

Корисна модель належить до галузей, де потрібне використання біотехнологічних процесів, що ґрунтуються на активному розвитку мікроорганізмів в умовах збагаченого киснем середовища.

Насамперед спосіб може бути використаний у промисловій мікробіології та біотехнології для отримання біомаси мікроорганізмів, ферментів, антибіотиків, амінокислот та інших біологічно активних речовин.

Особливе значення метод має для виробництва лікарських препаратів, де критично важлива висока швидкість росту та метаболічної активності аеробних культур.

У харчовій промисловості спосіб застосовується при виробництві дріжджів, органічних кислот, вітамінів та пробіотичних продуктів. В агропромисловому комплексі технологія може використовуватися для отримання кормових добавок та біопрепаратів, які покращують засвоєння поживних речовин у тварин.

В галузі екології та охорони навколишнього середовища спосіб має значення для процесів біологічного очищення стічних вод, переробки органічних відходів та прискореного компостування. Завдяки ефективному насиченню середовища киснем та рівномірному розподілу бульбашок газу метод забезпечує високу швидкість окислювальних реакцій та підвищує ефективність біорозкладання органічних сполук.

Спосіб є універсальною технологією, що може застосовуватися як у великотоннажних промислових виробництвах, так і в малих лабораторних установках.

Найближчим аналогом є спосіб аеробної ферментації біологічних матеріалів, який включає заселення бактерій, призначених для процесу ферментації, у живильне середовище робочої ємності обмеженого об'єму (Патент UA № 3001 на корисну модель. Опубл. 15.09.2004, бюл. № 9/2004).

Відповідно до найближчого аналога, перед початком роботи здійснюють підготовку ферментатора до біосинтезу, що включає попереднє очищення дезінфікуючим розчином, промивання чистою водою, перевірку герметичності запірної арматури та перевірку комунікацій.

Безпосередньо процес ферментації здійснюють таким чином. Спочатку здійснюють завантаження всередину корпусу ферментатора стерильного живильного середовища через патрубок, що підводить, з одночасним поданням повітря в барботер. Далі здійснюють підігрів живильного середовища і при досягненні його заданої температури, здійснюють завантаження стерильного посівного матеріалу через патрубок, що підводить.

Для виконання біосинтезу масу аерують. Для інтенсифікації процесу розчинення кисню середовище додатково перемішують, навіщо використовують різні типи мішалок. Вал, на якому встановлені мішалки рухають за допомогою електродвигуна з регулятором швидкості обертання, для регулювання швидкості обертання мішалки. Підшипник, на якому встановлюють верхній кінець вала, виконують з торцевим ущільненням, що забезпечує велику герметичність вузла установки вала і, відповідно, стерильні умови процесу біосинтезу. Після здійснення процесу біосинтезу отриманий продукт вивантажують через відповідний патрубок.

Аналіз способу показує, що, незважаючи на наявність основних етапів підготовки обладнання, стерилізації та ведення процесу ферментації, найближчий аналог має ряд істотних недоліків, що обмежують його ефективність та технологічний потенціал.

Насамперед, використання мішалки як основного засобу перемішування живильного середовища та подачі повітря через барботер не забезпечує достатнього ступеня диспергування бульбашок газу. В результаті формуються великі бульбашки повітря, які швидко спливають, не встигаючи повноцінно розчинитися. Це призводить до зниження концентрації розчиненого кисню, що особливо критично для аеробних мікроорганізмів, які активно споживають кисень у процесі метаболізму. Крім цього, в робочому об'ємі ферментатора виникають зони з різним рівнем насиченості киснем: поблизу барботера концентрація газу надмірна, тоді як у віддалених областях середовища фіксується кисневе голодування, що знижує швидкість росту клітинної маси та продуктивність процесу.

Іншим недоліком найближчого аналога є висока залежність рівномірності процесу механічної роботи мішалки. При зміні в'язкості середовища або збільшенні біомаси ефективність перемішування падає, що призводить до стратифікації середовища та утворення застійних зон. Це знижує керованість процесом та викликає додаткові енергетичні витрати через необхідність збільшення швидкості обертання вала та потужності електродвигуна.

Наявність громіздкої системи підшипників та торцевих ущільнень вносить конструктивні ускладнення, збільшує ризик витоків та потребує регулярного обслуговування. При цьому спосіб не передбачає цілеспрямованого подрібнення бульбашок газу та їхнього рівномірного розподілу по всьому об'єму робочого середовища.

Таким чином, спосіб не забезпечує оптимального насичення середовища киснем, рівномірності газорідного обміну та стабільності параметрів процесу, що обмежує вихід кінцевого продукту та робить його менш економічно ефективним порівняно із заявленим способом.

Заявлена корисна модель спрямована на вирішення комплексу задач, що виникають при організації ефективного процесу аеробної ферментації у робочих ємностях. Однією з основних задач є забезпечення максимального насичення живильного середовища киснем та підтримання

рівномірного розподілу кисню по всьому об'єму середовища. Вирішення цієї задачі необхідне запобігання локальних зон дефіциту чи надлишку кисню, що безпосередньо впливає стабільність метаболізму мікроорганізмів, швидкість їх зростання і вихід цільового продукту.

Ще однією задачею є прискорення процесу розчинення кисневмісного газу в рідкій фазі шляхом дроблення бульбашок на мінімальні розміри та створення стійких турбулентних потоків, що підвищує коефіцієнт масопередачі кисню та забезпечує рівномірне насичення середовища без застосування надлишкового тиску або складних механічних перемішувачів. Вирішення цієї задачі дозволяє знизити енергетичні витрати на аерацію та уникнути пошкодження клітин мікроорганізмів механічним впливом.

Наступна задача, яка вирішується корисною моделлю, полягає у забезпеченні безперервної циркуляції живильного середовища через робочу ємність, вузол змішування та турбулізатор зі статичним змішувачем. Така організація потоку гарантує підтримку постійного рівня розчиненого кисню, запобігає застійним зонам і забезпечує однорідні умови для всіх клітин, що особливо важливо при роботі з чутливими мікроорганізмами і при масштабуванні процесу.

Крім цього, корисна модель вирішує задачу підвищення загальної ефективності процесу ферментації, включаючи прискорення зростання біомаси, збільшення виходу цільового продукту та зменшення часу циклу культивування. Важливою технологічною задачею є можливість гнучкої адаптації способу під різні види мікроорганізмів із різною потребою у кисні.

Додаткові задачі, що вирішуються корисною моделлю, включають забезпечення стабільності фізичних та хімічних параметрів середовища, підвищення розчинності кисню, мінімізацію утворення побічних продуктів, підвищення відтворюваності та керованості технологічного процесу, а також створення умов масштабування лабораторних дослідів до промислових обсягів без зниження ефективності та якості кінцевого продукту.

Поставлена задача вирішується тим, що в способі аеробної ферментації біологічного матеріалу, що включає заселення бактерій, призначених для процесу ферментації, у живильне середовище робочої ємності обмеженого об'єму, згідно з корисною моделлю, в нижній частині робочої ємності виконують випускний патрубок, з'єднаний з насосом, при цьому вихідну частину насоса з'єднують з вузлом змішувача потоків, до якого додатково приєднують патрубок подачі кисневмісного газу, при цьому в змішувачі потоків здійснюють попереднє змішування живильного середовища з кисневмісним газом з утворенням газорідної суміші, яку подають далі в турбулізатор, який виконують у вигляді трубчастого патрубка, усередині якого по всій довжині розміщують статичний змішувач у вигляді послідовно з'єднаних пластин, площини яких мають різну просторову орієнтацію, при цьому статичним змішувачем формують стійкі турбулентні потоки, за допомогою яких диспергують бульбашки кисневмісного газу та забезпечують їх розчинення в об'ємі живильного середовища, а також рівномірно розподіляють кисень по всьому об'єму живильного середовища, при цьому насичене киснем живильне середовище циркуляційно подають з турбулізатора назад у робочу ємність і забезпечують підтримання постійного рівня насичення живильного середовища киснем.

Реалізація заявленого способу аеробної ферментації забезпечує досягнення комплексного технічного результату, що полягає у значному підвищенні ефективності процесу, керованості умов культивування та якості кінцевого продукту за рахунок оптимізації насичення киснем та рівномірного розподілу його за обсягом робочого живильного середовища.

Основним ефектом є забезпечення максимальної розчинності кисню в рідині при мінімальних енергетичних витратах за рахунок використання послідовного попереднього змішування газової та рідкої фаз у змішувачі потоків та подальшої турбулентної обробки суміші в турбулізаторі зі статичним змішувачем. В результаті великі бульбашки кисневмісного газу дробляться до дрібнодисперсного стану, що багаторазово збільшує площу міжфазного контакту та прискорює кінетику перенесення кисню в рідку фазу.

Рівномірний розподіл кисню по всьому об'єму робочого середовища забезпечує однорідні умови для всіх клітин мікроорганізмів, що унеможливорює появу локальних зон дефіциту кисню або перенасичення газовою фазою. Це запобігає переходу клітин на анаеробні шляхи метаболізму, зменшує утворення небажаних побічних продуктів та підвищує стабільність синтезу цільових речовин. Одночасно створюються умови підтримки високої метаболічної активності мікроорганізмів протягом усього процесу ферментації, що прискорює фазу експоненційного зростання біомаси і забезпечує більш короткий загальний цикл культивування.

Система безперервної циркуляції рідини через насос, змішувач потоків та турбулізатор забезпечує постійне оновлення газорідної суміші у робочій ємності, що дозволяє підтримувати стабільний рівень розчиненого кисню в діапазоні, оптимальному для конкретної культури. Це дозволяє гнучко керувати процесом: регулювати швидкість насоса, витрату кисневмісного газу та інтенсивність турбулентності потоку в залежності від потреб мікроорганізмів та стадії ферментації.

Спосіб адаптується під різні режими культивування, включаючи періодичний, півбезперервний та безперервний, забезпечуючи універсальність застосування у лабораторних та промислових масштабах.

Додатково технічний результат виявляється у підвищенні виходу цільового продукту за рахунок забезпечення однорідного доступу клітин до розчиненого кисню, що дозволяє синтезувати метаболіти та біомасу з мінімальними відхиленнями за якісними характеристиками. Застосування турбулізатора зі статичним змішувачем запобігає коалесценції бульбашок та забезпечує їх тривале утримання у диспергованому стані, що знижує втрати газу через спливання та збільшує масопередачу кисню. Однорідна насиченість середовища киснем дозволяє підтримувати стабільний рН та температуру на мікрорівні, знижуючи стресові впливи на клітини та забезпечуючи високу життєздатність культури.

Застосування способу дає додаткові переваги: зниження енерговитрат у порівнянні з механічним перемішуванням великого об'єму рідини, збільшення часу насичення киснем та можливість масштабування процесу без зниження ефективності.

Стійкі турбулентні потоки в турбулізаторі забезпечують формування дрібнодисперсних бульбашок на всій довжині патрубка, що виключає зони з низьким кисневим насиченням та підвищує ефективність використання газу порівняно з традиційними способами барботування.

У сукупності заявлений спосіб забезпечує: прискорення аеробної ферментації, збільшення біомаси та вихід цільового продукту, скорочення часу циклу, підвищення однорідності середовища та стабільності метаболізму мікроорганізмів, зниження втрат кисню та енергії, універсальність для різних мікроорганізмів та масштабів виробництва, а також підвищення економічної ефективності технологічного процесу. Ці ефекти забезпечуються завдяки інтеграції попереднього змішування, турбулентної обробки та постійної циркуляції газорідної суміші в єдиному технологічному циклі, що робить спосіб принципово відмінним від відомих аналогів та значно покращує виробничі показники.

Спосіб здійснюється таким чином.

Спосіб аеробної ферментації реалізують шляхом виготовлення робочої ємності обмеженого об'єму, яка може бути виконана у вигляді циліндричного ферментера з корозійностійкої сталі або інертного полімерного матеріалу, оснащеного кришкою і необхідними технологічними патрубками для введення та виведення рідкої та газової фаз, а також датчиками контролю тиску, температури та концентрації розчиненого кисню.

Всередину зазначеної робочої ємності попередньо заливають робоче живильне середовище, склад якої визначається вимогами обраної мікробної культури і може включати вуглецеві джерела у вигляді глюкози, мальтози або гліцерину, джерела азоту у вигляді амонійних солей, а також мінеральні солі та мікроелементи.

Після стерилізації середовища та робочої ємності парою або іншими методами до неї вводять інокулят бактерій, отриманий в окремому передферментері.

У нижній частині робочої ємності конструктивно передбачено випускний патрубок, який з'єднують з насосом, що служить для створення циркуляційного потоку рідини. Як насос може використовуватися відцентровий, мембранний, осьовий або перистальтичний насос, причому вибір конкретного типу залежить від масштабів процесу та чутливості мікроорганізмів до механічних впливів. При промисловому виконанні доцільним є застосування відцентрового насоса, що забезпечує високу продуктивність, проте при роботі з особливо чутливими клітинами можливе використання перистальтичного насоса, що створює м'який режим перекачування. Вихідна частина насоса з'єднується з вузлом змішувача потоків, конструктивно виконаним у вигляді Т-подібного або Y-подібного з'єднання, до якого додатково приєднаний патрубок подачі кисневмісного газу.

Забезпечення максимального насичення киснем середовища у ферментері є одним із ключових факторів успішного перебігу аеробної ферментації. Кисень служить головним акцептором електронів у дихальному ланцюзі мікроорганізмів, і саме від його доступності залежить швидкість окислювально-відновних реакцій, утворення енергії у формі АТФ і, як наслідок, інтенсивність росту клітин та синтезу продуктів метаболізму.

Нестача кисню відразу призводить до зниження метаболічної активності, накопичення побічних речовин і зменшення виходу цільового продукту.

Контроль концентрації розчиненого кисню має значення якості кінцевого продукту. Надмірне насичення може призвести до окислювального стресу клітин, пошкодження мембран та ферментів, а також зниження життєздатності мікроорганізмів. Тому важливо не тільки прагнути максимального рівня кисню, але й підтримувати його в оптимальному діапазоні, що відповідає фізіологічним потребам культури.

Газ може подаватися як повітря, збагаченого киснем повітря чи чистого кисню залежно від технологічних потреб. Подача газу регулюється компресором і системою клапанів, а витрата контролюється ротаметром або масовим витратоміром, що дозволяє точно дозувати обсяг кисню, що подається. У змішувачі потоків відбувається первинна взаємодія рідкого потоку циркулюючого живильного середовища з газовим потоком, що надходить, що призводить до утворення газорідної суміші з великими бульбашками кисню.

Для досягнення максимального розчинення газу отримана суміш подається в турбулізатор, виконаний у вигляді патрубка, всередині якого по всій довжині розміщений статичний змішувач.

Статичний змішувач може бути виконаний у вигляді гвинтових або пластинчастих вставок або комбінованих структур, що створюють під час проходження рідини серію завихрень.

Турбулентність виконує кілька критично важливих функцій. Насамперед, вона сприяє дробленню великих бульбашок повітря на дрібні, що різко збільшує сумарну площу поверхні контакту газу та рідини. Чим дрібніші бульбашки, тим вища швидкість розчинення кисню в середовищі, оскільки маса газу розподіляється на більшу кількість частинок. У цьому зростає коефіцієнт масопередачі, і процес насичення середовища киснем прискорюється.

Важлива функція турбулентних потоків - забезпечення рівномірного розподілу бульбашок у всьому обсязі ферментера. Стійкі турбулентні потоки усувають такі градієнти та створюють однорідне середовище, в якому кожна клітина отримує рівний доступ до кисню.

Турбулентність запобігає коалесценції бульбашок, яка знижує ефективність масопередачі і призводить до нерівномірного насичення середовища киснем. Завдяки турбулентним зсувним силам бульбашки постійно розбиваються та диспергуються, зберігаючи оптимальний дрібнодисперсний розмір.

Чим швидше кисень розчиняється і рівномірно розподіляється, тим активніше йде клітинний метаболізм, тим коротшим стає тривалість фази адаптації і вища інтенсивність експоненційного зростання. Це дозволяє скоротити загальний час циклу ферментації, підвищити вихід продукту за одиницю часу та покращити економічну ефективність виробництва.

Таким чином, стійкі турбулентні потоки є фундаментальною умовою ефективної аеробної ферментації. Вони забезпечують дроблення повітря на дрібні бульбашки, перешкоджають їх коалесценції, рівномірно розподіляють кисень по всьому об'єму середовища та створюють однорідні умови для всіх клітин. Це веде до прискорення процесу ферментації, підвищення виходу цільового продукту та оптимізації технологічних параметрів.

З турбулізатора газорідинна суміш подається назад у робочу ємність через окремий вхідний патрубок. Таким чином, забезпечується безперервна циркуляція середовища: рідина, що містить рівномірно розподілені бульбашки кисню, надходить у ємність, мікроорганізми активно використовують розчинений кисень для метаболічних процесів, після чого рідина знову надходить через випускний патрубок до насоса і далі змішувач потоків і турбулізатор, утворюючи замкнутий цикл.

За рахунок постійної циркуляції досягається підтримка стабільного рівня розчиненого кисню у всьому об'ємі середовища. Для контролю параметрів процесу можуть використовуватися датчики, вбудовані в робочу ємність датчик розчиненого кисню дозволяє відстежувати його концентрацію в реальному часі, датчик pH забезпечує контроль кислотності, а температурні датчики підтримують оптимальний тепловий режим.

Система автоматизації регулює подачу газу та швидкість роботи насоса, що дозволяє підтримувати задані умови без втручання оператора. У разі збільшення потреби культури у кисні система автоматично підвищує витрату газу чи швидкість циркуляції рідини. При зниженні потреби, навпаки, подача зменшується для запобігання надмірному насиченню та виникненню окислювального стресу у клітин. Таким чином, процес протікає у динамічно збалансованому режимі.

Додатково в робочій ємності може бути передбачено пристрій для відведення надлишкових газів, що являє собою газовідвідний патрубок з сепаратором, що відокремлює бульбашки газу, що не прореагували, від рідини. Це запобігає надмірному накопиченню газу та спіненню середовища. У деяких варіантах виконання всередину ємності вводять антиспінувачі або використовують механічні піногасники.

Незалежно від масштабу ферментації принцип роботи залишається незмінним: циркуляція рідини через насос, попереднє змішування з газом, турбулентне диспергування бульбашок у турбулізаторі та повернення суміші у робочу ємність. Важливою особливістю є можливість адаптації способу до різних режимів ферментації.

При безперервному режимі ферментації здійснюється постійний приплив свіжого середовища та відведення відпрацьованої з культурою рідини, що дозволяє підтримувати клітини у фазі активного росту.

Спосіб дозволяє отримувати високу концентрацію біомаси та цільових метаболітів за рахунок оптимального кисневого режиму. Мікроорганізми постійно забезпечені необхідною кількістю кисню, що унеможливорює перехід до анаеробних шляхів метаболізму та утворення небажаних побічних продуктів. Одночасно запобігає локальному перенасиченню киснем та утворенню активних форм кисню, здатних пошкоджувати клітини. Таким чином, створюються оптимальні умови для зростання та метаболічної активності.

Застосування статичного змішувача та турбулізатора є ключовою ознакою корисної моделі, оскільки саме вони забезпечують подрібнення бульбашок кисню до мінімальних розмірів, їх рівномірний розподіл та швидке розчинення у середовищі. Це дає можливість значно прискорити процес ферментації, підвищити вихід цільового продукту та зробити його більш передбачуваним.

Реалізація постійної циркуляції рідини через насос, змішувач потоків та турбулізатор забезпечує стійку підтримку оптимальних умов протягом усього процесу. Все вищеописане підтверджує, що

спосіб, що заявляється, має істотні відмінності від відомих рішень і забезпечує досягнення технічного результату у вигляді підвищення ефективності аеробної ферментації, прискорення її протікання і збільшення виходу продукції.

Дослідження способу показали, що його реалізація забезпечує виключення локальних зон кисневого голодування або надмірного накопичення газу, збереження однорідності культуральної рідини, створення оптимальних умов дихальної активності мікроорганізмів.

Спосіб дозволяє прискорити процес ферментації та підвищення виходу цільового продукту, причому параметри циркуляції рідини.

Інтенсивність подачі кисневмісного газу та режим турбулізації може оперативно змінюватися в залежності від характеристик застосовуваної мікробної культури та заданих технологічних умов, що дозволяє здійснювати керовану підтримку стабільного рівня розчиненого кисню та оптимізацію метаболічної активності мікроорганізмів протягом усього часу ведення аеробної ферментації.