ° С. Також необхідний попередньо відсіяний діоксид хрому сушать 2-3 години при температурі 90-105 ° С і охолоджують до 18- 25°C

Зарядний пристрій плазмотрона заповнений 0,2-0,4 кг діоксиду цирконію і герметично закритий накрити кришкою. Подавайте воду для охолодження плазмотрона, подавайте аргону і включають зварювальний випрямляч. Запуск плазмотрона при введенні графітового стрижня в сопло відбувається коротке замикання анод (сопло) і катод (стрижень).

Після перевірки роботи плазмотрона на протягом 0,5-1 хвилин починається безпосереднє обприскування. Спрей здійснюється рухом рідини від краю пошкодженої ділянки до центру Кола. Відстань між соплом і обробленою поверхнею повинна становити 60-150 мм, товщина розпилювача повинна становити 0,5-0,8 мм. Для обприскування 100 см займає 8-10 хвилин. З появою на обприскуваній поверхні тріщин або сколів, допускається ручне чищення в пошкодженій зоні. Плазма метод напиленої поверхні має пористість, тому його слід покривати матеріал або композиція, яка утримується в порах і заважає проникнення в робоче середовище і подальша корозія. Склад композиції, яка пронизує, вибрано залежно від робочого середовища та температури попередньо відбір та тестування.

Для просочення використовується епоксидна смола композиція, що складається з трьох чвертей епоксидної смоли і чверті Бакелітовий лак, який при ретельному перемішуванні нагрівається до 45-50° С Підготовлений склад

наносять на поверхню, що розпорошується, ні дозволяючи вологи, пилу та оливі проникати на нього. Потім накрийте одну годину доводять до температури 160-180 ° С, складу всмоктується в пори і полімеризується. Визначається ступінь підготовки покриття тестовий дотик скляного стержня, загартованого в композиції. Після просочення поверхня знову нагрівається до температури 160-180 ° С і інкубують менше 0,5 години до повного виведення газів. Поверхня затверділого покриття повинна бути світло -коричневою.

При використанні в якості покривної композиції пентопласт А-2 відремонтовану поверхню слід нагріти до температури 210 -220 С. На одну годину. Порошок пентопласту заливається у флакон розпорошувати і розпорошувати на нагріту поверхню, дотримуючись стан та поведінку нанесеного шару. Відстань між розпилювачем і поверхнею повинна бути між 50 і 80 мм, а спрей-склад повинен бути гладко-білим М'яч. Потім поверхня нагрівається до тих пір, поки вона не придбає рівномірний зелений колір. При ремонті скляної емалі товщина шару повинна становити 150-250 мкм відповідає 3-5 шарам порошкового складу. Розплавлення кожного шару здійснюється окремо.

ВИСНОВОК

В даному дипломному проекті було розглянуто технологію отримання ітаконової кислоти, продуцентом якої є *Aspergillus Terreus*.

Також була розрахована конструкція ферментера об'ємом 10 м³ з перемішуючим пристроєм пропелерного типу та підібрано стандартне обладнання для забезпечення технологічного процесу. Технологічні розрахунки обумовили та підтвердили доцільність використання обраної конструкції ферментера. Даний апарат забезпечує необхідну продуктивність.

Обраний апарат є універсальним, але за необхідності підлягає удосконаленню та автоматизації.

Розглянуті питання з монтажу та експлуатації теплообмінника та наведені вимоги з охорони праці, пожежної та екологічної безпеки виробництва.

Результати розрахунків зведені в пояснювальну записку, що включає дані відповідності розробленої конструкції вимогам техніки безпеки та охорони праці.

ПЕРЕЛІК ПОСИЛАНЬ

1. Новый справочник химика и технолога. Сырье и продукты промышленности органических и неорганических веществ. Часть II - СПб: Мир и Семья, 2002 - 1142 с.
2. Никтин Г.А. Биохимические основы микробиологических производств: Учеб. пособие. – Київ: Вища школа. Головное изд-во, 1981. – 312 с.
3. Манаков М.Н. Теоретические основы технологии микробиологических производств / М.Н. Манаков, Д.Г. Победимский - М.: Агропромиздат, 1990 - 272 с.
4. Мосичев М.С., Складнев А.А., Котов В.Б. Общая технология микробиологических производств/ М.С. Мосичев, А.А. Складнев, В.Б. Котов. Учебное пособие, - М.: Легкая и пищевая промышленность, 1982 - 264 с.
5. Bentley, R., and Thiessen, C. P. (1957a). Biosynthesis of itaconic acid in *Aspergillus terreus*. I. Tracer studies with C14-labeled substrates. J. Biol. Chem. 226, 673–687.
6. Adler, J., Wang, S. F., and Lardy, H. A. (1957). The metabolism of itaconic acid by liver mitochondria. J. Biol. Chem. 229, 865–879.
7. Bentley, R., and Thiessen, C. P. (1957b). Biosynthesis of itaconic acid in *Aspergillus terreus*. III. The properties and reaction mechanism of cis-aconitic acid decarboxylase. J. Biol. Chem. 226, 703–720.
8. Bonnarme, P., Gillet, B., Sepulchre, A. M., Role, C., Beloeil, J. C., and Ducrocq, C. (1995). Itaconate biosynthesis in *Aspergillus terreus*. J. Bacteriol. 177, 3573–3578.
9. Cooper, R. A, and Kornberg, H. L. (1964). The utilization of itaconate by *Pseudomonas* sp. Biochem. J. 91, 82–91.

10. Сидоров Ю.І. Процеси і апарати мікробіологічної та фармацевтичної промисловості/ Ю.І. Сидоров, Р.Й. Влязло, В.П. Новіков. – Л.: Інтеллект-Захід, 2008. – 737 с.
11. Биотехнология: Учеб. пособие для вузов: В 8 кн./ Под. ред. Н.С.Егорова, В.Д. Самуилова. Кн. 4. Автоматизация биотехнологических исследований/ Д.В. Зудин, В.М. Кантере, Г.А. Угодчиков. – М.: Высш. шк., 1987. – 112 с.; ил. 3
12. Соколов В. Н., Яблокова М. А. Аппаратура микробиологической промышленности. – Л.: Машиностроение. Ленингр. Отд-ние, 1988. – 278 с.
13. Гапонов К.П. Процессы и аппараты микробиологических производств. – М.: Легкая и пищевая пром-сть, 1981. – 240 с.
14. Стренк Ф. Перемешивание и аппараты с мешалками. Польша, 1971. Пер. с польск. под ред. Щупляка И.А. – Л.: «Химия», 1975. – 384 с.
15. ГОСТ 6533-78. Днища эллиптические отбортованные стальные для сосудов, аппаратов и котлов. Основные размеры.
16. РД 26-01-90-85 Механические перемешивающие устройства. Метод расчета.
17. ДСТУ 2293-99 Охорона праці. Терміни та визначення основних понять. – Введ. 01.01.1992.
18. Основи охорони праці: Підручник. 2-ге видання, доповнене та перероблене/К.Н.Ткачук, М.О. Халімовський, В.В.Зацарний, Д.В.Зеркалов За ред. К.Н. Ткачука і М.О. Халімовського.-К.: Основа,2006. –С.234.
19. Биотехнология: Учеб. пособие для вузов: В 8 кн./ Под. ред. Н.С. Егорова, В.Д. Самуилова. Кн. 4. Автоматизация биотехнологических исследований/ Д.В. Зудин, В.М. Кантере, Г.А. Угодчиков. – М.: Высш. шк., 1987. – 112 с.

20. Слесарев Ю.Н. Правила безопасности для производств микробиологической промышленности, 2-е изд., доп., М. Недра. – 1980, 30 с
21. Эльтерман В. М. Вентиляция химических производств. – М.: Химия, 1980. – 288 с.
22. Внутренние санитарно–технические устройства / Под ред. И. Г. Староверова: Ч. 3. Вентиляция и кондиционирование воздуха. – М.: Стройиздат, 1978. – 509 с.
23. Пикман И. Я. Электрическое освещение взрывоопасных и пожароопасных зон.– М.: Энергоатомиздат, 1985. – 104с.
24. Справочная книга по светотехнике / Под ред. Ю Б. Айзенберга. – М.:Энергоатомиздат, 1983. – 472 с.
25. Борьба с шумом на производстве: Справочник / Е. Я. Юдин, Л. А .Борисов, И. В. Горенштейн. Под общ. ред. Е. Я. Юдина – М.: Машиностроение, 1985. – 400 с.
26. Пелевин Б. В. Предупреждение пожаров от электроустановок на промышленных предприятиях– М.: Стройиздат, 1982. – 80 с.
27. Справочник проектировщика промышленных, жилых и общественных зданий и сооружений. Вентиляция и кондиционирование воздуха (внутренние санитарно-технические устройства)/ Под ред. И. Г. Староверова: Ч. 2.. - М.: Стройиздат, 1978.-509 с.
28. Рябов И. В. Пожарная безопасность веществ и материалов, применяемых в химической промышленности– М.: Химия,1970. – 336 с.
29. ДСН 3.3.6.042–99. Санітарні норми мікроклімату виробничих приміщень. – 12 с.
30. ДСН 3.3.6.037–99. Санітарні норми виробничого шуму, ультразвуку та інфразвуку. – 21 с.

- 31. ДСН 3.3.6.039–99. Державні санітарні норми виробничої загальної та локальної вібрації. – 4 с.
- 32. ГОСТ 12.1.005–88. Общие санитарно-гигиенические требования к воздуху рабочей зоны. – 50 с.
- 33.