

ГЛАВА 2

КІНЕТИЧНІ ОСНОВИ МІКРОБІОЛОГІЧНИХ ПРОЦЕСІВ

Без знання кінетики процесів ферментації неможливий розрахунок об'ємів ферментаційної апаратури.

Першу спробу математичного опису росту біомаси наприкінці XVIII століття зробив Роберт Мальтус. В 30-х роках XIX століття Ферхюльст пропонує модель логістичної кривої. Наприкінці 40-х років XX століття Моно виявив і обґрунтував зв'язок між швидкістю росту культур мікроорганізмів і концентрацією в середовищі лімітуючого субстрату. Після цього роботи по математичного моделювання росту культур мікроорганізмів набули широкого розповсюдження і перетворились на особливу наукову галузь. Сьогодні відомі численні моделі, які іноді складаються з десяти і більше рівнянь. Розрахунок процесів втрачає універсальність і стає можливим лише за умови використання обчислювальної техніки. Враховуючи специфіку навчального процесу, тут наведено лише дві моделі для практичного навчального використання у розрахунках апаратури.

Кінетичні криві росту мікроорганізмів при періодичному культивуванні мають складний характер (рис. 2.1). Виділяють декілька фаз у розвитку культури.

Після уведення інокуляту в ЖС спостерігають *індукційний період (лаг-фазу)* (1), протягом якого помітного росту біомаси не відбувається. В цей період клітини пристосовуються до середовища: перебудовується метаболізм клітин, синтезуються ферменти, специфічні для цього субстрату, активується біосинтез білка.

Індукційний період замінюється *фазою експоненціального росту* (2), протягом якої швидко накопичується біомаса.

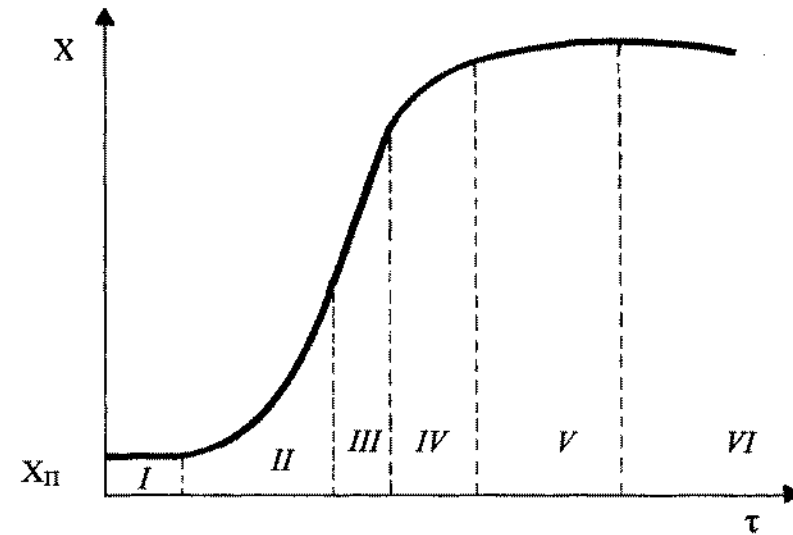


Рис. 2.1. Типова кінетична крива росту популяції мікроорганізмів у періодичному процесі

Експоненціальна фаза росту не може розвиватись необмежено, тому вона переходить у *фазу лінійного росту* (3), яка характеризується більш-менш лінійним ростом культури. Процес вже не підкоряється логарифмічній залежності росту біомаси від часу.

Після лінійної фази росту настає досить нетривалий період *уповільнення росту* (4), після чого ріст культури переходить в стійку і тривалу *стаціонарну фазу* (5). При цьому швидкість приросту біомаси компенсується швидкістю загибелі й лізису клітин.

Після того, як система повністю буде виснажена субстратними речовинами, відбуваються суттєві фізіологічні зміни клітин і, як правило, спостерігається *фаза відмирання культури* (6), яка часто супроводжується повним лізисом клітин.

Сьогодні встановлено, що універсальної моделі, що охоплює всі фази розвитку популяції, не існує. Пропонуються моделі, що пов'язують в єдине ціле увесь розвиток, але такі моделі, які мають глибокий науковий зміст і розкривають суть природи окремо

взятого виду мікроорганізму, рідко застосовують на практиці для розрахунку апаратури. При застосуванні універсальних моделей деяка похибка не шкодить поставленій меті.

2.1. Математична модель росту біомаси за Мальтусом–Моно–Ієрусалімським

Р. Мальтус прийняв простий і очевидний постулат, що *приріст біомаси в часі прямо пропорційний початковій концентрації біомаси:*

$$\Delta X = \mu X \Delta \tau, \quad (2.1)$$

де ΔX – приріст біомаси за час $\Delta \tau$, X – біомаса (концентрація, маса), μ – коефіцієнт пропорційності.

У диференціальній формі вираз набирає вигляду:

$$dX = \mu X d\tau. \quad (2.2)$$

В інтегральній формі: $\int_{X_n}^X \frac{dX}{X} = \mu \int_0^{\tau} d\tau$

$$X = X_n e^{\mu \tau}, \quad (2.3)$$

де X_n , X – відповідно початкова маса популяції мікроорганізмів та її маса через час τ .

За суттю останній вираз є геометричною прогресією³. Якщо знехтувати лаг-фазою, то він точно описує фазу експоненціального росту. Ріст біомаси за таким законом можливий за умови постійного додавання субстрату все більшої кількості при збереженні початкової концентрації біомаси. Такому закону, наприклад, відповідає припливний процес одержання харчових

³ Р. Мальтус є автором філософсько-політичної концепції, що одержала назву “мальтузіанство”, згідно з якою приріст людства відбувається в геометричній прогресії, приріст продуктів харчування – в арифметичній. Наявність диспропорції Мальтус пропонував ліквідувати штучним обмеженням народонаселення знищенням або стерилізацією народів малорозвинених (за його думкою) країн, хворих та недієздатних. Сучасні послідовники Мальтуса гуртуються в організації “Римський клуб”.

дріжджів. При цьому швидкість росту біомаси розраховують, використовуючи коефіцієнт приросту e^{μ} .

Коефіцієнт пропорційності μ інакше називають *питомою швидкістю росту*, год⁻¹ (с⁻¹, доба⁻¹). За Мальтусом μ залежить тільки від виду живої істоти і є сталою величиною.

Але було знайдено, що в більшості випадків значення питомої швидкості росту залежить від концентрації лімітуючого субстрату S і ця залежність може бути подана у формі

$$\mu = \mu_{\max} \frac{S}{K_S + S}, \quad (2.4)$$

де S – концентрація лімітуючого субстрату, μ_{\max} – максимально можлива питома швидкість росту за найсприятливіших умов, K_S – така концентрація лімітуючого субстрату, при якій питома швидкість росту дорівнює половині від максимальної. Чим менше K_S , тим менше лімітуючий фактор росту за субстратом.

Вперше на залежність швидкості росту культури звернув увагу Моно, тому рівняння називається *рівнянням Моно*. За своєю формою воно відповідає залежності швидкості росту ферментативної реакції від концентрації субстрату (рівняння Міхаеліса–Ментен). Основний постулат, закладений в основу моделі, теж досить простий: *оскільки швидкості ферментативних реакцій, в тому числі відповідальних за репродуктивні механізми, як і будь-яких хімічних реакцій, залежать від концентрації субстрата-реагенту, то швидкість збільшення біомаси в часі залежить від концентрації субстрату*. Незважаючи на залучення до моделі теоретичних міркувань, модель Моно має експериментальний характер і досить спрощено розглядає механізми взаємодії субстратів з клітиною.

Н.Д. Ієрусалімський припустив, що коефіцієнт μ залежить не тільки від концентрації лімітуючого субстрату, але і від концентрації метаболітів, які інгібують ферментну систему. З врахуванням цього рівняння Моно–Ієрусалімського набуває вигляду

$$\mu = \mu_{\max} \frac{S}{K_S + S} \cdot \frac{K_P}{K_P + P}, \quad (2.5)$$

де P – концентрація інгібуючого агента, K_P – концентрація інгібуючого агента, при якій питома швидкість росту дорівнює половині максимальної.

У реальній ситуації визначити, який саме продукт метаболізму гальмує розвиток популяції та ще й визначити його концентрацію надзвичайно важко, тому прийняли, що концентрація цього метаболіту прямо пропорційна кількості переробленого субстрату:

$$P = A(S_0 - S), \quad (2.6)$$

де S_0 – початкова концентрація субстрату, A – коефіцієнт пропорційності.

Якщо поділити праву частину рівняння на цей вираз і ввести нову константу $K_{PS} = K_P/A$, то одержимо вираз

$$\mu = \mu_{max} \frac{S}{K_S + S} \cdot \frac{K_{PS}}{K_{PS} + S_0 - S}. \quad (2.7)$$

Чим більше константа K_{PS} , тим менше вплив на процес інгібуючих продуктів метаболізму.

Відомо, що існує співвідношення між масою субстрату, що спожилась, і кількістю біомаси X , що утворюється з цього субстрату, α :

$$\alpha = \frac{S_0 - S}{X}. \quad (2.8)$$

Підставляючи цей вираз у попередній, рівняння Моно-Ієрусалімського набуває вигляду

$$\mu = \mu_{max} \frac{S_0 - \alpha X}{K_S + S_0 - \alpha X} \cdot \frac{K_{PS}}{K_{PS} + \alpha X}. \quad (2.9)$$

Особливість цього виразу полягає в тому, що замість вимірювання поточної концентрації субстрату S , вимірюють поточну концентрацію біомаси X , що іноді зручніше.

Підставляючи вираз (2.7) або (2.9) у вираз (2.3), одержуємо рівняння Мальтуса-Моно-Ієрусалімського, з якого можна знайти поточну концентрацію біомаси X через певний час культивування.

$$X = X_n \exp\left(\mu_{max} \frac{S \cdot K_{PS}}{(K_S + S)(K_{PS} + S_0 - S)} \tau\right) \quad (2.10)$$

або

$$X = X_n \exp\left(\mu_{max} \frac{(S_0 - \alpha X) K_{PS}}{(K_S + S_0 - \alpha X)(K_{PS} + \alpha X)} \tau\right). \quad (2.11)$$

Існують численні модифікації цієї моделі, які враховують, наприклад, інгібування процесу субстратом, біомасою, враховують константу відмирання тощо.

Недоліками моделі є те, що рівняння не можна записати в явному вигляді. Для його використання потрібно визначати багато експериментальних констант.

2.2. Математична модель росту біомаси "Рівняння логістичної кривої" (РЛК)

У 1938 році Ферхюльст висловив ідею, що всім живим істотам притаманна внутрішньовидова конкуренція (ворожнеча), яка збільшується при збільшенні концентрації біомаси. Вираз Мальтуса був доповнений ще одним членом:

$$\Delta X = \mu X \Delta \tau - \beta X^2 \Delta \tau, \quad (2.12)$$

де β – коефіцієнт внутрішньовидової конкуренції. У диференційному вигляді рівняння має вигляд:

$$dX/d\tau = \mu X - \beta X^2. \quad (2.13)$$

Це рівняння називається рівнянням логістичної кривої (РЛК). Воно не має біохімічного підґрунтя, а квадрат при концентрації біомаси – довільний індекс, який відповідає деяким експериментальним даним.

Коли процес у завершальній фазі стає сталим, то $dX/d\tau = 0$, а концентрація біомаси стає кінцевою, тобто $X = X_k$ (X_k – теоретична величина, до якої наближається поточна концентрація біомаси X при нескінченному часі культивування). Тоді $\mu X_k - \beta X_k^2 = 0$.

Звідси $\beta = \mu / X_k$.

Диференційне рівняння можна переписати у вигляді

$$\frac{dX}{d\tau} = \mu X - \frac{\mu}{X_k} X^2. \quad (2.14)$$

В інтегральному вигляді рівняння набирає вигляд

$$X = \frac{X_n X_k}{X_n + (X_k - X_n)e^{-\mu\tau}}. \quad (2.15)$$

Рівняння має явний вигляд і зручне у використанні. Воно має лише одну константу – питому швидкість росту μ . На відміну від попередньої моделі ця величина є сталою, як і у виразі Мальгуса. Для аеробних мікроорганізмів ця величина коливається в межах 0,05–0,3 год⁻¹, але в більшості випадків вона становить 0,1–0,2 год⁻¹. Для анаеробних мікроорганізмів внаслідок переважного перебігу енергетичних метаболізмів ця величина в 10–20 разів менше [1].

Теоретичну величину X_k легко знайти з ідеального балансу, одержаного розв'язанням інтегрального стехіометричного рівняння. Звичайно ця величина становить 10–50 кг/м³. Початкова концентрація для аеробних процесів в 10–100 разів менше.

Миттєва продуктивність g за моделлю РЛК має вигляд рівняння у диференційній формі:

$$g = \frac{dX}{d\tau} = \mu X - \frac{\mu}{X_k} X^2. \quad (2.16)$$

Максимальну (екстремальну) продуктивність можна визначити, як звичайно, взяттям похідної, яка дорівнює нулю, і визначенням концентрації X , при якій продуктивність буде максимальною:

$$g' = \mu - \frac{\mu}{X_k} 2X = 0, \text{ звідси } X = X_k / 2.$$

Отже, найбільша миттєва продуктивність за моделлю РЛК спостерігається завжди при поточній концентрації біомаси, що дорівнює половині кінцевої. Максимальна продуктивність при цьому значенні X становить

$$g = \frac{\mu X_k}{4}. \quad (2.17)$$

Середньою продуктивністю називають відношення біомаси або іншого цільового продукту, що накопичилась за час культивування τ , до величини цього часу. У рамках моделі РЛК середня продуктивність $G_{сер}$ становить:

$$G_{сер} = \frac{X_n X_k}{X_n + (X_k - X_n)e^{-\mu\tau}} \cdot \frac{1}{\tau}. \quad (2.18)$$

Прирівнювання похідної від цієї функції до нуля дає вираз

$$(X_k - X_n) + (\mu X_k \tau + 2X_n - X_k)e^{\mu\tau} - X_n e^{2\mu\tau} = 0. \quad (2.19)$$

Розв'язання цього трансцендентального рівняння відносно τ дає можливість визначити оптимальний час культивування при максимальній середній продуктивності. Крім знайденого значення, це рівняння має ще два корені при $\tau = 0$ та $\tau = \infty$.

2.3. Використання математичних моделей росту біомаси для визначення ємності ферментера

2.3.1. Визначення ємності ферментера періодичної дії

Величину ємності ферментера періодичної дії V , м³, розраховують за формулою

$$V = \frac{(\tau + \tau_0)N}{K_1 K_2 K_3 X_n}, \quad (2.20)$$

де τ – чистий час культивування, год;

τ_0 – додатковий час культивування, потрібний на підготовку ферментера (час завантаження сировинних продуктів, час вивантаження культуральної рідини, час, потрібний на миття та стерилізацію ферментера; залежно від об'єму ферментера він становить 15–20 годин);

N – річна потужність виробництва за біомасою або іншому цільовому продукту, кг/рік;

K_1 – коефіцієнт подальшого перероблення (відношення біомаси або іншого цільового продукту, що знаходяться у ферментері, до маси цих продуктів на виході з установки), частка одиниці;

K_2 – коефіцієнт браку (відношення кількості партій продукту, що відповідають стандарту на продукцію, до кількості партій, що такому не відповідають; для мікробіологічної промисловості цей показник знаходиться в межах 0,8–0,9), частка одиниці;

K_3 – коефіцієнт заповнення ферментера (0,6–0,8), частка одиниці;

X – концентрація біомаси або іншого цільового продукту, кг/м³;

n – ресурс робочого часу установки, год/рік.

Якщо кінцевим продуктом є культуральна рідина, то $K_1 = 1$, $X = 1$. Якщо визначають об'єм культуральної рідини, то $K_1 = 1$, $X = 1$, $K_3 = 1$.

Використання математичних моделей дає можливість розрахувати час культивування τ , а відтак об'єм ферментера.

Приклад 1. Розрахувати об'єм ферментерів періодичної дії, якщо процес культивування відповідає моделі РЛК, питома швидкість росту 0,12 год⁻¹, $X_n = 0,01$ кг/м³, $X_k = 40$ кг/м³, ступінь конверсії 80 %, додатковий час культивування 20 год. Кінцевим продуктом є оброблена далі біомаса. Коефіцієнт виходу, браку і заповнення відповідно 0,7, 0,9, 0,65. Потужність виробництва – 10 тис. тонн / рік. За рік установку зупиняють на профілактичний ремонт, який проводять протягом 56 діб.

Розв'язання

1. Знаходимо чистий час культивування:

$$0,8 \cdot 40 = \frac{0,01 \cdot 40}{0,01 - (40 - 0,01)e^{-0,12 \cdot \tau}}, \text{ звідси } \tau = 80,66 \text{ год.}$$

2. Ресурс робочого часу $n = 365 - 56 = 309$ діб/рік = 7416 год/рік.

3. Повний об'єм ферментерів

$$V = \frac{(80,66 + 20)10000 \cdot 1000}{0,7 \cdot 0,9 \cdot 0,65 \cdot (0,8 \cdot 40) \cdot 7416} = 10358 \text{ м}^3.$$

Приклад 2. Умови ті самі, як в прикладі 1, але час культивування – оптимальний.

Розв'язання

1. Підставляючи дані задачі у вираз (3.19), одержуємо:

$$(40 - 0,01) + (0,12 \cdot 40 \cdot \tau + 2 \cdot 0,01 - 40)e^{0,12 \cdot \tau} - 0,01e^{2 \cdot 0,12 \cdot \tau} = 0.$$

Вирішуючи рівняння відносно τ (наприклад, підстановкою різних значень τ), знаходимо, що оптимальний час культивування становить ≈ 88 годин.

2. Підставляючи значення оптимального часу культивування в інтегральний вираз моделі РЛК, знаходимо, що поточна концентрація біомаси повинна становити

$$X = \frac{0,01 \cdot 40}{0,01 + (40 - 0,01)e^{-0,12 \cdot 88}} = 36,24 \text{ кг/м}^3.$$

3. Знаходимо повний об'єм ферментерів

$$V = \frac{(88 + 20)10000 \cdot 1000}{0,9 \cdot 0,7 \cdot 0,65 \cdot 36,24 \cdot 7416} = 9813 \text{ м}^3.$$

Порівнюючи результати прикладів, можна бачити, що попри збільшення часу культивування з 80,66 годин до 88 годин, загальний об'єм ферментерів завдяки оптимізації часу культивування і внаслідок цього збільшенню концентрації біомаси в КР скоротився з 10358 м³ до 9813 м³ або на 5,26 %.

Приклад 3. Умови ті самі, але процес підкоряється моделі Мальтуса–Моно–Ієрусалімського. При цьому, припустимо, ступінь конверсії 90 %, $K_S = 5$ кг/м³, $K_{PS} = 40$ кг/м³, $\alpha = 1,9$, $\mu_{\max} = 0,45$ год⁻¹.

Розв'язання

1. Поточна концентрація біомаси $X = 0,9 \cdot 40 = 36$ кг/м³.

2. При повній конверсії субстрату $S_0 = \alpha X_k = 1,9 \cdot 40 = 76$ кг/м³.

3. Поточна концентрація субстрату $S = 76 - 1,9 \cdot 36 = 7,6$ кг/м³.

4. Знаходимо питому швидкість росту

$$\mu = 0,45 \frac{7,6}{5 + 7,6} \cdot \frac{40}{40 + 76 - 7,6} = 0,100 \text{ год}^{-1}.$$

5. Підставляємо дані у вираз (3.3):

$$36 = 0,01e^{0,1\tau}, \quad \text{звідси } \tau = 81,9 \text{ годин}$$

6. Знаходимо об'єм ферментерів:

$$V = \frac{(81,9 + 20)10000 \cdot 1000}{0,7 \cdot 0,9 \cdot 0,65 \cdot 36 \cdot 7416} = 9321 \text{ м}^3.$$

2.3.2. Розрахунок смисті ферментерів безперервної дії

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

Тим не менше існує ряд виробництв, ферментаційна частина яких організована за безперервним принципом. До них належать, наприклад, виробництво кормових дріжджів як на парафіновій, так і гідролізатній сировині, спирту, лимонної кислоти, біогазу та харчових дріжджів (хоча і з невеликим періодом безперервного процесу – 6–12 діб). Не можна уявити періодичні процеси біохімічного очищення стічних вод активним мулом. Практично усі біотрансформаційні процеси намагаються

організувати те саме в безперервному режимі. Безперервні виробництва відрізняються від періодичних (циклічних) більшою компактністю апаратури, вони легше піддаються автоматизації.

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

2.3.3. Одноступеневе гомогенне безперервне культивування

У ферментер ідеального перемішування безперервно подається потік ЖС (V_n), який має вихідну концентрацію субстрату S_0 (рис. 2.2). У культуральній рідині, яка має об'єм V_p , постійно підтримується концентрація біомаси X . Концентрація субстрату за час ферментації зменшується до значення S . Одночасно з ферментера виводиться готова культуральна рідина⁴.

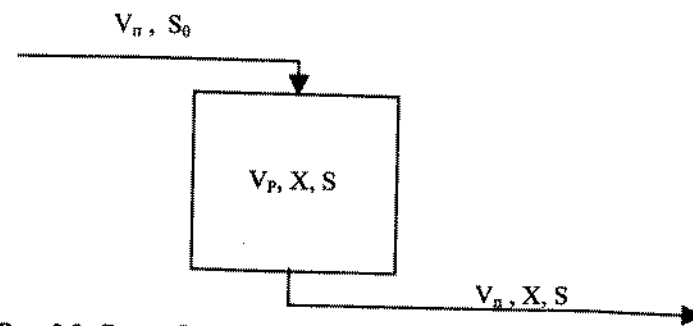


Рис. 2.2. Схема безперервного одноступеневого культивування

⁴ Насправді потоки ЖС і КР трохи відрізняються, оскільки частина субстрату в більшості процесів перетворюється на CO_2 .

Розрахунок ємності одноступеневого ферментера безперервної дії за моделлю Моно-Ієрусалімського

В монографії [1] показано, що умовою безперервного одноступеневого культивування з надходженням у ферментер незаяного живильного середовища за вказаною моделлю є рівність

$$\mu = D, \quad (2.21)$$

де D – коефіцієнт розбавлення, який дорівнює відношенню об'єму потоку до робочого об'єму ферментера (об'єму культуральної рідини):

$$D = V_n / V_p. \quad (2.22)$$

Зворотна величина, $1/D$, – фіктивний⁵ час проведення процесу ферментації.

Приклад 4. Річна потужність безперервної одноступеневої установки повинна становити 2000 тонн біомаси в культуральній рідині за рік. Ресурс робочого часу – 300 діб безперервної роботи за рік. Процес ферментації відповідає моделі Мальтуса-Моно-Ієрусалімського. Теоретично можлива концентрація біомаси в КР 40 кг/м^3 , але насправді допускається конверсія субстрату на 90 %. Константа $K_S = 10 \text{ кг/м}^3$, $K_{PS} = 45 \text{ кг/м}^3$, максимальна питома швидкість росту $0,6 \text{ год}^{-1}$, коефіцієнт $\alpha = 1,9$. Коефіцієнт заповнення ферментерів $0,7$. Знайти об'єм ферментерів.

Розв'язання

1. За 1 годину з установки повинна виходити культуральна рідина, що містить $(2000 \cdot 1000) / (300 \cdot 24) = 277,8 \text{ кг}$ біомаси.

2. Якщо конверсія субстрату становить 90 %, то і концентрація біомаси на виході з установки повинна становити 90 % від теоретично можливої, тобто $X = 0,9 \cdot 40 = 36 \text{ кг/м}^3$.

3. Потік культуральної рідини з установки повинен становити $V_n = 277,8 / 36 = 7,72 \text{ м}^3/\text{год}$.

⁵ Фіктивним називається час тому, що насправді частина субстрату виводиться навіть без контакту з біомасою, а частина біомаси за віком не відповідає середньому значенню, оскільки затримується у ферментері і рівномірно не виводиться.

4. Вихідна концентрація субстрату повинна становити $S_0 = 1,9 \cdot 40 = 76 \text{ кг/м}^3$.

5. Використовуючи вираз (2.9), знаходимо питому швидкість росту:

$$\mu = 0,6 \frac{(76 - 1,9 \cdot 36)45}{(10 + 76 - 1,9 \cdot 36)(45 + 1,9 \cdot 36)} = 0,1028.$$

6. Оскільки $\mu = D = V_n / V_p$, то $V_p = 7,72 / 0,1028 = 75,1 \text{ м}^3$.

7. Повний об'єм ферментера повинен становити $75,1 / 0,7 = 107,28 \text{ м}^3$. (Стандарт – 100 м^3).

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

Приклад 5. Нехай в установці, розрахованій за прикладом 4, доцільно збільшили потік ЖС на 50 %. Яка буде продуктивність установки?

Розв'язання

1. Новий потік буде становити $1,5 \cdot 7,72 = 11,58 \text{ м}^3/\text{год}$.

2. Коефіцієнт розбавлення буде становити $11,58 / 75,1 = 0,154 \text{ год}^{-1}$.

3. Знаходимо нове значення X :

$$0,154 = 0,6 \frac{(76 - 1,9 \cdot X)45}{(10 + 76 - 1,9X)(45 + 1,9 \cdot X)}. \text{ Звідси } X = 32,4 \text{ кг/м}^3.$$

4. Продуктивність установки буде становити $32,4 \cdot 11,58 = 375,192 \text{ кг}$ біомаси /год. Річна потужність становить $375,192 \cdot 300 \cdot 24 = 2701382 \text{ кг/рік} = 2700 \text{ тонн/рік}$.

5. Ступінь конверсії становить $32,4 / 40 = 0,81 = 81\%$.

Отже, при збільшенні потоку сировини на 50 % потужність установки зростає з 2000 до 2700 тонн/рік, але при цьому за рахунок неповного використання збільшились втрати субстрату.

Приклад 6. Умови культивування такі самі, як і в прикладі 4, але потік сировини довільно зменшили в 1,5 раза. Знайти нову продуктивність установки.

Розв'язання

1. Новий потік ЖС буде становити $7,72/1,5 = 5,147 \text{ м}^3/\text{кг}$.
2. Коефіцієнт розбавлення буде становити $5,147/75,1 = 0,0685 \text{ год}^{-1}$.
3. Знаходимо нове значення X :

$$0,0685 = 0,6 \frac{(76 + 1,9 \cdot X)45}{(10 + 76 - 1,9 \cdot X)(45 + 1,9 \cdot X)}, \text{ звідси } X = 37,8 \text{ кг/м}^3.$$

4. Нова продуктивність установки буде становити $37,8 \cdot 5,147 = 194,56 \text{ кг біомаси/год}$. Річна потужність установки становить $194,56 \cdot 300 \cdot 24 = 1400832 \text{ кг/рік} = 1400 \text{ тонн/рік}$.

5. Ступінь конверсії субстрату $37,8/40 = 0,945 = 94,5 \%$.

Отже, при зменшенні потоку субстрату в 1,5 раза, продуктивність установки зменшилась з 2000 до 1400 тонн/рік, але втрати субстрату при цьому зменшились.

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

$$S_{extr} = \frac{K_S(S_0 + K_{PS}) \pm \sqrt{K_S K_{PS}(S_0 + K_S)(S_0 + K_{PS})}}{K_S - K_{PS}} \quad (2.23)$$

$$X_{extr} = \frac{S_0 - S_{extr}}{\alpha} \quad (2.24)$$

Приклад 7. Знайти об'єм ферментера одноступеневої установки безперервного культивування за умовами прикладу 4, але процес відбувається в екстремальних умовах.

Розв'язання

1. Знаходимо вихідну концентрацію субстрату: $S_0 = 1,9 \cdot 40 = 76 \text{ кг/м}^3$.

2. Знаходимо екстремальне значення поточної концентрації субстрату:

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

3. Знаходимо екстремальне значення поточної концентрації біомаси: $X_{extr} = (76 - 27,26) / 1,9 = 25,65 \text{ кг/м}^3$.

4. Продуктивність установки за біомасою повинна становити $M = (2000 \cdot 1000) / (300 \cdot 24) = 277,8 \text{ кг/год}$.

5. Ця біомаса повинна міститись в КР таким чином, щоб $M/V_n = X_{extr}$. Отже, $V_n = 277,8 / 25,65 = 10,83 \text{ м}^3/\text{год}$.

6. Знаходимо питому швидкість росту біомаси:

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

7. Оскільки $D = \mu = V_n/V_p$, то $V_p = 10,83 / 0,2107 = 51,4 \text{ м}^3$.

8. Повний об'єм ферментера буде становити $51,4 / 0,7 = 73,4 \text{ м}^3$. Стандартний об'єм – 80 м^3 .

Режим роботи ферментера в екстремальних умовах відповідає найбільш бурхливому розвитку біомаси наприкінці експоненційного періоду росту. Дотримання цього режиму дає змогу в найбільшому ступеню скоротити об'єм ферментера, але при цьому зростають втрати субстрату з культуральною рідиною. Отже, цей субстрат потрібно вилучати з КР і повертати в процес ферментації.

Одноступеневе гомогенне культивування в рамках моделі РЛК

Головна умова безперервного культивування в рамках моделі РЛК:

$$X = X_k - \frac{X_k}{\mu} D. \quad (2.25)$$

З цього виразу видно, що при перевищенні коефіцієнта розбавлення питомої швидкості росту, яка в рамках моделі РЛК є

сталою величиною, поточна концентрація біомаси X може стати від'ємною. Від'ємність означає, що за великих значень потоку ЖС концентрація біомаси в реакторі не залишається сталою величиною, а починає зменшуватись і через деякий час у ферментері залишиться чисте ЖС. І за цією моделлю розрахунок об'єму ферментера можна вести при будь-якій конверсії субстрату, але завжди намагаються підтримувати екстремальний режим роботи при найбільш бурхливому росту біомаси. Умова екстремальності завжди однакова: поточна концентрація біомаси повинна становити половину від теоретично можливої ($X = X_k/2$). Коефіцієнт розбавлення в екстремальних умовах становить половину від питомої швидкості росту ($D = \mu/2$).

Модель РЛК дає спрощену уяву про процес, тому її можна використовувати лише для орієнтовних розрахунків.

Приклад 8. Розрахувати об'єм ферментерів для одноступеневого безперервного процесу культивування біомаси, який відповідає моделі РЛК. При цьому $X_k = 30 \text{ кг/м}^3$, питома швидкість росту $0,12 \text{ год}^{-1}$. Потужність установки за біомасою в КР 100 тонн/рік. Ресурс робочого часу 330 днів/рік. Розрахунок провести при ступенях конверсії 40, 85 %, а також в екстремальному режимі.

Ступінь конверсії 40 %	Екстремальний режим (ступінь конверсії 50 %)	Ступінь конверсії 85%
1	2	3
Поточна концентрація $X = 0,4 \cdot 30 = 12 \text{ кг/м}^3$. 2. Продуктивність за біомасою $10^5 / 330 \cdot 24 = 12,63 \text{ кг/год}$ 3. З умови безперервного культивування знаходимо D : $12 = 30 - (30/0,12)D$. Звідси $D = 0,072 \text{ год}^{-1}$.	Поточна концентрація $X = 30/2 = 15 \text{ кг/м}^3$. 2. Продуктивність за біомасою така сама (12,63 кг/год). 3. Знаходимо D : $15 = 30 - (30/0,12)D$. Звідси $D = 0,06 \text{ год}^{-1}$.	1. Поточна концентрація $X = 0,85 \cdot 30 = 25,5 \text{ кг/м}^3$. 2. Продуктивність за біомасою така сама (12,63 кг/год). 3. Знаходимо D : $25,5 = 30 - (30/0,12)D$. Звідси $D = 0,018 \text{ год}^{-1}$.

1	2	3
4. Потік ЖС $V_n = 12,63/12 = 1,05 \text{ м}^3/\text{год}$. 5. Робочий об'єм ферментера $1,05/0,072 = 14,58 \text{ м}^3$. Стандартний об'єм 16 м^3 .	4. $V_n = 12,63/15 = 0,84 \text{ м}^3/\text{год}$ 5. Робочий об'єм ферментера $0,84/0,06 = 14,0 \text{ м}^3$. Стандартний об'єм 16 м^3 .	4. $V_n = 12,63/25,5 = 0,495 \text{ м}^3/\text{год}$ 5. Робочий об'єм ферментера $0,495/0,018 = 27,5 \text{ м}^3$. Стандартний об'єм 32 м^3 .
Найбільші втрати субстрату	Найменший об'єм ферментера	Найменші втрати субстрату, найбільший об'єм ферментера

2.3.4. Багатоступеневе гомогенне безперервне культивування

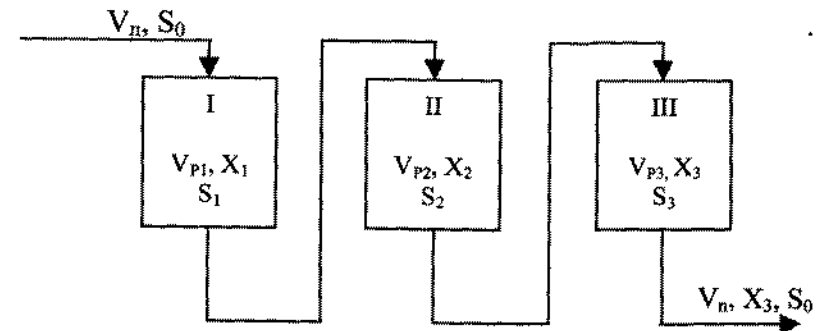


Рис. 2.3. Схема батареї з 3-х послідовно з'єднаних ферментерів ідеального перемішування ($S_0 > S_1 > S_2 > S_3$ $X_1 < X_2 < X_3$)

Потік незасіяного ЖС спрямовують у ферментер I, в якому знаходиться КР з певною концентрацією біомаси. Одночасно з ферментера виводять КР і спрямовують її у ферментер II. У ферментері II культивування продовжується, концентрація біомаси збільшується. Далі КР з ферментера II спрямовують у ферментер III, з якого виводять готову КР.

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

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

Багатоступеневе безперервне культивування за моделлю Моно-Ієрусалимського

Об'єм першого ферментера при будь-якому ступеню конверсії розраховують за формулами для одноступеневого культивування. Оскільки після першого ферментера відбувається зміна концентрації субстрату, то в другому спостерігається зміна питомої швидкості росту біомаси. Об'єми апаратів можуть бути неоднаковими, тому і коефіцієнт розбавлення в другому апараті може бути іншим. В [1] знайдений вираз, з якого можна визначити концентрацію субстрату на виході з другого апарата:

$$D_2 \frac{S_1 - S_2}{S_0 - S_2} = \mu_{max} \frac{S_2}{K_S + S_2} \cdot \frac{K_{PS}}{K_{PS} + S_0 - S_2}, \quad (2.26)$$

де S_0 , S_1 , S_2 – концентрації субстрату, відповідно, на вході в перший ферментер, на виході з першого і другого ферментерів; D_2 – коефіцієнт розбавлення в другому ферментері.

Для третього ферментера у вищенаведену формулу (2.26) замість S_1 та S_2 треба підставити S_2 та S_3 і так далі.

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

Приклад 9. У двох послідовно з'єднаних ферментерах у безперервному режимі відбувається культивування біомаси, який відповідає моделі Мальгуса-Моно-Ієрусалимського. Другий ферментер за об'ємом втричі менший від першого. У першому ферментері процес завершується на 70 %. Максимальна питома швидкість росту – $0,5 \text{ год}^{-1}$, $K_S = 12 \text{ кг/м}^3$, $K_{PS} = 36 \text{ кг/м}^3$, $\alpha = 2$. Теоретично можлива концентрація біомаси при 100%-й конверсії – 45 кг/м^3 . Потік ЖС в перший ферментер – $4 \text{ м}^3/\text{год}$. Коефіцієнт заповнення ферментерів 70 %. Знайти продуктивність установки за біомасою в КР, загальний ступінь конверсії та об'єми кожного з ферментерів.

Розв'язання

1. Початкова концентрація субстрату $S_0 = 2 \cdot 45 = 90 \text{ кг/м}^3$.
2. Концентрація субстрату на виході з 1-го ферментера $S_1 = (1 - 0,7)90 = 27 \text{ кг/м}^3$.

3. Питома швидкість росту в першому ферментері

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

4. Робочий об'єм першого ферментера $V_P = 4/0,126 = 31,7 \text{ м}^3$.

5. Повний об'єм першого ферментера $31,7/0,7 = 45,35 \text{ м}^3$.
Стандартний об'єм – 50 м^3 .

6. Об'єм другого ферментера $45,35/3 = 15,1 \text{ м}^3$.
Стандартний об'єм 16 м^3 .

7. Коефіцієнт розбавлення в першому ферментері дорівнює питомій швидкості росту – $0,126 \text{ год}^{-1}$. Оскільки другий ферментер втричі менший за об'ємом, то $D_2 = 3 \cdot 0,126 = 0,378 \text{ год}^{-1}$.

8. Підставляємо дані у вираз (2.26) і знаходимо S_2 :

$$0,378 \frac{27 - S_2}{90 - S_2} = 0,5 \frac{S_2 \cdot 36}{(12 + S_2)(36 + 90 - S_2)}, \text{ звідси } S_2 = 19,6 \text{ кг/м}^3.$$

9. Концентрація біомаси на виході з другого ферментера становить $(90 - 19,6)/2 = 35,2 \text{ кг/м}^3$.

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

11. Продуктивність установки за біомасою в КР $35,2 \cdot 4 = 140,8 \text{ кг/год}$.

Приклад 10. До одноступеневої установки безперервної дії, що має потужність 1000 тонн/рік, ресурс робочого часу 330 діб/рік, коефіцієнт заповнення 0,7, яка працює в екстремальному режимі, послідовно під'єднали ще 2 ферментери. Всі ферментери в батареї однакові за об'ємом. Кінетика ферментації підкоряється моделі Мальтуса-Моно-Ієрусалимського. При цьому $K_S = 10 \text{ кг/м}^3$, $K_{PS} = 12 \text{ кг/м}^3$, $S_0 = 50 \text{ кг/м}^3$, $\mu_{max} = 0,6 \text{ год}^{-1}$, $\alpha = 2$. Знайти об'єм кожного з апаратів і нову річну потужність установки взагалі. Знайти також об'єм ферментера одноступеневої установки, яка б працювала з тією самою потужністю, що і триступенева.

Розв'язання

1. Знаходимо концентрацію субстрату в 1-му ферментері $S_1 = S_{extr}$:

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

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

3. Годинна продуктивність установки за біомасою повинна бути $1000000/(330 \cdot 24) = 126,3 \text{ кг/год}$.

4. Потік ЖС на вході в 1-й ферментер повинен становити $126,3/13 = 9,7 \text{ м}^3/\text{год}$.

5. Знаходимо питому швидкість росту в першому ферментері:

$$\mu_1 = 0,6 \cdot \frac{24 \cdot 12}{(10+24)(12+50-24)} = 0,134 \text{ год}^{-1}$$

6. Знаходимо робочий об'єм першого (відтак другого та третього) ферментера: $V_{P1} = 9,7/0,134 = 72,4 \text{ м}^3$.

7. Повний об'єм кожного з ферментерів становить $72,4/0,7 = 103,4 \text{ м}^3$. Стандартний об'єм – 100 м^3 .

8. Вважаючи, що коефіцієнти розбавлення в усіх ферментерах однакові, можна записати

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

звідси $S_2 = 7 \text{ кг/м}^3$, $X_2 = (50 - 7)/2 = 21,5 \text{ кг/м}^3$.

9. Для третього ферментера можна записати

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

Звідси $S_3 = 1,5 \text{ кг/м}^3$, $X_3 = (50 - 1,5)/2 = 24,25 \text{ кг/м}^3$.

10. Годинна загальна продуктивність установки становить $9,7 \cdot 24,25 = 235,2 \text{ кг біомаси/год}$.

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

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

12. Враховуючи рівність питомої швидкості росту і коефіцієнт розбавлення, а також при збереженні значення потоку ЖС, робочий об'єм ферментера повин становити $9,7/0,0155 = 625,8 \text{ м}^3$, а повний – $625,8/0,7 = 894 \text{ м}^3$. Порівнюючи загальний об'єм ферментерів триступеневої установки ($100 + 100 + 100 = 300 \text{ м}^3$) з об'ємом одноступеневої можна наочно бачити перевагу першої.

Багатоступенева безперервна культтивування за моделлю РЛК

Перший ферментер розраховують за вищенаведеними методиками, як для одноступеневої установки. Для другого ферментера концентрацію біомаси на виході знаходять за формулою:

$$X_2 = \frac{(\mu - D_2)X_K \pm X_K \sqrt{(\mu - D_2)^2 + \frac{4\mu X_1 D_2}{X_K}}}{2\mu}, \quad (2.27)$$

де X_1 , X_2 , X_K – відповідно, концентрації біомаси на виході з першого, другого ферментерів і теоретично можлива концентрація біомаси при нескінченному часі культивування; D_2 – коефіцієнт розбавлення для другого ферментера.

Якщо перший ферментер працює в екстремальному режимі, то розрахунок можна вести і за формулою

$$X_2 = \frac{(\mu - D_2)X_K \pm X_K \sqrt{\mu^2 + D_2^2}}{2\mu} \quad (2.28)$$

Після визначення об'єму другого ферментера переходять до третього і так далі. Якщо задана продуктивність установки в цілому, то можна провести розрахунок від кінця до початку і визначити, наприклад, потребу у використанні попередньо засіяного живильного середовища або інші параметри батареї.

Приклад 11. Батарея ферментерів складається з двох однакових апаратів. Концентрація субстрату на вході в перший ферментер – 50 кг/м³. Питома швидкість росту 0,3 год⁻¹. Потужність батареї за біомасою в КР 1600 тонн/рік. Ресурс робочого часу – 330 діб/рік. Коефіцієнт перетворення субстрату в біомасу $\alpha = 2$. Перший ферментер працює в екстремальному режимі. Коефіцієнт заповнення ферментерів 0,65. Знати повний об'єм кожного з апаратів.

Розв'язання

1. Теоретична кінцева концентрація біомаси під час переробки усього субстрату становить $X_K = 50/2 = 25$ кг/м³.

2. Оскільки перший ферментер працює в екстремальному режимі, то $D_1 = 0,3/2 = 0,15$ год⁻¹.

3. Оскільки ферментери однакові, то $D_1 = D_2$.

4. Концентрація біомаси на виході з другого ферментера

$$X_2 = \frac{(0,3 - 0,15)25 \pm 25 \sqrt{0,3^2 + 0,15^2}}{2 \cdot 0,3} = 20,2 \text{ кг/м}^3.$$

5. Знаходимо величину потоку ЖС $V_n = 1600000 / (20,2 \cdot 330 \cdot 24) = 10$ м³/год

6. Робочий об'єм кожного з ферментерів $10/0,3 = 33,3$ м³. Повний об'єм кожного з апаратів $33,3/0,65 = 51,3$ м³. Стандартний об'єм – 50 м³.

Приклад 12. Під час безперервної ферментації кормових дріжджів використовують два послідовно з'єднані ферментери. У першому процес йде зі ступенем конверсії 70 %, а в другому –

дозрівачі – до ступеня конверсії 90 %. Кінетика процесу відповідає моделі РЛК: $\mu = 0,12$ год⁻¹, $X_K = 40$ кг/м³. Потужність установки – 1000 тонн біомаси в КР на рік. Ресурс робочого часу установки – 300 діб/рік. Знайти об'єми ферментерів, якщо коефіцієнт їх заповнення дорівнює 0,75.

Розв'язання

1. Концентрація біомаси на виході з першого ферментера $0,7 \cdot 40 = 28$ кг/м³ (X_1).

2. Концентрація біомаси на виході з другого ферментера $0,9 \cdot 40 = 36$ кг/м³ (X_2).

3. Коефіцієнт розбавлення D_2 в другому ферментері шукаємо з виразу (2.28):

$$36 = \frac{(0,12 - D_2)40 \pm 40 \sqrt{(0,12 - D_2)^2 + \frac{4 \cdot 0,12 \cdot 28 \cdot D_2}{40}}}{2 \cdot 0,12},$$

звідси $D_2 = 0,054$ год⁻¹.

4. Потік КР з другого ферментера повинен бути $1000000 / (36 \cdot 300 \cdot 24) = 3,858$ м³/год.

5. Робочий об'єм другого ферментера повинен бути $3,858 / 0,054 = 71,44$ м³. Повний об'єм $71,44 / 0,75 = 95,25$ м³. Стандартний об'єм – 100 м³.

6. Враховуючи умову безперервного культивування $0,7 \cdot 40 = 40 - (40/0,12)D_1$. Звідси $D_1 = 0,036$ год⁻¹.

7. Робочий об'єм першого ферментера $3,858 / 0,036 = 107,17$ м³. Повний об'єм – $107,17 / 0,75 = 142,9$ м³. Стандартний об'єм – 160 м³.

2.3.5. Від'ємно-доливний метод культивування біомас

Від'ємно-доливний метод культивування біомас полягає у періодичному вилученні частки готової культуральної рідини, додаванні свіжого живильного середовища і продовженні ферментації без лаг-фази. До переваг цього методу належить можливість розпочати процес з будь-якого кінетичного моменту при будь-якій концентрації біомаси. В той самий час методу

притаманні і недоліки, характерні для безперервних процесів: занадто довге перебування "закваски" в робочому ферментері веде до зміни властивостей культури, збільшення ризику контамінації реакційного середовища сторонньою мікрофлорою і появи мутантних організмів.

Розраховувати процес потрібно як періодичний.

Приклад 13. Процес ферментації відбувається з конверсією 80 %. Кінетика процесу відповідає моделі РЛК. Питома швидкість росту $0,15 \text{ год}^{-1}$, початкова концентрація АСБ, потрібна для "запуску" процесу, $X_n = 0,1 \text{ кг/м}^3$, кінцева концентрація $X_k = 30 \text{ кг/м}^3$. Кожну добу після запуску процесу вилучають частину КР і до закваски, що залишилась, додають нову порцію ЖС. Скільки часу потрібно для запуску біореактора? Яку частку КР (%) треба вилучати кожен добу?

Розв'язання

1. Поточна концентрація АСБ наприкінці процесу повинна становити $X = 0,8 \cdot 30 = 24 \text{ кг/м}^3$.

2. Використовуючи інтегральне рівняння моделі РЛК, знаходимо час, потрібний для запуску процесу:

$$24 = \frac{0,1 \cdot 30}{0,1 + (30 - 0,1)e^{-0,15\tau}}, \text{ звідси } \tau = 47,2 \text{ год.}$$

3. Знаходимо потрібну початкову концентрацію біомаси при проведенні процесу від'ємно-доливним методом:

$$24 = \frac{X_n \cdot 30}{X_n + (30 - X_n)e^{-0,15 \cdot 24}}, \text{ звідси } X_n = 2,272 \text{ кг/м}^3.$$

4. Якщо об'єм КР V_p , то наприкінці циклу вся біомаса становить $24V_p$ кг. На початку циклу після доливання ЖС КР повинна містити $2,272 V_p$ кг. Після закінчення циклу кожен добу треба зливати $V_p(24 - 2,272) / 24V_p = 0,9053 = 90,53 \% \text{ КР}$, а залишити в реакторі – $9,47 \%$.

Приклад 14. Від'ємно-доливним методом проводиться ферментація біомаси, який відповідає моделі РЛК. При цьому $X_k =$

$= 40 \text{ кг/м}^3$, $\mu = 0,13 \text{ год}^{-1}$. Після досягнення ступеня конверсії 90 % $1/3 \text{ КР}$ зливають і додають ЖС. Річна потужність установки – 2000 тонн біомаси. Ресурс робочого часу 252 доби/рік. Коефіцієнт заповнення ферментера 0,7. Розрахувати об'єм ферментера.

Розв'язання

1. Концентрація біомаси X наприкінці циклу культивування становить $40 \cdot 0,9 = 36 \text{ кг/м}^3$.

2. Після зливання КР і додавання ЖС концентрація біомаси становить $(2 \cdot 36)/3 = 24 \text{ кг/м}^3$.

3. Час проведення циклу культивування знаходимо з виразу

$$36 = \frac{24 \cdot 40}{24 + (40 - 24)e^{-0,13\tau}}, \text{ звідси } \tau = 13,78 \text{ год.}$$

4. За рік можна провести $(252 \cdot 24)/13,78 = 438,9$ цикли.

5. За 1 цикл потрібно одержувати $2000000/438,9 = 4556,8 \text{ кг біомаси}$.

6. Оскільки концентрація біомаси в КР 36 кг/м^3 , то за цикл треба одержувати $4556,8/36 = 126,6 \text{ м}^3 \text{ КР}$.

7. Оскільки частка КР, яку зливають, становить $1/3$, то робочий об'єм ферментера повинен становити $126,6 \cdot 3 = 379,7 \text{ м}^3$. Повний об'єм – $379,7/0,7 = 542,5 \text{ м}^3$.

2.3.6. Одноступеневе гомогенне культивування з рециркуляцією біомаси

Схему гомогенного одноступеневого безперервного культивування показано на рис. 2.4. На практиці така схема застосовується досить рідко, оскільки схема ускладнює забезпечення асептичних умов культивування, потребує обов'язкового використання обладнання для відділення біомас від нативного розчину. Останнє зауваження не зовсім справедливе, оскільки в більшості випадків технології потребують саме відділення біомас.

Подібні схеми використовують в процесах біохімічного очищення стічних вод. Всі новітні технології одержання біогазу також базуються на поверненні або затримці активного мулу у ферментері. Це досягається не тільки використанням зовнішніх ліній рециркуляції, але й внутрішніх, в тому числі іммобілізації клітинної маси на твердих носіях. Оскільки питомі швидкості росту біомаси у бродильних процесах дуже малі, рециркуляція біомаси є чи не єдиним методом інтенсифікації процесів культивування.

ЖС безперервно подають у ферментер, в якому підтримують деяку постійну концентрацію біомаси X . Одночасно культуральну рідину подають на сопловий сепаратор безперервної дії (або відстійник). З сепаратора частину концентрату біомаси повертають у ферментер, а надлишок біомаси спрямовують на наступне оброблення. За необхідності цей надлишок можна змішувати з фугатом.

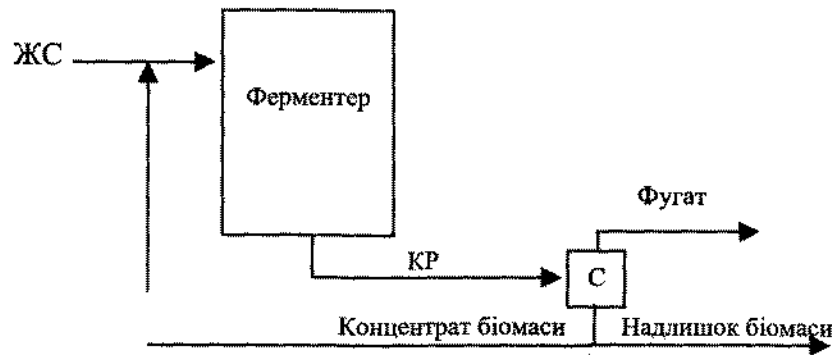


Рис. 2.4. Схема безперервного культивування з рециркуляцією біомаси.
С – сепаратор

Застосування рециркуляції дає змогу зменшити об'єм ферментера або збільшити його потужність. Розрахунок об'ємів біореакторів можна вести, використовуючи формули для багатоступеневого культивування.

Приклад 15. Потік ЖС у ферментер, який має робочий об'єм 70 м^3 , становить 8 м^3 . Процес культивування описується моделлю РЛК ($\mu = 0,15 \text{ год}^{-1}$, $X_K = 40 \text{ кг АСБ/м}^3$). Розрахувати

продуктивність установки без рециркуляції біомаси. За другим варіантом потік КР спрямовують у сопловий сепаратор, який відділяє клітинну біомасу від нативного розчину. Концентрат біомаси на виході з сепаратора в 1 м^3 містить 700 кг клітинної маси. Клітинна маса містить 70% води. Довільно приймемо, що 2 м^3 концентрату повернули у ферментер, а решту концентрату, а також фугат, спрямували на вихід з установки. Розрахувати нову продуктивність установки за біомасою.

Розв'язання

1. Коефіцієнт розбавлення для першого варіанта роботи установки становить $8/70 = 0,114 \text{ год}^{-1}$.

2. Поточна концентрація біомаси (АСБ) на виході з ферментера становить $X = 40 - (40/0,15)0,114 = 9,6 \text{ кг/м}^3$.

3. Продуктивність установки за біомасою дорівнює $9,6 \cdot 8 = 76,8 \text{ кг/год}$.

4. При поверненні частини біомаси вхідний потік у ферментер буде становити $8 + 2 = 10 \text{ м}^3/\text{год}$.

5. Маса АСБ, що повертається у ферментер, буде становити $2 \cdot 700 \cdot 0,3 = 420 \text{ кг/год}$.

6. Нехтуючи залишками субстрату в концентраті біомаси, теоретично з нового потоку може утворитись біомаса з концентрацією $X_x = (40 \cdot 8 + 420)/10 = 74 \text{ кг/м}^3$.

7. На вході у ферментер концентрація біомаси буде становити $420/10 = 42 \text{ кг/м}^3$.

8. Новий коефіцієнт розбавлення дорівнює $10/70 = 0,143 \text{ год}^{-1}$.

9. Використовуючи формулу (2.27) для багатоступеневого культивування, знаходимо нову поточну концентрацію на виході з ферментера:

$$X_2 = \frac{(0,15 - 0,143)74 \pm 74 \sqrt{(0,15 - 0,143)^2 + \frac{4 \cdot 0,15 \cdot 42 \cdot 0,143}{74}}}{2 \cdot 0,15} = 56,187 \text{ кг/м}^3$$

10. Всього продуктивність за АСБ на виході з ферментера буде становити $56,187 \cdot 10 = 561,87 \text{ кг/год}$.

11. Оскільки у ферментер повертається 420 кг АСБ/год , то загальна продуктивність установки зростає до $561,87 - 420 = 141,87 \text{ кг/год}$.

Приклад 16. Умови ферментації такі, як в прикладі 15, але процес описується моделлю Моно-Ієрусалімського. При цьому $K_S = 10 \text{ кг/м}^3$, $K_{PS} = 12 \text{ кг/м}^3$, $S_0 = 80 \text{ кг/м}^3$, $\mu_{max} = 0,35 \text{ год}^{-1}$, $\alpha = 2$.

Розв'язання

1. Коефіцієнт розбавлення для першого варіанта роботи установки, як і за прикладом 15, становить $8/70 = 0,114 \text{ год}^{-1}$.

2. Оскільки $\mu = D$, то $0,114 = 0,35 \frac{S \cdot 12}{(10 + S)(12 + 80 - S)}$. Пере-

творюючи, одержуємо $S^2 - 45,2S - 920 = 0$. Звідси $S = 60,4 \text{ кг/м}^3$.

3. Поточна концентрація $X = (80 - 60,4)/2 = 9,8 \text{ кг/м}^3$.

4. Продуктивність установки за біомасою без рециркуляції дорівнює $9,8 \cdot 8 = 78,4 \text{ кг/год}$.

5. При поверненні частини біомаси вхідний потік у ферментер буде становити $8 + 2 = 10 \text{ м}^3/\text{год}$.

6. Маса АСБ, що повертається у ферментер, буде становити $2 \cdot 700 \cdot 0,3 = 420 \text{ кг/год}$.

7. Нехтуючи залишками субстрату в концентраті біомаси, теоретично з нового потоку може утворитись біомаса (разом рециркулятом) з концентрацією $X_K = (80 \cdot 8/2 + 420)/10 = 74 \text{ кг/м}^3$, що відповідає $S_0 = 74 \cdot 2 = 148 \text{ кг субстрату/м}^3$.

8. На вході у ферментер концентрація біомаси буде становити $420/10 = 42 \text{ кг/м}^3$, що відповідає $S_1 = 148 - 42 \cdot 2 = 64 \text{ кг субстрату/м}^3$.

9. Новий коефіцієнт розбавлення дорівнює $10/70 = 0,143 \text{ год}^{-1}$.

10. Оскільки $D_2 \frac{S_1 - S_2}{S_0 - S_2} = \mu_{max} \frac{S_2}{K_S + S_2} \cdot \frac{K_{PS}}{K_{PS} + S_0 - S_2}$,

то $0,143 \frac{64 - S_2}{148 - S_2} = 0,35 \frac{S_2}{10 + S_2} \cdot \frac{12}{12 + 148 - S_2}$. Після перетво-

рень, одержуємо

$S_2^3 - 184,6S_2^2 + 3653S_2 + 102400 = 0$. Звідси $S_2 = 42 \text{ кг/м}^3$.

11. Концентрація біомаси на виході з ферментера, спорядженого рециркуляційною лінією, становить $(148 - 42)/2 = 53 \text{ кг/м}^3$, а потік біомаси дорівнює $53 \cdot 10 = 530 \text{ кг/год}$.

12. Оскільки у ферментер повертається 420 кг АСБ/год , то загальна продуктивність установки зростає до $530 - 420 = 110 \text{ кг/год}$.

Відмінність між результатами за двома моделями (за рівності інших умов) пояснюється тим, що модель Моно-Ієрусалімського враховує зменшення питомої швидкості росту при збільшенні концентрації біомаси у ферментері, що більше відповідає реальним процесам.

Контрольні задачі

Задача 2.1. За один цикл періодичного культивування, що триває 72 год з моменту внесення ПМ, одержують КР. Ферментер працює 230 діб на рік, його потужність – 200 тонн біомаси за рік, $X_n = 0,05 \text{ кг/м}^3$, $X_k = 80 \text{ кг/м}^3$, питома швидкість росту в рамках моделі РЛК $0,12 \text{ год}^{-1}$. K_1, K_2, K_3 відповідно 1, 0,9, 0,7. Додатковий час культивування 20 годин. Знайти повний об'єм ферментера. (Відповідь: **84,8 м³, стандарт 80 або 100 м³**).

Задача 2.2. Процес культивування відповідає моделі РЛК. X_n, X_k відповідно 0,01 та 75 кг/м^3 , питома швидкість росту $0,2 \text{ год}^{-1}$. Скільки годин потрібно для завершення процесу на 98 %? (Відповідь: **64,07 годин**).

Задача 2.3. У двоступеневій установці безперервної дії для культивування мікроорганізмів об'єм другого ферментера вдвічі більше від першого. Процес відповідає моделі РЛК. Питома швидкість росту $0,3 \text{ год}^{-1}$. $X_k = 14 \text{ кг/м}^3$. Об'єм потоку $1 \text{ м}^3/\text{год}$. Час безперервної роботи установки 300 діб/рік. У першому ферментері умови роботи екстремальні. Коефіцієнти K_1, K_2, K_3 відповідно 0,6, 1, та 0,63. Знайти річну потужність установки та об'єми ферментерів. (Відповідь: **53,87 тонн/рік, повний об'єм 1-го ферментера 10,53 м³, 2-го – 21,16 м³**).

Задача 2.4. Розрахувати повний об'єм ферментера, призначеного для проведення неперервного процесу культивування, який відповідає моделі Моно-Ієрусалімського за таких даних: $S_0 = 50 \text{ кг/м}^3$, продуктивність за біомасою 100 кг/год , кількість субстрату, що йде на утворення $1 \text{ кг АСБ} - 2$, $K_S = 2 \text{ кг/м}^3$. $K_{PS} = 10 \text{ кг/м}^3$, максимальна питома швидкість росту $0,5 \text{ год}^{-1}$,

коефіцієнт заповнення 0,7; процес відбувається в екстремальних умовах. (Відповідь: $82,9 \text{ м}^3$).

Задача 2.5. Процес відповідає моделі РЛК. При початковій концентрації біомаси $0,1 \text{ кг/м}^3$ через 20 год культивування знайшли, що поточна концентрація становить $0,716 \text{ кг/м}^3$, а через 40 годин – $4,31 \text{ кг/м}^3$. Знайти кінцеву концентрацію АСБ та питому швидкість росту. (Відповідь: $20,19 \text{ кг/м}^3$, $0,1 \text{ год}^{-1}$).

Задача 2.6. За моделлю Моно–Ієрусалімського розрахувати ємність апарата для безперервного культивування за таких умов: максимальна питома швидкість росту – $0,7 \text{ год}^{-1}$; K_s , K_{ps} , S_0 відповідно 12,5, 13 та 75 кг/м^3 ; $N = 1000$ тонн/рік; $n = 330$ діб/рік; K_1 , K_2 , K_3 відповідно 0,75, 1, 0,6; $a^s = 1,8$. Умови культивування екстремальні. (Відповідь: $99,68 \text{ м}^3$).

Задача 2.7. Процес відповідає моделі Моно–Ієрусалімського. Розраховані та експериментально знайдені константи двоступеневої установки для безперервного культивування: максимальна питома швидкість росту $0,7 \text{ год}^{-1}$; S_0 , S_1 , K_s , K_{ps} відповідно 75, 37,2, 12,5 та 13 кг/м^3 ; $a^s = 1,8$. Знайти концентрацію біомаси на виході з другого ферментера X_2 та ступінь конверсії. (Відповідь: $39,3 \text{ кг/м}^3$, $94,4\%$).

Задача 2.8. Річна потужність установки безперервного культивування, що складається з двох послідовно з'єднаних однакових ферментерів, 1000 тонн/рік за біомасою. Ресурс робочого часу 330 діб/рік. Коефіцієнти K_1 , K_2 та K_3 відповідно 0,75, 1 та 0,6. Питома швидкість росту в рамках моделі РЛК $0,2 \text{ год}^{-1}$. Кінцева концентрація АСБ – 30 кг/м^3 . Перший ферментер працює в екстремальних умовах. Знайти об'єм кожного з ферментерів. (Відповідь: $115,6 \text{ м}^3$).

Задача 2.9. Концентрація посівного матеріалу $0,01 \text{ кг/м}^3$, теоретично розрахована кінцева концентрація АСБ – 40 кг/м^3 . Питома швидкість росту в рамках моделі РЛК – $0,1 \text{ год}^{-1}$, час проведення процесу – 100 годин. Річна потужність установки за біомасою – 100 тонн. Річний ресурс робочого часу – 256 діб. K_1 , K_2 та K_3 відповідно 0,625, 0,85 та 0,7. Додатковий час культивування – 15 годин. Знайти ємність ферментера періодичної дії. (Відповідь: $148,7 \text{ м}^3$).

Задача 2.10. Установка для безперервного культивування складається з трьох однакових, послідовно з'єднаних ферментерів. У першому – процес відбувається в екстремальному режимі, в двох останніх – перебігає процес дозрівання. Розраховано і теоретично доведено, що $X_k = 60 \text{ кг/м}^3$, питома швидкість росту за моделлю РЛК – $0,112 \text{ год}^{-1}$, $V_n = 1 \text{ м}^3/\text{год}$. Знайти концентрацію біомаси на виході з 3-го ферментера та повний об'єм кожного з ферментерів при коефіцієнті заповнення 0,7. (Відповідь: 56 кг/м^3 , $25,5 \text{ м}^3$).

Задача 2.11. В трьох послідовно з'єднаних ферментерах, що мають повну ємність по 25 м^3 кожний при коефіцієнті заповнювання 0,7, відбувається безперервний процес культивування. При цьому $X_k = 60 \text{ кг/м}^3$, концентрація біомаси на виході з 3-го ферментера $X_3 = 56 \text{ кг/м}^3$. Питома швидкість росту за моделлю РЛК – $0,112 \text{ год}^{-1}$, об'ємний потік $V_n = 1 \text{ м}^3/\text{год}$. Яка повинна бути ємність одноступеневого ферментера безперервної дії для досягнення того самого ступеня конверсії? (Відповідь: $191,3 \text{ м}^3$).

Задача 2.12. Процес підкоряється моделі РЛК. Існує двоступенева установка безперервного культивування. У першому реакторі відбувається процес на 85 % конверсії. Розраховано, що $X_k = 60 \text{ кг/м}^3$. У другому ферментері перебігає процес дозрівання. Визначити концентрацію біомаси на виході з другого ферментера при питомій швидкості росту $0,15 \text{ год}^{-1}$, а також ємності 1-го та 2-го ферментерів за умови, що співвідношення їх ємностей становить 3:1, а $V_n = 1 \text{ м}^3/\text{год}$. (Відповідь: $X_2 = 57,1 \text{ кг/м}^3$, $V_1 = 63,5 \text{ м}^3$, $V_2 = 21,17 \text{ м}^3$).

Задача 2.13. Апарат для культивування виконаний у вигляді колони з переливними тарілками. Кожну тарілку слід розглядати як ферментер у послідовно з'єднаній батареї ферментерів. Діаметр тарілки 2,5 м, висота борта 20 см. Зверху в апарат безперервно подається незасіяне ЖС потоком $V_n = 0,1 \text{ м}^3/\text{год}$. Теоретично розраховано, що кінцева концентрація біомаси X_k становить 30 кг/м^3 . Питома швидкість росту біомаси в рамках моделі РЛК становить $0,14 \text{ год}^{-1}$. Яка концентрація біомаси буде на виході з першої тарілки? (Відповідь: $8,14 \text{ кг/м}^3$).

Задача 2.14. Ферментер є колонним апаратом з переливними тарілками, кожна з яких є ферментером у послідовно з'єднаному ланцюгу безперервно діючих ферментерів. Зверху на першу тарілку подається потік незасіяного ЖС з $V_n = 0,1 \text{ м}^3/\text{год}$. Ємність кожної тарілки – $1,05 \text{ м}^3$. Питома швидкість росту в рамках моделі РЛК – $0,1 \text{ год}^{-1}$. Яка концентрація біомаси буде на виході з 4-ї тарілки, якщо $X_k = 60 \text{ кг/м}^3$? (Відповідь: **50,63 кг/м³**).

Задача 2.15. У трубу, що має внутрішній діаметр $0,2 \text{ м}$ і довжину 100 м , безперервно подають засіяне ЖС з початковою концентрацією АСБ $0,01 \text{ кг/м}^3$. Теоретично розраховано, що $X_k = 60 \text{ кг/м}^3$. Питома швидкість росту в рамках моделі РЛК – $0,2 \text{ год}^{-1}$. У такому реакторі вхідна і вихідна суміш не перемішується, процес за суттю є періодичним для кожного нескінченно тонкого шару суміші. Ступінь конверсії 10% . Яка повинна бути величина вхідного потоку? (Відповідь: **0,097 м³/год**).

Задача 2.16. У трубу-реактор, яка має внутрішній діаметр $0,2 \text{ м}$ та довжину 100 м , безперервно подають засіяне ЖС з $X_n = 0,05 \text{ кг/м}^3$ об'ємним потоком $V_n = 0,1 \text{ м}^3/\text{год}$. Процес відповідає моделі РЛК; питома швидкість росту – $0,25 \text{ год}^{-1}$; $X_k = 60 \text{ кг/м}^3$. Знайти концентрацію біомаси на виході з труби (прийняти до уваги, що перемішування в трубі не відбувається і за суттю для кожного нескінченно тонкого шару ЖС, що пересувається трубою, процес є періодичним). (Відповідь: **40,96 кг/м³**).

Задача 2.17. В одноступеневому реакторі безперервної дії відбувається культивування, який відповідає моделі РЛК. Об'єм потоку – $1 \text{ м}^3/\text{год}$, $X_k = 80 \text{ кг/год}$, питома швидкість росту – $0,116 \text{ год}^{-1}$. Знайти повний об'єм ферментера, якщо концентрація біомаси на виході становить 85% від теоретично можливої. Який повинен бути об'єм ферментера періодичної дії, щоб досягнути тієї самої продуктивності? (Для розрахунку прийняти ресурс робочого часу 256 діб/рік ; $K_1 = K_2 = 1$, $K_3 = 0,7$, додатковий час культивування – 15 год , $X_n = 0,1 \text{ кг/м}^3$). (Відповідь: **82 м³**).

Задача 2.18. Кожні 12 годин з біореактора, що містить 10 м^3 КР з концентрацією АСБ 20 кг/м^3 , вилучають частину продукту і доливають нову порцію сировини. Скільки треба злити КР і додати нової сировини, якщо питома швидкість росту

в рамках моделі РЛК становить $0,12 \text{ год}^{-1}$, $X_k = 25 \text{ кг/м}^3$? (Відповідь: **3,92 м³**).

Задача 2.19. У горизонтальний ферментер-цистерну, розділений на 3 однакові секції, кожному добу надходить потік засіяної сировини. Об'єм потоку дорівнює об'єму секції. Питома швидкість росту в рамках моделі РЛК – $0,33 \text{ год}^{-1}$, $X_k = 10 \text{ кг/м}^3$. На виході з 3-ї секції концентрація біомаси становить 70% від кінцевої. Яка повинна бути початкова концентрація біомаси у засіяному ЖС? (Відповідь: **4,71 кг/м³**).

Задача 2.20. До реактора, що працює в екстремальних умовах, послідовно приєднали ще один, ємність якого вдвічі більше першого. Процес відповідає моделі РЛК. Знайти концентрацію біомаси на виході з другого ферментера у $\%$ від X_k . (Відповідь: **89 \%**).

Задача 2.21. Розраховано, що в деякому процесі біосинтезу, який відповідає моделі РЛК, $X_n = 0,03 \text{ кг/м}^3$, $X_k = 30 \text{ кг/м}^3$, питома швидкість росту – $0,1 \text{ год}^{-1}$. Знайти оптимальний час культивування та ступінь конверсії. (Відповідь: **88,5 год, 87,47%**).

Задача 2.22. Розраховано, що під час спиртового бродіння цукру при початковій концентрації дріжджів $2,82 \text{ кг/м}^3$ їх кінцева концентрація буде становити $4,72 \text{ кг/м}^3$. Експериментально встановлено, що за 4 доби бродіння цукру його конверсія становить 94% . Використовуючи модель РЛК, знайти питому швидкість росту біомаси. (Відповідь: **0,0493 год⁻¹**).

Задача 2.23. За 1 цикл періодичного культивування, що триває 72 год з моменту внесення посівного матеріалу, одержують КР з концентрацією біомаси 60 кг/м^3 . Культиватор працює 230 діб на рік, його потужність за біомасою – 200 тонн на рік, додатковий час культивування – 20 год . Коефіцієнти втрат, браку, заповнення – середні. Знайти об'єм культиватора. (Відповідь: **149,4 м³**).

Задача 2.24. Установа для безперервного культивування складається з двох однакових ферментерів. У першому процес відбувається в екстремальних умовах. Процес підкоряється моделі РЛК. Кінцева концентрація біомаси – 60 кг/м^3 , питома швидкість росту – $0,112 \text{ год}^{-1}$. Об'ємний потік – $1 \text{ м}^3/\text{год}$. Коефіцієнти K_1 , K_2 та K_3 відповідно $1,1$ та $0,7$. Знайти концент-

рацію біомаси на виході з другого ферментера та його об'єм. (Відповідь: 48,54 кг/м³).

Задача 2.25. Процес культивування підкоряється моделі РЛК. Питома швидкість росту – 0,1 год⁻¹, ступінь конверсії – 90 %. Початкова концентрація біомаси – 0,03 кг/м³, кінцева – 30 кг/м³. Знайти час культивування. (Відповідь: 91 год).

Задача 2.26. Процес ферментації підкоряється моделі РЛК. Питома швидкість росту продуцента – 0,12 год⁻¹. Ступінь конверсії – 95 %. Час культивування – 72 години, $X_k = 3$ кг/м³. На 10 масових частин ЖС задають 1 масову частину ПМ. ПМ містить АСБ в концентрації 1 кг/м³. Скільки кг АСБ повинно бути в ПМ, якщо ЖС було взято 1000 кг? (Відповідь: 0,011 кг).

Задача 2.27. Скільки часу потрібно для культивування біомаси, щоб залишати 10 мас.% КР у ферментері як закваску для процесу ферментації об'ємно-доливним методом. Процес підкоряється моделі РЛК. $X_k = 7$ кг/м³, $\mu = 0,1$ год⁻¹, ступінь конверсії – 90 %. (Відповідь: 45,1 год).

Задача 2.28. Активність антибіотика в КР – 700 Од/мл (1 Од = 1 мікрограму). Час культивування в періодичному процесі – 120 годин, додатковий час – 20 год. Річний ресурс робочого часу – 300 діб. Коефіцієнт браку і заповнення відповідно 0,85 та 0,7. Обрати ємність стандартного ферментера. Скільки кг антибіотика буде міститись в КР, одержаної за 1 цикл культивування? (Відповідь: 2,29 кг).

Задача 2.29. Безперервний процес одноступеневого культивування відповідає моделі РЛК. Коефіцієнт розбавлення – 0,05 год⁻¹, питома швидкість росту – 0,2 год⁻¹. Знайти ступінь конверсії. (Відповідь: 75 %).

Задача 2.30. Процес культивування біомаси, який підкоряється моделі РЛК, проводять за від'ємно-доливним методом. Питома швидкість росту біомаси – 0,08 год⁻¹. За 1 цикл зливають половину КР і доливають свіже ЖС. Далі процес ведуть до ступеня конверсії 90 %, а потім знову зливають половину КР. Скільки годин триває цикл? (Відповідь: 29,97 год).

Задача 2.31. На основі моделі РЛК розрахувати ємність безперервно діючого ферментера за умови, що $\mu = 0,3$ год⁻¹, $X_k = 40$ кг/м³, річна потужність виробництва за біомасою –

150 тонн/рік, ресурс робочого часу – 350 діб/рік, коефіцієнт втрат біомаси при наступному обробленні – 0,7, коефіцієнт браку – 1, коефіцієнт заповнення – 0,6. (Відповідь: 14,1 м³).

Список літератури до глави 2

1. Гапонов К.П. Процессы и аппараты микробиологических производств. – М.: Легк. пром-сть, 1981. – 240 с.
2. Варфоломеев С.Д., Калюжний С.В. Биотехнология. Кинетические основы микробиологических процессов: Учеб. пособие для биол. и хим. спец. вузов. – М.: Высш. шк., 1990. – 296 с.