

застойных зон в камере сухого тушения;

- снизить удельный расход электроэнергии вследствие уменьшения гидравлического сопротивления системы.

Следует особенно подчеркнуть, что, согласно проведенным расчетам, в промышленной камере сухого тушения при попадании кусков кокса из непродуваемой зоны по центру

камеры в район дутьевого устройства интенсивность теплообмена настолько велика, что в куске возникают термические напряжения, способные приводить к образованию трещин. Уменьшение объема непродуваемого конуса, а, следовательно, и количества кокса, проходящего через эту зону, будет способствовать улучшению качества кокса и увеличению выхода доменного кокса.

Список использованной литературы

1. Бертлинг Х. Развитие способа сухого тушения кокса / Х. Бертлинг, Х. Бэр // Глюкауф. — 1983. — № 13. — С. 25–30.
2. Климовицкая А. Б. Сухое тушение кокса (обзор) / А. Б. Климовицкая, Г. Е. Бородина, Г. И. Пивень // Кокс и химия. — 1990. — № 8. — С. 18–24.
3. О совершенствовании установок сухого тушения кокса / В. В. Бондаренко, Е. А. Данилин, Ю. М. Волович и др. // Кокс и химия. — 1991. — № 11. — С. 27–30.
4. Курунов И. Ф. Развитие и эффективность углеподготовки, технологии коксования и тушения кокса в Китае и Японии / И. Ф. Курунов, П. В. Лизогуб, О. В. Голубев // Кокс и химия. — 2010. — № 9. — С. 22–27.
5. Улановский М.Л. Взаимосвязь показателей механических и физико-химических свойств кокса мокрого и кокса сухого тушения / М.Л. Улановский // Кокс и химия. — 2010. — № 6. — С. 17–23.
6. Фальков М.И. Энергосбережение и энергоэффективность в проектах Гипрококса на предприятиях черной металлургии Украины / М.И. Фальков // Кокс и химия. — 2009. — № 7. — С. 69–72.
7. Старовойт А. Г. Кинетика движения и характер охлаждения кокса в камере УСТК / А.Г. Старовойт, В. А. Анисимов, В. Ф. Гончаров // Кокс и химия. — 1990. — № 3. — С. 9–10.
8. Гребенюк А. Ф. Расчеты процессов коксового производства. Пособие по проектированию / А. Ф. Гребенюк, А. И. Збыковский. — Донецк: Норд-пресс, 2008. — 322 с.
9. Камера сухого гасіння коксу: патент на корисну модель 31141: МПК (2007. 01) С10 В39/02 / Гребенюк А.В., Голубев А.В.; заявники і власники Україна, Донецький національний технічний університет. — № u2007 13694; заявл. — 07. 12. 2007; опубл. 25. 03. 2008, Бюл. № 6.

Надійшла до редколегії 22.12.2011

© Голубев А.В., Збыковский Е.И., Дюбанов А.В., Топоров А.А., 2012

УДК 579.841.222

В. А. Єрохін, О. В. Карпенко (Відділення фізико-хімії горючих копалин Інституту фізико-органічної хімії і вуглехімії ім. Л. М. Литвиненка НАН України)

ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ АЕРАЦІЇ НА ПРОЦЕС КУЛЬТИВУВАННЯ ШТАМУ *PSEUDOMONAS SP. PS-17* – ПРОДУЦЕНТА ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИХ РЕЧОВИН

Досліджено вплив аерації на ріст та біосинтез поверхнево-активних речовин штамом *Pseudomonas sp. PS-17*. Визначено оптимальні параметри аерації для культивування штаму *Pseudomonas sp. PS-17* у колбах та у ферментерах різних конструкцій. Підтверджено ефективність застосування інтегрального стехіометричного рівняння процесу ферментації для розрахунків параметрів аерації. Визначено, що оптимальною для синтезу біоПАР є конструкція біореактора з інжекційно-вихровою системою аерації. Встановлено, що керована подача кисню в процесі ферментації дозволяє суттєво оптимізувати процес мікробного синтезу біоПАР та збільшити вихід цільового продукту до 12,40 г/л.

Ключові слова: біореактор, системи аерації, мікробний синтез.

*Исследовано влияние аэрации на рост и биосинтез поверхностно-активных соединений штаммом *Pseudomonas* sp. PS-17. Определены оптимальные параметры аэрации для культивирования штамма *Pseudomonas* sp. PS-17 в колбах и ферментерах различных конструкций. Подтверждена эффективность использования интегрального стехиометрического уравнения процесса ферментации для расчетов параметров аэрации. Установлено, что конструкция биореактора с инжекционно-вихревой системой аэрации является оптимальной для синтеза биоПАВ. Показано, что управляемая подача кислорода в процессе ферментации позволяет существенно оптимизировать процесс микробного синтеза биоПАВ и увеличить выход целевого продукта до 12,40 г/л.*

Ключевые слова: биореактор, системы аэрации, микробный синтез.

Вступ

З розвитком біотехнології особлива увага приділяється дослідженню біогенних поверхнево-активних речовин (біоПАВ, біосурфактанти) — продуктів мікробного синтезу. Протягом останніх десятиліть біосурфактанти є об'єктом інтенсивних фундаментальних та прикладних досліджень у Німеччині, США, Канаді, Ізраїлі, Кореї та інших країнах [1]. ПАВ біологічного походження мають значні переваги перед синтетичними аналогами: вони є вискоєфективними, але разом з тим, нетоксичними, неалергенними та біодеградабельними [2]. Дослідження умов синтезу біогенних ПАВ має важливе значення для їх промислового виробництва та визначення напрямків застосування.

Серед широкого спектру перспективних мікроорганізмів-продуцентів ПАВ найбільшої уваги заслуговують представники роду *Pseudomonas*, які синтезують позаклітинні поверхнево-активні гліколіпіди з високою поверхневою, емульгуювальною, піноутворювальною активністю [3].

Для проведення ефективного процесу біотехнологічного виробництва необхідним є визначення оптимальних параметрів культивування штаму-продуценту, насамперед складу поживного середовища, температури, рН-середовища, кількості посівного матеріалу та тривалості культивування. Разом із тим, ефективність ростових і біосинтетичних процесів аеробного мікроорганізму визначається також режимом аерації ферментаційного середовища, оскільки, залежно від ступеня його насиченості

киснем, змінюються такі параметри, як кількість біомаси, питома швидкість росту, інтенсивність споживання субстратів і накопичення цільових продуктів [4, 5].

Процеси метаболізму мікроорганізмів за участі кисню включають десятки біохімічних реакцій, тісно пов'язаних між собою. Врахувати в матеріальному балансі всі ці реакції практично дуже складно навіть із застосуванням сучасної комп'ютерної техніки. Достатньо точні з технологічної точки зору дані для визначення потреби мікроорганізмів в аерації, можна отримати, використовуючи інтегральне стехіометричне рівняння процесу ферментації [6].

Першочерговою задачею при масштабуванні лабораторного ферментаційного процесу до об'ємів промислового виробництва є вибір оптимальної моделі біореактора. На даний час у промисловості використовується велика кількість ферментерів, які відрізняються за конструкцією, способами аерації та перемішування. Кожен із них має свої переваги та недоліки. Найчастіше застосовуються біореактори для глибинного культивування аеробних мікроорганізмів, які традиційно поділяються на три групи (за способом підведення енергії на перемішування): з газовою фазою, з перемішувачем та комбіновані. Найбільш поширеними є комбіновані біореактори, в яких енергія передається як з газовою фазою (барботером), так і з перемішувачем (мішалкою).

Одними із основних критеріїв при виборі системи ферментера є за-

безпечення достатнього масообміну за киснем та рідкою фазою. Крім того, важливою проблемою, яку при цьому потрібно враховувати, є піноутворення при культивуванні мікроорганізмів.

Останнім часом ведуться дослідження щодо можливості використання ферментерів нових конструкцій, які б були більш ефективними у порівнянні з класичними біореакторами. До них належать реактори з самовсмоктуючими мішалками, струменеві, плівкові, газо-вихрові, інжекційні, реактори з пористим днищем, із напівпроникними перегородками та інші [7-10].

Мета даної роботи — дослідити та оптимізувати параметри аерації при культивуванні штаму *Pseudomonas* sp. PS-17 у колбах та ферментерах різної конструкції, а також визначити оптимальну модель біореактора для промислового процесу біосинтезу поверхнево-активних речовин.

Матеріали і методи

Об'єктом досліджень є бактеріальний штам *Pseudomonas* sp. PS-17 – продуцент позаклітинних ПАР–рамноліпідів, з колекції культур Відділення фізико-хімії горючих копалин ІнФОВ ім. Л.М.Литвиненка НАН України [11].

Культивування штаму проводили у колбах Ерленмейєра (750мл) з робочим об'ємом 150 мл на ротаційній качалці (WL-2000, JV Electronic, Poland) при швидкості обертів 40, 100, 160 і 220 об/хв. та амплітуді перемішування – 10 і 20 мм. Для культивування продуценту використовували також лабораторний скляний ферментер об'ємом 5л (SIMAX, Czech Republic), коефіцієнт заповнення змінювали в межах 0,4–0,8. Стерилізацію ферментера проводили разом з поживним середовищем протягом 45 хв. при температурі 125°C (стерилізатор ВК-50, $p = 2,1$ бар).

Ферментацію здійснювали за температури 30°C на оптимізованому поживному середовищі наступного складу (г/л): гліцерин – 30; натрію цитрат – 4,0; NaNO_3 – 3,0; $\text{K}_2\text{HPO}_4 \times 3\text{H}_2\text{O}$ – 2,0; KH_2PO_4 – 1,2; $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,5 [12].

Як інокулят використовували 24-годинну культуру (титр клітин 2×10^8 кл/мл) в експоненційній фазі росту, вирощену на середовищі з гліцерином (2% мас.) як джерелом вуглецю. Посівний матеріал брали в кількості 10% від об'єму культурального середовища.

Аерацію середовища здійснювали за допомогою компресора (SERA air550R, «Sera», Germany) з витратою повітря 0,25–6 м³/м³·хв. і контролювали лабораторним ротаметром.

У процесі ферментації визначали кількість біомаси, рН середовища, температура, вміст розчиненого кисню в культуральній рідині, а також показники синтезу продукту: концентрація рамноліпідів, індекс емульгування, поверхневий натяг супернатанту КР та умовна концентрація ПАР. Значення рН середовища, температури та вмісту розчиненого кисню визначали за допомогою відповідних електродів з використанням автоматичного аналізатора «Експерт-001-4.0.1»(ООО «ЭкониКС-Эксперт», Росія) у режимі реального часу.

Біомасу бактерій визначали за оптичною густиною на спектрофотометрі КФК-2 (ПО «ЗОМЗ», Росія) при довжині хвилі 540 нм у кюветах 5мм [13].

Питому швидкість росту мікроорганізмів та тривалість лаг-фази розраховували, як описано в роботі [14].

Визначення концентрації рамноліпідів у культуральній рідині проводили після їх попередньої екстракції сумішшю хлороформ-ізопропанол (2:1) за орциновим методом на спектрофотометрі SHIMADZU-1250UV («Shimadzu», Japan) [15].

Визначення поверхневого натягу супернатанту КР та умовної концентрації ПАР проводили методом Дю-Нуї за допомогою платинового кільця [16] на тензіометрі KRÜSS K6 («KRÜSS» GmbH, Germany).

Індекс емульгування (E_{24}) визначали за методом [17] з використанням вазелінової олії як гідрофобної фази.

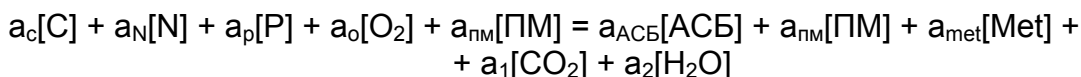
Розрахунок інтегрального стехіометричного рівняння, матеріального балансу процесу ферментації, теоретичного значення швидкості споживання кисню та об'ємного коефіцієнту масопереносу $K_L a$ здійснювали як описано в роботі [6].

Швидкість розчинення кисню в середовищі, коефіцієнт масопереносу $K_L a$ в реакторі та швидкість поглинання кисню в процесі культивування визначали за методом [18].

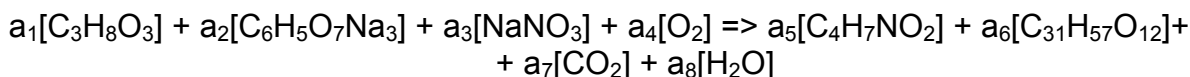
Вихід біомаси від субстрату (економічний коефіцієнт $Y_{x/s}$) визначали за формулою:

$$Y_{x/s} = \frac{x - x_0}{S_0 - S}$$

де x_0 та S_0 — початкові концентрації біомаси та субстрату, а x та S — кінцеві концентрації біомаси та субстрату відповідно.



Джерелом вуглецю і енергії [C] є гліцерин ($C_3H_8O_3$) та натрію цитрат ($C_6H_5O_7Na_3$), джерелом азоту [N] — натрію нітрат ($NaNO_3$). Джерелом фосфору в даному рівнянні можна знехтувати, оскільки у поживному середовищі фосфор міститься у надлишку у вигляді фосфатного буферу. Оскільки посівний матеріал в процесі біосинтезу не змінюється, то його можна вилучити з обох частин рівняння. Орієн-



Продуктивність культури P (г/л·год.⁻¹) визначали за формулою:

$$P = \frac{p_2 - p_1}{t_2 - t_1}$$

де p_2 та p_1 — концентрація рамноліпідів в КР на момент часу t_2 та t_1 .

ПАР-синтезувальну здатність біомаси $Y_{p/x}$ визначали як відношення виходу рамноліпідів (г/л) до концентрації біомаси (гАСБ/л) та виражали в гПАР/гАСБ.

Вихід ПАР від субстрату $Y_{p/s}$ визначали як відношення вмісту рамноліпідів в культуральній рідині (г/л) до заданої концентрації субстрату (г/л) та виражали в г ПАР/г субстрату.

Результати та обговорення

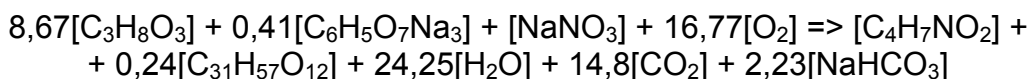
У попередніх дослідженнях визначено оптимальні умови для біосинтезу ПАР штамом *Pseudomonas* sp. PS-17 при культивуванні у колбах [19]. Але дослідження потреби в кисні не проводилося, що і стало першочерговим завданням даної роботи.

Для визначення теоретичного значення швидкості споживання кисню та об'ємного коефіцієнту масопереносу $K_L a$ складено інтегральне стехіометричне рівняння матеріального балансу процесу ферментації. В загальному вигляді рівняння ферментації матиме такий вигляд [6]:

товний кількісний склад абсолютно сухої біомаси для бактерій роду *Pseudomonas* можна записати у вигляді $C_4H_7NO_2$ [20]. Цільовим продуктом метаболізму є суміш монорамноліпиду RL1 ($C_{26}H_{48}O_9$) та дирамноліпиду RL2 ($C_{32}H_{58}O_{13}$) у співвідношенні 1:6 [21]. Таким чином, узагальнену формулу рамноліпідів можна записати у вигляді — $C_{31}H_{57}O_{12}$.

Розв'язавши дане рівняння, отримаємо інтегральне стехіометрич-

не рівняння ферментації штаму *Pseudomonas* sp. PS-17 у вигляді:



На основі даного рівняння складено матеріальний баланс процесу ферментації (табл. 1).

Таблиця 1. Матеріальний баланс процесу ферментації

Взято, кг		Одержано, кг	
Гліцерин	30	АСБ	3,8
Натрію цитрат	4,0	Рамноліпіди	5,5
NaNO ₃	4,0	Ендогенна вода	16,5
Аераційний кисень	19,5	Вуглекислий газ	24,5
		NaHCO ₃	7,2
Всього	57,5	Всього	57,5

З матеріального балансу відомо, що для синтезу 3,8 кг АСБ необхідно 19,5 кг кисню, для синтезу 1 кг АСБ потрібно $19,5/3,8=5,13$ кг O₂/кг АСБ. Максимальна продуктивність процесу біосинтезу становить:

$$g = \frac{\mu \cdot X_k}{4} = \frac{0,18 \cdot 3,8}{4} = 0,171 \text{ кг АСБ}/(\text{м}^3 \cdot \text{год})$$

Тоді максимальна потреба в кисні буде становити $0,171 \cdot 5,13 = 0,88$ кг O₂/(м³·год).

Кисень витрачається не тільки на синтез нової біомаси, але і на підтримку життєдіяльності вже синтезованої біомаси, тому практичну потребу в кисні потрібно збільшити на 10% [6]. Отже, дійсна потреба в кисні буде становити $m = 1,1 \cdot 0,88 = 0,97 \approx 1$ кг O₂/(м³·год). Згідно з вищезазначеною методикою об'ємний коефіцієнт масопереносу за киснем становить $K_L a = 124 \text{ год}^{-1}$.

Об'ємний коефіцієнт масопереносу за киснем залежить від багатьох факторів, наприклад від способу аерації, витрати повітря на аерацію, конструкції апарату, об'єму та висоти шару культуральної рідини, конструкції перемішуючого пристрою та пристрою для подачі повітря тощо. Наступним завданням було визначення оптимальних параметрів аерації для

досягнення заданого коефіцієнту масопереносу в умовах культивування у колбах та перевірка розрахованого значення $K_L a$.

Раніше встановлено, що при вирощуванні даного штаму у колбах оптимальним співвідношенням об'єму середовища до об'єму колби є 1:5. Але значний вплив на процес культивування також мають швидкість обертів та амплітуда качалки. З огляду на це, досліджено залежність константи масопереносу кисню $K_L a$ від швидкості обертів качалки n , при різних значеннях амплітуди h (рис.1).

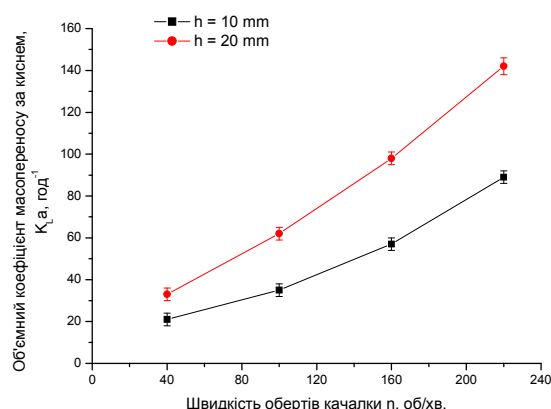


Рис.1. Залежність константи масопереносу $K_L a$ від швидкості та амплітуди перемішування колби

Як видно з рисунку 1, зростання швидкості та амплітуди перемішу-

вання призводить до збільшення константи масопереносу. При цьому розрахункове значення $K_L a$ досягається тільки при швидкості перемішування 220 об/хв. і амплітуді 20 мм. Подальше збільшення кількості обертів качалки та її амплітуди є неефективним, оскільки призводить до різкого зрос-

тання енерговитрат та інтенсивного спінювання культуральної рідини в колбі.

Результати дослідження впливу цих параметрів на ріст та синтез ПАР штамом *Pseudomonas* sp. PS-17 наведені в таблиці 2.

Таблиця 2. Вплив параметрів роботи качалки на ріст штаму *Pseudomonas* sp. PS-17 та синтез поверхнево-активних продуктів

Швидкість обертів качалки, об/хв.	АСБ, г/л	Рамноліпід, г/л	E_{24} , %	σ_s , мН/м	CMD
при амплітуді 10 мм:					
40	1,61±0,10	2,33±0,12	45±3	33,7±1,7	4,2±0,2
100	1,86±0,12	2,70±0,14	58±2	31,4±1,6	4,9±0,1
160	2,55±0,12	3,72±0,15	61±3	30,2±1,5	5,1±0,1
220	2,98±0,14	4,33±0,12	65±3	29,1±1,6	5,7±0,1
при амплітуді 20 мм:					
40	2,41±0,15	3,48±0,18	55±3	30,5±1,4	4,8±0,1
100	3,02±0,18	4,37±0,15	69±3	29,7±1,2	5,5±0,1
160	3,64±0,16	5,26±0,20	76±3	28,4±1,2	5,7±0,2
220	3,80±0,14	5,50±0,18	78±2	28,4±1,5	5,7±0,2

Найкращі показники виходу біомаси, рамноліпідів, емульгуючої активності та умовної концентрації ПАР (CMD) були одержані при 220 об/хв. і амплітуді 20 мм, що повністю узгоджується з даними рис. 1.

Отже, як видно з наведених результатів, оптимальними параметрами вирощування культури *Pseudomonas* sp. PS-17 в лабораторних колбах є: коефіцієнт заповнення колби – 0,2, швидкість обертів лабораторної качалки – 220 об/хв. при амплітуді – 20 мм.

Наступним етапом роботи було вивчення особливостей синтезу ПАР штамом *Pseudomonas* sp. PS-17 в біореакторі та визначення оптимальних параметрів аерації. Для досліджень обрано п'ять моделей лабораторних ферментерів, що відрізнялися між собою за конструкцією та системою аерації. Серед них були широко застосовувані в промисловості барботажно-аерліфтні біореактори та реактори

з барботером і перемішуючим пристроєм. Крім того, досліджувалися моделі менш розповсюджених біореакторів з самовсмоктуючою мішалкою та вихровою системою аерації, а також одна із новітніх конструкцій – біореактор з інжекційно-вихровою системою аерації. Принцип дії досліджуваних моделей біореакторів наведено на рис.2.

Досліджено залежність швидкості розчинення кисню в середовищі від ключових параметрів аерації: витрати аераційного повітря та швидкості обертів перемішуючого пристрою для реакторів вищенаведених конструкцій (рис.3, 4). Оскільки для ферментера з інжекційно-вихровою системою аерації визначальним фактором, що впливає на інтенсивність аерації, є швидкість проходження рідини через інжектор, то для даної моделі досліджено залежність швидкості розчинення кисню в середовищі від значення цієї величини (рис.5).

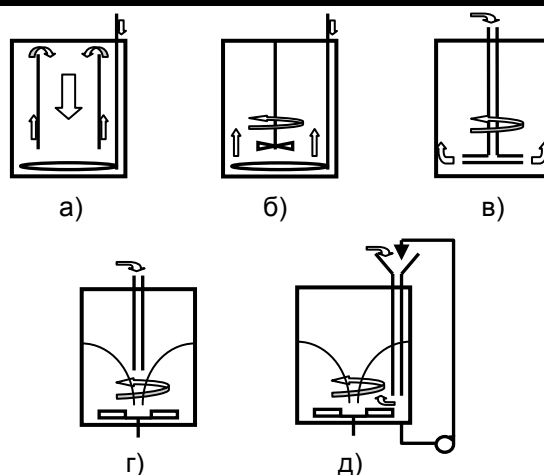


Рис.2. Принципова схема біореакторів: а) з барботажно-аерліфтною системою аерації; б) з барботером і мішалкою; в) з самовсмоктуючою мішалкою; г) з вихровою системою аерації; д) з інжекційно-вихровою системою аерації

Як видно з наведених результатів, необхідна швидкість розчинення кисню ($1 \text{ кг O}_2/(\text{м}^3 \cdot \text{год})$), а також відповідний коефіцієнт масопереносу за киснем в різних системах біореакторів досягається за різних умов аерації. Так, при використанні барботажно-аерліфтної системи аерації необхідна витрата повітря становитиме більше $3 \text{ м}^3/(\text{м}^3 \cdot \text{хв.})$, тоді як при застосуванні перемішуючого пристрою достатньою буде витрата повітря $1 \text{ м}^3/(\text{м}^3 \cdot \text{хв.})$, а при вихровій системі аерації – $0,5 \text{ м}^3/(\text{м}^3 \cdot \text{хв.})$ (рис.3).

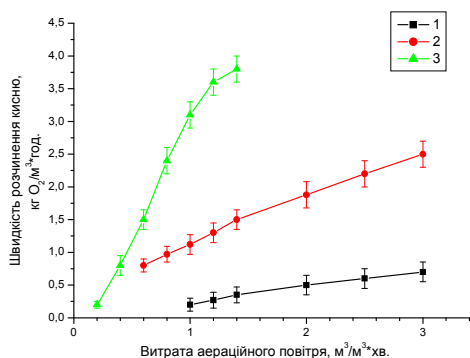


Рис.3. Залежність швидкості розчинення кисню в середовищі від витрати аераційного повітря у біореакторі: 1) з барботажно-аерліфтною системою аерації; 2) з барботером і перемішуючим пристроєм; 3) з вихровою системою аерації

Аналіз залежності швидкості розчинення кисню в середовищі від числа обертів перемішуючого пристрою (рис.4) показав, що при використанні самовсмоктуючої мішалки

необхідне значення швидкості розчинення кисню забезпечується при 200 об./хв.

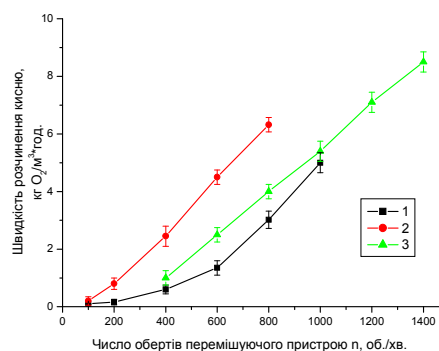


Рис.4. Залежність швидкості розчинення кисню в середовищі від числа обертів: 1) турбінної мішалки; 2) самовсмоктуючої мішалки; 3) вихрової мішалки

При застосуванні ферментера з барботером і турбінною мішалкою необхідно забезпечити швидкість перемішуючого пристрою – 600 об./хв. ,

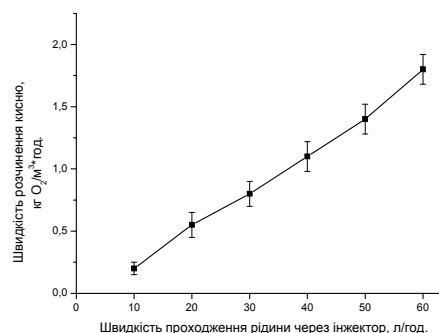


Рис.5. Залежність швидкості розчинення кисню в середовищі від швидкості проходження рідини через інжектор у інжекційно-вихровому біореакторі

а при вихровій системі аерації – 400 об./хв.

Швидкість розчинення кисню в середовищі при використанні інжекційно-вихрової системи аерації залежить тільки від конструкції інжектора та швидкості проходження через нього рідини. Для досліджуваної моделі інжекційно-вихрового біореактора задана швидкість розчинення кисню досягається за продуктивності циркуляційного насоса 40 л/год. (рис.5).

Досліджено динаміку росту штаму *Pseudomonas* sp. PS-17 та накопичення продукту (поверхнево-активних рамноліпідів) у ферментерах з вищезгаданими системами аерації. Умови аерації в кожному варіанті підібрані для забезпечення необхідної швидкості розчинення кисню в середовищі та коефіцієнту масопереносу за киснем. Результати наведені на рисунку 6 та в таблиці 3.

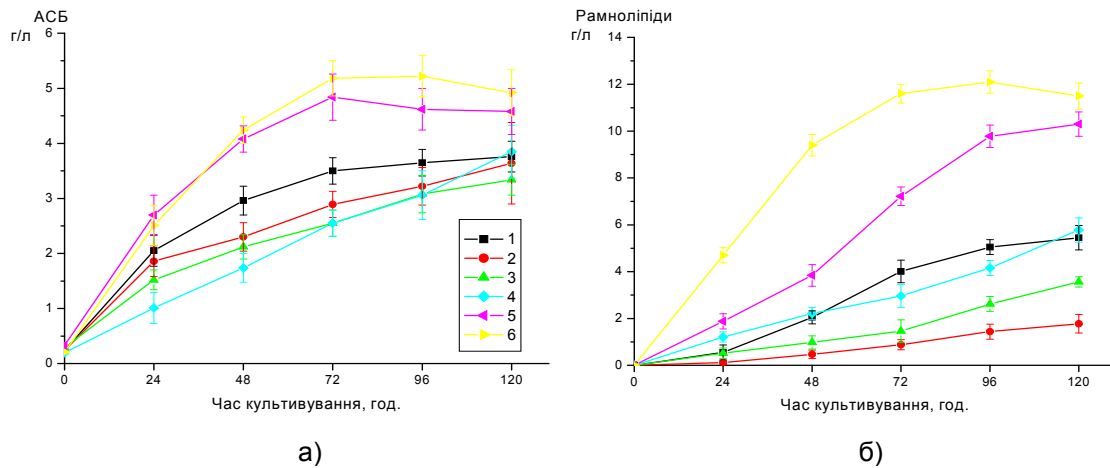


Рис.6. Динаміка росту (а) і накопичення продукту (б) штамом *Pseudomonas* sp. PS-17 при різних системах культивування: 1) у колбах; 2) в ферментері з барботажно-аерліфтною системою; 3) з барботером і мішалкою; 4) з самовсмоктуючою мішалкою; 5) з вихровою системою аерації; 6) з інжекційно-вихровою системою аерації

Таблиця 3. Показники культивування штаму *Pseudomonas* sp. PS-17 при різних системах ферментації

Умови вирощування	X_{max} , г/л	RL_{max} , г/л	$\tau_{(RLmax)}$, год.	μ_{max} , год ⁻¹	P_{max} , г/л·год ⁻¹	$Y_{x/s}$, г/г	$Y_{p/s}$, г/г	$Y_{p/x}$, г/г
у колбах	3,80	5,50	120	0,18	0,082	0,127	0,183	1,447
у ферментері:								
- з барботажно-аерліфтною системою	4,25	2,00	144	0,16	0,023	0,142	0,067	0,471
- з барботером і мішалкою	3,34	4,08	144	0,16	0,048	0,111	0,136	1,222
- з самовсмоктуючою мішалкою	4,20	6,00	120	0,19	0,068	0,140	0,200	1,429
- з вихровою системою аерації	4,80	10,30	100	0,20	0,141	0,160	0,343	2,146
- з інжекційно-вихровою системою аерації	5,20	12,10	90	0,22	0,196	0,173	0,403	2,327

Примітка: n=4; p≤ 0,05

Як показують одержані результати, параметри росту та накопичення продукту при використанні ферментера з барботажно-аерліфтною системою аерації та ферментера з барботером і мішалкою були нижчими, ніж при культивуванні у колбах. Показники,

одержані при культивуванні штаму в біореакторі з самовсмоктуючою мішалкою, були подібними до результатів вирощування у колбах. У цей же час, застосування вихрової та інжекційно-вихрової систем аерації суттєво покращувало показники куль-

тивування. Так, при використанні інжекційно-вихрової системи аерації, продуктивність штаму та кінцевий вихід продукту зростали більше ніж у два рази, а час культивування зменшувався на 25% у порівнянні з культивуванням у колбах.

Відомо, що біосинтез поверхнево-активних речовин мікроорганізмами супроводжується інтенсивним піноутворенням, що являє собою одну із основних проблем при їх виробництві. При використанні перших трьох моделей ферментерів піноутворення було настільки інтенсивним, що використання механічної системи піногасіння виявилось неефективним. Разом з піною відбувалася втрата цільового продукту та зростала небезпека контамінації культурального середовища сторонньою мікрофлорою. Застосування хімічних піногасників (*Struktol SB2020* та *Struktol SB498* («Struktol AG» GmbH, Germany), «Ectop C» (ТОВ НВП «ЕЛЕКТРОГАЗОХІМ», Україна), «СОФЕКСІЛ® - 1520» (ЗАТ НВК «СОФЕКС», Росія) інгібувало процес біосинтезу рамноліпідів, що призводило до різкого зменшення виходу продукту. Застосування біореакторів з вихровою та інжекційно-вихровою системами аерації

дозволяє вирішити проблему впливу піноутворення на процес ферментації.

Завдяки наявності у них вихрового потоку піна, що утворилася на поверхні рідкої фази, миттєво засмоктується всередину вихору і рівномірно розподіляється по всьому об'єму культурального середовища, насичуючи його киснем.

Таким чином, оптимальною моделлю ферментера для біосинтезу рамноліпідів штамом *Pseudomonas* sp. PS-17 є реактор з інжекційно-вихровою системою аерації. Для даної моделі експериментально визначено швидкість споживання кисню (рис.7 а) та питому швидкість споживання кисню в процесі культивування (рис.7 б). З наведених графіків видно, що на початку культивування потреба в кисні постійно зростає і досягає максимуму (1 кг $O_2/m^3 \cdot год.$) на 24 – 48 год., тобто в експоненційній фазі росту. Далі швидкість споживання кисню зменшується до 0,5 кг $O_2/m^3 \cdot год.$ і залишається незмінною впродовж усієї подальшої стаціонарної фази росту культури. Одержані експериментальні дані узгоджуються з теоретичними розрахунками на основі інтегрального стехіометричного рівняння ферментації штаму *Pseudomonas* sp. PS-17.

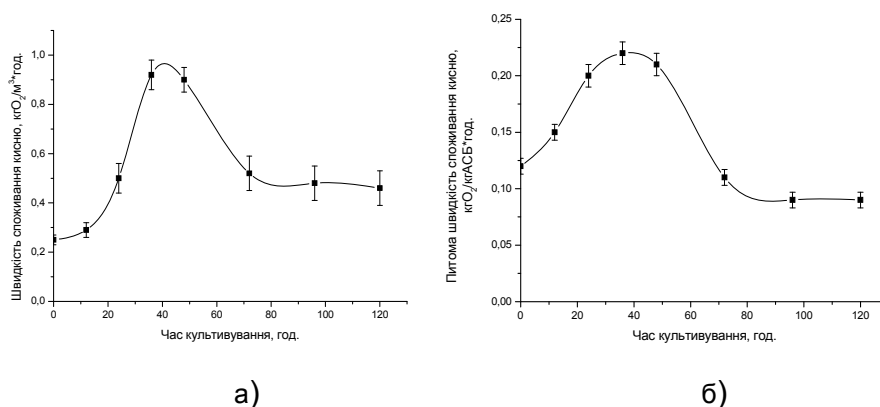


Рис.7. Залежність швидкості споживання кисню (а) та питомої швидкості споживання кисню (б) штамом *Pseudomonas* sp. PS-17 від тривалості культивування

З метою оптимізації біосинтезу поверхнево-активних продуктів та зменшення енерговитрат на аерацію культурального середовища в процесі культивування штаму PS-17 дослі-

джено ефективність керованої подачі кисню в реакторі з інжекційно-вихровою системою аерації. Результати наведені на рис.8.

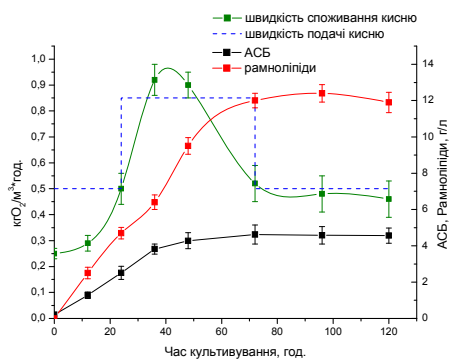


Рис.8. Динаміка росту штаму *Pseudomonas* sp. PS-17 та біосинтезу ПАР у ферментері з інжекційно-вихровою системою аерації з керованою подачею кисню

Подача кисню в культуральне середовище впродовж ферментації відбувалася у три стадії і регулювалася зміною продуктивності циркуляційного насоса. Перші 24 год. ферментації швидкість подачі кисню становила $0,5 \text{ кг O}_2/\text{м}^3\cdot\text{год.}$ (продуктивність циркуляційного насоса 20 л/год.), якої було достатньо для забезпечення киснем культури на цій стадії росту.

Далі швидкість подачі кисню збільшувалася до $0,85 \text{ кг O}_2/\text{м}^3\cdot\text{год.}$ (продуктивність циркуляційного насоса 30 л/год.) і підтримувалася на цьому значенні з 24-ї до 72-ї години культивування. Далі з 72 год. і до кінця ферментації подачу кисню знижувалася до рівня $0,5 \text{ кг O}_2/\text{м}^3\cdot\text{год.}$

У момент максимальної потреби в кисні (36–48-а год.) його забезпечення стає недостатнім і біомаса переходить у стаціонарну фазу росту. Разом з цим спостерігається зростання швидкості утворення цільового продукту — рамноліпідів. Це можна пояснити тим, що в умовах недостатності кисню для росту біомаси метаболічні процеси в мікробній клітині переключаються на синтез вторинних метаболітів (рамноліпідів).

Список використаної літератури

1. Banat I.M. Microbial biosurfactants production, applications and future potential / I.M. Banat, A. Franzetti, I. Gandolfi et. al. // Appl. Microbiol. Biotechnol. — 2010. — Vol. 87. — P.427–444.
2. Muthusamy K. Biosurfactants: properties, commercial production and application / K. Muthusamy, S. Gopalakrishnan, T.K. Ravi // Curr. Sci. — 2008. — Vol. 94. — P. 736–747.

Максимальна продуктивність синтезу рамноліпідів при даному режимі ферментації становила $P_{max} = 0,258 \text{ г/л}\cdot\text{год}^{-1}$, максимальний вихід продукту $RL_{max} = 12,40 \text{ г/л}$, час досягнення максимального виходу продукту $\tau(RL_{max}) = 70 \text{ год.}$

Таким чином, керована подача кисню в процесі ферментації дозволила збільшити максимальну продуктивність біосинтезу та вихід цільового продукту, зменшити тривалість культивування, а також суттєво знизити енерговитрати на аерацію середовища на 30 – 40% у порівнянні з режимом ферментації без керованої подачі кисню.

Висновки

1. Підтверджено ефективність застосування інтегрального стехіометричного рівняння процесу ферментації для розрахунків параметрів аерації.
2. Визначено оптимальні параметри аерації для вирощування штаму *Pseudomonas* sp. PS-17 у колбах.
3. Досліджено процес культивування штаму *Pseudomonas* sp. PS-17 у ферментерах п'яти різних конструкцій. Визначено, що оптимальною для синтезу рамноліпідів є конструкція біореактора з інжекційно-вихровою системою аерації, яка дозволяє отримувати високий вихід продукту і контролювати процес піноутворення без використання піногасників.
4. Встановлено, що керована подача кисню у ферментері з інжекційно-вихровою системою аерації дозволяє суттєво оптимізувати процес: збільшити вихід цільового продукту до $12,40 \text{ г/л}$, зменшити час культивування на 20% та енергозатрати на аерацію на 30–40% у порівнянні з ферментацією без керованої подачі кисню.

3. Abdel-Mawgoud A.M., Characterization of rhamnolipid produced by *Pseudomonas aeruginosa* isolate BS20 / A.M. Abdel-Mawgoud, M.M. Aboulwafa, N.A.H. Hassouna // Appl. Biochem. Biotechnol. — 2009. — Vol. 157. — P. 329–345.
4. Ждан-Пушкина С.М. Основы роста культур микроорганизмов / С.М. Ждан-Пушкина. — Л.: ЛГУ, 1983. — 187 с.
5. Манаков М.Н. Теоретические основы технологии микробиологических производств / М. Н. Манаков, Д. Г. Победимский. — М.: Агропромиздат, 1990. — 272 с.
6. Сидоров Ю.І. Процеси і апарати мікробіологічної та фармацевтичної промисловості. Навчальний посібник / Ю.І. Сидоров, Р.Й. Влязло, В.П. Новіков. — Львів: Інтелект-Захід, 2008. — 736 с.
7. Войнов Н.А. Улучшение экологичности и повышение эффективности биохимических производств / Н.А. Войнов // Химия растительного сырья. — 1998. — № 1. — С. 33–43.
8. Мертвецов Н.П. Газовихревые биореакторы «Биок». Использование в современной биотехнологии / Н.П. Мертвецов. — Новосибирск: Наука, 2002. — 118 с.
9. Kronemberger F. Oxygen-controlled biosurfactant production in a bench scale bioreactor / F. Kronemberger, L. Santa Anna, A. Fernandes // Appl. Biochem. Microbiol. — 2008. — Vol. 147. — P. 33–45.
10. Chisti Y. Aeration and mixing in vortex fermenters / Y. Chisti, M. Moo-Young // J. Chem. Tech. Biotechnol. — 1993. — Vol. 58. — P. 331–336.
11. Карпенко Е.В. Поверхностно-активные соединения культуры *Pseudomonas* sp. PS-17 / Е.В. Карпенко, А.Н. Шульга, А.А. Туровский // Мікробіол. журн. — 1996. — Т.58, № 5. — С. 18–24.
12. Єрохін В.А. Застосування методів математичного моделювання для визначення оптимальних умов мікробного синтезу поверхнево-активних речовин / В.А. Єрохін, О.В. Карпенко, Т.Я. Покинсьброда та ін.// Вісник Національного університету «Львівська політехніка», серія «Хімія, технологія речовин та їх застосування». — 2008. — № 609. — С. 135–140.
13. Методы общей бактериологии / под ред. Ф. Герхардта и др. — М.: Мир, 1983. — Т. 1. — 535 с.
14. Перт С.Дж. Основы культивирования микроорганизмов и клеток / С.Дж. Перт. — М.: Мир, 1978. — 331 с.
15. Guerra-Santos L.H. *Pseudomonas aeruginosa* biosurfactant production in continuous culture with glucose as carbon source / L.H. Guerra-Santos, O. Kappeli, A. Fiechter // Appl. Environ. Microbiol. — 1984. — Vol. 48. — P. 301–305.
16. Мицеллообразование, соллюбилизация и микроэмульсии / под ред. К. Миттела. — М.: Мир, 1980. — 597 с.
17. Кучер Р.В. Емульгування вуглеводнів – нова властивість культури дріжджів *Phaffia rhodozyma* / Р.В. Кучер, О. Ю Лесик, О.В. Карпенко // Доп. АН УРСР. Сер.Б. Геол., хім. та біол. науки. — 1990. — № 8 — С. 49–53.
18. Ozabek B. The studies on the oxygen mass transfer coefficient in a bioreactor / B. Ozabek, S. Gayik // Process. Biochem. — 2001. — Vol. 36. — P. 729–41.
19. Вільданова-Марцишин Р.І. Біосинтез поверхнево-активних сполук штамми *Rhodococcus fascians* ВКМ АС- 1169, *Rhodococcus fascians* ВКМ АС-1163 і *Pseudomonas* sp. PS-17: Дис... канд. біол. наук: 03.00.20 / Вільданова-Марцишин Роза Іскандерівна. — Л., 2004. — 156 с.
20. Adams D. Application of stoichiometric and kinetic analyses to characterize cell growth and product formation / D.Adams, W.-S. Hu; R. Pörtner (ed.). — Humana Press, Totowa, NJ. 2007. — (Animal cell biotechnology: Methods and Protocols, Second Edition) (Methods in biotechnology, series 24).
21. Єрохін В.А. Поверхнево-активні препарати на основі продуктів біосинтезу штаму *Pseudomonas* sp. PS-17 / В.А.Єрохін, Т.Я. Покинсьброда, О.В. Карпенко // Збірник наук. праць ДонНТУ. Серія: Хімія і хімічна технологія. — 2008. — Вип. 134 (10). — С. 111–117.

Надійшла до редколегії 20.12.2011

© Єрохін В.А., Карпенко О.В., 2012