**Вступ**

Білки є обов'язковими компонентами клітин будь-якого живого організму, що виконують життєво важливі функції: каталітичний, регуляторний, транспортний, біоенергетичні, захист від інфекції й дії стресових факторів, структурні, запасні й інші. У вегетативній масі рослин на частку білків доводиться 5 – 15 % сухої речовини, у зерні - 8 – 18 %. У різних тканинах організму людини й тварин зміст білків звичайно від 20 до 80 % їхньої сухої маси, що становить у середньому 40 – 50 %.

Для утворення клітин і тканин організму, а також підтримка його життєвих функцій повинен здійснюватися постійний синтез структурних й інших форм білків. До складу білків входять 20 амінокислот і два аміди (аспарагін і глютамін).

Головними джерелами незамінних амінокислот для людини є білки тваринного або рослинного походження, що входять до складу їжі, а для с/г тварин - головним чином рослинні білки. Вступники з їжею або кормом білкові речовини під дією ферментів шлункового соку гідролізуються до амінокислот, які потім використаються для утворення білкових молекул людського організму.

Всі незамінні амінокислоти повинні втримуватися в білках їжі в певних співвідношеннях. Якщо хоча б одна амінокислота втримується в недоліку, то інші амінокислоти, опинившись в надлишку, не використаються для синтезу білків. У таких умовах буде потрібно додаткова кількість харчового або кормового білка.

З метою запобігання перевитрати кормів необхідно контролювати збалансованість білків корму по змісту незамінних амінокислот і загальна кількість білка в кормі. Кормові й харчові білки, що мають оптимальний зміст незамінних амінокислот, називають біологічно повноцінними білками.

Біологічна цінність більшості тваринних білків становить 90 – 95 %, білків вегетативної маси бобових трав - 80 – 90 %, білків овочів, трав'янистих рослин, насіння олійних культур - 75 – 85 %, злакових культур - 60 – 70 %, кукурудза - 52 – 58 %.

Найбільш збалансований зміст незамінних амінокислот мають білки насіння сої. У них бракує до еталона тільки метіоніну й триптофану. Відносно високу біологічну цінність мають також білки зерна рису й гороху. У білках зерна пшениці і ячменя дуже мало втримується лізина, метіоніну й ізолейцину, а в білках зерна кукурудзи ще й триптофану. Внаслідок того, що білки сої добре збалансовані по амінокислотному складі і їхній зміст у насінні досягає 35 - 40%, ця культура має важливе значення як найдешевше джерело харчового й кормового білка.

Зернові культури становлять велику питому вагу в структурі кормо виробництва нашої країни. У середньому на частку зернових доводиться близько 50 % від загальної кількості кормового білка. З метою балансування кормів, що включають як основний компонент зерно злакових культур, по білку й незамінних амінокислотах звичайно застосовують концентровані білкові добавки, називані комбікормами.

Високою інтенсивністю синтезу білків відрізняються багато мікроорганізмів, причому білки мікробних клітин мають підвищений зміст незамінних амінокислот. Мікроорганізми як джерела кормового білка мають ряд переваг у порівнянні з рослинними й навіть тваринними організмами. Вони відрізняються високим (до 60 % сухої маси) і стійким змістом білків.

При використанні мікроорганізмів на обмеженій площі можна організувати промислове виробництво й одержувати більшу кількість кормових концентратів у будь-який час року, причому мікробні клітини здатні синтезувати білки з відходів сільського господарства й промисловості й, таким чином, дозволяють одночасно вирішувати іншу важливу проблему - утилізацію цих відходів з метою охорони навколишнього середовища.

Мікроорганізми мають ще одну коштовну перевагу - здатність дуже швидко нарощувати білкову масу. Як джерела кормового білка найбільше часто використають різні види дріжджів і бактерій, мікроскопічні гриби, одноклітинні водорості, білкові коагуляти трав'янистих рослин. Головною характеристикою біологічної (живильної) цінності білка є збалансованість його амінокислотного складу. Для характеристики збалансованості амінокислотного складу білків Всесвітня організація охорони здоров'я рекомендує прийняти в якості еталонного амінокислотний склад білків курячих яєць або жіночого молока.

Для оцінки білків використається показник відносини незамінної амінокислоти до загальної кількості незамінних амінокислот у білку. Відношення виражається у відсотках від відповідного відношення для даної амінокислоти в еталонному білку і є показником швидка амінокислоти. Найменша величина з отриманих показників швидка характеризує живильну цінність білків продукту. Амінокислота, що має найменший показник швидка, називається першою амінокислотою, що лімітує, даного продукту. Амінокислота, швидкий якої найбільш близький до скору першої амінокислоти, що лімітує, називається другою амінокислотою, що лімітує. Живильна цінність багатьох білків тваринного походження наближається до еталона, а живильна цінність рослинних білків виявляється нижче. Так, білок пшениці має швидкий усього близько 50 %. Білки злаків взагалі характеризуються низьким змістом лізину.

Білкова цінність кормових і харчових продуктів, що складаються в основному зі злаків, може бути підвищена додаванням до них біомаси мікроорганізмів, що містить багато білка й лізину, - 1-й амінокислоти, що лімітує, у білках злаків.

Перетравлюємість біомаси дріжджів в організмі тварин і людини звичайно становить 80 – 90 %. Перетравлюємість білка яєць, молока, м'яса й риби близька до 100 %, а багатьох рослинних білків - близько 80 %.

Вхідні до складу білка амінокислоти засвоюються краще, ніж вільні амінокислоти, що додають у корм.

**1. Білки – життєво важливі компоненти клітин живого організму**

**1.1 Сировина та середовища для культивування**

1.1.1 Кормові дріжджі

Дріжджі вперше стали використати як джерело білка для людини й тварин у Німеччині під час першої світової війни. Була розроблена промислова технологія культивування пивних дріжджів.

Як вихідна сировина для одержання кормового білка звичайно використаються відходи целюлозної й деревопереробної промисловості, солома, бавовняна лушпайка, кошики соняшника, лляна багаття, стрижні кукурудзяних качанів, бурячна меласса, картопляна мезга, виноградні вижимки, пивна дробина, верхівковий мало розкладений торф, барда спиртових виробництв, відходи кондитерській і молочної промисловості.

Здрібнена рослинна сировина, що містить велика кількість клітковини, геміцеллюлоз, пентозанов, піддають кислотному гідролізу при підвищеному тиску й температурі. У результаті 60 – 65 % в них полісахаридів гідролізуються до моносахаридів. Отриманий гідролізат відокремлюють від лігніну. Надлишок кислоти, застосовуваної для гідролізу, нейтралізують вапняним молоком або аміачною водою. Після охолодження й відстоювання в гідролізат додають мінеральні солі, вітаміни й інші речовини, необхідні для життєдіяльності мікроорганізмів. Отриману в такий спосіб живильне подавати середовище у ферментерний цех, де вирощують дріжджі.

Для культивування на гідролізатах рослинних відходів найбільш ефективні дріжджі пологів Candida, Torulopsis, Saccharomyces, які використають як джерело вуглецю гексози, пентози й органічної кислоти.

Для одержання кормових дріжджів застосовують технологію із глибинного вирощування в спеціальних апаратах - ферментерах, у яких забезпечується режим постійного перемішування суспензії мікробних клітин у рідкому живильному й з оптимальні умови аерації. З метою підтримки заданого температурного режиму в конструкції ферментера передбачається система відводу надлишкового тепла. Робочий цикл вирощування культури дріжджів триває близько 20 годин. По закінченні робочого циклу культуральна рідина разом із суспендированними в ній клітинами дріжджів виводиться з ферментера, а в нього знову подається живильний субстрат і культура дріжджових клітин для вирощування.

Виведену з ферментера суспензію мікробних клітин подають на флотаційну установку, за допомогою якої відокремлюють біомасу дріжджів від культуральної рідини. У процесі флотації суспензія спінюється, при цьому мікробні клітини спливають на поверхню разом з піною, що відокремлюється від рідкої фази. Після відстоювання дріжджову масу концентрують у сепараторі. Для досягнення кращої перетравності дріжджів в організмі тварин проводять спеціальну обробку мікробних клітин (механічна, ультразвукова, термічна, ферментативна), що забезпечує руйнування їхніх клітинних оболонок. Потім дріжджову масу упарюють до необхідної концентрації й висушують, вологість готового продукту не повинна перевищувати 8 – 10 %.

Гарний субстрат для вирощування кормових дріжджів - молочна сироватка, що є виробничим відходом при переробці молока. В 1 т молочної сироватки в середньому втримується 10 кг повноцінного білка й 50 кг дисахариду лактози, що легко утилізується мікроорганізмами. Для виділення з молочної сироватки білків розроблена ефективна технологія із застосуванням методу ультрафільтрації низькомолекулярних речовин через мембрани. Одержувані в такий спосіб білки використають для готування сухого знежиреного молока. рідкі відходи, що залишаються після відділення білків, що містять лактозу, можуть бути перероблені шляхом культивування дріжджів у збагачені білками кормові продукти.

Дуже часто дріжджуванню піддають молочну сироватку без попереднього виділення з її білків, при цьому вирощують спеціальні раси кормових дріжджів з роду Torulopsis. На основі дріжджування молочної сироватки роблять три види кормових білкових продуктів: замінник незбираного молока для годівлі молодняку сільськогосподарських тварин - «БИО - ЗЦМ»; рідкий білковий продукт «Промикс» зі змістом білків в 2,5 - 3 рази вище, ніж у вихідній молочній сироватці; сухий збагачений дріжджовими білками продукт «Провилакт», застосовуваний як замінник сухого знежиреного молока.

Крім вуглеводів і вуглеводнів як джерела вуглецю дріжджові клітини можуть використати нижчі спирти - метанол й етанол, які звичайно одержують із природного газу або рослинних відходів. Дріжджова маса, отримана після культивування дріжджів на спиртах, відрізняється високим змістом білків (56 – 62 % від сухої маси) і в ній менше втримується шкідливих домішок, чим у комовых дріжджах, вирощених на н - парафінах нафти.

У порівнянні з рослинними джерелами білків кормові дріжджі мають підвищений зміст нуклеїнових кислот. Кормові дріжджі, культивіруємі на живильному із середовищі н - парафіні нафти, можуть містити багато шкідливих домішок - похідні бензолу, D - амінокислоти, аномальні ліпіди, різні токсини й канцерогенні речовини, тому їх піддають спеціальному очищенню (екстракція бензином).

При переробці в харчовий білок біомасу дріжджів ретельно очищають. Із цією метою клітинні оболонки дріжджових клітин руйнують за допомогою механічної, лужної, кислотної або ферментативної обробки й потім екстрагують гомогенну дріжджову масу органічним розчинником. Після такого очищення від органічних і мінеральних домішок отриманий дріжджовий продукт обробляють лужним розчином для розчинення білків, потім білковий розчин відокремлюють від маси, що залишилася, дріжджів і направляють на діаліз. У процесі діалізу з білкового розчину видаляють низькомолекулярні домішки. Очищені діалізом білки осаджують, висушують й отриману білкову масу використають як добавки в різні харчові продукти.

1.1.2 Білкові концентрати з бактерій

Поряд з одержанням кормових дріжджів важливе значення для кормо-виробництва мають також бактеріальні білкові концентрати зі змістом сирого білка 60 – 80 % від сухої маси. Відомо більше 30 видів бактерій, які можуть бути використані як джерела повноцінного кормового білка. Бактерії здатні нарощувати біомасу в кілька разів швидше дріжджових клітин й у білку бактерій утримується значно більше сірко-містких амінокислот, внаслідок чого він має більше високу біологічну цінність у порівнянні з білком дріжджів.

При використанні як сировина газоподібних продуктів, основним компонентом яких є метан, живильну суміш під тиском подають у спеціальний ферментер струминного типу. З метою кращої утилізації сировини мікроорганізмами в такому ферментері передбачається рециркуляція газової суміші. Для забезпечення необхідної аерації культури бактерій ферментер продувають повітрям або киснем. Найчастіше на газових живильних вирощувати середовищах бактерії роду Methylococcus, здатні при оптимальних умовах утилізувати до 85 – 90 % подаваного у ферментер метану. Всі технологічні лінії, пов'язані з культивуванням бактерій у газовому середовищі, вимагає контролю за складом цього середовища й оснащення виробничих установок герметизованим, вибухобезпечним устаткуванням.

По закінченню ферментації клітини бактерій осаджують і відокремлюють від живильного на середовища сепараторі. Отриману бактеріальну масу піддають механічній або ультразвуковій обробці з метою руйнування клітинних оболонок, після чого висушують і використають для готування кормових білкових концентратів.

У зв'язку з тим, що газове середовище з метану й повітря вибухонебезпечні й для кращої утилізації метану бактеріями вимагають її постійної циркуляції, виробництво кормового білка з газоподібних продуктів є досить складним і дорогим. Більше широке застосування знаходить технологія вирощування бактеріальної білкової маси на метанолі, що легко можна одержати шляхом окислювання метану. При культивуванні на живильному, середовищі утримуючий метанол, найбільш ефективні бактерії пологів Methylomonas, Pseudomonas, Meth ophillus. Вирощування цих бактерій проводиться у звичайному ферментері з використанням рідкого живильного середовища.

Високою інтенсивністю синтезу білків характеризується бактерії, здатні накопичувати у своїх клітинах до 80 % сирого білка розраховуючи на суху речовину.

Звичайно водень для виробництва білкової маси одержують із води шляхом її електролітичного (електроліз) або фотохімічного розкладання. Вуглекислий газ може бути використаний з газоподібних відходів яких - або промислових виробництв, а також топкових газів, що одночасно вирішує проблему очищення газового середовища. Виробництво кормового білка на основі водно-окислюючих бактерій може бути також організоване поблизу хімічних підприємств, де як побічний продукт утвориться водень.

1.1.3Кормові білки з водоростей

Для виробництва кормового білка використають одноклітинні водорості Сhlorella й Scenedesmus, а також синьо - зелені водорості з роду Spirulina, які здатні синтезувати білки й інші органічні речовини з вуглекислого газу, води й мінеральних речовин за рахунок засвоєння енергії сонячного світла.

По інтенсивності нагромадження біомаси водорості, хоча й уступають кормовим дріжджам і бактеріям, але значно перевершують сільськогосподарські рослини.

Зміст білків у клітинах хлорелли й сценедесмус становить 45 – 55 % розраховуючи на суху масу, а в клітинах спірулини досягає 60 – 65 %. Білки водоростей добре збалансовані по змісту незамінних амінокислот, недостатньо втримується лише метіоніну. Поряд з високим змістом білкових речовин у клітинах водоростей досить багато синтезується полі ненасичених жирних кислот і провітаміну А - каротину.

Технологія одержання білкової маси із клітин водоростей включає вирощування промислової культури в культиваторах відкритого або закритого типу, відділення водоростей від маси води, готування товарного продукту у вигляді суспензій, сухого порошку або пасто-образної маси. Процес відділення клітин водоростей від маси води енергоємний.

Спочатку відстоюють клітинну суспензію, потім клітини водоростей відокремлюють від води. Для прискорення осадження клітин часто застосовують метод хімічної флоккуляції. Зухвалу швидку коагуляцію часток. Після осадження клітинної біомаси її пропускають через сепаратор, у результаті суспензія згущається до необхідної концентрації.

Важливе значення має вирощування водоростей на стоках промислових підприємств. При культивуванні водоростей на промислових стоках або стоках теплових станцій використають надлишок тепла, що відводить із цих об'єктів, а також утилізується вуглекислота.

1.1.4 Білки мікроскопічних грибів

Коштовним джерелом добре збалансованих по амінокислотному складі білків є клітини міцелію багатьох мікроскопічних грибів. По своїх живильних властивостях білки грибів наближаються до білок сої й м'яса, внаслідок чого можуть використати не тільки для готування білкових концентратів, але і як добавка в їжу. Сировиною для промислового вирощування мікроскопічних грибів звичайно служать рослинні відходи, що містять клітковину, гемицеллюлози, лігнін.

У цей час у процесі дослідження відібрані токсичні швидкозростаючі штами мезо- і термофільних грибів для промислового культивування. У порівнянні із дріжджовими білки мікроскопічних грибів відрізняються підвищеним змістом сірко-містких амінокислот і кращою засвоюваністю. Концентрація нуклеїнових кислот у грибному міцелії (1 – 4 % від сухої маси) майже така ж, як у тканинах рослинного організму. Разом з тим у біомасі грибів значно менше, ніж у дріжджах, синтезується білків й у них відносно повільніше відбувається ріст біомаси.

Нижчі міцеліальні гриби, культивіруемі на целлюлозо- і лігнинмістких рослинних відходах, внаслідок їхньої здатності синтезувати комплекс гідролітичних ферментів розкладають целюлозу й лігнін до простих речовин, з яких утворяться амінокислоти й білки. З метою прискорення росту грибів проводиться попередня обробка рослинної сировини, що підвищує доступність його компонентів для утилізації мікроорганізмами. Найчастіше застосовують кислотно-лужний спосіб обробки целлюлозо- і лігнин-містких відходів, відпарювання під тиском. Обробка аміаком і каустичною содою. Після такої обробки відбувається повне або часткове розкладання полісахаридів і лігніну, що забезпечує прискорений ріст грибної маси й скорочення строків промислового культивування грибів.

Залежно від способу підготовки рослинної сировини для культивування мікроскопічних грибів застосовують і відповідні технології їхнього вирощування. Для культивування грибів на твердому живильному розробленому середовищі метод твердо фазної ферментації, що включає здрібнювання й обробку рослинної сировини парами води й аміаку, збагачення цієї сировини мінеральними речовинами, посів і вирощування міцелію грибів у заданому режимі аерації й підтримки оптимальної температури. Однак при такій технології культивування грибів коефіцієнт використання рослинної сировини низький, що визначає й порівняно невисокий рівень зміст білка у вирощуваній грибній масі (20 – 30 % від сухої маси).

Більше високий коефіцієнт використання сировини звичайно досягається при вирощуванні грибів на гідролізатах рослинних відходів і рідких відходів деревопереробної й целюлозно-паперової промисловості. Для цього застосовують метод глибинного культивування, як і при вирощуванні кормових дріжджів. Зміст білків у грибній масі. Вирощеної на рідкому живильному , середовищі може досягати 50 – 60 % від сухої маси. З метою більше повного використання сировини також практикується спільне культивування грибів і бактерій. Поряд з використанням рослинних відходів розроблені також технології по переробці в грибний білок торфу, гною, екскрементів тварин.

1.1.5 Кормові білкові концентрати з рослин

По змісту всіх амінокислот білки трав не уступають або значно перевищують еталон ФАО, і тільки лише дефіцит відзначається по кількості метіоніну.

Досвіди показують, що із всіх трав'янистих рослин найбільш високу біологічну цінність білків мають бобові кормові трави, трохи нижче в мятлікових трав.

Сприятливий амінокислотний склад білків, інтенсивний їхній синтез у вегетативних органах рослин послужили основою розробки технології витягу з рослинної маси білків для кормових і харчових цілей.

Однак пізніше було з'ясовано, що в рослинному соку втримується багато шкідливих домішок, таких, як феноли, важкі метали, інгібітору трипсину, гемолізуючі речовини, нуклеїнові кислоти й т.д. Більше таких речовин - у ядрі, хлоропластах, мітохондріях і менше - у цитоплазмі. Виходячи із цього, для використання на кормові й харчові цілі найбільш придатними є цитоплазматичні білки.

Невеликі напівпромислові установки для одержання кормових білкових концентратів з вегетативної маси рослин можуть бути використані в будь-якому господарстві, що має високобілкову рослинну сировину й кормоцех. Технологія готування білкових концентратів включає здрібнювання рослинної маси, отжиму соку, його коагуляцію, поділ коагуляту на зелену творого-образну масу й коричневий сік, консервування білково-вітамінної пасти.

Таким чином, у результаті переробки рослинної маси можуть бути отримані три види кормів: білковий коагулят, з якого одержують білково-вітамінну пасту; ферментований сік; залишки рослинного матеріалу після отжиму соку у вигляді гніта. [14].

Відомий спосіб одержання білка за допомогою аеробного культивування при температурі 45 – 65 °С у водному середовищу, що містить джерела вуглецю, азоту й мінеральних речовин. Недоліком відомого способу є невисокий вихід протеїну. Поставлена мета досягається тим, що як вихідна культура мікроорганізму для одержання протеїну використають термофільну змішану культуру.Термофільна змішана культура бактерій складається із трьох окремих видів бактерій. Ці бактерії класифікуються як великі вигнуті палички, підтип бактерій, клас Schizomycetes, загін Enbacteriales, сімейство Bacillaceae рід Bacillus; великі грамотрицательные палички, підтип бактерій, клас Schizomycetes, загін Enbacteriales,сімейство Bacillaceae, рід Bacillus; дрібні грамотрицательные палички, підтип бактерії, клас Schszomycetes. Змішана термофільна культура проявляє коштовні властивості. Ця змішана культура (Мс) росте краще при високих температурах, чим при звичайних, з більшим виходом клітин і зменшеною тенденцією до піно утворення в умовах ферментації.

Ця змішана культура є термофільної, росте ефективно з високою продуктивністю на сировину з окислених вуглеводнів, зокрема, нижчих спиртів, найбільше переважно з метанолу або еталона, при низьких температурах, при яких більшість інших відомих видів бактерій або відносно непродуктивні, або просто не можуть існувати, або непродуктивні й не толерантні до сировини з окислених вуглеводнів.

Ріст мікроорганізмів здійснюється у водному живильному, середовищі утримуючий водяний розчин мінеральної солі, джерело вуглецю й енергії, молекулярний кисень і вихідний посівний матеріал змішаної культури Мс. Мс є високопродуктивною при порівняно високих температурах ферментації й продуцирує необхідні й коштовні одноклітинні протеїнові продукти з високим змістом протеїну у вигляді амінокислот необхідного типу й у необхідному співвідношенні.

Вирощування Мс змішаних бактерій із сировини з окислених вуглеводнів може бути успішно здійснене при 45 – 65 °С, переважно, для досягнення оптимальної швидкості росту, 50 – 60 °С. Більше низькі температури придушують ріст бактерій.

При використанні змішаної культури досягається великий вихід клітин, що визначається в грамах отриманих клітин на 100 м використаного джерела вуглецю й енергії, наприклад метанолу.

Задовільний контроль може бути досягнуть також шляхом перевірки змісту живильного матеріалу у вихідному з ферментаторів потоці, воно повинне становити 0 - 0,2 вага. %.

Джерелом азоту може бути будь-яке азот містке з'єднання, здатне виділяти азот у вигляді, зручному для обмінного поглинання мікроорганізмами. Хоча можуть застосовувати різні органічні джерела азоту, наприклад інші протеїни, сечовина або т.п., але звичайно неорганічні джерела азоту більше економічні й зручні для практичного застосування. Як приклад таких неорганічних азот містке з'єднань можна привести аміак або гідроксид амонію, а також різні солі амонію, наприклад карбонат амонію, цитрит амонію, фосфат амонію, сульфат амонію й пірофосфат амонію. Зручно застосовувати газоподібний амоній, якому можна барботировати у відповідних кількостях через водне ферментаційне середовище. рН водної мікробної ферментаційної суміші 5,5 - 7,5 переважно 6 - 7.

Крім джерел кисню, азоту й вуглецю й енергії, необхідно до живильного додавати середовища обрані мінеральні живильні речовини в необхідних кількостях і співвідношеннях, щоб забезпечити правильний ріст мікроорганізмів і максимальне засвоєння окисленого вуглеводню клітинами в процесі мікробної конверсії. Джерелом вуглецю й енергії є окислений вуглеводень. Окислені вуглеводні включають спирти, кетони, складні й прості ефіри, кислоти й альдегіди, які в основному є водорозчинними й переважно містять до 10 атомів вуглецю в молекулі.

Найбільш кращими спиртами є спирти, що містять С1 – С4 у молекулі, особливо одноатомні спирти, внаслідок їхньої доступності, економічності. Особливо кращий метанол, тому що відносно дешево, легко доступний і розчинний у воді. [15].

**1.2 Особливості культивування біообъєктів**

При періодичному культивуванні доцільно створити штучно такий сталий стан, при якому концентрація клітин, питома швидкість росту й навколишньої клітини середовище не змінювалися б у часі. Такі умови можливі при безперервному культивуванні, коли клітини продуцента розмножуються зі швидкістю, що залежить від припливу живильних речовин і деяких інших умов. Безперервний спосіб особливо вигідний, коли джерелом вуглецю й енергії є нижчий спирт, наприклад метанол або етанол, витрата якого може бути легко автоматизований. Частина обсягу культуральної рідини постійного випливає з тією же швидкістю, з який подається середовище в апарат. Метод проточного культивування може бути організований як процес повного витиснення і як процес повного змішання. Здійснення першого можливо для культивування анаеробних мікроорганізмів у ферментаторі, що представляє собою трубу, у яку з одного кінця безупинно подають живильне й з посівний матеріал, а з іншого кінця відбирають культуральну рідина. Процес відбувається без перемішування й аерації. Коли середовище й посівний матеріал попадають у ферментатор, популяція перебуває в лаг - фазі, а на виході з ферментатора культура може перебувати в будь-якій фазі залежно від швидкості подачі середовища. У ферментаторі відтворюється повна крива розмноження, але не в часі, а в просторі.

У процесі повного змішання розмноження культури відбувається у ферментаторі при інтенсивному перемішуванні й аерації. У повному обсязі культуральної рідини умови повинні бути однаковими. При цьому у ферментаторі можуть бути створені умови, що відповідають будь-якій крапці кривої розмноження культури, вирощуваної періодичним способом. Процес повного змішання може бути організований по типі системи "турбидостат" й "хемостат".

У системі "турбидостат" у ферментаторі підтримують щільність популяції постійної, і при швидкій протоці середовища створюються умови, близькі до тих, які відповідають логарифмічній фазі, при повільному - наближаються до умов, що відповідають стаціонарній фазі. У сталому режимі роботи ферментатора питома швидкість протоки середовища дорівнює питомої швидкості розмноження культури. Підвищення швидкості протоки або вплив, що сповільнює ріст, приводить до того, що швидкість розмноження виявляється менше швидкості протоки й клітини культури будуть вимиті з ферментатора.

У системі "хемостат" величину клітинної популяції контролюють за допомогою окремих компонентів живильного . середовища Середовище становлять так, щоб один з компонентів, необхідний для росту біомаси клітин, був у недоліку або лімітував ріст, підтримуючи тим самим культуру в потрібному стані. Використовуючи батарею ферментаторів, можна в кожному апарату постійно підтримувати продуцент у певній фазі розмноження.

У цей час безперервне культивування застосовують для одержання білково-вітамінних концентратів (БВК), кормових дріжджів, лимонної кислоти, лізину.

У виробництві антибіотиків, поряд з періодичним культивуванням, всі частіше починають використати методи, що займають проміжне положення між переодичним і безперервним культивуванням, тобто напівбезперервний від’ємна-доливной метод. Таким способом вдається в 2 - 3 рази збільшити час перебування продуцента в активній фазі. Недолік полягає в тому, що доливи здійснюють живильним повним середовищем складу. Цього недоліку позбавлений метод напівбезперервної регульованої ферментації. Суть цього методу полягає в тому, що в певний час, починаючи з логарифмічної фази розмноження в культуральну рідину додають окремі компоненти живильного , середовища підтримуючи їхню концентрацію на постійному сприятливому рівні - спочатку для росту біомаси клітин, а потім - для синтезу цільового продукту.

Періодично з ферментатора відбирають певні об’єми культуральної рідини із всі зростаючою концентрацією цільового продукту. Ферментацію припиняють після того як активність продукту досягла максимуму. Цим способом вдається не тільки продовжити активну фазу, у якій перебуває продуцент, але й підвищити ступінь використання їм субстрату, а в остаточному підсумку - продуктивність процесу, тобто збільшити вихід кінцевого продукту розраховуючи на спожитий субстрат.

Із усього розмаїтості способів проведення процесів біотехнології найбільш складними є регульовані ферментації з дотриманням умов асептики. Крім того для проведення процесу в асептичних умовах необхідне введення додаткових стадій, що забезпечують стерилізацію живильних і з подаваного у ферментатори повітря.

Стерильне живильне в з інокуляторі - посівному апарату першого щабля засівають із дотриманням правил асептики через спеціальний пристрій посівним матеріалом, що попередньо був вирощений у колбі.

Створюються й підтримуються необхідні режими в апарату для розмноження клітин продуцента (температуру, аерацію й перемішування), а потім контролюють й оцінюють розвиток культури. При досягненні необхідних стадій розвитку й кількості біомаси посівний матеріал передавлюють стерильним стисненим повітрям по посівному колекторі в посівний апарат більшої місткості. На цьому другому щаблі вирощування посівного матеріалу прагнуть одержати більше біомаси клітин, щоб у ферментаторі можна було створити необхідну для даного штаму продуцента вихідну щільність популяції. Якщо ця вимога здійсненна без другого щабля, то ферментаційне середовище засівають безпосередньо з інокулятора.

Біосинтез цільового продукту у ферментаторі відбувається при заданих температурному режимі, аерації, перемішуванні й рН культуральної рідини; величину рН звичайно регулюють періодичною подачею аміачної води через барботер ферментатора. У випадку піно утворювання подають стерильний піногасник зі спеціального апарата по сигналі датчика рівня піни.

Для підтримки сталості концентрацій окремих компонентів живильного їх середовища подають у вигляді стерильних розчинів по команді ЕОМ з відомою швидкістю й періодичністю у ферментатор зі спеціальних апаратів.

У випадку проведення ферментації свідомо в нестерильних умовах живильне й з повітря для аерації не стерилізують, але посівний матеріал завжди вирощують на стерильних живильних у з асептичних умовах.[20].

**1.3 Обладнання для культивування**

1.3.1 Ферментатори для глибинного культивування мікроорганізмів на рідких живильних середовищах

Глибинне культивування мікроорганізмів - продуцентів біологічно активних речовин - є найбільш складним і тонким процесом одержання продуктів мікробного синтезу. Біосинтез продуцируемих мікроорганізмом біологічно активних речовин залежить від таких факторів, як температура, рН середовища й зростаючої культури, концентрація розчиненого кисню, тривалість культививування, конструкція й матеріал устаткування, у якому відбувається процес, і ін.

Залежно від застосовуваних методів оцінки роботи ферментатори для глибинного вирощування мікроорганізмів підрозділяють на ряд груп по наступних ознаках:

- по способі культивування - на апарати безперервної й періодичної дії;

- по стерильності - на герметичні й не потребуючої строгої герметичності;

- по конструктивних ознаках - на ферментатори з дифузором і турбіною, з обертаючими аераторами, з механічними мішалками, із зовнішнім циркуляційним контуром, колонні ферментатори, з ежекційною системою аерації;

- по способі уведення енергії й організації перемішування й аерації - на апарати з підведенням енергії до газової фази, до рідкої фази й комбінованої.

У мікробіологічній промисловості практично всі процеси культивування продуцентів біологічно активних речовин, за винятком дріжджів для одержання БВК на парафинах, гідролізатах і сульфітних лугах, проводяться періодичним способом у стерильних умовах.

1.3.2 Ферментатори для стерильного культивування мікроорганізмів

Ферментатори з механічним перемішуванням барботажного типу.Даний тип ферментатора широко застосовується для стерильних процесів вирощування мікроорганізмів - продуцентів біологічно активних речовин.

Ферментатори конструкції Гипромедпрома. Це циліндричний апарат вертикального типу з верхнім приводом пристрою, що перемішує. Геометричний обсяг ферментатора коливається в межах 1 – 50 м3. апарати обсягом 50 м3 обладнані пристроєм, що дозволяє змінювати частоту обертання приводу пристрою, що перемішує, від 60 до 140 хв-1.

З метою відводу фізіологічного тепла ферментатор постачений багатоярусною сорочкою, що має площа поверхні охолодження 55 м2, і змійовиками, розташованими всередині нього, із площею поверхні 39 м2. ферментатор, теплообмінні сорочки й змійовики розраховані на робочий тиск 0,29 МПа й температуру стерилізації 140°С.

На валу діаметром 160 мм і довжиною 7000 мм змонтовані два комплекти мішалок, що складаються з відкритих і закритих турбін. Ущільнення вала торцеве, окружна швидкість на кінці мішалки 6,5 м/с. Ферментатор обладнаний барботером розбірної конструкції, що має 2000 конічних отворів діаметром 3 мм, звужуючих донизу. Діаметр апарата 3000 мм, висота без електродвигуна 6800 мм.

Ферментатор фірми «Нордон». Конструкція цього ферментатора відрізняється від вищенаведених тем, що нижньої частини вала розташоване пристрій, що перемішує, із шести регульованих лопат прямокутного розтину, а на верхньої – піно гасячи механічний пристрій із двох лопат прямокутного розтину з ребрами жорсткості, спрямованими убік обертання.

Ферментатори із пневматичним перемішуванням середовища.

До цього типу ставляться апарати, усередині яких змонтовані форсунки, дифузори, барботери для подачі повітря. Вступник повітря використається для перемішування зростаючої культури, забезпечення потреби мікроорганізму в кисні й відводу метаболітів, що утворяться.

Ферментатор циліндричний. Конструктивно такий ферментатор зовні аналогічний ферментатору з механічним перемішуванням, але в ньому відсутні механічні пристрої, що перемішують. Недоліком цього виду ферментатора є більше низька в порівнянні з ферментаторами з механічним перемішуванням величина робочого обсягу, особливо при роботі із сильно пінливими середовищами. Вони застосовуються в тих випадках, коли культура мікроорганізму не має потреби в інтенсивному перемішуванні і її в'язкості невелика.

Також до цього типу ставляться ферментатори: ферментатор кульовий із пневматичним перемішуванням, ферментатор з форсуночним підведенням повітря, ферментатор з інтенсивним масообміном, ферментатор фірми «Хеман».

1.3.3 Ферментатори для нестерильних процесів культивування мікроорганізмів

До нестерильних процесів культивування мікроорганізмів ставляться в основному процеси вирощування продуцентів кормових дріжджів. По конструктивному виконанню ферментатори для виробництва кормових дріжджів аналогічні апаратам для виробництва ферментів, кормових антибіотиків, амінокислот й інших продуктів мікробного синтезу, але в них відсутні паровий або повітряний захист обертових валів і деякі конструктивні елементи.

Ферментатори із пневматичним перемішуванням і внутрішнім циркуляційним контуром. Найбільше поширення одержали ерлифтні дріжджі-вирощувальні апарати системи Лефрансуа із внутрішнім циркуляційним контуром. У гідролізно-дріжджовому виробництві застосовуються апарати цього типу ємністю 250, 320, 600 й 1300 м3. Дані конструкції ферментаторів не мають механічних засобів пеногасіння. Піна гаситься під вагою стовпа рідини при її циркуляції.

Також існують ферментатори із само усмоктувальною мішалкою (ферментатори системи Вальдгофа, з механічним перемішуванням й обертовими аераторами й ін.); горизонтального типу; колонні ферментатори (струминні, з контактними пристроями й ін.)

Ферментатори з ежекційною системою аерації. Конструкція дріжджі-вирощувального апарата АДР - 76 - 900 у цей час широко використається на заводах з виробництва БВК. Ферментатор складається з корпуса 1; периферійного циркуляційного контуру 2; центральні дифузори 5; пристроїв 3, які встановлені в периферійному циркуляційному контурі й центральному дифузорі; теплообмінників 7 і каплевідделителя 4. Привід пристроїв здійснюється від електродвигунів 6.

Подача в апарат живильного й з відвід готового продукту на сепарацію здійснюється через штуцера. Подача повітря для аерації зростаючої культури здійснюється шляхом само усмоктування. Масообмін відбувається при прокачуванні повітрям середовища аераторами через теплообмінники з утворенням висхідних і спадних потоків.

Корпус апарата виготовлений із двошарової корозієстійкої сталі, а теплообмінники, аерируючі пристрої й перегородки - з монолітної сталі.

Технічна характеристика ферментаторів АДР - 76 - 900

Продуктивність апарата, т/год 30 - 36

Ємність, м3

повна 900

робоча 450

Тиск, МПа 0,02

Робоча температура, °З 32 – 34

Середовище, рН 4,2 - 4,4

Площа поверхні теплообміну, м2 2700

Витрата повітря (при нормальних умовах), м3/ч 54000

Кількість аеруючих пристроїв 13

Потужність електродвигуна, кВт 315

Габаритні розміри, мм 17000 – 17000 - 6500

Маса, т 535

До недоліків ферментаторів з ежекційною системою аерації ставляться вібрація валів апаратів, забруднення поверхонь теплообміну й зменшення коефіцієнта тепловіддачі.

Однак ці конструкції ферментаторів є в цей час самими продуктивними в нашій промисловості. [16].

1.3.4 Флотація, сепарування, промивання, випарювання й сушіння для одержання протеїнів

Флотацію як один з ефективних методів збільшення концентрації одержуваного продукту широко використають у мікробіологічній промисловості. Дозволяє скоротити кількість сепараторів, знизити енерговитрати й стабілізувати безперервність технологічного процесів.

Найпоширенішим способом флотації є флотація диспергуванням повітрям, при якій повітря диспергуєтся в рідкому середовищі з утворенням пухирців діаметром більше 1 мм. Спосіб простий по апаратному оформленню, але вимагає більших витрат повітря. У цілому цей спосіб підходить для одержання протеїну.

Коефіцієнт флотації: відношення концентрованої біомаси в суспензії, що виходить із флотатора, до концентрації біомаси у вихідному середовищі. Він звичайно дорівнює 4 - 6. Збільшення його вказує на зниження продуктивності апарата. КПД флотатора збільшується зі зменшенням діаметра пухирців у повітрі.

У випадку одержання протеїну зручно використати пневматичного флотатора. Одноступінчастий пневматичний флотатор місткістю 100 м3 мають продуктивність 105 – 120 м3/ч. Час перебування середовища приблизно 10 хвилин. Обсяг займаний повітрям суспензії, 55 - 65 %.

Поділ систем на фракції, що володіють різними плотностями, найбільше ефективно здійснювати при сепаруванні. Сепарування знайшло широке застосування при концентрації кормових дріжджів, при поділі емульсій і посвітлінні розчинів БАВ перед концентруванням у випарних апаратах й ультра фільтраційних установках.

Застосування сепарування дозволяє розділяти важко фильтрующимся суспензії, інтенсифікувати виділення й концентрування МО й твердих часток розміром 0,5 мкм. Рушійної силоміць процесу є відцентрова сила.

Ефективність сепарування пропорційна частоті обертання, його діаметру, розміру часток, різниці плотностей твердих і рідких фаз. При збільшенні в'язкості середовища знижується ефективність сепарування. Продуктивність сепарування залежить від фізико-хімічних властивостей обробленого продукту, а також від необхідного ступеня згущення. Для одержання протеїну зручніше за все використати сепаратори з відцентровим безперервним вивантаженням осаду.

Культуральна рідина надходить через трубу у внутрішню порожнину барабана, де під дією відцентрової сили розтікається по тарілках. Більше щільна маса відкидається на периферію барабана. Отсепарована легка фракція рідиною приділяється через патрубок. Промивання сепаратора виробляється без його розбирання, для чого на барабана встановлюються 3 пружинних клапани, яких відкриваються, коли швидкість падає нижче певного рівня й зміст вивантажується перш, ніж барабан почне промиватися очищеною водою, а камера з напірною трубкою в центрі барабана очищається при зворотному токовищі промивної води.

У МБП найбільше широко використають процес випарювання у вакуумних установках (апаратах) як найбільш економічний спосіб попередньої концентрації продуктами біосинтезу. Для виробництва протеїну вигідно використати випарні тонкошарові апарати з теплообміном: максимальне виробництво по паркій волозі, т/г - 8.

Видалення води з напівпродуктів мікробного синтезу є однієї з кінцевих операцій у виробництві БА препаратів. До видалення води культуральна рідина має вологість 30 - 60 %. У сушильних установках вона збезводнюється до 5 - 12 %. Всі продукти мікробного синтезу діляться на 2 групи:

- продукти, у яких після сушіння не потрібно охороняти життєздатність МО або високої активності препаратів й які використаються як джерела живильних речовин;

- продукти, у яких після сушіння необхідно зберігати життєздатність або високу активність препаратів.

У випадку одержання протеїну необхідно зберігати життєздатність і високу активність препаратів. Застосовуються умови, що щадять, сушіння. Необхідно знати вологість вихідних і кінцевих продуктів, капілярну структуру, в'язкість, поверхневий натяг, коефіцієнт теплоємності, температуропровідності й теплопровідність, термолабильность, хімічний склад й ін.

Для одержань протеїну зручно використати розпилювальні сушарки для термолабільних розчинів. Концентрація сухих речовин у розчинах повинна бути не менш 10 %. РС застосовують м'який режим сушіння, що виключає втрати БАВ. У РС рідину перетворюють у туман. Камери для сушіння виготовляються з нержавіючої сталі. Достоїнством РС є швидкість сушіння, низька температура матеріалу сушіння, одержання порошку. Через швидке сушіння температура матеріалу, не перевищуючу температуру паркої вологи (60 – 70 °С) і вологи (60 – 70 °С) і залишається значно нижче температури сушильного агента. [16].

**1.4 Контроль якості одержання білка**

1.4.1 Попередня обробка сировини

При використанні для готування живильних більшість середовищ перерахованих джерел сировини, особливо гідролізатів деревини, сульфітних лугів, різних видів вуглеводної сировини, необхідно вносити в середовище додатково мікроелементи, азотне й фосфорне харчування, вітаміни. Для цього використають кукурудзяний екстракт, дріжджові авто лізати або гідро лізати, відходи виробництва вітамінів, лимонної кислоти й ін. До складу середовищ уводять мінеральні солі, що містять азот, фосфор, калій, магній й інші елементи. Джерелом азоту в середовищі може бути аміак, що підтримує рН на певному рівні.

Вирішальне значення для проведення біотехнологічних процесів має хімічний і біологічний склад води. Вода не повинна містити токсичних забруднень, вірусів, плазмід і суперечка.

У процесі підготовки живильних важливих середовищ значення має змішування й стабілізація готового реакційного середовища.

Підготовка живильних сполучених середовищ із використанням різних методів її обробки: фізико - механічних (здрібнювання компонентів, гомогенізація, перемішування, розчинення, фільтрація, теплова обробка); хімічних (регулювання окислювально-відбудовного потенціалу, рН середовища, іонної сили, осмотичного тиску, гідроліз, нейтралізація); біологічних (оцінка середовища на стерильність, попереднє культивування на середовищі, ферментативний гідроліз, ізомеризація й т.д.).

Готові середовища можуть не вимагати стерилізації, і після готування на них можна культивувати мікроорганізми. У деяких випадках живильного необхідно середовища стерилізувати, що можна здійснити шляхом нагрівання, озонування, що стерилізує фільтрації, хлоруванні, обробки формаліном або опромінення.

1.4.2 Культивування мікроорганізмів

Основною стадією технологічного процесу виробництва мікробних білкових препаратів є культивування мікроорганізмів. У період пуску виробництва та стадія складається з підготовки й вирощування вихідного посівного матеріалу аж до доведення процесу в промислових ферментаторах, тобто до рівня, що коли утворилася біомасу вже можна відокремлювати від рідкої фази й сушити. При сталому виробництві чисту культуру посівного матеріалу подають у ферментатори для постійного підновлення культури. Тому незалежно від способу культивування й періоду роботи заводу процес вирощування мікроорганізмів має два щаблі: одержання чистої культури посівного матеріалу; вирощування мікробних мас у промислових ферментаторах.

1.4.3 Одержання чистої культури

Посівним матеріалом називають чисту культуру мікроорганізму, що виходить шляхом її послідовного асептичного пересівання із пробірки в колбу, а потім в апарати обсягу, що збільшується, аж до великого посівного апарата, з якого вона передається у виробництво при уведенні в роботу чергового ферментатора або в працюючий ферментатор для підтримки в ньому росту основної культури продуцента.

Готування посівного матеріалу виробляється по наступних стадіях вирощування: в умовах лабораторії; у малому посівному апарату; у великому посівному апарату; у малому ферментаторі; у промисловому ферментаторі.

Перша стадія вирощування посівного матеріалу здійснюється в заводській лабораторії. Головне - зберегти вихідний штам у незмінному стані.

Суперечки мікроорганізмів, утворені нестатевим шляхом, являють собою найкращу форму збереження вихідного штаму мікроорганізму. Однак при тривалому зберіганні культури можуть виникнути спонтанні нерегульовані мутації. Тому необхідно періодично проводити розсів культури й перевірку її однорідності як по морфологічним, так і по фізіологічних ознаках. При розсіві з колонії, що дала найкращі показники по діагностуючому середовищу, роблять новий розсів в 30 - 40 пробірок. Потім з кожних 5 - 6 пробірок відбирають одну й перевіряють, що перебуває в ній мікроорганізм на здатність утворювати білок, продуцентом якого він є. Проведення такої безперервної селекції дозволяє зберегти в активній формі вихідну культуру продуцента.

Однорідний штам мікроорганізму висівають у пробірки, вирощують д певного віку в оптимальних умовах, а потім поміщають у холодильник при температурі 3 – 4 °С. Пересівання культур проводять через певні проміжки часу. Тривалі паузи між пересіваннями неприпустимі, тому що при цьому виснажується й сохне середовище, позначається негативний вплив метаболітів, можливі мутації.

При пересіваннях варто переносити тільки суперечки або невеликі шматочки міцелію без середовища, щоб у свіже середовище не вносити продукти метаболізму. Для тривалого зберігання штамів часто використають крохмальні середовища.

Дріжджі зберігають в 10 % - ному водяному розчині гліцерину в запаяних ампулах в атмосфері рідкого азоту при низьких температурах (- 196 ÷ - 165 °С)

Заготовлені чисті культури мікроорганізмів у міру необхідності подають у виробництво. Для цього штам МО асептично пересівають у качалочні колби із середовищем, що відповідає складу середовища, і вирощують до відповідного віку.

Одержання чистої культури можна також здійснити в лабораторному ферментаторі періодичної або безперервної дії. Потім розведення чистої культури, що перебуває в стадії інтенсивного зростання, задають у малий посівний апарат з підготовленим живильним . середовищем

Готування живильного для середовища посівного матеріалу окремо від основного виробництва здійснюють лише на деяких заводах.

На другій стадії вирощування посівного матеріалу живильне й із дріжджове розведення надходять у малий посівний апарат обсягом 0,5 м3. Щільність початкової засівби невелика (0,01 % у перерахуванні на сухі дріжджі). Спочатку в посівний апарат подають близько 40 л середовища зі змістом РВ 2 - 2,6 % і розбавляють її в 4 - 4,5 рази стерильною водою так, щоб зміст РВ не перевищувало 0,45 - 0,5 %. Інтенсивно середовище, поступово додають інша кількість живильного розчину (70 - 90 л) зі швидкістю 7 - 8 л/г, при цьому рН підтримують на рівні 4 - 5,5 додаванням аміачної води.

Культивування продовжують до нагромадження дріжджів 3,5 - 4 г/л (по сухій масі). Процес закінчується за 12 - 15 годин.

Третя стадія готування посівного матеріалу здійснюється в посівних апаратах обсягом 4 – 5 м3. У них подають близько 180 - 200 л середовища, розбавляють в 6 - 6,5 рази стерильною водою й задають всі дріжджі, отримані на другій стадії (близько 300 л). Всю масу активно аэрують у плині 10 - 12 годин при одночасному доливі живильного із середовища розрахунку 70 - 75 л/г і додаванні аміачної води для підтримки рН.

Четверта стадія процесу здійснюється в малому ферментаторі обсягом 12 – 15 м3. Апарат на 10 % заповнюють стерильною або прокип'яченою водою, уводять близько 0,5 м3 середовища й перекачують уміст попереднього апарата (2,5 – 2,7 м3). Вирощування посівного матеріалу триває 8 – 9 ч при постійному доливі середовища з розрахунку близько 1,5 – 1,7 м3 за один цикл. До кінця циклу дріжджів у середовищі повинне втримуватися 4 – 5 г/л (по сухій масі). Потім починають відбирати в основне виробництво по 1 – 1.5 м3 дріжджів у годину, додаючи одночасно свіже середовище зі змістом РВ 1 – 1,2 %. Процес триває від 5 до 10 год, після чого цикл готування посівного матеріалу відновляється.

На початку кожного циклу в лабораторії відбирають варіанти культури дріжджів, які дали найкращі результати по нагромадженню білка й швидкості росту в основному виробництві.

Якщо підприємство має більшу продуктивність й обсяг посівного матеріалу, рівний 1 – 1,5 м3/ч, недостатній, у схему готування посівного матеріалу включають п'яту стадію, тобто ще один ферментатор, в 4 – 6 разів більший по обсязі ферментатора четвертого ступеня. У цьому випадку четверту стадію процесу проводять, як третю, п'ятий апарат працює по режиму четвертої стадії, добір готових дріжджів становить 6 -7 м3/ч.

Чистоту процесу вирощування дріжджів контролюють щогодини. Проби відбирають і переглядають під мікроскопом, мертві клітини красяться метиленовою синню, а живі залишаються не пофарбованими.

При перегляді визначають кількість мертвих і клітин, що брунькуються, стосовно загальної кількості дріжджів і виражають їх у процесі. Проводять спостереження над морфологічними змінами дріжджів: визначають кількість дрібних клітин і клітин з подвійними бруньками й відзначають наявність диких дріжджів – не сахаромицетів і бактерій.

1.4.4 Контроль живильних речовин і стимуляторів росту

Аміак застосовують як джерело азоту й для регулювання рН середовища при вирощуванні дріжджів, а також збільшення виходу чистого білка. У виробництві використають аміак водний технічний (ДЕРЖСТАНДАРТ 9 - 57), що представляє собою розчин газоподібного аміаку у воді.

Відсоток змісту аміаку у водяному розчині визначають по питомій вазі й титруванням. Визначають пікнометром або ареометром. При визначенні титрування 10 мол випробуваного розчину наливають за допомогою бюретки в мірну колбу ємністю 200 мол; колбу доливають до мітки дистильованої води й розчин ретельно перемішують. Потім 5 мол отриманого розчину відбирають піпеткою й переносять у колбу для титрування, розбавляють дистильованою водою до 50 мол і титрують 0,1 Н розчином Н2SО4 з індикатором метілоранжом до рожевого відтінку. Зміст аміаку:



Суперфосфат застосовується в дріжджовому виробництві як джерело фосфору необхідного дріжджам у процесі росту. Використають водорозчинні солі фосфорної кислоти. По діючий ДСТу 8382 – 57 вологість доброякісність суперфосфату повинна бути не більше 13 %; зміст що засвоївся Р2О5 не менш 19 %. Повинен бути розсипчастим, що не злежується в щільні грудки.

Визначення змісту фтору: наявність водорозчинного фтору пригнічуючи діє на процес розмноження дріжджів, тому контроль за дотриманням норм має велике значення. Кількість фтору в середовищі дріжджі-вирощувального апарата не повинне перевищувати 0,001 %.

Сірчану кислоту застосовують для очищення засівних дріжджів від бактеріальної інфекції й для регулювання рН середовища при вирощуванні дріжджів. Використають сірчану кислоту акумуляторну (ДЕРЖСТАНДАРТ 667 - 53) і контрольний технічний поліпшений (ДЕРЖСТАНДАРТ 2184 - 59).

Кукурудзяний екстракт використають у виробництві як джерело активаторів росту. По діючий ВТУ 39 - 53 (П) кукурудзяний екстракт характеризується наступними показниками. По зовнішньому вигляді - густа непрозора рідина із пластівчастою суспензією, здатної відстоюватися. Зміст сухих речовин не менш 48 %, кислотність не більше 14 %, вільного сірчистого газу стосовно сухої речовини не більше 0,5 %. Гарний екстракт дозволяє збільшити вихід на 20 - 25 %.

1.4.5 Аналіз повітря подаваний у дріжджі-вирощувальний апарат

Для визначення кількості МО в повітрі, що подається в дріжджі-вирощувальні апарати, рекомендується метод пропущення певної кількості повітря через стерильну воду й потім посів цієї води в чашки Петрі для кількісного визначення МО, затриманих з повітря.

Для здійснення цього аналізу необхідний прилад, що складається з реометра й склянки Дрекселя із що приводить і відвідною трубками.

Реометр можна використати будь-якої марки, здатний пропускати 100 - 200 л повітря за 10 - 15 хв.

Якщо повітря, що вдмухує в апарати, добре очищений, то в ньому не повинне втримуватися ні цвілів, ні сторонніх дріжджових грибків. [17].

**1.5 Біохімічні і мікробіологічні процеси одержання протеїну**

Метаболізмом називається вся сума цілеспрямованих реакцій, що протікають під дією ферментних систем клітини, які регулюються різними зовнішніми й внутрішніми факторами. Метаболізм забезпечує всі життєві процеси в клітині залежно від середовища перебування. У результаті метаболізму відбувається збільшення розмірів клітини, її розподіл або брунькування, зростає кількість особин і загальної їхньої маси в живильному , середовищі з якої споживається частина її компонентів й яка поповнюється метаболітами клітини.

Незважаючи на величезні фізіологічні й морфологічні розходження між окремими класами, родами й видами МО, обмін речовин у клітині йде трьома центральними метаболічними шляхами:

1) із зовнішнього середовища в клітину надходить енергія або у вигляді хімічної енергії органічних речовин, або у вигляді енергії сонячного світла;

2) з речовин середовища, перенесених у клітину, збираються “будівельні блоки”, які формують біополімери клітини й синтезують макромолекули білків, нуклеїнових кислот, вуглеводів, жирів й інших клітинних компонентів;

3) у клітині відбуваються постійні синтез і руйнування біомолекул, що виконують різні специфічні функції.

Принципові основи центральних метаболічних шляхів простежити й зрозуміти порівняно легко, хоча кожний із цих шляхів являє собою безліч різних простих і складних реакцій, частина з яких поки ще до кінця не розшифрована.

Обмін речовин у МО можна розглядати як суму 2 явищ: катаболізму представляють собою ферментативне розщеплення великих органічних молекул з виділенням вільної енергії, що запасається у вигляді зв'язків в АТФ, і анаболізму, пов'язаного з побудовою нових біополімерів клітини із простих з'єднань й, що протікає з поглинанням енергії зв'язків АТФ. У результаті цих двох паралельно поточних процесів будується “тіло” клітини, накопичуються необхідні клітинам запасні речовини, біологічні каталізатори й проміжні продукти обміну речовин.

Таким чином, обмін речовин складається в клітині з конструктивного й енергетичного обмінів.

Катаболізм й анаболізм - два самостійних шляхи в обміні речовин, але окремі їхні ділянки можуть бути загальними.

Швидкість плину реакцій, що беруть участь в обміні речовин клітини, залежить від складу живильного , середовища умов культивування й віку МО й, головне, від потреби клітини в кожен момент в енергії й будівельних блоках. Ріст клітин може протікати аеробним й анаеробним шляхом. Інтенсивний обмін речовин між клітиною й середовищем забезпечується великою поверхнею тіла МО, через яку відбувається надходження живильних речовин і виділення в навколишнє середовище продуктів життєдіяльності клітини. На метаболізм клітини впливають середовища, що змінюється значення рн, концентрація субстрату, рівень метаболітів у середовищі й багато інших факторів [21].

**1.6 Технологічна схема одержання протеїну**

Стадія процесу по вирощювання кормових дріжджів здійснюється в ферментаторі обсягом 12 – 15 м3. Апарат на 10 % заповнюють стерильною або прокип'яченою водою, уводять близько 0,5 м3 середовища й перекачують уміст попереднього апарата (2,5 – 2,7 м3). Вирощування посівного матеріалу триває 8 – 9 ч при постійному доливі середовища з розрахунку близько 1,5 – 1,7 м3 за один цикл. До кінця циклу дріжджів у середовищі повинне втримуватися 4 – 5 г/л (по сухій масі). Потім починають відбирати в основне виробництво по 1 – 1,5 м3 дріжджів у годину, додаючи одночасно свіже середовище зі змістом РВ 1 – 1,2 %. Процес триває від 5 до 10 год, після чого цикл готування посівного матеріалу відновляється.

На початку кожного циклу в лабораторії відбирають варіанти культури дріжджів, які дали найкращі результати по нагромадженню білка й швидкості росту в основному виробництві.

Готові кормові дріжджі завантажуються у ферментатор об’ємом 63 м3. Добавляють молочну сироватку, мінеральні солі, а також кукурудзяний екстракт. Також у ферментатор подавали повітря. Процес проходить при тиску 50 кПа та t стерилізації 130 – 140 °С.. Після цього продукт йшов на випарювання, а від сепарована рідина йшла на очищення. Потім проводили випарювання на вакуумним випаром апараті (55 – 60 °С і тиску 15 кПа) за допомогою пару и висушували на сушарці за допомогою гарячого повітря. Таким чином отримали повноцінний білок.

**2. Вибір і обґрунтування**

**2.1 Вибір ферментатора**

Ферментатор обсягом 63 м3. Ферментатор цього типу являє собою вертикальний апарат циліндричної форми, виготовлений зі сталі X18H10T або біметалу з еліптичними кришкою й днищем. Даний тип ферментатора простий по своїй конструкції й працює тільки в стерильних умовах, тому для одержання білка цілком придатний. Відношення висоти до діаметра дорівнює 2,6 : 1. На кришці апарата розташований привід пристрою, що перемішує, і механічного піногасника; штуцера для завантаження живильного, середовища посівного матеріалу, піногасника, подачі й висновку повітря; оглядові вікна; люки для занурення миючої механічної голівки; запобіжний клапан і штуцера для приладів візуального контролю.

Для вивантаження культури в днище апарата передбачений спусковий штуцер 16. Усередині апарата проходить вал 6 із закріпленими на ньому пристроями, що перемішують, що складаються із закритих турбін 8 діаметром 600 - 1000 мм із лопатами шириною 150 - 200 мм, розташованих в 2 яруси, третьою відкритою турбіною, установленої над барботером 13 для повітряних міхурів.

Ферментатор обладнаний сорочкою 17, що складається з 6 – 8 ярусів – секцій. Кожна секція складається з 8 навитих каналів, що оперізують, виконаних з голкового профілю розміром 100 – 60 мм. Площа поверхні охолодження сорочки 60 м2. Внутрішня поверхня охолодження площею 45 м2 складається зі змійовиків 9 діаметром 600 мм із числом витків 23 при загальній висоті змійовика 2,4 м.

Ферментатор розрахований для роботи під надлишковим тиском 0,25 МПа й стерилізації при температурі 130 – 140 °С, а також для роботи під розрядженням. У процесі вирощування мікроорганізмів тиск усередині ферментатора в межах 50 кПа; витрата стерильного повітря до 1 м3 (м3\*хв). Висота стовпа рідини в апарату 5 - 6 м при висоті апарата більше 8 м. [5].

Технічна характеристика ферментатора з механічним перемішуванням барботажного типу.

Обсяг геометричний, м3 63

Частота обертання вала мішалки 60 – 140 хв-1

Площа поверхні охолодження 55 м2

Площа поверхні внутрішніх змійовиків 39 м2

Тиск 0,29 Мпа

Температура стерилізації 413 °С

Діаметр вала 200 мм

Довжина вала 8500 мм

Окружна швидкість на кінці турбін 6,5 м/с

Діаметр ферментатора 3300 мм

Висота ферментатора з електродвигуном 12015 мм

**2.2 Вибір середовища і сировини**

Як середовище для одержання білка зручніше за все використати молочну сироватку. [18]. Наявність у сироватці джерел вуглецю й ростових факторів дозволяє вважати її перспективною сировиною в біотехнологічних процесах. У сироватці втримується 50 % сухих речовин молока, у їхньому числі молочний жир, розчинні азотисті з'єднання й мінеральні солі, а також вітаміни, ферменти, органічні кислоти. Всі види молочної сироватки є джерелами молочного цукру (лактози), зміст якого становить 70 % сухої речовини. Поряд з харчовою цінністю молочна сироватка й продукт, отриманий з неї, мають дієтичне й навіть лікувальне значення.

По органолептичним і фізико-хімічних показниках сироватка повинна відповідати вимогам ДСТу. Вона являє собою однорідну рідину зеленуватого цвіту, без сторонніх домішок, допускається наявність білкового осаду.

Молочна сироватка є гарним живильним для середовищем розвитку мікроорганізмів. У ній швидко розмножуються різні групи мікробів, походження яких зв'язане як із залишковою, термостійкою й термофільною мікрофлорою пастеризованого молока, так і з мікрофлорою заквасок, використовуваних при виробництві білкових продуктів.

Серед мікрофлори, що залишилася після пастеризації, є представники бактерій. Більшість термостійких мікробів є мезофілами, вони не розвиваються при температурі пастеризації, але, коли температура знижується, відновлюють ріст.

У молочній сироватці є значна кількість представників вторинної, що виникають у ході технологічного процесу. Це бактерій групи кишкових паличок, гнильна мікрофлора й ін.

У цей час із молочної сироватки виробляють більше 25 видів різної продукції: білків концентратів, напої, молочний цукор й ін.

Використання молочної сироватки у виробництві хлібобулочних, кондитерських і ковбасних виробів дозволяє збагатити їхніми повноцінними білками тваринного походження. Молочну сироватку широко використають у с/г: одержання альбуміну для корму худоби й птаха, готування бактеріальних заквасок.

2.2.1 Підготовка молочної сироватки для культивування мікроорганізмів

Спочатку осаджують і видаляють із сироватки білки. Для цього проводять термічну обробку: нагрівають до 85 °С и витримка при цій температурі в плині 10 хв із одночасною зміною рН середовища до досягнення ізоелектричної крапки осадження білків. Для зсуву реакції середовища використають лужні реактиви, молочну й соляну кислоту. Ущільнений білковий осад видаляють відстоюванням і фільтрацією. Прояснену молочну сироватку використають для вирощування кормових дріжджів. На вихід білка впливає також глибина теплової обробки молочної сироватки: вихід білка тим вище, ніж вона глибше. Це пов'язане з більше повною коагуляцією білків з ефективністю стерилізації.

До продуцентів білка на молочній сироватці ставляться дріжджі Candida utilis, tropicalis, Trichosporon cutaneum, Candida humicola, Wingea robertsii й інших.

Великий вплив на нагромадження біомаси мікроорганізмів робить зміст у молочній сироватці сухих речовин. Вихідна сироватка має концентрацію сухих речовин від 5,3 до 6,9 %. При вирощуванні мікроорганізмів сироватку можна розбавити в 5 - 6 разів або згустити в 2 - 2,5 рази.

При культивуванні дріжджових мікроорганізмів на молочній сироватці виходить (10 - 20 %) біомаса, що містить велику кількість вуглеводів і зольних елементів. Однак внесення сироватку додаткових джерел азоту у вигляді сечовини, сірчанокислого амонію й аміаку в кількості до 1 % збільшується вихід біомаси незначно (10 %), але сприяє підвищенню змісту білка в дріжджах в 2 - 4 рази. Молочна сироватка є відходом у харчовій промисловості.

**2.3 Умови культивування**

Всі продуценти білка, вирощування на молочній сироватці, аэрофіли, потреба їх у кисні велика, тому що окисляється не тільки лактоза, але й інші органічні речовини. Ці мікроорганізми – мезофіли, які добре ростуть при температурі від 24 до 32 °С. Молочна сироватка має високу буферну ємність і має діапазон значень рн від 4,5 до 6,5.

Також молочна сироватка є гарним субстратом для вирощування кормових дріжджів [14]. Молочна сироватка є недорогим джерелом для одержання чистого білка: в 1 т сироватки в середньому втримується 10 кг білка.

Як сировина для одержання білка дуже добре використати кормові дріжджі. У технічній літературі кормові дріжджі називають продукт, що складається із сухої клітинної маси грибів роду Candida, а також дріжджів, які є відходами виробництва спирту, пива й вина. Вирощування дріжджів - найпростіший спосіб одержати протеїн, вирощування дріжджів займає 2 години.

Кормові дріжджі - суха біомаса (з вологістю до 10 %) дріжджі-подібних грибів. Кормові дріжджі мають світлі - жовтий цвіт і виробляються в гранульованому або порошкоподібному стані. Гранули мають діаметр - 5,0 - 9,0 мм, довжину - не більше 15 мм. Строк придатності кормових дріжджів - півроку.

**3. Конструктивний розрахунок ферментатора з механічною мішалкою й барбатером**

Розрахунок: корпуса ферментатора, барбатера, мішалки, обмінних пристроїв.

Вихідні дані: геометричний об'єм 63 м3, гільза для термометра, відбійні перегородки, дві вертикальні труби в стінок апарата, об'ємна маса живильного ρ = 1060 кг/м3, динамічна в'язкість μс = 0,8 Па\*с, робочий тиск у ферментаторе при стерилізації парою – 0,2 МПа, коефіцієнт заповнення ферментатора живильним – середовищем R = 0,6.

**3.1 Конструктивний розрахунок ферментатора**

1. Розраховують загальну й циліндричну висоту (Нобщ, Нц). Внутрішній діаметр приймають звичайно 2 – 3 м, нехай Dвн = 3 м, висота еліптичної частини Нэл = 0,25\*Dвн = 0,75 м, h – висота отбортовки, h > 2S, де S – товщина стінки днища 2 – 4 мм; нехай h = 2\*3 = 6 мм.
2. Розраховуємо висоту Нц:

Повний об'єм ферментатора

Vп = Vц + 2Vдн,

Vц = Vп – 2Vдн.

Висота циліндричної частини апарата:

Нц = (Vп - 2Vдн)/F,

де F – площа перетину ферментатора по внутрішньому діаметрі.

Об'єм еліптичної частини:

,

де Р - внутрішній тиск в апарату, нехай Р = 0,25 Мпа;

φ - коеффициент міцності шва, φ = 1







Розраховуємо Нобщ.



До розрахункової висоти ферментатора додаємо розміри електромотора, муфти, редуктора.

Висоту культуральной рідини в апарату Нкж легко можна обчислити з рівняння:



**3.2 Розрахунок механічної мішалки ферментатора**

1. При глибинних способах ферментації часто застосовують турбінні мішалки. Діаметр турбінної мішалки, м:



Приймаючи коефіцієнт 0,3, одержимо:



Частота обертання мішалки:



Приймаючи кутову швидкість мішалки ώ = 5,08 м/с, одержимо:



Знаючи величину dм вибирають мішалку, а по величині частота обертання мішалки вибирають редуктор. Вибір типу мішалки відповідає залежності в'язкості середовища й окружної швидкості мішалки. Вибираємо турбінну мішалку.

1. Розрахунок споживаної потужності, Вт:



де КN – критерій потужності, що характеризується критерієм Рейнольдса (Reц), ρc – щільність середовища 1060 кг/м3; n – частота обертання мішалки, с-1; dm = 0,9 м.



За графіком нормалі НДІ (див. Павлов, Романков, задачник по процесах й апаратам) знаходимо КN. КN при наявності відбійних перегородок й областей турбулентних потоків становить 8 – 10. Приймаємо КN = 10.



Повна (розрахункова) потужність на валу мішалки, квт:



де k2 – коефіцієнт враховуючу додаткову потужність при пуску мішалки, k2 = 1,3.



,

де kп – коефіцієнт опору перегородок; kм – коефіцієнт опору труби для підведення повітря; для турбінної мішалки kтр = 0,3; kг – коефіцієнт опору гільзи для термометра, kг = 0,1; kз – опір змійовика.



Остаточну настановну потужність Nуст у КВт приводного електродвигуна мішалки обчислюємо по формулі:

,

де ή - КПД редуктора, приймаємо 0,95. Якщо рідина аэрується, то розраховує мощность, що, мішалки зменшується на 20 %, тобто одержимо 75,49 Квт.

Число ярусів турбінної мішалки mя = Нкж / 1,5dм = 5,29/1,5 \*0,9 = 3,92 ≈ 4 яруси.

**3.3 Розрахунок барбатера**

Досвіди показують, що, якщо швидкість витікання повітря з отвору барбатера дорівнює 20 м/с, а діаметр отвору 3 ÷ 5 мм, та відстань між центрами отворів повинне бути 25 - 30 мм, інакше окремі потоки повітря зливаються. При збільшенні швидкості витікання повітря на кожні 10 м/с відстань між отворами потрібно збільшити на діаметр отвору.

Розраховуємо геометричні розміри барбатера кільцевого.

1. Робочий об'єм ферментатора 
2. Кратність аерації для великого ферментатора 0,5 ÷ 1, а питомий об'єм витрати повітря 0,017 м3/(м3\*с). Для аэрирования 37,8 м3 рідини потрібно повітря: 
3. Площа всіх отворів барбатера при швидкості витікання повітря 20 м/с:

, якщо діаметр отвору прийняти 5 мм, те його площа буде 1,96\*10-5 м2. Тоді кількість отворів на барбатере буде:

.

1. При Dвн = 3 м, dм = 0,9 м = діаметру кільця барбатера; довжина кільця складе: l = 2πr = .
2. Відстань між отворами складе: 

Це менше, ніж повинне бути (25 ÷ 30 мм). Для досягнення що рекомендує ∆l можна розташувати отвори в кілька рядів. У кожному ряді повинне бути отворів 2830 / (25 ÷ 30 мм) = 115 ÷ 95 шт.

Усього рядів повинне бути:  - це багато.

Зменшуємо кількість рядів отворів до 4, тоді кількість на барбатері складе 4(115 ÷ 95) = 452 ÷ 380. Приймемо кількість отворів – 400 шт. Сумарна довга 4 рядів буде: , а відстань між 

1. Діаметр труби барбатера повинна бути в 5 разів більше ∆l:

Dб =  [16].

**4. Матеріальний і тепловий баланс**

білковий мікроорганізм флотація ферментатор

**4.1 Матеріальний баланс**

Сучасне промислове використання мікроорганізмів для виробництва білка здійснюється у ферментерах, що працюють за принципом хемостата. Обсяги ферментерів досягають кілька сотень кубічних метрів. У середовище з мікроорганізмами, що розмножуються, безупинно подаються водяний розчин мінеральних солей і застосовуваний у конкретному процесі органічний субстрат. Культура піддається перемішуванню й охолодженню. Швидкість виділення тепла в процесі росту аеробних мікроорганізмів прямо пропорційна швидкості споживання ними молекулярного кисню. На кожен грам спожитого мікроорганізмами CО2 виділяється 142 % КДж. Витрати на охолодження тим нижче, чим більше різниця температур між охолодним агентом і ферментаційним середовищем.

Раціональний процес вирощування здійснюється при лімітуванні росту мікроорганізмів киснем або близько до такого лімітування. Тому при раціональному проведенні процесу вирощування, коли масо-обмінна характеристика ферментера використається найбільше повно, швидкість фізіологічної теплопродукції у ферментері постійна, вона не залежить від використовуваного органічного субстрату й застосовуваного штаму мікроорганізму.

Баланс мікроелементів переробки органічного субстрату в біомасу мікроорганізмів можна представити у вигляді наступного рівняння:

СНmOl + aNH3 + b2 → ycCHpOnNq + (1 – yc)CO2 + C2O

У цьому рівнянні брутто – формула органічного субстрату й висушеної біомаси дані розраховуючи на один атом вуглецю. Наприклад, брутто – формула глюкози приймає вид СН2. Букви m й l характеризують склад конкретного субстрату, а букви p, n, q - склад отриманої біомаси.

На один атом вуглецю в клітинах дріжджів доводиться 1,7 атома водню й 0,55 атома кисню, а в клітинах бактерій на один атом вуглецю доводиться 1,82 атома водню й 0,47 атома кисню. Зміст азоту піддається більшим коливанням і його потрібно визначати в кожному конкретному випадку. Частка маси вуглецю в безводній біомасі безлічі різних мікроорганізмів дорівнює 0,46.

Вус – вихід по вуглеці. Частка вуглецю субстрату. Рівна вус, перейшла в біомасу, а інша частина (1 – вус) потрапила в O2. Аналогічним образом коефіцієнт із у рівнянні балансу відповідає числу молів, що утворилися, води. У процесі росту вода може споживатися й утворюватися. Коефіцієнт із відбиває сумарний баланс води в процесі росту мікроорганізмів розраховуючи на безводну біомасу. Коефіцієнт із показує число молів води, що утворилася при використанні одиниці субстрату в процесі росту з виходом по вуглеці, або з виходом O2 (1 – вус), з витратою аміаку а, або з витратою кисню b.

Матеріальний баланс можна розрахувати, знаючи кількість спожитого мікроорганізмами органічного субстрату й коефіцієнт при якому - або зі членів рівняння. Якщо кількість використаного субстрату невідомо, необхідно визначити два коефіцієнти.

Можна скласти формули, таблиці й графіки. Дозволяючи по відношенню двох коефіцієнтів рівняння росту визначити матеріальний баланс. Розгляд цих відносин має сенс тільки в можливих межах. Такими межами є, з одного боку, випадок, коли росту мікроорганізмів немає й весь органічний субстрат окисляється до СО2 і Н2О, а з іншого боку - ідеальний процес, коли вся хімічна енергія органічного субстрату збереглася б як хімічна енергія в біомасі. Фундаментальність поняття енергетичного виходу росту дозволяє використати його для порівняння ефективності процесів вирощування різних мікроорганізмів на різних органічних субстратах у фізіологічно порівнянних величинах. Значення енергетичного виходу росту лежать у зручних межах від 0 до 1. Обумовлене в експерименті або на виробництві значення енергетичного виходу росту відразу показує, наскільки отримана величина вилучена від граничного значення.

Значення виходу по масі, одержувані при вирощуванні мікроорганізмів на різних субстратах, не можна порівнювати для характеристики ефективності їхнього використання. Можна ввести поняття нормалізованих виходів, тобто виходів у відсотках від граничного значення для даного субстрату. Такі нормалізовані виходи були б ні чим іншим, як енергетичним виходом росту.

Значну цінність представляє вимір так званих неінерційних показників матеріального балансу – швидкостей споживання кисню й аміаку, утворення СО2.

При виборі параметрів для виміру балансу росту необхідно враховувати його специфічні закономірності на тім або іншому субстраті й характер змін показників балансу в робочій зоні вимірів. При вирощуванні дріжджів на метанолі відношення СО2/О2 менш зручно використати в зоні низьких виходів, чим у зоні середніх і високих значень виходів. А при вирощуванні на вуглеводах відношення СО2/О2 у зоні низьких виходів украй слабко залежить від виходу й, отже, незручно для визначення балансу росту.

Нарешті, важливо знати, чи вірно визначений баланс. Тому доцільно визначити двоє або більше відносин параметрів балансу. Потрібно зрівняти значення енергетичного виходу росту, одержувані при вимірі різних компонентів балансу. Якщо енергетичний вихід ростів, одержуваний різними способами, виявляється однаковим, результат можна враховувати.

Найважливішими узагальнюючими фізіологічними характеристиками росту мікроорганізмів є його швидкість й ефективність. Ефективність росту, що найбільше вдало виражати через енергетичний його вихід, є також технологічним показником першорядної важливості. Немає умов, оптимальних для росту взагалі, а є умови, оптимальні для швидкості росту. Локалізація оптимуму для цих двох характеристик може бути різної.

При мікробіологічному одержанні білків на будь-якому конкретному субстраті важливо, щоб ферментер працював з найбільшою продуктивністю, тобто масо-обмінна характеристика використалася б у максимальній мері. Разом з тим надлишки органічного субстрату подавати у ферментер недоцільно, тому що він не буде використаний, утруднить очищення стічних вод, а при вирощуванні мікроорганізмів на вуглеводнях у надлишковій кількості попадає в продукт.

Відомо, що при зміні режиму хемостатного вирощування навіть при збереженні тієї ж питомої швидкості росту може змінитися вихід. Тому при зміні температури або якого – або іншого фактора, що впливає на енергетичний вихід росту, може відбутися зміна ріст, що лімітує, фактора. У зв'язку із цим при зміні режимів культивування мікроорганізмів варто перевіряти, чи не відбулася зміна ріст, що лімітує, компонент харчування. Для цього потрібно ввести у ферментер разову дозу компонента, передбачуваного як, що лімітує ріст. Якщо цей компонент середовища дійсно лімітує ріст, негайно або в плині декількох хвилин зросте швидкість споживання кисню, аміаку, збільшується утворення О2. Реєструючи реакцію по кожному із цих неінерційних показників балансу, можна побачити чи лімітує доданий компонент ріст культури. Якщо реакції на добавку не спостерігається, отже, ріст культури лімітований яким - то іншим компонентом харчування. У такому випадку для виявлення ріст фактора необхідно послідовно випробовувати інші компоненти живильного середовища.

Таким чином, застосування деяких підходів матеріально - енергетичного балансу росту при вирощуванні біомаси мікроорганізмів дозволяє оперативно оцінювати й оптимізувати ефективність росту й продуктивність ферментера [19].

Продуктовим розрахунком визначається потреба в сировині та допоміжних матеріалів, а також кількість проміжних продуктів виробництва.

При проведенні розрахунків використовуються наступні вихідні дані:

* річний виробіток білка;
* кількість вихідної сировини;
* число робочих днів у році;
* апаратурно-технологічна схема виробництва білків.

На підставі прийнятої схеми вибираються наступні технологічні показники:

* число стадій вирощування білків;
* тривалість одержання білка на кожній стадії;
* вихід білка у % до маси молочної сироватки;
* ступінь розведення середовища;
* величина засіву в % до маси молочної сироватки;
* питома швидкість росту дріжджів.

На основі розрахунків (з урахуванням якості молочної сироватки і мінерального харчування) визначається витрата молочної сироватки, витрата мінерального харчування, вироблення білків по кожній стадії за добу.

Визначається витрата основної сировини і допоміжних матеріалів на річну і добову продуктивність заводу. Отримані дані використовуються для підбора і розрахунку технологічного устаткування.

Витрата молочної сироватки в кожній стадії визначається на підставі корисного обсягу апарата, призначеного для проведення даної стадії:



де М – витрата молочної сироватки, кг;

YП – обсяг апарата корисний, м3.

Кількість засівних дріжджів Д0 визначається по кожній стадії, по формулі:



де Д0 – кількість засівних дріжджів, кг;

g – величина засіву в % до маси молочної сироватки.

Вироблення білка по стадіях визначається по формулі:



де Д – вироблення білка по стадіях, кг;

В – вихід білка у % до маси молочної сироватки.

З формули основного закону експонентного росту мікроорганізмів визначається коефіцієнт швидкості нагромадження біомаси дріжджів ( модуль швидкості росту) К і коефіцієнт годинного приросту Н:



де Д0 – коефіцієнт швидкості нагромадження біомаси дріжджів (модуль швидкості росту).

Н – коефіцієнт годинного приросту:

t – час тривалості процесу, год.



Для характеристики процесу одержання білка необхідно підрахувати нагромадження дріжджів по стадіях:



де С – нагромадження дріжджів по стадіях, кг/м3.

Річна кількість товарних циклів визначається по формулі:



де П – річна продуктивність, т

Дт – отримано білка кг у товарній стадії з 1 – ого апарата

t – тривалість одержання білка у товарній стадії, год;

4 – число годин необхідних на звільнення апарата, його мийку і дезінфекцію.

Витрата дріжджів на засів в рік визначається по формулі:

Д0рік = Црік\*Д0 ( на 1 засів)

Стадія товарного апарата:

М = 37,8\*103 = 37800 кг



кг;



Визначаємо річну кількість циклів у рік:

Црік = 

Для вироблення 900 т білка буде потрібно n = 265/300 = 0,8, тобто одна технологічна лінія товарної стадії.

Усі раніше отримані дані по витраті молочної сироватки, дріжджів, нагромадженню білка дають можливість обчислити витрату молочної сироватки на вироблення 10 кг білка по формулі:

 (М і Д – сума по всій технологічній стадії)

До основних матеріалів у білковому виробництві відносяться: сульфат амонію, діамоній фосфат, хлорид калію, екстракт кукурудзи.

Розрахунок кількості діамоній фосфату в кг вичислюється по формулі:



де Ф – кількість фіамоній фосфату, кг;

Д – вироблення білка у даній стадії, кг;

Р – кількість, що передбачається, Р2О5 у білку, %;

1,1 – коефіцієнт, що враховує надлишок Р2О5 у середовищі, що складає 10 % від його кількості, що утримується в білку даної стадії;

51,2 – вміст Р2О5 у діамоній фосфаті, %.

Розрахунок кількості діаммонію фосфату для товарного порядку:



Розрахунок кількості сульфату амонію по стадіях виробництва здійснюється по формулі:

,

де С – кількість сульфату амонію, кг;

N2др, N2мол.сив.., N2дф – вміст азоту відповідно в дріжджах, молочній сироватці, діамоній фосфаті, %;

М – витрата молочної сироватки по стадіях, кг;

21 – вміст азоту в сульфаті амонію для товарної стадії, %.

Зразковий розрахунок задачі сульфату амонію для товарної стадії:



Розрахунок хлориду калію по стадіях виробництва, кг:



де Д0 – кількість хлориду калію, кг;

3,5 – необхідний вміст К2О в молочній сироватці, %;

k – вміст К2О, що переробляє мій молочною сироваткою;

М – кількість молочної сироватки для виробництва 10 кг білка даної стадії, кг;

К1 – вміст К2О в хлориді калію, %.

Зразкова витрата солей хлориду калію для товарного порядку:



Використовуючи норми витрат допоміжних матеріалів на вироблення 10 кг білка, величини їх затрат у виробництві можна розрахувати на задану річну продуктивність заводу.

**4.2 Тепловий баланс**

З метою відведення тепла, що виділяється в результаті одержання білка, ферментери обладнанні виносними теплообмінниками. У яких культуральне середовище охолоджується водою.

Вихідні дані: середнє питоме тепловиділення – 4171 кДж/кг дріжджів;

Приріст дріжджів у ферментаторі – 800 кг/год;

Культуральне середовище охолоджується від 32 °С до 26 °С;

Початкова t охолоджувальної води 10 °С;

Кінцева t води 27 °С.

Загальна кількість тепла, що відводиться від охолоджувального середовища:

Qбіол = 4171\*800 = 3336,8\*1000 кДж/год

Кількість тепла, що відводиться аеруючим повітрям:

Qпов = 54,6\*4500 = 245,7\*1000 кДж/год

54,6 кДж/кг – збільшення теплоємкості;

4500 км/год – кількість повітря, що надходить в апарат.

З достатньої для інженерних розрахунків точністю кількість тепла, що витрачається на нагрівання води, що доливається в апарат. Молочна сироватка і розчини живильних солей, приймається 5 % від Qбіол.

Qжив = 0,05\*3336,8\*103 = 166,8\*1000 кДж/рік.

Тоді кількість тепла, що відводиться з охолоджувальною водою в пластинчастому теплообмінику:

Qвод = Qбіол – Qпов – Qжив = 2924,3\*103 кДж/рік

Витрата холодної води на охолодження середовища в теплообміннику:



де і  - початкова і кінцева t охолоджувальної води;

р – щільність води при середній t 998,4 кг/м3;

с – питома теплоємкість води при t 4,205 кДж/(кг\*К).

Середня різниця t теплообмінних рідин:

26 °С 32 °С

живильне середовище

10 °С 27°С

Вода



Коефіцієнт теплопередачі приймаємо К = 1200 Вт/(м2\*К).

Поверхня охолодження теплообмінника:



Приймаємо найближчу стандартну поверхню F = 80 м2.

Продуктивність пластинчатого теплообмінника по культуральному середовищу розрухуємо по рівнянню:



Y – продуктивність теплообмінника, м3/год;

рс – відповідно щільність і питома теплоємність культурального середовища:



**5. Обґрунтування економічної доцільності застосування кормових дріжджів при виробництві білка**

Метою цього розділу є розрахунок економічної ефективності та строку окупності прийнятого технологічного рішення.

Для розрахунку економічної ефективності необхідно:

* вибрати аналог для порівняння з розробленим технічним рішенням;
* проаналізувати натуральні показники;
* мати дані о собівартості продукції по новому варіанту;
* порівняти витрати;
* розрахувати одноразові капітальні витрати;
* визначити економічний ефект.

Натуральними показниками з порівнянним варіантом можуть бути: потужність, витрати сировини та матеріалів, енергоємність (витрати різних видів енергії); потрібна кількість обладнання та його характеристики; трудоємкість або чисельність працюючих; тривалість циклу; показники якості продукції (ґатунку, процент браку) та процесу (процент виходу корисної речовини, глибина перетворення) та інші.

Для розрахунку результату треба чітко визначити, що дає нова розробка: або підвищення виробництва, якості продукції, або зменшення витрат. У всякому випадку треба визначити обсяг виробництва на підставі заданої потужності. Інколи результат необхідно підрахувати в обсязі не тільки одного підприємства, а навіть усієї галузі.

Оцінити ефективність капітальних вкладень – це означає вибрати з альтернативних варіантів у процесі створення нового або раніше створеного найекономічніші способи витрачання капіталу. Економічний ефект розуміють як різницю між затратами у грошовому виразі і результатами. Ефект – це корисний результат: економічний, соціальний, екологічний, науково-технічний.

Порівняння результату з витратами називається економічною ефективністю капіталовкладень.

Витрати на обладнання можуть бути визначені згідно дольових капітальних витрат, по галузі, по різноманітним виробництвам. По структурі основних фондів галузі визначаються вартість будівель, споруд та інших основних фондів. Інші капітальні вкладення визначаються як витрати, що здійснюються до виробництва. Поточні витрати визначаються згідно із структурою собівартості.

Визначаються витрати на сировину, матеріали та енергоресурси по дольовим нормам витрачення. Попередньо необхідно визначити річних обсяг випуску продукції. Чисельність працюючих визначається по типовим штатним галузевим нормативам.

**5.1 Обсяг виробництва**

Обсяг виробництва можна визначити за формулою (5.1):

Q1 = А \* П1 \* Т \* Квик.об, (5.1)

де А – кількість апаратів, А = 1;

П – потужність одного апарату, П1 = 0,23 т/год;

Т – кількість робочих годин на рік;

Квик.об – коефіцієнт використання обладнання, Квик.об = 0,85.

Кількість робочих годин на рік розраховуємо за формулою (5.2):

Т = Траб \* Nзм \* t, (5.2)

де Траб – кількість робочих днів у році;

Nзм – кількість змін, Nзм = 3;

t – тривалість однієї зміни, t = 8 годин.

Розрахуємо кількість робочих днів у році за формулою (5.3):

Траб = Ткіл – Трем, (5.3)

де Ткіл – кількість днів у році, Ткіл = 365 днів;

Трем – зупинка на капітальний і потоковий ремонт, Трем = 40 днів

Траб =365 – 40 = 325 днів.

Т = 325 \* 3 \* 8 = 7800 годин.

Розраховуємо обсяг виробництва:

Q1 = 1 \* 0,23 \* 7800 \* 0,85 = 1525 т/рік.

**5.2 Розрахунок витрат на створення технічних рішень**

Витрати на створення технічних рішень знаходимо за формулою (5.4)

В = Впред + Вкап + Вінш, (5.4)

де Впред – витрати, що здійснюються до виробництва, витрати на дослідження проектування та конструювання до упровадження;

Вкап – витрати на основні виробничі фонди;

Вінш – інші витрати.

Розраховуємо суму капітальних витрат на основні фонди (Вкап). Вартість обладнання складає 100000 грн. До цього додаємо:

* 30% на обладнання, що не враховано – 30000 грн,
* 20% на монтаж – 20000 грн,
* 43% на комунікації – 43000 грн.

Вкап = 100000 + 30000 + 20000 + 43000 = 193000 грн.

Впред приймаються 10% від Вкап і складають 19300 грн.

Вінш приймаються 5% від Вкап + Впред і складають 10615 грн.

Таким чином витрати на створення технічних рішень складають:

В = 193000 + 19300 + 10615 = 222915 грн.

**5.3 Розрахунок показника економічної ефективності**

На рівні підприємства економічну ефективність Епр визначають співвідношенням суми одержаного прибутку Пр до вкладеного в підприємство капіталу В за формулою (5.5):

Епр =  (5.5)

При виробництві білка з використанням дріжджів, що приготовлені на молочній сироватці її собівартість складала С1 = 15456,2 грн., а ціна реалізації без ПДВ – Ц1 = 16668,4 грн.

При виробництві білка з використанням кормових дріжджів, а також внесення кукурудзяного екстракту значно покращуються вихід і якість отримання чистого білка. Собівартість такої продукції дорівнює: С2 = 17694,2 грн./т. Ціна без ПДВ дорівнює: Ц2 = 18923,4 грн./т.

Прибуток до введення використання нової технології складав:

Пр1 = (Ц1 – С1) \* Q1 = (16668,4 - 15456,2) \* 1525 = 1848605 грн./рік.

Прибуток після введення використання нової технології склав:

П2 = 0,25 т/год.

Q2 = 1\*0,25\*7800\*0,85 = 1657,5 т/рік.

Пр2 = (Ц2 – С2) \* Q2 = (18923,4 – 17694,2) \* 1657,5 = 2037499 грн./рік.

Збільшення прибутку становить:

Пр = Пр1 – Пр2 = 2037499 – 1848605 = 188794 грн/рік.

Розраховуємо показник економічної ефективності:

Епр = 188794 / 222915 = 0,85

Епр співпадає з рентабельністю по економічному змісту.

Величина обернена показнику економічної ефективності відповідає строку окупності капіталовкладень Ток.

року.

Розрахувавши коефіцієнт економічної ефективності та строк окупності капіталовкладень ми можемо зробити висновок, що використання в якості стимуляторів росту дріжджів кукурудзяного екстракту, у результаті чого ми отримаємо чистий протеїн, є економічно доцільним.

**6. Охорона праці й навколишнього середовища**

**6.1 Загальні питання охорони праці**

Під охороною праці розуміють систему правових, соціально-економічних, організаційно - технічних, санітарно-гігієнічних і лікувально-профілактичних заходів і засобів, спрямованих на збереження здоров'я й працездатності людини в процесі праці.

Ціль - визначити виробничі небезпеки й професійні шкідливості процесу для усунення нещасних випадків і виробничих захворювань робітників, аварій і пожеж.

Загальні питання охорони праці передбачені законодавством України. Основні законодавчі акти, які забезпечують правову основу охорони праці:

* Конституція України;
* Закон України «Про охорону праці»;
* Кодекс Законів про Працю;
* інші спеціальні законодавчі акти.

Основні принципи державної політики в області охорони праці відображені в статті 4 Закону України «Про охорону праці» (Прийнято Верховною радою в листопаді 2002р.):

- Пріоритет життя й здоров'я працівника стосовно результатів виробничої діяльності підприємства, повна відповідальність власника за створення безпечних і нешкідливих умов праці;

- комплексне рішення завдань по охороні праці на основі національних програм;

- соціальний захист працівника, повне відшкодування збитку особам, що потерпіли від нещасних випадків на виробництві й професійних захворюваннях;

- установлення єдиних нормативів по охороні праці для всіх підприємств;

- використання економічних способів керування охорони праці, проведення політики пільгового оподатковування;

- проведення навчання населення професійної підготовки й підвищення кваліфікації працівників з питань охорони праці;

організацій й об'єднань громадян, що вирішують різні проблеми охорони праці здоров'я й безпеки праці;

- міжнародне співробітництво в області забезпечення координації діяльності державних органів, установ, ласті охорони праці, використання світового досвіду організації роботи з підвищення безпеки праці.

**6.2 Організація управління охороною праці в цеху для виробництва дріжджів**

Відповідно до ст. 13 закону України „Про охорону праці” роботодавець зобов’язаний створити на робочому місці в кожному структурному підрозділі умови праці відповідно до нормативно-правових актів, а також забезпечити додержання вимог законодавства щодо прав працівників у галузі охорони праці.

З цією метою роботодавець забезпечує функціонування системи управління охороною праці, а саме:

- створює відповідні служби і призначає посадових осіб, які забезпечують вирішення конкретних питань охорони праці, затверджує інструкції про їх обов’язки, права та відповідальність за виконання покладених на них функцій, а також контролює їх додержання;

- забезпечує виконання необхідних профілактичних заходів відповідно до обставин, що змінюються;

- впроваджує прогресивні технології, досягнення науки і техніки, засоби механізації та автоматизації виробництва, вимоги ергономіки, позитивний досвід з охорони праці тощо;

- забезпечує належне утримання будівель і споруд, виробничого обладнання та устаткування, моніторинг за їх технічним станом;

- забезпечує усунення причин, що призводять до нещасних випадків, професійних захворювань, та здійснення профілактичних заходів, визначених комісіями за підсумками розслідування цих причин;

- організовує проведення аудиту охорони праці, лабораторних досліджень, умов праці, оцінку технічного стану виробничого обладнання та устаткування, атестацій робочих місць на відповідність нормативно-правовим актам з охорони праці в порядку і строки, що визначаються законодавством, та за їх підсумками вживає заходів до усунення небезпечних і шкідливих для здоров’я виробничих факторів;

- розробляє і затверджує положення, інструкції, інші акти з охорони праці, що діють у межах підприємства (далі – актив підприємства), та встановлюють правила виконання робіт і поведінки працівників на території підприємства, у виробничих приміщеннях, на будівельних майданчиках, робочих місцях відповідно до нормативно-правових актів з охорони праці, забезпечує безоплатно працівників нормативно - правовими актами та актами підприємства з охорони праці;

- здійснює контроль за додержанням працівником технологічних процесів, правил поводження з машинами, механізмами, устаткування та іншими засобами виробництва, використанням засобів колективного та індивідуального захисту, виконанням робіт відносно до вимог з охорони праці;

- вживає термінових заходів для допомоги потерпілим, залучає за необхідності професійні аварійно-рятувальні формування у разі виникнення на підприємстві аварій та нещасних випадків.[1].

Шкідливі й небезпечні виробничі фактори.

Короткий аналіз шкідливих і небезпечних виробничих факторів, наявних в умовах експлуатації ферментатора й допоміжних пристроїв, наведені в табл. 6.1.[ 2].

Таблиця 6.1 - Небезпечні й шкідливі виробничі фактори

|  |  |
| --- | --- |
| Шкідливі й небезпечні виробничі фактори. | Джерела їхнього виникнення. |
| Висока електрична напруга, V=220 - 380 B | Щит керування, електроприводи. |
| Вибухо – пожежонебезпека H2SO4; пил дріжджова. | Дріжджовий цех. |
| Шум, вібрація. | Електронасоси, вентиляційні системи. |
| Дріжджі кормові (горючий порошок коричневого кольору). | Цех по виробництву кормових дріжджів. |
| Машини, що рухаються; механізми. | Фасовочний апарат |

**6.3 Промислова санітарія**

6.3.1 Шкідливі речовини

Шкідливі речовини, з якими доводиться працювати в цеху наведені в табл. 6.2

Таблиця 6.2 - Характеристика шкідливих речовин, застосованих у виробництві. [ 3,4,5].

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Речовина | Токсичність | ПДК, мг/м3 | Клас небезпеки |
| Сірчана кислота. | Дратує слизові оболонки ВДП, вражає печінку, викликає важкі опіки. | 1,0 | 2 |
| Дріжджі кормові. | Впливає на органи подиху. | 0,1 | 1 |

6.3.2 Мікроклімат

Категорія виконаних робіт з енерговитрат. Параметри мікроклімату при виконанні робіт категорії – I Iа.

Оптимальні і допустимі параметри мікроклімату надаються в табл. 6.3 [6].

Таблиця 6.3

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Пори року | Категорії робіт,які виконуються | Температура, 0С | | Вологість, % | | Швидкість повітря, м/с | |
| оптим | допуст | оптим | Допустимо. | оптим | Допустимо |
| Холодний період | Па | 18-20 | 17-23 | 40-60 | 75 | 0,2 | 0,3 |
| Теплий період | Па | 21-23 | 18-27 | 40-60 | 65 | 0,3 | 0,2-0,4 |

6.3.3 Вентиляція

У даному виробництві використається змішаний вид вентиляції, по напрямку руху повітряного потоку застосовується припливно-витяжна вентиляція, по характері охоплення приміщення застосовується загально-обмінна вентиляція. Час дії - постійно. Опалення - центральне. [7].

6.3.4 Освітлення

Освітлення в цеху природне й штучне. Природне висвітлення одностороннє бічне. Розряд зорових робіт: ІV.

Нормативне значення коефіцієнта природної освітленості визначається по формулі:

еІVн= еІІІн·m·c, %,

де m - коефіцієнт світлового клімату (m = 0,9)

с - коефіцієнт сонячного клімату (с = 0,75 – 1);

еІІІн – нормативне значення коефіцієнта природної освітленості для ІІІ пояса

еІІІн = 1,5 %.

еІVн = 1,5·0,9·0,8 = 1,08 %.

Поряд із природним освітленням використається система штучного комбінованого освітлення. Використовуються лампи денного світла. Для висвітлення робочих місць використаються лампи денного світла типу ЛД-80-2.

Нормоване значення освітленості для IV розряду зорових робіт становить 200 лк. [8].

Таблиця 6.4 - Характеристики освітлення

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Назва приміщення | Площа підлоги, м2 | Розряд зорових робіт | Освітлення | | |
| природне | | штучне |
| Вид освітлення (бічне, зверху). | КПО,% | Нормативне освітлення, Еmin, лк |
| Цех дріжджового заводу | 600 | I V | Одностороннє бічне | 1,08 | 200 |

6.3.5 Джерела шуму й вібрації

До джерел шуму й вібрації ставляться вентиляційні установки,

електродвигуни, насоси. Орієнтовний рівень звукового тиску не перевищують припустимих значень 75 дБА. [9].

**6.4 Електробезпечність**

Рід струму – змінний, частота – 50 Гц, напруга 220/380 В. Клас приміщення по небезпеці поразки електричним токовищем –І І. [10].

**6.5 Пожежна безпека**

Категорія приміщення по вибухо - і пожежонебезпеки - Б. [11]. Будинок цеху ставиться до ІІ ступеня вогнестійкості. У приміщенні передбачені первинні засоби пожежогасіння: вогнегасники ВВК – 5 у кількості 6 шт. та ВП – 1 у кількості 6 шт. [12].

Табл. 6.5 - Перелік обов'язкових засобів пожежогасіння

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Приміщення | Площа, м2 | Первинні засоби пожежогасіння (тип) | Кількість шт. |
| Б | 600 | Порошкові: ВП – 1 | 6 |
| Вуглекислотні: ВВК – 5 | 6 |

**6.6 Очищення стічних вод**

На даному промисловому виробництві передбачені цехові загальнозаводські очисні спорудження. Використаються наступні засоби очищення:

- механічні (відстійники, фільтри);

- біологічні (біофільтри);

- хімічні й фізико - хімічні (нейтралізатори). [13].

**Література**

1. Закон України «Про охорону праці», листопад 2002 р.

2. ГОСТ 12.0.003 – 74 ССБТ. Опасные и вредные производственные факторы. Классификация. – Введ. 01.01.76.

3. Лазарев Н. В. Вредные вещества в промышленности. – М.: Химия, 1976. – Ч. І. – 336с.

4. Лазарев Н. В. Вредные вещества в промышленности. – М.: Химия, 1976. – Ч. ІІ. – 400с.

5. Макаров Г. В. И др. Охрана труда в химической промышленности. – М.: Химия, 1980. – 568 с.

6. ГОСТ 12.1.005-88 ССБТ. Общие санитарно-гигиенические требования к воздуху рабочей зоны. - Введ. 01.01.89.

7. СНиП 2.04.05-91 Нормы проектирования. Отопление, вентиляция и кондиционирование воздуха. - М.: Стройиздат, 1991

8. СНиП II-4-79. Естественное и искусственное освещение. Нормы проектирования. - М .: Стройиздат, 1980. -110с.

9. ГОСТ 12.1.003-83\* ССБТ. Шум. Общие требования безопасности. - Введ. 01.01.1980.

10. Правила устройства электроустановок. Энергоатомиздат, 1987.

11. ГОСТ 12.1.004-91 ССБТ. Пожарная безопасность. Общие требования. – Введ. 01. 07. 92.

12. ОНТП 24 – 86 МВД СССР. Общесоюзные нормы технологического проектирования. – М., 1986.

13. Родионов А.И., Клушин В.Н., Торочешников Н.С. Техника защиты окружающей среды. – М.: Химия, 1989. – 512 с.

14. Шевелуха В.С. Сельськохозяйственная биотехнология. – М: Высшая школа, 1988 г. – 416 с.

15. Патентный поиск. Дональд Оливер Хитцман. Способ получения протеина.

16. Алферов Е.А., Данилов И.П. Учебное пособие по курсу “Оборудование микробиологической промішленности” – Харьков: ХГПУ 1999, - 288 с.

17. Плевако Е.А. Бакушинская О.А. Микробиологический и химико – технологический контроль дрожжевого производства, - М: Пищевая промішленность, 1964 г. – 269 с.

18. Степаненко П.П. Микробиология молока и молочной продукции. – 1999 г.

19. Грачева И.М., Иванова Л.А. и др. Технология микробных белковых препаратов, аминокислот, биоэнергии – М.: Колос, 1992 г. – 380 с.

20. Елинов Н.П. Основы биотехнологии. Учебник – 599 с.

21. Губский Ю.И. Биологическая химия. Укрмедкнига Киев – Тернополь, 2000 г. – 508 с.