

**НАЦІОНАЛЬНИЙ ТЕХНІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ УКРАЇНИ  
«КИЇВСЬКИЙ ПОЛІТЕХНІЧНИЙ ІНСТИТУТ  
імені ІГОРЯ СІКОРСЬКОГО»**

**Факультет біотехнології і біотехніки**

**Кафедра промислової біотехнології та біофармації**

**ЗАТВЕРДЖУЮ**

в.о. завідувача кафедри

\_\_\_\_\_ Валентина ПОЛІЩУК

« 10 » червня 2023 р.

**Дипломний проєкт**

**на здобуття ступеня бакалавра**

**за освітньо-професійною програмою «Біотехнології»**

**спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія»**

**на тему: «Технологія виробництва моногідрату лимонної кислоти.**

**Дільниця підготовки поживного середовища»**

Виконала:

студентка ІV курсу, групи БТ-91

Бабак Марія Ігорівна \_\_\_\_\_

Керівник:

асистент кафедри промислової біотехнології та біофармації

Фарфоламеєва Діана Олегівна \_\_\_\_\_

Консультант з Розділу 5. Розрахунок обладнання для проведення  
технологічного процесу:

доцент кафедри біотехніки та інженерії, к.т.н., доц.

Шибецький Владислав Юрійович \_\_\_\_\_

Рецензент:

доцент кафедри біоенергетики, біоінформатики та екобіотехнології, к.б.н., доц.

Банникова Марія Олександрівна \_\_\_\_\_

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

Студентка \_\_\_\_\_

Київ – 2023 року



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

Факультет біотехнології і біотехніки  
Кафедра промислової біотехнології та біофармації

Рівень вищої освіти – перший (бакалаврський)

Спеціальність – 162 «Біотехнології та біоінженерія»

Освітньо-професійна програма «Біотехнології»

ЗАТВЕРДЖУЮ

в.о. завідувача кафедри

\_\_\_\_\_ Валентина ПОЛЩУК

« 19 » квітня 2023 р.

**ЗАВДАННЯ**

**на дипломний проєкт студенту**

**Бабак Марії Ігорівні**

1. Тема проєкту «Технологія виробництва моногідрату лимонної кислоти. Дільниця підготовки поживного середовища», керівник проєкту Фарфоламеєва Діана Олегівна, ас., затверджені наказом по університету від «22» травня 2023 р. № 1888-с.
2. Термін подання студентом проєкту 10.06.2023 р.
3. Вихідні дані до проєкту: штам – продуцент *Aspergillus niger* ВКПМ F-809, кінцевий продукт – кристали моногідрату лимонної кислоти; ферментер для промислового культивування - об'єм 10 м<sup>3</sup>; умови культивування - на початку культивування  $t = 34 - 36^{\circ}\text{C}$ , а вкінці  $t = 32 - 34^{\circ}\text{C}$ , безперервна аерація, рН 6,0 – 6,5 та перемішування.
4. Зміст пояснювальної записки: підібрати і охарактеризувати продуцент для виробництва моногідрату лимонної кислоти; провести аналіз методів створення високопродуктивних промислових продуцентів, обґрунтувати схему отримання

продуценту, що використовується у проєкті; визначити основні фізико-хімічні характеристики кінцевого продукту та біохімічні основи його виробництва; скласти матеріальний баланс виробництва, розробити технологічну і апаратурну схему; обґрунтувати вибір конструкції теплообмінника, здійснити технологічний, конструктивний та тепловий розрахунки.

5. Перелік графічного матеріалу (із зазначенням обов'язкових креслеників, плакатів, презентацій тощо): креслення загального виду теплообмінника типу «труба в трубі» – 1 арк. А1, технологічна схема – 2 арк. А1, апаратурна схема – 2 арк. А1

#### 6. Консультанти розділів проєкту

Розділ	Прізвище, ініціали та посада консультанта	Підпис, дата	
		завдання видав	завдання прийняв
Розділ 5	Шибецький В.Ю. доц. каф. біотехніки та інженерії		

7. Дата видачі завдання \_\_\_\_\_

#### Календарний план

№ з/п	Назва етапів виконання дипломного проєкту	Термін виконання етапів проєкту	Примітка
1.	Характеристика біологічного агента	19.04.23-27.04.23 р.	
2.	Біохімічні основи виробництва	28.04.23-05.05.23 р.	
3.	Методи отримання промислових продуцентів	06.05.23-09.05.23 р.	
4.	Технологічна частина	10.05.23-16.05.23 р.	
5.	Складання апаратурної схеми	17.05.23-26.05.23 р.	
6.	Розрахунок обладнання для проведення технологічного процесу	21.05.23-26.05.23 р.	
7.	Оформлення пояснювальної записки	27.05.23-30.05.23 р.	
8.	Подання дипломного проєкту на рецензування	31.05.23-05.06.23 р.	
9.	Подання дипломного проєкту та рецензії до екзаменаційної комісії	до 10.06.23 р.	

Студент

Марія БАБАК

Керівник

Діана ФАРФОЛАМЕЄВА

**Пояснювальна записка**  
**до дипломного проєкту**  
**на тему: «Технологія виробництва моногідрату лимонної**  
**кислоти. Дільниця підготовки поживного середовища»**

Київ – 2023 року

## РЕФЕРАТ

Дипломний проєкт: 87 с, 5 рис., 3 табл., 82 посилання.

У роботі описано технологію виробництва моногідрату лимонної кислоти та зокрема ділянку підготовки поживного середовища.

Продуцентом виступає штам *Aspergillus niger* ВКПМ F-809, отриманий із батьківського штаму *Aspergillus niger* ВКПМ F-719 комбінованим мутагенезом із використанням N – нітрозогуанідину, УФ – променів і стабілізуючого добору. Вказано морфологічні, культуральні та біохімічні ознаки даного гриба. Відповідно до потреб продуценту було обрано поживне середовище на основі бурякової меляси.

Описано технологічний процес, важливе місце в якому мають умови культивування, а саме температура на початку культивування повинна становити 34 - 36°C, а вкінці 32 - 34°C, безперервна аерація, рН 6,0 – 6,5 та перемішування.

Обґрунтовано вибір теплообміннику типу «труба в трубі» для стерилізації поживних середовищ та підкормки. Наведено його технологічний, конструктивний і тепловий розрахунки.

Накреслено технологічну та апаратурну схеми виробництва, а також загальний вид теплообміннику типу «труба в трубі».

ОРГАНІЧНІ КИСЛОТИ, МІКРОБНИЙ СИНТЕЗ, МОНОГІДРАТ ЛИМОННОЇ КИСЛОТИ, ASPERGILLUS NIGER, МЕЛЯСА БУРЯКОВА, СТЕРИЛІЗАЦІЯ, ТЕПЛООБМІННИК

					<i>ДП БТ-9101.00 ПЗ</i>			
<i>Зм.</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>	<i>РЕФЕРАТ</i>	<i>Стадія</i>	<i>Арк.</i>	<i>Аркушів</i>
<i>Розроб.</i>	<i>Бабак М.І.</i>					<i>Д</i>	<i>5</i>	<i>87</i>
<i>Конс.</i>								
<i>Керівн.</i>	<i>Фарфаламеєва Д.О.</i>							
<i>Затв.</i>								
						<i>КПІ ім. Ізгоря Сікорського ФБТ</i>		

## ABSTRACT

Diploma project: 87 p, 5 figures, 3 tables, 82 references.

The paper describes the technology of citric acid monohydrate production and, in particular, the preparation of the culture medium.

The product is the strain *Aspergillus niger* VKPM F-809, obtained from the parent strain *Aspergillus niger* VKPM F-719 by combined mutagenesis using N-nitrosoguanidine, UV rays, and stabilizing selection. The morphological, cultural, and biochemical characteristics of this fungus are described. According to the needs of the producer, a nutrient medium based on beetroot molasses was chosen.

The technological process is described, in which cultivation conditions play an important role, namely, the temperature at the beginning of cultivation should be 34 - 36°C, and at the end 32 - 34°C, continuous aeration, pH 6,0 – 6,5 and mixing.

The choice of a pipe-in-pipe heat exchanger for sterilization of nutrient media and feed is substantiated. Its technological, structural, and thermal calculations are presented.

The technological and hardware production diagrams, as well as the general view of the pipe-in-pipe heat exchanger, are drawn.

ORGANIC ACIDS, MICROBIAL SYNTHESIS, CITRIC ACID MONOHYDRATE, ASPERGILLUS NIGER, BEETROOT MOLASSES, STERILISATION, HEAT EXCHANGER.

					<i>ДП БТ-9101.00 ПЗ</i>			
<i>Зм.</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>	<i>ABSTRACT</i>	<i>Стадія</i>	<i>Арк.</i>	<i>Аркушів</i>
<i>Розроб.</i>	<i>Бадак М.І.</i>					<i>Д</i>	<i>6</i>	<i>87</i>
<i>Конс.</i>								
<i>Керівн.</i>	<i>Фарфаламеєва Д.О.</i>							
<i>Затв.</i>								
						<i>КПІ ім. Ізгоря Сікорського ФБТ</i>		

## ЗМІСТ

РЕФЕРАТ .....	5
ABSTRACT .....	6
ВСТУП.....	10
РОЗДІЛ 1 ХАРАКТЕРИСТИКА БІОЛОГІЧНОГО АГЕНТА .....	12
<b>1.1 Основні промислові продуценти</b> .....	12
<b>1.2 Систематичне положення</b> .....	13
<b>1.3 Морфолого – цитологічні ознаки</b> .....	13
<b>1.4 Культуральні ознаки</b> .....	14
<b>1.5 Фізіолого – біохімічні ознаки</b> .....	15
<b>1.6 Поширення в природі</b> .....	16
РОЗДІЛ 2 БІОХІМІЧНІ ОСНОВИ ВИРОБНИЦТВА.....	17
<b>2.1 Характеристика цільового продукту</b> .....	17
<b>2.2 Схема хімічних перетворень</b> .....	18
<b>2.3 Характеристика компонентного складу біотехнологічного     препарату, отриманого в процесі реалізації технології</b> .....	20
<b>2.4 Методи очистки цільового продукту</b> .....	20
<b>2.5 Механізм впливу цільового продукту на біохімічні процеси</b> .....	21
РОЗДІЛ 3 МЕТОДИ ОТРИМАННЯ ПРОМИСЛОВИХ ПРОДУЦЕНТІВ.....	23
<b>3.1 Генетична вивченість біологічного об'єкту</b> .....	23
<i>3.1.1 Особливості геному</i> .....	23
<i>3.1.2 Вивченість механізмів експресії генів, відповідальних за синтез         цільового продукту</i> .....	24

					<i>ДП БТ-9101.00 ПЗ</i>			
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата	<i>ЗМІСТ</i>	Стадія	Арк.	Аркушів
Розроб.	Бабак М.І.					Д	7	87
Канс.						КПІ ім. Ігоря Сікорського ФБТ		
Керівн.	Фарфаламєєва Д.О.							
Затв.								

<b>3.2 Загальні методи створення високопродуктивного промислового продуценту.....</b>	<b>25</b>
3.2.1 Використання методів природного та штучного добору для отримання промислових продуцентів.....	25
3.2.2 Використання індукованого мутагенезу .....	25
3.2.3 Використання гібридизації для створення промислових продуцентів біологічно-активних речовин.....	27
3.2.4 Метаболічна інженерія.....	28
<b>3.3 Схема отримання продуцента, що використовується в роботі.....</b>	<b>29</b>
<b>РОЗДІЛ 4 ТЕХНОЛОГІЧНА ЧАСТИНА .....</b>	<b>31</b>
<b>4.1 Характеристика кінцевої продукції виробництва .....</b>	<b>31</b>
<b>4.2 Характеристика сировини, матеріалів та напівпродуктів, що використовуються у виробництві .....</b>	<b>32</b>
<b>4.3 Опис технологічного процесу.....</b>	<b>35</b>
<b>4.4 Матеріальний баланс .....</b>	<b>46</b>
<b>4.5 Контроль виробництва .....</b>	<b>52</b>
<b>РОЗДІЛ 5 РОЗРАХУНОК ОБЛАДНАННЯ ДЛЯ ПРОВЕДЕННЯ ТЕХНОЛОГІЧНОГО ПРОЦЕСУ.....</b>	<b>62</b>
5.1 Обґрунтування вибраної конструкції. Підбір конструкційних матеріалів для окремих елементів .....	62
5.2 Технологічний, конструктивний і гідравлічний розрахунки .....	65
5.2.1 Вихідні дані.....	65
5.2.2 Тепловий розрахунок.....	65
5.2.3 Конструктивний розрахунок .....	70
5.3.4 Гідравлічний розрахунок .....	71

5.3 Вибір загальнозаводського обладнання .....	73
5.3.1 Потужність наносу.....	73
5.3.2 Подача насосу.....	74
5.4 Вимоги до охорони праці та навколишнього середовища .....	74
ВИСНОВКИ.....	77
ПЕРЕЛІК ПОСИЛАНЬ .....	79

					<i>ДП БТ-9101.00 ПЗ</i>	Арк.
						9
<i>Зм.</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>		

## ВСТУП

Відомий широкий спектр використання моногідрату лимонної кислоти в промисловості. У фармацевтичній галузі використовується в препаратах як допоміжна речовина через її антиоксидантні властивості. Важливо зазначити, що вона також здатна підтримувати стабільність активних інгредієнтів і додається в продукцію в якості консерванту або може виконувати роль регулятора кислотності в якості підкислювача. Для медицини важливим є її дія як антикоагулянта, який хелатує кальцій у крові, що допомагає зберігати кров і еритроцити, зокрема. Дана кислота знайшла своє застосування в харчовій промисловості для надання терпкості різним напоям, желе, джемам, цукеркам, тощо, а також нею оброблюють сир. Серед іншого її використовують при виробництві алкідних смол, як пластифікатор та інгібітор піноутворення в естерифікованій формі, як протраву для освітлювання кольорів, тощо [1,2].

Основні шляхи отримання лимонної кислоти це ферментаційний, хімічний або екстракцією з плодів цитрусових рослин. Останній більш характерний для країн південної Америки, оскільки кліматичні умови там більш сприятливі для вирощування даних рослин. Розглядаючи біотехнологічний і хімічні методи, необхідно виділити, що останній використовують набагато рідше через дороговизну [3,4].

Згідно статистичних даних, що наведені на сайті компанії IMARC Group, виробництво лимонної кислоти у світі за 2022 рік сягнуло 2,8 млн тон. Станом на сьогодні, в Україні немає підприємств, які займаються отриманням даної речовини та потреби українських виробництв у цьому продукті закриваються імпортом. Завод, який спеціалізувався на цьому виді діяльності, а саме Смілянський цукровий завод (знаходився в м.Сміла, Черкаська область) закрився в 2013 році через банкрутство [5].

Метою даного дипломного проекту є розробка економічно ефективної та

					<i>ДП БТ-9101.00 ПЗ</i>			
<i>Зм.</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>		<i>Стадія</i>	<i>Арк.</i>	<i>Аркушів</i>
<i>Розроб.</i>		<i>Бабак М.І.</i>			<i>ВСТУП</i>	<i>Д</i>	<i>10</i>	<i>87</i>
<i>Конс.</i>								
<i>Керівн.</i>		<i>Фарфаламеєва Д.О.</i>					<i>КПІ ім. Ізгоря Сікорського ФБТ</i>	
<i>Затв.</i>								

екологічно безпечної технології з виробництва моногідрату лимонної кислоти.

Для досягнення вищезазначеної мети були поставлені наступні завдання:

1. Аналіз існуючих продуцентів лимонної кислоти та вибір найбільш продуктивного штаму;
2. Охарактеризувати цільовий продукт, схему хімічних перетворень, характеристику компонентного складу препарату, отриманого в процесі реалізації технології, методи очистки та механізм впливу на біохімічні процеси;
3. Описати методи отримання промислових продуцентів із наданням інформації про загальні методи створення високопродуктивного промислового продуценту, а також наведенням схеми отримання продуценту;
4. Охарактеризувати кінцеву продукцію виробництва, сировину, матеріали та напівпродукти. Описати технологічний процес, скласти матеріальний баланс та навести перелік контрольних точок;
5. Обґрунтувати вибір конструкції, провести технологічний, конструктивний та гідравлічний розрахунки, підібрати загальнозаводське обладнання й навести вимоги до охорони праці та навколишнього середовища;
6. Накреслити технологічну та апаратурні схеми виробництва та апарату для обраної ділянки стерилізації поживного середовища.

					<i>ДП БТ-9101.00 ПЗ</i>	Арк.
						11
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

## РОЗДІЛ 1 ХАРАКТЕРИСТИКА БІОЛОГІЧНОГО АГЕНТА

### 1.1 Основні промислові продуценти

Для реалізації технології отримання лимонної кислоти мікробіологічним шляхом, важливим є вибір найбільш оптимального продуцента серед відомих організмів, що здатні виробляти лимонну кислоту.

Отримання її можливе за допомогою дріжджів родів *Hansenula*, *Pichia*, *Debaromyces*, *Torula*, *Torulopsis*, *Kloeckera*, *Saccharomyces*, *Zygosaccharomyces*, *Yarrowia* та *Candida* (*C. lipolytica*, *C. tropicalis*, *C. oleophila*, *C. guilliermondii*, *C. zeylanoides*, *C. parapsilosis*). Впродовж 60 – х та 70 – х років найбільш популярним продуцентами були саме дріжджі роду *Candida*, так як нафта (основа їхнього поживного середовища при виробництві лимонної кислоти) в той час була доволі дешевою. Великим недоліком цих продуцентів є те, що вони відносяться до умовно патогенних організмів, а також на середовищах з н – алканами вони утворюють трео-Ds-ізолимонну кислоту. Також велику роль відіграло дорожчання нафти [6,7].

Також свою здатність продукувати лимонну кислоту виявили бактерії *Bacillus licheniformis*, *Corynebacterium sp.* та *Arthrobacter paraffinens*. Максимально можливий вихід лимонної кислоти 42 г/л, 41,4 г/л та 28 г/л відповідно. Проте дані види не знайшли широкого вжитку [8–11].

Відомий також продуцент *Penicillium glaucum*, але через проблеми з контамінацією та довгою тривалістю процесу ферментації він не використовується в промислових масштабах [12].

Більшість підприємств переважно використовує гриб *Aspergillus niger*. До основних переваг цього виду відносять простоту в поводженні, дешевизну складових поживного середовища та високий вихід цільового продукту [12,13].

Серед відомих мутантних штамів є *Aspergillus niger* ВКПМ F-809 та *Aspergillus niger* GCB 75. Продуктивність цих штамів становить 60 г/л поживного

					ДП БТ-9101.00 ПЗ			
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Бабак М.І.			РОЗДІЛ 1 ХАРАКТЕРИСТИКА БІОЛОГІЧНОГО АГЕНТА	Стадія	Арк.	Аркуші
Конс.						Д	12	87
Керівн.		Фарфаламеєва Д.О.				КПІ ім. Ізгоря Сікорського ФБТ		
Затв.								

середовища та 31,1 г/л відповідно. Враховуючи це обираємо *Aspergillus niger* ВКПМ F-809 [14,15].

## 1.2 Систематичне положення

Штам *Aspergillus niger* ВКПМ F-809 належить до [16]:

Виду: *Aspergillus niger*;

Домену: Eukaryota;

Царства: Fungi;

Підцарства: Dikarya;

Відділу: Ascomycota;

Підвідділу: Pezizomycotina;

Класу: Eurotiomycetes;

Підкласу: Eurotiomycetidae;

Порядку: Eurotiales;

Родини: *Aspergillaceae*;

Роду: *Aspergillus*.

## 1.3 Морфолого – цитологічні ознаки

Мікрофотографія *A.niger* представлена на рис.1.1.

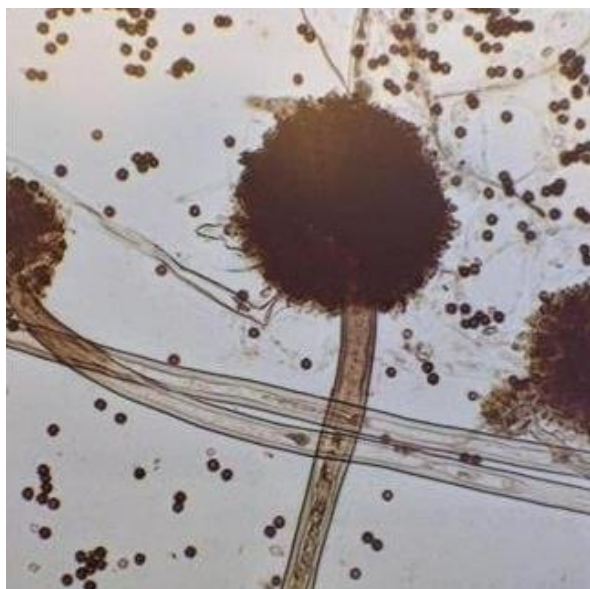


Рисунок 1.1 – Мікрофотографія *A.niger* [17]

					ДП БТ-9101.00 ПЗ	Арк.
						13
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Даний гриб має септований міцелій, мінімальна довжина гіф складає 1200 мкм, розгалуження – дихотомічне, а самі гіфи гіалінові. Розмножуються конідіями та асками. Особливістю даного гриба є темні конідіальні головки, звідки й походить назва цього виду. Конідієносець одноклітинний, закінчується кулеподібною везикулою, на поверхні якої можна помітити короткі, горщикоподібні метули, на кінцевих клітинах яких, а саме кеглеподібних фіалідах, відбувається утворення ланцюжку конідій. Конідії мають округлу форму можуть бути коричневими або чорними, з шорсткою поверхнею та розміром 4 – 5 мкм в діаметрі. Конідієносці довгі (400 – 3000 мкм), гладенькі та гіалінові, темні на вершині. Також даний вид здатний утворювати склероції. Вони не тільки забезпечують виживаність організму за несприятливих умов, а й несуть статеві структури. Тобто за сприятливих умов навколишнього середовища та наявності партнера для розмноження, в склероціях можна знайти фертильні аскоспори, отримані в процесі мейозу [18–23].

Основною запасною речовиною є глікоген [24].

Клітинна стінка продуценту складається з: глюкози, манози, арабінози, глюкозаміну та галактозаміну, які знаходяться в d – конфігурації, за виключенням невеликої кількості l – галактози. Можна виділити також наявність 16 вільних амінокислот. Дана структура загалом складається переважно з нейтральних вуглеводів (73-83%) і гексозаміну (9-13%), ліпідів (2-7%), білків (0,5-2,5%) і фосфору (менше 0,1%). Вміст ацетилу (3,0-3,4%) відповідає 1,0 моль/моль азоту гексозаміну [25].

#### 1.4 Культуральні ознаки

На агарі Чапека - Докса діаметр колоній може досягати 33 – 75 мм, середнє спороутворення. Колонії пухкі, округлі та рівні. Край колоній рівний. Повітряний міцелій білий, місцями сірувато – коричневий, субстратний міцелій має білуватий колір [26–28].

					<i>ДП БТ-9101.00 ПЗ</i>	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		14

У рідкому середовищі *A.niger* не має точно визначеної форми, тобто під час культивування вона варіюється від вільно плаваючого міцелію до щільних гранул [29].

### 1.5 Фізіолого – біохімічні ознаки

Основним джерелом вуглецю є полісахариди. Має такі ферменти як: амілази, пектинази, ліпази та протеази [30].

Особливістю даного гриба також є наявність інвертази, яка зв'язана з позаклітинним міцелієм, і активна при низьких значеннях рН. Основне призначення даного ферменту – це гідролізувати сахарозу до глюкози та фруктози. Ще одним важливим ферментом є гексокіназа, яка є найпоширенішою серед інших ферментів у *A.niger* і має більшу спорідненість до глюкози, аніж до фруктози та сприяє фосфорилуванню глюкози до глюкозо – 6 – фосфату. Саме тому в промисловості застосовують глюкозні сиропи від гідролізу крохмалю та побічні продукти цукрового виробництва, такі як меляса [6,31,32].

При використанні меляси, додавання додаткового джерела азоту не потрібно. Однак у високочисте середовище, яке використовується для досліджень в лабораторіях, доповнюють солями амонію, особливо аміачною селітрою та сульфатом, що, в свою чергу, призводить до зниження рН, що сприяє бродінню. Також джерелами азоту можуть виступати сечовина і дріжджовий/солодовий екстракти [6].

Відомо також, що для нормального росту та розвитку продуцента у середовищі повинні знаходитись Zn, Mn, Fe, Cu, P та важкі метали [6].

Тип живлення: гетеротроф [33].

Відношення до кисню: строгий аероб [34].

*Aspergillus niger* може рости при температурі  $t = 6 - 47^{\circ}\text{C}$  та рН 1,4 – 9,8. Оптимальними для росту є  $t = 35 - 37^{\circ}\text{C}$  та рН 6,0 – 6,5 [6,35].

					ДП БТ-9101.00 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		15

## 1.6 Поширення в природі

Вид *Aspergillus niger* поширений у теплому кліматі, як у продуктах харчування так і загалом у місцях із високим вмістом вологи (до прикладу можна привести ванну кімнату). Захист від сонячного світла та опромінення ультрафіолетом забезпечують чорні спори. Даний гриб часто знаходять у висушених на сонці продуктах, наприклад винограді, де він може утворювати охратоксин [36].

Відомим фактом є його властивість викликати післязбиральне гниття свіжих фруктів, зокрема винограду, викликаючи в нього гронову гниль. Також він відповідає за псування яблук, груш, персиків, цитрусових, інжиру, полуниці, манго, дині та цибулі [36].

Також *A. niger* виявили у горіхах (арахіс, пекан, фісташки, фундук, волоські горіхи, горіхи кола, кокос і копра), зернових та олійних культурах, особливо кукурудзі, але даний продуцент можна виділити практично з будь-якого виду продукції, що зберігається.

Поширеними місцями, де також можна виявити цей гриб є сушені, копчені та в'ялені рибні та м'ясні продукти [36].

					<i>ДП БТ-9101.00 ПЗ</i>	Арк.
						16
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

## РОЗДІЛ 2 БІОХІМІЧНІ ОСНОВИ ВИРОБНИЦТВА

### 2.1 Характеристика цільового продукту

Моногідрат лимонної кислоти – це трикарбонова органічна кислота, проміжний продукт у циклі Кребса, який відіграє важливу роль у метаболізмі всіх аеробних організмів. У нормативній документації вона зазначається як кислота лимонна моногідрат харчова (E330) [3,37,38].

Назва за IUPAC: 2-гідроксипропан-1,2,3-трикарбонова кислота; гідрат [37];

Реєстраційний номер CAS: 5949-29-1 [37];

Реєстраційний номер EC: 611-842-9 [37];

Емпірична формула:  $C_6H_8O_7 \cdot H_2O$  [38].

Константа дисоціації:  $pK_{a1} = 3,128$  (25 °C),  $pK_{a2} = 4,761$  (25 °C),  $pK_{a3} = 6,396$  (25 °C) [39];

Густина: 1,542 г/см<sup>3</sup> [39];

Температура плавлення: 100°C [39];

В'язкість: 6,5 МПа·с (стосується 50% - го водного розчину при 25 °C) [39];

Розчинний у 95% етанолі та воді, але погано розчинний у етері [39].

Структурна формула наведена на рис.2.1.

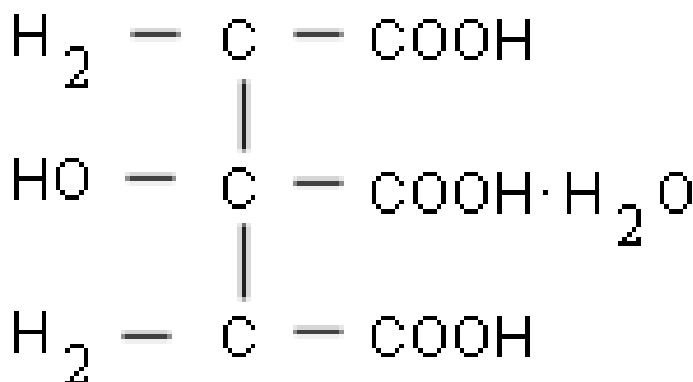


Рисунок 2.1 – Структурна формула моногідрату лимонної кислоти [38]

					<i>ДП БТ-9101.00 ПЗ</i>			
<i>Зм.</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>				
<i>Розроб.</i>		<i>Бабак М.І.</i>			<i>РОЗДІЛ 2 БІОХІМІЧНІ ОСНОВИ ВИРОБНИЦТВА</i>	<i>Стадія</i>	<i>Арк.</i>	<i>Аркушів</i>
<i>Конс.</i>						<i>Д</i>	<i>17</i>	<i>87</i>
<i>Керівн.</i>		<i>Фарфаламеєва Д.О.</i>				<i>КПІ ім. Ізгоря Сікорського ФБТ</i>		
<i>Затв.</i>								



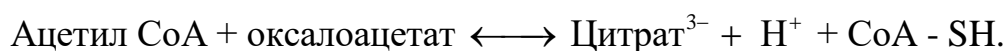
Спочатку відбувається утворення пірувату по фруктозобіфосфатному шляху (шлях Ембдена – Меєргофа – Парнаса) [31]:

- 1) Реакція фосфорилування глюкози (гексокіназа; АТФ<sup>4-</sup>; Mg<sup>2+</sup>);
- 2) Перетворення глюкозо – 6 – фосфату у фруктозо – 6 – фосфат (фосфоглюкоізомераза; Mg<sup>2+</sup>);
- 3) Утворенням фруктозо – 1,6 - дифосфату фосфорилуванням фруктозо – 6 – фосфату (фосфотрикіназа; АТФ; Mg<sup>2+</sup>);
- 4) Розщеплення фруктозо – 1,6 - дифосфату (фосфатальдолаза);
- 5) Взаємоперетворення тріозофосфатів (тріозофосфатізомераза);
- 6) Утворення 3 – фосфогліцеролфосфату окисленням гліцеральдегід - 3 – фосфату (гліцеральдегідфосфатдегідрогеназа; NAD<sup>+</sup>; P<sub>i</sub>);
- 7) Відщеплення фосфатної групи від 3 – фосфогліцероїлфосфату та перенесення її на ADP (фосфогліцераткіназа; ADP; Mg<sup>2+</sup>);
- 8) Утворення 2 - фосфогліцерату з 3 – фосфогліцерату (фосфогліцератмутаза; Mg<sup>2+</sup>);
- 9) Утворенням фосфоенолпірувату дегідратацією 2 – фосфогліцерату (енолаза; Mg<sup>2+</sup>);
- 10) Відщеплення фосфатної групи від фосфоенолпірувату та перенесення її на ADP (піруваткіназа; Mg<sup>2+</sup>; K<sup>+</sup>).

Далі йде реакція окислення пірувату до ацетил – СоА та СО<sub>2</sub> (піруватдегідрогеназа; дигідроліпоїл – ацетил – трансфераза; дигідроліпоїлдегідрогеназа; TPP; FAD; СоА; NAD<sup>+</sup>; ліпоєва кислота) [31].

Сама ж лимонна кислота утворюється в циклі трикарбонових кислот конденсацією ацетил – СоА з оксалоацетатом (цитрат – синтаза; Н<sub>2</sub>О) [31].

Рівняння утворення цитрату [32]:



Узагальнене рівняння циклу Кребса [32]:



					<i>ДП БТ-9101.00 ПЗ</i>	Арк.
						19
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

### **2.3 Характеристика компонентного складу біотехнологічного препарату, отриманого в процесі реалізації технології**

Цільовим продуктом є моногідрат лимонної кислоти (не менше 99,5%), у якому міститься 7,5 - 8,8% води, не більше 0,05% сульфатної золи, не більше 0,015% сульфатів і не більше 0,01% оксалатів. Наявність механічних домішок не допускається [38].

### **2.4 Методи очистки цільового продукту**

За типовою технологією після культивування культуральну рідину нагрівають і за допомогою вакуум – фільтру відділяють міцелій. Після чого проводять нейтралізацію лимонної кислоти вапняним молоком із утворенням цитрату кальцію. Кальцієві солі лимонної, глюконової та щавлевої кислот відділяють фільтруванням на вакуум – фільтрі. Для розкладання цитрату кальцію застосовують активоване вугілля та сірчану кислоту. Важкі метали, арсен і залізо осаджують сірчистим барієм та гексаціанофератом калію, а потім фільтрують на вакуум – фільтрі й промивають гарячою водою з метою відділення лимонної кислоти від осаду. Далі фільтрат упарюють, освітляють активованим вугіллям, фільтрують на фільтр – пресі та іонообмінних установках, знову упарюють, кристалізують із внесенням затравки у вигляді лимонної кислоти, центрифугують та сушать отримані кристали [40,41].

Відомо, також ще один метод виділення лимонної кислоти, який ґрунтується на екстракції такими розчинниками як бутиловий спирт, ацетон і трибутилфосфат, але неповне видалення домішок ускладнювало процес кристалізації та призводило до низьких виходів готового продукту [42].

Існує також мембранна фільтрація, але даний метод має значний недолік, а саме нестабільність деяких мембран при значеннях рН 1,5 – 2,2, а ті, що позбавлені даного недоліку – не відокремлюють домішки з молекулярною масою 200 – 1000 [42].

					<i>ДП БТ-9101.00 ПЗ</i>	Арк.
						20
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

## 2.5 Механізм впливу цільового продукту на біохімічні процеси

При значному накопиченні лимонної кислоти в мітохондріях інгібується цитратсинтаза, що спричиняє зниження ефективності циклу Кребса. У цей час, знижується також рН середовища [43].

Також були проведені дослідження, де показали, що накопичена лимонна кислота інгібує ізолимонну дегідрогеназу [44].

Альтернативна оксидаза (АОКС) або ціанід-резистентна термінальна оксидаза (ubiquinol oxidase EC 1.10.3.11), що знаходиться на внутрішній мітохондріальній мембрані і є частиною ціанід резистентного альтернативного дихального ланцюга (cyanide-resistant respiration (CRR) окрім цитохром зв'язаного. Він грає важливу роль у перенесенні кисню на НАДН. Культивування з інтенсивною аерацією і перемішуванням є обов'язковою умовою для накопичення лимонної кислоти. Часто під час культивування використовується збагачений кисень, що призводить до кисневого стресу і обширних ушкоджень. При цьому, АОКС мінімізує вплив активних форм кисню і зменшує ушкодження від кисневого стресу [45–48].

У процесі синтезу лимонної кислоти мітохондріальний ланцюг переносу електронів, що передає електрони від НАДН до молекулярного кисню, у поєднанні з НАДН дегідрогеназами АОКС може повторно повертати електрони на НАДН, зменшуючи при цьому вихід АТФ через альтернативний шлях CRR. Таким чином це змушує *A. niger* активно накопичувати лимонну кислоту, через низький вихід АТФ [45,49].

При перетворенні глюкози на лимонну кислоту утворюється одна молекула АТФ і три молекули НАДН. При цитохром-залежному диханні, надлишок АТФ, що утворюється за рахунок окиснення НАДН, інгібує фермент PFK (Phosphofructokinase (PFK)), що порушує гліколітичний шлях і відповідно, накопичення лимонної кислоти [45,50].

					ДП БТ-9101.00 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		21

Таким чином, при накопиченні лимонної кислоти дихання відбувається не через цитохром-залежний шлях, а через альтернативний CRR, що робить неможливим окиснення НАДН без супутнього синтезу АТФ [45,51].

					<i>ДП БТ-9101.00 ПЗ</i>	Арк.
						22
<i>Зм.</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>		

# РОЗДІЛ 3 МЕТОДИ ОТРИМАННЯ ПРОМИСЛОВИХ ПРОДУЦЕНТІВ

## 3.1 Генетична вивченість біологічного об'єкту

### 3.1.1 Особливості геному

Характеристику геному виду *A.niger* можна провести на прикладі дикого штаму *A.niger* ATCC1015. Довжина геному становить 34,85 мегабаз; середня довжина білку становить 484,3 амінокислот; 3,1 екзонів на ген; довжина екзону 480,8 пар основ; довжина інтрону 93,8 пар основ. Додаткові дослідження показали наявність фумонізін-подібного кластера біосинтетичних генів [52,53].

Генетична карта *A.niger* представлена на рис. 3.1.

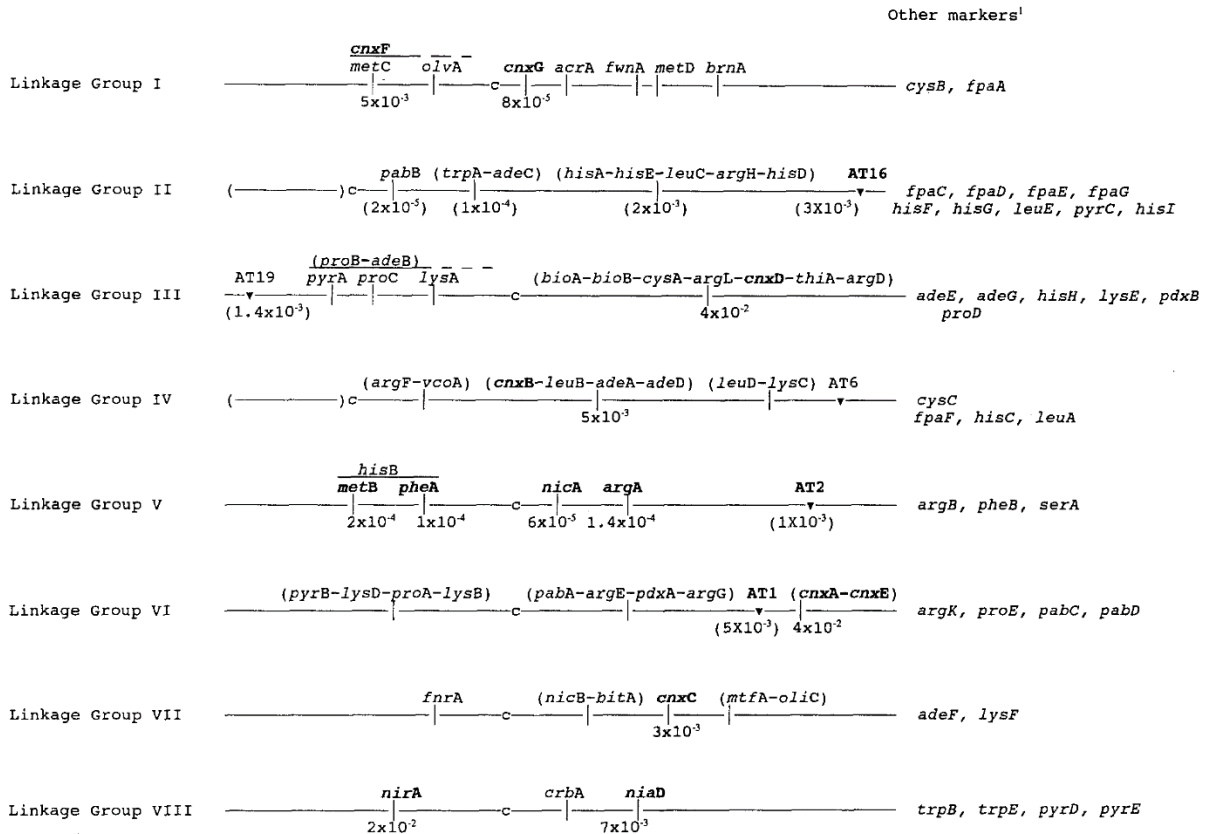


Рисунок 3.1 – Генетична карта *A.niger* [54].

Якщо порядок генів - маркерів невідомий, то вони внесені в круглі дужки та/або один над одним. За попередньо оціненими даними абсолютних

					ДП БТ-9101.00 ПЗ		
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата			
Розроб.	Бабак М.І.				Стадія	Арк.	Аркушів
Конс.					Д	23	87
Керівн.	Фарфаламєєва Д.О.				КПІ ім. Ігоря Сікорського ФБТ		
Затв.							
РОЗДІЛ 3 МЕТОДИ ОТРИМАННЯ ПРОМИСЛОВИХ ПРОДУЦЕНТІВ							

рекомбінантних частот на карті зазначені відстані, які представлені відстанню від маркерів, що виділені жирним шрифтом, до центромер. Вказані на карті орієнтовні відстані (позначаються в дужках) ґрунтуються на відносній частоті виділених трансформатами рекомбінантів [54].

### 3.1.2 Вивченість механізмів експресії генів, відповідальних за синтез цільового продукту

Одними із найважливіших ферментів даного гриба є протеази. Гени, що кодують основні позаклітинні протеази *perA* і *perB*, індуються за кислих умов. Регуляція протеаз залежить не лише від рН середовища, але й від умов живлення, включаючи джерело азоту та доступність вуглецю. При цьому беруть участь кілька широкодомених транскрипційних факторів, включаючи азотний регулятор *AgeA*, загальний репресор *TurA*, білок-репресор вуглецю *CreA* і *RacC* [55].

Посилення відтоку лимонної кислоти та зниження біосинтезу АТФ може значно покращити виробництво лимонної кислоти в *A. niger* через надмірну експресію транспортерів лимонної кислоти *SexA* та альтернативної оксидази (АОХ). Однак стратегії, що передбачають надмірну експресію *citA* та підвищення доступності попередників оксалоацетату та ацетил-КоА, не були ефективними [56].

Сам по собі синтез лимонної кислоти у *A. niger* регулюється складним механізмом. Було показано, що надмірна експресія гена *acl*, який кодує АСЛ, збільшувала вміст цитозольного ацетил-КоА, що може бути основним чинником посиленого біосинтезу лимонної кислоти у модифікованого штаму. Подальша делеція *acl* призвела до зменшення цитозольного ацетил-КоА та, відповідно, лимонної кислоти, що підтверджує вищезгадану гіпотезу [56].

Геномні дослідження виявили наявність генів, які кодують цитозольну цитратсинтазу (наприклад, ген *CitB*) в геномі *A. niger*, а також дослідження, які продемонстрували функціональність *CitB* у різних грибів. Наприклад було

					ДП БТ-9101.00 ПЗ	Арк.
						24
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

продемонстровано, що надмірна експресія гена *citB* в модифікованому штамі *A. niger* призводить до збільшення виробництва ітаконової кислоти, безпосереднім попередником якої була лимонна кислота. При експерименті з введення гена *citB* з *A. niger* в *Aspergillus nidulans*, який в природі не продукує лимонну кислоту, призвело до накопичення та продукування лимонної кислоти в трансформованому штамі [56].

При видаленні гену *acl* у *A. niger* значного порушувався ріст, а також знижувалися рівні ацетил-КоА і лимонної кислоти. Однак ці ефекти можна було пом'якшити додаванням ацетату до живильного середовища [56].

### **3.2 Загальні методи створення високопродуктивного промислового продуценту**

На сьогоднішній день для створення високопродуктивного промислового продуценту використовують стабілізуючий добір, індукований мутагенез і гібридизацію.

#### *3.2.1 Використання методів природного та штучного добору для отримання промислових продуцентів*

Часто користуються методом стабілізуючого добору за такими показниками як активність кислотоутворення на різних середовищах (таких як згущений сік сорго, м'яса та цукор), стабільністю морфологічного – культуральних ознак та врожайності конідій [14].

#### *3.2.2 Використання індукованого мутагенезу*

##### 1) Використання гамма – випромінювання:

Гамма-промінь - це пучок електромагнітної енергії (фотонів), що випромінюється ядром деяких радіонуклідів після радіоактивного розпаду. Після опромінення і, як наслідок, розриву подвійних ланцюгів ДНК клітина спроможна відновити пошкоджений генетичний матеріал у рамках своїх можливостей, і може відбутися генетичне покращення [57].

					<i>ДП БТ-9101.00 ПЗ</i>	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		25

Ефективність даного методу показана в експерименті, суть якого полягала в порівнянні мутантного опроміненого штаму *Aspergillus niger* НВЗ та батьківської форми СА16. За результатами мутантний штам продукував 31,79 г, 46,002 г та 15,240 г лимонної кислоти з 500 мл, 1000 мл та 1500 мл поживного середовища відповідно, у той час як з батьківської форми за тих самих умов отримали 14,874 г, 6,656 г та 3,930 г. У подібних дослідах опроміненню підлягають спори гриба (конідії) [57,58].

### 2) Використання УФ – випромінювання:

Одним із варіантів даного методу є опромінення суспензії спор на відстані 20 см від УФ – лампи УФ – світлом впродовж 30 – 210 хв з інтервалом 30 хв. Опромінення відбувалося при періодичному перемішуванні в чашці Петрі [59].

На середовищі з бананових стебел мутантний штам UV - 1 продукував  $52,33 \pm 0,77$  мг/мл лимонної кислоти, у той час як дикий штам 19,4 мг/мл [59].

Часто застосовують у поєднанні з хімічним мутагенезом (бромід етидію, етилметансульфонат, N – нітрозогуанідин, тощо) і стабілізуючим добором.

### 3) Хімічний мутагенез:

Описано метод проведення даного мутагенезу, що ґрунтувався на приготуванні розчину 1 мг/мл етилметансульфонату, який у кількості 1,0 мл вносили до 9 мл середовища Фогеля, що містило спори *Aspergillus niger*. Після 30 - 180 хвилин інкубації (інтервал обробки 30 хв), суспензію тричі центрифугували при 10 000 об/хв протягом 15 хв. Після обробки спор мутагеном, 100-кратні серійні розведення потенційно індукованих мутаціями спор висівали на планшети, щоб отримати 30 колоній або менше на планшеті [59].

Подібним чином проводився хімічний мутагенез і з використанням етидію броміду, але доза його внесення становила 0,5 мг/мл [59].

У результаті продукування на середовищі з банановими стеблами кількість лимонної кислоти в мутанту EMS - 5, отриманого за допомогою етилметансульфонату, становила  $46,75 \pm 1,44$  мг/мл, мутант EB - 3, батьківський

					ДП БТ-9101.00 ПЗ	Арк.
						26
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

штам якого був модифікований етидію бромідом, виробив  $64,20 \pm 0,64$  мг/мл. Кількість лимонної кислоти штаму дикого типу становила 19,4 мг/мл [59].

### 3.2.3 Використання гібридизації для створення промислових продуцентів біологічно-активних речовин

Для покращення здатності *A.niger* до продукування лимонної кислоти використовують також гібридизацію шляхом міжвидового та внутрішньовидового злиття протопластів. Нижче буде описано внутрішньовидове злиття протопластів між штамми *Aspergillus niger* Yang no. 2 та *A. niger* WU-2223L, які належать до різних генеалогічних груп [60,61].

Метод полягає в тому, що протопласти, які отримуються із вищеназваних штамів, у різних комбінаціях змішували й потім суспендували в розчинах поліетиленгліколю (складу 0,01 М CaCl<sub>2</sub> та 0,5 М KCl в буфері гліцин - NaOH). Інкубацію проводили за температури 30°C впродовж 10 хв, після чого розбавляли стабілізованим буфером (0,05 М калій - фосфатний буфер, з рН 6,0, який містить 0,7 М KCl) і направляли на 15 хв центрифугування. Далі проводили ресуспендування отриманих протопластів у стабілізованому буфері, після чого розбавляли й висівали на гіпертонічне мінімальне середовище (вирощування проводили за  $t = 30^\circ\text{C}$  впродовж 5 днів) [61].

Після зазначеного часу з периферійної зони фузанту було взято міцеліальний килимок, який вносили в інше мінімальне середовище із 0,5 г/л d – камфори й залишали на 7 днів при  $t = 30^\circ\text{C}$ . Повторювали таку субкультивацію 2 рази, а на третій збільшили кількість днів до 14 з промиванням дистильованою водою конідій та подальшим центрифугуванням з метою відділення спор. Моноспори культивували на мінімальному середовищі за  $t = 30^\circ\text{C}$  [61].

У результаті було виявлено, що отримані диплоїдні штами мали нижчі показники продукування лимонної кислоти в рідкому середовищі, ніж їх батьківські форми. На твердому середовищі деяка частина диплоїдів мала більшу

					ДП БТ-9101.00 ПЗ	Арк.
						27
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

продуктивність ніж батьківські форми (найкращий показник диплоїдних форм становив 1,2 рази більшу продуктивність) [60].

### 3.2.4 Метаболічна інженерія

Було розроблено кілька методів метаболічної інженерії для посилення виробництва лимонної кислоти шляхом модифікації генів і метаболічних шляхів, які регулюють виробництво лимонної кислоти [45].

Генна інженерія метаболічних шляхів *A. niger* за допомогою системи редагування геному дуже точно модернізує природний геном, тим самим змінюючи фізіологічні характеристики та запускаючи біосинтез секретованих білків і вторинних сполук, утворюючи при цьому штами з підвищеним виробництвом певного метаболіту. Використовуючи цей підхід, ген можна вводити, видаляти, підвищувати або знижувати його активність у певній ділянці організму. Системи кластерних регулярно розташованих коротких паліндромних повторів / CRISPR-асоційованих білків (CRISPR/Cas) стали дуже потужною технікою редагування геному. Високопродуктивна система CRISPR/Cas9 не тільки допомагає в конструюванні хромосом *A. niger*, але й полегшує маніпуляції з геномом шляхом розщеплення в цільовій ділянці. Дволанцюговий розрив (DSB - double strand breaks) у цільовій ділянці потім відновлюється шляхом негомологічного єднання кінців (NHEJ - негомологічне з'єднання кінців), що призводить до порушення роботи гена із вставками або делеціями пар основ (інделами). У процесі NHEJ обидва кінці розірваної молекули ДНК захоплюються гетеродимером Ku70-Ku80, з'єднуються разом і повторно зшиваються за допомогою комплексу білків. У цьому випадку або відновлюється початкова послідовність, або вносяться невеликі індели та/або нуклеотидні заміни. Крім того, якщо дволанцюговий фрагмент ДНК (що містить бажану зміну) з гомологією до цільового локусу потрапляє в клітину, DSB може бути відремонтований шляхом гомологічно-спрямованої репарації (HDR), що дозволяє провести точну заміну або точне редагування геному відповідною

					ДП БТ-9101.00 ПЗ	Арк.
						28
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

донорською ДНК. Використовуючи цю стратегію, у *A.niger* були створені генні порушення, що підвищило ефективність і швидкість метаболічної інженерії. Наприклад, руйнування та заміна гена *agdF* на ген глюкоамілази за допомогою модифікованої системи CRISPR/Cas9 збільшує виробництво глюкоамілази на 25,9% порівняно з диким штамом і може збільшити виробництво лимонної кислоти порівняно з диким штамом [45].

### 3.3 Схема отримання продуцента, що використовується в роботі

Типова технологія отримання штаму *Aspergillus niger* ВКПМ F-809 включає в себе дію на батьківський штам *Aspergillus niger* ВКПМ F-719 УФ – променів і N – нітрозогунідину. Для отримання штаму виконують також стабілізуючий добір.

Блок – схему отримання штаму *Aspergillus niger* ВКПМ F-809 з *Aspergillus niger* ВКПМ F-719 наведено на рис.3.3. У виробничому процесі використовується музейна культура *Aspergillus niger* ВКПМ F-809.

					ДП БТ-9101.00 ПЗ	Арк.
						29
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

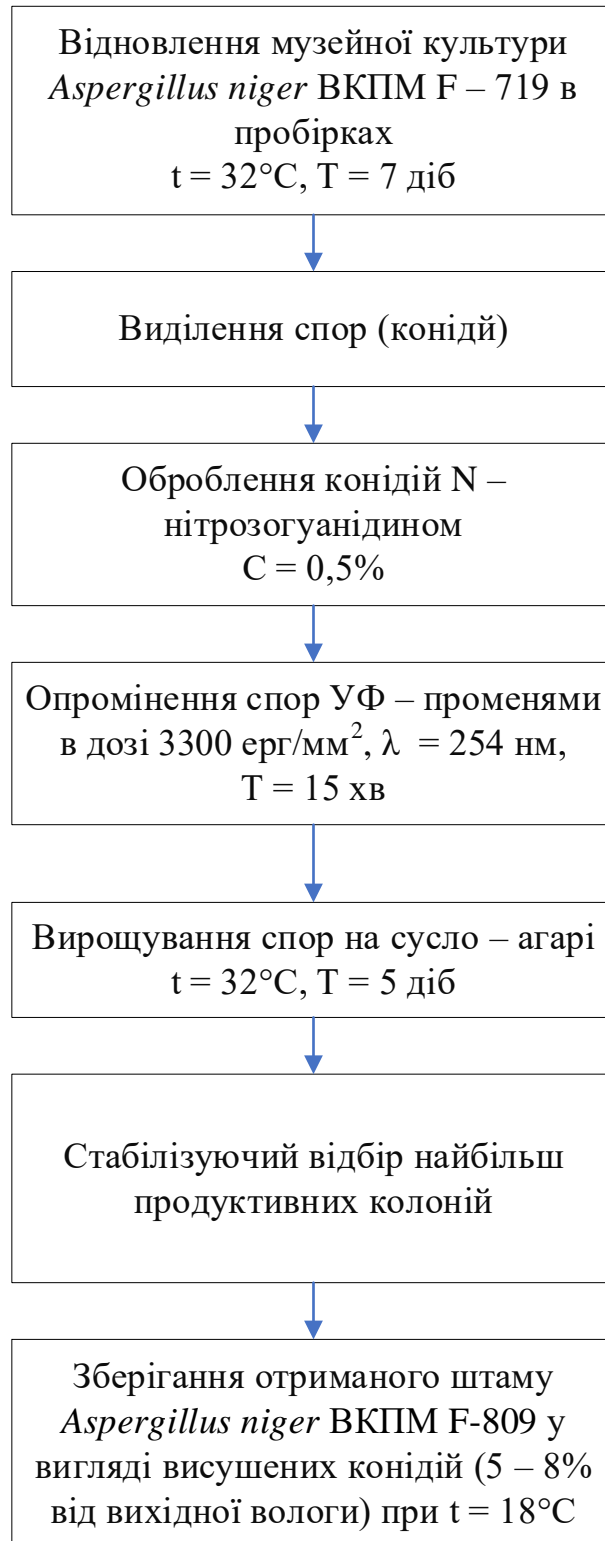


Рисунок 3.3 – Блок – схема отримання промислового продуценту  
*Aspergillus niger* ВКПМ F-809 [14,62]

## РОЗДІЛ 4 ТЕХНОЛОГІЧНА ЧАСТИНА

### 4.1 Характеристика кінцевої продукції виробництва

Назва: кислота лимонна моногідрат харчова позначається як E330 [38];

НТД: ДСТУ ГОСТ 908:2006 Кислота лимонна моногідрат харчова.

Технічні умови (ГОСТ 908-2004, IDT);

Призначення: регулятор кислотності, антиоксидант і комплексоутворювач.

Опис: являє собою безбарвні кристали чи безгрудочковий білий порошок. На смак повинен бути кислим й не мати постороннього привкусу, як і запаху. За структурою повинен бути сухим та сипким (липкість є неприпустимою для даного продукту, як і механічні домішки).

Дана сполука повинна витримувати тести на іони гідрогену, цитрати, фероціаніди, легкозаймісті речовини та залізо. Масова частка моногідрату лимонної кислоти повинна знаходитись у межах 99,5 – 100%, масова частка води 7,5 – 8,8%, сульфатної золи  $\leq 0,05\%$ , сульфатів  $\leq 0,015\%$ , оксалатів  $\leq 0,01\%$ . Вміст таких елементів як свинець та миш'як не має перевищувати 0,5 мг/кг та 0,7 мг/кг відповідно.

Пакування: мішки – вкладиші із поліетиленової плівки (товщина не менше 0,08 мм) або плівки, яка зможе забезпечити герметичність, збереження товарного вигляду продукції та має дозвіл на контактування з харчовими продуктами. Герметичність упаковки досягається заварюванням або зав'язуванням заповнених мішків. Упаковка може мати таку масу як 25, 30 та 40 кг. Дозволене відхилення від номінальної маси нетто в одиниці упаковки становить не більше 1%.

Якщо продукт призначений для роздрібної торгівлі, то дозволяється пакування в пакети по 15 г, 20 г, 30 г, 50 г та 100 г.

Транспортна тара являє собою зроблені з поліефірних волокон, джуто –

					<i>ДП БТ-9101.00 ПЗ</i>			
<i>Зм.</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>				
<i>Розроб.</i>		<i>Бабак М.І.</i>			<i>РОЗДІЛ 4 ТЕХНОЛОГІЧНА ЧАСТИНА</i>	<i>Стадія</i>	<i>Арк.</i>	<i>Аркушів</i>
<i>Конс.</i>		<i>Шидецький В.Ю.</i>				<i>Д</i>	<i>31</i>	<i>87</i>
<i>Керівн.</i>		<i>Фарфоламєєва Д.О.</i>				<i>КПІ ім. Ізгоря Сікарського ФБТ</i>		
<i>Затв.</i>								

льоно – кенафних або напівлляних тканин чи трислойного паперу продуктиві мішки. Використання машинного способу зашивання лляними чи синтетичними нитками надає зашивці механічної міцності.

Пакування пакетів відбувається в ящики, зроблені з гофрованого картону.

Маркування: на етикетку повинна бути нанесена така інформація як повне найменування продукту; код харчової добавки; найменування та адрес виробника; за наявністю наноситься товарний знак; дата виготовлення; номер партії; маса нетто; термін придатності та умови зберігання; найменування стандарту та інформація про сертифікацію.

На транспортну упаковку наносять маніпулятивний знак «Берегти від вологи».

Транспортування: дозволяється використання всіх критих транспортних засобів, але перевезення ящиків, зроблених із гофрованого картону допускається лише автомобільним транспортом або в контейнерах.

Перевезення повинно здійснюватися відповідно до правил перевезення вантажів.

Зберігати лимонну кислоту можна на дерев'яних стелажах або піддонах у критих складах. Вологість повітря не повинна перевищувати 70%.

Термін придатності: при крупному фасуванні у зроблених з «харчової» плівки мішках – вкладишах – не більше 2 років із дня виготовлення; при дрібному фасуванні для роздрібної торгівлі – не більше року.

## **4.2 Характеристика сировини, матеріалів та напівпродуктів, що використовуються у виробництві**

Дані для даного розділу наведені в таблиці 4.1.

					<i>ДП БТ-9101.00 ПЗ</i>	Арк.
						32
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		





1	2	3	4
3.8. Халати лабораторні	ДСТУ EN ISO 13688:2016	Усі показники відповідно до ДСТУ	Спецодяг
4. Напівпродукти			
4.1. Посівний матеріал <i>Aspergillus niger</i> ВКПМ F-809		Згідно виробничого регламенту	Для стадії виробничого біосинтезу

### 4.3 Опис технологічного процесу

#### ДР 1 Санітарна підготовка виробництва.

Параметри отриманої продукції напряму залежить від правильного виконання операцій даної стадії. Контамінація через недотримання норм хоча б однієї з нижчеописаних операцій призведе до низького виходу цільового продукту, який матиме погані показники якості. Така продукція має високі шанси не допуститися до реалізації на ринку, що принесе значні збитки для підприємства. Важливість цієї стадії також полягає в підготовці персоналу до роботи з метою запобігання отримання травм і зменшенні негативних впливів на здоров'я загалом.

#### ДР 1.1 Підготовка персоналу

Передбачає обов'язкове щорічне проходження працівниками медогляду, проведення планових інструктажів із техніки безпеки й забезпечення працівників спецодягом і засобами індивідуального захисту до яких відносять гумові рукавички, халати, респіратори та захисні окуляри [63].

#### ДР 1.2 Приготування мийних та дезінфікуючих розчинів

До заходів, які спрямовані на запобігання зараженню апаратури, що використовується при виробництві моногідрату лимонної кислоти, сторонньою мікрофлорою, відносять мийку та дезінфекцію апаратури, проведення щоденних і генеральних прибирань приміщення загалом.

#### ДР 1.2.1 Приготування миючого розчину

Для підтримання приміщення та апаратури в чистоті використовується 0,5% розчин миючого засобу, приготування якого відбувається шляхом

					<i>ДП БТ-9101.00 ПЗ</i>	Арк.
						35
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

змішування миючого засобу з водою, попереднє дозування яких проходить в дозаторах Д – 1 та Д – 2, в реакторі для змішування Р – 3. Після проведення даних маніпуляцій отриманий розчин перекачується за допомогою відцентрового насоса Н - 4. Температура проведення процесу становить 35 - 45°C [63].

### **ДР 1.2.2 Приготування розчину каустичної соди**

Дезінфекція проводиться за допомогою 6% - вого розчину каустичної соди, приготування якого ґрунтується на змішуванні каустичної соди з водою, попереднє дозування останніх проходить також у дозаторах Д – 5 та Д – 6, в реакторі для змішування Р – 7. Після проведення даних маніпуляцій отриманий розчин перекачується за допомогою відцентрового насоса Н - 8. Умови процесу:  $t = 35 - 45^{\circ}\text{C}$ .

### **ДР 1.3 Підготовка виробничих приміщень**

ґрунтується на виконанні щоденного вологого прибирання та дезінфекції приміщення, включаючи обробку поверхонь обладнання перед та після проведення виробничого процесу. Періодично проводиться генеральне прибирання.

### **ДР 1.4 Підготовка обладнання та комунікацій**

#### **ДР 1.4.1 Мийка та дезінфекція**

Дана операція включає в себе миття частин обладнання та комунікацій, які контактували з сировиною чи проміжними продуктами, 0,5% - вим розчином миючого засобу. Після чого вони ополіскуються водою.

Для дезінфекції використовується 6% - вий розчин каустичної соди, який знаходиться в апаратурі протягом 1,5 – 3 год за температури 55 - 65°C. Комунікації дезінфікують передавлюючи дезінфікуючий розчин під тиском від одного апарату до іншого. Після цих процедур обладнання та комунікації ополіскують питною водою, яка потім надходить на стадію знешкодження відходів.

					<i>ДП БТ-9101.00 ПЗ</i>	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		36

### **ДР 1.4.2 Перевірка на герметичність**

Перевірка вважається пройденою при сталих показниках манометра впродовж 30 хв при тиску в апараті 0,2 МПа.

### **ДР 1.4.3 Стерилізація**

Стерилізація проводиться гострою парою. Умови:  $P = 0,2 - 0,3$  МПа,  $t = 140^{\circ}\text{C}$ ,  $T = 20 - 40$  хв.

## **ДР 2 Підготовка стерильного аераційного повітря**

### **ДР 2.1 Забір повітря з атмосфери**

Забір повітря проводить за допомогою повітрязабірника, розміщеного на висоті 20 м. Отримане атмосферне повітря по шахті надходить у волокнистий касетний фільтр.

### **ДР 2.2 Механічна очистка повітря**

Волокнистий касетний фільтр  $\Phi - 10$  очищає атмосферне повітря від частинок розміром 5 – 10 мкм. Ефективність очистки становить 50 – 85% [64].

### **ДР 2.3 Стабілізація термодинамічних показників**

#### **ДР 2.3.1 Компресування повітря**

Використовуючи турбокомпресор  $T_k - 11$  повітря з попередньої стадії стискається до тиску, який не менше 0,2 МПа. Внаслідок цього стиснене повітря нагрівається до  $t = 100 - 200^{\circ}\text{C}$ .

#### **ДР 2.3.2 Охолодження стисненого повітря**

Стиснене повітря надходить до кожухотрубного теплообмінника  $T_o - 12$  й охолоджується до  $t = 25 - 30^{\circ}\text{C}$ . Холодоагентом виступає вода технічна холодна.

#### **ДР 2.3.3 Видалення вологи**

Для видалення 50 – 70% вихідної вологи повітря з минулої стадії надходить до вологовідловлювача  $P_c - 13$ .

					<i>ДП БТ-9101.00 ПЗ</i>	Арк.
						37
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

#### **ДР 2.4. Нагрівання повітря**

Очищене повітря з минулої стадії транспортується до кожухотрубного теплообмінника То – 14, де нагрівається до температур  $t = 34^{\circ}\text{C}$ .

#### **ДР 2.5 Очистка повітря на головному фільтрі**

Після нагрівання повітря транспортується в набивний фільтр Ф – 15 для очищення від часток розміром 1 – 1,5 мкм. Ефективність очистки становить 98% [64].

#### **ДР 2.6 Тонка очистка повітря**

Останній етап очистки повітря проходить в індивідуальному фільтрі Ф - 16, де проводиться очистка від часточок більших за 0,3 мкм. Ефективність очистки становить 99,999% [64].

### **ДР 3 Підготовка сушильного агенту**

#### **ДР 3.1 Забір повітря з атмосфери**

Повітрозабірник на висоті 20 м вловлює атмосферне повітря, після чого воно транспортується через шахту до волокнистого касетного фільтру.

#### **ДР 3.2 Механічна очистка повітря**

Повітря потрапляючи на волокнистий касетний фільтр очищається від частинок розміром 5 – 10 мкм. Ефективність затримування 50 – 85%. Після чого за допомогою вентилятора В - 77 подається далі до калорифера Кл - 78 [64].

#### **ДР 3.3 Нагрівання повітря**

Після потрапляння повітря в калорифер Кл - 78 воно нагрівається до  $t = 35^{\circ}\text{C}$  й подається до сушарки.

### **ДР 4 Приготування та стерилізація піногасника**

Піногасником у даній технології виступатиме соєва олія. Стерилізація її проходить в автоклаві Ав – 17 впродовж 30 хв за температури 120 - 122°C та тиску 0,12 МПа [63].

					<i>ДП БТ-9101.00 ПЗ</i>	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		38

## **ДР 5 Приготування стерильних середовищ та підкормки**

### **ДР 5.1 Приготування середовища для відновлення музейної культури**

У пробірки розливають середовище, що складається з агару мікробіологічного та сусла пивного. Після чого вони направляються в автоклав Ав-17 для стерилізації. Умови: рН 5,8.

### **ДР 5.2 Приготування середовища для підготовки конідій**

У колби Ерленмейєра на 500 мл (коефіцієнт заповнення 0,7) розливають середовище складу: цукор – пісок, калій фосфорнокислий однозаміщений, нітрат амонію, магній сірчаноокислий 7 – водний і вода питна. Після чого направляється в автоклав Ав-17 для стерилізації. Умови: рН 5,5 – 6,5

### **ДР 5.3 Приготування посівного середовища**

Змішування компонентів посівного середовища проходить у реакторі для змішування Р-27. Попереднє дозування компонентів відбувається за допомогою дозатора Д-26. Склад середовища: меляса, гексаціаноферат калію, оксалат амонію, калій фосфорнокислий однозаміщений, магній сірчаноокислий 7 – водний, цинк сірчаноокислий 7 – водний та вода питна. рН встановлюють за допомогою 5% - вого розчину сірчаної кислоти або 5% - вого розчину карбонату натрію. Отриманий розчин за допомогою відцентрового насосу Н-28 направляється на стерилізацію. Умови: рН 6,7, n = 30 об/хв.

### **ДР 5.4 Приготування ферментаційного середовища**

Змішування компонентів проходить у реакторі для змішування Р-27. Попереднє дозування компонентів відбувається за допомогою дозатора Д-26. Компонентний склад майже ідентичний до посівного середовища за винятком відсутності магнію сірчаноокислого 7 – водного. Умови: рН 6,7, n = 30 об/хв. Отриманий розчин за допомогою відцентрового насосу Н-28 направляється на стерилізацію. Необхідне значення рН встановлюють додаванням 5% - вого розчину натрію карбонату або 5% - вого розчину сірчаної кислоти.

					<i>ДП БТ-9101.00 ПЗ</i>	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		39

### **ДР 5.5 Приготування підкормки**

Змішування компонентів проходить у реакторі для змішування Р-30. Їх дозування відбувається дозатором Д-29. Отриманий розчин за допомогою відцентрового насосу Н-31 направляється на стерилізацію. Склад: вода, меляса та гексаціаноферат калію. Умови: рН 6,3.

### **ДР 5.6 Стерилізація середовищ у пробірках і колбах**

Проводиться в автоклаві Ав-17 при  $t = 112^{\circ}\text{C}$  продовж 20 хв [65].

### **ДР 5.7 Стерилізація підкормки, посівного та ферментаційного середовищ**

#### **ДР 5.7.1 Нагрівання**

Середовища та підкормка зі збірників за допомогою відцентрових насосів Н-28 та Н-31 поступають у нагрівальну колону СК-32, де нагріваються до температури  $120^{\circ}\text{C}$  [66].

#### **ДР 5.7.2 Витримування**

Після нагрівальної колони розчини поступають до витримувача Тв-33, де витримуються протягом 10 хв за температури  $120^{\circ}\text{C}$  [66].

#### **ДР 5.7.3 Охолодження**

Після витримування середовища та підкормка надходять до теплообміннику типу «труба в трубі» ТТ-34, де охолоджуються до температури  $35 \pm 1^{\circ}\text{C}$  [66].

### **ДР 6 Підготовка посівного матеріалу**

#### **ДР 6.1 Відновлення музейної культури**

Проходить в пробірках П-35 із стерилізованим на попередніх стадіях сусло – агарі. Доза внесення  $0,3 \text{ г на } 100 \text{ см}^3$ . При  $t = 32^{\circ}\text{C}$ , рН 5,8 впродовж 7 діб [14].

					<i>ДП БТ-9101.00 ПЗ</i>	Арк.
						40
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

## **ДР 6.2 Підсушування конідій**

За допомогою вакуумного приладу з поверхні міцелію на якому не було виявлено інфекції чи незрілого спороношення збирають спори й підсушують їх у сушильній шафі СШ-36 при  $t = 28 - 30^{\circ}\text{C}$  [14].

## **ДР 6.3 Вирощування конідій у колбах**

В отримане на попередніх стадіях стерильне поживне середовище вносять конідії. Доза внесення  $0,3 \text{ г}$  на  $100 \text{ см}^3$ . Колби Кк-37 поміщають на качалки, де проходить вирощування конідій при  $t = 32 \pm 1^{\circ}\text{C}$  та  $n = 160 \pm 5 \text{ хв}^{-1}$  впродовж 5 – 6 год [14].

## **ДР 6.4 Вирощування посівного матеріалу в інокуляторі на $0,1 \text{ м}^3$**

Отриману суспензію конідій та, попередньо продозоване через дозатор Д-38, стерильне поживне посівне середовище з попередніх стадій вносять в інокулятор на  $1 \text{ м}^3$  Ап-39 з коефіцієнтом заповнення  $0,6$ , у якому продуцент знаходиться протягом 28 – 36 год при  $t = 32 \pm 1^{\circ}\text{C}$ , при аерації на початку  $0,1 - 0,4 \text{ м}^3 \text{ повітря/м}^3 \text{ середовища}$  за хв, а на 20 – 30 год збільшують до  $0,5 - 1 \text{ м}^3 \text{ повітря/м}^3 \text{ середовища}$  за хв,  $n = 160 \pm 5 \text{ хв}^{-1}$ ,  $P = 0,01 - 0,02 \text{ МПа}$ ,  $\text{pH } 6,0 - 6,5$ . По мірі необхідності додають піногасник. У процесі передбачено відбирати проби на 12, 24, 30 та 36 год для перевірки формування міцелію та чистоту останнього мікроскопуванням [14,40,67].

## **ДР 6.5 Вирощування посівного матеріалу в інокуляторі на $1 \text{ м}^3$**

Отриманий посівний матеріал та, попередньо продозоване через дозатор Д-40, стерильне поживне посівне середовище з попередніх стадій вносять в інокулятор на  $1 \text{ м}^3$  Ап-41 з коефіцієнтом заповнення  $0,6$ . Умови аналогічні до вирощування в інокуляторі на  $0,1 \text{ м}^3$  [14,40,67].

## **ТП 7 Виробничий біосинтез**

Проходить у ферментері на  $10 \text{ м}^3$  з коефіцієнтом заповнення  $0,6$  Фв-43. Апарат заповнюють поживним середовищем, яке дозується через дозатор Д-42 та посівним матеріалом із попередньої стадії. У перші 24 – 36 год температура

					<i>ДП БТ-9101.00 ПЗ</i>	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		41

становить 34 - 36°C, аерація 3 – 4 м<sup>3</sup>/год і рН 6,0 – 6,5. Далі температура становить 32 - 34°C й аерація 15 - 18 м<sup>3</sup>/(м<sup>2</sup> · год). Перемішування  $n = 160 \pm 5 \text{ хв}^{-1}$ . Впродовж процесу у ферментер тричі підливають підкормку (через 24, 42 і 62 год) сумарно 2,4 м<sup>3</sup>. По мірі необхідності додають піногасник. Процес завершують при концентрації цукрів 1 – 2% та загальній титрувальній кислотності 12 – 20% [14,40,67,68].

## **ТП 8 Очищення від міцелію**

### **ТП 8.1 Нагрівання**

Після завершення бродіння проводиться нагрівання отриманої культуральної рідини у ферментері Фв-43 до  $t = 60 - 65^\circ\text{C}$  [40].

### **ТП 8.2 Відділення міцелію**

Культуральна рідина із попередньої стадії подають на вакуум – фільтр Ф-44, а потім промивають міцелій гарячою водою ( $t = 95^\circ\text{C}$ ) на цьому ж фільтрі. Умови:  $P = 0,3 \text{ МПа}$  [40].

## **ТП 9 Нейтралізація лимонної кислоти**

Проходить у реакторі для змішування Р-46, у який подають розчин з попередньої стадії, і нагрівають до  $t = 80 - 90^\circ\text{C}$ . Після цього, постійно перемішуючи  $n = 40 \text{ об/хв}$ , через дозатор Д-45 додають вапняне молоко. Нейтралізація завершується при рН 6,8 – 7,5 [40,67].

## **ТП 10 Відокремлення осаду**

Кальцієві солі лимонної кислоти, глюконової та щавлевої, які випали в осад після проведення попередньої стадії відділяють у вакуум – фільтри Ф-47, а потім промивають осад гарячою водою ( $t = 95^\circ\text{C}$ ) на цьому ж фільтрі. Умови:  $P = 0,3 \text{ МПа}$  [40,67].

					<i>ДП БТ-9101.00 ПЗ</i>	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		42

### **ТП 11 Розклад цитрату кальцію**

Отриманий осад направляється у реактор для змішування Р-49, у який попередньо через дозатор Д-28 набирають воду. І при все ще працюючій мішалці  $n = 40$  об/хв додають через дозатор Д-28 активоване вугілля та нагрівають суміш у реакторі Р-49 до  $60^{\circ}\text{C}$  й потім додають сірчану кислоту. Закінчуючи подачу сірчаної кислоти отриману суміш нагрівають до  $t = 80 - 90^{\circ}\text{C}$  й кип'ятять впродовж  $10 - 15$  хв [40].

### **ТП 12 Осадження важких металів**

У реактор для змішування Р-49 для осадження важких металів, арсену та заліза додають через дозатор Д-48 сірчистий барій та гексаціаноферат калію. Перемішування  $n = 40$  об/хв,  $t = 80 - 90^{\circ}\text{C}$ . Повноту осадження визначають якісними реакціями [40].

### **ТП 13 Отримання розчину лимонної кислоти**

Щоб звільнити суспензію від осаджених важких металів, арсену та заліза її фільтрують на вакуум - фільтрі Ф-50. Потім отриманий осад гіпсового шламу на фільтрі промивають гарячою водою ( $t = 90^{\circ}\text{C}$ ). Коли вміст лимонної кислоти в промивній воді складає  $0,1\%$  (встановлюється відбором проб води з подальшим аналізом її у відповідних лабораторіях) промивання завершують і направляють фільтрат до першого корпусу вакуум – випарного апарату з винесеною гріючою камерою та зоною кипіння К-34, С-55. Умови:  $P = 0,3$  МПа [40].

### **ТП 14 Перше упарювання лимонної кислоти**

У першому корпусі вакуум – випарного апарату з винесеною гріючою камерою та зоною кипіння К-34, С-55 фільтрат упарюють при  $t = 70^{\circ}\text{C}$  до густини  $1240 - 1260$  кг/м<sup>3</sup> під остаточним тиском  $0,021$  МПа [40,41].

					<i>ДП БТ-9101.00 ПЗ</i>	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		43

## **ТП 15 Освітлення та очищення**

### **ТП 15.1 Освітлення**

Після першого випарювання розчин надходить до реактора для змішування Р-60 в який через дозатор Д-59 вносять активоване вугілля та перемішують  $n = 40$  об/хв.

### **ТП 15.2 Фільтрування**

Освітлений розчин фільтрують на фільтр – пресі Ф-61. Осад відправляють на стадію знешкодження відходів. Умови:  $P = 0,2 - 0,3$  МПа. Отриманий фільтрат надходить до збірника Зб-62.

### **ТП 15.3 Накопичення фільтрату**

Проходить у збірнику Зб-62. За допомогою відцентрового насосу Н-63 зібраний фільтрат надходить до іонообмінних установок ІО-64 та ІО-66. Умови:  $P = 0,1$  МПа.

### **ТП 15.4 Іонообмінне очищення**

Проходить у катіонітній та аніонітній іонообмінних колонах ІО - 64 та ІО-66 між яким встановлено насос Н-65 для транспортування фільтрату. При тиску  $P = 0,6$  МПа.

## **ТП 16 Друге упарювання**

Після аніонітної іонообмінної колони очищена суміш за допомогою насосу Н-67 надходить до другого корпусу вакуум – випарного апарату з винесеною грючою камерою та зоною кипіння К-69, С-70. Тут фільтрат упарюють при  $t = 70^{\circ}\text{C}$  до густини  $1350 - 1360$  кг/м<sup>3</sup> під остаточним тиском  $0,021$  МПа [40,41].

## **ТП 17 Кристалізація**

Після упарювання лимонна кислота надходить у кристалізатор Р-72, де її охолоджують до  $t = 35 - 37^{\circ}\text{C}$  та вносять через дозатор Д-71 затравку (кристали лимонної кислоти). Перемішування  $n = 40$  об/хв. У процесі кристалізації розчин охолоджують до  $t = 8 - 10^{\circ}\text{C}$ . Потім розчин кристалізують  $40 - 50$  хв [40,41].

					<i>ДП БТ-9101.00 ПЗ</i>	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		44

## **ТП 18 Центрифугування**

Отриманий маточний розчин з кристалами лимонної кислоти надходить до центрифуги барабанного типу Ц-74 за допомогою насосу Н-73. Умови:  $n = 1000$  об/хв до вологості 2 – 3% [40,41,69].

## **ТП 19 Сушка**

Після центрифугування кристали сушать у барабанній сушарці Ф-79 при температурі  $t = 35^{\circ}\text{C}$ . Швидкість обертання  $n = 3 - 8$  об/хв [40,41,69].

## **ПМВ 20 Пакування, маркування та зберігання продукту**

За допомогою фасувальної ФП-80 та пакувальної машини ПМ-81 кристали моногідрату лимонної кислоти пакують в пакети по 15 г, 20 г, 30 г, 50 г та 100 г, а також у мішки по 25 кг [38].

На етикетку наносять: повне найменування продукту; код харчової добавки; найменування та адрес виробника; за наявністю наноситься товарний знак; дата виготовлення; номер партії; маса нетто; термін придатності та умови зберігання; найменування стандарту та інформація про сертифікацію [38].

При крупному фасуванні у зроблених з «харчової» плівки мішках – вкладишах термін придатності не більше 2 років із дня виготовлення; при дрібному фасуванні для роздрібної торгівлі – не більше року [38].

## **ПВ 21 Переробка відходів**

Полягає у використанні відділеного від культуральної рідини міцелію штаму *Aspergillus niger* ВКПМ F-809 в якості кормової добавки для тварин, гіпсовий шлам можна використовувати при виробництві будівельних матеріалів, фільтрат цитрату кальцію при додатковій обробці можна використовувати як харчову добавку.

					<i>ДП БТ-9101.00 ПЗ</i>	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		45

## **ЗВ 22 Знешкодження відходів**

Рідкі відходи, відпрацьована вода, конденсат, використане ПС із залишками культури, промивна вода, осад, маточний розчин та некондиційний матеріал знешкоджуються відповідно до методик поводження з тим чи іншим видом відходів або викидів.

### **4.4 Матеріальний баланс**

Матеріальний баланс виробничої серії наведено в табл.4.2.

					<i>ДП БТ-9101.00 ПЗ</i>	Арк.
						46
<i>Зм.</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>		

Таблиця 4.2 – Матеріальний баланс виробничої серії

Використано					Отримано				
Стадія	Назва сировини, матеріалів та напівпродуктів	Кількість			Стадія	Назва сировини, матеріалів та напівпродуктів	Кількість		
		кг	шт	л			кг	шт	л
ДР 4.1	Агар мікробіологічний	0,005			ДР 4.1	Поживне серце для відновлення музейної культури			0,251
	Сусло пивне			0,248		Втрати			0,003
Всього:		0,005		0,248	Всього:				0,253
ДР 4.2	Цукор – пісок	0,0426			ДР 4.2	Сер-ще для вирощування конідій			0,8439
	Калій фосфорнокислий однозаміщений	0,0001				Втрати			0,0085
	Нітрат амонію	0,0021							
	Магній сірчаноокислий 7 – водний	0,0002							
	Вода питна			0,8073					
Всього:		0,0451		0,8073	Всього:				0,8524
ДР 4.3	Меляса	21,867			ДР 4.3	Посівне поживне сер-ще			332,036
	Гексаціаноферат калію	0,047				Втрати			3,354
	Оксалат амонію	0,084							
	Калій фосфорнокислий однозаміщений	0,047							
	Магній сірчаноокислий 7 – водний	0,084							
	Цинк сірчаноокислий 7 – водний	0,002							
	Вода питна			313,259					
Всього:		22,131		313,259	Всього:				335,390
ДР 4.4	Меляса	216,138			ДР 4.4	Ферментацій-не поживне сер-ще			3281,846
	Гексаціаноферат калію	0,464				Втрати			33,150
	Оксалат амонію	0,414							
	Калій фосфорнокислий однозаміщений	0,464							
	Цинк сірчаноокислий 7 – водний	0,017							
	Вода питна			3097,499					
Всього:		217,497		3097,499	Всього:				3314,995

					<i>ДП БТ-9101.00 ПЗ</i>	Арк.
						47
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

## Продовження табл.4.2

Використано					Отримано				
Стадія	Назва сировини, матеріалів та напівпродуктів	Кількість			Стадія	Назва сировини, матеріалів та напівпродуктів	Кількість		
		кг	шт	л			кг	шт	л
ДР 4.5	Меляса	1320,325			ДР 4.5	Підкормка			2407,222
	Гексаціаноферат калію	6,273				Втрати			24,315
	Вода питна			1104,939					
Всього:		1326,598		1104,939	Всього:				2431,537
ДР 4.6	Поживне середовище для відновлення музейної культури			0,251	ДР 4.6	Стерильне поживне середовище для відновлення музейної культури			0,250
	Середовище для вирощування конідій			0,844		Стерильне середовище для вирощування конідій			0,842
						Втрати			0,002
Всього:				1,094	Всього:				1,094
ДР 4.7	Посівне поживне середовище			332,036	ДР 4.7	Стерильне посівне поживне середовище			331,040
	Ферментаційне поживне середовище			3281,846		Стерильне ферментаційне поживне середовище			3 272
	Підкормка			2407,222		Стерильна підкормка			2 400
						Втрати			18,063
Всього:				6021,103	Всього:				6021,103
ДР 5.1	Стерильне поживне середовище для відновлення музейної культури			0,25	ДР 5.1	Конідії <i>Aspergillus niger</i> ВКПМ F-809	0,0246		
	Посівний матеріал <i>Aspergillus niger</i> ВКПМ F-809	0,008				Використане ПС із залишками культури	0,2325		
						Втрати	0,25075		
Всього:		0,008		0,25	Всього:		0,25075000		

					ДП БТ-9101.00 ПЗ	Арк.
						48
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

## Продовження табл.4.2

Використано					Отримано				
Стадія	Назва сировини, матеріалів та напівпродуктів	Кількість			Стадія	Назва сировини, матеріалів та напівпродуктів	Кількість		
		кг	шт	л			кг	шт	л
ДР 5.2	Конідії <i>Aspergillus niger</i> ВКПМ F-809	0,0246			ДР 5.2	Сухі конідії <i>Aspergillus niger</i> ВКПМ F-809	0,025		
						Втрати	0,025		
Всього:		0,0246			Всього:		0,025		
ДР 5.3	Сухі конідії <i>Aspergillus niger</i> ВКПМ F-809	0,025			ДР 5.3	Культуральна рідина з <i>Aspergillus niger</i> ВКПМ F-809			0,841
	Стерильне серце для вирощування конідій			0,817		Втрати			0,001
Всього:		0,025		0,842	Всього:				0,842
ДР 5.4	Стерильне посівне поживне серце			15,887	ДР 5.4	Культуральна рідина з <i>Aspergillus niger</i> ВКПМ F-809			16,592
	Культуральна рідина з <i>Aspergillus niger</i> ВКПМ F-809			0,841		Втрати			0,236
	Соева олія			0,100					
Всього:				16,828	Всього:				16,828
ДР 5.5	Стерильне посівне поживне серце			315,154	ДР 5.5	Культуральна рідина з <i>Aspergillus niger</i> ВКПМ F-809			327,2
	Культуральна рідина з <i>Aspergillus niger</i> ВКПМ F-809			16,592		Втрати			4,646
	Соева олія			0,100					
Всього:				331,846	Всього:				331,846
ТП 6	Стерильне ферментаційне поживне серце			3 272	ТП 6	Культуральна рідина з <i>Aspergillus niger</i> ВКПМ F-809			5927,308
	Культуральна рідина з <i>Aspergillus niger</i> ВКПМ F-809			327,2		Втрати			71,992
	Стерильна підкормка			2 400					
	Соева олія			0,100					
Всього:				5 999,3	Всього:				5999,3

					ДП БТ-9101.00 ПЗ	Арк.
						49
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

## Продовження табл.4.2

Використано					Отримано				
Стадія	Назва сировини, матеріалів та напівпродуктів	Кількість			Стадія	Назва сировини, матеріалів та напівпродуктів	Кількість		
		кг	шт	л			кг	шт	л
ТП 7	Культуральна рідина з <i>Aspergillus niger</i> ВКІМ F-809			5927,308	ТП 7	Культуральний розчин			5692,587
	Вода питна			106,692		Промитий міцелій	118,546		
						Промивна вода			106,692
						Втрати			116,175
Всього:				6034,000	Всього:		118,546		5915,454
ТП 8	Культуральний розчин			5692,587	ТП 8	Нейтралізований розчин			6812,786
	Вапняне молоко			1127,018		Втрати			6,820
Всього:				6819,605	Всього:				6819,605
ТП 9	Нейтралізований розчин			6812,786	ТП 9	Промитий осад	2321,389		
	Вода питна			696,416		Фільтрат			4401,569
						Промивна вода			696,416
						Втрати			89,828
Всього:				7509,202	Всього:		2321,389		5187,813
ТП 10	Промитий осад	2321,389			ТП 10	Суспензія			9369,032
	Вода питна			6964,166		Втрати			9,378
	Активоване вугілля	74,284							
	Сірчана кислота			18,571					
Всього:		2395,673		6982,737	Всього:				9378,410
ТП 11	Суспензія			9369,032	ТП 11	Суспензія з осадом важких металів			9385,682
	Сірчистий барій	2,342				Втрати			9,395
	Гексаціаноферат калію	23,704							
Всього:		26,046		9369,032	Всього:				9395,078

## Продовження табл.4.2

Використано					Отримано				
Стадія	Назва сировини, матеріалів та напівпродуктів	Кількість			Стадія	Назва сировини, матеріалів та напівпродуктів	Кількість		
		кг	шт	л			кг	шт	л
ТП 12	Суспензія з осадом важких металів			9385,682	ТП 12	Розчин лимонної кислоти			6284,420
	Вода питна			11353,921		Промитий гіпсовий шлам			2973,009
						Промивна вода			11353,921
						Втрата			128,253
Всього:				20739,603	Всього:				20739,603
ТП 13	Розчин лимонної кислоти			6284,420	ТП 13	Упарений розчин			2055,107
						Волога			4187,372
						Втрати			41,941
Всього:				6284,420	Всього:				6284,420
ТП 14	Упарений розчин			2055,107	ТП 14	Освітлений розчин			2053,175
	Активоване вугілля	0,534				Втрати			2,467
Всього:		0,534		2055,107	Всього:				2055,642
ТП 15	Освітлений розчин			2053,175	ТП 15	Концентрат			1095,635
						Волога			935,180
						Втрати			22,360
Всього:				2053,175	Всього:				2053,175
ТП 16	Концентрат			1095,635	ТП 16	Маточний розчин з кристалами			1094,589
	Кристали лимонної кислоти	0,16				Втрати			1,205
Всього:		0,16		1095,635	Всього:				1095,795
ТП 17	Маточний розчин з кристалами			1094,589	ТП 17	Вологі кристали	493,213		
						Маточний розчин			594,373
						Втрати			7,003
Всього:				1094,589	Всього:		493,213		601,376

Використано					Отримано				
Стадія	Назва сировини, матеріалів та напівпродуктів	Кількість			Стадія	Назва сировини, матеріалів та напівпродуктів	Кількість		
		кг	шт	л			кг	шт	л
ТП 18	Вологі кристали	493,213			ТП 18	Сухі кристали	468,432		
						Волога			19,092
						Втрати	5,689		
Всього:		493,213			Всього:		474,121		19,092
ПМВ 19	Сухі кристали	468,432			ПМВ 19	Лимонна кислота в пакетах по 15 г	50,085	3339	
	Пакети з полімерних плівок 15 г		3340			Лимонна кислота в пакетах по 20 г	50,080	2504	
	Пакети з полімерних плівок 20 г		2505			Лимонна кислота в пакетах по 30 г	50,070	1669	
	Пакети з полімерних плівок 30 г		1670			Лимонна кислота в пакетах по 50 г	50,050	1001	
	Пакети з полімерних плівок 50 г		1002			Лимонна кислота в пакетах по 100 г	50,000	500	
	Пакети з полімерних плівок 100 г		501			Лимонна кислота в мішках на 25 кг	218	10	
	Мішки - вкладиші з поліетиленової плівки по 25 кг		11			Втрати	0,147	6	
Всього:		468,432	9029		Всього:		468,432	9029	

#### 4.5 Контроль виробництва

Контроль виробництва представлений у табл. 4.3.

					<i>ДП БТ-9101.00 ПЗ</i>	Арк.
						52
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Таблиця 4.3 – Перелік контрольних точок

Назва стадії та номер контрольної точки	Об'єкт контролю та показник, що вивчається	Метод контролю	Періодичність перевірки	Нормативна характеристика показника
ДР 1.1 Підготовка персоналу Кт 1.1.1 Кмб 1.1.2	Персонал. Перевірка знань	Тестування чи співбесіда	Кожну операцію	
	Медичні книжки. Відмітки про проходження медогляду	Візуальний	Раз у півроку	
	Спецодяг. Візуальна чистота одягу	Візуальний	Кожну операцію	
	Персонал. Чистота рук	Висівання змиву рук	Кожну операцію	< 5 КУО
ДР 1.2.1 Приготування миючого розчину Кт 1.2.1.1 Кх 1.2.1.2	Розчин миючого засобу. Концентрація миючого засобу	Хімічний, фізичний	Кожну операцію	C = 0,5%
	Розчин миючого засобу Температура	Термометр	Кожну операцію	35 - 45°C
ДР 1.2.2 Приготування розчину каустичної соди Кт 1.2.2.1 Кх 1.2.2.2	Розчин каустичної соди. Концентрація миючого засобу	Візуальний, хімічний, фізичний	Кожну операцію	C = 6%
	Розчин миючого засобу Температура	Термометр	Кожну операцію	35 - 45°C
ДР 1.3 Підготовка виробничих приміщень Кт 1.3.1 Кмб 1.3.2	Приміщення. Візуальне забруднення поверхонь	Візуальний	Кожну операцію	Візуальна відсутність бруду
	Приміщення. Мікробіологічне забруднення поверхонь	Висівання на чашки Петрі змиву з поверхонь	Один раз на два дні	КУО у відповідності до норм, прописаних для відповідного класу чистоти
ДР 1.4.1 Мийка та дезінфекція Кт 1.4.1.1	Миючий розчин. Витрата	Візуальний, витратомір	Кожну операцію	0,1 – 0,5 м <sup>3</sup> /хв
	Розчин каустичної соди. Експозиція	Годинник	Кожну операцію	1,5 – 3 год
	Розчин каустичної соди. Температура	Термометр	Кожну операцію	55 - 65°C
	Розчин каустичної соди. Тиск	Манометр	Кожну операцію	0,2 МПа

## Продовження табл.4.3

Назва стадії та номер контрольної точки	Об'єкт контролю та показник, що вивчається	Метод контролю	Періодичність перевірки	Нормативна характеристика показника
ДР 1.4.2 Перевірка на герметичність Кт 1.4.2.1	Апарати та комунікації. Тиск	Манометр	Кожну операцію	0,2 МПа
	Апарати та комунікації. Час	Годинник	Кожну операцію	30 хв
ДР 1.4.3 Стерилізація Кт 1.4.3.1 Кмб 1.4.3.2	Пара насичена Тиск	Манометр	Кожну операцію	0,2 – 0,3 МПа
	Пара насичена Час	Годинник	Кожну операцію	20 – 40 хв
	Пара насичена Температура	Термометр	Кожну операцію	140°C
	Апарати та комунікації Стерильність	Висівання на чашки Петрі змиву з поверхонь	Кожну операцію	Відсутність сторонньої мікрофлори
ДР 2.1 Забір повітря з атмосфери Кт 2.1.1	Атмосферне повітря. Температура	Термометр	Кожну операцію	
	Атмосферне повітря. Вологість	Психометр	Кожну операцію	
ДР 2.2 Механічна очистка повітря Кт 2.2.1	Очищене повітря. Ефективність вловлювання часток розміром 5 – 10 мкм	Датчик запиленості	Раз у тиждень	50 – 85%
ДР 2.3.1 Компресування повітря Кт 2.3.1.1	Очищене повітря. Тиск	Манометр	Кожну операцію	0,2 МПа
	Очищене повітря. Температура	Термометр	Кожну операцію	100 - 200°C
ДР 2.3.2 Охолодження стисненого повітря Кт 2.3.2.1	Компресоване повітря. Температура	Термометр	Кожну операцію	25 - 30°C
ДР 2.3.3 Видалення вологи Кт 2.3.3.1	Охоложене повітря. Видалення вихідної вологи	Психометр	Кожну операцію	50 – 70%
ДР 2.4 Нагрівання повітря Кт 2.4.1	Очищене повітря. Температура	Термометр	Кожну операцію	37 - 40°C
ДР 2.5 Очистка повітря на головному фільтрі Кт 2.5.1	Нагріте очищене повітря. Ефективність вловлювання часток розміром 1 – 1,5 мкм	Датчик запиленості	Раз у тиждень	98%
ДР 2.6 Тонка очистка повітря Кт 2.6.1 Кмб 2.6.2	Стерильне повітря. Ефективність вловлювання часток розміром 0,3 мкм >	Датчик запиленості	Раз у тиждень	99,999%
	Стерильне повітря. Вміст сторонньої мікрофлори	Мікробіологічний	Раз у тиждень	Відсутність сторонньої мікрофлори
ДР 3.1 Забір повітря з атмосфери Кт 3.1.1	Атмосферне повітря. Температура	Термометр	Кожну операцію	
	Атмосферне повітря. Вологість	Психометр	Кожну операцію	

## Продовження табл.4.3

Назва стадії та номер контрольної точки	Об'єкт контролю та показник, що вивчається	Метод контролю	Періодичність перевірки	Нормативна характеристика показника
ДР 3.2 Механічна очистка повітря Кт 3.2.1	Очищене повітря. Ефективність вловлювання часток розміром 5 – 10 мкм	Датчик запиленості	Раз у тиждень	50 – 85%
ДР 3.3 Нагрівання повітря Кт 3.3.1	Калорифер. Температура	Термометр	Кожну операцію	35°C
ДР 4 Приготування та стерилізація піногасника Кт 4.1 Кмб 4.2	Автоклав. Температура	Термометр	Кожну операцію	120 - 122°C
	Автоклав. Тиск	Манометр	Кожну операцію	0,12 МПа
	Піногасник. Час	Годинник	Кожну операцію	30 хв
	Піногасник. Наявність сторонньої мікрофлори	Мікробіологічний	Кожну операцію	Відсутність сторонньої мікрофлори
ДР 5.1 Приготування середовища для відновлення музейної культури Кт 5.1.1 Кх 5.1.2	Компоненти ПС. Маса	Ваги, мірний посуд	Кожну операцію	Відповідно до виробничої рецептури
	Компоненти ПС. Об'єм	Мірний посуд	Кожну операцію	Відповідно до виробничої рецептури
	Поживне середовище. рН	рН - метр	Кожну операцію	5,8
ДР 5.2 Приготування середовища для підготовки конідій Кт 5.2.1 Кх 5.2.2	Компоненти ПС. Маса	Ваги, мірний посуд	Кожну операцію	Відповідно до виробничої рецептури
	Компоненти ПС. Об'єм	Мірний посуд	Кожну операцію	Відповідно до виробничої рецептури
	Поживне середовище. рН	рН - метр	Кожну операцію	5,5 – 6,5
ДР 5.3 Приготування посівного середовища Кт 5.3.1 Кх 5.3.2	Компоненти ПС та регулятори рН. Дозування	Дозатори	Кожну операцію	Відповідно до виробничої рецептури
	Поживне середовище. рН	рН - метр	Кожну операцію	6,7
ДР 5.4 Приготування ферментаційного середовища Кт 5.4.1 Кх 5.4.2	Компоненти ПС та регулятори рН. Дозування	Дозатори	Кожну операцію	Відповідно до виробничої рецептури
	Поживне середовище. рН	рН - метр	Кожну операцію	6,7
ДР 5.5 Приготування підкормки Кт 5.5.1 Кх 5.5.2	Компоненти ПС. Дозування	Дозатори	Кожну операцію	Відповідно до виробничої рецептури
	Поживне середовище. рН	рН - метр	Кожну операцію	6,3

## Продовження табл.4.3

Назва стадії та номер контрольної точки	Об'єкт контролю та показник, що вивчається	Метод контролю	Періодичність перевірки	Нормативна характеристика показника
ДР 5.6 Стерилізація середовищ у пробірках і колбах Кт 5.6.1 Кмб 5.6.2	Автоклав. Температура	Термометр	Кожну операцію	112°C
	Поживні середовища. Час	Годинник	Кожну операцію	20 хв
	Поживні середовища. Наявність сторонньої мікрофлори	Мікробіологічний	Кожну операцію	Відсутність сторонньої мікрофлори
ДР 5.7.1 Нагрівання Кт 5.7.1.1	Нагрівальна колона. Температура	Термометр	Кожну операцію	120°C
ДР 5.7.2 Витримування Кт 5.7.2.1	Нагріті ПС та підкормка. Час	Годинник	Кожну операцію	10 хв
ДР 5.7.3 Охолодження Кт 5.7.3.1 Кмб 5.7.3.2	Посівне поживне середовище та підкормка. Температура	Термометр	Кожну операцію	32°C
	Ферментаційне поживне середовище. Температура	Термометр	Кожну операцію	34 - 36°C
	Поживні середовища. Наявність сторонньої мікрофлори	Мікробіологічний	Кожну операцію	Відсутність сторонньої мікрофлори
ДР 6.1 Відновлення музейної культури Кт 6.1.1 Кмб 6.1.2	Поживне середовище. рН	рН - метр	Кожну операцію	5,8
	Поживне середовище. Температура	Термометр	Кожну операцію	32°C
	Конідії. Кількість внесення	Ваги	Кожну операцію	0,3 г на 100 см <sup>3</sup>
	Культура. Тривалість інкубування	Годинник	Кожну операцію	7 діб
	Культура Наявність сторонньої мікрофлори	Мікробіологічний	Кожну операцію	Відсутність сторонньої мікрофлори
ДР 6.2 Підсушування конідій Кт 6.2.1 Кмб 6.2.2	Культура. Наявність інфекції чи незрілого спороношення	Мікробіологічний	Кожну операцію	Відсутність інфекцій. Зріле спороношення
	Сушильна шафа. Температура	Термометр	Кожну операцію	28-30°C
ДР 6.3 Вирощування конідій у колбах Кт 6.3.1 Кмб 6.3.2	Конідії. Кількість внесення	Ваги	Кожну операцію	0,3 г на 100 см <sup>3</sup>
	Качалка. Частота обертання	Тахометр	Кожну операцію	160 ± 5 хв <sup>-1</sup>
	Поживне середовище. Температура	Термометр	Кожну операцію	32 ± 1°C
	Культура. Тривалість інкубування	Годинник	Кожну операцію	5 - 6 год
	Культура Наявність сторонньої мікрофлори	Мікробіологічний, відбір проб	Кожну операцію	Відсутність сторонньої мікрофлори

Продовження табл.4.3

Назва стадії та номер контрольної точки	Об'єкт контролю та показник, що вивчається	Метод контролю	Періодичність перевірки	Нормативна характеристика показника
ДР 6.4 Вирощування посівного матеріалу в інокуляторі на 0,1 м <sup>3</sup> Кт 6.4.1 Кмб 6.4.2	Культура. Доза внесення	Дозатор	Кожну операцію	5% від ПС
	Стерильне повітря. Доза внесення на початку інкубації	Витратомір	Кожну операцію	0,1 – 0,4 м <sup>3</sup> повітря/ м <sup>3</sup> ПС на хв
	Стерильне повітря. Доза внесення вкінці інкубації	Витратомір	Кожну операцію	0,5 – 1 м <sup>3</sup> повітря/ м <sup>3</sup> ПС на хв
	Мішалка. Частота обертання	Тахометр	Кожну операцію	160 ± 5 хв <sup>-1</sup>
	Поживне середовище. Температура	Термометр	Кожну операцію	32 ± 1°C
	Культура. Тривалість інкубування	Годинник	Кожну операцію	28 - 36 год
	Інокулятор на 0,1 м <sup>3</sup> . Тиск	Манометр	Кожну операцію	0,01 – 0,02 МПа
	Піногасник. Дозування	Дозатор	Кожну операцію	По мірі необхідності
	Культура. Наявність сторонньої мікрофлори	Мікробіологічний, відбір проб	Кожну операцію	Відсутність сторонньої мікрофлори
	Культуральна рідина. рН	рН - метр	Кожну операцію	6,0 – 6,5
ДР 6.5 Вирощування посівного матеріалу в інокуляторі на 1 м <sup>3</sup> Кт 5.5.1 Кмб 5.5.2	Культура. Доза внесення	Дозатор	Кожну операцію	5% від ПС
	Стерильне повітря. Доза внесення на початку інкубації	Витратомір	Кожну операцію	0,1 – 0,4 м <sup>3</sup> повітря/ м <sup>3</sup> ПС на хв
	Стерильне повітря. Доза внесення вкінці інкубації	Витратомір	Кожну операцію	0,5 – 1 м <sup>3</sup> повітря/ м <sup>3</sup> ПС на хв
	Мішалка. Частота обертання	Тахометр	Кожну операцію	160 ± 5 хв <sup>-1</sup>
	Поживне середовище. Температура	Термометр	Кожну операцію	32 ± 1°C
	Культура. Тривалість інкубування	Годинник	Кожну операцію	28 - 36 год
	Інокулятор на 1 м <sup>3</sup> . Тиск	Манометр	Кожну операцію	0,01 – 0,02 МПа
	Піногасник. Дозування	Дозатор	Кожну операцію	По мірі необхідності
	Культура. Наявність сторонньої мікрофлори	Мікробіологічний, відбір проб	Кожну операцію	Відсутність сторонньої мікрофлори
	Культуральна рідина. рН	рН - метр	Кожну операцію	6,0 – 6,5

## Продовження табл.4.3

Назва стадії та номер контрольної точки	Об'єкт контролю та показник, що вивчається	Метод контролю	Періодичність перевірки	Нормативна характеристика показника
ТП 7 Виробничий біосинтез Кт 7.1 Кх 7.2 Кмб 7.3	Культура. Доза внесення	Дозатор	Кожну операцію	10% від ПС
	Стерильне повітря. Доза внесення перші 24 – 36 год	Витратомір	Кожну операцію	3 – 4 м <sup>3</sup> /год
	Мішалка. Частота обертання	Тахометр	Кожну операцію	160 ± 5 хв <sup>-1</sup>
	Культуральна рідина. Температура перші 24 – 36 год	Термометр	Кожну операцію	34 - 36°C
	Стерильне повітря. Доза внесення після 24 – 36 год	Витратомір	Кожну операцію	15 - 18 м <sup>3</sup> /(м <sup>2</sup> · год)
	Культуральна рідина. Температура після 24 – 36 год	Термометр	Кожну операцію	32 - 34°C
	Культура. Тривалість інкубування	Годинник	Кожну операцію	5 – 6 діб
	Ферментер. Тиск	Манометр	Кожну операцію	0,01 – 0,02 МПа
	Підкормка. Дозування	Дозатор	Кожну операцію	0,8 м <sup>3</sup> за раз
	Культура Наявність сторонньої мікрофлори	Мікробіологічний, відбір проб	Кожну операцію	Відсутність сторонньої мікрофлори
	Культуральна рідина. Концентрація цукрів вкінці бродіння	Хімічний, відбір проб	Кожну операцію	1 – 2%
	Культуральна рідина. Загальна титрувальна кислотність вкінці бродіння	Хімічний, відбір проб	Кожну операцію	12 – 20%
	Культуральна рідина. рН	рН - метр	Кожну операцію	6,0 – 6,5
ТП 8.1 Нагрівання Кт 8.1.1	Культуральна рідина. Температура	Термометр	Кожну операцію	60 - 65°C
ТП 8.2 Відділення міцелію Кт 8.2.1	Вакуум - фільтр. Тиск	Манометр	Кожну операцію	0,3 МПа
	Вода. Температура	Термометр	Кожну операцію	95°C
	Культуральний розчин. Ефективність відділення міцелію	Візуальний	Кожну операцію	Відсутність міцелію в розчині

## Продовження табл.4.3

Назва стадії та номер контрольної точки	Об'єкт контролю та показник, що вивчається	Метод контролю	Періодичність перевірки	Нормативна характеристика показника
ТП 9 Нейтралізація лимонної кислоти. Кт 9.1 Кх 9.2	Культуральний розчин. Температура	Термометр	Кожну операцію	80 - 90°C
	Мішалка. Частота обертання	Тахометр	Кожну операцію	40 об/хв
	Вапняне молоко. Дозування	Дозатор	Кожну операцію	Відповідно до виробничої рецептури
	Нейтралізований розчин. рН	рН - метр	Кожну операцію	6,8 – 7,5
ТП 10 Відокремлення осаду. Кт 10.1	Вакуум - фільтр. Тиск	Манометр	Кожну операцію	0,3 МПа
	Вода. Температура	Термометр	Кожну операцію	95°C
ТП 11 Розклад цитрату кальцію Кт 11.1 Кх 11.2	Вода. Дозування	Дозатори	Кожну операцію	Відповідно до виробничої рецептури
	Мішалка. Частота обертання	Тахометр	Кожну операцію	40 об/хв
	Активоване вугілля. Дозування	Дозатори	Кожну операцію	Відповідно до виробничої рецептури
	Суміш у реакторі перед подачею сірчаної кислоти. Температура	Термометр	Кожну операцію	60°C
	Сірчана кислота. Дозування	Дозатори	Кожну операцію	Відповідно до виробничої рецептури
	Суміш у реакторі після подачі сірчаної кислоти. Температура	Термометр	Кожну операцію	80 - 90°C
	Суміш у реакторі після подачі сірчаної кислоти. Час кип'ятіння	Годинник	Кожну операцію	10 – 15 хв
ТП 12 Осадження важких металів Кт 12.1 Кх 12.2	Сірчистий барій. Дозування	Дозатори	Кожну операцію	Відповідно до виробничої рецептури
	Гексаціаноферат калію. Дозування	Дозатори	Кожну операцію	Відповідно до виробничої рецептури
	Мішалка. Частота обертання	Тахометр	Кожну операцію	40 об/хв
	Суміш в реакторі. Температура	Термометр	Кожну операцію	80 - 90°C
	Суміш у реакторі. Повнота осадження	Хімічний, якісні реакції	Кожну операцію	Повністю осаджені важкі метали, арсен та залізо

Продовження табл.4.3

Назва стадії та номер контрольної точки	Об'єкт контролю та показник, що вивчається	Метод контролю	Періодичність перевірки	Нормативна характеристика показника
ТП 13 Отримання розчину лимонної кислоти Кт 13.1 Кх 13.2	Вакуум - фільтр. Тиск	Манометр	Кожну операцію	0,3 МПа
	Вода. Температура	Термометр	Кожну операцію	90°C
	Осад гіпсового шламу. Концентрація лимонної кислоти	Ареометр	Кожну операцію	0,1%
ТП 14 Перше упарювання лимонної кислоти Кт 14.1 Кх 14.2	Корпус вакуум – випарного апарату. Температура	Термометр	Кожну операцію	70°C
	Корпус вакуум – випарного апарату. Тиск	Манометр	Кожну операцію	0,021 МПа
	Фільтрат. Густина	Ареометр	Кожну операцію	1240 – 1260 кг/м <sup>3</sup>
ТП 15.1 Освітлення Кт 15.1.1 Кх 15.1.2	Активоване вугілля. Дозування	Дозатори	Кожну операцію	Відповідно до виробничої рецептури
	Мішалка. Частота обертання	Тахометр	Кожну операцію	40 об/хв
ТП 15.2 Фільтрування Кт 15.2.1	Фільтр – прес. Тиск	Манометр	Кожну операцію	0,2 – 0,3 МПа
ТП 15.3 Накопичення фільтрату Кт 15.3.1	Збірник. Тиск	Манометр	Кожну операцію	0,1 МПа
ТП 15.4 Іонообмінне очищення Кт 15.4.1	Іонообмінні колони. Тиск	Манометр	Кожну операцію	0,6 МПа
ТП 16 Друге упарювання Кт 16.1 Кх 16.2	Корпус вакуум – випарного апарату. Температура	Термометр	Кожну операцію	70°C
	Корпус вакуум – випарного апарату. Тиск	Манометр	Кожну операцію	0,021 МПа
	Фільтрат. Густина	Ареометр	Кожну операцію	1360 кг/м <sup>3</sup>
ТП 17 Кристалізація Кт 17.1 Кх 17.2	Лимонна кислота. Температура на початку кристалізація	Термометр	Кожну операцію	35 - 37°C
	Затравка. Дозування	Дозатори	Кожну операцію	Відповідно до виробничої рецептури
	Мішалка. Частота обертання	Тахометр	Кожну операцію	40 об/хв
	Лимонна кислота. Температура вкінці кристалізації	Термометр	Кожну операцію	8 - 10°C
	Процес кристалізації. Час	Годинник	Кожну операцію	40 – 50 хв

Назва стадії та номер контрольної точки	Об'єкт контролю та показник, що вивчається	Метод контролю	Періодичність перевірки	Нормативна характеристика показника
ТП 18 Центрифугування Кт 18.1	Центрифуга. Частота обертання	Тахометр	Кожну операцію	1000 об/хв
	Вологі кристали лимонної кислоти. Вологість	Датчик вологості	Кожну операцію	2 – 3%
ТП 19 Сушка Кт 19.1 Кмб 19.2	Барабанна сушарка. Температура	Термометр	Кожну операцію	35°C
	Барабанна сушарка. Швидкість обертання	Тахометр	Кожну операцію	3 - 8 об/хв
ПМВ 20 Пакування, маркування та зберігання продукту Кт 20.1 Кх 20.2 Кмб 20.3	Пакувальні матеріали. Якість	Лабораторний	Кожну операцію	Відповідно до чинних НТД
	Готова продукція. Маса	Дозатор	Кожну операцію	15 г; 20 г; 30 г; 50 г; 100 г та 25 кг
	Готова продукція. Якість	Лабораторний	Кожну операцію	Відповідно до чинних НТД
ПВ 21 Переробка відходів Кт 21.1 Кх 21.2 Кмб 21.3	Відходи. Параметри	Лабораторний	Кожну операцію	Відповідно до чинних НТД
ЗВ 22 Знешкодження відходів Кт 22.1 Кх 22.2 Км 22.3	Відходи. Параметри та знешкодження	Лабораторний	Кожну операцію	Відповідно до чинних НТД

## РОЗДІЛ 5 РОЗРАХУНОК ОБЛАДНАННЯ ДЛЯ ПРОВЕДЕННЯ ТЕХНОЛОГІЧНОГО ПРОЦЕСУ

### 5.1 Обґрунтування вибраної конструкції. Підбір конструкційних матеріалів для окремих елементів

Обираючи теплообмінник важливу роль відіграє можливість підвищити коефіцієнт теплопередачі, що можна зробити збільшенням швидкості теплоносіїв. У свою чергу підвищення швидкості одного з носіїв може значно підвищити коефіцієнт теплопередачі лише при умові високого коефіцієнту тепловіддачі другого теплоносія, при цьому тепловий опір стінки та забруднення повинні бути малим. Важливо відмітити, що гідравлічний опір при цьому теж збільшується [66].

Серед факторів, що зменшують коефіцієнт теплопередачі є також забруднення поверхні теплообміну й тому важливо обрати таку конструкцію, яка б дозволяла безперешкодно очищувати дану поверхню [66].

Розглядаючи пластинчастий теплообмінник, до переваг його можна віднести високі коефіцієнти теплопередачі за рахунок великих швидкостей руху теплоносіїв, але діапазон використання його обмежений ( $t = -30 \div +180^\circ\text{C}$  та тиск не більше 1,6 МПа) і до того ж він має великий гідравлічний опір [70].

Кожухотрубний теплообмінник володіє компактністю та доступністю очистки труб зсередини (виняток з цього  $U$  – подібні труби), але очищати міжтрубний простір набагато складніше, існують труднощі з пропусканням теплоносіїв, що мають велику швидкість руху, складність у ремонтуванні та техогляді [66].

Змієвикові теплообмінники славляться дешевизною, простотою конструкції, очистки та ремонту, можуть використовуватись при роботі зі значними тисками й агресивними середовищами, але мають низьку

					<i>ДП БТ-9101.00 ПЗ</i>					
<i>Зм.</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>	РОЗДІЛ 5 РОЗРАХУНОК ОБЛАДНАННЯ ДЛЯ ПРОВЕДЕННЯ ТЕХНОЛОГІЧНОГО ПРОЦЕСУ					
<i>Розроб.</i>	<i>Бабак М.І.</i>							<i>Стадія</i>	<i>Арк.</i>	<i>Аркушів</i>
<i>Конс.</i>	<i>Шидецький В.Ю.</i>							<i>Д</i>	62	87
<i>Керівн.</i>	<i>Фарфоломєєва Д.О.</i>							<i>КПІ ім. Ізгоя Сікарського ФБТ</i>		
<i>Затв.</i>										

Тепловіддачу, через що не використовуються при високих температурах теплоносіїв [71].

Спіральні теплообмінники теж володіють компактністю й незначними втратами тепла в навколишнє середовище, але вони дуже дорогі й у разі виникнення течі у зварних швах чи місцевої корозії їх буде дуже складно, а то й неможливо відремонтувати [72].

Найкращим теплообмінником для стерилізації поживних середовищ і підкормки буде теплообмінник типу «труба в трубі», суттєвими перевагами якого є досягнення високих коефіцієнтів тепловіддачі за рахунок створення високих чи однакових швидкостей теплоносіїв, а також низький гідравлічний опір [72].

Загальний вид апарату представлений на рис.5.1, а. Дані теплообмінники складаються з послідовно розташованих елементів, які складаються з двох співвісних трубок різних діаметрів. Один теплоносій переміщується всередині внутрішньої трубки 1, тоді як другий рухається в кільцевому просторі між зовнішньою поверхнею внутрішньої трубки та внутрішньою поверхнею зовнішньої трубки 2. Ці елементи з'єднані між собою калачами 3, утворюючи плаский змійовик, прямі ділянки якого володіють сорочками [72].

Зовнішні труби з'єднуються за допомогою патрубків 4 з фланцями, що створює довгий шлях для теплоносія в кільцевому просторі. Цей метод з'єднання дозволяє легко демонтувати апарат з метою очищення поверхні теплообміну та ремонту [72].

Крім того, при необхідності частого чищення поверхонь, труби можуть бути з'єднані роз'ємною системою з'єднання (рис.5.1, в), а не жорсткою (рис.5.1, б) [72].

Також, при великих різницях температур теплоносіїв, з'єднання труб може здійснюватися за допомогою сальників 5 (рис.5.1, г), які компенсують термічне розширення [72].

					<i>ДП БТ-9101.00 ПЗ</i>	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		63



пластична й при використанні різних методів електрозварювання володітиме високою зварюваністю, а саме 08X18P10T [74].

Тобто найкращим апаратом для дільниці підготовки поживного середовища при виробництві моногідрату лимонної кислоти є теплообмінник типу «труба в трубі» ТТОН зі знімними двійниками, зроблений зі сталі 08X18P10T.

## 5.2 Технологічний, конструктивний і гідравлічний розрахунки

### 5.2.1 Вихідні дані

Витрати поживного середовища:

$$G_1 = 5 \text{ т/год} = 1,39 \text{ кг/с.}$$

**Меляса (гарячий теплоносій):**

Початкова температура  $t_1' = 120^\circ\text{C}$

Кінцева температура  $t_1'' = 35^\circ\text{C}$

**Вода (холодний теплоносій):**

Початкова температура  $t_2' = 18^\circ\text{C}$

Кінцева температура  $t_2'' = 87^\circ\text{C}$

Тип теплообмінника: «труба в трубі»

Схема руху теплоносіїв: протитік

### 5.2.2 Тепловий розрахунок

Враховуючи факт того, що агрегатний стан теплоносіїв у процесі проходження через апарат не змінюється, обраховуємо середнє значення температур:

$$t_m = \frac{t_1' + t_1''}{2} = \frac{120 + 35}{2} = 77,5^\circ\text{C},$$

					ДП БТ-9101.00 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		65

$$t_{\theta} = \frac{t_2' + t_2''}{2} = \frac{18 + 87}{2} = 52,5^{\circ}\text{C}.$$

Визначаємо термодинамічні властивості.

Для меляси (суха речовина **22,5%**) [75]:

Густина меляси (CP = 22,5%) при температурі  $t = 77,5^{\circ}\text{C}$ :

Густина меляси (CP = 22,5%) при температурі  $t = 60^{\circ}\text{C}$  та  $t = 80^{\circ}\text{C}$ :

$$\rho_{60^{\circ}\text{C}}^{22,5\%} = 1071,2 \text{ кг/м}^3 \text{ та } \rho_{80^{\circ}\text{C}}^{22,5\%} = 1060,8 \text{ кг/м}^3$$

$$\begin{aligned} \rho_{77,5^{\circ}\text{C}}^{22,5\%} &= \rho_{60^{\circ}\text{C}}^{22,5\%} - \frac{\rho_{60^{\circ}\text{C}}^{22,5\%} - \rho_{80^{\circ}\text{C}}^{22,5\%}}{80 - 60} (t_m - 60) = 1071,2 - \frac{1071,2 - 1060,8}{80 - 60} (77,5 - 60) = \\ &= 1062,1 \text{ кг / м}^3. \end{aligned}$$

Теплоємність при температурі  $t = 77,5^{\circ}\text{C}$ :

$$\begin{aligned} C_m &= 4,073 - 0,00134 \cdot (14,4 \cdot \text{CP} - t_m) = 4,073 - 0,00134 \cdot (14,4 \cdot 22,5 - 77,5) = \\ &= 3,743 \text{ кДж / (кг} \cdot \text{K)}. \end{aligned}$$

Динамічна в'язкість:

Динамічна в'язкість меляси (CP = 22,5%) при температурі  $t = 77,5^{\circ}\text{C}$ :

Динамічна в'язкість меляси (CP = 22,5%) при температурі  $t = 60^{\circ}\text{C}$  та  $t = 80^{\circ}\text{C}$

$$\mu_{60^{\circ}\text{C}}^{22,5\%} = 0,982 \cdot 10^{-6} \text{ Па} \cdot \text{с} \text{ та } \mu_{80^{\circ}\text{C}}^{22,5\%} = 0,850 \cdot 10^{-6} \text{ Па} \cdot \text{с}$$

Динамічна в'язкість меляси (CP = 22,5%) при температурі  $t = 77,5^{\circ}\text{C}$ :

$$\begin{aligned} \mu_{77,5^{\circ}\text{C}}^{22,5\%} &= \mu_{60^{\circ}\text{C}}^{22,5\%} - \frac{\mu_{60^{\circ}\text{C}}^{22,5\%} - \mu_{80^{\circ}\text{C}}^{22,5\%}}{80 - 60} (t_m - 60) = \\ &= \left( 0,982 - \frac{0,982 - 0,850}{80 - 60} \cdot (77,5 - 60) \right) \cdot 10^{-3} = 0,867 \cdot 10^{-3} \text{ Па} \cdot \text{с}. \end{aligned}$$

Теплопровідність при температурі  $t = 77,5^{\circ}\text{C}$ :

$$\lambda_m = 0,5646 \cdot t^{0,0879} \cdot \text{CP}^{-0,135} = 0,5646 \cdot 77,5^{0,0879} \cdot 22,5^{-0,135} = 0,544 \text{ Вт / (м} \cdot \text{K)}.$$

					ДП БТ-9101.00 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		66

Для води [76]:

Густина при температурі  $t = 52,5^{\circ}\text{C}$ :

$$\rho_g = \rho_{50^{\circ}\text{C}} - \frac{\rho_{50^{\circ}\text{C}} - \rho_{60^{\circ}\text{C}}}{60 - 50} (t_g - 50) = 988 - \frac{988 - 983}{60 - 50} (52,5 - 50) = 986,75 \text{ кг} / \text{м}^3.$$

Теплоємність при температурі  $t = 52,5^{\circ}\text{C}$ :

$$C_g = 4,18 \text{ кДж} / (\text{кг} \cdot \text{К}).$$

Динамічна в'язкість при температурі  $t = 52,5^{\circ}\text{C}$ :

$$\begin{aligned} \mu_g &= \mu_{50^{\circ}\text{C}} - \frac{\mu_{50^{\circ}\text{C}} - \mu_{60^{\circ}\text{C}}}{60 - 50} (t_g - 50) = \left( 549 - \frac{549 - 470}{60 - 50} (52,5 - 50) \right) \cdot 10^{-6} = \\ &= 529,25 \cdot 10^{-6} \text{ Па} \cdot \text{с}. \end{aligned}$$

Теплопровідність при температурі  $t = 52,5^{\circ}\text{C}$ :

$$\begin{aligned} \lambda_g &= \lambda_{50^{\circ}\text{C}} + \frac{\lambda_{60^{\circ}\text{C}} - \lambda_{50^{\circ}\text{C}}}{60 - 50} (t_g - 50) = \left( 64,8 - \frac{65,9 - 64,8}{60 - 50} (52,5 - 50) \right) \cdot 10^{-2} = \\ &= 64,5 \cdot 10^{-2} \text{ Вт} / (\text{м} \cdot \text{К}). \end{aligned}$$

Температурна схема:

Поживне середовище (меляса):  $t_1'$  ( $120^{\circ}\text{C}$ )  $\longrightarrow$  ( $35^{\circ}\text{C}$ )  $t_1''$   
Вода:  $t_2''$  ( $87^{\circ}\text{C}$ )  $\longleftarrow$  ( $18^{\circ}\text{C}$ )  $t_2'$

Більша різниця температур :

$$\Delta t_g = t_1' - t_1'' = 120 - 87 = 33^{\circ}\text{C}.$$

Менша різниця температур:

$$\Delta t_m = t_1'' - t_2' = 35 - 18 = 17^{\circ}\text{C}.$$

Середня арифметична різниця температур :

$$\frac{\Delta t_g}{\Delta t_m} < 2, \text{ тому } \Delta t_{cp} = \frac{\Delta t_g + \Delta t_m}{2} = \frac{33 + 17}{2} = 25^{\circ}\text{C}.$$

Теплове навантаження: [76]:

					ДП БТ-9101.00 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		67



$$Re_2 = \frac{\omega_2 \cdot d_{mm} \cdot \rho_6}{\mu_6} = \frac{0,113 \cdot 0,048 \cdot 986,75}{529,25 \cdot 10^{-6}} = 10112,673 \text{ (турбулентний)},$$

де  $d_{MT}$  – різниця між внутрішнім діаметром кожухової труби і зовнішнім діаметром теплообмінної труби:  $d_{mm} = D_{вн} - d_{зов} = 0,207 - 0,159 = 0,048 \text{ м}$ .

Визначаємо критерій Прандтля [76]:

$$Pr_1 = \frac{C_m \cdot \mu_m}{\lambda_m} = \frac{3743 \cdot 0,867 \cdot 10^{-3}}{0,544} = 5,965,$$

$$Pr_2 = \frac{C_6 \cdot \mu_6}{\lambda_6} = \frac{4180 \cdot 529,25 \cdot 10^{-6}}{64,5 \cdot 10^{-2}} = 3,429.$$

Визначаємо критерій Нуссельта за відповідним критеріальним рівнянням [78]:

$$Nu_1 = 0,021 \cdot Re_1^{0,8} \cdot Pr_1^{0,43} \cdot \varepsilon_t \cdot \varepsilon_\ell = 0,021 \cdot 13866,101^{0,8} \cdot 5,965^{0,43} \cdot \frac{5,965}{1,74} \cdot 1,049 = 319,416$$

де  $\varepsilon_t$  – поправка, що враховує зміни фізичних властивостей середовища в залежності від температури:  $\varepsilon_t = \frac{Pr_1}{Pr_{ст1}}$ ;  $Pr_{ст1}$  – критерій Прандтля при температурі стінки для води,  $Pr_{ст1} = 1,74$ ;  $\varepsilon_\ell$  - поправка, яка враховує вплив на тепловіддачу гідродинамічного стабілізаційного потоку на початковій ділянці теплообміну:

$$\text{При } \frac{\ell}{d} = \frac{6}{0,147} = 40,816 < 50 - \varepsilon_\ell = 1 + \frac{2d}{\ell} = 1 + \frac{2 \cdot 0,147}{6} = 1,049$$

де  $\ell$  - довжина труби,  $\ell = 6 \text{ м}$  [73];

Для кільцевого каналу [79]:

$$Nu_2 = 0,023 \cdot Re_2^{0,8} \cdot Pr_2^{0,4} \cdot \left( \frac{D_6}{d_{зовн}} \right)^{0,45} = 0,023 \cdot 10112,673^{0,8} \cdot 3,429^{0,4} \cdot \left( \frac{0,207}{0,159} \right)^{0,45} = 67,802$$

					<i>ДП БТ-9101.00 ПЗ</i>	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		69



Діаметр штуцера для входу та виходу води [80]:

$$d_{шт2} = \sqrt{\frac{G_2}{0,785 \cdot \omega_2 \cdot \rho_6}} = \sqrt{\frac{1,533}{0,785 \cdot 0,113 \cdot 986,75}} = 0,132 \text{ м}$$

Приймаємо  $d_{шт1} = 0,147 \text{ м}$ , а  $d_{шт2} = 0,207 \text{ м}$

### 5.3.4 Гідравлічний розрахунок

Для розрахунку гідравлічного опору необхідно визначити опір тертя та місцеві опори.

#### Гідравлічний опір трубного простору:

Місцеві опори для трубного простору [80]:

$\xi_{тр1} = 0,5$  – вхід в апарат;

$\xi_{тр2} = 1,0$  – вихід з апарату;

$\xi_{тр3} = 1,5$  – поворот через калач на  $180^\circ$ .

Середня абсолютна шорсткість сталевих труб  $\Delta = 0,2 \text{ мм}$ .

Відносна шорсткість [77]:

$$\varepsilon = \frac{\Delta}{d_{вн}} = \frac{0,0002}{0,147} = 0,00136.$$

Коефіцієнт тертя  $\lambda$  [9]:

$$\lambda = 0,25 \left\{ \lg \left[ \frac{\varepsilon}{3,7} + \left( \frac{6,81}{\text{Re}} \right)^{0,9} \right] \right\}^{-2} = 0,25 \left\{ \lg \left[ \frac{0,00136}{3,7} + \left( \frac{6,81}{13866,101} \right)^{0,9} \right] \right\}^{-2} = 0,031.$$

Загальна довжина шляху меляси у апараті [77]:

$$L = n \cdot L_c + (n - 1) \cdot L_k = 18 \cdot 6,800 + (18 - 1) \cdot 0,565 = 132,005 \text{ м},$$

де  $L_c$  – довжина секції  $L_c = 6,800 \text{ м}$  [73];  $L_k$  – довжина калача, що з'єднує секції трубного простору:

$$L_k = 0,5 \cdot \pi \cdot h_1 = 0,5 \cdot 3,14 \cdot 0,36 = 0,565 \text{ м},$$

де  $h_1$  – відстань між осями по вертикалі,  $h_1 = 0,36$  [73].

					ДП БТ-9101.00 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		71



Визначимо загальну довжину шляху води у апараті [77]:

$$L = n \cdot L_c + (n - 1) \cdot L_k = 18 \cdot 6,800 + (18 - 1) \cdot 0,565 = 132,005 \text{ м},$$

Визначимо гідравлічний опір на тертя міжтрубного простору [77]:

$$\Delta P_{mt} = \lambda \cdot \frac{L}{d_{ек}} \cdot \frac{\rho_в \cdot \omega_2^2}{2} + \sum \xi_{mt} \cdot \frac{\rho_в \cdot \omega_2^2}{2} = 0,037 \cdot \frac{132,005}{0,03} \cdot \frac{986,75 \cdot 0,113^2}{2} + 45 \cdot \frac{986,75 \cdot 0,113^2}{2} = 1309,159 \text{ Па}$$

де  $\xi_{mt}$  – коефіцієнт місцевого опору потоку в міжтрубному просторі:

$$\sum \xi_{mt} = \xi_{mt1} + \xi_{mt2} + (n - 1) \cdot \xi_{mt3} + (n - 1) \cdot \xi_{mt4} = 1,5 + 1,0 + (18 - 1) \cdot 1,5 + (18 - 1) \cdot 1,0 = 45$$

Втрати тиску на підйом меляси [77]:

$$\Delta P_n = \rho_в \cdot g \cdot H_{то} = 1341,607 \cdot 9,81 \cdot 3,1974 = 42081,508 \text{ Па},$$

де  $H_{то} = 3,1974 \text{ м}$ .

Загальний гідравлічний опір міжтрубного простору [77]:

$$\Delta P_{mt} = \Delta P_n + \Delta P_{mt} = 42081,508 + 1309,159 = 43390,667 \text{ Па}.$$

Витрата тиску в міжтрубному просторі = 0,043 МПа.

### 5.3 Вибір загальнозаводського обладнання

Щоб перекачувати мелясу та воду необхідно визначити обрати насоси.

#### 5.3.1 Потужність наносу

Для трубного простору [79]:

$$N_{mp} = \frac{\Delta P_{mp}}{1000 \cdot \rho_m \cdot \eta} = \frac{33404,128}{1000 \cdot 1062,1 \cdot 0,7} = 0,045 \text{ кВт.}$$

де  $\eta = 0,7$  – ККД насосу.

Для міжтрубного простору [79]:

$$N_{mt} = \frac{\Delta P_{mt}}{1000 \cdot \rho_в \cdot \eta} = \frac{43390,667}{1000 \cdot 986,75 \cdot 0,7} = 0,063 \text{ кВт.}$$

					ДП БТ-9101.00 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		73

### 5.3.2 Подача насосу

Для трубного простору [79]:

$$Q_{тр} = \frac{G_1}{\rho_m} = \frac{1,39}{1062,1} = 0,001 \text{ м}^3 / \text{с}.$$

Для міжтрубного простору [79]:

$$Q_{мт} = \frac{G_2}{\rho_г} = \frac{1,533}{986,75} = 0,002 \text{ м}^3 / \text{с}.$$

Враховуючи все вищеописане обираємо відцентровий моноблочний насос з нержавіючої сталі ВZ 50-125/2.2 (потужність 2,2 кВт; продуктивність 36 м<sup>3</sup>/год).

### 5.4 Вимоги до охорони праці та навколишнього середовища

Регулювання умов праці на підприємстві відбувається за допомогою системи стандартів безпеки праці (ССБП), у яких прописані рекомендації щодо поводження з тим чи іншим видом обладнання чи речовинами, зокрема, вимоги до засобів індивідуального захисту й рівня шуму, вібрації, тощо.

Основним небезпечним чинником при роботі з теплообмінником типу «труба в трубі» є факт, що він працює під тиском. Основні правила користування прописані в АТК-РЭ-2013 «Аппараты теплообменные кожухотрубчатые и теплообменники «труба в трубе», выпускаемые по ТУ 3612-005-00220302, ТУ 3644-006-00220302, ТУ 3612-007-00220302, ТУ 3612-013-00220302, ТУ 3612-014-00220302, ТУ 3612-023-00220302, ТУ 3612-024-00220302, ТУ 3612-100-00220302. Руководство по эксплуатации».

Основні положення цього документу такі [81]:

- Регулярний огляд обладнання на наявність поломок, дефектів, розгерметизації, тощо;
- При виявленні несправностей негайно проводяться ремонтні роботи кваліфікованими спеціалістами;

					<i>ДП БТ-9101.00 ПЗ</i>	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		74

- Зварні шви та апарат загалом повинні триматися в чистоті;
- Не перевищувати режим роботи апарату та його розрахункові параметри;
- Дотримуватись вимог технологічного регламенту;
- До роботи допускається персонал, який пройшов первинні інструктажі та періодично планові. Обов'язкова наявність спецодягу та засобів індивідуального захисту, наприклад халатів, масок/респіраторів, гумових рукавичок, захисних окулярів, тощо;
- Кожен співробітник повинен бути уважним й не відволікатись на сторонні чинники й не відволікати колег;
- Допуск сторонніх осіб до апаратів заборонено;
- Заборонено залишення апаратів без нагляду;
- Припинити роботу при нездужанні й звернутися до медпункту.

Не менш важливим також є охорона навколишнього середовища.

Перед скиданням в каналізацію стічні води повинні відповідати ряду вимог, описаних в «Правилах охорони поверхневих вод від забруднення зворотними водами», затверджені Міністерством екологічної безпеки України від 25.03.1999 р. з метою збереження каналізаційних мереж і очисних споруд від поломок. До методів очистки стічних вод відносять [82]:

- Механічні – спеціальними апаратами (центрифуги, відстійники, фільтри, тощо);
- Хімічні – озонування, хлорування чи гідрування;
- Фізико – хімічні – використання методів флотації, екстракції, тощо;
- Термічні – в основі лежить окиснення небажаних речовин при високій температурі й отримання нетоксичних продуктів;
- Біотехнологічні – полягають у використанні мікроорганізмів, що нейтралізують забруднюючі речовини.

Вимоги до викидів у атмосферне повітря прописані в ДСП 201- 97 Державні санітарні правила охорони атмосферного повітря населених місць (від

					<i>ДП БТ-9101.00 ПЗ</i>	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		75

забруднення хімічними і біологічними речовинами), затверджені Міністерством охорони здоров'я України 09.07.1997. Очищають повітря за допомогою спеціальних фільтрів.

					<i>ДП БТ-9101.00 ПЗ</i>	Арк.
						76
<i>Зм.</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>		

## ВИСНОВКИ

1. На основі аналізу продуцентів лимонної кислоти було обрано найбільш продуктивний штам, яким є *Aspergillus niger* ВКПМ F-809.

2. За допомогою аналізу літературних джерел було охарактеризовано цільовий продукт, а саме моногідрат лимонної кислоти або гідрату 2-гідроксипропан-1,2,3-трикарбонової кислоти. Зазначено її реєстраційні номери, емпіричну та структурну формули, основні фізико – хімічні властивості та компонентний склад. Наведено схему хімічних і біохімічних перетворень, яка включає в себе реакції фруктозобіфосатного шляху та циклу Кребса. Вказано методи очистки цільового продукту, а саме стандартний, екстракції та мембранної фільтрації й обґрунтовано доцільність використання стандартної технології. Показано механізми впливу лимонної кислоти на біохімічні процеси й, враховуючи факт зниження ефективності циклу Кребса при значному накопиченні лимонної кислоти, було обрано доливну технологію культивування.

3. Описано методи створення високопродуктивних продуцентів, використовуючи стабілізуючий добір, індукований мутагенез (гамма – випромінювання й УФ – випромінювання) та хімічний мутагенез (передбачає використання етилметансульфонату, етидію броміду або N – нітрозогуанідину). За типовою технологією було обрано комбінований мутагенез із використанням N – нітрозогуанідину, УФ – променів і стабілізуючого добору для отримання штаму *Aspergillus niger* ВКПМ F-809 з батьківського штаму *Aspergillus niger* ВКПМ F-719 з наведенням блок – схеми.

4. Охарактеризовано харчовий моногідрат лимонної кислоти (назва, НТД, яким регулюється якість, призначення, короткий опис, вимоги до пакування, маркування та транспортування, термін придатності). Наведено таблицю з характеристикою сировини, матеріалів та напівпродуктів, які необхідні для виробництва. Описано технологічний процес, важливе місце в

					ДП БТ-9101.00 ПЗ			
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата	ВИСНОВОК	Стадія	Арк.	Аркушів
Розроб.		Бабак М.І.				Д	77	87
Конс.								
Керівн.		Фарфоломєєва Д.О.						
Затв.								
						КПІ ім. Ізгоря Сікарського ФБТ		

якому мають умови культивування, а саме температура на початку культивування повинна становити 34 - 36°C, а вкінці 32 - 34°C, безперервна аерація та перемішування. Складено матеріальний баланс і вказано перелік контрольних точок у вигляді таблиць.

5. Обґрунтовано використання теплообміннику типу «труба в трубі» для ділянки підготовки поживного середовища в порівнянні з його аналогами. Проведено технологічний, конструктивний та гідравлічний розрахунки, обрано загальнозаводське обладнання, яке являє собою відцентровий моноблочний насос з нержавіючої сталі BZ 50-125/2.2 й наведено вимоги до охорони праці та навколишнього середовища.

6. Накреслено технологічну та апаратурну схеми, а також розроблено креслення теплообміннику типу «труба в трубі» ТТОН зі знімними двійниками, виготовлений зі сталі 08X18P10T.

					<i>ДП БТ-9101.00 ПЗ</i>	Арк.
						78
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

## ПЕРЕЛІК ПОСИЛАНЬ

1. Citric acid monohydrate (code C47452). NCI Thesaurus. URL: [https://ncithesaurus.nci.nih.gov/ncitbrowser/ConceptReport.jsp?dictionary=NCI\\_Thesaurus&ns=ncit&code=C47452](https://ncithesaurus.nci.nih.gov/ncitbrowser/ConceptReport.jsp?dictionary=NCI_Thesaurus&ns=ncit&code=C47452) (date of access: 08.05.2023).
2. O’Neil M. J. The Merck index: an encyclopedia of chemicals, drugs, and biologicals / ed. by Royal Society of Chemistry (Great Britain). 15th ed. Cambridge, UK : Royal Society of Chemistry, 2013. 416 p.
3. Fenaroli’s handbook of flavor ingredients / ed. by G. Burdock. 6th ed. Boca Raton, FL : CRC Press, 2010. 211 p.
4. Najafpour G. D. Biochemical engineering and biotechnology. Elsevier, 2007. 421 p. URL: <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-52845-2.X5000-9> (date of access: 08.05.2023).
5. Citric acid market: global industry trends, share, size, growth, opportunity and forecast 2023-2028. IMARC Group, 2023. 127 p.
6. Biotechnological production of citric acid / B. Max et al. Brazilian Journal of Microbiology. 2010. Vol. 41, no. 4. P. 862–875. URL: <https://doi.org/10.1590/s1517-83822010000400005> (date of access: 09.05.2023).
7. Бондар І.В., Гуляєв В.М. Промислова мікробіологія Харчова і агробіотехнологія: Навч. посіб. для студентів спец. 7.092901 – “Пром. біотехнологія”. Дніпродзержинськ: ДДТУ, 2004. 280 с.
8. Changes in the physiological properties and kinetics of citric acid accumulation via carbon ion irradiation mutagenesis of *Aspergillus niger* / W. Hu et al. Journal of Zhejiang University-SCIENCE B. 2016. Vol. 17, no. 4. P. 262–270. URL: <https://doi.org/10.1631/jzus.B1500120> (date of access: 09.05.2023).
9. Fermentation process for the production of citric acid: patent US3708399A United States: C12P7/48. No. 3708399; applied on 27.03.1971; published on 02.01.1973, Bulletin no. 3708399. 2 p.

<i>ДП БТ-9101.00 ПЗ</i>								
<i>Зм.</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>	<i>ПЕРЕЛІК ПОСИЛАНЬ</i>	<i>Стадія</i>	<i>Арк.</i>	<i>Аркушів</i>
<i>Разроб.</i>		<i>Бабак М.І.</i>				<i>Д</i>	<i>79</i>	<i>87</i>
<i>Конс.</i>								
<i>Керівн.</i>		<i>Фарфоломєєва Д.О.</i>						
<i>Затв.</i>								
						<i>КПІ ім. Ізгоря Сікарського ФБТ</i>		

10. Process for producing citric acid : patent US3691012A United States : C12P7/48. No. 737373 ; applied on 17.06.1968 ; published on 12.09.1972, Bulletin no. 3691012. 3 p.

11. Method for producing citric acid : patent US3799840A США : C12P7/48. No. 7232 ; applied on 30.01.1970 ; published on 26.03.1974, Bulletin no. 3671395. 5 p.

12. Patel T., Pandya H. Citric acid production fermentation process. IJARIE. 2017. Vol. 3, no. 2. P. 3983–3991.

13. Microbial production of citric acid / L. P. S. Vandenberghe et al. Brazilian Archives of Biology and Technology. 1999. Vol. 42, no. 3. P. 263–276. URL: <https://doi.org/10.1590/s1516-89131999000300001> (date of access: 10.05.2023).

14. Штамм гриба *Aspergillus niger* - продуцент лимонной кислоты : пат. RU2192460C2 Россия : C12N1/14, C12P7/48/(C12N1/14, C12R1:685). № 2000126539/13 ; заявл. 20.10.2000 ; опубли. 10.11.2002, Бюл. № 2192460. 7 с.

15. Mutation of *Aspergillus niger* for hyperproduction of citric acid from black strap molasses / Ikram-ul-Haq et al. World Journal of Microbiology and Biotechnology. 2001. Vol. 17, no. 1. P. 35–37. URL: <https://doi.org/10.1023/a:1016625130070> (date of access: 10.05.2023)

16. *Aspergillus niger*. National Center for Biotechnology Information. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?mode=info&id=5061> (date of access: 10.05.2023).

17. Abbas B. A., Alkhursan R. N., Khudor M. H. Poultry feed fungi a practical guide. Basrah : College of Veterinary Medicine, 2021. 49 p.

18. Tegelaar M., Wösten H. A. B. Functional distinction of hyphal compartments. Scientific Reports. 2017. Vol. 7, no. 1. URL: <https://doi.org/10.1038/s41598-017-06422-6> (date of access: 10.05.2023).

19. Sutton D. A., Fothergill A. W., Rinaldi M. G. Guide to Clinically Significant Fungi. Baltimore : Williams & Wilkins, 1998. 471 p.

20. Atlas of clinical fungi / G. de Hoog et al. 2nd ed. Utrecht : Centraalbureau

					<i>ДП БТ-9101.00 ПЗ</i>	Арк.
						80
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

voor Schimmelcultures, 2000. 1126 p.

21. Coinfection of Pulmonary Hydatid Cyst and Aspergilloma: Case Report and Systematic Review / M. Aliyali et al. Mycopathologia. 2015. Vol. 181, no. 3-4. P. 255–265. URL: <https://doi.org/10.1007/s11046-015-9974-2> (date of access: 10.05.2023).

22. Силантьева М. М., Сперанская Н. Ю., Соколова Л. В. Микология: лабораторные занятия, самостоятельная работа студентов : Учебное пособие по дисциплине «Ботаника». Барнаул : РИО Алтайс. ГАУ, 2015. 100 с.

23. Sclerotia formed by citric acid producing strains of *Aspergillus niger*: Induction and morphological analysis / V. Ellena et al. Fungal Biology. 2021. Vol. 125, no. 6. P. 485–494. URL: <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2021.01.008> (date of access: 10.05.2023).

24. Леонтьев Д. В., Акулов О. Ю. Загальна мікологія : Підруч. для ВНЗ. Харків : Основа, 2007. 228 с.

25. Johnston I. The composition of the cell wall of *Aspergillus niger*. Biochemical Journal. 1965. Vol. 96, no. 3. P. 651–658. URL: <https://doi.org/10.1042/bj0960651> (date of access: 12.05.2023).

26. Morphological and Cultural Characters of Fungi Isolated from Copra and Copra Oil / R. R. Nalawade et al. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences. 2019. Vol. 8, no. 09. P. 2256–2261. URL: <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2019.809> (date of access: 12.05.2023).

27. Studies on cultural and morphological characters of black mould of onion caused by *Aspergillus niger* (Van Tiegh.) / S. Pudake et al. International Journal of Chemical Studies. 2019. Vol. 7, no. 2. P. 439–442. URL: [https://www.researchgate.net/publication/333194222\\_Studies\\_on\\_cultural\\_and\\_morphological\\_characters\\_of\\_black\\_mould\\_of\\_onion\\_caused\\_by\\_Aspergillus\\_niger\\_Van\\_Tiegh](https://www.researchgate.net/publication/333194222_Studies_on_cultural_and_morphological_characters_of_black_mould_of_onion_caused_by_Aspergillus_niger_Van_Tiegh) (date of access: 12.05.2023).

28. Необычные варианты *Aspergillus* spp. в культуре / И. Рябинин та ін. Проблемы медицинской микологии. 2014. Т. 16, № 4. С. 26–31.

					<i>ДП БТ-9101.00 ПЗ</i>	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		81

29. Rocking Aspergillus: morphology-controlled cultivation of *Aspergillus niger* in a wave-mixed bioreactor for the production of secondary metabolites / T. Kurt et al. *Microbial Cell Factories*. 2018. Vol. 17, no. 1. URL: <https://doi.org/10.1186/s12934-018-0975-y> (date of access: 12.05.2023).

30. Nierman W. C., Nelson K. E. *Genomics for Applied Microbiology*. *Advances in Applied Microbiology*. 2002. P. 201–248e. URL: [https://doi.org/10.1016/s0065-2164\(02\)51007-8](https://doi.org/10.1016/s0065-2164(02)51007-8) (date of access: 12.05.2023).

31. Ленинджер А. Л. *Основы биохимии*: В 3-х т.; пер. с англ. Москва: Мир, 1985. Т. 2. 369 с.

32. Overview of citric acid production from *Aspergillus niger* / P. L. Show et al. *Frontiers in Life Science*. 2015. Vol. 8, no. 3. P. 271–283. URL: <https://doi.org/10.1080/21553769.2015.1033653> (date of access: 06.06.2023).

33. Mechanisms involved in bioleaching of an aluminosilicate by heterotrophic microorganisms / I. Rezza et al. *Process Biochemistry*. 2001. Vol. 36, no. 6. P. 495–500. URL: [https://doi.org/10.1016/s0032-9592\(00\)00164-3](https://doi.org/10.1016/s0032-9592(00)00164-3) (date of access: 12.05.2023).

34. Shedding light on *Aspergillus niger* volatile exometabolome / C. P. Costa et al. *Scientific Reports*. 2016. Vol. 6, no. 1. URL: <https://doi.org/10.1038/srep27441> (date of access: 12.05.2023).

35. Generation, annotation, and analysis of an extensive *Aspergillus niger* EST collection / N. Semova et al. *BMC Microbiology*. 2006. Vol. 6, no. 1. P. 7. URL: <https://doi.org/10.1186/1471-2180-6-7> (date of access: 12.05.2023).

36. Hocking A. D. *Aspergillus* and related teleomorphs. *Food Spoilage Microorganisms*. 2006. P. 451–487. URL: <https://doi.org/10.1533/9781845691417.4.451> (date of access: 12.05.2023).

37. Citric acid monohydrate. PubChem. URL: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/22230> (date of access: 12.05.2023).

38. ДСТУ ГОСТ 908:2006 Кислота лимонна моногідрат харчова. Технічні умови (ГОСТ 908-2004, IDT). [Чинний від 2007-01-01]. Київ, 2006.

					<i>ДП БТ-9101.00 ПЗ</i>	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		82

39. Перцев І. Кислота лимонна моногідрат. Фармацевтична енциклопедія. URL: <https://www.pharmencyclopedia.com.ua/article/3504/kislota-limonna-monogidrat> (дата звернення: 13.05.2023).

40. Біотехнологія. Вступ до фаху : Навч. посіб. / К. Г. Гаркава та ін. Київ : НАУ, 2012. 296 с.

41. Ручай Н. С., Гребенчикова И. А. Технология микробного синтеза : Электронный курс лекций для студентов специальности 1-48 02 01 «Биотехнология». Минск : БГТУ, 2014. 167 с.

42. Verfahren zur Gewinnung von Citronensäure : patent EP0151470B1 Germany : C12M29/02. Applied on 31.01.1985 ; published on 07.06.1989. 10 p.

43. Биохимия: учебник. 2 изд. / под. ред. Северин Е.В. Москва: ГЭОТАР-МЕД, 2004. 784 с.

44. Ramakrishnan C. V., Steel R., Lentz C. P. Mechanism of citric acid formation and accumulation in *Aspergillus niger*. Archives of Biochemistry and Biophysics. 1955. Vol. 55, no. 1. P. 270–273. URL: [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(55\)90564-6](https://doi.org/10.1016/0003-9861(55)90564-6) (date of acces 07.06.2023).

45. Behera B. C. Citric acid from *Aspergillus niger*: a comprehensive overview. Critical Reviews in Microbiology. 2020. Vol. 46, no. 6. P. 727–749. URL: <https://doi.org/10.1080/1040841x.2020.1828815> (date of access: 07.06.2023).

46. Siedow J. N., Umbach A. L. The mitochondrial cyanide-resistant oxidase: structural conservation amid regulatory diversity. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics. 2000. Vol. 1459, no. 2-3. P. 432–439. URL: [https://doi.org/10.1016/s0005-2728\(00\)00181-x](https://doi.org/10.1016/s0005-2728(00)00181-x) (date of access: 08.06.2023).

47. Molecular cloning of cDNA for antimycin A-inducible mRNA and its role in cyanide-resistant respiration in *Hansenula anomala* / Shigeru Sakajo et al. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Gene Structure and Expression. 1991. Vol. 1090, no. 1. P. 102–108. URL: [https://doi.org/10.1016/0167-4781\(91\)90043-1](https://doi.org/10.1016/0167-4781(91)90043-1) (date of access: 08.06.2023).

48. Oxidative stress response of filamentous fungi induced by hydrogen

					<i>ДП БТ-9101.00 ПЗ</i>	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		83

peroxide and paraquat / M. B. Angelova et al. *Mycological Research*. 2005. Vol. 109, no. 2. P. 150–158. URL: <https://doi.org/10.1017/s0953756204001352> (date of access: 08.06.2023).

49. Li Q., Harvey L. M., McNeil B. Oxidative stress in industrial fungi. *Critical Reviews in Biotechnology*. 2009. Vol. 29, no. 3. P. 199–213. URL: <https://doi.org/10.1080/07388550903004795> (date of access: 08.06.2023).

50. Functional analysis of the mitochondrial alternative oxidase gene (aox1) from *Aspergillus niger* CGMCC 10142 and its effects on citric acid production / L. Hou et al. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2018. Vol. 102, no. 18. P. 7981–7995. URL: <https://doi.org/10.1007/s00253-018-9197-9> (date of access: 08.06.2023).

51. Papagianni M. Advances in citric acid fermentation by *Aspergillus niger*: Biochemical aspects, membrane transport and modeling. *Biotechnology Advances*. 2007. Vol. 25, no. 3. P. 244–263. URL: <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2007.01.002> (date of access: 08.06.2023).

52. Comparative genomics of citric-acid-producing *Aspergillus niger* ATCC 1015 versus enzyme-producing CBS 513.88 / M. R. Andersen et al. *Genome Research*. 2011. Vol. 21, no. 6. P. 885–897. URL: <https://doi.org/10.1101/gr.112169.110> (date of access: 15.05.2023).

53. Baker S. E. *Aspergillus niger* genomics: Past, present and into the future. *Medical Mycology*. 2006. Vol. 44, s1. P. 17–21. URL: <https://doi.org/10.1080/13693780600921037> (date of access: 07.06.2023).

54. Genetic maps of eight linkage groups of *Aspergillus niger* based on mitotic mapping / F. Debets et al. *Current Genetics*. 1993. Vol. 23, no. 1. P. 47–53. URL: <https://doi.org/10.1007/bf00336749> (date of access: 16.05.2023).

55. Identification of a Classical Mutant in the Industrial Host *Aspergillus niger* by Systems Genetics: LaeA Is Required for Citric Acid Production and Regulates the Formation of Some Secondary Metabolites / J. Niu et al. *G3*. 2015. Vol. 6, no. 1. P. 193–204. URL: <https://doi.org/10.1534/g3.115.024067> (date of access: 16.05.2023).

56. Engineering a Phosphoketolase Pathway to Supplement Cytosolic Acetyl-

					<i>ДП БТ-9101.00 ПЗ</i>	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		84

CoA in *Aspergillus niger* Enables a Significant Increase in Citric Acid Production / J. Liu et al. Journal of Fungi. 2023. Vol. 9, no. 5. P. 504. URL: <https://doi.org/10.3390/jof9050504> (date of access: 16.05.2023).

57. Islam M. S., Begum R., Choudhury N. Semi-pilot scale studies on citric acid fermentation by a gamma-ray induced mutant of *Aspergillus niger*. Biotechnology Letters. 1984. Vol. 6, no. 7. P. 431–434. URL: <https://doi.org/10.1007/bf00129304> (date of access: 16.05.2023)

58. Effect of Gamma-Ray Induced Mutant Strains of *Aspergillus niger* on Citric Acid Fermentation Using Molasses and Jackfruit Based Medium / M. K. Munshi et al. Academic Journal of Nutrition. 2012. Vol. 1, no. 3. P. 19–24. URL: <https://doi.org/10.5829/idosi.aj.n.2012.1.3.7191> (date of access: 17.05.2023).

59. Strain Improvement Through UV and Chemical Mutagenesis for Enhanced Citric Acid Production in Molasses-Based Solid State Fermentation / S. Javed et al. Food Biotechnology. 2010. Vol. 24, no. 2. P. 165–179. URL: <https://doi.org/10.1080/08905436.2010.482014> (date of access: 17.05.2023).

60. Improvement in citric acid production by haploidization of *Aspergillus niger* diploid strains / K. Kirimura et al. Journal of Fermentation Technology. 1988. Vol. 66, no. 4. P. 375–382. URL: [https://doi.org/10.1016/0385-6380\(88\)90002-7](https://doi.org/10.1016/0385-6380(88)90002-7) (date of access: 17.05.2023).

61. Kirimura K., Yaguchi T., Usami S. Intraspecific protoplast fusion of citric acid-producing strains of *Aspergillus niger*. Journal of Fermentation Technology. 1986. Vol. 64, no. 6. P. 473–479. URL: [https://doi.org/10.1016/0385-6380\(86\)90069-5](https://doi.org/10.1016/0385-6380(86)90069-5) (date of access 17.05.2023).

62. Штамм гриба *Aspergillus niger* - продуцент лимонной кислоты : пат. RU 2088658 Росія : С12N1/14. № 95116715/13 ; заявл. 27.09.1995 ; опубл. 27.08.1997. 7 с.

63. Поліщук В. Ю. Розробка технології виробництва рибофлавіну і ефірної олії, що продукуються *Eremothecium ashbyi* Guill: Thesis Doctoral. 2018. 177 с. URL: <https://ela.kpi.ua/handle/123456789/23301>.

					<i>ДП БТ-9101.00 ПЗ</i>	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		85

64. Тодосійчук С.Р. Біотехнологія солоду та ферментних препаратів: Курс лекцій для студ. спец. 6.091700 “Технологія бродильних виробництв і виноробства” ден. та заоч. форм навчання. – К.: НУХТ, 2008. 90 с.

65. Пономарева О. И., Черныш В. Г. Микробиология производства хлебопекарных дрожжей : Учеб. пособие. Санкт-Петербург : СПбГУНиПТ, 2009. 200 с.

66. Калунянц К.А., Голгер Л.И., Балашов В.Е. Оборудование микробиологических производств. Учебник и учебное пособие, - М.: Агропромиздат, 1987. 398 с.

67. Воробьева Л. И. Промышленная микробиология : Учеб, пособие. Москва : МГУ, 1989. 294 с.

68. Мосичев М.С. Общая технология микробиологических производств / Мосичев М.С., Складнев А.А., Котов В.Б. // Легкая и пищевая пром.-сть. – М., 1982. 264 с.

69. Апаратурні схеми фармацевтичних та біотехнологічних виробництв. порядок складання та вимоги до оформлення : Посібник / Л. Ружинська та ін. Київ : НТУУ «КПІ», 2012. 139 с.

70. Банных О.П. Основные конструкции и тепловой расчет теплообменников. Учебное пособие. СПбНИУ ИТМО, 2012. – 42 с.

71. Касаткин А.Г. Основные процессы и аппараты химической технологии. М.: Химия, 1973., - 752 с.

72. Гальперин Н. И. Основные процессы и аппараты химической технологии. В двух книгах.—М.: Химия, 1981.— 812 с.

73. ТУ 3612-014-00220302-99 «Теплообменник труба в трубе».

74. ГОСТ 5632-2014 Нержавеющие стали и сплавы коррозионно-стойкие, жаростойкие и жаропрочные.

75. Новаковская С.С., Шишацкий Ю.И. Справочник по производству хлебопекарных дрожжей. М.: Пищевая промышленность, 1980. — 375 с.

76. Павлов К.Ф., Романков П.Г., Носков В.Н. Примеры и задачи по курсу

					<i>ДП БТ-9101.00 ПЗ</i>	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		86

процессов и аппаратов химической технологии. – Л.: Химия, 1987. – 576 с.

77. Методичні вказівки до виконання курсового проекту на тему: «Розрахунок двотрубного теплообмінника-підігрівача випарної установки» з курсу «Процеси та апарати хімічних виробництв» для студентів III–V курсів усіх спеціальностей і форм навчання / Укл.: Смірнова О.С., Черемисінова А.О., Опарін С.О. – Д.: ДВНЗ УДХТУ, 2014. – 31 с.

78. Бухмиров В. В. РАСЧЕТ КОЭФФИЦИЕНТА КОНВЕКТИВНОЙ ТЕПЛООТДАЧИ (основные критериальные уравнения) / В. В. Бухмиров. – Иваново: ИГЭУ им. В.И. Ленина, 2007. – 39 с.

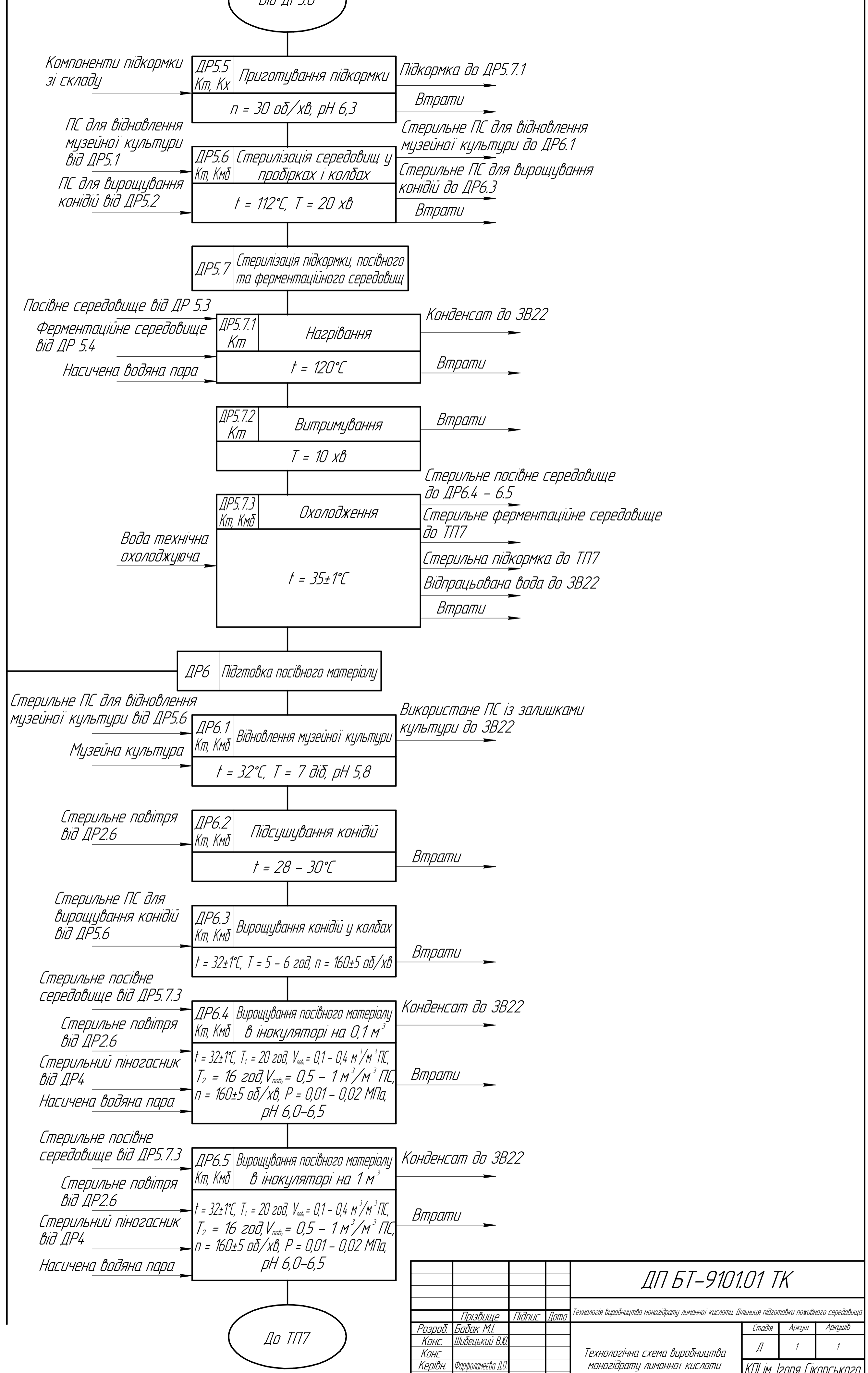
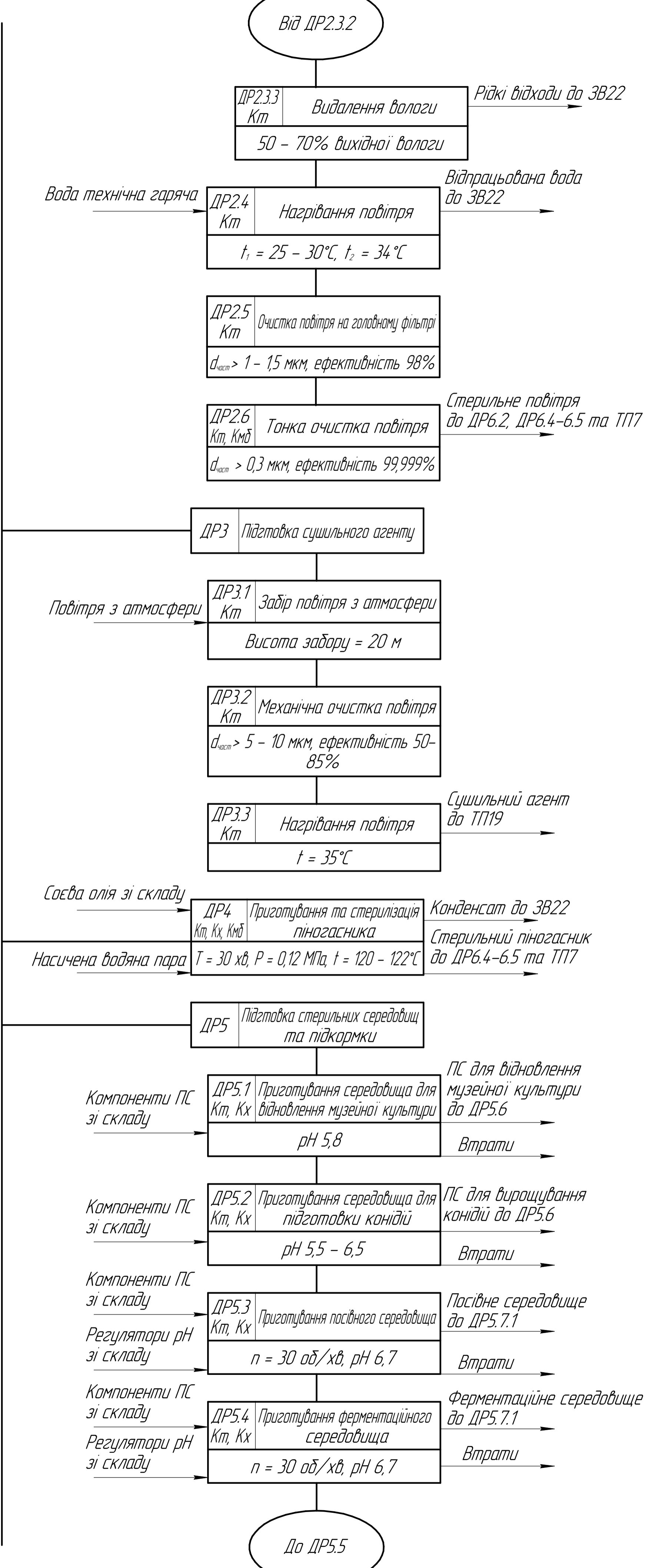
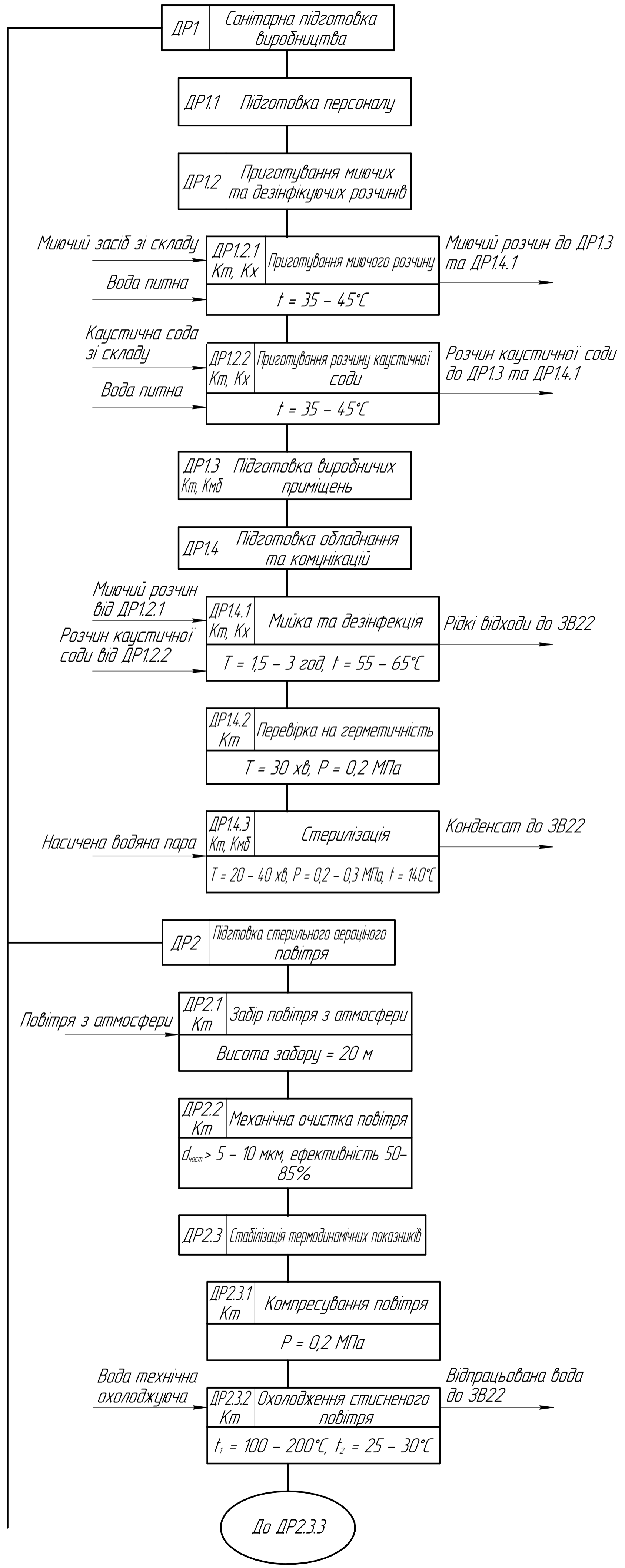
79. Основные процессы и аппараты химической технологии: Пособие по проектированию / Под ред. Ю.И. Дытнерского. М.: Химия, 1982. - 772 с.

80. Иоффе И.Л. Проектирование процессов и аппаратов химической технологии. Учебник для техникумов. Л.: Химия, 1991. - 352 с.

81. АТК-РЭ-2013. Аппараты теплообменные кожухотрубчатые и теплообменники «труба в трубе», выпускаемые по ТУ 3612-005-00220302, ТУ 3644-006-00220302, ТУ 3612-007-00220302, ту 3612-013-00220302, ТУ 3612-014-00220302, ТУ 3612-023-00220302, ту 3612-024-00220302, ТУ 3612-100-00220302. Руководство по эксплуатации.

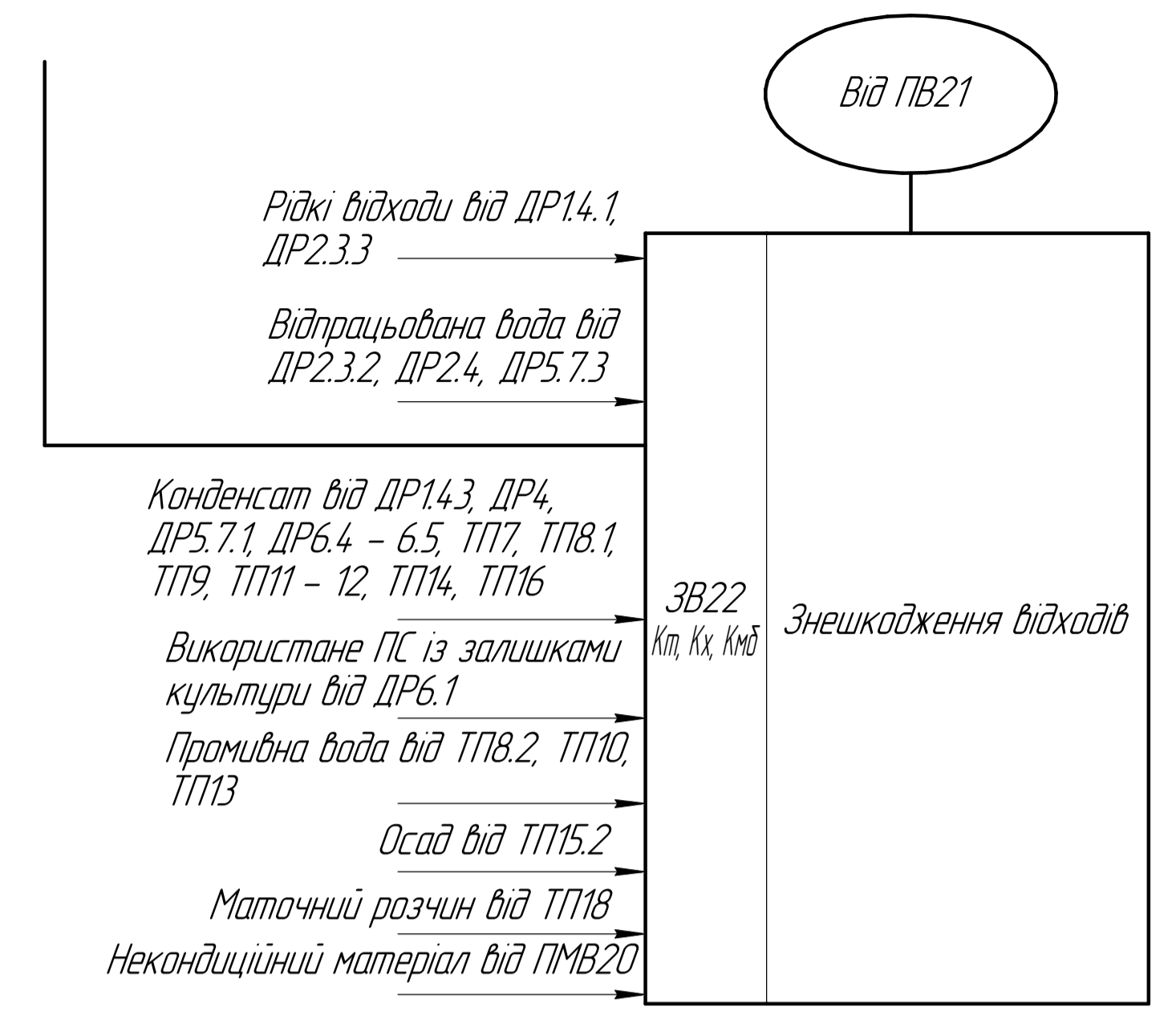
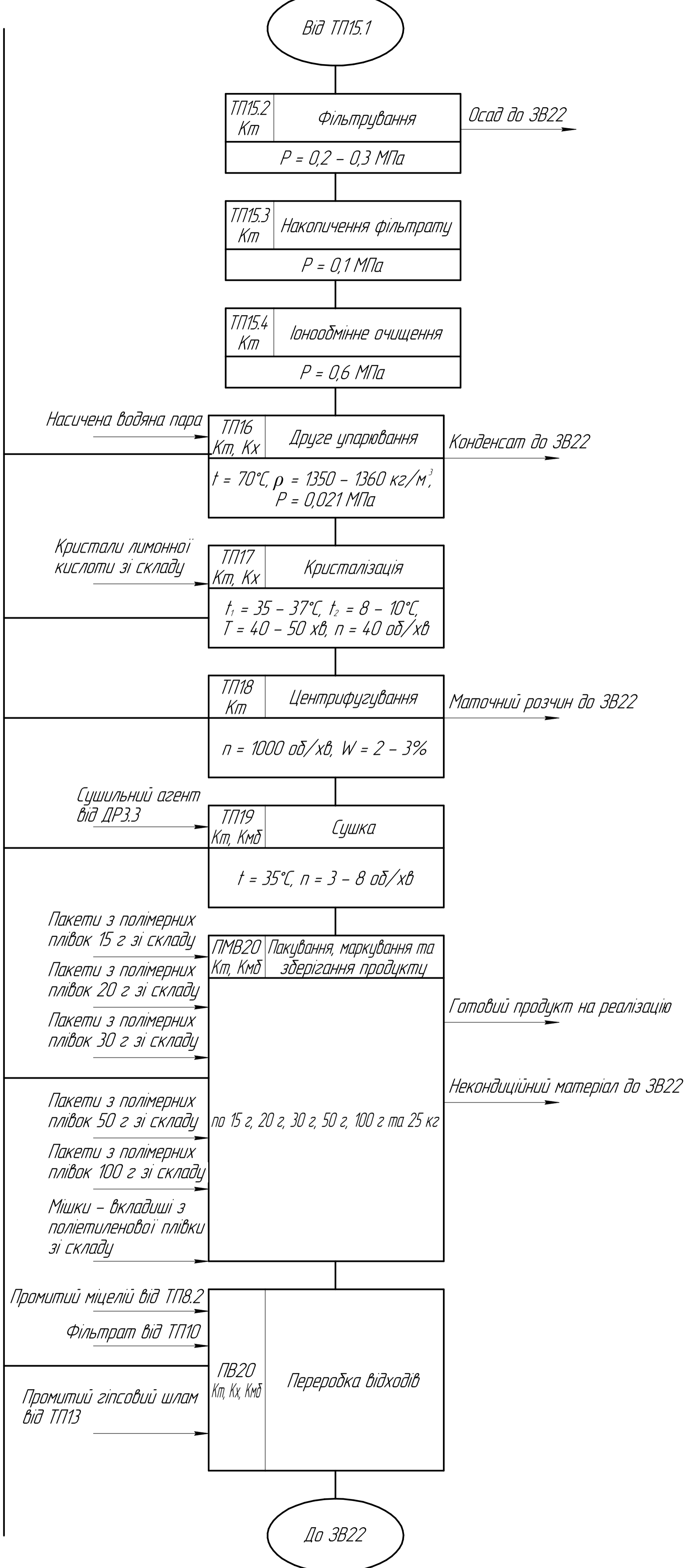
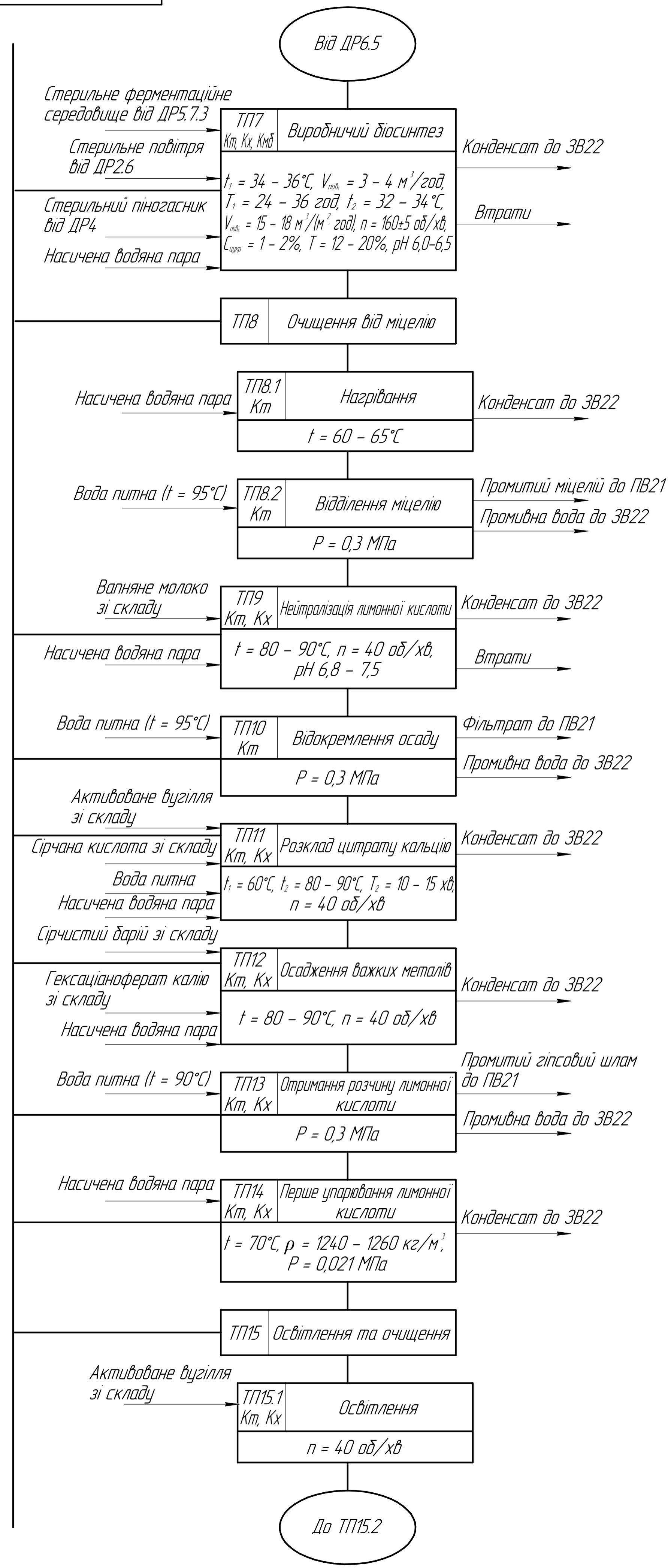
82. Жуковина О.В, Грецька Г.А. Стічні води. URL: <https://www.pharmencyclopedia.com.ua/article/654/stichni-vodi> (дата звернення 29.04.2023).

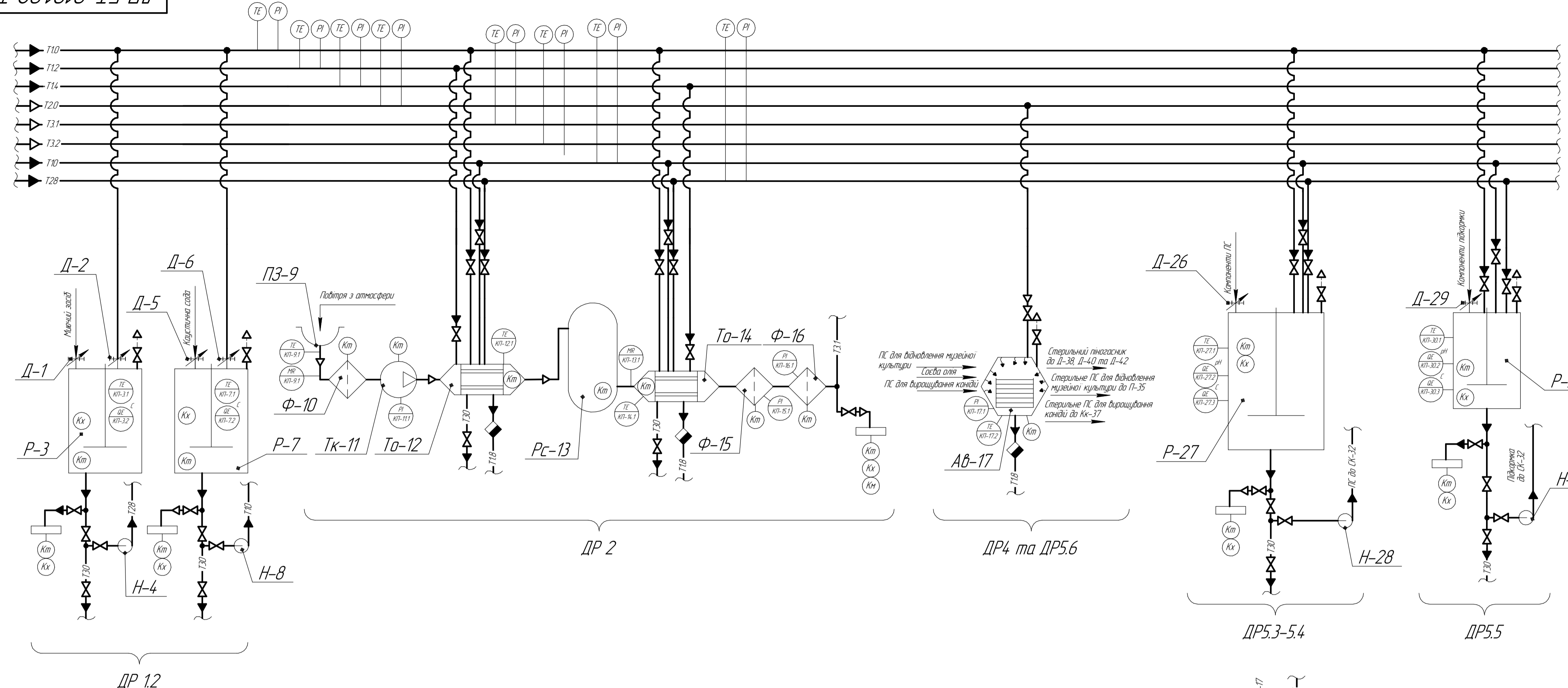
					<i>ДП БТ-9101.00 ПЗ</i>	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		87



Лист. № 1  
Лист. № 2  
Лист. № 3  
Лист. № 4  
Лист. № 5  
Лист. № 6  
Лист. № 7  
Лист. № 8  
Лист. № 9  
Лист. № 10  
Лист. № 11  
Лист. № 12  
Лист. № 13  
Лист. № 14  
Лист. № 15  
Лист. № 16  
Лист. № 17  
Лист. № 18  
Лист. № 19  
Лист. № 20  
Лист. № 21  
Лист. № 22  
Лист. № 23  
Лист. № 24  
Лист. № 25  
Лист. № 26  
Лист. № 27  
Лист. № 28  
Лист. № 29  
Лист. № 30  
Лист. № 31  
Лист. № 32  
Лист. № 33  
Лист. № 34  
Лист. № 35  
Лист. № 36  
Лист. № 37  
Лист. № 38  
Лист. № 39  
Лист. № 40  
Лист. № 41  
Лист. № 42  
Лист. № 43  
Лист. № 44  
Лист. № 45  
Лист. № 46  
Лист. № 47  
Лист. № 48  
Лист. № 49  
Лист. № 50  
Лист. № 51  
Лист. № 52  
Лист. № 53  
Лист. № 54  
Лист. № 55  
Лист. № 56  
Лист. № 57  
Лист. № 58  
Лист. № 59  
Лист. № 60  
Лист. № 61  
Лист. № 62  
Лист. № 63  
Лист. № 64  
Лист. № 65  
Лист. № 66  
Лист. № 67  
Лист. № 68  
Лист. № 69  
Лист. № 70  
Лист. № 71  
Лист. № 72  
Лист. № 73  
Лист. № 74  
Лист. № 75  
Лист. № 76  
Лист. № 77  
Лист. № 78  
Лист. № 79  
Лист. № 80  
Лист. № 81  
Лист. № 82  
Лист. № 83  
Лист. № 84  
Лист. № 85  
Лист. № 86  
Лист. № 87  
Лист. № 88  
Лист. № 89  
Лист. № 90  
Лист. № 91  
Лист. № 92  
Лист. № 93  
Лист. № 94  
Лист. № 95  
Лист. № 96  
Лист. № 97  
Лист. № 98  
Лист. № 99  
Лист. № 100

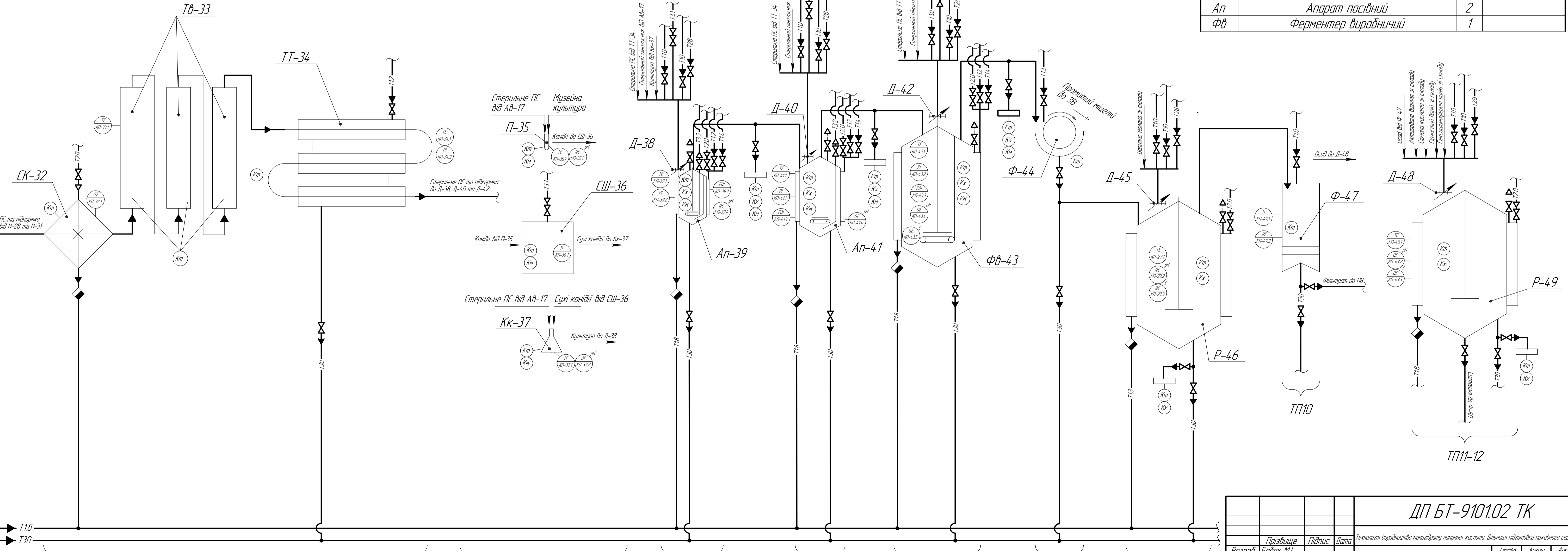
<b>ДП БТ-9101.01 ТК</b>		
<small>Технологія виробництва монограту лимонної кислоти шляхом підготовки поживного середовища</small>		
Прізвище	Підпис	Дата
Розроб. Конс. Керівн. Затв.	Баджак М.І. Шибельський В.В. Фарафонецька Д.Д.	
Статус	Архив	Архив
Д	1	1
Технологічна схема виробництва монограту лимонної кислоти		
КПІ ім. Ігоря Сікорського ФБТ		
Копіював		
Формат А1		





Умовне позначення		Найменування середовища в трубопроводі
Літерне	Графічне	
T10	→ T10 →	Вода питна
T12	→ T12 →	Вода технічна холодна
T14	→ T14 →	Вода технічна гаряча
T18	→ T18 →	Конденсат
T20	→ T20 →	Насичена водяна пара
T31	→ T31 →	Повітря стерильне
T32	→ T32 →	Повітря відпрацьоване
T10	→ T10 →	Розчин каустичної соди
T28	→ T28 →	Мийний засіб
T30	→ T30 →	Відходи рідики

Позначення позиції	Найменування	Кільк.	Примітки
ПЗ	Повітрязбірник	1	
Ф	Фільтр	5	
АВ	Автомат	1	
Тк	Турбокомпресор	1	
То	Теплообмінник кожухотрубний	2	
Рс	Ресивер	1	
Р	Реактор для змішування	6	
Д	Дозатор	11	
Н	Насос	4	
СК	Стерилізаційна колона	1	
ТВ	Теплообмінник-витримувач	1	
ТТ	Теплообмінник типу "труда в труді"	1	
П	Продірка	10	
СШ	Сушільна шафа	1	
Кк	Колба конічна	9	
Ап	Апарат посівний	2	
ФВ	Ферментер виробничий	1	



**ДП БТ-910102 ТК**

Розроб	Бадак М.І.	Підпис	Дата	Технологія виробництва моногідрату лимонної кислоти. Дільниця підготовки технічного середовища		
Конс.	Шибельський В.Ю.	Архив		Статус	Архив	Архив
Керівн.	Фарголюк О.В.	Д	1	Апаратурна схема виробництва моногідрату лимонної кислоти		
Затв.		КПІ ім. Ігоря Сікорського	ФБТ	Формат А1		

Копіював

Лист № 1

Лист № 2

Лист № 3

Лист № 4

Лист № 5

Лист № 6

Лист № 7

Лист № 8

Лист № 9

Лист № 10

Лист № 11

Лист № 12

Лист № 13

Лист № 14

Лист № 15

Лист № 16

Лист № 17

Лист № 18

Лист № 19

Лист № 20

Лист № 21

Лист № 22

Лист № 23

Лист № 24

Лист № 25

Лист № 26

Лист № 27

Лист № 28

Лист № 29

Лист № 30

Лист № 31

Лист № 32

Лист № 33

Лист № 34

Лист № 35

Лист № 36

Лист № 37

Лист № 38

Лист № 39

Лист № 40

Лист № 41

Лист № 42

Лист № 43

Лист № 44

Лист № 45

Лист № 46

Лист № 47

Лист № 48

Лист № 49

Лист № 50

Лист № 51

Лист № 52

Лист № 53

Лист № 54

Лист № 55

Лист № 56

Лист № 57

Лист № 58

Лист № 59

Лист № 60

Лист № 61

Лист № 62

Лист № 63

Лист № 64

Лист № 65

Лист № 66

Лист № 67

Лист № 68

Лист № 69

Лист № 70

Лист № 71

Лист № 72

Лист № 73

Лист № 74

Лист № 75

Лист № 76

Лист № 77

Лист № 78

Лист № 79

Лист № 80

Лист № 81

Лист № 82

Лист № 83

Лист № 84

Лист № 85

Лист № 86

Лист № 87

Лист № 88

Лист № 89

Лист № 90

Лист № 91

Лист № 92

Лист № 93

Лист № 94

Лист № 95

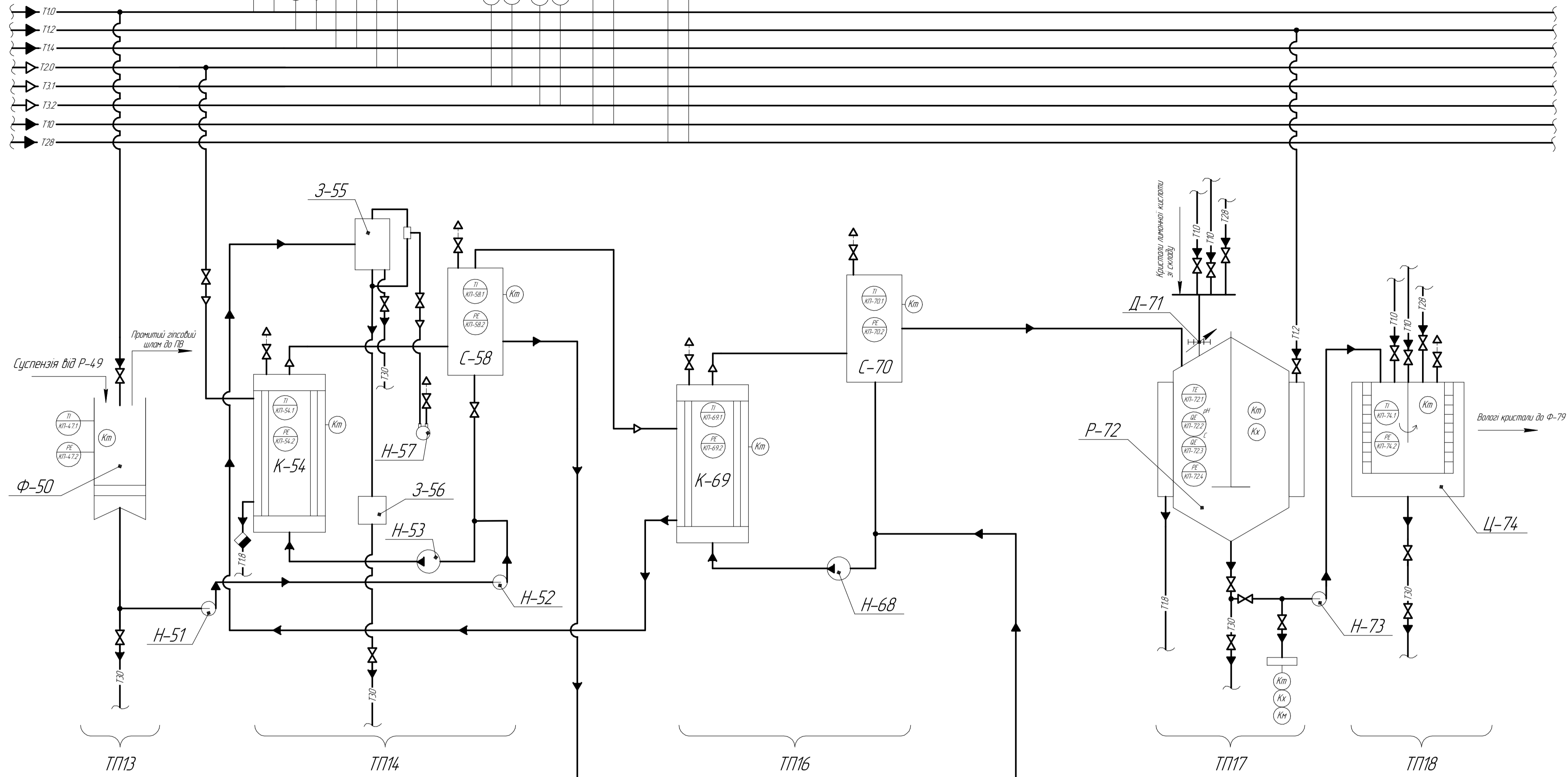
Лист № 96

Лист № 97

Лист № 98

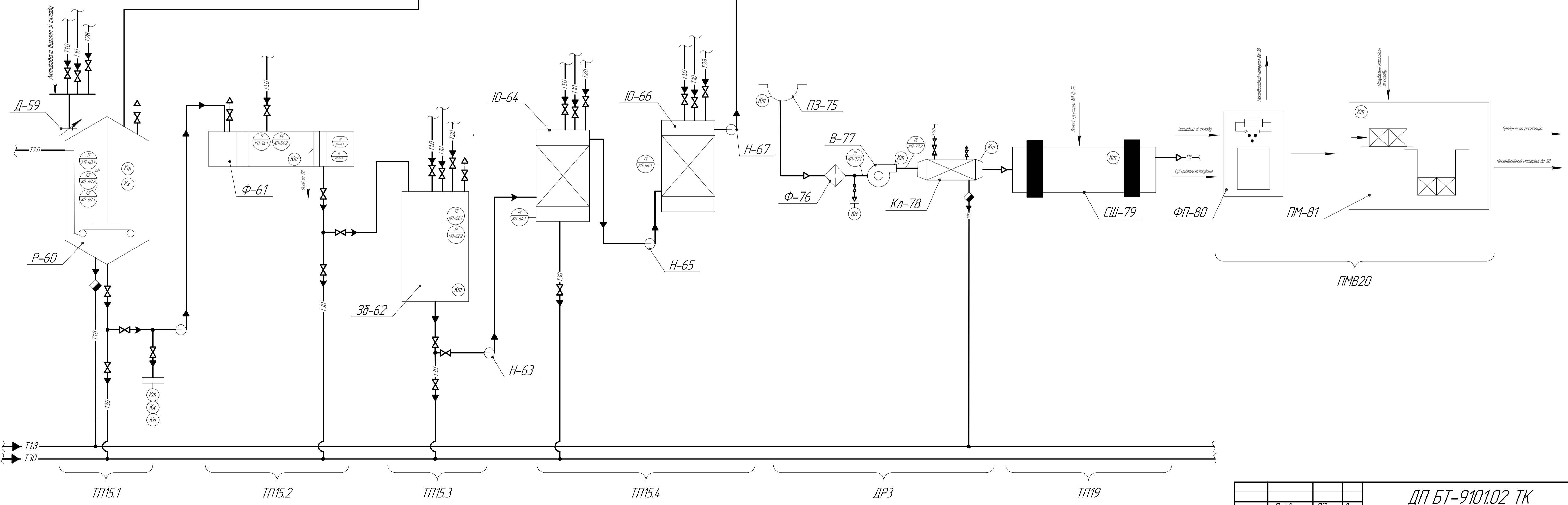
Лист № 99

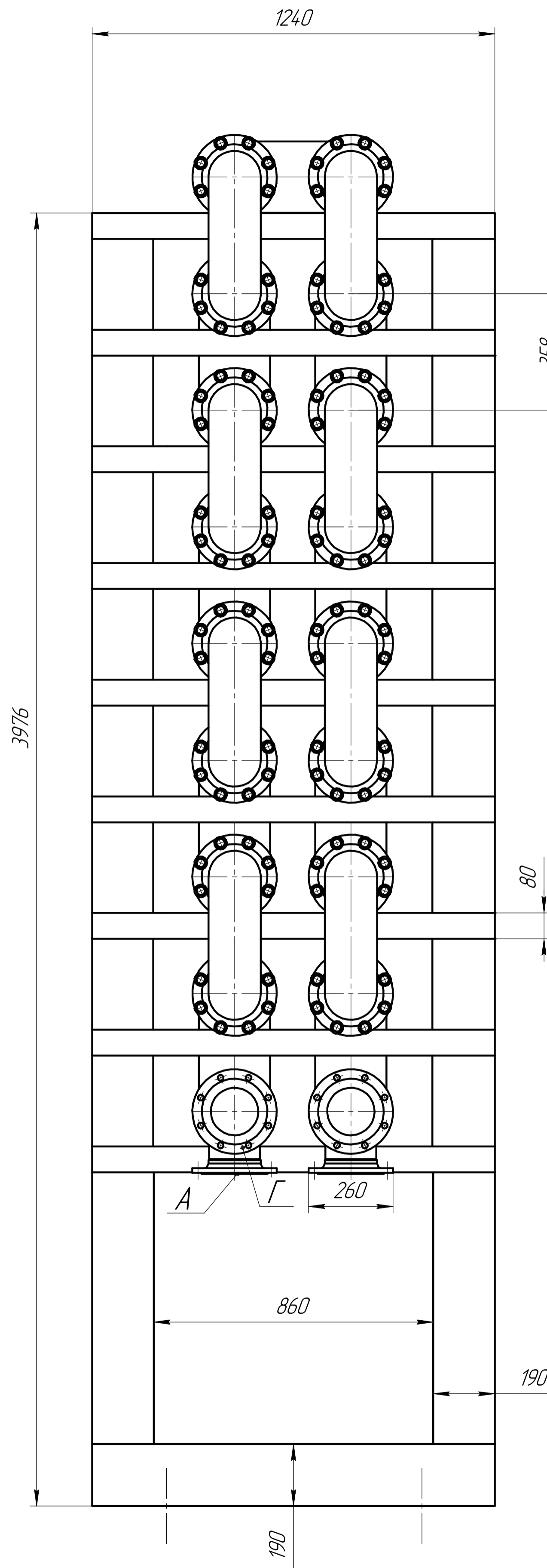
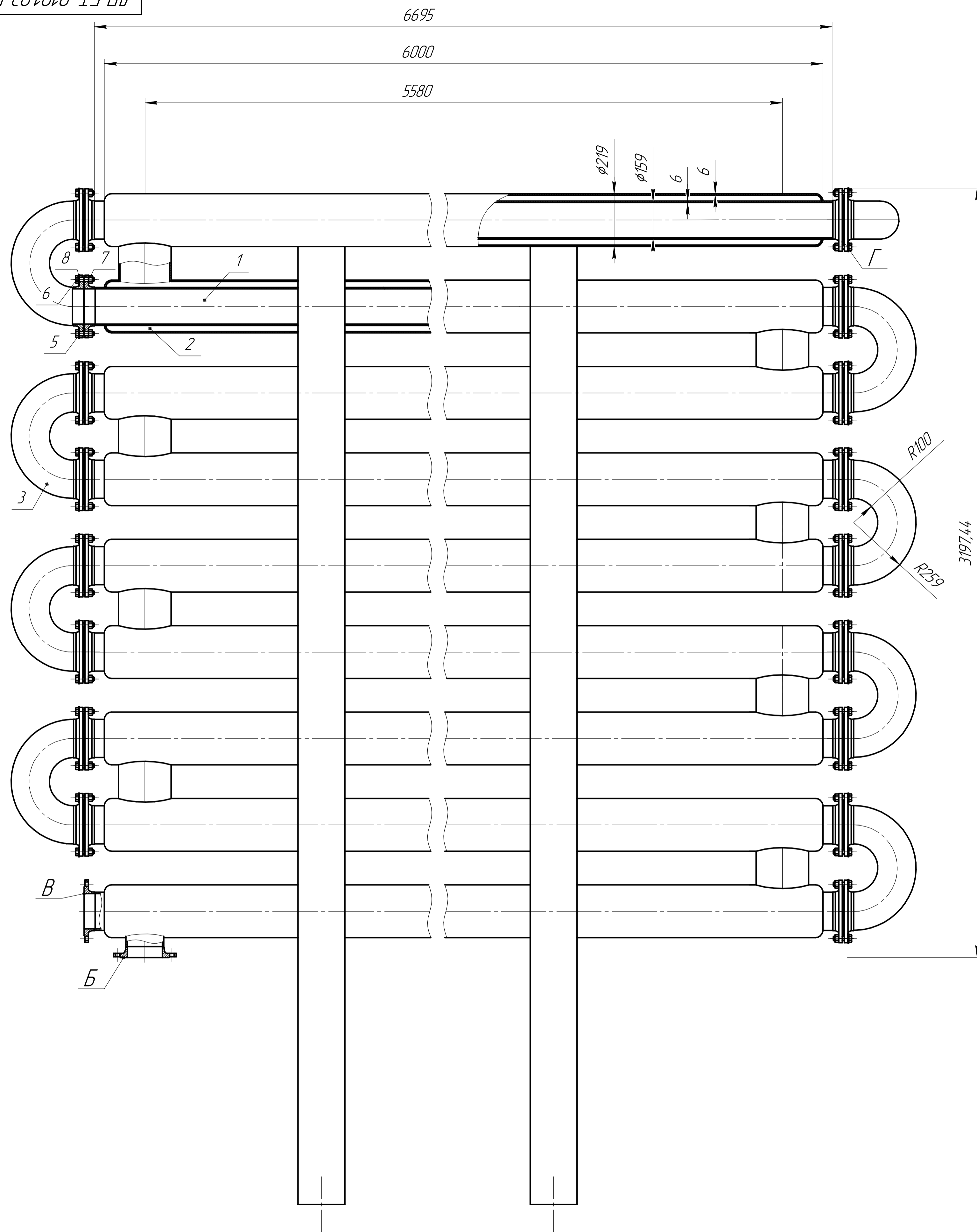
Лист № 100



Умовне позначення		Найменування середовища в трубопроводі
Літерне	Графічне	
T10	→ T10 →	Вода питна
T12	→ T12 →	Вода технічна холодна
T14	→ T14 →	Вода технічна гаряча
T18	→ T18 →	Конденсат
T20	→ T20 →	Насичена водяна пара
T31	→ T31 →	Повітря стерильне
T32	→ T32 →	Повітря відпрацьоване
T10	→ T10 →	Розчин каустичної соди
T28	→ T28 →	Мийний засіб
T30	→ T30 →	Відходи рідкі

Позначення позиції	Найменування	Кільк.	Примітки
ПЗ	Повітряздірник	1	
Ф	Фільтр	3	
К, С	Корпус вакуум-випарної установки	2	
З	Барометричний конденсатор	1	
З	Барометричний ящик	1	
ЗД	Здірник	1	
Ю	Катіонітна іонообмінна колона	1	
Ю	Аніонітна іонообмінна колона	1	
Д	Дозатор	1	
Н	Насос	8	
Ц	Центрифуга	1	
В	Вентилятор	1	
Кл	Калорифер	1	
СШ	Сушарка	1	
ФП	Фасувальна машина	1	
ПМ	Пакувальна машина	1	





Таблиця штуцерів

поз.	Найменування	Кільк.	Ду, мм	Р <sub>у</sub> , МПа
А	Вхід води	1	65	0,6
Б	Вихід води	1	65	0,6
В	Вхід м'яса	1	32	0,6
Г	Вихід м'яса	1	32	0,6

Технічна характеристика

Показники	Труд. простір	
	М'яса	Вода
Найменування	М'яса	Вода
Токсичність	Нетоксичне	Нетоксичне
Вибухонебезпечність	Безпечне	Безпечне
Агресивність	Неагресивне	Неагресивне
Температура С <sup>0</sup>	120 <sup>0</sup> (на вході)	18 <sup>0</sup> (на вході)
	35 <sup>0</sup> (на виході)	87 <sup>0</sup> (на виході)
Робочий тиск, МПа	0,6	
Площа поверхні, м <sup>2</sup>	49,591	
Габаритні розміри, мм:		
- діаметр теплообмінних труб	159x6	
- діаметр кожухових труб	219x6	
- довжина теплообмінних труб	6000	

Технічні вимоги:

- При виготовленні, виробуванні та поставці апарату повинні виконуватися такі вимоги:
  - ГОСТ 12.2.003-74 "Обладнання виробництва. Загальні вимоги";
  - ОСТ 26-291 "Ємності і апарати сталеві зварені. Технічні вимоги".
- Матеріал апарату сталь марки 08Х18Н10Т.
- Апарат виробляють на міцність гідравлічно під тиском Р=0,9 МПа для теплообмінних і кожухових труб.
- Зварні шви повинні відповідати вимогам ОН-26-01-71-68 "Зварка в хімічному машинобудуванні".
- Креслення розроблене на основі ТУ 3612-014-00220302-99

Позначення	Найменування	Кількість	Найменування та марка матеріалу	Додаткові вказівки
1	Теплообмінна труба	18		
2	Кожухова труба	18		
3	Калач	17		
4	Фланець 1-150-6 ГОСТ 12821-80	68	Сталь 06ХН28МДТ Ду=150мм	
5	Прокладка А-150-63 ГОСТ 15180-86	34	Гума	
6	Болт М18-6х65 ГОСТ 7798-70	272	Ст. 20	
7	Гайка М18-6Н ГОСТ 5915-70	272	Сталь 40Х	
8	Шайба 18 ГОСТ 22355-77	272	Ст. 20	

ДП БТ-910103 КА

Технологія виробництва моногидрату лимонної кислоти. Дільниця підготовки газового середовища

Прозвіще	Підпис	Дата	Стор.	Аркш.	Аркшів
Разроб. Бадж М.І.			Д	1	1
Конс. Шибельскій В.Ю.			КПІ ім. Ігоря Сікорського ФБТ		
Конс. Керівн. Фарфалеско Д.Д.					
Затв.					

Креслення загального виду Теплообмінник типу "труба в трубі"

Формат А1