

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ТЕХНІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ УКРАЇНИ
«КИЇВСЬКИЙ ПОЛІТЕХНІЧНИЙ ІНСТИТУТ
імені ІГОРЯ СІКОРСЬКОГО»

БІОТЕХНОЛОГІЯ ТА БІОІНЖЕНЕРІЯ. ЧАСТИНА 1. ОСНОВИ БІОТЕХНОЛОГІЇ РЕКОМЕНДАЦІЇ ДО ВИКОНАННЯ ПРАКТИЧНИХ РОБІТ

Навчальний посібник

Рекомендовано Методичною радою КПІ ім. Ігоря Сікорського
як навчальний посібник для здобувачів ступеня бакалавра
за освітньою програмою «Регенеративна та біофармацевтична інженерія»
спеціальності 163 Біомедична інженерія

Укладачі: В. В. Мотроненко, Т. М. Луценко, Л. М. Дронько

Електронне мережне навчальне видання

Київ
КПІ ім. Ігоря Сікорського
2022

в.о. завідувача кафедри біоенергетики, біоінформатики та
екобіотехнології
д.т.н., доц. *Голуб Н. Б.*

Галкін О. Ю., д.б.н., проф.

*Гриф надано Методичною радою КПП ім. Ігоря Сікорського
(протокол № 6 від 24.06.2022 р.)
за поданням Вченої ради факультету біомедичної інженерії
(протокол № 10 від 31.05.2022 р.)*

У навчальному посібнику «Біотехнологія та біоінженерія. Частина 1. Основи біотехнології: рекомендації до виконання практичних робіт» викладено необхідну для студентів інформацію для виконання практичних робіт з дисципліни Біотехнологія та біоінженерія. Частина 1. Основи біотехнології. Запропонований посібник містить всю необхідну для здобувачів інформацію для підготовки до практичної роботи та до її виконання. У навчальному посібнику приділено увагу логічному та послідовному викладенню щодо виконання практичної роботи, надано інформацію стосовно необхідних довідкових даних для їх виконання, наведено приклади виконання завдань. В посібнику практичні роботи викладено таким чином щоб здобувачі отримали логічні структуровані знання після її вивчення. До кожної практичної роботи наведено теоретичні відомості в яких міститься вся необхідна інформація для виконання роботи.

Навчальний посібник «Біотехнологія та біоінженерія. Частина 1. Основи біотехнології: рекомендації до виконання практичних робіт» призначений для здобувачів ступеня бакалавра за спеціальністю 163 Біомедична інженерія, освітньою програмою «Регенеративна та біофармацевтична інженерія, та може буди також корисним для здобувачів що навчаються за суміжними спеціальностями та освітніми програмами.

Реєстр. № НП 21/22-699. Обсяг 4,4 авт. арк.

Національний технічний університет України
«Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського»
проспект Перемоги, 37, м. Київ, 03056
<https://kpi.ua>

Свідцтво про внесення до Державного реєстру видавців, виготовлювачів
і розповсюджувачів видавничої продукції ДК № 5354 від 25.05.2017 р.

© КПІ ім. Ігоря Сікорського, 2022

ЗМІСТ

ВСТУП.....	4
ПРАКТИЧНА РОБОТА №1 ПРИНЦИПИ СТВОРЕННЯ ПОЖИВНИХ СЕРЕДОВИЩ ДЛЯ ВИРОЩУВАННЯ МІКРООРГАНІЗМІВ	6
ПРАКТИЧНА РОБОТА №2 РОЗРАХУНОК ЕФЕКТИВНОСТІ СТЕРИЛІЗАЦІЇ ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА.....	15
ПРАКТИЧНА РОБОТА №3 РОЗРАХУНОК ЕФЕКТИВНОСТІ СТЕРИЛІЗАЦІЇ ПОВІТРЯ ДЛЯ АЕРАЦІЇ	32
ПРАКТИЧНА РОБОТА №4 ПІДГОТОВКА ПОСІВНОГО МАТЕРІАЛУ	40
ПРАКТИЧНА РОБОТА № 5 РОЗРАХУНОК КРИТЕРІЇВ ЕФЕКТИВНОСТІ ФЕРМЕНТАЦІЇ	47
ПРАКТИЧНА РОБОТА №6 РОЗРАХУНОК ЄМНОСТІ ФЕРМЕНТЕРІВ БЕЗПЕРЕРВНОЇ ДІЇ.....	63
ПРАКТИЧНА РОБОТА № 7-8 ПРОДУКТОВИЙ РОЗРАХУНОК ПРОЦЕСУ ОДЕРЖАННЯ ПРОДУКТІВ МІКРОБНОГО СИНТЕЗУ ТА СКЛАДАННЯ МАТЕРІАЛЬНОГО БАЛАНСУ	83
РЕКОМЕНДАЦІЇ З ВИКОНАННЯ ПРАКТИЧНИХ РОБІТ.....	94
СИСТЕМА ОЦІНЮВАННЯ ПРАКТИЧНИХ РОБІТ.....	95
СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ	96

ВСТУП

Освітній компонент «Біотехнологія та біоінженерія. Частина 1. Основи біотехнології» є базовою дисципліною професійної підготовки здобувачів освітнього ступеню бакалавра за освітньою програмою «Регенеративна та біофармацевтична інженерія» спеціальності 163 Біомедична інженерія. У межах вивчення передбачено що студенти отримають знання щодо: різноманіття біотехнологічних продуцентів та особливостей використання кожного їх виду, підготовки біотехнологічних процесів та їх складових (сировина, матеріали, комунікації, персонал, обладнання, тощо), проведення біотехнологічних процесів та їх особливостей в залежності від біологічних об'єктів, виділення та очистки цільових продуктів біосинтезу в залежності від їх кінцевого призначення, а також переробки та утилізації відходів з використанням біотехнологічних процесів.

Вивчення дисципліни дозволить студентам опанувати основні фахові компетентності передбачені освітньою програмою, а саме: здатність вивчати та застосовувати нові методи та інструменти аналізу, моделювання, проєктування та оптимізації медичних приладів та систем; здатність ефективно використовувати інструменти та методи для аналізу, проєктування, розрахунку та випробувань при розробці біомедичних продуктів і послуг; здатність аналізувати біологічні об'єкти різних форм організації (акаріоти, прокаріоти, еукаріоти: клітини та тканини людини й тварин) та окремі їх частини (білки, нуклеїнові кислоти тощо) використовуючи біологічні, хімічні, фізичні та математичні методи; здатність проєктувати та організовувати виробничі процеси за участю біологічних об'єктів різних форм організації (біологічних агентів) для отримання продуктів біосинтезу чи біотрансформації оздоровчого, профілактичного або лікувального (біофармацевтичного) призначення або для розробки біомедичних технологій; здатність до інтегрованого використання інженерних та біологічних методів для розробки, проєктування, реалізації регенеративних та біофармацевтичних технологій, а також інженерних основ трансляційної медицини.

Невід'ємною частиною опанування даної освітньої компоненти для формування зазначених знань та фахових компетентностей є практична підготовка здобувачів, яка може сформуватися при виконанні практичних робіт. При виконанні практичних робіт формуються навички та уміння необхідні для практичної реалізації отриманих теоретичних знань та їх реалізації в умовах проведення реальних розрахунків біотехнологічних процесів. А саме, принципи створення поживних середовищ, розрахунки ефективності стерилізації поживних середовищ, розрахунки ефективності стерилізації повітря для аерації, розрахунки етапів підготовки посівного матеріалу, розрахунки критеріїв ефективності процесів біосинтезу, складання продуктового розрахунку одержання продуктів мікробного синтезу, тощо.

Представлений початковий посібник необхідний для допомоги студентам при підготовці та виконанні практичних робіт передбачених навчальним планом. Практичні роботи побудовані таким чином, щоб надати студентам повну інформацію про тему, мету, теоретичні відомості та приклади виконання завдань. Кожна робота містить основні теоретичні відомості в яких обґрунтовано теоретичні основи до практичних завдань, що будуть виконуватися здобувачами. У кінці роботи надано завдання для самостійного виконання та перелік запитань для самоперевірки, які дозволять студенту закріпити вивчений матеріал.

Окрім вище наведеного, навчальний посібник містить рекомендації до виконання практичних робіт та систему їх оцінювання.

ПРАКТИЧНА РОБОТА №1

ПРИНЦИПИ СТВОРЕННЯ ПОЖИВНИХ СЕРЕДОВИЩ ДЛЯ ВИРОЩУВАННЯ МІКРООРГАНІЗМІВ

Мета роботи: засвоєння принципів складання поживних середовищ і вивчення умов культивування мікроорганізмів.

Теоретичні відомості

Поживні середовища, на яких вирощують мікроорганізми, мають відповідати таким мінімальним вимогам: у них мають бути присутні всі елементи, з яких будується клітина, причому в такій формі, в якій мікроорганізми здатні їх засвоювати.

До складу бактеріальної клітини входять такі елементи (% до маси сухої речовини): вуглець – 50; кисень – 20; азот – 10-14; водень – 8; фосфор – 3; сірка, калій, натрій – 1; кальцій, магній, хлор – 0,5; залізо – 0,2; решта елементів – близько 0,3.

Тільки невелика кількість елементів періодичної системи потрібна мікроорганізмам у відносно високих концентраціях (10^{-3} - 10^{-4} М). ***Це десять головних біологічних елементів:*** вуглець, кисень, водень, азот, сірка, фосфор, калій, магній, кальцій та залізо. Крім десяти головних біоелементів, мікроорганізмам необхідні міnorні біоелементи, джерелом яких, як правило, є водопровідна вода.

Численні потреби мікроорганізмів обумовлюють велике розмаїття поживних середовищ, а для окремих видів бактерій існують спеціальні середовища. Частину їх готують у лабораторіях безпосередньо перед посівом, але з кожним роком з'являються все нові й нові середовища заводського виготовлення (сухі), які здатні задовольнити найвибагливіші потреби мікробіологів. Вони зберігаються тривалий час, мають стандартний склад.

Середовища класифікують за консистенцією, складом, походженням, забрудненістю матеріалу та призначенням.

При класифікації поживних середовищ *за консистенцією* вони поділяють на **щільні (тверді), напіврідкі і рідкі**. Напіврідкі та щільні середовища готуються з рідких, додаючи відповідно 0,3-0,7 % та 1,5- 2,0 % агару.

Агар – це волокнистий матеріал, який добувають з морських водоростей. Складається він з полісахаридів (70-75 %), білків (2-3 %), основними складовими є високомолекулярні агароза та агаропептин. Агар розчиняється у воді при підвищеній температурі, а, застигаючи, надає середовищу желеподібну консистенцію та стійкість до ферментних систем бактерій. Саме за ці властивості він набув широкого розповсюдження у мікробіологічній практиці. Для створення щільних середовищ використовують також желатин (10-15 %).

При класифікації поживних середовищ *за складом* виділяють: **білкові, безбілкові і мінеральні** середовища.

При класифікації поживних середовищ *за походженням* середовища поділяють на **штучні та природні**.

Штучні середовища створюють шляхом комбінування різноманітних субстратів, що забезпечують ті чи інші потреби мікроорганізмів. Їх використовують, в основному, для експериментального вивчення окремих ланок метаболізму бактерій. Штучні середовища поділяють на тваринні (наприклад, м'ясо-пептонний агар (МПА) або м'ясо-пептонний бульйон (МПБ)) і рослинні (наприклад, настої сіна і соломи, відвари злаків, дріжджів або фруктів, пивне сусло та ін.).

Природні поживні середовища можуть містити компоненти тваринного (наприклад, кров, сироватка, жовч, молоко, яйця, м'язова тканина) або рослинного (наприклад, шматочки овочів і фруктів) походження.

Класифікація поживних середовищ *за забрудненістю матеріалу*. Якщо матеріал слабо забруднений сторонньою мікрофлорою, то для виділення чистих культур застосовують прості (за складом) середовища. Для пригнічення контамінації сапрофітами використовують спеціальні або елективні (для окремих видів), селективні (тільки для окремих бактерій), диференційно-діагностичні (для полегшення ідентифікації) середовища.

За призначенням виділяють консервуючі середовища (для первинного посіву та транспортування), середовища збагачення (для нагромадження певної групи бактерій), середовища для культивування (універсальні прості, складні спеціальні та для токсиноутворення), середовища для виділення та накопичення (консервуючі, збагачення та елективні) і середовища для ідентифікації (диференціальні й елективні-диференціальні).

Залежно від потреб поживні середовища поділяються на наступні основні групи:

Перша група – універсальні (прості) середовища. До них належать м'ясо-пептонний бульйон (МПБ) та м'ясо-пептонний агар (МПА). За своїм складом та наявністю живильних речовин вони придатні для культивування багатьох видів бактерій.

Друга група – спеціальні середовища. Вони використовуються в тих випадках, коли мікроорганізми не ростуть на простих. До них належать кров'яний та сироватковий агари, сироватковий бульйон, асцитичний бульйон (складається з рівних об'ємів поживного бульйону і стерильної асцитичної серозної рідини (рідше містить кров або лімфу), що накопичується в черевній порожнині при асциті (водянка), асцит-агар та інші.

Третя група – елективні середовища, на яких мікроорганізми певного виду ростуть швидше та інтенсивніше ніж інші види бактерій. Наприклад, 1 % лужна пептонна вода є елективним середовищем для холерних вібріонів, середовища Ру та Леффлера – для збудників дифтерії.

Четверта група – селективні середовища, які завдяки додаванню певних компонентів (жовч, фарби, антибіотики та ін.) здатні пригнічувати розвиток одних видів мікроорганізмів, але не впливають на інші види. Так, середовище Мюллера є селективним для тифо-паратифозних бактерій, фуразолідоновіновий агар – для коринебактерій і мікрококів. Додавання антибіотиків до складу середовищ робить їх селективними для грибів (напр. середовище Сабуро та ін.).

П'ята група – диференціально-діагностичні середовища. Це велика група середовищ, які дозволяють визначити певні біохімічні властивості

мікроорганізмів і проводити їх диференціацію. Вони поділяються на середовища для визначення протеолітичних, пептолітичних, цукролітичних, гемолітичних, ліполітичних, редукуючих властивостей (середовища Ендо, Левіна, Плоскірева, Гісса).

Живлення – процес отримання із навколишнього середовища і засвоєння організмом речовин та енергії, що використовуються ним для підтримання життєдіяльності, росту та розмноження. У процесі історичного розвитку (філогенезу) утворилося кілька груп організмів, що відрізняються за типом живлення і особливостями обміну речовин (табл. 1).

Таблиця 1.1. – Класифікація організмів за типом живлення

Джерело енергії	Джерело електронів	Джерело вуглецю	Група мікроорганізмів
світло	неорганічні сполуки	CO ₂	фотолітоавтотрофи
		органічні сполуки	фотолітогетеротрофи
	органічні сполуки	CO ₂	фотооргановтотрофи
		органічні сполуки	фотоорганогетеротрофи
хімічні реакції	неорганічні сполуки	CO ₂	хемолітоавтотрофи
		органічні сполуки	хемолітогетеротрофи
	органічні сполуки	CO ₂	хемооргановтотрофи
		органічні сполуки	хемоорганогетеротрофи

У класифікації типів живлення у мікроорганізмів використовують термінологію, запропоновану у 1946 р. на симпозіумі у Колд Спринг Харбор. Розглядають типи живлення (трофії) щодо:

- джерела енергії (**хемо** – хімічне, **фото** – світлове);
- донора електронів (**органо** – органічна речовина, **літо** – неорганічна; неорганічними донорами електронів є H₂, NH₃, H₂S, S, CO, Fe²⁺ та ін.);
- джерела вуглецю (**авто** – вуглекислота, **гетеро** – органічна сполука).

Тіло живих організмів складається із органічних речовин, основу яких становить хімічний елемент Карбон. Для багатьох організмів єдиним або

принаймним основним джерелом карбону є неорганічна сполука – вуглекислий газ. Такі організми називаються **автотрофами**. Хоча всі бактерії можуть засвоювати CO_2 , це дуже енергозатратний процес і багато з них віддають перевагу готовим органічним речовинам. Такої ж стратегії живлення – використання як джерела карбону органічних сполук, синтезованих іншими організмами, або гетеротрофності – дотримуються і тварини та гриби.

Крім карбону в процесі живлення організми також повинні отримувати енергію та електрони. Як джерело енергії може використовуватись тільки світло (**фототрофами**) та відновлені хімічні речовини (**хемотрофами**). Електрони організми можуть добувати з органічних речовин (тоді вони називаються **органотрофами**) або неорганічних (**літотрофи**).

Майже всі еукаріотичні організми та більшість прокариот належать до однієї із двох груп: **фотолітоавтотрофи** (інколи просто фотоавтотрофи) або **хемоорганогетеротрофи** (інколи хемогетеротрофи або просто гетеротрофи). Проте для бактерій характерна велика різноманітність типів метаболізму, серед них зустрічаються також і фотоорганогетеротрофи та хемолітоавтотрофи.

Приклади вирішення завдань

Завдання 1. Чи правильно вказаний склад поживного середовища, г/л: глюкоза – 15; NH_4Cl – 2,0; KCl – 0,5; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,2; $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ – 0,1?

Якщо так, для вирощування яких саме мікроорганізмів це середовище може бути використане?

Розв'язання. У середовищі наведеного складу глюкоза є джерелом вуглецю, кисню та водню, хлорид амонію – азоту, хлорид калію – калію, сульфат магнію – сірки та магнію, хлорид кальцію – джерелом кальцію. З необхідних 10 головних біоелементів у даному середовищі присутні лише вісім. Середовище не містить фосфору, який є компонентом нуклеїнових кислот, фосфоліпідів та нуклеотидів, а також заліза, що входить до складу цитохромів, фередоксинів, інших залізо-сіркопротеїдів, а також є кофактором ферментів.

Отже, поживне середовище наведеного складу непридатне для вирощування мікроорганізмів.

Завдання 2. Назвіть тип живлення, якщо джерелом енергії є NH_3 , донором електронів – NH_3 , джерелом вуглецю – CO_2 .

Розв'язання. Отже, згідно з умовою завдання, щодо джерела вуглецю (CO_2 , неорганічна сполука) тип живлення визначають як автотрофію, щодо джерела енергії (NH_3 , хімічна неорганічна сполука) – як хемотрофію, щодо донора електронів (NH_3 , неорганічна сполука) – як літотрофію. Тип живлення – хемолітоавтотрофія.

Завдання 3. Концентрація сульфату амонію у середовищі культивування бактерій становить 1,2 г/л. Розрахувати теоретично можливий рівень біомаси.

Розв'язання. Вміст азоту в біомасі бактерій становить 10-14 % від маси сухої речовини. Для визначення рівня біомаси, якого можна досягнути при культивуванні бактерій на середовищі з 1,2 г/л сульфату амонію, потрібно спочатку розрахувати вміст елементного азоту в даній солі. Молекулярна маса сульфату амонію – $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ – становить 132. Отже, у 132 г сульфату амонію міститься 28 г азоту, а в 1,2 г цієї солі вміст азоту дорівнює: $(1,2 \cdot 28)/132 = 0,26$ г. Якщо у біомасі міститься 10 % азоту, то з 0,26 г азоту можна одержати 2,6 г/л біомаси.

Завдання для самостійного виконання до практичної роботи № 1

1. Чи правильно вказаний склад поживного середовища? В 1 дм^3 води розчиняють: 0,7 г H_3PO_4 , 0,6 г KCl , 0,3 г $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$, 0,084 г $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$, 8 мл 0,1 н NaOH , 20 г глюкози. Якщо так, для вирощування яких саме мікроорганізмів це середовище може бути використане?

2. Чи правильно вказаний склад поживного середовища? В 1 дм^3 середовища міститься: 20 г сахарози, 3 г $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0,5 г NaCl , 0,4 г $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, 1 г KH_2PO_4 , 0,1 г FeHPO_4 . Якщо так, для вирощування яких саме мікроорганізмів це

середовище може бути використане?

3. Назвіть тип живлення, якщо джерелом енергії є світло, донором електронів – H_2 , джерелом вуглецю – CO_2 .

4. Назвіть тип живлення, якщо джерелом енергії є Fe^{+2} , донором електронів – глюкоза, джерелом вуглецю – глюкоза.

5. Назвіть тип живлення, якщо джерелом енергії є світло, донором електронів – NH_3 , джерелом вуглецю – глюкоза.

6. Концентрація фосфату амонію у середовищі культивування бактерій становить 15,5 г/л. Розрахувати теоретично можливий рівень біомаси.

7. Чи правильно вказаний склад поживного середовища? В 1 дм^3 води розчиняють: 0,9 г H_3PO_4 , 0,3 г KCl , 0,6 г $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$, 0,1 г $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$, 18 мл 0,1н NaOH , 60 г глюкози. Якщо так, для вирощування яких саме мікроорганізмів це середовище може бути використане?

8. Чи правильно вказаний склад поживного середовища? В 1 дм^3 середовища міститься: 40 г фруктози, 1,5 г $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0,2 г NaCl , 0,2 г $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, 1г KH_2PO_4 , 0,1г $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$. Якщо так, для вирощування яких саме мікроорганізмів це середовище може бути використане?

9. Назвіть тип живлення, якщо джерелом енергії є світло, донором електронів – H_2 , джерелом вуглецю – CO_2 .

10. Назвіть тип живлення, якщо джерелом енергії є Ca^{+2} , донором електронів – сахароза, джерелом вуглецю – глюкоза.

11. Назвіть тип живлення, якщо джерелом енергії є K^+ , донором електронів – глюкоза, джерелом вуглецю – CO_2 .

12. Концентрація $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ у середовищі культивування бактерій становить 8,4 г/л. Розрахувати теоретично можливий рівень біомаси.

13. Чи правильно вказаний склад поживного середовища? В 1 дм^3 води розчиняють: гідролізат казеїну - 15,00 г/л, дріжджовий екстракт - 5,00 г/л, глюкоза - 5,50 г/л, натрію хлорид - 2,50 г/л, L-цистин - 0,50 г/л, натрію тіогліколят - 0,50 г/л, резазурін - 0,001 г/л, агар-агар - 0,75 г/л. Якщо так, для вирощування яких саме мікроорганізмів це середовище може бути використане?

14. Чи правильно вказаний склад поживного середовища? В г/ дм^3

середовища міститься: сахароза або глюкоза – 20,0; NaNO_3 – 2,0; K_2HPO_4 – 1,0; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,5; KCl – 0,5; CaCO_3 – 3,0; агар – 20,0. Якщо так, для вирощування яких саме мікроорганізмів це середовище може бути використане?

15. Чи правильно вказаний склад поживного середовища? В 1 дм^3 середовища міститься, г: крохмаль (розчинний) – 10,0; $(\text{NH})_2\text{SO}_4$ – 2,0; K_2HPO_4 – 1,0; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 1,0; NaCl – 1 %; CaCO_3 – 3,0; агар – 20,0. Якщо так, для вирощування яких саме мікроорганізмів це середовище може бути використане?

16. Назвіть тип живлення, якщо джерелом енергії є хімічна реакція, донором електронів – фруктоза, джерелом вуглецю – CO_2 .

17. Назвіть тип живлення, якщо джерелом енергії є Mg^{+2} , донором електронів – глюкоза, джерелом вуглецю – CO_2 .

18. Назвіть тип живлення, якщо джерелом енергії є світло, донором електронів – глюкоза, джерелом вуглецю – CO_2 .

19. Концентрація фосфату амонію у середовищі культивування бактерій становить 12,7 г/л. Розрахувати теоретично можливий рівень біомаси.

20. Чи правильно вказаний склад поживного середовища? В 1 дм^3 води розчиняють: NaNO_3 – 2,5 г; KH_2PO_4 – 1,0 г; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,3 г; NaCl – 0,1 г; CaCl_2 – 0,1 г; FeCl – 0,01 г. Якщо так, для вирощування яких саме мікроорганізмів це середовище може бути використане?

21. Чи правильно вказаний склад поживного середовища? В 1 дм^3 середовища міститься: 10 г глюкози, 1,5 г $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0,2 г NaCl , 0,2 г $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, 0,1 г FeHPO_4 . Якщо так, для вирощування яких саме мікроорганізмів це середовище може бути використане?

22. Назвіть тип живлення, якщо джерелом енергії є світло, донором електронів – глюкоза, джерелом вуглецю – CO_2 .

23. Назвіть тип живлення, якщо джерелом енергії є світло, донором електронів – фруктоза, джерелом вуглецю – глюкоза.

24. Назвіть тип живлення, якщо джерелом енергії є хімічна реакція, донором електронів – NH_3 , джерелом вуглецю – CO_2 .

25. Концентрація нітрату амонію у середовищі культивування бактерій становить 15,5 г/л. Розрахувати теоретично можливий рівень біомаси.

Питання для самоконтролю

1. Що таке поживні середовища?
2. Як класифікують поживні середовища?
3. З чого виготовляють натуральні та синтетичні поживні середовища?
4. Якими поживні середовища бувають за консистенцією?
5. Що таке: основні, спеціальні, елективні, диференціально-діагностичні, консервувальні поживні середовища, середовища накопичення?
6. Які основні вимоги до поживних середовищ?
7. Що таке ферменти, екзоферменти, ендоферменти, ферменти захисту та агресії?
8. На яких середовищах та як вивчають сахаролітичні властивості?
9. Що таке протеолітичні, гемолітичні властивості, лецитиназна активність?
10. На яких середовищах вивчають протеолітичні, гемолітичні властивості, лецитиназну активність?

ПРАКТИЧНА РОБОТА №2

РОЗРАХУНОК ЕФЕКТИВНОСТІ СТЕРИЛІЗАЦІЇ ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА

Мета роботи: навчитися проводити розрахунок ефективності обраного режиму стерилізації поживного середовища з вказаними їх характеристиками.

Теоретичні відомості

Метою стерилізації є знищення всієї життєздатної мікрофлори, що знаходиться у поживному середовищі, у різних допоміжних рідких речовинах (наприклад, у піногаснику), а також на внутрішніх поверхнях обладнання та комунікацій.

Для стерилізації рідких поживних середовищ використовують два методи:

- **створення умов для загибелі мікрофлори** (для цього використовують високу температуру, бактерицидне опромінювання, хімічні дезінфікуючі агенти);
- **механічне фільтрування крізь пористі матеріали, які затримують клітини мікроорганізмів** (мікрофільтрування).

Перший метод більш поширений, при цьому в основному використовують нагрівання поживного середовища. Хімічні дезінфікуючі агенти практично не використовують, оскільки вони непередбачені та, як правило, негативно впливають на розвиток робочого продуцента. Бактерицидне опромінювання можна використовувати лише для прозорих поживних середовищ (наприклад, водних розчинів або чистої води); до того ж цей метод стерилізації мало доступний і досить дорогий.

Механічне фільтрування можна застосовувати лише для поживних середовищ, що не містять грубих нерозчинних частинок. На практиці такі поживні середовища готують лише в напівлабораторних умовах. Фільтрувальну стерилізацію можна також застосовувати для розчинів підживлювальних

компонентів, які готують в невеликих кількостях і які не можна піддавати дії високої температури (наприклад, розчини вітамінів).

Процес термічної стерилізації можна розділити на **три основні етапи**:

- нагрівання середовища або апарата до температури стерилізації,
- витримка при цій температурі впродовж часу, що забезпечує загибель всіх мікроорганізмів,
- олодження об'єкту до температури культивування.

Ефективність стерилізації залежить від температури, тривалості процесу, характеристик об'єкту (складу середовища), початкової концентрації мікрофлори, конструкції апарата та деяких інших факторів.

Характеристикою процесу стерилізації є **питома швидкість загибелі** мікроорганізмів, k – кількість мікроорганізмів, що гинуть за одиницю часу:

$$k = -\frac{1}{N} \times \frac{dN}{d\tau},$$

де N – кількість мікробних клітин (спор) у об'єкті, що стерилізується;

τ – тривалість стерилізації, хв.

Інтегруючи та враховуючи, що при $\tau = 0$, $N = N_0$, отримаємо вираз

$$N = N_0 \exp^{(-k\tau)},$$

тоді:

$$k = \frac{1}{\tau} \times \ln \frac{N_0}{N}$$

де N_0 - кількість життєздатних мікроорганізмів перед стерилізацією.

Величину нестерильності N в мікробіологічній промисловості приймають 0,01. Це означає, що в середньому в одній зі 100 операцій стерилізації в усьому об'ємі виживе лише одна клітина. Оскільки N обрана незалежно від об'єму середовища, то тривалість стерилізації залежить від масштабу виробництва:

$$\tau = \frac{1}{k} \ln \frac{C_0 V_p}{N}$$

де C_0 – концентрація клітин у вихідному середовищі, клітин/м³;

V_p – об'єм середовища, м³.

Вважається, що наявність навіть одного мікроорганізму у простерилізованому об'єкті призводить до інфікування процесу і такий режим

стерилізації є неефективним. Тобто, ефективний режим стерилізації характеризується показником об'єкту $N < 1$ (кількість мікроорганізмів після стерилізації менше одного).

Питома швидкість загибелі k не залежить від концентрації мікроорганізмів, а залежить від їх виду. Разом з тим, окремі особини однієї культури по-різному реагують на вплив температури.

Тому експериментально можливо визначити лише середнє значення k :

$$k = 1/\tau_{\text{сер}}, \text{ хв}^{-1}$$

Вчені Ф. Х. Дейндорфер та А. Е. Хемфрі, що досліджували вплив температур на динаміку загибелі спор мікроорганізмів, запропонували позначити вираз

$\ln N_0 / N = \nabla$ (набла) та назвали його критерієм стерилізації.

При сталій температурі:

$$\nabla = k\tau$$

Для розрахунку ефективності прийнятого режиму стерилізації, використовують **табличне значення k** , що встановлене за експериментальними даними для найбільш термостійкого еталонного мікроорганізму – *Bacillus stearothermophilus* 1518 (табл. 2.1.).

Для розрахунку та обґрунтування режиму стерилізації при неізотермічних умовах реального виробництва використовують **наближений метод Т. Річардса**. Метод передбачає врахування критерію стерилізації при нагріванні об'єкта (∇_n), при витримці (∇_b) та охолодженні (∇_{ox}). Значення критеріїв стерилізації при нагріванні та охолодженні при сталій зміні температури зі швидкістю 1 °С/хв розраховані експериментально та наведені в табл. 2.1. Якщо температура нагрівання чи охолодження відрізняється від наведених табличних даних (не 1 °С/хв), то для розрахунку дійсного критерію стерилізації використовують співвідношення:

$$\nabla = \nabla_T \times \frac{\tau}{(t_{\text{ст}} - 100)},$$

де ∇_m – табличне значення;

τ – тривалість зміни температури від 100 °С до $t_{\text{ст}}$, хв;

t_{cm} – температура стерилізації, °C .

Загальний ефект стерилізації визначається як сума критеріїв стерилізації :

$$\sum V = V_H + V_{\epsilon} + V_{ox}.$$

Таблиця 2.1. – Значення критерію стерилізації для спор *Bacillus stearothermophilus* 1518 при різних температурах

Темпера- тура, °C	k , хв ⁻¹	$\nabla_{нт}$ або $\nabla_{охт}$	Темпера- тура, °C	k , хв ⁻¹	$\nabla_{нт}$ або $\nabla_{охт}$
100	0,013	0,013	122	2,440	11,825
101	0,017	0,030	123	3,075	14,900
102	0,023	0,053	124	3,765	18,665
103	0,030	0,083	125	4,570	23,235
104	0,036	0,119	126	5,9	29,13
105	0,038	0,167	127	7,4	36,53
106	0,062	0,229	128	9,3	45,88
107	0,083	0,312	129	11,7	57,58
108	0,109	0,421	130	14,8	72,38
109	0,135	0,556	131	16,6	88,98
110	0,163	0,719	132	18,6	107,58
111	0,193	0,912	133	23,4	130,98
112	0,234	1,146	134	29,5	160,48
113	0,302	1,448	135	37,2	197,68
114	0,412	1,860	136	46,8	244,48
115	0,540	2,400	137	59,0	298,48
116	0,653	3,053	138	74,2	377,68
117	0,810	3,863	139	93,5	471,18
118	1,002	4,865	140	104,8	474,98
119	1,210	6,075	141	118,0	693,98
120	1,480	7,550	142	148,0	841,98
121	1,830	9,385	143	—	—

Періодична стерилізація. Періодична стерилізація полягає в тому, що підготоване поживне середовище нагрівають в тому самому реакторі, в якому буде проводитись ферментація, глухою або гострою парою до температури стерилізації, витримують деякий час (звичайно 30-40 хвилин), а потім охолоджують водою до температури ферментації, перепускаючи воду крізь сорочку або зміювик реактора. Метод відрізняється простотою та надійністю, але має і недоліки:

- внаслідок тривалішого часу витримання, ніж при безперервному процесі, погіршується якість поживного середовища,
- потрібна більша кількість пари,
- періодичний процес важко піддається автоматизації,
- температура стерилізації не повинна перевищувати 130 °С, оскільки реакційна апаратура, як правило, не розрахована на тиски більше 0,3 МПа, а в разі використання більш високих температур, тиск в апараті може перевищувати цю величину.

В цілому треба пам'ятати, що деякі субстрати не витримують нагрівання до температури вище ніж 120 °С (цукри), а суміші цукрів та білків взагалі не можна нагрівати, оскільки утворюються олігомерні меланоїдні сполуки чорного кольору, які не будуть споживатись, але заважатимуть нормальному росту клітин. В останньому випадку рекомендують стерилізувати компоненти окремо, поєднуючи їх після охолодження.

Розраховуючи час витримання, треба пам'ятати, що в процесі нагрівання до температури стерилізації вже відбувається відмирання мікрофлори і цей процес треба враховувати.

Періодичну стерилізацію використовують для, порівняно, невеликих об'ємів поживного середовища.

Безперервна стерилізація. Під час безперервної стерилізації приготоване поживне середовище сталим потоком прокачують через систему апаратів у попередньо простерилізований ферментер. Система складається з нагрівача, в якому поживне середовище змішується з гострою парою, витримувача, в якому

відбувається власне стерилізація, та холодильника, в якому відбувається охолодження стерильного поживного середовища до температури ферментації.

На рис. 2.1 наведено принципову технологічну схему лінії безперервної стерилізації.

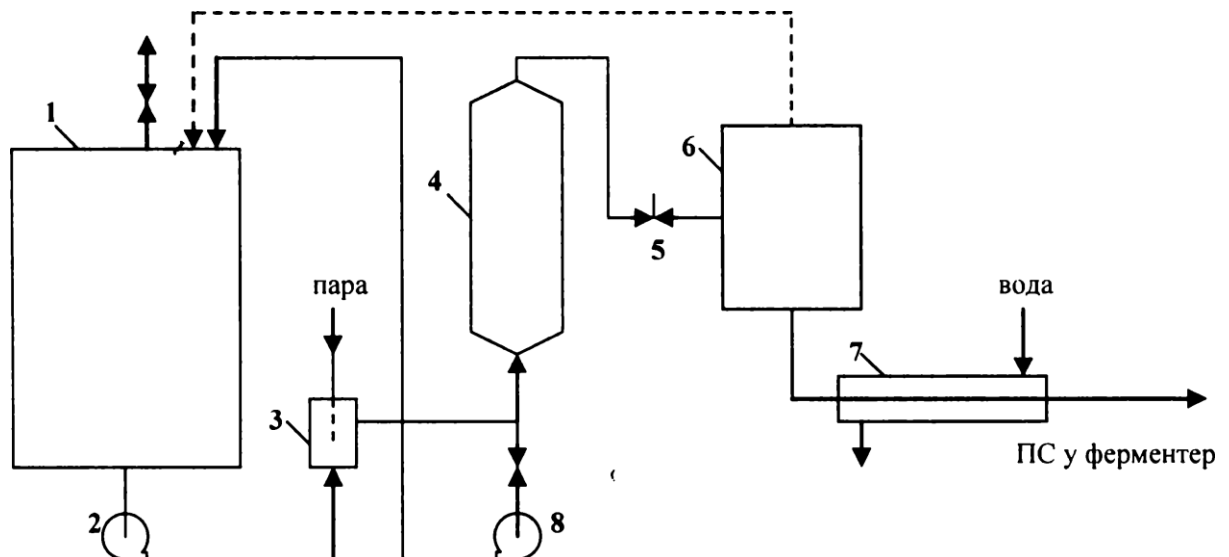


Рисунок 2.1. Принципова схема лінії безперервної стерилізації з утилізацією вторинної пари: 1 – реактор-змішувач, 2, 8 – насос, 3 – нагрівач, 4 – витримувач, 5 – редукційний клапан, 6 – збірник, 7 – теплообмінник.

У реакторі-змішувачі 1 готують поживне середовище. Приготоване поживне середовище насосом 2 безперервним потоком спрямовують у нагрівач (колонка швидкісного нагріву) 3, в який подають також гостру пару. За рахунок конденсації пари майже миттєво утворюється гаряча суміш. Суміш подають знизу в колонку-витримувач 4 (в залежності від продуктивності може бути кілька послідовно встановлених витримувачі), з якої вже стерильну суміш через редукційний клапан 5 спрямовують в ємність 6. За рахунок зниження тиску частина води в суміші перетворюється на вторинну пару. В ємності 6 відбувається відділення пари від рідкої фази. З метою утилізації вторинну пару спрямовують в реактор-змішувач 1 для попереднього нагрівання поживного середовища. Рідку фазу з ємності 6 перетискають крізь теплообмінник типу «труба у трубі» (або пластинчатий) 7 і спрямовують в підготований ферментер. При високих продуктивностях теплообмінник 7 можна використовувати для

попереднього нагріву поживного середовища перед подачею в нагрівач. Також, для охолодження можна використовувати два послідовно встановлені теплообмінники.

Вітчизняна мікробіологічна промисловість застосовує вітчизняні ж лінії безперервної стерилізації типу УНС продуктивністю 5, 20 та 50 м³/год.. Характеристики цих ліній наведено в табл. 2.2.

Таблиця 2.2. – Технічні характеристики стандартних ліній УНС

Характеристика	УНС-5	УНС-20	УНС-50
Максимальна продуктивність, м ³ /год	5	20	50
Тип насоса	вихровий 2,5 В - 1,8	відцентровий 3К-6	відцентровий 4К-6а
Ємність нагрівача, дм ³	25	100	250
Тип витримувача	Змійовик (11 витків труби 89×4,5 довжиною 3,4 м	ємність	ємність
Кількість витримувачів їх ємність, м ³	1 × 0,17	3 × 1,7	3 × 5,1
Габарити витримувача (діаметр, м × висота, м)	1 × 1	0,6 × 6	0,8 × 10
Тип рекуператора	відсутній	пластинчастий 100 м ²	пластинчастий 125 м ²
Габарити рекуператора	-	2935×730×1770	2935×730×1770
Тип холодильника	«труба у трубі», 20 м ²	пластинчастий 40 м ²	пластинчастий, 80 м ²

Габарити холодильника	0,7 (діаметр) × 9	1795×730×1770	1795×730×1770
--------------------------	-------------------	---------------	---------------

Приклади виконання завдань

Завдання 1. Розрахуйте, чи є ефективним наступний режим стерилізації поживного середовища об'ємом 1 м³: нагрівання від 100 до 125 °С впродовж 25 хв, витримування при 125 °С впродовж 10 хв, охолодження від 125 до 100 °С впродовж 20 хв. Концентрація мікроорганізмів у середовищі становить 10⁵ од/мл.

Розв'язання. Для розрахунку ефективності даного режиму стерилізації потрібно визначити кількість мікроорганізмів, що лишилася у середовищі після стерилізації (N). Якщо цей показник менше 1 – режим є ефективним і забезпечує знищення всієї мікрофлори.

$$N = N_0 \exp(-k\tau) \text{ або } N = N_0 \exp(-\nabla) = C_0 V \exp(-\nabla)$$

Отже, необхідно визначити значення загального критерію стерилізації, що досягається в процесі стерилізації. Для цього потрібно визначити окремі критерії стерилізації при нагріванні, витримці та охолодженні середовища у зазначеному режимі.

Нагрівання середовища від 100 до 125 °С відбувається впродовж 25 хв (тобто зі швидкістю 1 °С/хв), тому критерій стерилізації при нагріванні ∇_n визначаємо за таблицею 2.1. При температурі 125 °С він становить 23,235. Режим охолодження середовища відрізняється від прийнятого при складанні таблиці, тому для розрахунку реального критерію стерилізації при охолодженні скористаємося формулою

$$\nabla = \nabla_T \times \frac{\tau}{(t_{\text{ст}} - 100)},$$

∇_T при температурі 125 °С становить 23, 235, а, отже

$$\nabla_{ox} = 23,235 \times 20 / (125 - 100) = 18,59$$

Критерій стерилізації при витримці середовища при температурі 125°C розрахуємо, використовуючи дані табл. 2 та формулу $\nabla = k\tau$:

$$\nabla_b = 4,57 \times 10 = 45,7$$

Таким чином, загальний критерій стерилізації, що досягається при даному режимі становить

$$\Sigma \nabla = \nabla_n + \nabla_b + \nabla_{ox} = 23,235 + 45,7 + 18,59 = 87,525$$

Перевіримо ефект стерилізації (враховуючи, що $1 \text{ м}^3 = 10^6 \text{ мл}$):

$$N = C_0 V \exp^{(-\nabla)} = 10^5 \times 1 \times 10^6 \exp^{(-87,525)} = 10^{11} \times 1,1 \times 10^{-38} = 1,1 \times 10^{-27} \text{ кл}$$

Отже, $N = 1,1 \times 10^{-27}$, ($N < 1$), що вказує на ефективність даного режиму для стерилізації поживного середовища з зазначеними показниками.

Завдання 2. Розрахувати час стерилізації поживного середовища при концентрації клітин 2000 кл/см³. Об'єми поживного середовища 1 м³ та 1 дм³. Константа швидкості відмирання $k = 0,6 \text{ хв}^{-1}$.

Розв'язання. Для першого випадку час стерилізації становитиме:

$$\tau_1 = \frac{1}{0,6} \ln \frac{2000 \times 10^6 \times 1}{0,01} = 43,3 \text{ хв}$$

Для другого випадку:

$$\tau_1 = \frac{1}{0,6} \ln \frac{2000 \times 10^6 \times 0,001}{0,01} = 31,9 \text{ хв}$$

Загалом мікроорганізми здатні протистояти вищим температурам протягом тривалішого часу, ніж вищі організми, але найбільш стійкими серед них вважають спори термофільних бацил, які, наприклад, в мільйони разів є витривалішими, ніж кишкові палички, спори грибів або віруси. За еталон для розрахунків прийняті спори термофільної бактерії *Bacillus stearothermophilus*.

Для опису залежності константи швидкості відмирання від температури стерилізації використовують рівняння Арреніуса

$$k = A e^{-\frac{E}{RT}},$$

де A – передекспоненційний множник (для згаданих спор $A = 10^{47,2}$);

E – енергія активації (351000 Дж/моль);

R – газова стала (8,314 Дж/(моль×К));

T – абсолютна температура, К.

Завдання 3. Вихідна концентрація мікрофлори у поживному середовищі 10^7 кл/см³, час стерилізації при постійній температурі - 15 хвилин, об'єм поживного середовища 44,1 м³. Розрахувати температуру стерилізації.

Розв'язання. Розрахуємо константу швидкості витримування:

$$k = \frac{1}{15} \ln \frac{10^7 \times 10^6 \times 44,1}{0,01} = 1,1 \text{ хв}^{-1}$$

З іншого боку:

$$1,1 = 10^{\frac{351000}{8,314T}}$$

Звідси, знайдемо температуру витримування:

$$T = 389 \text{ К (або } 116 \text{ }^\circ\text{C)}.$$

Добуток часу стерилізації на константу швидкості відмирання називають критерієм стерилізації.

$$\nabla = k \times \tau$$

Критерій стерилізації є сталою величиною для певної величини нестерильності і для певного еталону. При довільній зміні температури стерилізації оберненопропорційно повинен змінитись час стерилізації і навпаки.

Завдання 4. Обрати лінію УНС для стерилізації 45 м³ поживного середовища, яке має засіяність сторонньою мікрофлорою 10^5 кл/см³ і провести технологічні розрахунки. Поживне середовище не допускає нагріву вище 112 °С, у процесі використовують насичену водяну пару під тиском 0,3 МПа, вихідна температура поживного середовища 20 °С, теплофізичні характеристики поживного середовища близькі до характеристик води. Рекуперацію тепла не враховувати.

Розв'язання. 1. Якщо встановлено лінію УНС-5, загальний час роботи лінії за максимальної продуктивності сягатиме 9 годин. При встановленні лінії УНС-20 – 2,25 години. Для лінії УНС-50 – 0,9 год (54 хв). Найбільш прийнятним є використання лінії УНС-20.

2. У разі під'єднання 1, 2 або 3 витримувачів час стерилізації буде становити відповідно:

$$1,7/20 = 0,085 \text{ год (5,1 хв),}$$

$$1,7 \times 2/20 = 0,17 \text{ год (10,2 хв),}$$

$$1,7 \times 3/20 = 0,255 \text{ год (15,3 хв).}$$

3. Визначаємо константу швидкості відмирання:

$$k = \frac{1}{\tau} \ln \frac{C_0 V_p}{N}$$

Таким чином:

$$k_1 = \frac{1}{5,1} \ln \frac{10^5 \times 10^6 \times 45}{0,01} = 6,616$$

Відповідно:

$$k_2 = 3,308,$$

$$k_3 = 2,205.$$

4. Знаходимо температуру стерилізації при різних варіантах підключення витримувачів:

$$k = Ae^{-\frac{E}{RT}}; 6,616 = 10^{47,2} e^{-\frac{351000}{8,314T_1}}$$

Звідси:

$$T_1 = 395,3 \text{ К (або } 122,3 \text{ } ^\circ\text{C}).$$

Відповідно:

$$T_2 = 392,8 \text{ К (або } 119,8 \text{ } ^\circ\text{C);}$$

$$T_3 = 391,3 \text{ К (або } 118,3 \text{ } ^\circ\text{C}).$$

5. Жоден з варіантів не дає можливості провести процес при 112 °C. Для розв'язання проблеми потрібно встановити або додаткові витримувачі, або знизити продуктивність лінії, зменшуючи потік поживного середовища. Оберемо другий варіант.

Знайдемо константу швидкості відмирання при 112 °C.

$$k = 10^{47,2} e^{-\frac{351000}{8,314(273+112)}} = 0,377 \text{ хв}^{-1}$$

Враховуючи новий об'єм поживного середовища, що повертається з витримувачів, час стерилізації (витримки) буде становити:

$$\tau = \frac{1}{k} \ln \frac{C_0(V + V_b)}{N}$$

де C_0 – концентрація клітину вихідному середовищі, клітин/м³,

V – об'єм середовища, м³,

V_b – об'єм середовища, що повертається з витримувачів, м³.

Знаходимо час стерилізації (витримки):

$$\tau = \frac{1}{0,377} \ln \frac{10^5 \times 10^6 \times (45 + 5,1)}{0,01} = 89,8 \text{ хв}$$

де $5,1 = 1,7 \cdot 3$ – об'єм поживного середовища, що повертається з витримувачів. (збільшення об'єму за рахунок додавання конденсату не враховано).

Знаходимо потік поживного середовища при використанні усіх витримувачів:

$$V_{\pi} = 5,1 / (89,8 : 60) = 3,42 \text{ м}^3/\text{год.}$$

Загальний час переробки партії поживного середовища за даної продуктивності лінії становить:

$$(45 + 5,1) / 3,42 = 14,6 \text{ год.}$$

Якщо врахувати, що нормативний додатковий час ферментації, який складається не тільки з часу завантаження стерильного поживного середовища, але й часу, потрібного на підготовку ферментера до циклу роботи, час, потрібний на передферментаційне регулювання параметрів тощо, становить 15-20 год., то можна зробити висновок, що такий варіант організації процесу стерилізації є неприпустимим.

6. Використаємо для проведення процесу лінію УНС-50 з усіма витримувачами.

Визначимо масу пари на проведення процесу:

а) Температура поживного середовища після змішування з поживним середовищем, що повертається з витримувачів, буде становити

$$t_b = \frac{45 \times 20 + 15,3 \times 112}{45 + 15,3} = 43,3 \text{ }^{\circ}\text{C}$$

б) Тепловий баланс змішування поживного середовища і гострої пари:

$$(45 + 15,3) \times 1000 \times 4,19 \times 43,3 + X\lambda + X \times 4,19(t_k - 112) = [(45 + 15,3) \times 1000 + X] \times$$

$$\times 4,19 \times 112,$$

де X – маса пари потрібна для нагрівання поживного середовища до температури стерилізації, кг;

λ – теплота конденсації пари (для пари 0,3 МПа $\lambda = 2171$ кДж/кг);

t_k – температура конденсації (132,9 °C).

Звідси:

$$X = 11252 \text{ кг (11,2 м}^3\text{)}.$$

Враховуючи новий об'єм поживного середовища, що повертається з витримувачів, час витримки буде становити

$$\tau = \frac{1}{0,377} \ln \frac{10^5 \times 10^6 \times (45 + 15,3)}{0,01} = 90,3 \text{ хв}$$

об'єм пари, яку не потрібно стерилізувати, тут не врахований. Тоді:

$$V_n = (5,1 \times 3) / (90,3 : 60) = 10,17 \text{ м}^3/\text{год},$$

а загальний час проведення процесу буде становити:

$$(45 + 15,3 + 11,2) / 10,17 = 7,03 \text{ год},$$

що можна прийняти, хоча лінія буде працювати на 20 % від своєї максимальної потужності.

7. Витрата пари протягом усього процесу стерилізації становитиме:

$$11252 / (7,03 \times 3600) = 0,44 \text{ кг/с}.$$

Завдання для самостійного виконання до практичної роботи № 2

1. Чи буде забезпечена повна стерильність поживного середовища об'ємом 10 м^3 із концентрацією спорового матеріалу 104 од/мл при наступному режимі стерилізації: нагрівання від 100 до 120 °C протягом 20 хв, витримка при 120 °C протягом 15 хв, охолодження від 120 до 100 °C протягом 20 хв ?

2. Визначте максимально припустиму концентрацію спорового матеріалу в середовищі об'ємом 10 м^3 , що буде цілком інактивована у режимі стерилізації: нагрівання від 100 до 125 °C на протязі 25 хв, витримка протягом 5 хв і охолодження від 125 до 100 °C протягом 25 хв.

3. Визначте максимально припустиму концентрацію спорового

матеріалу в середовищі об'ємом 100 м^3 , що буде цілком інактивована у режимі стерилізації: нагрівання від 100 до $135 \text{ }^\circ\text{C}$ на протязі 35 хв , витримка протягом 15 хв і охолодження від 135 до $100 \text{ }^\circ\text{C}$ протягом 35 хв .

4. Розрахуйте, чи є ефективним наступний режим стерилізації поживного середовища об'ємом 50 м^3 : нагрівання від 100 до $135 \text{ }^\circ\text{C}$ на протязі 20 хв , витримка при $135 \text{ }^\circ\text{C}$ 10 хв , охолодження від 125 до $100 \text{ }^\circ\text{C}$ на протязі 20 хв . Концентрація мікроорганізмів у середовищі становить 10^7 од/мл.

5. Розрахувати час стерилізації поживного середовища при концентрації клітин 5000 кл/см^3 . Об'єми середовища 10 м^3 та 1 дм^3 . Константа швидкості відмирання $k = 0,6 \text{ хв}^{-1}$.

6. Розрахувати час стерилізації поживного середовища при концентрації клітин 10000 кл/см^3 . Об'єми середовища 10 м^3 та 100 м^3 . Константа швидкості відмирання $k = 0,6 \text{ хв}^{-1}$.

7. Чи буде забезпечена повна стерильність поживного середовища об'ємом 10 м^3 із концентрацією спорового матеріалу 10^4 од/мл при наступному режимі стерилізації: нагрівання від 100 до $135 \text{ }^\circ\text{C}$ протягом 35 хв , витримка при $135 \text{ }^\circ\text{C}$ протягом 15 хв , охолодження від 135 до $100 \text{ }^\circ\text{C}$ протягом 45 хв ?

8. Вихідна концентрація мікрофлори у поживному середовищі 10^5 кл/см^3 , час стерилізації при постійній температурі – 25 хвилин, об'єм поживного середовища 65 м^3 . Розрахувати температуру стерилізації.

9. Вихідна концентрація мікрофлори у поживному середовищі 10^9 кл/см^3 , час стерилізації при постійній температурі – 45 хвилин, об'єм поживного середовища 100 м^3 . Розрахувати температуру стерилізації.

10. Обрати лінію УНС для стерилізації 10^5 м^3 поживного середовища, яке має засіяність сторонньою мікрофлорою 10^6 кл/см^3 і провести технологічні розрахунки. У процесі використовують насичену водяну пару під тиском $0,3 \text{ МПа}$, вихідна температура поживного середовища $23 \text{ }^\circ\text{C}$, теплофізичні характеристики поживного середовища близькі до характеристик води. Рекуперацію тепла не враховувати.

11. Обрати лінію УНС для стерилізації 10^6 м^3 поживного середовища, яке має засіяність сторонньою мікрофлорою 10^7 кл/см^3 і провести технологічні

розрахунки. У процесі використовують насичену водяну пару під тиском 0,3 МПа, вихідна температура поживного середовища 22 °С, теплофізичні характеристики поживного середовища близькі до характеристик води. Рекуперацію тепла не враховувати.

12. Витрата поживного середовища крізь лінію безперервної стерилізації $V_{\pi} = 0,002 \text{ м}^3/\text{с}$. Обсіменіння середовища - 10^8 клітин/см³, об'єм середовища – 10 м³, температура стерилізації – 125 °С. Знайти потрібну ємність витримувача.

13. Витрата поживного середовища крізь лінію безперервної стерилізації $V_{\pi} = 0,005 \text{ м}^3/\text{с}$. Обсіменіння середовища – 10^3 клітин/см³, об'єм середовища – 100 м³, температура стерилізації – 125 °С. Знайти потрібну ємність витримувача.

14. Витрата поживного середовища крізь лінію безперервної стерилізації $V_{\pi} = 0,005 \text{ м}^3/\text{с}$. Обсіменіння середовища – 10^6 клітин/см³, об'єм середовища – 100 м³, температура стерилізації – 135 °С. Знайти потрібну ємність витримувача.

15. Знайти час витримки при стерилізації 5000 м³ поживного середовища при 130 °С, якщо обсіменіння мікрофлорою становить 10^{13} кл/м³.

16. Знайти час витримки при стерилізації 100 м³ поживного середовища при 125 °С, якщо обсіменіння мікрофлорою становить 10^9 кл/м³.

17. Визначити температуру стерилізації і час перекачування поживного середовища об'ємом 200 м³, що має обсіменіння мікрофлорою 10^8 кл/см³, крізь стерилізатор у ферментери періодичної дії.

18. Знайти час роботи лінії УНС-5 і температуру стерилізації для стерилізації 34 м³ поживного середовища із обсіменінням мікрофлорою 10^7 кл/см³.

19. Знайти час витримки при стерилізації 63 м³ поживного середовища при 135 °С, якщо обсіменіння мікрофлорою становить 10^7 кл/м³.

20. Витрата поживного середовища крізь нагрівач лінії стерилізації 5 м³/год. Густина поживного середовища 10^{20} кг/м³, вихідна температура 40°С, температура стерилізації 126 °С. Визначити витрату пари, яку взято при тиску 3

атм (температура конденсації 132,9 °С, теплота конденсації 2171 кДж/кг).
Прийняти теплоємність ЖС 3,9 кДж/кгК.

21. Знайти час витримки при стерилізації 56 м³ поживного середовища при 125 °С, якщо обсіменіння мікрофлорою становить 10⁹ кл/м³.

22. Обсіменіння поживного середовища – 2000 кл/см³, стерилізують 10 м³ середовища. У скільки разів збільшиться час стерилізації, якщо об'єм поживного середовища збільшити в 10 разів?

23. Знайти час витримки при стерилізації 100 м³ поживного середовища при 135 °С, якщо обсіменіння мікрофлорою становить 10⁴ кл/м³.

24. Обсіменіння поживного середовища – 3000 кл/см³, стерилізують 62 м³ середовища. У скільки разів збільшиться час стерилізації, якщо об'єм поживного середовища збільшити в 3 рази?

25. Час стерилізації деякого об'єму поживного середовища при 125 °С – 2,89 хвилин. При деякому збільшенні об'єму час стерилізації збільшився в 1,08 раза і став перевищувати можливості лінії щодо об'єму витримувачів. Яка повинна бути температура, щоб час стерилізації в нових умовах не змінився?

Питання для самоконтролю

1. Мета процесу стерилізації?
2. Які існують методи стерилізації поживних середовищ?
3. Для яких середовищ можна використовувати бактерицидне опромінювання?
4. З яких етапів складається процес термічної стерилізації поживних середовищ?
5. Від чого залежить ефективність стерилізації?
6. В чому полягає принцип методу безперервної стерилізації?
7. На чому базується принцип наближеного метода Т. Річардса
8. Як визначається питома швидкість загибелі мікроорганізмів?
9. В чому полягає принцип методу періодичної стерилізації?
10. Охарактеризуйте складові елементи установки безперервної

стерилізації.

ПРАКТИЧНА РОБОТА №3

РОЗРАХУНОК ЕФЕКТИВНОСТІ СТЕРИЛІЗАЦІЇ ПОВІТРЯ ДЛЯ АЕРАЦІЇ

Мета роботи: навчитися проводити розрахунок ефективності обраного режиму стерилізації повітря з вказаними їх характеристиками.

Теоретичні відомості

В тому випадку коли продуцент біологічно активної речовини є строгим аеробом ефективне забезпечення мікроорганізмів розчиненим киснем є необхідним елементом процесу біосинтезу. При цьому необхідною умовою вирощування глибинної культури продуцента ферментів є асептичність, тому повітря, що подається на аерацію, має бути стерильним. Тому, важливою складовою забезпечення асептичних умов культивування є **підготовка стерильного повітря**. Ефективність стерилізації повітря у фільтрах очистки характеризують величиною коефіцієнта проскоку K_n , що є також характеристикою фільтруючого матеріалу або загалом фільтру:

$$K_n = CV/C_0V \times 100 \%,$$

або:

$$K_n = N/ N_0 \times 100 \%$$

де V - об'єм повітря, що проходить через фільтр, м^3 ;

C_0, C - концентрація мікроорганізмів у повітрі, що входить у фільтр та виходить з нього, відповідно, од/ м^3 .

Значення K_n , що визначене для ефективної стерилізації повітря знаходиться в межах 10^{-3} - 10^{-10} %. Величина $K_n = 10^{-3}$ % вказує на можливість інфікування в середньому однієї операції стерилізації з 10^3 проведених і характеризує теоретичну абсолютну стерильність. Умови реального виробництва впливають на процес стерилізації та зумовлюють підвищені вимоги до фільтруючих матеріалів для забезпечення ефективного очищення повітря.

Існує достатня кількість **методів забезпечення стерильності повітря** – обробка повітря хімічними, фізичними або іншими чинниками. Для біотехнологічних виробництв традиційними методами підготовки повітря є метод фільтрування через перегородки з різних матеріалів. Вибір методу стерилізації повітря в загальному вигляді є вибором фільтруючого матеріалу і способу його фіксації в корпусі фільтра.

Виходячи з теорії стерилізації повітря, для видалення контамінантів використовують волокнисті фільтруючі матеріали з різних мінеральних або органічних речовин, пористі перегородки з кераміки або полімерних матеріалів. Атмосферне повітря завжди містить дрібні тверді або рідкі частинки, які несуть на собі різноманітні мікроорганізми. У містах середня концентрація мікрофлори досягає $10^3 - 10^4$ клітин/м³ (кл/м³). В озелених районах ця концентрація становить $10^3 - 3 \cdot 10^4$ кл/м³. Саме там намагаються розташовувати підприємства тонкого мікробіологічного синтезу. Основною вимогою, що ставиться до аеруючого повітря, є його стерильність.

Звичайні методи очищення, що ґрунтуються на дії відцентрових сил (циклони), інерції (віддільники), промивці (скрубери, пінні апарати), а також електрофільтри, не знайшли розповсюдження, оскільки дозволяють одержувати повітря з коефіцієнтом проскоку $K_n = 3...5\%$. Ці методи застосовують лише для попереднього перед стерилізацією очищення атмосферного повітря.

Для отримання стерильного повітря з належними характеристиками використовують два методи:

- знищення мікрофлори за допомогою нагрівання або іонізуючого випромінювання, наприклад, за допомогою УФ-опромінювання,
- вилучення мікрофлори методом фільтрування.

Перший метод є більш надійним та ефективним, але для промислових масштабів є неприйнятним, оскільки у виробничих умовах витрачають занадто великі об'єми повітря, щоб можна було б говорити про економічну доцільність таких рішень.

В промислових умовах використовують в основному метод фільтрування крізь шари насипного, пористого або волокнистого матеріалу. Для попередньої

стерилізації використовують глибинні (набивні) фільтри на основі волокнистих матеріалів. Для остаточної стерилізації перед входом у ферментер встановлюють індивідуальні фільтри з розгорнутою поверхнею або абсолютні, які діють як сита, патронного типу. Абсолютні сита, створюють велику втрату тиску повітря й швидко забиваються, тому застосовують їх рідко.

Попри того, що волокна набивного фільтру розташовані між собою на відстанях на порядок більше діаметрів мікрочастинок, вони діють досить ефективно. При великих швидкостях частинки, проходячи шар волоконного фільтру, скоріше або пізніше зустрічають на своєму шляху волокно і затримуються ним (інерційний механізм осадження).

На рисунку 3.1 представлена принципова схема отримання аераційного повітря з зазначенням основних апаратів попереднього очищення повітря.

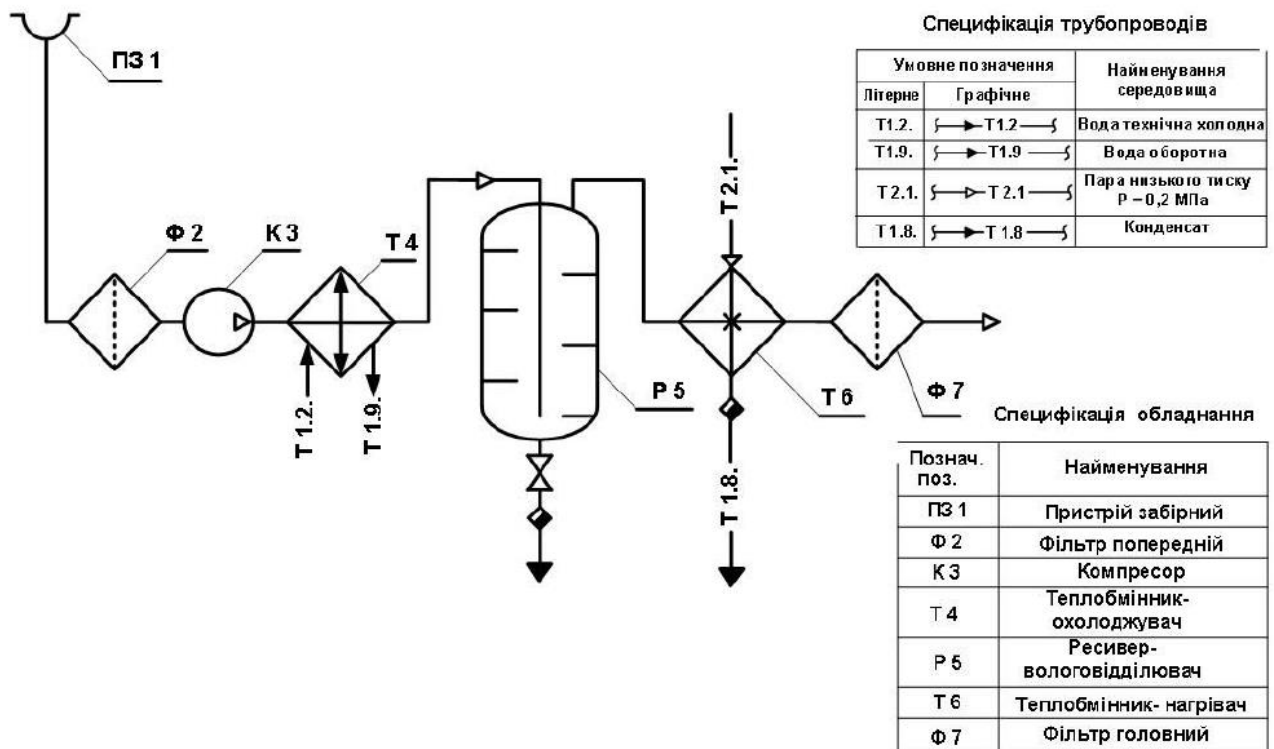


Рисунок 3.1. Апаратурна схема підготовки та стерилізації аераційного повітря

Показником ефективності процесу стерилізації повітря є відсутність мікроорганізмів у повітрі, що виходить з фільтру, тобто $N < 1$. Трансформуючи

наведену вище формулу, отримаємо вираз для визначення ефективності очистки повітря при застосуванні певного фільтруючого матеріалу:

$$N = K_n C_0 V 10^{-2}, \text{ од}$$

Загальна асептика процесу виробничого культивування, звичайно, обумовлена ефективною стерилізацією окремих об'єктів процесу – поживного середовища, повітря, апарата та інших.

Приклади виконання завдань

Завдання. 120 м³ культуральної рідини аерують стерильним повітрям. Коефіцієнт аерування 0,9. Температура ферментації 30 °С. Визначити кількість набивних фільтрів.

Розв'язання. 1. Об'єм повітря на аерацію, взятого за нормальних умов:

$$120 \times 0,9 = 108 \text{ м}^3/\text{хв.} = 1,8 \text{ м}^3/\text{с.}$$

2. Враховуючи, що повітря крізь набивний фільтр проходить підтиском 0,2-0,3 МПа (прийmemo 0,25 МПа) і за температури близької до температури ферментації, дійсна витрата повітря становитиме

$$V_n = 1,8 \times \left(\frac{273 + 30}{273} \right) \times \frac{1}{2,5} = 0,8 \text{ м}^3/\text{с}$$

3. Внутрішній діаметр ферментера 600 мм, а площа перерізу відповідно 0,28 м². Прийmemo середнє значення щільності укладання волокна (0,12). Тоді вільна площа перерізу буде становити:

$$0,88 \times 0,28 = 0,246 \text{ м}^2.$$

4. Прийmemo середню швидкість руху повітря 2 м/с. Тоді потрібна площа перерізу фільтра повинна бути:

$$0,8/2 = 0,4 \text{ м}^2.$$

5. Потрібна кількість стандартних набивних фільтрів

$$0,4/0,246 = 1,63 \text{ (2 штуки).}$$

Враховуючи, що потрібний і резерв, оскільки фільтри повинні працювати безперервною періодично в них замінюють фільтрувальний матеріал, дійсна кількість апаратів приймається в два рази більшою – 4 шт.

6. Максимальна продуктивність індивідуального фільтра

$$1000 \text{ м}^3/\text{год} = 0,28 \text{ м}^3/\text{с}.$$

Отже, потрібно встановити

$$0,8/0,28 = 2,85 \text{ (3) апарата} + 3 \text{ резервні}.$$

Якщо, припустимо, культуральна рідина розподілена у 3 ферментерах, то на кожний треба встановити по одному фільтру + 1 резервний.

Завдання для самостійного виконання до практичної роботи № 3

1. Яким значенням коефіцієнту проскоку повинен характеризуватися фільтруючий матеріал для забезпечення ефективної стерилізації повітря об'ємом 500 м^3 та концентрацією сторонньої мікрофлори 10^2 кл/м^3 ?

2. Кратність аерації – 0,75 (витрата повітря визначена за н.у.). Об'єм культуральної рідини – 50 м^3 . Повітря подається компресором при тиску повітря 2 атм і має температуру 40°C . Як головний взятий набивний фільтр з внутрішнім діаметром 0,6 м. Скільки потрібно встановити паралельно працюючих фільтрувальних апаратів, якщо швидкість руху повітря у фільтрах повинна становити $0,5 \text{ м/с}$?

3. 120 м^3 культуральної рідини аерують стерильним повітрям. Коефіцієнт аерування 0,9. Температура ферментації 30°C . Визначити кількість набивних фільтрів.

4. Яким значенням коефіцієнту проскоку повинен характеризуватися фільтруючий матеріал для забезпечення ефективної стерилізації повітря об'ємом 100 м^3 та концентрацією сторонньої мікрофлори 10^3 кл/м^3 ?

5. Кратність аерації – 0,85 (витрата повітря визначена за н.у.). Об'єм культуральної рідини – 100 м^3 . Повітря подається компресором при тиску повітря 2 атм і має температуру 35°C . Як головний взятий набивний фільтр з внутрішнім діаметром 0,6 м. Скільки потрібно встановити паралельно працюючих фільтрувальних апаратів, якщо швидкість руху повітря у фільтрах повинна становити $0,45 \text{ м/с}$?

6. 100 м^3 культуральної рідини аерують стерильним повітрям.

Коефіцієнт аерування 0,8. Температура ферментації 36 °С. Визначити кількість набивних фільтрів.

7. Яким значенням коефіцієнту проскоку повинен характеризуватися фільтруючий матеріал для забезпечення ефективної стерилізації повітря об'ємом 600 м³ та концентрацією сторонньої мікрофлори 10⁴ кл/м³ ?

8. Кратність аерації – 0,95 (витрата повітря визначена за н.у.). Об'єм культуральної рідини – 65 м³. Повітря подається компресором при тиску повітря 2 атм і має температуру 26 °С. Як головний взятий набивний фільтр з внутрішнім діаметром 0,6 м. Скільки потрібно встановити паралельно працюючих фільтрувальних апаратів, якщо швидкість руху повітря у фільтрах повинна становити 0,5 м/с?

9. 65 м³ культуральної рідини аерують стерильним повітрям. Коефіцієнт аерування 0,5. Температура ферментації 32 °С. Визначити кількість набивних фільтрів.

10. Яким значенням коефіцієнту проскоку повинен характеризуватися фільтруючий матеріал для забезпечення ефективної стерилізації повітря об'ємом 1000 м³ та концентрацією сторонньої мікрофлори 10² кл/м³ ?

11. Яким значенням коефіцієнту проскоку повинен характеризуватися фільтруючий матеріал для забезпечення ефективної стерилізації повітря об'ємом 2000 м³ та концентрацією сторонньої мікрофлори 10⁵ кл/м³ ?

12. Яким значенням коефіцієнту проскоку повинен характеризуватися фільтруючий матеріал для забезпечення ефективної стерилізації повітря об'ємом 800 м³ та концентрацією сторонньої мікрофлори 10³ кл/м³ ?

13. Яким значенням коефіцієнту проскоку повинен характеризуватися фільтруючий матеріал для забезпечення ефективної стерилізації повітря об'ємом 600 м³ та концентрацією сторонньої мікрофлори 10⁷ кл/м³ ?

14. Кратність аерації – 0,75 (витрата повітря визначена за н.у.). Об'єм культуральної рідини – 50 м³. Повітря подається компресором при тиску повітря 2 атм і має температуру 40 °С. Як головний взятий набивний фільтр з внутрішнім діаметром 0,6 м. Скільки потрібно встановити паралельно працюючих фільтрувальних апаратів, якщо швидкість руху повітря у фільтрах повинна

становити 0,5 м/с?

15. 120 м³ культуральної рідини аерують стерильним повітрям. Коефіцієнт аерування 0,9. Температура ферментації 30 °С. Визначити кількість набивних фільтрів.

16. Кратність аерації – 0,6 (витрата повітря визначена за н.у.). Об'єм культуральної рідини – 80 м³. Повітря подається компресором при тиску повітря 2 атм і має температуру 24 °С. Як головний взятий набивний фільтр з внутрішнім діаметром 0,6 м. Скільки потрібно встановити паралельно працюючих фільтрувальних апаратів, якщо швидкість руху повітря у фільтрах повинна становити 0,5 м/с?

17. 140 м³ культуральної рідини аерують стерильним повітрям. Коефіцієнт аерування 0,75. Температура ферментації 31 °С. Визначити кількість набивних фільтрів.

18. Кратність аерації – 0,6 (витрата повітря визначена за н.у.). Об'єм культуральної рідини – 120 м³. Повітря подається компресором при тиску повітря 2 атм і має температуру 29 °С. Як головний взятий набивний фільтр з внутрішнім діаметром 0,9 м. Скільки потрібно встановити паралельно працюючих фільтрувальних апаратів, якщо швидкість руху повітря у фільтрах повинна становити 0,5 м/с?

19. 460 м³ культуральної рідини аерують стерильним повітрям. Коефіцієнт аерування 0,68. Температура ферментації 28 °С. Визначити кількість набивних фільтрів.

20. Кратність аерації – 0,6 (витрата повітря визначена за н.у.). Об'єм культуральної рідини – 1000 м³. Повітря подається компресором при тиску повітря 2 атм і має температуру 27 °С. Як головний взятий набивний фільтр з внутрішнім діаметром 0,6 м. Скільки потрібно встановити паралельно працюючих фільтрувальних апаратів, якщо швидкість руху повітря у фільтрах повинна становити 0,5 м/с?

21. 120 м³ культуральної рідини аерують стерильним повітрям. Коефіцієнт аерування 0,8. Температура ферментації 32 °С. Визначити кількість набивних фільтрів.

22. 138 м³ культуральної рідини аерують стерильним повітрям. Коефіцієнт аерування 0,52. Температура ферментації 34 °С. Визначити кількість набивних фільтрів.

23. Яким значенням коефіцієнту проскоку повинен характеризуватися фільтруючий матеріал для забезпечення ефективної стерилізації повітря об'ємом 800 м³ та концентрацією сторонньої мікрофлори 10³ кл/м³ ?

24. 82 м³ культуральної рідини аерують стерильним повітрям. Коефіцієнт аерування 0,54. Температура ферментації 36 °С. Визначити кількість набивних фільтрів.

25. Яким значенням коефіцієнту проскоку повинен характеризуватися фільтруючий матеріал для забезпечення ефективної стерилізації повітря об'ємом 720 м³ та концентрацією сторонньої мікрофлори 10³ кл/м³ ?

Питання для самоконтролю

1. Якими методами отримують стерильне повітря?
2. В чому полягають переваги та недоліки, кожного з них?
3. Як характеризується ефективність стерилізації повітря у фільтрах для очистки?
4. На що вказує величина $K_{\text{п}}$?
5. Які існують звичайні методи очищення повітря?
6. Які методи використовуються для попереднього очищення повітря?
7. Що є показником ефективності процесу стерилізації повітря?
8. Чим обумовлюється загальна асептика процесів виробничого культивування?
9. На чому заснований принцип роботи набивних фільтрів?
10. З яких основних апаратів складається принципова установка для підготовки аераційного повітря?

ПРАКТИЧНА РОБОТА №4

ПІДГОТОВКА ПОСІВНОГО МАТЕРІАЛУ

Мета роботи: навчитися проводити розрахунок оптимальної кількості стадій приготування посівного матеріалу.

Теоретичні відомості

Вирощування посівного матеріалу. Для безперервних процесів посівний матеріал вирощують лише для запуску безперервно діючої технологічної лінії. Період безперервної роботи може тривати від декількох діб до року, як, наприклад, у виробництві кормових дріжджів. Не потрібно вирощувати посівний матеріал і для кожного циклу процесу, який проводять від'ємно-доливним методом. Існують виробництва, які взагалі не потребують засіву спеціально підготованою культурою, наприклад, активним мулом для очищення стічних вод або бактеріальним консорціумом у виробництві біогазу; у цих прикладах полікультури пристосовуються до поживного середовища, саморозвиваються і самопідтримуються з бактеріальної мікрофлори довкілля.

Але для більшості процесів, а саме для періодичних або напівперіодичних, для кожного циклу виробництва потрібно використовувати оновлений посівний матеріал. Особливо це стосується виробництв, заснованих на ферментації монокультур. Навіть в деяких безперервних виробництвах потрібно безперервне вирощування і додавання посівного матеріалу до приготованого поживного середовища. До них належать виробництва, пов'язані з використанням культур з низькою питомою швидкістю росту, наприклад, в процесі безперервного бродіння цукрів за допомогою дріжджів при одержанні етилового спирту.

Для періодичних та напівперіодичних процесів вирощування посівного матеріалу (ПМ) проводять одночасно і паралельно з підготовкою поживного середовища та його стерилізацією. Вирощуючи ПМ, увагу звертають не на ступінь конверсії поживних речовин, не на економічні показники процесу, а на

одержання чистої, здорової, високогенеративної культури, на її властивості порівняно з музейними еталонами.

Приготування посівного матеріалу починають у лабораторії. Використовуючи лабораторний матеріал як посівний і збільшуючи об'єми культури, переходять до вирощування ПМ у напівпромислових умовах в апаратах, які називають інокуляторами (або сателітами), а одержаний продукт – інокулятом. Остаточню посівний матеріал перед робочою ферментацією вирощують в апаратах, які іноді називають посівними.

Під час проведення цього ряду стадій, які називають пасажами, вихідну музейну культуру вирощують на спеціальних твердих або рідких середовищах, поступово переходячи до робочого середовища або наближеного до нього. В цей період культура перебудовує свої метаболітичні процеси і пристосовується до реальних субстратів. Вирощування посівної культури потребує ретельного мікробіологічного контролю, забезпечення і підтримки стерильності апаратури і поживного середовища.

Наприклад, вирощуючи посівний матеріал для виробництва хлібопекарських дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*, послідовно проводять такі пасажі:

1. **Лабораторна стадія:**

Вирощування музейної культури в пробірках об'ємом 5 см³



в колбах об'ємом 50 см³



в пастерівських колбах об'ємом 0,5 дм³



в колбах Карлсберга об'ємом 5 дм³

В усіх пасажах використовують солодове сусло, процеси проводять без аерації.

2. Вирощування ПМ у відділенні чистої культури:

Стадія чистої культури:

Вирощування ПМ в малому мідному інокуляторі об'ємом 50+100 дм³ на м'ясовому суслі з концентрацією цукру 10+12% без аерації протягом 18+24

годин



у великому мідному інокуляторі об'ємом 800+1000 дм³ на м'ясовому суслі з концентрацією сусла 7+8% з частковою аерацією протягом 18 годин



у сталевому маточному інокуляторі об'ємом 3,2+5 м³ на м'ясовому суслі з концентрацією цукру 5-6 %.



Стадія виробництва маточних дріжджів

Вирощування ПМ у проміжному дріжджегенераторі протягом 12 - 14 годин з кратністю аерації 0,5



основному дріжджевирощувальному апараті з повною аерацією.

ПС – м'яса. Відношення об'ємів апаратів – 1:6. Кінцевий продукт – маточні пресовані дріжджі.

Одержані пресовані маточні дріжджі надходять у виробниче відділення, де проводять робочі ферментації.

Аналогічно, можливо, простіше проводять вирощування ПМ і для інших процесів мікробіологічних виробництв. Для наближеного визначення кількості пасажів можна скористатись даними про відношення об'ємів ПМ та поживного середовища.

Приклади виконання завдань

Завдання. Об'єм поживного середовища для робочої ферментації 100 м³. Додають 12 об. % ПМ. Визначити кількість ступенів вирощування ПМ та об'єми інокуляторів. Ступінь заповнення апаратів 60-70%.

Розв'язання. 1. Об'єм ПМ для робочої ферментації:

$$0,12 \times 100 = 12 \text{ м}^3$$

Останній посівний апарат повинен мати об'єм

$$12 / (0,6 - 0,7) = 17,1 - 20 \text{ м}^3.$$

Обираємо апарат стандартною ємністю, яка становить 20 м³.

Оскільки об'єм апарата перевищує 3-5 м³, для яких можливий процес періодичної стерилізації, ферментер повинен споряджатись окремим реактором-змішувачем для приготування поживного середовища і лінією безперервної стерилізації.

2. Об'єм поживного середовища для останнього великого посівного апарата повинен становити:

$$12 \times (1 - 0,12) = 10,56 \text{ м}^3,$$

а ПМ відповідно:

$$12 - 10,56 = 1,44 \text{ м}^3.$$

Великий інокулятор повинен мати об'єм, з урахування коефіцієнту заповнення, 2,06-2,4 м³. Із запасом обираємо апарат зі стандартним об'ємом 2,5 м³. Приготування поживного середовища, його стерилізацію та подальшу інокуляцію можна проводити в одному апараті.

3. Об'єм ПМ для великого інокулятора повинен становити:

$$0,12 \times 1,44 = 0,173 \text{ м}^3.$$

Цю кількість можна приготувати в середньому інокуляторі об'ємом 0,248-0,288 м³. Обираємо апарат зі стандартною ємністю 0,25 м³.

4. Об'єм ПМ для середнього інокулятора повинен становити

$$0,12 \times 0,173 = 0,021 \text{ м}^3.$$

Об'єм малого інокулятора має бути 0,029-0,035 м³. Обираємо апарат зі стандартним об'ємом – 0,04 м³.

5. Об'єм ПМ для малого інокулятора повинен становити

$$0,12 \times 0,021 = 0,0025 \text{ м}^3.$$

ПМ такого об'єму одержують в лабораторії в колбі Карлсберга.

Отже, для вирощування ПМ без урахування лабораторних пасажів потрібно послідовно встановити 4-стадійну лінію, яка складається з малого, середнього, великого інокуляторів та великого посівного апарата.

Завдання для самостійного виконання до практичної роботи № 4

Для проведення процесу біосинтезу необхідно використати об'єм поживного середовища для робочої ферментації $V \text{ м}^3$, до якого додають k об. % ПМ. Визначити кількість ступенів вирощування ПМ та об'єми інокуляторів. Ступінь заповнення апаратів φ %. Вихідні дані для кожного варіанту наведено в таблиці 4.1.

Таблиця 4.1. – Вихідні дані до виконання практичної роботи № 4

Варіант	Об'єм робочої ферментації, $V, \text{ м}^3$	Коефіцієнт задачі посівного матеріалу, k	Коефіцієнт заповнення апаратів, φ
1	50	0,15	0,75
2	55	0,14	0,74
3	60	0,13	0,72
4	65	0,13	0,73
5	70	0,12	0,71

6	75	0,11	0,70
4	80	0,11	0,68
5	85	0,11	0,69
6	90	0,10	0,67
7	95	0,10	0,66
8	100	0,09	0,67
9	105	0,09	0,66
10	110	0,08	0,65
11	115	0,08	0,64
12	120	0,07	0,63
13	125	0,07	0,62
14	130	0,06	0,62
15	135	0,05	0,61
16	140	0,06	0,60
17	145	0,07	0,61
18	150	0,08	0,62
19	155	0,09	0,63
20	160	0,10	0,64
21	165	0,10	0,65
22	170	0,11	0,66
23	175	0,12	0,67
24	180	0,13	0,68
25	200	0,14	0,70

Питання для самоконтролю

1. Що таке посівний матеріал?
2. Методи вирощування посівного матеріалу.
3. Стадії вирощування посівного матеріалу.

4. Які мікробіологічні виробництва потребують використання оновленого посівного матеріалу?
5. Як ви можете охарактеризувати поняття «пасажу»?
6. Як здійснюють виробництво посівного матеріалу?
7. Яке обладнання використовують для вирощування посівного матеріалу?
8. З яких етапів складається лабораторна стадія вирощування посівного матеріалу?
9. Що таке інокулятор?
10. З яких етапів складається стадія вирощування ПМ у відділенні чистої культури?

ПРАКТИЧНА РОБОТА № 5

РОЗРАХУНОК КРИТЕРІЇВ ЕФЕКТИВНОСТІ ФЕРМЕНТАЦІЇ

Мета роботи: навчитися проводити розрахунок критеріїв ефективності основного етапу біосинтезу з вказаними режимами процесу.

Теоретичні відомості

Параметри росту періодичної культури. Основними параметрами кривої росту (рис. 5.1) є біомаса, швидкість росту та тривалість лаг-фази (у разі, якщо ріст періодичної культури аналізують за збільшенням біомаси, а не за кількістю клітин).

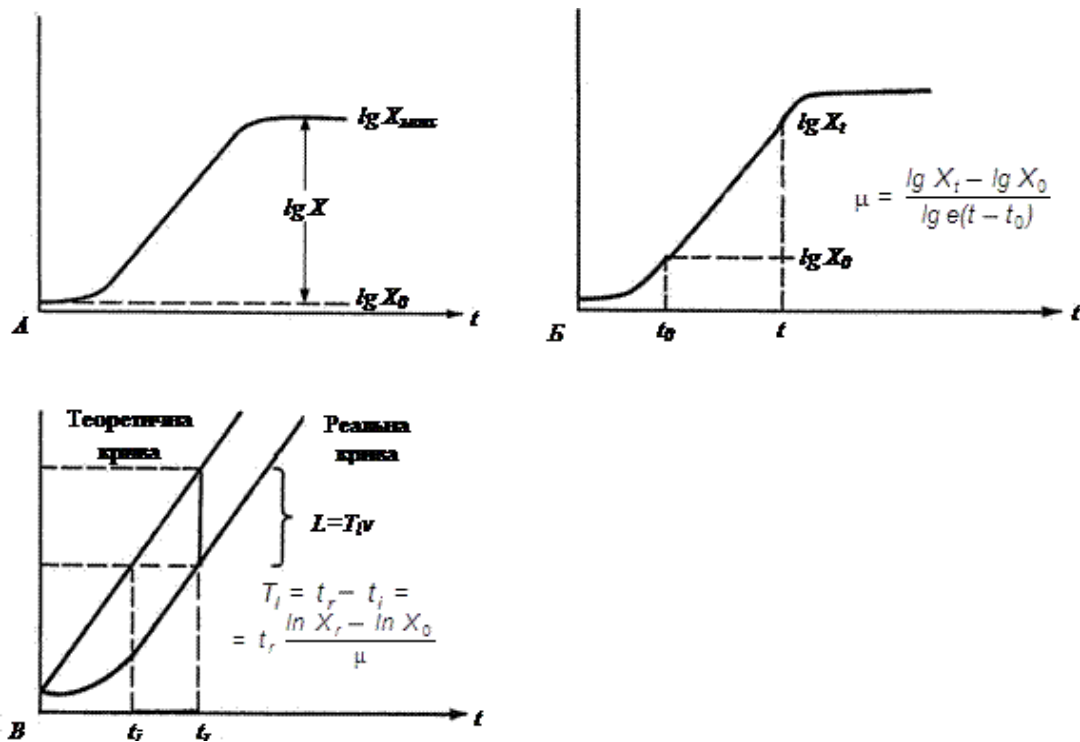


Рисунок 5.1. Параметри росту :

А – біомаса; Б – швидкість росту; В – тривалість лаг-фази

Біомаса (концентрація біомаси) – це різниця між максимальною (у стаціонарній фазі росту) та вихідною біомасою бактерій:

$$X = X_{\max.} - X_0.$$

Цю величину виражають у грамах (міліграмах) сухої речовини, яка міститься у літрі (мілілітрі) культуральної рідини або клітинної суспензії.

Збільшення концентрації біомаси від X_0 до X характеризується абсолютною (валовою) і відносною (питомою) швидкістю її розмноження.

Середня валова швидкість росту $V_{\text{сер}}$ за час $(t - t_0)$ визначається зрівняння:

$$V_{\text{сер}} = \frac{X_t - X_0}{t - t_0}$$

Швидкість експоненційного росту (питома швидкість) – це міра швидкості росту клітин в експоненційній фазі. Її визначають за формулою виходячи з початкової та кінцевої біомаси X_0 та X_t у моменти часу t_0 та t :

$$\mu = \frac{\lg X_t - \lg X_0}{\lg e (t - t_0)} = \frac{\ln X_t - \ln X_0}{t - t_0}$$

де $\lg e = 0,43429$.

Швидкість експоненційного росту (питома швидкість росту) може бути також розрахована за формулою:

$$\mu = [2,3 (\lg X_t - \lg X_0)] / (t - t_0)$$

Валова швидкість розмноження характеризує збільшення біомаси в абсолютних величинах; питома швидкість – це приріст мікроорганізмів, які утворилися з одиниці їх кількості в одиницю часу, і має розмірність год⁻¹.

Між питомою швидкістю розмноження μ і кількістю брунькувань клітини за одиницю часу r (швидкість росту) існує таке співвідношення:

$$- \quad \frac{r}{\mu} = 1,44,$$

або

$$\mu = 0,694r$$

Швидкість росту можна виразити таким чином:

$$-r = \frac{1}{t_d}$$

де t_d – середня тривалість генерації клітин, тобто подвоєння їх кількості або маси.

Тривалість подвоєння визначається формулою:

$$t_d = \frac{\ln 2}{\mu} = \frac{0,69}{\mu}$$

Швидкість росту мікроорганізмів r пропорційна, але не дорівнює питомій швидкості розмноження μ . Якщо число клітин збільшується удвічі за 2 год, тоді:

$$r = 1/2 = 0,5;$$
$$\mu = 0,694 \times 0,5 = 0,347$$

Тривалість лаг-фази (T_i) – визначають як проміжок часу між моментом t_r , в який культура досягла певної біомаси X_r , і моментом t_i , в який вона могла б досягти такої самої біомаси, якби відразу ж після інокуляції починався експоненціальний ріст.

Ріст у безперервній культурі.

Вивчення кривої росту в експоненціальній фазі при періодичному процесі стало обґрунтуванням для математичного опису безперервного процесу культивування мікроорганізмів.

Питома швидкість розмноження залежить від концентрації субстрату чи відповідних речовин, які у даних умовах є **лімітуючим фактором**. Термін лімітуючий фактор включає у себе фактор живлення чи інші фактори, які впливають на $\mu_{\max}$. $\mu_{\max}$ дріжджових клітин досягається тоді, коли вони розвиваються в оптимальному за складом живильному середовищі й у ньому відсутні інгібітори. $\mu_{\max}$ – це суто математичний, ніколи не досяжний рівень швидкості розмноження мікроорганізмів. У реальних умовах дріжджі розмножуються не завжди в оптимальних умовах і середовищі. Тому крім $\mu_{\max}$ розрізняють ще реальну питому швидкість розмноження μ – вона може досягнути 90 % $\mu_{\max}$.

Ж. Моно і незалежно від нього А. Новик і Л. Сцилард показали, що між питомою швидкістю розмноження μ і концентрацією живильних речовин є така залежність:

$$\mu = \frac{\mu_{\max} \times S}{K_s + S}$$

де S – концентрація лімітуючої ріст поживної речовини, яка знаходиться у мінімальній кількості, г/л;

K_s – константа насичення, яка чисельно дорівнює концентрації живильної речовини, при якій швидкість розмноження досягає половини максимальної швидкості розмноження, тобто

$$\mu = \mu_{\max}/2$$

Безперервний спосіб культивування характеризується такими показниками:

- швидкість потоку f , м³/год., – це кількість середовища W , що надходить в апарат за одиницю часу t :

$$f = W / t;$$

- швидкість розбавлення D , год.⁻¹, – відношення швидкості потоку f до об'єму апарата V :

$$D = f / V;$$

- тривалість τ перебування мікроорганізмів в апараті, год.:

$$\tau = 1 / D.$$

При безперервному процесі питома швидкість розмноження клітин має дорівнювати швидкості розбавлення середовища:

$$\mu = D.$$

При $\mu > D$, тобто уповільненому розведенні, час перебування клітин у апараті збільшується, поживні речовини повніше засвоюються, кількість клітин стає більшою, μ знижується і кількість біомаси в апараті буде постійно збільшуватись до такого стану, коли настає лімітування за поживними речовинами.

При $\mu < D$ сталий режим порушується, клітини вимиваються з апарата, концентрація їх зменшується, поживні речовини як слід не використовуються і втрати їх з відтоком збільшуються. З підвищенням концентрації середовища $\mu \sim \mu_{\max}$ процес стабілізується на новому рівні при більш високій концентрації середовища і меншій концентрації клітин.

В мікробіологічній промисловості продуктивність прийнято виражати в кілограмах продукту, одержуваного з 1 м³ геометричного об'єму біореактора на добу, включаючи час на підготовку апаратури між процесами. У лабораторних дослідженнях продуктивність зазвичай позначають у г/(л·год), відносячи до

об'єму рідкої фази і враховуючи тільки тривалість процесу біосинтезу. У безперервних процесах продуктивність утворення біомаси Q_X визначається за рівнянням:

$$Q_X = DX,$$

де D – швидкість розведення потоку середовища, год.⁻¹;

X – концентрація біомаси.

Продуктивність біотехнологічного процесу Q_P залежить від багатьох факторів, основними з яких є активність продуцента, ефективність біоконверсії, яка характеризується виходом продукту з субстрату $Y_{P/S}$, і концентрація X активного каталізатора в біореакторі:

$$Q_P = q_S Y_{P/S} X,$$

де q_S – питома швидкість споживання субстрату, г/(г·год.).

Розрахунок виходу продукту можна здійснювати різними способами (табл. 5.1.). Частіше користуються величиною виходу продукту $Y_{P/S}$, яка відображає масу продукту, одержану з певної кількості субстрату. Цю величину іноді називають коефіцієнтом конверсії або економічним коефіцієнтом, хоча остання назва комісією IUPAC з біотехнології не рекомендується до використання.

Таблиця 5.1. – Основні показники процесу ферментації

Показник	Позначення та одиниці вимірювання	Розрахункова формула	Примітка
Концентрація біомаси	X , г/л	$X = X_0 e^{\mu(t_1 - t_0)}$	Для експоненційної фази росту $e=2,718$
Концентрація субстрата	S , г/л		
Концентрація продукта	P , г/л		
Питома швидкість росту	μ , год. ⁻¹	$\mu = \frac{X_1 - X_0}{X_1(t_1 - t_0)}$	

Коефіцієнт розведення	$D, \text{год}^{-1}$	$D = \mu$	Для безперервного процесу
Продуктивність за біомасою	$Q_x, \text{г}/(\text{л} \cdot \text{год})$	$Q_x = \frac{X_1 - X_0}{t_1 - t_0}$	Для періодичного процесу
		$Q_x = DX$	Для безперервного процесу
Продуктивність за продуктом	$Q_p, \text{г}/(\text{л} \cdot \text{год})$	$Q_p = \frac{P_1 - P_0}{t_1 - t_0}$	Для періодичного процесу
		$Q_p = DP$	Для безперервного процесу
Питома швидкість споживання субстрату	$q_s, \text{г}/(\text{г} \cdot \text{год})$	$q_s = \frac{S_0 - S_1}{X_1(t_1 - t_0)}$	
Вихід продукту від субстрату	$Y_{p/s}, \text{г}/\text{г}$	$Y_{p/s} = \frac{q_p}{q_s} = \frac{P_1 - P_0}{S_1 - S_0}$	
Вихід біомаси від субстрату	$Y_{x/s}, \text{г}/\text{г}$	$Y_{x/s} = \frac{\mu}{q_s} = \frac{X_1 - X_0}{S_0 - S_1}$	
Питома швидкість утворення продукту	$q_p, \text{г}/(\text{г} \cdot \text{год})$	$q_s = \frac{P_1 - P_0}{X_1(t_1 - t_0)}$	

Приклади виконання завдань

Завдання 1. Для схеми зображеної на рисунку 5.1 визначити:

- швидкість росту (μ) між 24 та 48 год. культивування;
- рівень біомаси;
- економічний коефіцієнт за умови, що початкова концентрація глюкози в середовищі становить 0,05 М;
- тривалість лаг-фази.

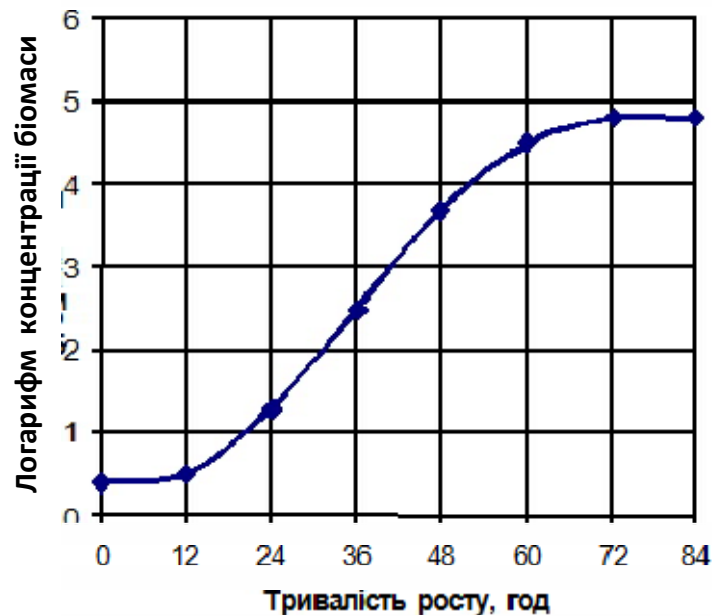


Рисунок 5.1. Крива росту бактеріальної популяції

Розв'язання. Визначення основних параметрів кривої росту (концентрації біомаси, швидкості росту та тривалості лаг-фази) наведено на рис. 3.

Швидкість експоненційного росту – це міра швидкості росту клітин в експоненційній фазі. Її визначають за формулою виходячи з початкової та кінцевої біомаси X_0 та X_t у моменти часу t_0 та t :

$$\mu = \frac{\lg X_t - \lg X_0}{\lg e (t - t_0)} = \frac{\ln X_t - \ln X_0}{t - t_0}$$

де $\lg e = 0,43429$.

Швидкість експоненційного росту (питома швидкість росту) може бути також розрахована за формулою:

$$\mu = [2,3 (\lg X_t - \lg X_0)] / (t - t_0)$$

Згідно з умовою $t = 48$ год., $t_0 = 24$ год. Визначаємо (за графіком) концентрацію біомаси у момент часу t та t_0 :

$$X_t = 3,75 \text{ г/л};$$

$$X_0 = 1,3 \text{ г/л.}$$

Отже,

$$\mu = (\ln 3,75 - \ln 1,3) / (48 - 24) = (1,32 - 0,26) / 24 = 0,044 \text{ год.}^{-1}$$

Рівень біомаси визначають за формулою:

$$X = X_{\text{макс.}} - X_0$$

Згідно наведеного графіку, вихідний рівень біомаси становить 0,4 г/л, а рівень біомаси у стаціонарній фазі росту – 4,8 г/л. Отже, згідно з рівнянням, концентрація біомаси становить:

$$X = 4,8 - 0,4 = 4,4 \text{ г/л.}$$

Економічний коефіцієнт. Важливим показником періодичного процесу є відношення концентрації біомаси до кількості спожитого субстрату – X/S . Якщо ці дві величини виражені в вагових одиницях, то відношення X/S називають економічним коефіцієнтом Y . Економічний коефіцієнт може бути розрахований також як відношення біомаси до заданого субстрату. Якщо врожай в грамах відноситься до кількості молей спожитого субстрату, то одержану величину називають молярним економічним коефіцієнтом.

Згідно з умовою, початкова концентрація глюкози у середовищі становить 0,05 М, або $0,05 \times 180 = 9 \text{ г/л}$ (молекулярна маса глюкози $C_6H_{12}O_6$ становить 180). Рівень біомаси становить 4,4 г/л, отже, економічний коефіцієнт

$$Y = X/S = 4,4 / 9 = 0,488, \text{ або } 49 \text{ \%.}$$

Тривалість лаг-фази визначають як проміжок часу між моментом t_r , в який культура досягла певної біомаси X_r , і моментом t_b , в який вона могла б досягти такої ж біомаси, якби відразу ж після інокуляції починався експоненційний ріст.

На реальній кривій росту (рис. 5.2) проводять теоретичну криву, враховуючи тривалість культивування 48 годин.

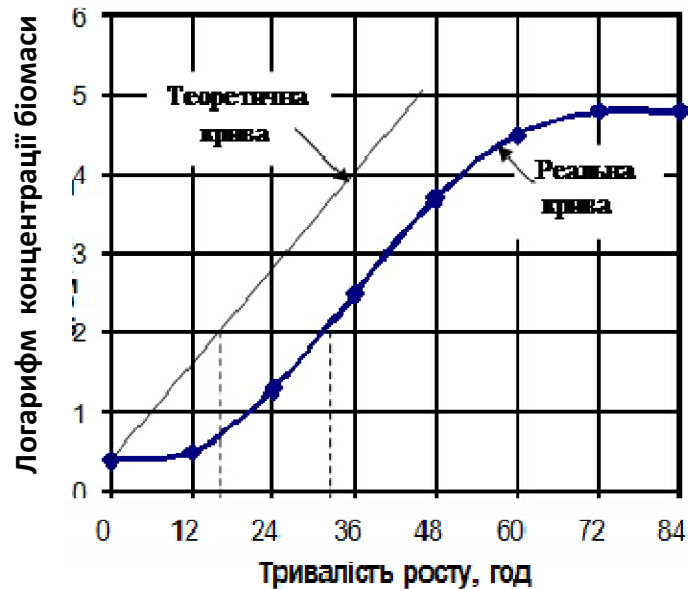


Рисунок 5.2. Розрахунок тривалості лаг-фази

Тривалість лаг-фази визначають за формулою:

$$T = t_r - [(\ln X_r - \ln X_0) / \mu],$$

$$\text{де } \mu = [2,3 (\lg X_r - \lg X_t)] / (t_r - t_t)$$

За умовою $X_0 = 0,4$ г/л; приймаємо X_r таким, що дорівнює 2 г/л (див. рис. 5.2). На реальній і теоретичній кривих визначають час t_r та t_t , потрібний для досягнення позначки 2 г/л біомаси: $t_r = 32$ год., а $t_t = 17$ год. Швидкість росту μ розраховують за формулою для реальної кривої в інтервалі часу $t_r = 32$ год. та $t_t = 17$ год. За реальною кривою визначають $X_r = 2$ г/л; $X_t = 0,75$ г/л. Отже, швидкість росту:

$$\mu = [2,3 (\lg 2 - \lg 0,75)] / (32 - 17) = [2,3 (0,301 - (-0,125))] / 15 = 0,066 \text{ год}^{-1}$$

Знаючи швидкість росту, за формулою можна визначити тривалість лаг-фази:

$$\begin{aligned} T &= 32 - [(\ln 2 - \ln 0,4) / 0,066] = \\ &= 32 - [(0,693 - (-0,916)) / 0,066] = 32 - 24,4 = 7,6 \text{ год.} \end{aligned}$$

Отже, тривалість лаг-фази становить 7,6 год.

Завдання 2. Визначити константу швидкості поділу n та тривалість генерації t_d , якщо початкова концентрація клітин становить 10^3 , а через 8 год – 10^{10} .

Розв'язання. Бактерії розмножуються бінарним поділом, тому їх кількість збільшується в геометричній прогресії:

$$2^0 \text{ ® } 2^1 \text{ ® } 2^2 \text{ ® } 2^3 \text{®} \dots 2^n.$$

Якщо на одиницю об'єму періодичної культури, що росте, припадає N_0 клітин, то після n поділів кількість клітин стане

$$N_0 \times 2^n.$$

Логарифмуючи, отримаємо:

$$\lg N = \lg N_0 + n \lg 2,$$

звідки кількість клітинних поділів:

$$n = (\lg N - \lg N_0) / \lg 2.$$

Кількість клітинних поділів за 1 год (константа швидкості поділу n) визначають за формулою:

$$n = n / t = (\lg N - \lg N_0) / \lg 2 (t - t_0)$$

Час, потрібний для одного циклу поділу (тривалість генерації t_d), визначають за формулою:

$$t_d = t / n = 1 / n.$$

Якщо за 8 год. кількість клітин у суспензії збільшується з 10^3 до 10^{10} , то константа швидкості поділу:

$$n = (\lg 10^{10} - \lg 10^3) / 0,301 \cdot 8,$$

де $\lg 2 = 0,301$.

$$n = (10 - 3) / 2,41 = 2,9$$

Тривалість генерації становить:

$$t_d = 1 / n = 1 / 2,9 = 0,34 \text{ год.}$$

Завдання 3. Початкова масова концентрація дріжджів $S_0 = 27$ г/л, питома швидкість росту $\mu = 0,09$ год.⁻¹. За період $\Delta t = 3$ год вміст субстрату зменшився на $\Delta S = 7$ г/л. Визначити вміст дріжджів у кінці культивування S_1 , валову швидкість росту $V_{сер}$, час генерації t_d , питому швидкість споживання субстрату q_s і вихід біомаси з субстрату Y_s .

Розв'язання. Визначаємо вихід біомаси з субстрату:

$$Y_s = S_1 = S_0 + \Delta S = 27 + 7 = 34 \text{ г/л}$$

Визначаємо валову швидкість росту:

$$V_{\text{сер}} = \mu \cdot S_1 = 0,09 \cdot 34 = 3,06 \text{ г/л} \cdot \text{год}^{-1}$$

Визначаємо час генерації:

$$t_d = 0,69 / \mu = 0,69 / 0,09 = 7,67 \text{ год.}$$

Визначаємо питому швидкість споживання субстрату:

$$q_s = \Delta S / S_1 \cdot \Delta t = 7 / 34 \cdot 3 = 0,07 \text{ г} \cdot \text{год.} / \text{л.}$$

Завдання 4. У ферментер з корисним об'ємом $V_k = 90 \text{ м}^3$ надходить сусло зі швидкістю $f = 30 \text{ м}^3/\text{год}$. Мікроорганізми культивуються безперервним способом у стаціонарному режимі. Визначити тривалість перебування мікроорганізмів τ , продуктивність по біомасі Q_x , питому μ і валову $V_{\text{сер}}$ швидкості росту, якщо початкова масова концентрація біомаси X_0 становить 25 г/л, а час культивування $\Delta t = 6 \text{ год}$.

Розв'язання. Коефіцієнт культивування для безперервного способу:

$$D = f / V_k = 30 / 90 = 0,33$$

Визначаємо продуктивність по біомасі:

$$Q_x = D \cdot X_0 \cdot V_k \cdot \Delta t$$

$$Q_x = 0,33 \cdot 25 \cdot 90 \cdot 6 = 4455 \text{ г} \cdot \text{год.} / \text{л}$$

Визначаємо питому швидкість росту:

$$\mu = 0,69 / t_d$$

слід врахувати, що час культивування мікроорганізмів за стаціонарного режиму дорівнює часу генерації, тобто $t_d = \Delta t = 6 \text{ год.}$, тому

$$\mu = 0,69 / 6 = 0,115 \text{ год.}^{-1}$$

Визначаємо валову швидкість росту:

$$V_{\text{сер}} = \mu \cdot S_0 \cdot e^{\mu \cdot \Delta t} = 0,115 \cdot 25 \cdot 2,718^{0,115 \cdot 6} = 1,99 \text{ г/л} \cdot \text{год.}^{-1}$$

Тривалість τ перебування мікроорганізмів в апараті, год:

$$\tau = 1 / D = 1 / 0,33 = 3,0 \text{ год.}$$

Завдання для самостійного виконання до практичної роботи № 5

1. Початкова масова концентрація дріжджів 20 г/л, питома швидкість

росту $0,07 \text{ год}^{-1}$. За 2,5 години вміст субстрату зменшився на 5 г/л. Визначити вміст дріжджів у кінці культивування, валову швидкість росту, час генерації, питому швидкість споживання субстрату і вихід біомаси з субстрату.

2. За 6 год. утворилось 10 г/л оцтової кислоти. При цьому було використано 12 г/л глюкози. Масова концентрація бактерій у кінці процесу – 45 г/л, питома швидкість росту – $0,1 \text{ год}^{-1}$. Визначити початкову концентрацію бактерій, валову швидкість росту, вихід біомаси із субстрату, питомі швидкості споживання субстрату та утворення оцтової кислоти.

3. У ферментер з корисним об'ємом 50 м^3 надходить сусло із швидкістю $15 \text{ м}^3/\text{год}$. Мікроорганізми культивуються безперервним способом у стаціонарному режимі. Визначити час перебування мікроорганізмів у ферментері, продуктивність по біомасі, питому і валову швидкості росту, якщо початкова масова концентрація біомаси становить 18 г/л, а час культивування – 4 год.

4. За 5 годин біосинтезу утворилось 10 г/л етилового спирту і 15 г/л дріжджів. Початкова масова концентрація дріжджів 12 г/л. Визначити час генерації, питому швидкість росту дріжджів і утворення етилового спирту, якщо було зброджено 10 г/л глюкози.

5. За 5 годин утворилось 12 кг/м^3 дріжджів і зброджено 10 кг/м^3 вуглеводів (PP). Визначити питому швидкість росту дріжджів і продуктивність процесу за біомасою для періодичного і безперервного способів культивування, якщо початкова масова концентрація дріжджів 8 кг/м^3 .

6. За 5 годин утворилось 10 г/л молочної кислоти. При цьому було використано 15 г/л глюкози. Масова концентрація бактерій у кінці процесу 20 г/л, питома швидкість росту $0,10 \text{ год}^{-1}$. Визначити початкову концентрацію бактерій, питомі швидкості споживання субстрату та утворення молочної кислоти.

7. У ферментер з корисним об'ємом 80 м^3 надходить поживне середовище із швидкістю $20 \text{ м}^3/\text{год}$. Мікроорганізми культивуються безперервним способом в стаціонарному режимі. Визначити час перебування мікроорганізмів у ферментері, загальну і питому швидкості росту, якщо

початкова масова концентрація біомаси 20 кг/м^3 , а тривалість культивування 5 годин.

8. За 5 годин утворилось 15 кг/м^3 дріжджів і зброджено 10 кг/м^3 вуглеводів. Визначити питому та загальну швидкості росту дріжджів і продуктивність за біомасою, якщо кінцева масова концентрація біомаси – 32 кг/м^3 .

9. Початкова масова концентрація дріжджів 15 кг/м^3 , кінцева – 28 кг/м^3 . Тривалість процесу – 6 годин. Процес проходить у ферментері з корисним об'ємом 80 м^3 і швидкістю розбавлення середовища $0,12 \text{ год.}^{-1}$. Визначити загальну і питому швидкості росту дріжджів, швидкість припливусередовища.

10. Спиртове бродіння ведуть безперервним способом у стаціонарному режимі в апараті з корисним об'ємом 200 м^3 , приплив сусла $40 \text{ м}^3/\text{год}$. За 5 годин зброджено 10 г/л вуглеводів. При початковій масовій концентрації спирту 2 г/л , його утворено 20 г/л і 15 г/л дріжджів. Визначити продуктивність системи за етиловим спиртом, питому швидкість росту дріжджів, їх вміст у кінці культивування.

11. Початкова масова концентрація дріжджів 15 кг/м^3 , кінцева – 28 кг/м^3 . Тривалість процесу – 6 годин. Процес проходить у ферментері з корисним об'ємом 80 м^3 і швидкістю розбавлення середовища $0,12 \text{ год.}^{-1}$. Визначити загальну і питому швидкості росту дріжджів, швидкість припливусередовища.

12. Початкова масова концентрація бактерій 15 г/л , за 5 годин вона зросла до 45 г/л і було використано 25 г/л глюкози. Визначити питому швидкість росту, час та число генерацій за 1 годину, вихід біомаси із субстрату.

13. Початкова масова концентрація бактерій 13 г/л , за 3 години вона зросла до 40 г/л і було витрачено 20 г/л глюкози. Визначити вихід біомасивід спожитого субстрату, питому швидкість росту і ефективність споживання субстрату.

14. Початкова масова концентрація дріжджів 10 кг/л , кінцева – 15 кг/л . Тривалість процесу 6 годин, швидкість розчинення середовища $0,2 \text{ год.}^{-1}$. Визначити питому і загальну швидкості росту дріжджів, продуктивність процесу за біомасою, при корисному об'ємі культуральної рідини 250 м^3 .

15. Початкова масова концентрація дріжджів 20 кг/м^3 , за 4 години вона зросла до 50 кг/м^3 . Біосинтез ведеться безперервним способом у ферментері із загальним об'ємом 100 м^3 і корисним об'ємом 80 м^3 , приплив сусла $20 \text{ м}^3/\text{год}$. Визначити питому та загальну швидкості росту дріжджів, швидкість розбавлення середовища та дати характеристику процесу.

16. Початкова масова концентрація дріжджів 23 г/л , питома швидкість розмноження $0,05 \text{ год}^{-1}$. За 5 годин масова концентрація субстрату зменшилась на 10 г/л . Обчислити вміст дріжджів у кінці культивування, питому швидкість споживання субстрату і вихід біомаси із субстрату.

17. За 3 години біосинтезу утворилось 6 г/л оцтової кислоти. При цьому було використано 10 г/л глюкози. Масова концентрація бактерій в кінці процесу 15 кг/м^3 , питома швидкість росту $0,16 \text{ год}^{-1}$. Визначити початкову концентрацію бактерій, питомі швидкості споживання субстрату та утворення оцтової кислоти.

18. Початкова концентрація бактерій 8 г/л , через 4 години вона становила 16 г/л , а концентрація субстрату зменшилась на 12 г/л . Визначити питому і загальну швидкості росту, продуктивність за біомасою у разі періодичного процесу, час генерації.

19. Початкова масова концентрація дріжджів 15 кг/л , кінцева – 35 кг/л . Тривалість процесу 12 годин, швидкість розчинення середовища $0,3 \text{ год}^{-1}$. Визначити питому і загальну швидкості росту дріжджів, продуктивність процесу за біомасою, при корисному об'ємі культуральної рідини 150 м^3 .

20. Початкова масова концентрація дріжджів 25 кг/м^3 , за 5 години вона зросла до 60 кг/м^3 . Біосинтез ведеться безперервним способом у ферментері із загальним об'ємом 100 м^3 і корисним об'ємом 60 м^3 , приплив сусла $15 \text{ м}^3/\text{год}$. Визначити питому та загальну швидкості росту дріжджів, швидкість розбавлення середовища та дати характеристику процесу.

21. Початкова масова концентрація дріжджів 25 г/л , питома швидкість розмноження $0,07 \text{ год}^{-1}$. За 6 годин масова концентрація субстрату зменшилась на 12 г/л . Обчислити вміст дріжджів у кінці культивування, питому швидкість споживання субстрату і вихід біомаси із субстрату.

22. За 6 години біосинтезу утворилось 12 г/л оцтової кислоти. При цьому

було використано 20 г/л глюкози. Масова концентрація бактерій в кінці процесу 30 кг/м³, питома швидкість росту 0,32 год.⁻¹. Визначити початкову концентрацію бактерій, питомі швидкості споживання субстрату та утворення оцтової кислоти.

23. За 10 годин біосинтезу утворилось 20 г/л етилового спирту і 30 г/л дріжджів. Початкова масова концентрація дріжджів 32 г/л. Визначити час генерації, питому швидкість росту дріжджів і утворення етилового спирту, якщо було зброджено 20 г/л глюкози.

24. За 10 годин утворилось 32 кг/м³ дріжджів і зброджено 20 кг/м³ вуглеводів (PP). Визначити питому швидкість росту дріжджів і продуктивність процесу за біомасою для періодичного і безперервного способів культивування, якщо початкова масова концентрація дріжджів 16 кг/м³.

25. За 10 годин утворилось 20 г/л молочної кислоти. При цьому було використано 30 г/л глюкози. Масова концентрація бактерій у кінці процесу 40 г/л, питома швидкість росту 0,20 год.⁻¹. Визначити початкову концентрацію бактерій, питомі швидкості споживання субстрату та утворення молочної кислоти.

Питання для самоперевірки

1. Які ви знаєте параметри росту періодичної культури?
2. Що таке концентрація біомаси?
3. Чим характеризується збільшення концентрації біомаси?
4. Що виражає швидкість експоненційного росту?
5. Як визначається тривалість лаг-фази?
6. Що таке «лімітуючий фактор»?
7. Якими показниками характеризується безперервний спосіб культивування?
8. Як в мікробіологічній промисловості виражається продуктивність біотехнологічного процесу?
9. Від чого залежить продуктивність біотехнологічного процесу?
10. Що таке «коефіцієнт конверсії»?

ПРАКТИЧНА РОБОТА №6

РОЗРАХУНОК ЄМНОСТІ ФЕРМЕНТЕРІВ БЕЗПЕРЕРВНОЇ ДІЇ.

Мета роботи: навчитися проводити розрахунок основних показників безперервного процесу мікробного синтезу цільових продуктів.

Теоретичні відомості

У мікробіологічній промисловості використання процесів безперервної ферментації досить обмежене. Це пов'язано з різноманітністю продуктів біосинтезу, об'єм виробництва яких іноді не перевищує десятків кілограмів за рік, тому організація безперервного культивування економічно не виправдовується. Стримує у запровадження безперервних процесів й недосконалість методів створення й підтримки стерильності апаратури, особливо великих розмірів, відтак можливістю контамінації культуральної рідини. Для мікробіологічної маси, що постійно знаходиться у виробничих умовах, достатньо імовірні мутації культури, в результаті якої мікроорганізми можуть швидко втратити потрібні властивості. У безперервних процесах в культуральній рідині частина біомаси є небажано старою, такою, що втратила репродуктивний потенціал. Такі зміни неприпустимі для біомас, які використовуються в харчовій промисловості, наприклад, у виробництві хлібопекарських дріжджів. Перешкоджають запровадженню безперервних процесів й низькі значення питомої швидкості росту біомаси, що потребує великих об'ємів ферментаційної апаратури.

Проте існують деякі виробництва, ферментаційна частина яких організована за безперервним принципом. До них належать, наприклад, виробництво кормових дріжджів на парафіновій і гідролізатній сировині, спирту, лимонної кислоти, біогазу та харчових дріжджів (хоча і з невеликим періодом безперервного процесу (6-12 діб). Не можна уявити періодичними й процеси біохімічного очищення стічних вод активним мулом. Практично усі біотрансформаційні процеси намагаються організувати теж у безперервному

режимі. Безперервні виробництва відрізняються від періодичних (циклічних) більшою компактністю апаратури, вони легше піддаються автоматизації.

Будь-яке безперервне виробництво починається з періодичного для одержання культуральної рідини. Після досягнення певної концентрації біомаси в біореактори починають вводити ПС і одночасно виводити культуральну рідину. Потік ПС і відповідний потік КР підтримують такими, щоб концентрація біомаси або субстрату весь час були постійними. Період безперервної роботи триває від декількох діб або тижнів, але може досягати року, після чого установку зупиняють для заміни культури та проведення профілактичних ремонтів.

Одноступеневе гомогенне безперервне культивування в рамках моделі Моно. У ферментер ідеального перемішування безперервно подається потік ПС з об'ємною витратою V_n , який має вихідну концентрацію субстрату S_0 (рис.6.1). В культуральній рідині, яка має об'єм V_p , постійно підтримується концентрація біомаси X . Концентрація субстрату за час ферментації зменшується до значення B . Одночасно з ферментера виводиться готова культуральна рідина. Насправді потоки ПС і КР трохи відрізняються, оскільки частина субстрату в більшості процесів перетворюється на CO_2 .

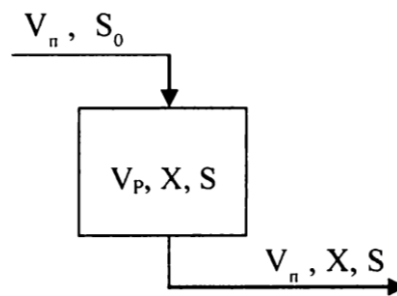


Рисунок 6.1. Схема безперервного одноступеневого культивування

Складемо матеріальний баланс процесу. За нескінченно малий час dt при концентрації біомаси X та питомої швидкості росту μ в усьому робочому об'ємі культиватора V_p утворюється деяка кількість біомаси.

$$M_1 = \mu X V_p dt$$

За той же час з апарата витікає культуральна рідина з концентрацією біомаси X об'ємом V_{π} , яка виносить деяку кількість біомаси M_2 :

$$M_2 = X V_{\pi} d\tau$$

Кількість надлишкової біомаси, що залишилась в апараті, становить

$$M = M_1 - M_2.$$

З іншого боку, ту саму кількість біомаси можна виразити так:

$$M = V_p dX,$$

де dX – приріст біомаси.

Отже, рівняння матеріального балансу запишемо у вигляді

$$V_p dX = \mu X V_p d\tau - X V_{\pi} d\tau$$

Поділимо кожний член рівняння на $V_p d\tau$:

$$\frac{dX}{d\tau} = \mu X - \frac{V_{\pi}}{V_p} X$$

Позначимо відношення V_{π}/V_p як D , де D – коефіцієнт розбавлення, який дорівнює відношенню об'єму потоку до робочого об'єму ферментера (об'єму культуральної рідини). Отже:

$$\frac{dX}{d\tau} = \mu X - DX$$

При сталому режимі ферментації $dX/d\tau = 0$, отже:

$$\mu = D$$

Це головна умова одноступеневого безперервного культивування з використанням рівняння Моно.

Зворотна величина, $1/D$ – фіктивний час проведення процесу ферментації. Фіктивним час називається тому, що насправді частина субстрату виводиться навіть без контакту з біомасою, а частина біомаси за віком не відповідає середньому значенню, оскільки затримується у ферментері і рівномірно не виводиться.

Багатоступеневе гомогенне безперервне культивування за моделлю Моно. Потік незасіяного ПС спрямовують у ферментер I, в якому знаходиться КР з певною концентрацією біомаси. Одночасно з ферментера виводять КР і спрямовують її у ферментер II. У ферментері II культивування продовжується,

концентрація біомаси збільшується. Потім КР з ферментера II спрямовують у ферментер III, з якого виводять готову КР (рис. 6.2).

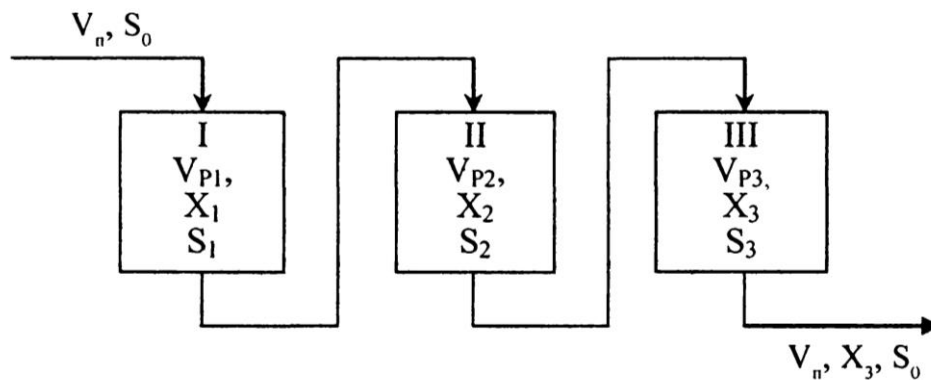


Рисунок 6.2. Схема батареї з трьох послідовно з'єднаних ферментерів ідеального перемішування: $S_0 > S_1 > S_2 > S_3$; $X_1 < X_2 < X_3$.

Порівняно з одноступеневим культивуванням багаступеневе відрізняється тим, що зменшується імовірність виходу субстрату з першого ферментера без контакту з біомасою. Кожний наступний ступінь виконує роль уловлювача субстрату. При нескінченній кількості ступенів технологічна лінія перетворюється в реактор ідеального витискання – в трубу, яка найбільш придатна для проведення процесів у безперервному режимі.

Вказана схема реалізується у колонних ферментерах з переливними тарілками, в яких кожна тарілка виконує роль окремого ферментера, послідовно з'єданого з іншими тарілками-ферментерами, в горизонтальних циліндричних ферментерах, секціонованих перегородками та іншими конструкціями, призначеними для безперервної ферментації біомас.

Об'єм першого ферментера при будь-якому ступені конверсії розраховують за формулами для одноступеневого культивування. Оскільки після першого ферментера змінюється концентрація субстрату, то в другому спостерігається зміна питомої швидкості росту біомаси. Об'єми апаратів можуть бути неоднаковими, тому і коефіцієнт розбавлення в другому апараті може бути іншим.

Для першого ферментера запишемо:

$$X_1 = \frac{S_0 + S_1}{\alpha}$$

Складемо матеріальний баланс за біомасою для другого реактора. Біомаса, що надходить в другий апарат з першого за нескінченно малий час, дорівнює:

$$M_{\text{притоку}} = X_1 V_n d\tau$$

Біомаса, що виходить за цей час з другого апарата, дорівнює:

$$M_{\text{вихід}} = X_2 V_n d\tau$$

За той самий час в другому реакторі спостерігається деякий приріст біомаси:

$$M_{\text{приросту}} = \mu_2 X_2 V_{p2} d\tau$$

Загальну зміну маси за нескінченно малий час можна записати як:

$$M = dX_2 V_{p2}$$

Матеріальний баланс процесу для другого реактора:

$$M = M_{\text{притоку}} + M_{\text{приросту}} - M_{\text{вихід}}$$

$$dX_2 V_{p2} = X_1 V_n d\tau + \mu_2 X_2 V_{p2} d\tau - X_2 V_n d\tau$$

Поділимо кожний член рівняння на добуток $V_{p2} d\tau$:

$$\frac{dX_2}{d\tau} = X_1 D_2 + \mu_2 X_2 - X_2 D_2$$

Коли процес встановився, то вираз $dX_2/d\tau = 0$. Отже:

$$X_1 D_2 + \mu_2 X_2 - X_2 D_2 = 0$$

Замінімо X_1 і X_2 на відповідні вирази через субстрати:

$$\frac{S_0 + S_1}{\alpha} D_2 + \mu_2 \frac{S_0 + S_2}{\alpha} - \frac{S_0 + S_2}{\alpha} D_2 = 0$$

З іншого боку:

$$\mu_2 = \mu_{\max} \frac{S_2}{K_s + S_2} \times \frac{K_{ps}}{K_{ps} + S_0 - S_2}$$

Підставляючи останній вираз в попередній, одержуємо

$$D \frac{S_1 - S_2}{S_0 - S_2} = \mu_{\max} \frac{S_2}{K_s + S_2} \times \frac{K_{ps}}{K_{ps} + S_0 - S_2}$$

Для третього ферментера у вищенаведену формулу замість S_1 та S_2 , треба підставити S_2 та S_3 і так далі.

Не завжди, але як правило, в реальних умовах перший ферментер працює в екстремальному режимі.

Режим роботи ферментера в екстремальних умовах відповідає найбільш бурхливому розвитку біомаси наприкінці експоненційного періоду росту. Дотримання цього режиму дає змогу найбільш істотно зменшити об'єм ферментера, але при цьому зростають втрати субстрату з культуральною рідиною. Якщо цей субстрат має певну цінність, то його потрібно вилучати з КР і повертати в процес ферментації.

У промисловості прийнято використовувати ферментери, які мають стандартну конструкції. В таблиці 6.1 наведено перелік стандартних ферментерів:

Таблиця 6.1 – Стандартні розміри ферментерів, що використовуються для проведення процесів біосинтезу.

Номінальний об'єм, м³	Внутрішній діаметр апарата, мм	Потужність приводу, кВт	Частота обертання, хв⁻¹
0,01	250	0,25-0,75	25-1500
0,02	300	0,25-0,75	25-1500
0,03	350	0,25-0,75	25-1500
0,04	400	0,75-1,5	25-1500
0,06	400	0,75-1,5	20-1500
0,10	500	0,75-3,0	20-1500
0,16	600	0,75-5,5	20-1500
0,25	700	0,75-7,5	16-1250
0,40	800	0,75-11,0	16-1000
0,63	800, 1000	0,75-11,0	16-1000
1,00	1000, 1200	1,5-15	12,5-750
1,25	1000, 1200	1,5-15	12,5-750
1,60	1000, 1200	1,5-18,5	12,5-750

2,00	1200, 1400	1,5-15	10-750
2,50	1200, 1400	1,5-22	10-750
3,20	1200, 1600	1,5-30	10-750
4,00	1400, 1600	1,5-30	10-750
5,00	1400, 1800	1,5-37	8-500
6,30	1600, 1800	1,5-45	8-500
8,00	1600;2000	1,5-45	8-500
10,00	1800, 2200	1,5-55	8-500
12,50	1800, 2400	1,5-55	8-500
16,00	2000, 2400, 2800	3,0-55	8-500
20,00	2200, 2600, 3000	3,0-75	6-500
25,00	2400, 2800, 3200	3,0-90	5-400
32,00	2600, 3000, 3400	3,5-90	5-400
40,00	2800, 3200, 3600	3,5-90	5-400
50,00	3000, 3400, 4000	7,5-110	5-320
63,00	3600, 4000, 4500	7,5-132	5-250
80,00	3200, 3600, 4000, 4500, 5000	11-132	5-250
100,00	3600, 4000, 4500, 5000	11-132	5-200

Приклади виконання завдань

Завдання 1. Річна потужність безперервної одноступеневої установки для культивування біомаси повинна становити 2000 тонн цієї біомаси в культуральній рідині за рік. Ресурс робочого часу – 300 діб безперервної роботи за рік. Процес ферментації відповідає моделі Моно-Ієрусалимського. Теоретично можлива концентрація біомаси в КР – 40 кг/м^3 , але насправді допускається конверсія субстрату на 90%. Константа $K_s=10 \text{ кг/м}^3$, $K_{ps}=45 \text{ кг/м}^3$, максимальна питома швидкість росту – $0,6 \text{ год}^{-1}$, коефіцієнт $a=1,9$. Коефіцієнт заповнення ферментерів – 0,7. Знайти об'єм ферментерів.

Розв'язання. 1. За 1 годину з установки повинна виходити культуральна рідина, що містить:

$$(2000 \times 1000) / (300 \times 24) = 277,8 \text{ кг біомаси.}$$

2. Якщо конверсія субстрату становить 90%, то і концентрація біомаси на виході з установки повинна становити 90% від теоретично можливої, тобто:

$$X = 0,9 \times 40 = 36 \text{ кг/м}^3.$$

3. Потік культуральної рідини з установки має становити:

$$V_{\pi} = 277,8 / 36 = 7,72 \text{ м}^3/\text{год.}$$

3. Вихідна концентрація субстрату повинна становити

$$S_0 = 1,9 \times 40 = 76 \text{ кг/м}^3.$$

4. Використовуючи вираз рівняння Моно, знаходимо питому швидкість росту:

$$\begin{aligned} \mu &= \mu_{\max} \frac{(S_0 - aX)K_{ps}}{(K_s + S_0 - aX)(K_{ps} + aX)} = \\ &= 0,6 \frac{(76 - 1,9 \times 36)45}{(10 + 76 - 1,9 \times 36)(45 + 1,9 \times 36)} = 0,2028 \end{aligned}$$

5. Оскільки:

$$\mu = D = V_{\pi} / V_p = 7,72 / 0,1028 = 75,1 \text{ м}^3.$$

7. Повний об'єм ферментера повинен становити:

$$75,1 / 0,7 = 107,28 \text{ м}^3.$$

Обираємо стандартний ферментер об'ємом 100 м³.

Якщо в установці довільно змінити потік ПС, то згідно з моделлю встановиться нове значення питомої швидкості росту, а режим автоматично стане сталим.

Завдання 2. Нехай в установці, розрахованій за прикладом 1, довільно збільшили потік ПС на 50%. Яка буде продуктивність установки?

Розв'язання. 1. Новий потік буде становити:

$$1,5 \times 7,72 = 11,58 \text{ м}^3/\text{год.}$$

2. Коефіцієнт розбавлення дорівнюватиме:

$$11,58 / 75,1 = 0,154 \text{ год}^{-1}.$$

3. Знаходимо нове значення X:

$$0,154 = 0,6(76-1,9 \times X)45 (10 + 76- 1,9 \times X)(45 + 1,9 \times X).$$

Звідси:

$$X = 32,4 \text{ кг/м}^3.$$

4. Продуктивність установки буде становити

$$32,4 \times 11,58 = 375,192 \text{ кг біомаси/годину.}$$

Річна потужність становить:

$$375,192 \times 300 \times 24 = 2701382 \text{ кг/рік} = 2700 \text{ тон/рік.}$$

5. Ступінь конверсії становить:

$$32,4/40 = 0,81 = 81 \text{ \%}.$$

Отже, якщо збільшено потік сировини на 50%, потужність установки зросла з 2000 до 2700 тон/рік, але при цьому за рахунок неповного використання збільшились втрати субстрату.

Існує екстремальне значення поточної концентрації субстрату S , а відтак і екстремальне значення поточної концентрації біомаси X , при яких досягається максимальне значення миттєвої продуктивності процесу і оптимальні значення цих показників.

$$S_{extr} = \frac{K_s(S_0 + K_{ps})\sqrt{K_s K_{ps}(S_0 + K_s)(S_0 + K_{ps})}}{K_s - K_{ps}}$$
$$X_{extr} = \frac{S_0 - S_{extr}}{\alpha}$$

Завдання 3. Знайти об'єм ферментера одноступеневої установки безперервного культивування за умовами прикладу 1, але процес відбувається в екстремальних умовах.

Розв'язання. 1. Знаходимо вихідну концентрацію субстрату:

$$80 = 1,9 \times 40 = 76 \text{ кг/м}^3.$$

2. Знаходимо екстремальне значення поточної концентрації субстрату:

$$S_{extr} = \frac{10(76 + 45)\sqrt{10 \times 45(76 + 10)(76 + 45)}}{10 - 45} = 27,26 \text{ кг/м}^3$$

3. Знаходимо екстремальне значення поточної концентрації біомаси:

$$X_{\text{extr}} = (76-27,26)/1,9 = 25,65 \text{ кг/м}^3.$$

4. Продуктивність установки за біомасою повинна становити

$$M = (2000 \times 1000) / (300 \times 24) = 277,8 \text{ кг/год.}$$

5. Цієї біомаси повинно міститись в КР стільки, щоб

$$M/V_{\pi} = X.$$

Отже:

$$V_{\pi} = 277,8 / 25,65 = 10,83 \text{ м}^3/\text{год.}$$

6. Знаходимо питому швидкість росту біомаси:

$$\mu = 0,6 \frac{27,26 \times 45}{(10 + 27,26)(45 + 76 - 27,26)} = 0,2107 \text{ год}^{-1}$$

7. Оскільки: $D=m=V_{\pi}/V_p$, то:

$$V_p = 7,72/0,1028 = 51,4 \text{ м}^3.$$

8. Повний об'єм ферментера буде становити:

$$51,4 / 0,7 = 73,4 \text{ м}^3.$$

Обираємо ферментер зі стандартним об'ємом 80 м³.

Завдання 4. У двох послідовно з'єднаних ферментерах в безперервному режимі відбувається процес культивування біомаси, який відповідає моделі Моно- Ієрусалимського. Другий ферментер за об'ємом втричі менший від першого. В першому ферментері процес завершується на 70%. Максимальна питома швидкість росту – 0,5 год⁻¹, $K_s=12 \text{ кг/м}^3$, $K_{ps}=36 \text{ кг/м}^3$, $a=2$. Теоретично можлива концентрація біомаси при 100% конверсії – 45 кг/м³. Потік ПС в перший ферментер – 4 м³/год. Коефіцієнт заповнення ферментерів 70%. Знайти продуктивність установки за біомасою в КР, загальний ступінь конверсії та об'єми кожного з ферментерів.

Розв'язання. 1. Початкова концентрація субстрату:

$$S_0 = 2 \times 45 = 90 \text{ кг/м}^3.$$

2. Концентрація субстрату на виході з першого ферментера:

$$S_1 = (1 - 0,7)90 = 27 \text{ кг/м}^3.$$

3. Питома швидкість росту в першому ферментері

$$\mu_1 = 0,5 \frac{27 \times 36}{(12 + 26) \times (36 + 90 - 27)} = 0,126 \text{ год}^{-1}$$

4. Робочий об'єм першого ферментера:

$$V_p = 4/0,126 = 31,7 \text{ м}^3.$$

5. Повний об'єм першого ферментера:

$$31,7/0,7 = 45,35 \text{ м}^3.$$

Обираємо апарат стандартного об'єму – 50 м³.

6. Об'єм другого ферментера:

$$45,35/3 = 15,1 \text{ м}^3.$$

У цьому випадку, стандартний об'єм складатиме 16 м³.

7. Коефіцієнт розбавлення в першому ферментері дорівнює питомій швидкості росту – 0,126 год⁻¹. Оскільки другий ферментер втричі менший за об'ємом, то:

$$D = 3 \times 0,126 = 0,378 \text{ год}^{-1}.$$

8. Підставляємо дані у вираз:

$$D \frac{S_1 - S_2}{S_0 - S_2} = \mu_{max} \frac{S_2}{K_s + S_2} \times \frac{K_{ps}}{K_{ps} + S_0 - S_2}$$

та знаходимо S₂:

$$0,378 \frac{27 - S_2}{90 - S_2} = 0,5 \frac{S_2}{12 + S_2} \times \frac{36}{36 + 90 - S_2}$$

Звідси:

$$S_2 = 19,6 \text{ кг/м}^3.$$

9. Концентрація біомаси на виході з другого ферментера становить

$$(90 - 19,6)/2 = 35,2 \text{ кг/м}^3.$$

10. Ступінь конверсії:

$$35,2/45 = 0,782 = 78,2\%.$$

11. Продуктивність установки за біомасою в КР:

$$35,2 \times 4 = 140,8 \text{ кг/год}.$$

Завдання 5. До одноступеневої установки безперервної дії, що має потужність 1000 тон/рік, ресурс робочого часу 330 діб/рік, коефіцієнт заповнення 0,7, яка працює в екстремальному режимі, послідовно під'єднали ще 2

ферментери. Всі ферментери в батареї однакові за об'ємом. Кінетика ферментації описується моделлю Моно-Ієрусалимського. При цьому $K_s=10 \text{ кг/м}^3$, $K_{ps}=12 \text{ кг/м}^3$, $S_0=50 \text{ кг/м}^3$, $\mu_{\max}=0,6 \text{ год}^{-1}$, $\alpha=2$. Знайти об'єм кожного з апаратів і нову річну потужність установки взагалі. Знайти також об'єм ферментера одноступеневої установки, яка б працювала з тією самою потужністю, що і триступенева.

Розв'язання. 1. Знаходимо концентрацію субстрату в першому ферментері:

$$S_1 = S_{\text{extr}}:$$

$$S_1 = \frac{10(50 + 12) - \sqrt{12 \times 10(50 + 12) \times (50 + 10)}}{10 - 12} = 24 \text{ кг/м}^3$$

2. Знаходимо:

$$X_{\text{extr}} = X_1 = (50-24)/2 = 13 \text{ кг/м}^3.$$

3. Годинна продуктивність установки за біомасою повинна бути:

$$1000000/(330 \times 24) = 126,3 \text{ кг/год.}$$

4. Потік ПС на вході в перший ферментер повинен становити

$$126,3/13 = 9,7 \text{ м}^3/\text{год.}$$

5. Знаходимо питому швидкість росту в першому ферментері:

$$\mu = 0,6 \frac{24 \times 12}{(10 + 24) \times (12 + 50 - 24)} = 0,134 \text{ год}^{-1}$$

6. Знаходимо робочий об'єм першого (відтак другого та третього) ферментера:

$$V_{p1} = 9,7/0,134 = 72,4 \text{ м}^3.$$

7. Повний об'єм кожного з ферментерів становить:

$$72,4/0,7 = 103,4 \text{ м}^3$$

Обираємо ферментер стандартним об'ємом 100 м^3 .

8. Вважаючи, що коефіцієнти розведення в усіх ферментерах однакові, запишемо

$$0,134 \times \frac{24 - S_2}{50 - S_2} = 0,6 \times \frac{S_2 \times 12}{(10 + S_2)(12 + 50 - S_2)}$$

Звідси:

$$S_2 = 7 \text{ кг/м}^3,$$

$$X_2 = (50 - 1)12 = 21,5 \text{ кг/м}^3.$$

9. Для третього ферментера можна записати:

$$0,134 \times \frac{7 - S_3}{50 - S_3} = 0,6 \times \frac{S_3 \times 12}{(10 + S_3)(12 + 50 - S_3)}$$

Звідси:

$$S_3 = 1,5 \text{ кг/м}^3,$$

$$X_3 = (50 - 1,5)/2 = 24,25 \text{ кг/м}^3.$$

10. Годинна загальна продуктивність установки становить:

$$9,7 \times 24,25 = 235,2 \text{ кг біомаси/год.}$$

11. Якщо би працювала одноступенева установка, то питома швидкість росту повинна була б бути:

$$\mu = 0,6 \frac{15 \times 12}{(10 + 1,5) \times (12 + 50 - 1,5)} = 0,0155 \text{ год}^{-1}$$

12. З урахуванням рівності питомої швидкості росту і коефіцієнта розведення, також при збереженні значення потоку ПС, робочий об'єм ферментера повинен становити:

$$9,7/0,0155 = 625,8 \text{ м}^3,$$

а повний:

$$625,8/0,7 = 894 \text{ м}^3.$$

Порівнюючи загальний об'єм ферментерів триступеневої установки

$$(100 + 100 + 100 = 300 \text{ м}^3)$$

з об'ємом одноступеневої можна наочно бачити перевагу першої.

Завдання для самостійного виконання до практичної роботи № 6

1. Річна потужність безперервної одноступеневої установки для культивування біомаси повинна становити 1000 тонн цієї біомаси в культуральній рідині за рік. Ресурс робочого часу – 300 діб безперервної роботи за рік. Процес ферментації відповідає моделі Моно-Ієрусалимського. Теоретично можлива концентрація біомаси в КР – 20 кг/м³, але насправді допускається конверсія субстрату на 90 %. Константа $K_s = 10 \text{ кг/м}^3$, $K_{ps} = 25 \text{ кг/м}^3$, максимальна

питома швидкість росту – $0,3 \text{ год}^{-1}$, коефіцієнт $\alpha = 1,3$. Коефіцієнт заповнення ферментерів – $0,6$. Знайти об'єм ферментерів.

2. Річна потужність безперервної одноступеневої установки для культивування біомаси повинна становити 1000 тонн цієї біомаси в культуральній рідині за рік. Ресурс робочого часу – 300 діб безперервної роботи за рік. Процес ферментації відповідає моделі Моно-Ієрусалимського. Теоретично можлива концентрація біомаси в КР – 20 кг/м^3 , але насправді допускається конверсія субстрату на 90 %. Константа $K_s = 10 \text{ кг/м}^3$, $K_{ps} = 25 \text{ кг/м}^3$, максимальна питома швидкість росту – $0,36 \text{ год}^{-1}$, коефіцієнт $\alpha = 1,3$. Коефіцієнт заповнення ферментерів – $0,6$. Знайти об'єм ферментера одноступеневої установки безперервного культивування, але процес відбувається в екстремальних умовах.

3. У двох послідовно з'єднаних ферментерах в безперервному режимі відбувається процес культивування біомаси, який відповідає моделі Моно-Ієрусалимського. Другий ферментер за об'ємом втричі менший від першого. В першому ферментері процес завершується на 60 %. Максимальна питома швидкість росту – $0,6 \text{ год}^{-1}$, $K_s = 14 \text{ кг/м}^3$, $K_{ps} = 38 \text{ кг/м}^3$, $\alpha = 2$. Теоретично можлива концентрація біомаси при 100 % конверсії – 45 кг/м^3 . Потік ПС в перший ферментер – $4 \text{ м}^3/\text{год}$. Коефіцієнт заповнення ферментерів 60%. Знайти продуктивність установки за біомасою в КР, загальний ступінь конверсії та об'єми кожного з ферментерів.

4. До одноступеневої установки безперервної дії, що має потужність 2000 тон/рік, ресурс робочого часу 330 діб/рік, коефіцієнт заповнення $0,75$, яка працює в екстремальному режимі, послідовно під'єднали ще 2 ферментери. Всі ферментери в батареї однакові за об'ємом. Кінетика ферментації описується моделлю Моно-Ієрусалимського. При цьому $K_s = 12 \text{ кг/м}^3$, $K_{ps} = 14 \text{ кг/м}^3$, $S_0 = 50 \text{ кг/м}^3$, $\mu_{\max} = 0,6 \text{ год}^{-1}$, $\alpha = 2$. Знайти об'єм кожного з апаратів і нову річну потужність установки взагалі. Знайти також об'єм ферментера одноступеневої установки, яка б працювала з тією самою потужністю, що і триступенева.

5. Розрахувати повний об'єм ферментера, призначеного для проведення неперервного процесу культивування, який відповідає моделі Моно-Ієрусалимського за такими даними: $S_0 = 50 \text{ кг/м}^3$, продуктивність за біомасою

100 кг/год, кількість субстрату, що йде на утворення 1 кг АСБ - 2, $K_s = 2$ кг/м³. $K_{ps} = 10$ кг/м³, максимальна питома швидкість росту 0,5 год⁻¹, коефіцієнт заповнення – 0,7; процес відбувається в екстремальних умовах.

6. За моделлю Моно-Ієрусалимського розрахувати ємність апарата для безперервного культивування за таких умов: максимальна питома швидкість росту – 0,7 год⁻¹; K_s , K_{ps} , S_0 відповідно 12,5, 13 та 75 кг/м³; $N = 1000$ тон/рік; $n = 330$ діб/рік; K_1 K_2 , K_3 відповідно 0,75; 1; 0,6; $a^s = 1,8$. Умови культивування екстремальні.

7. Процес відповідає моделі Моно-Ієрусалимського. Розраховані та експериментально знайдені константи двоступеневої установки для безперервного культивування: максимальна питома швидкість росту 0,7 год⁻¹; S_0 , S_1 , K_s , K_{ps} відповідно 75; 37,2; 12,5 та 13 кг/м³; $a^s = 1,8$. Знайти концентрацію біомаси на виході з другого ферментера X_2 та ступінь конверсії.

8. За моделлю Моно-Ієрусалимського розрахувати ємність апарата для безперервного культивування за таких умов: максимальна питома швидкість росту – 0,6 год⁻¹; K_s , K_{ps} , S_0 відповідно 25, 26 та 150 кг/м³; $N = 2000$ тон/рік; $n = 330$ діб/рік; K_1 K_2 , K_3 відповідно 1,5; 1; 1,2; $a^s = 1,8$. Умови культивування екстремальні.

9 Процес відповідає моделі Моно-Ієрусалимського. Розраховані та експериментально знайдені константи двоступеневої установки для безперервного культивування: максимальна питома швидкість росту 0,6 год⁻¹; S_0 , S_1 , K_s , K_{ps} відповідно 75; 37,2; 12,5 та 13 кг/м³; $a^s = 1,8$. Знайти концентрацію біомаси на виході з другого ферментера X_2 та ступінь конверсії.

10. Річна потужність безперервної одноступеневої установки для культивування біомаси повинна становити 4000 тон цієї біомаси в культуральній рідині за рік. Ресурс робочого часу - 320 діб безперервної роботи за рік. Процес ферментації відповідає моделі Моно-Ієрусалимського. Теоретично можлива концентрація біомаси в КР – 40 кг/м³, але насправді допускається конверсія субстрату на 90 %. Константа $K_s = 10$ кг/м³, $K_{ps} = 25$ кг/м³, максимальна питома швидкість росту – 0,3 год⁻¹, коефіцієнт $a = 1,3$. Коефіцієнт заповнення ферментерів – 0,6. Знайти об'єм ферментерів.

11. Річна потужність безперервної одноступеневої установки для культивування біомаси повинна становити 1200 тонн цієї біомаси в культуральній рідині за рік. Ресурс робочого часу – 330 діб безперервної роботи за рік. Процес ферментації відповідає моделі Моно-Ієрусалимського. Теоретично можлива концентрація біомаси в КР – 20 кг/м^3 , але насправді допускається конверсія субстрату на 90 %. Константа $K_s = 12 \text{ кг/м}^3$, $K_{ps} = 25 \text{ кг/м}^3$, максимальна питома швидкість росту – $0,36 \text{ год}^{-1}$, коефіцієнт $a = 1,3$. Коефіцієнт заповнення ферментерів – 0,6. Знайти об'єм ферментера одноступеневої установки безперервного культивування, але процес відбувається в екстремальних умовах.

12. У двох послідовно з'єднаних ферментерах в безперервному режимі відбувається процес культивування біомаси, який відповідає моделі Моно-Ієрусалимського. Другий ферментер за об'ємом втричі менший від першого. В першому ферментері процес завершується на 60 %. Максимальна питома швидкість росту – $0,7 \text{ год}^{-1}$, $K_s = 16 \text{ кг/м}^3$, $K_{ps} = 40 \text{ кг/м}^3$, $a = 2$. Теоретично можлива концентрація біомаси при 100% конверсії – 47 кг/м^3 . Потік ПС в перший ферментер – $6 \text{ м}^3/\text{год}$. Коефіцієнт заповнення ферментерів 70 %. Знайти продуктивність установки за біомасою в КР, загальний ступінь конверсії та об'єми кожного з ферментерів.

13. Річна потужність безперервної одноступеневої установки для культивування біомаси повинна становити 1200 тонн цієї біомаси в культуральній рідині за рік. Ресурс робочого часу – 310 діб безперервної роботи за рік. Процес ферментації відповідає моделі Моно-Ієрусалимського. Теоретично можлива концентрація біомаси в КР – 25 кг/м^3 , але насправді допускається конверсія субстрату на 90 %. Константа $K_s = 12 \text{ кг/м}^3$, $K_{ps} = 25 \text{ кг/м}^3$, максимальна питома швидкість росту – $0,6 \text{ год}^{-1}$, коефіцієнт $a = 1,3$. Коефіцієнт заповнення ферментерів – 0,6. Знайти об'єм ферментерів.

14. Річна потужність безперервної одноступеневої установки для культивування біомаси повинна становити 1200 тонн цієї біомаси в культуральній рідині за рік. Ресурс робочого часу – 310 діб безперервної роботи за рік. Процес ферментації відповідає моделі Моно-Ієрусалимського. Теоретично можлива концентрація біомаси в КР – 25 кг/м^3 , але насправді допускається

конверсія субстрату на 90 %. Константа $K_s = 12 \text{ кг/м}^3$, $K_{ps} = 25 \text{ кг/м}^3$, максимальна питома швидкість росту – $0,6 \text{ год}^{-1}$, коефіцієнт $a = 1,3$. Коефіцієнт заповнення ферментерів – 0,6. Знайти об'єм ферментера одноступеневої установки безперервного культивування, але процес відбувається в екстремальних умовах.

15. У двох послідовно з'єднаних ферментерах в безперервному режимі відбувається процес культивування біомаси, який відповідає моделі Моно-Ієрусалимського. Другий ферментер за об'ємом втричі менший від першого. В першому ферментері процес завершується на 60 %. Максимальна питома швидкість росту – $0,65 \text{ год}^{-1}$, $K_s = 14 \text{ кг/м}^3$, $K_{ps} = 32 \text{ кг/м}^3$, $a = 2$. Теоретично можлива концентрація біомаси при 100 % конверсії – 45 кг/м^3 . Потік ПС в перший

ферментер – $6 \text{ м}^3/\text{год}$. Коефіцієнт заповнення ферментерів 65 %. Знайти продуктивність установки за біомасою в КР, загальний ступінь конверсії та об'єми кожного з ферментерів.

16. Річна потужність безперервної одноступеневої установки для культивування біомаси повинна становити 1400 тонн цієї біомаси в культуральній рідині за рік. Ресурс робочого часу – 320 діб безперервної роботи за рік. Процес ферментації відповідає моделі Моно-Ієрусалимського. Теоретично можлива концентрація біомаси в КР – 22 кг/м^3 , але насправді допускається конверсія субстрату на 90 %. Константа $K_s = 10 \text{ кг/м}^3$, $K_{ps} = 25 \text{ кг/м}^3$, максимальна питома швидкість росту – $0,3 \text{ год}^{-1}$, коефіцієнт $a = 1,3$. Коефіцієнт заповнення ферментерів – 0,6. Знайти об'єм ферментерів.

17. Річна потужність безперервної одноступеневої установки для культивування біомаси повинна становити 1400 тонн цієї біомаси в культуральній рідині за рік. Ресурс робочого часу – 320 діб безперервної роботи за рік. Процес ферментації відповідає моделі Моно-Ієрусалимського. Теоретично можлива концентрація біомаси в КР – 22 кг/м^3 , але насправді допускається конверсія субстрату на 90 %. Константа $K_s = 10 \text{ кг/м}^3$, $K_{ps} = 25 \text{ кг/м}^3$, максимальна питома швидкість росту – $0,36 \text{ год}^{-1}$, коефіцієнт $a = 1,3$. Коефіцієнт заповнення ферментерів – 0,6. Знайти об'єм ферментера одноступеневої установки безперервного культивування, але процес відбувається в екстремальних умовах.

18. У двох послідовно з'єднаних ферментерах в безперервному режимі відбувається процес культивування біомаси, який відповідає моделі Моно-Ієрусалимського. Другий ферментер за об'ємом втричі менший від першого. В першому ферментері процес завершується на 40 %. Максимальна питома швидкість росту – $0,7 \text{ год}^{-1}$, $K_s = 18 \text{ кг/м}^3$, $K_{ps} = 46 \text{ кг/м}^3$, $a = 2$. Теоретично можлива концентрація біомаси при 100 % конверсії – 45 кг/м^3 . Потік ПС в перший

ферментер – $8 \text{ м}^3/\text{год}$. Коефіцієнт заповнення ферментерів 65 %. Знайти продуктивність установки за біомасою в КР, загальний ступінь конверсії та об'єми кожного з ферментерів.

19. Річна потужність безперервної одноступеневої установки для культивування біомаси повинна становити 1600 тонн цієї біомаси в культуральній рідині за рік. Ресурс робочого часу – 330 діб безперервної роботи за рік. Процес ферментації відповідає моделі Моно-Ієрусалимського. Теоретично можлива концентрація біомаси в КР – 26 кг/м^3 , але насправді допускається конверсія субстрату на 90 %. Константа $K_s = 10 \text{ кг/м}^3$, $K_{ps} = 25 \text{ кг/м}^3$, максимальна питома швидкість росту – $0,8 \text{ год}^{-1}$, коефіцієнт $a = 1,3$. Коефіцієнт заповнення ферментерів – 0,65. Знайти об'єм ферментерів.

20. Річна потужність безперервної одноступеневої установки для культивування біомаси повинна становити 1600 тонн цієї біомаси в культуральній рідині за рік. Ресурс робочого часу – 330 діб безперервної роботи за рік. Процес ферментації відповідає моделі Моно-Ієрусалимського. Теоретично можлива концентрація біомаси в КР – 26 кг/м^3 , але насправді допускається конверсія субстрату на 90 %. Константа $K_s = 10 \text{ кг/м}^3$, $K_{ps} = 25 \text{ кг/м}^3$, максимальна питома швидкість росту – $0,8 \text{ год}^{-1}$, коефіцієнт $a = 1,3$. Коефіцієнт заповнення ферментерів – 0,65. Знайти об'єм ферментера одноступеневої установки безперервного культивування, процес відбувається в екстремальних умовах.

21. У двох послідовно з'єднаних ферментерах в безперервному режимі відбувається процес культивування біомаси, який відповідає моделі Моно-Ієрусалимського. Другий ферментер за об'ємом втричі менший від першого. В першому ферментері процес завершується на 50 %. Максимальна питома

швидкість росту – $0,75 \text{ год}^{-1}$, $K_s = 16 \text{ кг/м}^3$, $K_{ps} = 40 \text{ кг/м}^3$, $a = 2$. Теоретично можлива концентрація біомаси при 100 % конверсії – 45 кг/м^3 . Потік ПС в перший

ферментер – $5 \text{ м}^3/\text{год}$. Коефіцієнт заповнення ферментерів 65 %. Знайти продуктивність установки за біомасою в КР, загальний ступінь конверсії та об'єми кожного з ферментерів.

22. Річна потужність безперервної одноступеневої установки для культивування біомаси повинна становити 1800 тон цієї біомаси в культуральній рідині за рік. Ресурс робочого часу – 315 діб безперервної роботи за рік. Процес ферментації відповідає моделі Моно-Ієрусалимського. Теоретично можлива концентрація біомаси в КР – 15 кг/м^3 , але насправді допускається конверсія субстрату на 90 %. Константа $K_s = 10 \text{ кг/м}^3$, $K_{ps} = 25 \text{ кг/м}^3$, максимальна питома швидкість росту – $0,65 \text{ год}^{-1}$, коефіцієнт $a = 1,3$. Коефіцієнт заповнення ферментерів – 0,7. Знайти об'єм ферментерів.

23. Річна потужність безперервної одноступеневої установки для культивування біомаси повинна становити 1800 тон цієї біомаси в культуральній рідині за рік. Ресурс робочого часу - 315 діб безперервної роботи за рік. Процес ферментації відповідає моделі Моно-Ієрусалимського. Теоретично можлива концентрація біомаси в КР - 15 кг/м^3 , але насправді допускається конверсія субстрату на 90%. Константа $K_s = 10 \text{ кг/м}^3$, $K_{ps} = 25 \text{ кг/м}^3$, максимальна питома швидкість росту - $0,65 \text{ год}^{-1}$, коефіцієнт $a = 1,3$. Коефіцієнт заповнення ферментерів-0,7. Знайти об'єм ферментера одноступеневої установки безперервного культивування, але процес відбувається в екстремальних умовах.

24. У двох послідовно з'єднаних ферментерах в безперервному режимі відбувається процес культивування біомаси, який відповідає моделі Моно-Ієрусалимського. Другий ферментер за об'ємом втричі менший від першого. В першому ферментері процес завершується на 65 %. Максимальна питома швидкість росту – $0,65 \text{ год}^{-1}$, $K_s = 16 \text{ кг/м}^3$, $K_{ps} = 42 \text{ кг/м}^3$, $a = 2$. Теоретично можлива концентрація біомаси при 100% конверсії – 45 кг/м^3 . Потік ПС в перший ферментер – $4 \text{ м}^3/\text{год}$. Коефіцієнт заповнення ферментерів 75 %. Знайти

продуктивність установки за біомасою в КР, загальний ступінь конверсії та об'єми кожного з ферментерів.

25. Річна потужність безперервної одноступеневої установки для культивування біомаси повинна становити 2600 тонн цієї біомаси в культуральній рідині за рік. Ресурс робочого часу – 335 діб безперервної роботи за рік. Процес ферментації відповідає моделі Моно-Ієрусалимського. Теоретично можлива концентрація біомаси в КР – 60 кг/м^3 , але насправді допускається конверсія субстрату на 90 %. Константа $K_s = 12 \text{ кг/м}^3$, $K_{ps} = 28 \text{ кг/м}^3$, максимальна питома швидкість росту – $0,75 \text{ год}^{-1}$, коефіцієнт $a = 1,3$. Коефіцієнт заповнення ферментерів – 0,7. Знайти об'єм ферментерів.

Питання для самоперевірки

1. Що таке безперервне культивування?
2. В чому переваги безперервного культивування?
3. Наведіть схематичне зображення безперервного одноступеневого культивування?
4. Наведіть схематичне зображення безперервного одноступеневого культивування?
5. Чим відрізняється багатоступеневе культивування від одноступеневого?
6. Що таке культивування в екстремальних умовах?
7. Які ферментери, зазвичай використовуються для проведення багатоступеневого культивування?
8. В чому полягає принцип моделі Моно?
9. В яких випадках використовується безперервне культивування мікроорганізмів?
10. Коли недоцільно використовувати безперервне культивування?

ПРАКТИЧНА РОБОТА № 7-8

ПРОДУКТОВИЙ РОЗРАХУНОК ПРОЦЕСУ ОДЕРЖАННЯ ПРОДУКТІВ МІКРОБНОГО СИНТЕЗУ ТА СКЛАДАННЯ МАТЕРІАЛЬНОГО БАЛАНСУ

Мета роботи: навчитися проводити розрахунок основних показників процесу мікробного синтезу цільових продуктів.

Теоретичні відомості

Продуктовий розрахунок та складання матеріального балансу партії цільового продукту виробництва проводять з метою визначення основного показника виробничого процесу – виходу цільового продукту з одиниці об'єму культуральної рідини (кг БАР/м³, од. актив./м³). Вихід цільового продукту одночасно являє собою показник ефективності виробництва, за яким можливе порівняння різних технологій.

Матеріальний баланс складають або на виробничу партію (серію), або на виробництво в цілому, дотримуючись системи SI. Матеріальний баланс будь-якого біотехнологічного виробництва складають за цільовим продуктом, який отримують у процесі біосинтезу, кількість якого представлена у товарній масі:

- **у виробництві ферментів** – за умовними тонами ферменту;
- **у виробництві антибіотиків** – за товарною масою, перерахованою за активністю антибіотика;
- **у виробництві амінокислот** – за сумарним вмістом амінокислот у товарній масі;
- **у виробництві кормового білку** – за кількістю біомаси з заданою концентрацією сирого протеїну в товарній масі.

Наприклад, активність пеніциліну G початково визначають в одиницях дії (ОД). Кристалічна натрієва сіль пеніциліну G містить приблизно 1600 ОД/мг (1 ОД відповідає 0,6 мкг; 1 млн ОД пеніциліну, відповідно, дорівнюватиме 0,6 г).

Більшу частину напівсинтетичних антибіотиків дозують у одиницях маси, а не у одиницях дії.

Матеріальний баланс складають за стадіями технологічного процесу з урахуванням втрат, обґрунтованих і представлених на технологічній схемі по стадіях. Для розрахунку матеріального балансу використовують дані з завдання на проектування або з техніко-економічного обґрунтування, а саме:

- річна виробнича потужність;
- продуктивність;
- тривалість виробництва.

Підставою для розрахунку витрат сировини може бути:

- регламент діючого виробництва,
- технологічні умови (ТУ),
- лабораторний регламент,
- стехіометричні реакції біосинтезу.

Наприклад, добова (годинна) потужність підприємства, [кг/добу (год)]:

$$Q1 = Q / K,$$

де Q – потужність на год, кг/год; K – кількість робочих днів.

Тоді, потрібна кількість рідини:

$$Q2 = Q1(100 - P),$$

де P – загальні втрати цільового продукту по стадіях виробництва.

Матеріальний баланс складають і подають у вигляді таблиці (табл. 7.1), де наведено інформацію про види і кількість використаної сировини та напівпродуктів (графа «Використано») та отриманих продуктів (графа «Отримано»).

Нижче, наведено **методику продуктового розрахунку процесу біосинтезу**. Розрахунок проводиться на одиницю кількості культуральної рідини G в кінці біосинтезу, що становитиме 1 м³. Для кожного конкретного розрахунку проводиться перерахунок на робочий об'єм ферментера.

1. Кількість культуральної рідини з врахуванням втрат у кількості 10% за рахунок виносу середовища газами, що виходять з ферментера а також з

врахуванням втрат культуральної рідини з відборами проб, залишками в трубопроводах, та у ферментері після вивантаження.

Таблиця 7.1. Структура таблиця для складання матеріального балансу процесу виробництва БАР

Використано		Отримано	
Назва сировини і напівпродуктів	Кількість	Назва кінцевого продукту, відходів та втрат	Кількість
1	2	3	4

Тоді, загальна кількість культуральної рідини з врахуванням посівного матеріалу складе:

$$G_1 = G \times I, I, \text{ м}^3.$$

2. Витрати компонентів на приготування поживного середовища для кількості культуральної рідини об'ємом G_1 і вміст у ньому абсолютно сухих речовин.

Загальна витрата компонентів для поживного середовища:

$$G_2 = g_1 + g_2 + g_3 + \dots + g_n, \text{ кг}$$

де $g_1, g_2, g_3, \dots, g_n$ витрати окремого компонента поживного середовища.

Вміст абсолютно сухих речовин в середовищі:

$$G_3 = c_1 + c_2 + c_3 + \dots + c_n, \text{ кг}$$

де $c_1, c_2, c_3, \dots, c_n$ вміст абсолютно сухих речовин кожного компонента середовища, який визначається множенням витрат компонента на вміст в ньому абсолютно сухих речовин відповідно стандарту якості компонентів поживного середовища.

3. Кількість посівного матеріалу для засіву поживного середовища (кількість посівного матеріалу задається у межах 2-10 % (за об'ємом) по відношенню до G_1 , або розраховується). Приймаємо кількість посівного матеріалу рівною 2 %):

$$G_4 = G_1 \times 0,02, \text{ м}^3.$$

Втрати при вирощуванні посівного матеріалу складають 5 %. Кількість готового посівного матеріалу складе:

$$G_5 = G_4 \times 0,95, \text{ м}^3.$$

Кількість абсолютно сухих речовин в посівному матеріалі приймають рівною 5 % від загального об'єму. З урахуванням, що густина культуральної рідини приблизно рівна 1050 кг/м³, отримаємо:

$$G_{5.1} = G_5 \times 0,05 \times 1050, \text{ кг}.$$

4. Витрати компонентів поживного середовища для одержання посівного матеріалу. Загальні витрати компонентів для середовища:

$$G_6 = g_1 + g_2 + g_3 + \dots + g_n, \text{ кг}$$

де $g_1, g_2, g_3, \dots, g_n$ витрати окремого компонента поживного середовища необхідна для отримання G_5 .

Вміст абсолютно сухих речовин в середовищі:

$$G_7 = c_1 + c_2 + c_3 + \dots + c_n, \text{ кг}$$

де $c_1, c_2, c_3, \dots, c_n$ вміст абсолютно сухих речовин кожного компонента середовища, який визначається множенням витрат компонента на вміст в ньому абсолютно сухих речовин відповідно стандарту якості компонентів поживного середовища.

5. Кількість середовища, що поступає у ферментер на початку біосинтезу (поживне середовище та посівний матеріал):

$$G_8 = G_1 + G_{5.1}, \text{ м}^3.$$

Вміст абсолютно сухих речовин при цьому складе:

$$G_9 = G_3 + G_{5.1}, \text{ кг}.$$

6. Кількість культуральної рідини одержаної після біосинтезу що поступає на стадії обробки (вихід з урахуванням втрат (10 %) на стадії біосинтезу – 90 %):

$$G_{10} = G_8 \times 0,9, \text{ м}^3.$$

Втрати культуральної рідини з відведеними газами та іншими втратами (приймаються рівними 10 % у відповідності з завданням):

$$G_{11} = G_8 \times 0,1, \text{ м}^3.$$

При цьому втрати абсолютно сухих речовин з втратами культуральної рідини складуть (величина втрат приймається рівною 10 %):

$$G_{12} = G_9 \times 0,1, \text{ кг.}$$

Активність культуральної рідини (вміст БАР, цільового продукту та ін.):

$$A_1, \text{ од./см}^3, \text{ мг/см}^3, \text{ г/см}^3, \text{ КУО/см}^3 \text{ і т.д..}$$

A_1 концентраційний показник визначається керівником проекту у завданні на проектування або вибирається на підставі проведеного студентом аналізу літературних джерел

Загальна активність (або вміст цільового продукту на виході з апарату):

$$A_2 = A_1 \times G_{10}, \text{ од, г, кг та інш/м}^3.$$

Кількість абсолютно сухих речовин в культуральній рідині:

$$G_{12} = G_{10} \times X/100, \text{ кг.}$$

Примітка. 1. Всі значення, вказані в даному розрахунку у відсотках. Можуть бути змінені залежно від вигляду препарату і вказуються у «Завданні на проектування».

7. Фільтрування культуральної рідини. Витрата води на промивку осаду складатиме приблизно 50 % від кількості культуральної рідини на виході з ферментеру:

$$G_{15} = G_{10} \times 0,5, \text{ м}^3.$$

Кількість отриманого фільтрату з урахуванням 10 % втрат при фільтрації:

$$G_{16} = (G_{10} + G_{15}) \times 0,9, \text{ м}^3.$$

Кількість абсолютно сухого осаду, відділеного при фільтрації. При фільтрації культуральної рідини в осаді залишається 40 % від вмісту абсолютно сухих речовин, що містяться в культуральній рідині:

$$G_{17} = G_{12} \times 0,4, \text{ кг.}$$

При вологості осаду 85 %, його кількість становить:

$$G_{18} = G_{17} / (1 - 0,85), \text{ кг}$$

$$\text{або } G_{19} = G_{18} / 1200, \text{ м}^3,$$

де 1200 кг/м³ – густина осаду (приймаємо приблизне значення для БАР).

Вміст абсолютно сухих речовин у фільтраті:

$$G_{20} = G_{12} - G_{17}, \text{ кг.}$$

Активність або вміст продукту у фільтраті з урахуванням втрат від інактивації, які складають 5 %:

$$A_3 = A_2 \times (1 - 0,05) \times G_{10} + G_{15}, \text{ од/м}^3.$$

Загальна активність, (або вміст цільового продукту) у фільтраті:

$$A_4 = G_{16} \times A_3 \text{ од/м}^3.$$

Втрати активності на стадії фільтрування складуть:

$$a_1 = A_2 - A_4, \text{ од/м}^3$$

з них: втрати активності з біомасою

$$a_2 = G_{18} \times 0,85 \times A_3, \text{ од/м}^3$$

втрати від інактивації

$$a_3 = a_1 - a_2, \text{ од/м}^3$$

8. Концентрування ферментного розчину методом ультрафільтрації.

Кількість ультраконцентрату при ступені концентрування в 10 разів:

$$G_{21} = G_{16} / 10, \text{ м}^3.$$

Активність продукту в ультраконцентраті з урахуванням 10 % втрат:

$$A_5 = A_3 \times G_{16} \times (1 - 0,1) / G_{21}, \text{ од/м}^3.$$

Загальна активність концентрату:

$$A_6 = A_5 \times G_{21}, \text{ од.}$$

Кількість абсолютно сухих речовин у концентраті (за експериментальними даними для заданого типу мембран складає приблизно 7,5%):

$$G_{22} = G_{21} \times 0,075 \times 1300, \text{ кг,}$$

де 1300 кг/м³ – густина твердої фази.

Кількість ультрафільтрату:

$$G_{23} = G_{16} - G_{21}, \text{ м}^3.$$

Кількість абсолютно сухих речовин в ультрафільтраті:

$$G_{24} = G_{20} - G_{22}, \text{ м}^3.$$

Загальна активність ультрафільтрату (втрати з ультрафільтратом 6,5% від загальної активності фільтрату):

$$A_7 = A_4 \times (1 - 0,065), \text{ од.}$$

Втрати від інактивації:

$$a_4 = A_1 - (A_6 + A_7), \text{ од.}$$

Активність ультрафільтрату:

$$a_5 = A_7 / G_{23}, \text{ од/м}^3.$$

Стерилізуюча фільтрація концентрату. Кількість стерильного концентрату з врахуванням втрат - 3%:

$$G_{25} = G_{21} \times (1 - 0,03) \text{ м}^3$$

Активність стерильного концентрату з обліком інактивації 5 % від активності концентрату:

$$A_8 = A_5 \times (1 - 0,05) / G_{25}, \text{ од/м}^3$$

Загальна активність у стерильному концентраті:

$$A_9 = A_8 / G_{25}, \text{ од.}$$

Втрати від інактивації:

$$a_6 = A_6 \times 0,05 \text{ од.}$$

Кількість осаду, отриманого при стерилізуючій фільтрації (видаляється 8% від абсолютно сухих речовин, що містяться в концентрату):

$$G_{26} = G_{22} \times 0,08, \text{ кг.}$$

Кількість вологого осаду, отриманого при стерилізуючій фільтрації (вологість осаду – 85 %):

$$G_{27} = G_{26} / (1 - 0,85), \text{ кг.}$$

З іншого боку:

$$G_{28} = G_{27} / 1,1,$$

де 1.1 густина осаду.

Втрати активності з осадом:

$$a_7 = G_{27} \times 0,85 \times A_8, \text{ од.}$$

Кількість абсолютно сухих речовин в стерильному концентраті:

$$G_{29} = G_{22} - G_{26}, \text{ кг.}$$

Рідинна стандартизація стерильного концентрату. Рідинна стандартизація проводиться яким-небудь інертним наповнювачем (сіллю повареною, сульфатом натрію) з метою підвищення концентрації сухих речовин у концентраті до 10-12 %. Кількість наповнювача для рідинної стандартизації:

$$G_{30} = G_{25} \times 0,12 - G_{29}, \text{ кг.}$$

Кількість абсолютно сухих речовин у стерильному концентраті з наповнювачем:

$$G_{31} = G_{29} + G_{30}, \text{ кг}.$$

Загальна активність стерильного концентрату з урахуванням втрат – 1 %:

$$A_{11} = A_9 \times (1 - 0,01), \text{ од}.$$

Втрати активності:

$$a_7 = A_9 - A_{11}, \text{ од}.$$

Кількість стандартизованого стерильного концентрату з урахуванням збільшення об'єму від внесення наповнювача – 0,3%:

$$G_{32} = G_{25} \times (1 + 0,003) \text{ м}^3.$$

Активність стерильного концентрату:

$$A_{12} = A_{11} / G_{32}, \text{ од/м}^3.$$

Сушка концентрату. Кількість висушеного препарату з урахуванням 10 % втрат препарату, які виносяться з сушильним агентом (вміст вологи в препараті W прийняти для всіх варіантів рівною 0,02 %):

$$G_{33} = G_{31} \times (1 - 0,1) / (1 - W), \text{ кг}.$$

Активність препарату з урахуванням втрат від інактивації – 8 %:

$$A_{13} = (1 - 0,08) / G_{33} \text{ од/кг}.$$

Вміст абсолютно сухої речовини в препараті:

$$G_{34} = G_{31} \times 0,92, \text{ кг}.$$

Втрати абсолютно сухих речовин при сушці з урахуванням вологості становлять:

$$G_{34} = G_{31} - G_{34}, \text{ кг}.$$

Загальна активність сухого препарату:

$$A_{14} = A_{13} \times G_{33}, \text{ од}$$

Стандартизація сухого препарату. Активність стандартного препарату приймаємо

$$A_{15} = 0,95 A_1:$$

Кількість наповнювача для стандартизації:

$$G_{35} = G_{33} \times (A_{13} - A_{15}) / A_{13}, \text{ кг}.$$

Кількість речовин, що поступають на стандартизацію:

$$G_{36} = G_{33} + G_{35}, \text{ кг.}$$

Кількість препарату, отриманого після стандартизації з врахуванням 2 % втрат:

$$G_{37} = G_{36} (1 - 0,02), \text{ кг,}$$

в тому числі абсолютно сухих речовин:

$$G_{37.1} = G_{37} (1 - W), \text{ кг.}$$

Загальна активність в стандартизованому препараті:

$$A_{16} = A_{15} \times G_{37}, \text{ од.}$$

Втрати препарату при стандартизації:

$$G_{38} = G_{36} - G_{37}, \text{ кг.}$$

Втрати активності на стадії стандартизації:

$$a_9 = G_{38} \times A_{15}, \text{ од.}$$

Фасування пакування, маркування. Препарат розфасовують в поліетиленові мішки і потім в паперові мішки по 15-20 кг (в залежності від вигляду препарату). Втрати на стадії упаковки становлять 1,0 %. Кількість упакованого препарату:

$$G_{39} = G_{37} \times (1 - 0,01), \text{ кг.}$$

Механічні втрати:

$$G_{40} = G_{37} - G_{39}, \text{ кг.}$$

Загальна активність готового препарату:

$$A_{17} = A_{15} \times G_{39}, \text{ од.}$$

Втрати активності на стадії:

$$a_{10} = A_{16} - A_{17}.$$

Таким чином, вихід препарату зі стандартною активністю А, од/г з м³ культуральної рідини становить G₃₉, кг , а загальний вихід по активності:

$$G_{18} = A_{16} \times 100\% / A_2, \text{ \%}.$$

Наведений розрахунок є орієнтовним та може не включати в себе певні розділи. Його зміст залежить від технологічної схеми виробництва, для якого проводиться продуктивний розрахунок.

Завдання для самостійного виконання до практичної роботи № 7-8

Виконати за наведеною вище послідовністю продуктивний розрахунок отримання продукту мікробного синтезу. Вихідні дані згідно варіанту взяти з таблиці 7.2.

Таблиця 7.2. Вихідні дані для розрахунку.

Варіант	Об'єм КР, м ³	Склад ПС, г/л	Активність КР, мл/мл	Кількість АСР в КР, %
1, 16	10	Крохмаль – 10, Дріжджовий екстракт – 5	1,02	2
2, 17	35	Пептон – 15 Кукурудзяний екстракт – 10	0,95	5
3, 18	20	Меляса – 20 Пептон – 10	1,05	7
4, 19	55	Крохмаль – 15 Пептон - 5	1,15	10
5, 20	65	Меляса – 7 Дріжджовий екстракт – 12	0,85	1
6, 21	40	Кукурудзяний екстракт – 12 Дріжджовий екстракт – 5	1,03	4
7, 22	15	Кукурудзяний екстракт – 10 Пептон – 15	1,08	6
8, 23	50	Крохмаль – 12, Дріжджовий екстракт – 10	0,97	3
9, 24	25	Пептон – 10 Кукурудзяний екстракт – 10	0,88	8
10, 25	75	Меляса – 15 Пептон – 5	1,12	1
11, 26	30	Крохмаль – 5 Пептон - 15	1,06	9
12, 27	80	Меляса – 17 Дріжджовий екстракт – 15	0,9	5
13, 28	45	Кукурудзяний екстракт – 10 Дріжджовий екстракт – 15	0,92	3
14, 29	60	Кукурудзяний екстракт – 20 Пептон – 10	1,04	5

15, 30	70	Меляса – 25 Дріжджовий екстракт - 15	0,99	4
--------	----	---	------	---

Питання для самоперевірки

1. Що включає в себе продуктивний розрахунок виробництва?
2. Який принцип складання матеріального балансу виробництва?
3. У якому вигляді представляють матеріальний баланс виробництва?
4. Яким чином враховують втрати при розрахунку матеріального балансу?
5. Що називають активністю культуральної рідини?
6. Які стадії входять до продуктового розрахунку?
7. Які дані в завданні на проектування необхідні для продуктового розрахунку?
8. Який відсоток посівного матеріалу необхідно вносити до ферментеру?
9. Що є показником ефективності виробництва?
10. Які компоненти входять до складу культуральної рідини?

РЕКОМЕНДАЦІЇ З ВИКОНАННЯ ПРАКТИЧНИХ РОБІТ

В навчальному плані передбачено 18 годин на практичні заняття, на яких передбачено виконання 8 практичних робіт. У кожній практичній роботі наведені теоретичні відомості, вихідні данні й методики розрахунку, варіанти індивідуальних завдань, контрольні питання для самостійної підготовки, необхідні довідкові данні і список літератури.

Викладач видає студенту певний варіант для всіх задач згідно його номеру по списку групи.

При оформленні розрахункової задачі студент керується наступними вимогами:

1. Розрахункова задача виконується згідно виданому завданню. В іншому випадку задача не зараховується, й повертається для доопрацювання відповідно даним вимогам.

2. На початку розрахункової частини переписується умова задачі з власними вихідними даними.

3. При розрахунку обладнання необхідно записати формулу, по якій виконується розрахунок, потім підставити значення та обрахувати результат.

4. Розрахунки ведуться в системі одиниць (СИ).

5. У випадку відсутності деяких даних для рішення задачі, студент повинен їх вибрати самостійно з обов'язковою мотивацією прийнятого рішення, й указати джерело, по якому ці дані отримані.

6. Кожна практична робота виконується згідно графіку учбового процесу.

СИСТЕМА ОЦІНЮВАННЯ ПРАКТИЧНИХ РОБІТ

Максимальна сума за роботу на практичних заняттях складає – 16 балів.

Передбачено виконання 8 практичних завдань.

Кожне завдання оцінюється максимально у 2 балів:

- повна та вичерпна відповідь – 2 бала,
- несуттєва помилка – 1,5 бала,
- несуттєва помилка та неповна відповідь – 1 бал,
- суттєва помилка – 0,5 бала,
- відсутність відповіді – 0 балів.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Сидоров Ю.І. Процеси і апарати мікробіологічної та фармацевтичної промисловості: навчальний посібник. / Ю.І.Сидоров, Р.Й. Влязло. В.П.Новіков. – Львів: Інтелект-Захід, 2008. – 736 с.
2. Кантере В.М. Теоретические основы технологии микробиологических производств. – М : Агропромиздат, 1990. – 227с.
3. Манаков М.Н., Победимский Д.Г. Теоретические основы технологии микробиологических производств. – М.: Агропромиздат, 1990 – 227с..
4. Сидоров Ю.І., Влезло Р.Й., Новіков В.П. Процеси і апарати мікробіологічної промисловості (3 томи). - Львів: Видавництво Національного університету „Львівська політехніка", 2004. - 252 с
5. Загальна (промислова) біотехнологія: навчальний посібник / М. Д. Мельничук, О. Л. Кляченко, В. В. Бородай, Ю. В. Коломієць. – Київ: ФОП Корзун Д. Ю., 2014. – 252 с.
6. Гапонов К.П. Процессы и аппараты микробиологических производств. - М.: Легк. пром-сть, 1981. - 240 с.
7. Варфоломеев С.Д., Калюжный С.В. Биотехнология: Кинетические основы микробиологических процессов: Учеб, пособие для биол. и хим. спец, вузов. - М.: Высги. иск., 1990. - 296 с.