

Российский химико-технологический университет имени
Д. И. Менделеева

На правах рукописи

Васильев Александр Вячеславович

**Разработка технологии получения
растительно-углеводного белкового
концентрата (РУБК) на основе отходов
пивоваренной промышленности**

Специальность: 1.5.6. Биотехнология

Диссертация на соискание ученой степени кандидата
технических наук

Научный руководитель:
доктор технических наук,
профессор
Виктор Иванович Панфилов

Москва 2024

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	5
ГЛАВА 1. Литературный обзор.	10
1.1. Проблема утилизации пивной дробины.	10
1.2. Проблема утилизации куриного помёта.	28
1.3. Методы гидролиза углеводсодержащих растительных отходов.	39
1.4. Методы выделения биомассы микроорганизмов из культуральной жидкости.	48
ГЛАВА 2. Материалы и методы исследования.	63
2.1. Характеристика используемого сырья.	63
2.2. Культивирование микроорганизмов.	65
2.2.1. Краткая характеристика основных продуцентов.	65
2.2.2. Состав и условия подготовки питательных сред.	66
2.2.3. Методы культивирования микроорганизмов.	67
2.3. Методы анализа.	69
ГЛАВА 3. Результаты и обсуждение.	82
3.1. Гидролиз пивной дробины.	82
3.1.1. Кислотный гидролиз пивной дробины.	82
1. Кислотный гидролиз цельной пивной дробины.	82
2. Кислотный гидролиз твёрдой фазы пивной дробины.	85
3.1.2. Ферментативный гидролиз пивной дробины.	87
1. Ферментативный гидролиз цельной пивной дробины.	87
2. Ферментативный гидролиз твёрдой фазы пивной дробины.	90
3.1.3. Смешанный гидролиз пивной дробины.	97
3.2. Культивирование микроорганизмов в средах на основе гидролизатов пивной дробины в периодическом режиме	98
3.2.1. Культивирование дрожжей в средах на основе кислотных гидролизатов пивной дробины.	98

1. Культивирование дрожжей <i>Candida scotti</i> .	98
а) Культивирование дрожжей <i>Candida scotti</i> в средах на основе кислотных гидролизатов цельной пивной дробины.	98
б) Культивирование дрожжей <i>Candida scotti</i> в средах на основе кислотных гидролизатов твёрдой фазы пивной дробины.	114
2. Культивирование <i>Endomycopsis fibuligera</i> .	115
3. Культивирование дрожжей <i>Yarrowia lipolytica</i> .	121
4. Культивирование дрожжей <i>Candida utilis</i> .	130
3.3. Культивирование с рециклом фильтрата КЖ дрожжей <i>Candida scotti</i> в средах, содержащих кислотный гидролизат цельной пивной дробины.	135
3.4. Культивирование <i>Endomycopsis fibuligera</i> в средах на основе кислотных гидролизатов твёрдой фазы пивной дробины с добавлением фильтрата гидролизата куриного помёта.	143
3.5. Культивирование дрожжей в средах на основе ферментативных и смешанных гидролизатов цельной пивной дробины	145
3.6. Исследование процесса фильтрации культуральной жидкости	147
3.6.1. Исследование фильтрации культуральной жидкости через фильтрующий материал «Бельтинг»	147
1. Исследование фильтрации суспензий после культивирования <i>Candida scotti</i>	147
2. Исследование фильтрации суспензий после культивирования <i>Endomycopsis fibuligera</i>	149
3. Исследование фильтрации суспензий после культивирования <i>Yarrowia lipolytica</i>	154

3.6.2. Исследование различных фильтрующих материалов применительно к культуральным жидкостям на основе кислотных гидролизатов пивной дробины.	158
3.7. Технологическая схема производства.	160
3.7.1. Технологическая схема с использованием солей в качестве источника минеральных веществ.	161
3.7.2. Технологическая схема с использованием куриного помёта в качестве источника минеральных веществ.	164
3. Выводы.	169
Список литературы	171
Приложение 1. Экономическая часть	191

Введение

Пивоварение относится к одному из самых материалоемких производств среди отраслей пищевой промышленности, при этом для получения солода и пива расходуется яровой высококачественный ячмень. Однако, даже при переработке высококачественного ячменя на солод и пиво только 75 - 78 % сухих веществ можно использовать для получения целевого продукта. Оставшаяся часть сухих веществ представляет собой отходы, которые не могут быть в полном объеме повторно использованы при производстве солода и пива. Содержание питательных веществ в них более 25% от содержания в исходном сырье. Отходы пивоваренного производства являются вторичными материальными ресурсами (ВМР), и широко применяются в различных отраслях сельского хозяйства и промышленности. Одним из самых значительных видов ВМР по объёму и пищевой ценности является пивная дробина, количество которой составляет более 1 млн. т в год [59, 123].

Чаще всего пивную дробину используют в нативном виде как корм, но такое её применение имеет ряд недостатков из-за малой стойкости при хранении вследствие содержания в ней веществ, подвергающихся быстрой порче, а также неполной усвояемости отдельных ингредиентов скотом. Проблема эффективной утилизации пивной дробины весьма актуальна.

В промышленном птицеводстве основным отходом и источником загрязнения почвы, воды и воздуха в зоне птицефабрик является сырой птичий помёт, количество которого в год составляет около 25 млн. т [98].

Утилизация отходов около двух тысяч работающих птицефабрик чаще всего осуществляется на элементарных грунтовых площадках-помётохранилищах. В процессе хранения жидкая фаза помёта, представляющая собой высококонцентрированный сток, попадает в грунтовые воды, ухудшает органолептические свойства и санитарное состояние воды, нарушает экологическое равновесие водоёмов.

Так как сооружения по очистке питьевой воды не приспособлены для очистки от азота, то это приводит к повышению концентрации аммонийного азота, что отражается на качестве питьевой воды [73].

В последние годы во всём мире, в том числе и в нашей стране отмечается большой дефицит кормового белка. В связи с этим, все больше кормовых дрожжей, получаемых на гидролизатах растительных сельскохозяйственных и промышленных углеводсодержащих отходов, используется в рационах кормления животных и птиц. Эти дрожжи являются биологически полноценным источником белка, витаминов и минеральных веществ, и на их основе возможно получение кормовых продуктов. Содержание аминокислот в кормовых дрожжах близко к их содержанию в белках животного происхождения, и их добавка повышает биологическую ценность белков других кормов.

Одним из возможных вариантов решения проблем накопления куриного помёта и пивной дробины и решения проблемы дефицита кормового белка, является разработка на их основе комплексных питательных сред для культивирования кормовых дрожжей и получение на их основе растительного углеводно-белкового кормового продукта (РУБК) по энергосберегающей малоотходной технологии.

Актуальность работы. В пищевой промышленности образуется относительно высокий уровень побочных продуктов и отходов производства на единицу исходного сырья. Одним из самых значительных видов отходов по объёму и пищевой ценности является пивная дробина. При производстве пива на предприятиях отрасли за год накапливается более 1 млн. т дробины влажностью 70 – 80% [Табаков Н.А. и др., 2013, Фискин В.И. и др., 2000].

В настоящее время во всех странах пивную дробину реализуют в основном на корм скоту в нативном виде. Однако при реализации дробины в нативном виде возникает ряд проблем, требующих решения: сезонные колебания спроса и предложения в течение года, низкая стойкость сырой пивной дробины при хранении, высокие транспортные расходы на перевозку

и др. Также пивная дробина бедна минеральными веществами и водорастворимыми витаминами, поэтому пригодна в основном для откорма поголовья крупного рогатого скота [Табаков Н.А. и др., 2013].

Одним из наиболее эффективных способов решения проблемы утилизации пивной дробины является получение на её основе углеводно – белкового кормового продукта посредством глубинного гетерофазного культивирования кормовых микроорганизмов. Исследования последних лет показали, что процесс получения микробного белка может осуществляться только по ресурсо- и энергосберегающим технологиям. Улучшить технико-экономические показатели производства дрожжей возможно, если использовать стадию фильтрования микробных суспензий вместо энергоёмких процессов сепарации и вакуум-концентрирования, с возвратом фильтрата на стадию приготовления питательной среды [Каменный В.И., 2009]. Также возможно уменьшить издержки на дополнительную очистку отходов производства кормового белка от остатков условно – патогенных микроорганизмов (принадлежащих к роду *Candida*), традиционно используемых для данных целей, на непатогенные микроорганизмы.

Другим крупнотоннажным отходом сельского хозяйства является птичий помёт. В птицеводческих хозяйствах страны ежегодно накапливается около 25 млн. т жидкого помёта, и проблема его утилизации экологически приемлемыми способами стоит практически перед всеми птицефабриками [Попов В.Н. и др., 2020].

В то же время, птичий помёт богат минеральными веществами и после предварительной обработки и стерилизации может служить их источником в культуральных средах для микроорганизмов.

Цель работы. Цель данной работы заключалась в разработке энергосберегающей малоотходной технологии переработки пивной дробины в углеводно-белковый кормовой продукт в чистом виде и с добавкой обработанного куриного помёта в качестве источника минеральных веществ.

Для осуществления данной цели потребовалось решение следующих

задач исследования:

1. Подобрать оптимальные условия кислотного и ферментативного гидролиза пивной дробины с целью получения максимального выхода усвояемых микроорганизмами углеводов.

2. Подобрать оптимальный состав среды и условия культивирования в средах на основе кислотных и ферментативных гидролизатов пивной дробины для следующих микроорганизмов: *Candida scotti*, *Candida utilis*, *Yarrowia lipolytica*, *Endomycopsis fibuligera*.

3. Исследовать возможность замены минеральных солей в среде на фильтрат гидролизата куриного помёта.

4. Исследовать процесс фильтрации культуральной жидкости и подобрать оптимальные условия подготовки пивной дробины для обеспечения максимальной производительности фильтрации.

5. Исследовать возможность осуществления рецикла фильтрата культуральной жидкости при глубинном гетерофазном культивировании микроорганизмов.

6. Оценить качество получаемого углеводно – белкового кормового продукта по содержанию сырого протеина и токсичности для живых организмов.

Научная новизна. Установлена зависимость накопления биомассы микроорганизмами от условий гидролиза и состава среды. Подобраны оптимальные условия подготовки пивной дробины для максимального накопления биомассы микроорганизмов *Candida scotti*, *Candida utilis*, *Yarrowia lipolytica*, *Endomycopsis fibuligera*.

В работе была установлена возможность замены минеральных солей при культивировании микроорганизмов на фильтрат гидролизата куриного помёта.

Практическая значимость. Разработана энергосберегающая малоотходная технология переработки пивной дробины в углеводно–белковый кормовой продукт путём глубинного гетерофазного культивирования микроорганизмов

в средах на основе ферментативных и кислотных гидролизатов пивной дробины с последующей фильтрацией и рециклом фильтрата КЖ. Данная технология исключает применение энергоёмких стадий концентрирования биомассы сепарацией и вакуум-концентрированием и значительно сокращает отвод технологических стоков.

Разработанную технологию можно рекомендовать к использованию на модульных установках как в составе крупных промышленных предприятий или кормоцехах, так и непосредственно на пивоваренных заводах.

Апробация работы. Основные результаты работы представлены на научно-практической конференции «Биотехнология на рубеже веков: проблемы и перспективы» (Киров, 2001); на республиканской конференции «Химия и химические продукты» (Москва, 2002); на I и II Московском международном конгрессе «Биотехнология: состояние и перспективы развития» (Москва, 2002, 2003); на 2-й Всероссийской научно-технической конференции «Современные достижения биотехнологии» (Ставрополь, 2002); на Международной конференции молодых учёных «От фундаментальной науки - к новым технологиям. Химия и биотехнология биологически активных веществ, пищевых продуктов и биодобавок. Экологически безопасные технологии» (Москва-Тверь 2001, Тверь, 2002); на 15-м Международном конгрессе по химическому технологическому инжинирингу (15th International Congress of Chemical and Process Engineering) (Прага, 2002).

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 16 печатных работ, в том числе 5 публикаций в журналах, рекомендованных ВАК.

Структура и объём диссертации. Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы, описания объектов и методов исследования, изложения результатов и их обсуждения, выводов, списка цитируемой литературы, включающего 200 наименований, в том числе 59 иностранных авторов. Основной текст работы изложен на 226 страницах машинописного текста и содержит 19 таблиц, 75 рисунков. Диссертация содержит 1 приложение.

ГЛАВА 1.

Литературный обзор.

1.1. Проблема утилизации пивной дробины.

Вопросы комплексной утилизации отходов пищевых, в том числе пивоваренных производств - одни из главных на настоящем уровне развития промышленности России. В первую очередь, отходы производства пива могут использоваться в качестве высококалорийных кормовых белково-активных добавок в рационах скота и птицы. В то же время, требует решения проблема загрязнения окружающей среды [61, 171, 179].

Производство напитков из солода и зерна – материалоемко. В себестоимости солода и пива затраты на сырьё превышают 70%. При его переработке неизбежно образуются отходы (около 2 млн. т в год влажностью 83%). В них много белковых и минеральных веществ, углеводов, витаминов и других ценных компонентов. Это так называемые вторичные сырьевые ресурсы (ВСР): зерно и сплав его, полировочные и аспирационные отходы, пивная и хмелевая дробина, белковый отстой, остаточные пивные дрожжи, солодовые ростки и др. [60]. В этих продуктах содержится более 25% питательных веществ исходного сырья.

Большая часть отходов пивоваренной промышленности представляют собой водянистые, скоропортящиеся продукты, и используются нерационально в связи с отсутствием в местах их получения сушильных установок, несовершенством способов их транспортировки и консервирования [106].

Сырьём для производства сухого пивоваренного солода является ячмень, который должен соответствовать требованиям действующего стандарта на ячмень пивоваренный.

Ячменное зерно имеет следующий средний химический состав (в % на сухое вещество) [22]:

Крахмал	45 - 68
Белок	7 - 26
Пентозаны	7 - 11
Клетчатка	3,5 - 7,0
Сахароза	1,7 - 2,0
Жиры	2 - 3
Минеральные вещества	2 - 3

Основным отходом производства пива является солодовая дробина. Она образуется как остаток после отделения пивного сусла в процессе фильтрации осахаренного пивного затора, когда максимально количество экстрактивных веществ, содержащихся в заторе, перешло в пивное сусло [114]. При производстве пива на предприятиях отрасли накапливается более 1 млн. т дробины в год [123]. Дробина состоит из твёрдой (55%) и жидкой (45%) фаз. В состав твёрдой фазы входят оболочка и нерастворимая часть зерна [60, 105].

На количество образующейся пивной дробины влияет много факторов: качество и ассортимент затираемых зернопродуктов, используемые техники и технологии фильтрования затора, способы выгрузки дробины в сборники, их удалённость от варочных цехов и др.

Количество образующейся пивной дробины зависит от количества экстрактивных веществ в солоде. Чем оно выше, тем меньше пивной дробины образуется в процессе экстракции [59, 167].

Влагосодержание дробины зависит от многих факторов, таких как способы фильтрования осахаренного затора, выгрузки из фильтр-чана и транспортировки до сборников дробины. Чаще всего для фильтрования пивных заторов используют фильтрационные чаны и фильтр-прессы [59].

Из 100 кг солода влажностью 4 - 5 % и экстрактивностью 74 - 75 % в среднем образуется 110 - 120 кг дробины влажностью 75 - 80 %.

При транспортировке дробины от фильтр-чана до сборников на большие расстояния (более 100 м) применяют насосы особой конструкции, при этом

для создания оптимальной для перекачки консистенции дробину разбавляют водой.

В соответствии с требованиями действующего стандарта содержание влаги в дробине, предназначенной для реализации, не должно превышать 88 %. В этом случае из 100 кг засыпи перерабатываемых зернопродуктов может получиться 200 - 250 кг пивной дробин влажностью 88 % в зависимости от их ассортимента и качества [59, 77].

Дробину хранят в стальных или бетонных сборниках и бункерах, находящихся в специальных помещениях или вне помещений. Угол наклона днища бункера должны быть не менее 45°, должен иметь штампованные сита с отверстиями 2 - 3 мм для отвода воды, а также разгрузочные отверстия диаметром не менее 500 мм или размером 400×400 мм при квадратном сечении. Объем сборников и бункеров должен быть рассчитан на 1 - 1,5-суточный выход дробины. Из них дробину передают в специальные машины для взвешивания на автомобильных весах и транспортировки [59].

Дробина пивная сырая представляет собой гущу светло-коричневого цвета со специфическим запахом и вкусом. Дробина может содержать до 88 % воды и храниться в течение 24 ч при температуре окружающей среды [60].

На состав дробины влияет качество солода, количество несоложенного сырья, а также сорт изготавливаемого пива [61]. В среднем в пивной дробине содержится (в %):

Воды	75
Сухих веществ	25
В том числе сырого протеина	5,3 - 7,1
Сырой клетчатки	3,5 - 4,0
Жира	1,5 - 1,8
Безазотистых экстрактивных веществ	8,7 - 11,6
Золы	0,5 - 0,7

Зола дробины богата солями кальция и фосфора [59].

Высокая усвояемость составных частей дробины, их благоприятное

влияние на пищеварительную систему животных делают этот продукт ценным кормом для скота. По данным Всесоюзного института животноводства, питательная ценность 1 кг свежей пивной дробины составляет 0,17 - 0,23 к. е., причём в ней содержится (в %): переваримого протеина - 3,9 - 4,2, жира - 1,3 - 1,5, безазотистых экстрактивных веществ - 5,5 - 6,6.

Протеин дробины по составу аминокислот является полноценным, так как содержит все незаменимые аминокислоты [28, 59, 136].

Использование пивной дробины в животноводстве.

В настоящее время во всех странах пивную дробину реализуют в основном на корм скоту в нативном виде. Использование сырой пивной дробины оказывает положительное влияние на продуктивность дойных коров, способствует повышению прироста при откорме свиней и крупного рогатого скота [30, 55, 89, 163, 182, 187].

Однако дробина бедна минеральными веществами и водорастворимыми витаминами, поэтому пригодна в основном для откорма крупного рогатого скота [55, 59]. Для этого вида кормового сырья характерна низкая обменная энергия (205-225 ккал в 100г), поэтому после его внедрения в рацион потребуется увеличение ввода дополнительных (достаточно дорогих) высокоэнергетических компонентов. А это неминуемо ведет к удорожанию рациона в целом. Содержание протеина в пивной дробине на уровне 20-26% можно назвать хорошим показателем, но он невелик по сравнению с иными, традиционно применяемыми компонентами, поэтому в качестве корма для птицы вряд ли сможет конкурировать с протеином сои или рыбной муки [65, 125].

В рационы молочного скота и молодняка пивную дробину обычно включают в небольших количествах (до 20%). Включение в рацион крупного рогатого скота дробины в количестве 15 – 20 кг в сутки повышает молочную продуктивность на 8 – 12%, при этом не оказывая заметного влияния на жирность, вкус и запах молока. Добавка к концентрированным кормам пивной дробинкой снижает себестоимость рациона [30, 55, 182].

Пивная дробина повышает коэффициент перевариваемости протеином кормовых продуктов, обогащает им рацион, а также улучшает использование фосфора и кальция, а также обладает выраженным пребиотическим потенциалом [171].

Скармливание большого количества дробины (20 – 30 кг на голову в сутки) отрицательно влияет на воспроизводительные функции коров. Однако длительное скармливание натуральной солодовой дробины в умеренных количествах (до 10 кг в начале лактации и 3,5 кг в конце, или 13 % сухого вещества рациона) не вызывает расстройств физиологических функций и не влияет на качество молока [55, 91].

Также пивная дробина может использоваться для кормления свиней. Эксперименты показали, что добавка в рацион до 11% пивной дробины увеличивает среднесуточный привес до 8%. Добавка пивной дробины уменьшает расход кормов, позволяет экономить концентраты, при этом не ухудшая качества мясной продукции [68, 69, 107].

Однако усвояемость пивной дробины свиньями ниже, чем жвачными животными. Так, жвачные животные переваривают сырой протеин пивной дробины на 68 – 73%, а свиньи только на 58,9%; переваримость безазотистых экстрактивных веществ составляет соответственно 59 – 69 и 38,9 % [70, 124].

Пивную дробину в свежем виде используют для кормления кроликов. Кролику с живой массой 3,0 – 3,5 кг в день в среднем требуется до 200 г пивной дробины [30].

В Швейцарии около 80% дробины идёт на корм скоту в сыром виде, при этом хозяйства и фирмы расположены от пивоваренных заводов в радиусе 1-30 км. 20% хозяйств дробину консервируют. Сырая дробина скармливается молочным коровам по 3-15 кг наголову в сутки [163].

Известно мнение, что солодовая дробина отрицательно влияет на содержание жира в молоке (снижает).

Исследования, проведённые фирмой “Tremonis Gmb H” показали, что пивная дробина содержит больше энергии, чем считалось раньше, а по

содержанию белков и жира в получаемом молоке приравнивается к концентрированным кормам [164].

Однако при реализации дробины в нативном виде возникает ряд проблем, требующих решения: сезонные колебания спроса и предложения дробины в течение года, низкая стойкость сырой пивной дробины при хранении (24 ч с момента получения), высокие транспортные расходы на перевозку нативной пивной дробины влажностью 88% и др.

Кроме того, транспортировка дробины производится специально оборудованными автомобилями, которые половину рейса идут порожняком, поэтому коэффициент их использования в большинстве колхозов и совхозов не превышает 0,5 [59].

Разработаны различные способы сохранения дробины для кормовых целей, в первую очередь сушка её [88, 92, 105].

Перед сушкой дробину прессуют на дисковых прессах до влажности 60%, однако это приводит к потере до 15% растворимых питательных веществ – аминокислот, сахаров и других веществ [93].

Существуют два основных способа сушки пивной дробны – с прямым и непрямым подогревом. В первом способе используют трубчатую, при этом расход тепла составляет 40000 ккал на 100 кг. При втором способе использую барабанную (газовую) сушилку. При этом расход тепла достигает 60000 ккал. Сушка дробины должна осуществляться при температуре не выше 60 °С, иначе снижается её питательная ценность.

Для улучшения кормовых свойств пивной дробины предлагается добавлять к ней при сушке до 20 % свекловичной мелассы имеющей высокую концентрацию сахара [6].

Разработана технология гранулирования сырой пивной дробины в окаточных барабанах, выпускаемых отечественными машиностроительными заводами. Для лучшей грануляции рекомендуется добавка 5 – 6% мелассы [62].

Калорийность сушёной дробины равна 439,9 кал. (на 1 т) [6].

Широкие исследования, проведённые во многих странах мира, показали, что в состав сухой пивной дробины входят (в %):

Вода – 5,6 – 8,0;

Сырой протеин – 20,7 – 29,0;

Жир – 7,1 – 7,5;

Безазотистые экстрактивные вещества – 37,9 – 44,1;

Клетчатка – 10,4 – 14,4;

Зола – 3,8 – 4,1.

Питательная ценность 1 кг сухой пивной дробины составляет 0,80 – 0,82 к. е. [39, 59, 157].

Сушёная дробина стойка при хранении и транспортабельна. Однако сушка дробины требует очень высоких затрат пара – в среднем 1,1 кг прямого или 1,32 кг отработанного на 1 кг испаряемой влаги, и не всегда оправдывается экономически. При получении 1 кг сухой пивной дробины расходуется угля – 0,5 кг, электроэнергии – 1,7 кВт·ч, пара 1,0 – 2,5 кг, воздуха – 120 л. Сушка пивной дробины для повышения её технологических свойств, как показывает опыт, экономически оправдана лишь при перевозке на длительные (свыше 50 км) расстояния [60].

Помимо этого, часть белковых веществ дробины при сушке превращается в неперевариваемую форму, что вызывает снижение питательной ценности сухой дробины по сравнению со свежей [6].

Сухую пивную дробину используют сравнительно широко (до 40%) в рационах коров в составе концентратных смесей. Вустерским научно-исследовательским и сельскохозяйственным центром шт. Огайо (США) проведены опыты по изучению влияния высушенной дробины на молочную продуктивность коров, состав молока и физиологические показатели в начальный период лактации. На 24 коровах (16 голштинских и 8 джейсерских) в течение первых 50 дней лактации изучали продуктивность при скармливании трёх концентратных смесей. Контрольная концентратная смесь состояла из молотой кукурузы, овса и соевого шрота. Вторую смесь

(положительный контроль) обогащали добавкой 7% гидролизованного жира. В третьей опытной смеси овёс и соевый шрот полностью заменяли высушенной пивной дробинкой. Полученные данные показали, что скармливание пивной дробины увеличило среднесуточные удои молока, отношение ацетата к пропионату (2,68 против 2,15 и 2,17 соответственно) в жидкости рубца, концентрацию метионина, лейцина, тирозина, фенилаланина и пролина в крови, в то время как содержание треонина, лизина, аргинина, глицина, и аланина снижалось [185].

Обобщение результатов научных исследований в сельскохозяйственном центре шт. Огайо (США) указывает, что сухая пивная дробина – хороший корм для скота. Использование в рационах бычков – кастратов пивной дробины на уровнях 25 и 30% (по сухому веществу) увеличило их среднесуточные приросты по сравнению с животными, которым скармливали кукурузу [185].

Отделом кормления МНИИЖиВ был разработан рецепт комплексного корма с использованием всех отходов пивоваренной промышленности (%): солодовая дробина – 87, зерновые отходы – 6, ростки – 2,6, дрожжи пивные – 1,8, белковый остаток – 1,2, сплав – 0,7, хмелевая дробина – 0,4, отходы полировки зерна – 0,3. В 1 кг получаемого натурального сухого комплексного корма содержится: 0,76 энергетической (ЭКЕ) и 0,72 корм. Ед., 143 г переваримого протеина, 3,6 г кальция, 6,2 г фосфора и 52 г сахара. Высушенный комплексный корм по содержанию протеина может быть приравнен к зерну гороха, но по аминокислотному составу уступает ему [88].

Сухая пивная дробина используется также в качестве протеиновой добавки для ягнят и частичной замены зерна в рационах откармливаемых животных. Ягнята, получавшие протеиновую добавку из 2/3 лущёной кукурузы и 1/3 сухой пивной дробины, весили больше сверстников, потреблявших льняной или хлопчатниковый шрот. По мнению некоторых авторов, сухую пивную дробину можно скармливать в таком же количестве, как и лущёную кукурузу (до 98%). Исследования Корнельского университета

(США) указывают, что питательная ценность сухой пивной дробины как источника протеина составляет 75% смеси льняного и хлопчатникового шрота [165].

Удовлетворительные результаты получены в исследованиях по изучению возможности частичной замены пшеничных отрубей, соевого и подсолнечникового шротов сухой пивной дробиной в рационах свиней. Так, в научно-исследовательском опыте, проведённом в Институте зерновых продуктов и кормовой промышленности на трёх группах поросят (по 10 голов в каждой), откармливаемых с 24 до 100 кг живой массы, установлено, что включение в кормовые смеси 5 и 10% сухой пивной дробины вместо части соевого и подсолнечникового шротов оказывает благоприятное влияние на показатели откорма свиней [92].

Канадские исследователи показали, что замена 50% гранулированной смеси, состоящей из кукурузы и соевого шрота, сухой пивной дробиной не сказалась отрицательно на среднесуточном приросте свиней. Однако в случае замены более 50% протеина основного рациона пивной дробиной использование корма и скорость роста снижались [100].

Благодаря тому, что в сухой пивной дробине содержится большое количество протеина, микроэлементов, витаминов группы В и Е, аминокислот и особенно линолевой кислоты, ею заменяют часть ингредиентов в рационах птицы. Содержание обменной энергии в сухой пивной дробине колеблется от 1,8 до 2,5 ккал/г, а переваримость азота составляет 70 – 75% [153].

В политехническом институте г. Валенсия (Испания) при включении в рацион кур породы род-айленд в течение 15 дней 15 или 30% сухой пивной дробины потребление корма, яйценоскость, масса и качество яиц были на уровне контроля. При включении 45% дробины наблюдались потеря живой массы кур и ухудшение качества скорлупы яиц без отрицательного влияния на другие показатели [153].

Сухая пивная дробина, включаемая в рацион бройлеров в количестве 20%

и более в количестве 20% и более в период с суточного до 4-недельного и с 4- до 8-недельного возраста, достоверно улучшала показатели роста. В более позднем возрасте (с 8 до 12 нед) отрицательное влияние её проявлялось только при 30 и 40% в рационе. Такая же тенденция наблюдалась и в эффективности использования корма. На потребление корма и массу тушек сухая пивная дробина не влияла, но значительно увеличивала массу пищеварительного тракта и уменьшала количество внутреннего жира. В рацион бройлеров до 8-недельного возраста рекомендуется включать не более 10% этого корма, а с восьми недель – 20% [67, 104, 127, 141, 152].

Для увеличения срока хранения пивной дробины применяют также консервирование, заквашивание и силосование.

Во Франции и ФРГ для силосования пивной дробины используют неширокие (3 – 4 м) сооружения высотой 1,0 – 1,5 м. Через месяц после закладки содержание сухого вещества в силосе составляет в среднем 25,8 %, сырого протеина (в процентах от сухого вещества) -23,2, сырой золы – 3,5, сырой клетчатки – 17,7, сырого жира – 8,1, безазотистых экстрактивных веществ (БЭВ) – 47,5 %. В 1 кг сухого вещества корма содержится от 5,41 до 6,33 МДж обменной энергии [40].

В проведённом во Франции опыте по замене в рационах молочных коров части концентрированных кормов силосованной пивной дробинкой (основной рацион – кукурузный силос) получена прибавка суточного удоя от 3 до 6 кг на голову при экономии кормов [39].

В волгоградском научно-исследовательском и технологическом институте мясо-молочного скотоводства и переработки продукции животноводства (ВНИИТИММСППЖ) был разработан консервант, который используется в количестве 2 кг на 1 т пивной дробины [42]. Установлено, что консервированная пивная дробина не оказывает отрицательного влияния на рост и развитие гусят и ведёт к снижению их себестоимости.

Также разработан способ консервирования солодовой дробины с применением поваренной соли. Концентрация соли 1% обеспечивает

сохранность дробины в течение 3 – 4 дней, 3% - ная концентрация – 8 – 10 дней [30].

В ПНР для повышения срока хранения пивной дробины предлагается её заквашивание. Заквашивание может обеспечиваться как добавлением легкозаквашивающихся растений, так и химических препаратов. Хорошо силосованный корм получается из смеси дробины и кормового подсолнечника с добавлением 4 л/т 10% - ной молочной или муравьиной кислоты. Благоприятное воздействие на развитие молочнокислых бактерий при одновременном ограничении развития маслянокислых бактерий обеспечивается добавлением к пивной дробине 3% патоки, 0,3% концасила и 0,3% конфасальца [193].

Разработаны технологии заквашивания сырой дробины с применением химических препаратов на основе минеральных кислот [120, 199].

Стабилизация пивной дробины может также осуществляться с помощью препарата заквашенной и сгущённой сыворотки, при этом её начальная кислотность доводится до рН 4,0 с помощью используемого препарата. Качество дробины, стабилизированной таким способом, сохранялось в течение 4 недель [59].

Также для консервации и увеличения срока хранения пивной дробины влажностью 62 – 66 % используют аммиак, сорбат калия, аскорбиновую кислоту в количестве 1, 0,5 и 0,25 % к массе дробины соответственно [163]. Применение аскорбиновой кислоты увеличивает срок хранения пивной дробины до 21 сут, а сорбата калия и аммиака – до 7 – 9 сут.

Также установлено, что эффективными консервантами для дробины являются 0,4% - ные водные растворы пропионовой кислоты, 0,2 – 0,4 % - ные муравьиной кислоты, смеси данных кислот в соотношении 1:1 в дозировке 1% к массе дробины.

Одним из способов увеличения кормовой ценности пивной дробины является её обогащение белком остаточных пивных дрожжей и белкового отстоя. Животные охотно поедают корм из смеси дробины и дрожжей в

соотношении 6:1, при этом возрастает удой молока, ускоряется прирост массы скота [176].

Разработана технология получения высококачественного кормового продукта путём обезвоживания нативной пивной дробины до содержания сухих веществ 31% [59].

Применение пивной дробины для выращивания бактерий, плесневых, базидиальных грибов и кормовых дрожжей.

По данным многих исследователей, пивная дробина является хорошим субстратом для получения одноклеточного белка, который может использоваться во многих пищевых продуктах и кормах [9, 145].

Под одноклеточным белком подразумевается белок с дрожжей, бактерий, грибов и водорослей, который можно использовать в пищевых и кормовых целях [59, 118].

Как источник белка у микроорганизмов имеются существенные преимущества перед растениями и животными [185]: более быстрое размножение, легкость модификации с целью увеличения выхода и для получения других ценных свойств, существенно более высокое содержание белка, чем обычные продукты, легко поддаются непрерывному культивированию; сырьём для их выращивания могут служить такие загрязняющие окружающую среду отходы производства, а также уголь и природный газ, при этом отходы от самого производства белка одноклеточных минимальны.

Разработан способ увеличения выхода белка от переработки пивной дробины путём экстракции из неё белка с последующим использованием сухого остатка в качестве субстрата для выращивания бактерий *Cellulomonas* и получения белка одноклеточны. Бактерии отличаются быстрым ростом и высокой активностью [149]. Под действие целлюлазы бактерий целлюлоза дробины гидролизуетса сахаров, которые далее преобразуются в белок, содержащий все основные аминокислоты.

Был разработан способ биосинтеза декстрана посредством

биоферментации пивной дробины с помощью культур *Leuconostoc pseudomesentroides* DSM20193 и *Weissella confuse* A16. Содержимое декстрана через 24 ч культивирования составило примерно 1% от веса пивной дробины [172].

Разработан способ утилизации отделённой из пивной дробины жидкой фазы путём выращивания на ней гриба *Asp. niger*. При этом 87% сахаров жидкой фазы идёт на образование грибной биомассы. Образующий плесневым грибом сферический мицелий легко отделяется фильтрованием. Выход мицелия, содержащего 29% белка, составляет 13 г/л среды [59].

Помимо мицелия, из которого получают кормовой продукт, в процессе утилизации образуется большое количество лимонной кислоты [158]. Поэтому жидкая фаза, отделённая от пивной дробины, может также использоваться в качестве основы среды для получения лимонной кислоты путём культивирования штамма *Asp. foetidus* [160]. Концентрация лимонной кислоты в культуральной жидкости колеблется от 3,5 до 12,3 г/л.

Также разработана технология получения лактата путём биоферментации жидкого компонента пивной дробины (ликвора) с помощью культуры *Lactobacillus delbrueckii* subsp *lactis* [142]. В процессе достигается продуктивность наработки лактата до 4,93 г/Лак · Л-1 · ч-1.

Разработан высокопродуктивный путь получения γ -аминомасляной кислоты путём культивирования на субстратах на основе пивной дробины бактериальных штаммов *Bacillus velezensis* DMB06 и *B. licheniformis* ODA23-1 [170].

В СССР на основе фильтрата пивной дробины была разработана питательная среда для производства жидкого кормового биомицина методом глубинной ферментации. Технология позволяет существенно удешевить производство [95].

Разработана технология максимально полной (до 90%) биоконвертации всех содержащихся в пивной дробине углеводов в этанол. Технологическая схема включает предварительную обработку пивной дробины фосфорной и

серной кислотой, ферментативный гидролиз и последующее сбраживание этанологенной *E. coli*. В результате достигается концентрация этанола в среде до 39%, без предварительной детоксификации среды [189].

Разработана технология получения кормового продукта, при котором пивная дробина подвергается последовательно термическому и ферментативному гидролизу с последующим выращиванием на полученном гидролизате кормовых дрожжей. При этом дробину предварительно смешивают с простерилизованным белковым отстоем. Подвергаемую гидролизу пивную дробину предварительно смешивают с простерилизованным белковым отстоем. Получаемая при прессовании жидкая фаза пивной дробины служит питательной средой для культивирования дрожжей *Candida sp.* При этом получается ценная кормовая биомасса. Обработку воды по этому способу осуществляют в лабораторном ферментаторе вместимостью 20 л. В ферментатор помещают 13,5 л отжатой воды, добавляют 1,5 г/л мочевины и 1,5 л культуры дрожжей *Candida sp.* Процесс культивирования проводят при pH 3,8, температуре 25 °С, перемешивании среды со скоростью 650 об/мин и пропускании 15 л воздуха в 1 мин [107].

Разработан способ получения кормового белка одноклеточных путём культивирования культур мицелиальных грибов *N. intermedia* и *A. orizae* на субстрате на основе пивной дробины. Пивная дробина предварительно подвергалась обработке 50% -ным этанолом при 180 °С в течение 2 ч. Содержание сырого протеина в готовом продукте достигало 44,8% [183].

Исследования показали, что 67% веществ, обуславливающих биологическое потребление кислорода (БПК) воды, отжатой из дробины, содержатся в суспензии, а 33% - в растворимой фазе. При непрерывном культивировании и скорости разбавления 0,25 л/ч значение БПК растворимой фазы снижается на 73%.

В процессе культивирования дрожжи используют из среды 82,9% глюкозы, 40,5% арабинозы и 32,5% ксилозы, при этом выход биомассы

составляет 66% по отношению к используемому сахару. В опытах выход биомассы составил 20 г/л, содержание белка 58,2%.

После этого биомассу дрожжей подвергают термическому гидролизу и смешивают с отжатой твёрдой фазой пивной дробиной, в результате получается кормовой продукт с повышенной питательной ценностью.

На харьковском пивоваренном заводе «Новая Бавария» применяется технология выращивания культуры *Asp. Oryzae* на питательных средах на основе пивной дробины с добавлением солодовых ростков, которыми частично заменяют пшеничные отруби [67]. Была выявлена различная осаживающая способность (ОС) культуры *Asp. oryzae*, выращенной на различных средах.

В экспериментах установлено, что осаживающая способность *Asp. oryzae* 476-И при выращивании на среде, состоящей на 85,65% из пивной дробины и на 14,35% из солодовых ростков, составляла 174 ед. против 140 ед. в контрольных опытах при выращивании на среде на основе отрубей.

Использование отходов пивоваренного производства, таких как пивная дробина и солодовые ростки для культивирования плесневых грибов даёт значительный экономический эффект.

Имеется технология использования свежей пивной дробины в качестве компонента субстрата для выращивания гриба вешенки обыкновенной. Показано, что прирост урожайности и питательной ценности гриба достигается при внесении пивной дробины в дозах от 5 до 20% к массе субстрата [24].

Переработка пивной дробины для получения пищевых продуктов.

В последние годы пивная дробина находит всё более широкое применение в качестве добавки в пищевых продуктах.

До недавнего существовало мнение, что пивная дробина не представляет питательной ценности для человека, поскольку ферменты пищеварительного тракта человека не способны расщеплять такие высокомолекулярные соединения, как целлюлоза, гемицеллюлоза и лигнин, содержащиеся в

дробине

Была исследована возможность использования муки пивной дробины и балластных веществ (шелуха, оболочки и др.) при производстве различных пищевых продуктов: хлеба, кексов, тортов, панировочной муки, суповых заправок и соусов. Предложено выпускать такую муку для использования в домашнем хозяйстве, показана возможность изготовления из такой муки макаронных изделий (лапши) [161]. Добавка пивной дробины при выпечке хлеба повышает выход продукта. Так, ржаной хлеб без добавления муки из дробины имеет выход 148,3%. Добавление в муку 5; 8 и 20% пивной дробины увеличивает выход хлеба до 150,3; 151,5 и 163,2% соответственно. Пивная дробина может выступать в качестве источника белка с возможным широким разнообразием областей его применения в производстве хлеба, бисквита и снековых продуктов [168, 197, 198].

В ФРГ предложен способ переработки пивной дробины с целью её использования в качестве пищевого продукта. С этой целью пивная дробина высушивается и измельчается; окончательным рассеиванием образуются фракции с процентным соотношением балластных веществ и белков 70:30 соответственно. При добавлении получаемого продукта в тесто в количестве 6 – 7% получают хлеб, не уступающий по качеству натуральному [180].

В Великобритании предлагается добавлять муку из пивной дробины в хлеб, сухие завтраки, печенье, при этом получаемые продукты приобретают вкус солода [143].

В США разрабатывалась технология использования различных фракций пивной дробины в хлебопечении. С этой целью свежую пивную дробину влажностью 7,4 – 14,4 % измельчали на полупромышленной мельнице и разделяли на отдельные фракции: отруби грубого помола, содержащие 26,4 % клетчатки и 1,33 % азота, менее грубые отруби, отруби тонкого помола, муку (или крупчатку), содержащую 7,62 % клетчатки. Проводилась оценка хлебопекарных свойств получаемых фракций путём добавления их к пшеничной муке в количестве 6 и 12 % [154].

Показано, что включение в пшеничную муку фракции отрубей грубого помола в количестве 6 % приводило к значительному повышению содержания клетчатки в выпеченном хлебе, придавало привлекательные внешний вид, цвет, вкус и пористость. Однако увеличение добавки до 12% снижает качество получаемых хлебобулочных изделий.

В России разработана технология частичной замены животного или растительного белка (например, соевого) в составе колбасных изделий и полуфабрикатов мукой, получаемой из сухой пивной дробины. Показано, что замена в составе различных мясopодуkтов от 1,0 до 2,0% основного сырья мукой из пивной дробины не меняла качества готовой продукции. Использование пивной дробины обогащает продукты питания макро- и микронутриентами, увеличивает рентабельность производства и снижает себестоимость готовой продукции [106].

Было установлено, что липиды солодовой дробины влияют на скорость роста, метаболизм дрожжей, а также на процесс брожения [195]. Их добавление стимулирует рост дрожжей в пивном сусле, увеличивает степень его сбраживания, приводит к уменьшению содержания эфиров и жирных кислот со средней длиной цепи, при этом способствуя увеличению сивушных масел в пиве.

Для получения липидов из дробины её фильтруют при температуре 65,5 °C и после этого концентрируют в вакуумном испарителе в 4 раза при температуре 40 °C. Концентрат хранят в замороженном виде. К 100 мл концентрата добавляют 100 мл метанола и через 15 мин последовательно экстрагируют в 100 мл диэтилового эфира; 200 мл концентрата экстрагируют и растворители смешивают. После удаления сольвента липиды, выделенные из 100 мл концентрата, растворяют в 6 мл горячего этилового спирта и добавляют к 1,5 л пивного сусла. Показатели готового пива были близки к контрольному, отличаясь лишь несколько более высокой (на 10 %) горечью – по сравнению с контрольным [195].

Разработана технология получения экстракта из дробины, используемого в

качестве пеногасящего средства в бродильных производствах. Для этого пивная дробина сначала отжимается для удаления 40 % жидкости, жидкость выпаривается до 1/10 первоначального объёма в вакуумной сушилке при температуре 50 °С. При применении данного экстракта в производстве сложные липиды, которые являются активными компонентами данного экстракта, удаляются в конце процесса брожения [188].

Также разработана технология получения микробных липидов путём культивирования в средах на основе предварительно обработанной органическими растворителями пивной дробины олеогенных дрожжей *Rhodospiridium toruloides*. Дрожжи синтезировали до 18,44±0,96 г/л сухой биомассы и до 10±0,34 г/л липидов [184].

Разработана технология получения глютамата натрия из пивной дробины. Для этого сырую пивную дробину отжимают на фильтр-прессе до влажности 50%. После этого проводят её гидролиз слабым раствором технической соляной кислоты, в результате оставшийся нерастворимый крахмал переходит в растворимое состояние, после чего дробину подвергают гидролизу концентрированной соляной кислотой и упаривают. Из полученного раствора осаждают глютаминовую кислоту и далее переводят в глютамат натрия стандартным способом [109].

Teresa Vonifacio-Lopes и др. [146] изучали способ получения биоактивных богатых антиоксидантами экстрактов из пивной дробины с помощью различных экстрагентов – воды, 60% -го и 80% - го водных растворов этанола. Полученные результаты показали, что все полученные экстракты обладают высокой антиоксидантной активностью, но наибольшей обладают экстракты, полученные с использованием 60% - го этанола.

Schettino R. и др. предлагают использование биоферментированной с помощью бактериальной культуры *Lactiplantibacillus plantarum* PU1 пивной дробины в производстве пасты. Использование биоферментированной пивной дробины по-сравнению с нативной обеспечивает более высокой пищевые качества протеина, и другие показатели питательной ценности

продуктов питания, а также более низкий гликемический индекс [191].

1.2. Проблема утилизации куриного помёта.

Сельскохозяйственное производство всегда оказывало сильное влияние на окружающую среду, а в настоящее время в силу его интенсификации отрицательное воздействие многократно усилилось.

Проблема удаления, переработки и рационального использования больших объёмов жидкого помёта остро стоит при эксплуатации крупных птицеводческих предприятий, так как неправильное его хранение приводит к загрязнению окружающей среды и заражению почвы патогенными микроорганизмами, чем наносится большой ущерб народному хозяйству нашей страны [10, 89].

В птицеводческих хозяйствах страны ежегодно накапливается около 25 млн. т жидкого помёта, и проблема его утилизации экологически приемлемыми способами стоит практически перед всеми птицефабриками [96]. Сырой помёт является серой полидисперсной массой, состоящей из воды, твёрдых компонентов и газов. Влажность сырого помёта обычно составляет 70 – 75%. В среднем, состав куриного помёта следующий, %: 34,5 – 48,3 сухих веществ; 14 – 40 золы (в том числе кальция до 8,5); 2,9 – 4,5 сырого жира (эфирный экстракт); 14,25 сырой клетчатки; 4,6 – 4,8 безазотистых экстрактивных вещества [89].

Содержание питательных веществ в помёте сильно зависит от условий кормления и содержания птицы [8, 73, 96, 129, 132]. В среднем в помёте естественной влажности содержится (%): азота - 1,74-2,74; фосфора - 1,18-2,00; калия - 0,61-0,78 (в расчете на сухое вещество около 5 % азота, 4-4,5 % фосфора и около 2 % калия).

Микроэлементный состав характеризуется следующими величинами, %: медь 0,0025 – 0,0094; железо 0,01 – 0,04; цинк 0,004 – 0,056; марганец 0,50 – 1,00; магний 0,019 – 0,044 [71].

В помёте содержится большое количество различных питательных веществ, как органических, так и неорганических макро- и микроэлементов,

благодаря чему является богатой питательно средой для различных микроорганизмов. Титр микроорганизмов в нём может достигать до колоссальных размеров. Например, число аммонифицирующих бактерий может иногда исчисляться более 1 млрд. на 1 г помёта. Кроме того, помёт содержит большое количество нитрифицирующих, денитрифицирующих, термофильных бактерий, бактерии, осуществляющие различных виды брожений, актиномицеты, дрожжи, плесневые грибы [71, 134].

Вывоз на поля.

Как известно, птичий помёт – ценное удобрение, содержащее все богатый комплекс необходимых для питания растений элементов. Однако, свежий помёт редко используется для удобрения, и обычно в вынужденных условиях, когда необходимо просто избавиться от него как экологически опасного и нежелательного отхода птицефабрик. Чаще всего свежий помёт накапливается в кучах предварительного хранения. Из-за постоянно накапливающихся атмосферных осадков увеличивается влажность помётной массы, что увеличивает проблему её последующей утилизации. Научной и практикой установлено, использование свежего помёта не приводит к увеличению урожайности в первый год, так как необходимо формирования консорциума микроорганизмов «обособленной микрофлоры», способных разлагать свежее органическое вещество помёта, переводя его в доступные для растений формы [11, 71, 80, 81, 82].

Также следует отметить следующие недостатки данного удобрения: большая часть азота в птичьем помёте содержится в мочевой кислоте. При хранении она вначале трансформируется в мочевины, и далее в углекислый аммоний, который быстро разлагается на аммиак, углекислый газ и воду, что приводит к серьёзным потерям азота [1]. Так, хранение помёта в чистом виде сопровождается потерями общего азота до 14 % за три месяца и до 30 % за шесть месяцев [75]. Имеются ряд данных, по которым потери азота при длительном хранении могут достигать даже до 50 % и более [8]. Кроме того, сырой птичий помёт обладает крайне неблагоприятными

органолептическими качествами: сильный зловонный запах, большое количество семян сорных растений, содержит множество микроорганизмов, среди которых немало патогенных, а также яиц и личинок гельминтов и мух. В связи с этим способы переработки и хранения птичьего помета должны обеспечивать его обеззараживание и максимальное предохранение от потерь элементов питания [1, 83, 90]. Для достижения указанных целей существуют различные способы его переработки: сушка, компостирование, получение полезной энергии (сжигание, получение метана и др.), получение кормового продукта на основе помёта.

Компостирование и биоферментация.

Одним из наиболее перспективных направлений переработки куриного помёта является компостирование. Компостирование является относительно быстрым аэробным процессом, в процессе которого органические вещества разлагается бактериями и грибами до относительно стабильных гумусоподобных веществ [80, 81, 82, 94, 151]. В качестве вспомогательных материалов, снижающих влажность получаемого продукта, в данном методе используются торф, солома и др. Смешение сыпучих материалов проводят на специальных площадках с помощью вспомогательной техники. Биогумус по данной технологии получается высокого качества, однако при этом теряется в виде газов до 30 – 40 % питательных веществ. По одной из технологий на площадку сначала с помощью погрузчиков, разбрасывателей, автосамосвалов насыпают крошку торфа слоем 30-40 см, поверх нее - помет (в соотношении 1:1). После этого всё перемешивают и формируют бурт с помощью бульдозера. Ширина бурт - 3-4 м, высота - 2, длина - 6-8 м. Сверху бурт укрывают торфом. Срок хранения компоста в холодное время два месяца, в холодное – один месяц.

Разработан смеситель СА100 для приготовления компостов. По технологии осуществляется цикличное смешивание бурта торфа с полужидким пометом на наклонной плоскости, благодаря чему происходит

равномерный биотермический процесс компостирования. По этой технологии сроки компостирования уменьшаются в 2-3 раза, обеспечивается надёжное обеззараживание удобрения и максимальное снижение активности сорняков.

В Америке разработан препарат Фермвей. Технология получения данного препарата заключается в том, что в специальное здание загружают предварительно приготовленную смесь торфа с помётом (1:1). После загрузки массу обдувают воздухом, что увеличивает активность термомезофильных бактерий. Процесс длится 5-7 дней [177].

Для улучшения товарных качеств продукта его дополнительно обрабатывают на дезинтеграторе, дозаторе, стерилизаторе, грануляторе. Фермвей широко применяется в США в качестве органического удобрения, подстилки для сельскохозяйственных животных, а также возможно в качестве добавки к кормам для КРС [177].

Также предложены различные способы получения органических удобрений путём биоферментации куриного помёта [11, 13, 16, 97, 121]. В частности, способ получения органического удобрения под капусту белокочанную [11, 16, 134]. Для этого при погрузке помёта из птичников на поперечный транспортёр дозированно, капельным способом вносится микробиологический препарат «Байкал ЭМ 1». В эксперименте установлено, что применение органического удобрения на основе куриного помёта эффективно под капусту белокочанную как отдельно, так и совместно с минеральными удобрениями. Лучшим было применение 12 т/га помёта и 8 т/га помёта с минеральными удобрениями в доле. Прибавки урожайности составили 17,7 и 17,4 т/га, или 52% к контролю [11, 16, 134].

Установлено, что наибольший практический интерес на сегодняшний день представляет технология переработки птичьего помёта методом биоферментации в установках барабанного типа [122].

Высокотемпературная сушка.

Рассмотренные способы утилизации помёта имеют существенные недостатки. Скопление его в непосредственной близости от птицефабрик нежелательно в эпизоотическом отношении. Компостирование помёта требует добавления большого количества вспомогательных веществ и наполнителей, процесс весьма трудоёмок, требует большого количества транспортных средств и механизации. Кроме того, компостирование не всегда удовлетворяет санитарным требованиям, поскольку патогенные микроорганизмы часто не гибнут полностью, и возможность распространения различных заболеваний не исключается полностью, остаётся риск загрязнения грунтовых вод и окружающей территории. Поэтому отдельные хозяйства как у нас в стране, так и за рубежом перерабатывают помёт путём сушки при высокой температуре [71, 81, 82].

Большая часть возбудителей болезней и семян сорняков гибнет при температуре сушки 600-800° С. Сушка снижает влажность готового продукта с 75-80 % до 20-25 %, таким образом, уменьшая его массу в 3-4 раза. Сухой помёт является высококонцентрированным органическим удобрением, лишенным зловонного запаха, с благоприятными для фасовки и транспортировки физическими свойствами. Влажность сухого помёта в среднем составляет 15 - 22 %, содержание азота 3,9 - 5,6 %, фосфора - 2,6 - 2,8 % и калия - 1,3 - 1,8 %. За полгода хранения помёта теряет около 4-11 % органического вещества и 2-8 % азота [98]. Для внесения помёта в почву используются разбрасыватели минеральных удобрений РМГ-4, РУМ-5. Доза внесения сухого птичьего помёта составляет 2-4 т/га [100]. Чаще всего для сушки помёта используются вращающиеся барабанные сушилки. Барабанные сушилки имеют большую производительность, экономичны по расходу тепла и энергии [71].

Вакуумная сушка.

Этот способ появился недавно. Он удобен для ликвидации накоплений жидких пометных стоков, поступающих из клеточных батарей с получением

сухого помета. При этом чем ниже влажность пометной массы, тем меньше будут затраты на получение сухого помета. Технология сушки птичьего помёта заключается в использовании принципа многостадийной обработки: предварительное отделение жидкости из пометной массы (с помощью фильтрации, центрифугирования и т.д.); выпаривание методом распыления. В основе вакуумной сушки лежит непрерывный одностадийный технологический процесс сушки в вакууме. Процесс осуществляется в режиме шадящих температур и является экологически безопасным. При этом сохраняются полезные питательные химические элементы в получаемом удобрении [72, 81, 82, 113, 115].

Удобрение представляет собой сухой порошок, а конденсат (сточная вода) поступает на очистные сооружения для обеззараживания и очистки. Сухой куриный помёт имеет влажность 19,31%, содержание органического вещества, азота, фосфора и калия составляет 60,73%, 4,30; 2,18; 1,09 % соответственно. Удобрение имеет высокую сбалансированность и высокое качество [72, 115].

Помет в качестве корма.

Около 40% питательных веществ корма не переваривается в кишечном тракте птицы и выделяется в непереваренном виде с пометом. В связи с этим существует возможность использовать его в кормовых смесях для животных и птицы. Разработана технология, по которой при высокой температуре куриный помет обеззараживается, из него удаляется перо, пух и семена сорняков. Получаемый продукт содержит 20-30% сырого протеина. При добавлении 33 - 50% его в комбикорм при откорме бычков получали суточные привесы 870-896 г [80, 113].

Птичьим помётом, как в чистом виде, так и с опилками можно частично заменить мочевины, которую используют при откорме бычков.

В качестве компонента кормовых смесей может использоваться также сухой птичий помёт. Результаты показывают, что включение в рацион бройлеров до 10% сухого куриного помёта является безопасным и не ведёт к

какому-либо отрицательному влиянию на скорость их роста, эффективность использования корма и производительность [25]. Включение до 10% сухого куриного помёта в кормовые смеси для бройлеров значительно сокращает расходы на кормление птицы [25]. В случае, когда, уровень содержания сухого птичьего помёта в кормовых смесях для бройлеров составляет более 10%, наблюдается очень значительное снижение темпов роста, что значительно снижает выгоду, связанную с использованием сухого птичьего помёта в составе кормов [166].

Другим путём переработки куриного помёта с получением кормового продукта является силосование. В США, например, разработана следующая технология. Силосование осуществляется смешением 20% птичьего помёта, 30% коровьего навоза и 50% молотой кукурузы с добавлением некоторого количества мелассы и бактерий для ферментации смеси [48]. После смешения и упаковки в герметичные контейнеры смесь выдерживают в течение 3 недель для ферментации [48]. Процесс силосования позволяет получать более полноценные корма. Усвояемость силосованных материалов очень высока и азот в птичьём помёте в процессе силосования переходит в высокодоступные формы [155].

В Англии разработана технология, по которой птичий помёт сначала ферментируют, после этого обрабатывают муравьиной кислотой, смешивают с мелассой и гомогенизируют. Продукт представляет собой корм для крупного рогатого скота.

Биоэнергетические методы утилизации.

В Европе в 2020 г. на помёт и навозе работало около 800 (в том числе 24 крупных) биоэнергетических установок. В странах Азии их насчитывается не менее 3 млн [96, 113].

Возможно несколько вариантов использования птичьего помёта для получения энергии:

- Получения биогаза с одновременной выработкой жидких удобрений
- Пиролизное сжигание с получением пиролизного газа

- Прямое сжигание с предварительной сушкой
- Пеллетирование помета с двойным использованием в качестве удобрений или для энергетического сжигания

Мировой опыт говорит о перспективности биоэнергетических технологий [49, 82, 96, 140]. Данные технологии решают сразу несколько задач: сбор и переработка отходов птицефабрик, получение высокоэффективных органических удобрений, получение газообразного топлива и биогаза (метана) для мини-ТЭЦ, тракторов и автомобилей, производство "сухого" льда и т.д.

Недостатком данных технологий является очень дорогое оборудование - 2 тыс. долл за установленный электрический КВт, что сдерживает их распространение в России [49, 96, 140].

Новые технологии.

В Англии и США птичий помёт, подстилку и другие отходы птицеводства, перерабатывают в экологически чистое топливо для обогрева помещений и получения электричества.

Во многих штатах США с целью защиты окружающей от избыточного загрязнения азотом, фосфором, калием и другими элементами, запретили удобрять почвы птичьим пометом. В связи с этим был разработан способ переработки его в активированный уголь, который находит широкое применение в качестве адсорбента.

В США также широко применяется технология переработки по подстилки птицефабрик в топливные пеллеты. При этом в ней значительно снижается влажность и гибнет патогенная микрофлора, в том числе сальмонелла и *E. coli*. Выделяющиеся газы разрушаются при температуре выше 900 °С [140].

С помощью технологии термической деполимеризации (TDP) из отходов животноводства, в том числе из птичьего помёта, получают твердое, жидкое и газообразное топливо, различные химикаты и удобрения. Первую стадию проводят при температуре 250-350 °С, вторую - при 500-700 °С.

Получаемое топливо аналогично дизельному с 8-20 - атомными углеводородами, насыщенными и ненасыщенными жирными кислотами с 16-18 углеродными атомами. Твердые удобрения по характеристикам близки к апатитам, жидкие содержат 5-7% азота.

Так же в США разработана технология производства из помёта с подстилкой удобрения в форме пеллетированных туков под торговой маркой «Гармони». В год производится 65 тыс. т такого удобрения. Удобрение хорошо сбалансировано в плане соотношения N:P.

В России разработана баротермовзрывная технология переработки помета. Внедрение её позволит получать органоминеральные премиксы и кормовые добавки. Недостатком технологии, требующим решения, является повышенный уровень шума. [140].

Вермикультура.

Дождевые черви широко используются во многих странах мира - России, США, Японии, Канаде, Италии и т.д. [46, 80, 81, 111, 113]. При этом решаются три задачи: переработка отходов, получение кормовых продуктов и повышение плодородия почвы. В результате селекции дождевых червей получена популяция, известная как красный калифорнийский гибрид, обеспечивающая интенсивную утилизацию субстрата. Так, при госплемзаводе "Арженка" (Тамбовская область), где содержатся в клетках куры яичного направления продуктивности (П-46), и среднегодовое поголовье составляет 1,4 млн. кур-несушек, уже ряд лет функционирует агрофирма "Радуга", производящая органическое удобрение - биогумус. Его получают в результате вермикомпостирования помета, в условиях открытого грунта на территории в 20 га, в буртах размером 100 x 3 x 0,5 м. Бурты формируют на выровненных площадках. Из 1 т навоза, переработанного червями, выход органического удобрения составляет 600 кг, а остаток трансформируется в 100 кг червей [45]. Биомасса дождевых червей - высококачественный белковый корм. Однако, он может аккумулировать соли тяжёлых металлов. Есть разработки

получения из неё микробиологических сред. Есть предложения использования биомассы червей для питания людей [140].

Рыбоводно-биологические пруды.

Проблема чистой воды (рек, озер, подземных источников) становится всё более острой во всём мире. Система естественной очистки сточных вод, в процессе которой происходит включение загрязняющих компонентов в общий круговорот веществ в природе, уже не успевает с этим справляться.

Разработаны различные системы принудительной очистки сточных вод, которые одновременно позволяют получать в 10-20 раз больше полноценного белка, чем пастбища аналогичной площади. Одна из таких систем рыбоводно-биологических прудов разработана в ВИЖ.

Навозные или пометные стоки сначала на первой ступени очистки направляются в пруды-накопители. Оседающая в них твёрдая фракция применяется в качестве удобрения, при этом водоросли, зоопланктон начинают процесс очистки. В следующем пруду различные виды водных растений (ряска, хлорелла, сине-зелёные водоросли и т.д.) продолжают очистку сточной воды, при этом обогащая её кислородом. В случае появления избыточного количества ряски, её отделяют и используют как корм для животных и птиц. Сложный сбалансированный комплекс фито- и зоопланктона обеспечивает стабильность системы [140].

Водоросли второго пруда поступают в третий, в котором преобладает зоопланктон (рачки, насекомые, черви), которые далее поступают в четвёртый пруд для кормления мальков. За сезон увеличение веса мальков достигает 100 – кратной величины. Используемые в качестве подсадного материала мальки вырастают обеспечивают продуктивность нагульных прудов до 60-100 ц рыбы с гектара водной поверхности.

Одновременное разведение рыбы и водоплавающей птицы даёт ещё больший экономический эффект. Через несколько лет эксплуатации и осушения прудов на удобренной почве дна озёр получают очень высокие урожаи сельскохозяйственных культур. Для довершения очистки сточной

воды на последней стадии используют биоплато, заросшие водной растительностью. Для разведения 100 тыс. свиней необходимы 23 гектара прудов-накопителей [140].

Использование личинок мух.

Личинки мух обладают невероятной скоростью роста. В течение недели их биомасса увеличивается в среднем в 400 раз. При полной реализации своего потенциала, как подсчитано учёными, биомасса потомства одной пары мух к концу года составит около 87 т [144, 147].

Разработана технология экологически чистой утилизации птичьего помёта и свиного навоза с помощью личинок домашней мухи (*Musca domestica L.*). Из 1 т птичьего помёта или навоза получают в среднем 60-100 кг биомассы личинок мух. Биомасса личинок комнатной мухи - полноценный белковый корм для широкого круга сельскохозяйственных животных, птицы и рыбы. [150, 181].

Разработаны технологии получения из мух, а также их личинок и куколок высококачественного хитина и хитозана, применяющегося в пищевой, фармацевтической, парфюмерной промышленности. Добавка хитозана рационы сельскохозяйственных животных повышает их резистентность к инфекционным заболеваниям, увеличивает привесы.

Разработана водка, настоянная на личинках комнатной мухи. Производится косметический крем с добавлением личиночной биомассы. Применение его эффективно устраняет морщины, омолаживает кожу. Разработана пищевая добавка на основе порошка из личинок мух, обладающая бактерицидными свойствами, повышающая тонус организма [139].

Биогумус, получаемый на основе экскрементов личинок мух – высокоэффективное удобрение, повышающее урожайность сельскохозяйственных культур в 1,2-1,5 раза [84]. В среднем он содержит от 0,84 до 1,22% азота от, от 0,69 до 0,99% фосфора, от 0,9 до 1,17% калия. 1 г биогумуса содержит 251 тыс. целлюлозоразлагающих бактерий и 378 млн

бактерий аммонификаторов. Максимальное содержание аммонифицирующих бактерий в почве достигается при внесении 10 т/га биогумуса [84, 112, 148].

Увеличение нормы внесения биогумуса с 10 до 30 т/га повышает концентрацию фосфороразрушающих бактерий, которые ускоряют минерализацию фосфоорганических соединений [156].

Стерилизацию и сушку личинок мухи обычно осуществляют в барабанных сушилках при температуре 120-140 °С, что позволяет максимально сохранять их питательную ценность [119, 138, 139, 140].

1.3. Методы гидролиза углеводсодержащих растительных отходов.

Источниками углеводов для производства кормовых дрожжей являются различные растительные древесные и сельскохозяйственные отходы (опилки, щепа, подсолнечная и рисовая лузга, хлопковая шелуха, кукурузная кочерыжка, солома) [1, 20], сульфитные щелока [99] и предгидролизаты целлюлозно-бумажной промышленности, послеспиртовая барда [44], пивная дробина, торф и др.

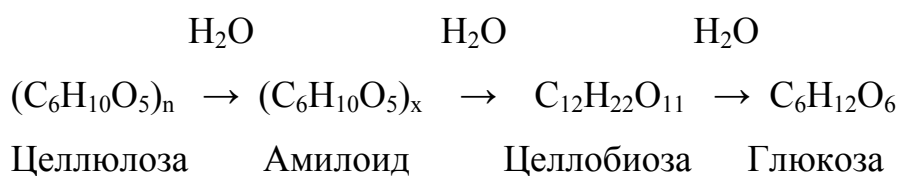
Ежегодный прирост растительной биомассы составляет примерно $2 \cdot 10^{10}$ т, около 1/3 которой приходится на целлюлозу. Важным компонентом растительной клетки наряду с целлюлозой является лигнин (на него приходится от 20 до 50% биомассы растений). Лигнин не является полисахаридом и не подвергается гидролизу целлюлазными комплексами, его способны утилизировать некоторые грибы. Лигнин представляет собой полимер, основным мономером в молекуле которого является кониферилловый спирт. Целлюлоза и лигнин относятся к основным инкрустирующим веществам оболочки растительной клетки. Растения, помимо целлюлозы и лигнина, содержат множество полисахаридов: крахмал (амилоза и амилопектин), гемицеллюлозу, пектиновые вещества и др. Крахмал, являясь запасным углеводом, часто наряду с лигнином выполняет структурную функцию в растительной ткани [101].

Углеводы в виде полисахаридов, как правило, непригодны для питания дрожжей. Для того, чтобы они стали доступны для утилизации дрожжами, их необходимо гидролизовать до олиго- и мономеров. Остановимся подробнее на гидролизе целлюлозы.

По молекулярному строению целлюлоза является линейным полимером, где элементарные звенья макромолекул целлюлозы (ангидро-D-глюкопираноза) соединены β -1,4-глюкозидными связями. Целлюлозные молекулы не имеют определенной длины, число глюкозных остатков (СП) варьирует от 15 до 14000. Молекулярная масса целлюлозы может составлять более 1,5 млн. Остатки D-глюкопиранозы в молекуле целлюлозы находятся в конформации кресла, гидроксильные группы расположены в горизонтальном направлении, а атомы водорода в вертикальном. Молекулярное строение целлюлозы определяет её надмолекулярную структуру, а также физико-химические и морфологические свойства. Целлюлозные молекулы образуют элементарные фибриллы посредством большого количества прочных водородных связей. Эти фибриллы группируются в микрофибриллы и затем в волокна. Волокнистая структура целлюлозы видна в микроскоп. В элементарных фибриллах однородные высокоупорядоченные кристаллические зоны чередуются с неоднородными и менее упорядоченными аморфными зонами. Аморфная целлюлоза с более рыхлой структурой легче гидролизуется как кислотами, так и ферментам [38, 128]. Как правило, в природе в состав микрофибрилл целлюлозы входят также гемицеллюлозы. Они находятся между микрофибриллами целлюлозы в виде кристаллических или аморфных гранулированных веществ или даже образуют собственные микрофибриллы [110].

Кислотный гидролиз.

Существует два основных способа гидролиза целлюлозы: химический и ферментативный. Химический гидролиз, катализируемый кислотами, осуществляется по следующей реакции:



Как правило, в промышленности осуществляется перколяционный гидролиз целлюлозосодержащих материалов горячей разбавленной серной кислотой в при температуре до 190 °С и при избыточном давлении 2,5-3,0 кгс/кв. см.

Гидролизаппараты периодического действия представляют собой полые аппараты с верхней горловиной для подачи сырья, перфорированной центрально-подающей трубой для подачи раствора серной кислоты в толщу сырья, с фильтрующими лучами для выдачи гидролизата и выхлопным устройством для «выстрела» лигнина [126].

Принцип работы гидролиз аппарата состоит в следующем. Растительное сырьё с помощью транспортёра подают в аппарат через верхнюю горловину. Для уплотнения и смачивания сырья одновременно подают воду и кислоту. После загрузки закрывают верхнюю крышку аппарата, и через нижний штуцер подают острый пар. В процессе прогрева сырья и короткой выдержки при температуре около 140 °С протекает гидролиз легкогидролизуемых полисахаридов. Перед началом второй стадии гидролиза в гидролизируемом материале остаются практически только трудногидролизуемые полисахариды (целлюлоза). Затем в гидролизаппарат подают кислоту и одновременно отбирают гидролизат, содержащий растворённые углеводы. При этом режим гидролиза ужесточается путём повышения температуры в аппарате до 190 °С к концу процессы. При этом происходит гидролиз трудногидролизуемых сахаридов (в основном целлюлозы). По окончании гидролиза прекращают подачу кислоты, вытесняют остаток гидролизата водой, отжимают остаток жидкости и выгружают лигнин из аппарата. При выгрузке (выстреле) открывают нижний быстродействующий клапан и под

давлением 0,5 – 0,7 МПа лигнин по трубе в течение нескольких секунд выгружается из аппарата в циклон [78].

В нашей стране разработаны и начинают внедряться в гидролизной промышленности гидролизаторы непрерывного действия. Они имеют преимущества перед аппаратами периодического действия. В гидролизаторе периодического действия сырьё в процессе гидролиза быстро уплотняется, поэтому почти половина реакционного объёма не используется. При непрерывном гидролизе ёмкость аппарата используется максимально. За счёт этого. А также из-за экономии времени на загрузку, подогрев сырья и выгрузку остатка производительность аппаратов увеличивается почти в два раза. Непрерывность процесса обеспечивает постоянство физико-химических параметров, равномерность потребления пара, сырья, равномерность нагрузки на вспомогательное оборудование и повышение выхода сахаров. Однако, в известных конструкциях гидролизаторов ещё недостаточно отработаны узлы подачи сырья и выгрузки остатка [18].

В процессе кислотного гидролиза параллельно идут две реакции: гидролитическое расщепление полисахаридов и распад образующихся моносахаридов. Итоговый выход моносахаридов это разность между образующимися и разложившимися моносахаридами. Для снижения распада моносахаридов разработаны различные модифицированные способы гидролиза. Критерий распада сахара R_2 рассчитывается по следующей формуле:

$$R_2 = dk_2t$$

Где t - время пребывания образовавшихся моносахаров в сфере реакции; коэффициент d отражает содержание в смеси моносахаров, с константой скорости распада k_2 , отличающейся от константы скорости распада глюкозы. В перколяционном процесс в первую очередь происходит гидролиз гемицеллюлоз, а образующиеся моносахара являются смесью глюкозы и

пентоз с преобладанием последних. Двухстадийный гидролиз является модификацией данного метода [17, 126].

В процессе перколяционного гидролиза образуется большое количество отхода – лигнина, что является серьёзным недостатком процесса. Получаемые гидролизаты имеют низкое качество, содержат и пентозы, и гексозы, а также такие ингибирующие примеси, как фурфурол, что ограничивает применение гидролизата только получением белково-витаминного концентрата (гидролизные дрожжи). В остальных, более технологичных направлениях биотехнологического производства это сырье является неприемлемым. Однако, производительность гидролизных аппаратов при химической гидролизе (5,4-18,0 г/л ч) на порядок выше, чем при ферментативном (0,6-1,1 г/л·ч) при одинаковом выходе по редуцирующим веществам от исходного сырья по абсолютно сухим веществам, составляющем 25-44 % и 25-48 % соответственно. Однако, по некоторым показателям (качество получаемых гидролизатов, удаление лигнина, меньшее влияние на окружающую среду), ферментативные технологии являются перспективнее [17].

Ферментативный гидролиз.

Ферментативный гидролиз растительного сырья имеет ряд преимуществ перед кислотным гидролизом. Его реализуют при более низких температурах; это теплоэнергосберегающий способ гидролиза и гидролизаты содержат меньше побочных продуктов [17, 54].

Однако, несмотря на очевидные преимущества ферментативного гидролиза целлюлозосодержащего сырья и прогресс, достигнутый в этой области (создание теоретических основ, разработка аппаратов и опытно-промышленных установок для ферментативного гидролиза целлюлозы), пока нигде в мире нет промышленных установок ферментативного гидролиза целлюлозосодержащего сырья. Причина этого в отсутствии высокопроизводительных и эффективных в экономическом плане аппаратов

и технологий, сопоставимых с уровнем аппаратов кислотного перколяционного гидролиза [36, 99, 126].

Механизм ферментативного гидролиза сложнее химического, но обладает большей селективностью, и не приводит к образованию ингибиторов, других побочных продуктов и большого количества отходов [54, 86].

Ферментативный гидролиз целлюлозы осуществляется под действием не отдельных ферментов, а под действием сложной комбинации ферментов (полиферментных целлюлазных комплексов) [57, 76, 86, 130, 135].

В целлюлазный комплекс входят ферменты четырех типов:

- эндоглюканаза (1,4-β-D-глюкан-4-глюканогидролаза), осуществляющая неупорядоченный гидролиз β-1,4-связи в целлюлозе и β-глюканах;
- целлобиогидролаза (1,4-β-D-глюканцеллобиогидролаза), которая отщепляет целлобиозу с нередуцирующих концов целоолигосахаридов;
- β-глюкозидаза (β-D-глюкозидглюкогидролаза, целлобиаза), освобождает глюкозу, отщепляя концевые нередуцирующие остатки β-D-глюкозы.
- экзо-1,4-глюкозидаза (1,4-β-D-глюканглюкогидролаза), гидролизует 1,4-связи в 1,4-β-D-глюканах, последовательно отщепляя глюкозные остатки [20, 25, 54, 76, 101].

Общая схема ферментативного гидролиза целлюлозы представлена на рис. 1.2.

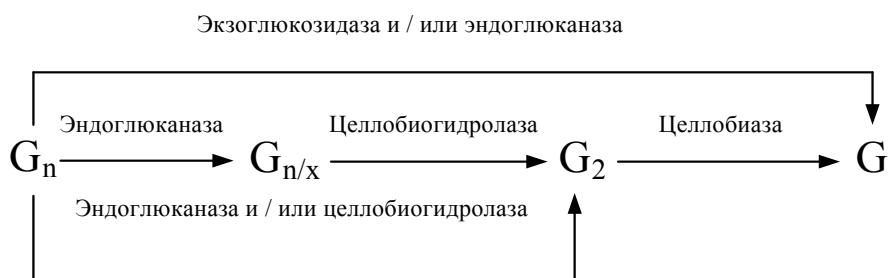


Рис. 1. Схема ферментативного гидролиза целлюлозы (G_n – исходная целлюлоза; $G_{n/x}$ – нерастворимые продукты неупорядоченного гидролиза

целлюлозы со значением степени полимеризации меньшим, чем у исходной целлюлозы; G₂ – целлобиоза; G – глюкоза).

Целлюлолитические ферменты могут ингибироваться образующимся в процессе гидролиза целлобиозой и глюкозой. Также ингибиторами целлюлаз являются танины и фенольные соединения.

Способ действия ферментов и механизм гидролиза не зависят от источника целлюлозы. Сначала целлюлолитические ферменты адсорбируются на лигноцеллюлозном субстрате. На адсорбируемость фермента влияет как вид микроорганизма – продуцента, так и вид субстрата. В этом основная причина различий в скорости гидролиза целлюлозы различными целлюлолитическими комплексами [25, 27, 34, 76].

Для возможности практического использования ферментативного гидролиза целлюлозосодержащего сырья необходимо решение таких задач, как получение высокоактивных ферментных препаратов, предобработка исходных субстратов с целью их активации, оптимизация параметров процесса ферментации [17, 20, 126].

В промышленности для ферментативного гидролиза целлюлозосодержащих материалов применяют такие препарат Целловиридин, Нейтраза 0,8 L, Целлолюкс-F и другие [15]. Препарат Целловиридин получают посредством глубинного культивирования гриба *Trichoderma reesei (viride)*. Форма препарата - мелкий, аморфный, гигроскопичный порошок от светло-коричневого до тёмно-коричневого цвета. Препарат содержит комплекс ферментов, способных гидролизовать растительные полисахариды – целлюлазы, гемицеллюлазы, ксиланазы, глюканызы и другие. Выпускают формы препарата с целлюлолитической активностью 200 ед/г, 1000 ед/г и 2000 ед/г. Оптимальный рН действия для данного препарата лежит в области 4,3 – 5,0 а оптимальная температура - от 37 до 45 °С [34, 56, 101, 135].

В настоящее время для ферментативного гидролиза целлюлозосодержащего сырья используются аппараты четырёх типов: перемешивания, мембранные с ультрафильтрацией и колонного типа (реакторы идеального вытеснения) и САТСН-реакторы [169, 187, 190].

Традиционным вариантом для проведения процесса ферментативного гидролиза является реактор перемешивания. Несмотря на достоинства, связанные с простотой конструкции, этот реактор имеет ряд недостатков, связанных с невозможностью отделения свежего сырья от гидролизованного остатка при непрерывном процессе, высокой степенью ингибирования ферментов продуктами реакции, низкой производительностью, инактивацией ферментов при перемешивании [158, 200].

Другим подходом является применение различных вариантов ультрафильтрационных модулей, встроенных в реактор или вынесенных из него. В таких реакторах за счёт непрерывного удаления растворимых продуктов реакции – глюкозы и целлобиозы снижается их ингибирующий эффект и повышается степень биоконверсии сырья. Такой реактор позволяет с одной порцией фермента переработать большие количества сырья, чем обычный реактор перемешивания [54, 169, 175].

В работах [85, 174] рассмотрен принципиально иной способ регенерации целлюлаз в колонных реакторах вытеснения. Эти реакторы основаны на способности целлюлаз адсорбироваться на нерастворимом субстрате при его высокой концентрации (до 40%), создаваемой в колонном аппарате. В ходе процесса продукты гидролиза непрерывно элюируются водой, пропускаемой через реактор, а адсорбированные ферменты удерживаются на вновь добавляемых порциях субстрата. Дальнейшее развитие колонных реакторов привело к появлению САТСН – реакторов. В основе принципа работы САТСН-реакторов лежит способность целлюлаз, адсорбированных на нерастворимом субстрате, реадсорбироваться на свежий субстрат [3]. Реакторы САТСН являются на сегодня наиболее перспективными для промышленного использования.

Предобработка растительного целлюлозосодержащего сырья.

Природную целлюлозу редко можно встретить в растительном сырье в свободном виде, ей обычно сопутствуют гемицеллюлозы и лигнин. Реакционная способность природных целлюлозосодержащих материалов, как правило, невелика. Высококристалличная природная целлюлоза в комплексе с гемицеллюлозы и лигнином плохо и медленно взаимодействует с ферментами, так что нативную целлюлозу гидролизовать ферментами практически невозможно. Поэтому для того, чтобы осуществить эффективный ферментативный гидролиз, необходимо решить проблему предварительной обработки сырья с целью повышения его реакционной способности [101].

Методы предобработки целлюлозосодержащего сырья (ЦСС) делятся на четыре типа: механические, физические, химические и биологические.

К физическим методам относятся нагревание на воздухе или в иных средах, обработка микроволновым излучением, обработка γ -лучами или потоком электронов, обработка ультразвуком, воздействие повышенного или пониженного давления. Воздействие высоких энергий приводит к деполимеризации целлюлозы, накоплению микродефектов в её структуре, что приводит к увеличению реакционной способности в несколько [102, 103].

К физическим методам воздействия следует отнести и так называемый паровой взрыв - взрывную дефибрацию ЦСС по декомпрессионному принципу. По этому методу ЦСС подвергают кратковременному воздействию перегретого пара под давлением, далее давление сбрасывают. При этом лигнин плавится и выходит из структуры целлюлозы, а целлюлоза подвергается частичной дезинтеграции, происходит гидролиз гемицеллюлоз. Паровой взрыв приводит к 5-10 – кратному увеличению реакционной способности целлюлозы.

Механические методы предобработки ЦСС включают в себя измельчение на различных видах дезинтергаторов, дробилках, мельницах и вальцах как в сухом, так и во влажном виде. Механические методы

предобработки приводят к нарушению кристаллической структуры целлюлозы, увеличению доступности волокон и молекул целлюлитическим ферментам и возрастанию реакционной способности ЦСС [58].

Химические методы предобработки осуществляются различными соединениями, способными приводить к разрушению или нарушению структуры целлюлозы или способных растворять лигнин или целлюлозу. Растворять целлюлозу способны комплексные соединения Cd, Ni, Zn с этилендиамином в присутствии щёлочи и биурета, концентрированные минеральные кислоты (фосфорная, серная, соляная), четвертичные аммониевые основания (тетраметил-, триметилэтил-, триметилбензил-), первичных моно-, ди- и триамины жирного ряда. Разбавление таких растворов растворителями приводит к осаждению целлюлозы, являющейся аморфной. Также аморфная целлюлоза получается при обработке ЦСС параформом в диметилсульфоксиде [67, 127, 128]. Также применяются методы, основанные на действии окислителей [187] Химические методы воздействия приводят к 10-15 - кратному увеличению её реакционной способности.

Делигнификация ЦСС обычно проводится путём кипячения или автоклавирования в разбавленных (от 1 % до 2 %) растворах щелочей, таких как NaOH или аммиак. Широко применяемый в целлюлозно-бумажной промышленности процесс сульфатной или сульфитной варки также приводит к делигнификации ЦСС [104, 125].

Биологические методы предобработки ЦСС основаны на способности различных лигнолитических микроорганизмом в качестве источника углерода избирательно по отношению к целлюлозе утилизировать лигнин. Эти методы достаточно эффективны, но длительны и трудоёмки [32].

1.4. Методы выделения биомассы микроорганизмов из культуральной жидкости.

В промышленной биотехнологии конечным продуктом стадии культивирования является культуральная жидкость или суспензия

микроорганизмов. Для дальнейшего использования биомассу микроорганизмов необходимо сконцентрировать и выделить. Способы концентрирования и выделения биомассы определяются как свойствами целевого продукта и культуральной жидкости, так и требованиями, которые предъявляются к конечным формам целевых продуктов [31, 88].

Культуральные жидкости представляют из себя сложные смеси большого количества компонентов. В их составе находятся различные минеральные соли, белки, углеводы другие органические вещества, а также большое количество полидисперсных коллоидных частиц и взвесей. Следовательно, они представляют собой многокомпонентные растворы и взвеси. Основу дисперсной фазы этих суспензий составляют мицелий или клетки, то есть представляет собой живую ткань, а также в состав неё входят частицы компонентов питательных сред - жмыхов, муки остатков зерна дробины и т.п. Таким образом, культуральные жидкости являются многофазными системами сложного состава, конечные свойства которых даже для одного и того же продуцента не всегда идентичны и изменяются в широких пределах.

Характерной особенностью культуральных жидкостей является сравнительно низкое содержание целевых продуктов. Содержание биомассы при производстве бактериальных препаратов обычно не превышает 1 – 2%. Большого содержания биомассы удаётся достичь при производстве дрожжей – 5 – 10% [31, 88].

Особенностью микробиологического синтеза, налагающей требования на способ выделения биомассы микроорганизмов, является нестабильность получаемого продукта. При выделении биомассы в биотехнологических производствах одним из важнейших требований является максимально возможное сохранение числа живых клеток.

Существуют различные методы концентрирования и выделения биомассы микроорганизмов: флотация, центрифугирование, отстаивание, фильтрование [39].

Флотация.

Технология флотационного выделения и концентрирования биомассы микроорганизмов достаточно широко используется для сгущения биомассы в производстве кормовых дрожжей [3, 124]. Флотация является не только способом выделения и концентрирования микроорганизмов, но и стадией очистки биомассы от ряда взвешенных, нефлотирующихся (балластных) веществ, присутствующих в исходной культуральной среде. Это позволяет повысить качество товарной биомассы по содержанию белка и зольных элементов.

Сущность флотационного выделения заключается в способности микроорганизмов сорбироваться на пузырьках воздуха и концентрироваться на поверхности жидкой культуральной среды. В результате образуется нижний слой отработанной культуральной жидкости и верхний пенный слой, состоящий из дрожжей, пузырьков воздуха и остаточной культуральной жидкости [74].

Флотационный метод в производстве кормовых дрожжей позволяет не только снизить расход электроэнергии на концентрирование биомассы, но и повысить качественные показатели товарной биомассы за счёт отделения с отфлотированной средой балластных взвешенных веществ [50].

Существует несколько основных способов флотации: диспергированным воздухом, растворёнными газами и электрофлотация.

При выделении дрожжей чаще всего применяется флотация диспергированным воздухом, при которой воздух диспергируется в жидкой среде до пузырьков диаметром более 1 мм с помощью различных устройств. Способ является простым по аппаратному оформлению, но у него существует ряд недостатков: высокие расходы воздуха, невысокая эффективность из-за сравнительно крупных пузырьков воздуха и высокие потери дрожжей с культуральной жидкостью – до 4 – 7% [74].

Более эффективной является флотация растворённым воздухом, но она значительно сложнее в аппаратном оформлении. Для этого культуральную

жидкость предварительно насыщают сжатым воздухом под избыточным давлением до 0,7 Мпа, и далее подают во флотатор, в котором давление снижается до атмосферного (напорная флотация), либо до вакуума (вакуумная флотация). При этом выделяющийся воздух образует мелкие пузырьки диаметром 0,01 – 0,1 мм, обеспечивая высокую эффективность флотации.

В последнее время идут разработки промышленных способов электрофлотации, обладающих высокой эффективностью. Её механизм заключается в образовании на электродах мелких (до 0,05 мм) пузырьков водорода. Но окончательно нерешёнными вопросами остаются взрывоопасность процесса, быстрая загрязняемость электродов и низкая единичная мощность флотатора [15].

Эффективность флотационного выделения и концентрирования биомассы микроорганизмов характеризуется двумя показателями – коэффициентом флотации (степенью сгущения биомассы) и степенью выделения клеток из культуральной среды (степенью извлечения). Коэффициент флотации находят как отношение концентрации биомассы в пенном слое к концентрации биомассы в исходной культуральной среде:

$$K_{\text{фл}} = X_{\text{п}} / X_{\text{н}}$$

Где $X_{\text{н}}$ – концентрация биомассы в исходной культуральной среде, г/л;
 $X_{\text{п}}$ – концентрация биомассы в пене, г/л.

Степень исчерпывания определяется отношением разности концентраций биомассы в исходной и отфлотированной культуральных средах к концентрации биомассы в исходной среде и выражается в процентах:

$$K_{ис} = \frac{X_H - X_{от}}{X_H \cdot 100},$$

Где $X_{от}$ – концентрация биомассы в отфлотированной среде, г/л.

В настоящее время имеются разноречивые мнения о факторах, влияющих на флотацию дрожжей. Известно, что флотирующая способность дрожжей увеличивается в присутствии ионов кальция, определённых поверхностно – активных веществ и с повышением концентрации лигносульфонатов в сульфитном щёлоке. Высшие жирные кислоты гидролизатов подсолнечной лузги резко снижают флотируемость дрожжей. Флотируемость дрожжей связывают также с содержанием полисахаридов в оболочке клеток и изменением их водного режима. Также на флотируемость дрожжей оказывают влияние размеры и общая поверхность пузырьков газовой фазы, а также физиологическое состояние и возраст клеток. С ростом ветвистости и величины клеток дрожжей флотируемость большинства штаммов увеличивается [3, 21, 74, 126].

Степень сгущения биомассы зависит от продолжительности выдержки (отстаивания) пены во флотаторе и площади раздела пены и жидкости. Исследованиями показано, что степень сгущения может быть весьма значительна. При времени выдерживания пенной суспензии во флотаторе 30 – 35 минут и соотношении площади раздела пена-жидкость 0,002 к единице рабочего объёма флотатора концентрация дрожжей достигает 500 г/л по прессованной биомассе [15].

В производственных условиях с использованием диспергированного воздуха коэффициент флотации дрожжей составляет обычно 4 – 6. С увеличением коэффициента до 8 – 10 производительность флотатора резко сокращается [15].

Разработано довольно много различных конструкций флотационных аппаратов: одноступенчатый флотатор в вертикальной цилиндрической

ёмкости с верхним отбором пены и нижним отбором отфлотированной среды; горизонтальный цилиндрический конусный аппарат с «поджимом» - задержкой пены образующей конуса; вертикальный аппарат с секционным исчерпыванием биомассы из культуральной среды; двухступенчатые аппараты как для исчерпывания биомассы из исходной среды, так и для концентрирования суспензии микроорганизмов; аппарат с задержкой пены в зоне флотации с деэмульгированием её механическим пеногасителем; флотатор, встроенный в дрожжерастильный аппарат, и т.п. [50, 74].

Центрифугирование.

Центрифугирование – это процесс разделения жидких неоднородных систем в поле центробежных сил. Центрифугирование осуществляется в специальных машинах – центрифугах [131].

Центрифугирование позволяет сконцентрировать продукт по сухим веществам от 15% до пастообразного состояния с затратами энергии от 1 до 20 кВт·ч/т продукта по сухим веществам [5].

Движущей силой процесса центрифугирования является центробежная сила, возникающая при вращении ротора центрифуги и находящейся в ней суспензии или эмульсии. Количественно относительное возрастание силы осаждения в центробежном поле характеризуется безразмерным отношением, которое называется фактором разделения (критерий Фруда Fr):

$$Fr = \psi^2 R / g,$$

где ψ – удельная скорость вращения, c^{-1} ; R – радиус вращения, м; g – ускорение свободного падения, m/c^2 [5, 21, 31].

В зависимости от свойств дисперсных систем центрифугирование осуществляют методами центробежного фильтрования или осаждения. В зависимости от принципа разделения, промышленные центрифуги классифицируются на осадительные, фильтрующие и комбинированные; в зависимости от конструкции опор и расположения оси барабана центрифуги делятся на центрифуги с вертикальным, горизонтальным и наклонным

расположением вала, на центрифуги с жёсткими или упругими, с шарнирными или комбинированными опорами; в зависимости от способа выгрузки осадка – центрифуги с ручной, поршневой, гравитационной, шнековой, центробежной и т.д.; по организации процесса – на периодического и непрерывного действия; в зависимости от величины Fr центрифуги делят на обычные ($Fr < 3500$) и сверхцентрифуги ($Fr > 3500$). Сверхцентрифуги с фактором разделения до 12000 имеют конструкцию ротора с трубчатым или тарельчатым барабаном. Вариант сверхцентрифуг с тарельчатым барабаном называют сепараторами. Они позволяют сконцентрировать осадок до влажности 60 – 90%. В микробиологической промышленности сепараторы имеют широкое применение. В микробиологической промышленности сепараторы являются одним из самых распространённых типов центрифуг [18, 131].

В биотехнологии метод центрифугирования широко применяют для выделения из культуральных сред твёрдой фазы: взвешенных балластных веществ на стадиях подготовки питательных сред (например, в производстве хлебопекарных дрожжей); биомассы микроорганизмов (дрожжей, бактерий); белков и других внутриклеточных структур (плазмид, нуклеиновых кислот).

Главными достоинствами центрифугирования и сепарирования являются высокая производительность и высокая степень концентрирования. Однако центрифугирование имеет и ряд существенных недостатков, которые необходимо учитывать при принятии решения о применении этого процесса в технологии: дороговизна процесса, сложность конструкции, высокая энергоёмкость, сложность эксплуатации (необходимость периодической разборки и мойки и т.п.), ненадёжность, вибрация, высокий уровень шума. Кроме того, существуют специфические особенности центрифугирования, являющиеся недостатками конкретно для микробиологических производств: повышение температуры, воздействие центробежной силы, трудность обеспечения асептических условий процесса [114, 131].

Отстаивание.

Осаждением (отстаиванием) называют процесс, при котором происходит расслоение дисперсных систем под действием силы тяжести и последующее отделение дисперсной фазы в виде осадка. Скорость осаждения определяется по формуле Стокса [51]:

$$v = \frac{gd_p^2}{18\eta}(\rho_p - \rho_{ж}),$$

где v – скорость осаждения, м/с; g – ускорение свободного падения, м/с²; d_p – диаметр частицы, м; η – динамическая вязкость, Па·с; ρ_p , $\rho_{ж}$ – плотности частицы и жидкости, кг/м³.

Формула даёт точные результаты при отсутствии взаимодействия частиц между собой или частиц со стенками отстойника. Поэтому её можно применять лишь для неконцентрированных суспензий. Высококонтрированные суспензии (15% и более по объёму твёрдой фазы) оседают медленнее [31, 50].

Преимуществом метода отстаивания, по-сравнению с другими методами концентрирования, является низкую энергоёмкость, недостатками - низкая степень концентрирования твёрдой фазы и большие площади, необходимые для установки оборудования. Кроме того, отстаивание является процессом медленным, требующим длительного времени для осаждения осадки в отстойнике, что может привести к ухудшению его качественных характеристик, например к заражению посторонней микрофлорой, лизису биомассы и т.д.. Это делает нецелесообразным использование отстаивания при концентрировании, в частности биомассы дрожжей (кормовых или хлебопекарных), без дополнительных решений, исключающих лизис микроорганизмов [40, 116].

Как правило, скорость осаждения клеток микроорганизмов в микробиологических производствах низкая – около $10^{-6} - 10^{-7}$ м/с. Причина

этого в том, что многие культуральные жидкости по общему содержанию твёрдой фазы относятся к категории высококонцентрированных. В подавляющем большинстве случаев исходные питательные среды в микробиологических производствах содержат много твёрдой фазы самого различного дисперсного состава.

Для интенсификации процесса осаждения в среды добавляют коагулянты и флокулянты. Коагулянты переводят взвешенные частицы в агрегативно неустойчивое состояние и способствуют образованию агрегатов из них. Флокулянты это вещества, разрушающие коллоидные структуры и также приводящие к агрегации частиц и образованию крупных хлопьев [32].

Коагулянтами являются такие субстанции как казеин, желатин, рыбный клей и др. Чаще всего используемыми флокулянтами является пектин, альгинат натрия, метилцеллюлоза и др.

Одним из приёмов укрупнения частиц является старение клеток – выдерживание биомассы микроорганизмов при культивировании в стационарной фазе, в конце которой клетки обычно образуют скопления. Известны методы электрокоагуляции и их сочетание с обработкой реагентами, электрохимическое и электрокинетическое осаждение [21].

Для осаждения клеток микроорганизмов используют различные типы отстойников: вертикальные, горизонтальные, радиальные, тонкослойные, трубчатые, пластинчатые и др. Наибольшее распространение, в том числе и в биопроизводстве, получили радиальные отстойники, которые отличаются достаточно высокими производительностью, степенью очистки сред и сгущения осадка, а также компактностью и простотой обслуживания [40].

Фильтрация.

Процесс выделения клеток микроорганизмов из культуральных жидкостей может осуществляться фильтрацией. Фильтрация это процесс разделения твёрдой и жидкой фаз суспензии путём пропускания её через пористую перегородку.

Большинство передовых фирм – производителей белка в настоящее время перешли на использование процесса фильтрации для отделения микробной биомассы. При этом сепарации используется только для предварительного сгущения. В результате фильтрования достигается содержание сухого вещества в сгущенной биомассе 30, при этом процесс обеспечивает улучшение условий труда, характеризуется низкими потерями продукта со сточными водами, легко поддается автоматизации и механизации [35, 43].

Исследования и предварительные технико-экономические расчёты, проведённые в Новополоцке, показали, что повышение степени сгущения биосуспензий в производстве БВК за счёт использования процесса фильтрования позволяет исключить стадию выпаривания, снизить потери биомассы со сточными водами, улучшить условия труда в цехе сгущения за счёт обеспечения герметичности оборудования, автоматизации и механизации процесса фильтрования. При этом энергозатраты снижаются на 3 – 3,5 кВт/т сгущённой продукции по-сравнению с процессом выпаривания [35].

Фильтрование является гидродинамическим процессом. Скорость фильтрования зависит от разности давлений по обеим сторонам фильтровальной перегородки, сопротивлением слоя осадка, вязкостью среды и продолжительностью цикла фильтрации. При этом сопротивление осадка, образующегося на фильтрующей перегородке во время фильтрации, увеличивается. Производительность фильтрации это одна из основных характеристик процесса, определяется как объём фильтрата с единицы фильтрующей поверхности в единицу времени [12].

Много факторов влияют на процесс фильтрования, они делятся на две группы:

Макрофакторы, значения которых известны или контролируются с помощью приборов – природа фильтрующего материала, разность давлений, величина слоя осадка, природа жидкой фазы.

Микрофакторы менее изучены и контролируемы и могут определяться только косвенным путём. Таковыми являются форма и размер клеток микроорганизмов, форма и размер пор фильтрующего материала, величина и структура двойного электрического слоя на поверхности перегородки и клеток и т.п.

Между тем, микрофакторы оказывают главное влияние на процесс фильтрования и затрудняют его стандартизацию [12, 31].

На производительность и другие параметры фильтрации культуральных суспензий влияет много факторов: состав питательных сред, глубина использования питательных веществ, время культивирования, что должно учитываться при выборе сырья, продуцентов, методов культивирования для оптимизации процесса фильтрации.

Производительность фильтров рассчитывают с использованием зависимости:

$$G = \frac{\sqrt{2\Delta p \tau}}{\eta r m}$$

где: G – удельная производительность по фильтрату, кг/м²; Δp – разность давлений над и под перегородкой, кг/см²; τ – время фильтрации, ч; η – вязкость среды, Па·с; r – сопротивление слоя осадка массой 1 кг на 1 м², кг/м²; m – масса осадка, выделяющегося из 1 м³ раствора, кг/м³.

В целом, процесс фильтрации культуральных суспензий характеризуется низкой производительностью: средняя скорость фильтрации биосред составляет от 0,05 до 0,5 м³/ч на 1 м² фильтрующей поверхности для бактериальных культур и до 4 м³/(ч·м²) для мицелиальных грибов. Это объясняется тем, что образующийся осадок, как правило имеет студенистую, мелкозернистую или хлопьевидную структуру и имеет большое сопротивление.

Для увеличения скорости фильтрации используют технологии предварительной подготовки культуральных сред и использование вспомогательных фильтровальных материалов. Предварительная обработка культуральной жидкости перед фильтрацией позволяет эффективнее перевести клетки микроорганизмов в осадок и значительно увеличить производительность фильтрации [43, 50].

Для увеличения производительности фильтрации клеточных суспензий используют такой метод и модификации как использование коагулянтов. В качестве коагулянтов используются соли алюминия, железа, кальция. В результате обработки коагулянтами в осадок выпадают хлопья гидратов окисей металлов или нерастворимые соли (например, фосфорнокислый кальций), которые способны улавливать взвешенные частицы и агрегировать их [190]. Этот способ очень эффективен и иногда позволяет увеличивать скорость фильтрования в несколько раз.

Другим направлением ускорения процесса фильтрования является использование вспомогательных фильтровальных материалов (ВФМ). Эти материалы либо вносят предварительно в культуральную среду, либо наносят на поверхность фильтра непосредственно перед процессом фильтрации. В качестве ВФВ используют различные сыпучие вещества: древесные опилки, целлюлозу, отруби и т.д. В качестве ВФВ могут также использоваться материалы, которые в последствие войдут в состав комбикормов.

Кроме исходного сырья различные марки ВФВ отличаются одна от другой главным образом дисперсностью. Грунтовый (намывной) слой из ВФВ, который наносится на фильтровальную перегородку (ткань) предохраняет её поры от закупоривания, что увеличивает скорость фильтрования и облегчает последующую регенерацию фильтровальной ткани. Толщина грунтового слоя должна обеспечивать полную задержку взвешенных в фильтруемой суспензии частиц.

При использовании ВФМ в качестве наполнителя они вносятся в фильтруемую суспензию до начала фильтрования. В результате

взаимодействия фильтрующих порошков с частицами твёрдой фазы происходит изменение структуры осадка, ведущее к уменьшению его сопротивления. Количество наполнителя зависит от содержания твёрдой фазы [31].

Правильное использование ВФВ иногда позволяет в десятки раз увеличить производительность процесса фильтрации. Обычно этот метод используют при разделении суспензий с размерами частиц менее 5 мкм [47].

Максимальная скорость фильтрации достигается при соотношении наполнителя и твёрдой фазы один к одному, в некоторых случаях для липких слизистых осадков это соотношение может изменяться в сторону увеличения содержания наполнителя.

Фильтры, применяемые в микробиологических производствах, подразделяются на фильтры периодического и непрерывного действия. По способу создания разности давлений Δp различают фильтры, работающие под давлением (фильтр-прессы) и под вакуумом (вакуум-фильтры) [31].

Наиболее перспективными для микробиологических производств являются автоматические камерные фильтр-прессы (ФПАКМ), барабанные вакуум-фильтры и в меньшей степени ленточные фильтры.

Автоматические камерные фильтр-прессы ФПАКМ относятся к одним из совершенных аппаратов периодического действия, предназначенных для фильтрования под избыточным давлением тонкодисперсных суспензий, содержащих от 10 до 500 кг/м³ твёрдых частиц. ФПАКМ отличается от других фильтров компактностью, высокой удельной производительностью при сравнительно небольшом расходе электроэнергии (до 0,8 – 1 кВт·ч/м² фильтрующей поверхности).

Фильтр-пресс состоит из горизонтально расположенных фильтрующих плит между верхней упорной и нижней нажимной плитами. Под нажимной плитой установлен механизм для подъёма, опускания и зажима плит. Фильтрующая ткань (белтинг) в виде замкнутой ленты зигзагообразно протянута между плитами. Цикл работы фильтр-пресса состоит из сжатия

плит, фильтрования, промывки и обезвоживания осадка, раздвигания плит и разгрузки осадка одновременно с перемещением ткани и её промывкой. Работа фильтр-пресса ФПАКМ полностью автоматизирована [18].

Барабанные вакуум-фильтры являются аппаратами непрерывного действия. Барабанный вакуум-фильтр состоит из барабана, вращающегося на валу и имеющего перфорированную боковую поверхность, разделённую внутренними ячейками. Из ячеек через систему трубок и полостей вакуумом удаляются фильтрат и промывные воды. При вращении барабана каждая ячейка проходит последовательно секции фильтрования, где происходит погружение в фильтруемую суспензию, обезвоживания, удаления осадка, промывки, второго обезвоживания, удаления осадка и регенерации ткани.

Фильтры данного типа применяют выделения биомассы микроорганизмов из суспензии с концентрацией 50 – 500 г/л. Влажность осадка после фильтрации 75 – 85 %, рабочий вакуум 150 – 650 мм рт. ст., производительность вакуум насоса по отсасываемому воздуху 0,5 – 1,4 м³/ч на 1 м² фильтрующей поверхности. Барабанные вакуум-фильтры нашли широкое применение в биотехнологии благодаря высокой степени механизации и способности обеспечивать непрерывную фильтрацию различных суспензий практически при постоянной скорости, снятия и отдувки осадка, промывки (регенерации) ткани.

Недостатками барабанных вакуум-фильтров являются их громоздкость и невозможность обеспечить асептические условия [31].

В ленточных вакуум-фильтрах непрерывного действия фильтрующая ткань, натянутая в виде бесконечной ленты между двумя вращающимися барабанами, движется над вакуум-камерой, в которой создаётся вакуум до 650 мм ртутного столба. Основной отличительной особенностью ленточного вакуум-фильтра в сравнении с другими фильтрами непрерывного действия является образование слоя осадка на фильтрующей поверхности толщиной до 120 мм. При формировании слоя осадка более крупные и тяжёлые частицы располагаются ближе к поверхности фильтрующей перегородки

(ткани), а более лёгкие – в верхней части слоя и не перекрывают поры фильтрующей ткани. Такое формирование осадка создаёт лучшие условия разделения сред и обеспечивает достаточно высокую скорость фильтрации при большой высоте слоя на фильтре. Эта особенность важна при использовании ВФМ. Существенными недостатками ленточных вакуум-фильтров являются большие габариты установки при малой поверхности фильтрации, строгое дозирование суспензии на обезвоживание, получение мутных растворов, в связи с чем они редко применяются в микробиологической промышленности [50].

ГЛАВА 2.

Материалы и методы исследования.

2.1. Характеристика используемого сырья.

Пивная дробина.

Дробина пивная сырая представляет собой гущу светло-коричневого цвета со специфическим запахом и вкусом. Дробина может содержать до 88 % воды и храниться в течение 24 ч при температуре окружающей среды.

Химический состав пивной дробины зависит от источника сырья и технологии его переработки. В среднем пивная дробина характеризуется следующим составом (в %):

Вода	75
Сухие вещества	25
В том числе сырой протеин	5,3 - 7,1
Сырая клетчатка	3,5 - 4,0
Жир	1,5 - 1,8
Безазотистые экстрактивные вещества	8,7 - 11,6
Зола	0,5 - 0,7

Зола пивной дробины содержит большое количество солей фосфора и кальция [58].

По одним данным [178], в состав дробины входят (в % на сухую массу):

Протеин	24
Сырой жир	9
Сырая клетчатка	20
Прочие углеводы	42

Минеральные вещества 5

По другим данным [114], в пивной дробине содержатся (в % на сухое вещество):

протеин	22,5
сырая клетчатка	17,5
гемицеллюлозы	33,5
жиры	8,15
зола	5,5
лигнин	10,05
крахмал	2,8

По данным Всесоюзного института животноводства, питательная ценность 1 кг свежей пивной дробины составляет 0,17 - 0,23 к. е., причём в её состав входят (в %): переваримый протеин - 3,9 - 4,2, жир - 1,3 - 1,5, безазотистые экстрактивные вещества - 5,5 - 6,6 [59].

В работе использовалась пивная дробина, полученная на Останкинском пивоваренном заводе в 2001 – 2007 гг.

Куриный помёт.

Основной химический состав помёта следующий, %: сухие вещества 34,5 – 48,3; зола 14 – 40 (в том числе кальция до 8,5); сырой жир (эфирный экстракт) 2,9 – 4,5; сырая клетчатка 14,25; безазотистые экстрактивные вещества 4,6 – 4,8 [3].

В среднем в помете естественной влажности содержится (%): азота - 1,74-2,74; фосфора - 1,18-2,00; калия - 0,61-0,78 (в расчете на сухое вещество около 5 % азота, 4-4,5 % фосфора и около 2 % калия).

Микроэлементный состав характеризуется следующими величинами, %: медь 0,0025 – 0,0094; железо 0,01 – 0,04; цинк 0,004 – 0,056; марганец 0,50 – 1,00; магний 0,019 – 0,044 [71].

Помёт содержит большое количество органических соединений и является благоприятной средой для развития различных видов микробов.

Число аммонифицирующих бактерий - до 1 млрд. (и более) в 1 грамме помёта. Содержит большое количество видов окислительных бактерий, а также термофильные, нитрифицирующие, денитрифицирующие бактерии, возбудители различных брожений (маслянокислые, молочнокислые и др.), плесневые грибы, актиномицеты, дрожжи [71].

В работе использовался куриный помёт, полученный на Петелинской птицефабрике в 2001-2007 гг.

2.2. Культивирование микроорганизмов.

2.2.1. Краткая характеристика основных продуцентов.

1. *Candida scotti*

Клетки *Candida scotti* овальные, вытянутые со средними размерами (1-3)х(3-6) мкм, группируются комплексы в виде кустиков и веточек, образуют псевдомицелий. В качестве источника углерода используют сахарозу, глюкозу, мальтозу, галактозу, целлобиозу, не нуждаются в биотине, не патогенны. Дрожжи *Candida scotti* обладают чувствительностью к параметрам культивирования и качеству субстрата, поэтому в производственных условиях могут вытесняться посторонней микрофлорой, в том числе другими штаммами дрожжей [2, 6].

2. *Candida utilis*

Образует гладкие колонии мягкой консистенции, окраска от сероватой до кремовой. Дрожжевые клетки от овоидной до цилиндрической формы (3,5 - 4 х 7 - 13 мкм). Образует примитивный псевдомицелий, состоящий из грубых коротких ветвлений, несущих редкие овоидные клетки. Ассимилируют сахарозу, мальтозу, целлобиозу, трегалозу, раффинозу, мелезитозу, α - ксилозу, глицерин, салицин. Сбраживает глюкозу и сахарозу [64].

3. *Endomycopsis fibuligera*

Endomycopsis fibuligera, по другой классификации *Saccharomycopsis fibuligera* это мицелиальный гриб, обладающий признаками дрожжей [6]. Был выделен из хлеба [87]. Могут размножаться как почкованием, так и делением. При почковании последовательно возникающие клетки могут не отделяться друг от друга, образуя ложный мицелий (или псевдомицелий). Споры шляповидной формы формируются в сумках по 4 в каждой чаще всего партеногенетически. Колонии белые, волнистые, бархатистые. Ассимилирует глюкозу, галактозу, сахарозу, маннозу, мальтозу и др.

4. *Yarrowia lipolytica*

Клетки круглые, эллипсоидальные или удлинённые. Бесполое размножение – многосторонним почкованием на узком основании. Образуется псевдомицелий и ситинный мицелий, который иногда может распадаться на артроспоры. Аски негоньюгативные, образуются из диплоидных клеток гиф. Оболочка аска быстро растворяется. В аске 1 – 4 аскоспоры, шаровидные, полусферические или шляповидные. Сахара не сбраживаются. Известен своей способностью к интенсивному образованию липолитических и протеолитических ферментов [7].

2.2.2. Состав и условия подготовки питательных сред.

1. Минеральный состав среды Ридер:

Сульфат аммония, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	- 3,0 г/л
Сульфат магния, MgSO_4	- 0,7 г/л
Хлорид натрия, NaCl	- 0,5 г/л
Гидроортофосфат калия, K_2HPO_4	- 1,0 г/л
Дигидроортофосфат калия, KH_2PO_4	- 0,1 г/л
Сахароза	- 20,0 г/л
Вода водопроводная кипячёная до 1 л, pH довести до 5,0 [33].	

2. Условия обработки пивной дробины

а. Кислотный гидролиз осуществляли разбавленной (5%-ной) серной кислотой в лабораторном автоклаве при избыточном давлении 1,0 ати. После завершения процесса гидролиза нейтрализацию кислоты и установку оптимального значения рН для культивирования микроорганизмов осуществляли 5%-ным водным раствором аммиака, который одновременно служил и дополнительным источником азота.

б. Ферментативный гидролиз проводили при постоянном встряхивании суспензии пивной дробины с интенсивностью 150 оборотов в минуту в присутствии ферментного препарата «Целловиридин» производства Бердского завода ФП. Целлюлолитическая активность ферментного препарата составляет 200 ед/г.

3. Условия обработки куриного помёта

Фильтрат гидролизата куриного помёта готовили следующим образом. Разбавляли куриный помёт водой, затем доводили рН до 3,0, гидролизовали в автоклаве при 1,0 ати в течение 30 мин, после этого фильтровали суспензию через фильтр «Бельтинг». Для проведения микробиологического контроля проводили высеивание по 0,5 мл получаемого фильтрата гидролизата куриного помёта на чашки Петри с 1% – сусло – агаром и мясо-петонным агаром и дальнейшим инкубированием при 37° С в течение 24 ч. Контроль проводили в 3-х последовательностях. На чашках не было выявлено колоний микроорганизмов, что говорит о стерильности получаемой среды. Получаемый фильтрат гидролизата куриного помёта использовали в дальнейшем в качестве заметы минеральных солей при приготовлении питательной среды для культивирования микроорганизмов.

2.2.3. Методы культивирования микроорганизмов.

При выполнении работы культивирование дрожжей *Candida scotti*, *Candida utilis*, *Yarrowia lipolytica*, а также дрожжеподобного гриба

Endomycopsis fibuligera в лабораторных условиях в периодическом режиме осуществляли в качалочных колбах на 250 мл (100 мл питательной среды) на установке КЭ 12-250Т при перемешивании 120 – 160 об./мин. Также проводили культивирование в лабораторном ферментёре с рабочим объёмом среды 3,0 л, при подаче воздуха барботёром до 35 л/ч, при перемешивании среды турбинной мешалкой с интенсивностью 500 – 800 об./мин. и при контроле температуры термостатом. Значение рН на заданном уровне (4,5 – 5,0) поддерживали добавлением в ферментационную среду 5%-ного водного раствора аммиака.

Порядок проведения культивирования микроорганизмов с рециркуляцией фильтрата культуральной жидкости следующий. На первой стадии осуществляли обычный процесс глубинной гетерофазной ферментации в периодическом режиме в качалочной колбе (с объёмом среды 100 мл). Полученную дрожжевую суспензию фильтровали на нутч-фильтре под вакуумом, и весь образующийся фильтрат использовали при подготовке питательной среды второй стадии. Корректировку объёма ферментационной среды проводили добавлением технической воды. Такой порядок действий повторялся и на всех последующих стадиях при осуществлении рециркуляции культуральной жидкости.

В качестве посевного материала использовали глубинный посевной материал 2-х суточных дрожжевых культур. Доза посевного материала составляла 5% об.

Экономический коэффициент потребления субстрата определяли по общепринятым формулам, удельную скорость роста дрожжей в условиях периодического культивирования рассчитывали по формуле [33]:

$$\mu = (\ln X_i - \ln X_0)/(t_i - t_0),$$

где X_0 и X_i – количество биомассы, млн. кл./мл в моменты времени t_0 и t_i .

2.3. Методы анализа.

В выполненной работе для контроля процесса глубинного гетерофазного культивирования микроорганизмов проводили анализ исходного сырья, ферментационной среды, биомассы продуцента, конечных продуктов. Для этого использовали стандартные методики или их модификации, учитывающие наличие в среде твёрдой фазы.

1. Методика определения накопления биомассы.

О накоплении биомассы судят по приросту количества клеток в 1 мл культуральной жидкости [26, 33].

Каплю культуральной жидкости помещают в центре камеры, накрывают покровным стеклом, тщательно притирают его по краям до появления колец Ньютона. При этом толщина слоя жидкости в камере составляет 0,1 мм, а каждый малый квадрат ограничивает объём жидкости в камере $1/4000 \text{ м}^2$ или $1/4 \cdot 10^{-6}$ мл.

Подсчёт клеток в камере начинают через 3 минуты после её заполнения, когда клетки осели и расположились в одной плоскости.

Подсчёт ведётся в 5 больших квадратах, расположенных по диагонали с одной стороны камеры. Находят среднее количество клеток в большом квадрате, затем аналогично для другой стороны камеры, и находят среднее.

Количество клеток в большом квадрате не должно превышать 20, для чего, если необходимо, предварительно делают разведение.

Число клеток N в 1 мл культуральной жидкости рассчитывают по формуле:

$$N = [(a \cdot 1000) / (h \cdot S)] \cdot n, \text{ где}$$

a – среднее число клеток в квадрате;

h – глубина камеры;

S – площадь квадрата ($1/25 \text{ мм}^2$);

n – разведение.

Конечная формула:

$$N=2,5 \cdot 10^5 \cdot a \cdot n$$

2. Методика определения абсолютно сухих веществ (АСВ).

Перед началом определения АСВ в пробе чистые бюксы доводят до постоянного веса в сушильном шкафу при температуре 105° С, взвешивая через каждый час до тех пор, пока разница в весе бюкса между двумя следующими друг за другом измерениями не достигнет 0,0001-0,0003 г. Взвешивание бюксов проводится после их охлаждения в эксикаторах. В доведённый до постоянного веса бюкс вносится навеска влажного продукта – примерно 1г. Бюкс взвешивается и вновь доводится до постоянного веса при температуре 105 °С [41].

Расчёт проводится по формуле:

$$\text{АСВ}=(m_1/m_2) \cdot 100\%, \text{ где}$$

m_1 - масса сухой биомассы, г;

m_2 - масса влажной биомассы, г.

3. Методика определения содержания углеводов в фенол-серной реакции (метод Дюбуа).

Реактивы:

Фенольный реактив: 5 г чистого фенола (ч.д.а.) растворяют в дистиллированной воде, доводят до 100 мл в мерной колбе под тягой, затем переносят в тёмную посуду с притёртой крышкой. Раствор хранят в холодильнике;

Концентрированная серная кислота;

Рабочий раствор глюкозы: 1г глюкозы растворяют в дистиллированной воде, доводят до 100 мл, хранят в холодильнике.

Ход анализа

Анализируемые пробы фильтруют через бумажный фильтр и разводят в 200-500 раз дистиллированной водой до содержания сахаров 20-80 мг/л. 1 мл пробы вносят в пробирку, одновременно готовят контрольную пробу с 1 мл дистиллированной воды, серию стандартных растворов глюкозы с концентрациями 10-100 мг/л. Во все пробы добавляют по 1 мл фенольного реактива, быстро и тщательно перемешивают. Затем добавляют по 5 мл концентрированной серной кислоты, также быстро перемешивают и оставляют в темном месте для развития окрашивания.

После этого снимают показания оптической плотности на ФЭКе при длине волны 488 нм и толщине кювет 10 мм.

Общее содержание углеводов в пробе определяется по стандартной калибровочной кривой, построенной по формуле:

$$U=C \cdot P,$$

где U - содержание углеводов в анализируемой пробе, г/л

C - концентрация углеводов, найденная по калибровочному графику, г/л;

P - разведение анализируемого раствора [41].

4. Определены содержания углеводов модифицированным методом Бертрана.

Реактивы:

Раствор Фелинга I: 10 г кристаллогидрата сульфата меди (II) и 0,04 г метиленовой сини растворяют в дистиллированной воде, доводят до 1 л в мерной колбе.

Раствор Фелинга II: 50 г сегнетовой соли, 4 г жёлтой кровяной соли и 75 г гидроксида натрия растворяют последовательно в дистиллированной воде в фарфоровой чашке, после охлаждения доводят до 1 л.

Ход анализа

В термоустойчивую коническую колбу наливают 5 мл раствора Фелинга I и 5 мл раствора Фелинга II, ставят на нагретую электроплитку и, закрыв

колбу часовым стёклышком, доводят содержимое до кипения. Кипящий раствор титруют пробой до перехода фиолетовой окраски в бледно-жёлтую. Момент, когда окраска пробы станет жёлтой или жёлто-зелёной, является концом титрования. Фиксируют объём пробы, пошедшей на титрование. Если пробы не хватило, то дотитровку проводят стандартным раствором глюкозы (1 мг/мл).

Расчёт проводят по формуле:

$$\%РВ=[(T_{\text{глюкозы}} - V_{\text{глюкозы}} \cdot C_{\text{глюкозы}}) : 10V_{\text{пробы}}] \cdot П,$$

где $T_{\text{глюкозы}}$ – титр растворов Фелинга по глюкозе, мг;

$V_{\text{глюкозы}}$ – объём глюкозы, пошедший на титрование, мл;

$C_{\text{глюкозы}}$ – концентрация глюкозы, мг/мл;

$V_{\text{пробы}}$ – объём анализируемой пробы, пошедший на титрование, мл.

Необходимо провести не менее 3-х параллельных определений. Количество анализируемого раствора, пошедшего на титрование, не должно отличаться более чем на 0,1 – 0,2 мл.

Титр меднощелочного раствора устанавливают отдельным титрованием по любому интересующему редуцирующему веществу. Титр меднощелочного раствора – это количество глюкозы (мг), идущее на восстановление 10 мл меднощелочного раствора при данных условиях титрования [41].

5. Определение содержания общего азота в культуральной жидкости методом Несслера.

Способ основан на реакции иона NH_4^+ со ртутью и иодидом калия в щелочном растворе, где он образует окрашенное соединение, которое анализируют с помощью спектрофотометра или ФЭКа.

Реактивы:

Вода, не содержащая NH_4^+ .

Реактив Несслера.

Стандартные растворы NH_4^+ .

Готовят основной раствор NH_4^+ , растворяя 381,9 мг безводной NH_4Cl в воде, не содержащей NH_4^+ , и доводят объём до 1 л. 1 мл такого раствора содержит 100 мкг азота и 122 мкг NH_3 . Стандарты получают разбавлением основного раствора. По стандартам строят калибровочную кривую.

Ход анализа

К 1 мл отфильтрованной культуральной жидкости добавляют 15 мл дистиллированной воды и 1 мл реактива Несслера. В качестве контроля к 16 мл дистиллированной воды добавляют 1 мл раствора Несслера.

Определяют концентрацию NH_4^+ по поглощению при длине волны 400 нм, используя калибровочный график [41].

6. Определение общего азота методом Кьельдаля

Метод Кьельдаля позволяет определить аминный и амидный азот. Сущность метода состоит в минерализации дрожжей серной кислотой в присутствии катализаторов до образования сульфата аммония. По количеству азота в полученном сульфате аммония, которое определяют отгонкой аммиака в кислоту, находят содержание сырого протеина. Если дрожжи плохо отмыты, то количество сырого протеина будет завышенным. Для уточнения данных о содержании сырого протеина определяют так называемый истинный белок по Барнштейну или устанавливают коэффициент усваиваемости сырого протеина.

Образец – сухая навеска или суспензия – сначала нагревают в присутствии серной кислоты, вызывая окисление органических веществ до углекислого газа и воды, аммиак связывается с избытком серной кислоты, образуя сульфат аммония. Дальнейшая обработка пробы заключается в выделении свободного аммиака и его количественном определении. К остатку, полученному после сжигания, прибавляют гидроксид натрия. Образовавшийся аммиак отгоняют.

Аппаратура, материалы и реактивы:

Кислота серная концентрированная;

Кислота серная 0,1 н;

40% раствор гидроксида натрия;

Селеновый катализатор – смесь 50 г сульфата калия, 5 г сульфата меди и 1 г селена;

Индикатор Конвея – 0,033 г бромкрезолового зелёного и 0,066 г метилового красного, растворяют в 100 мл этанола и тщательно перемешивают;

Колбы Къельдаля для сжигания;

Установка для отгонки аммиака.

Ход анализа

Точную навеску образца – примерно 0,02 г или 1 – 5 мл суспензии помещают в круглодонную специальную колбу – колбу Къельдаля, добавляют на кончике шпателя небольшое количество селенового индикатора, а затем 5 мл концентрированной серной кислоты, и на специальной подставке в наклонном положении помещают на электронную плитку для сжигания пробы. При полном обесцвечивании раствора сжигание заканчивают, колбу остужают, а её содержимое количественно переносят в мерную колбу на 100 мл и доводят до метки дистиллированной водой. После тщательного перемешивания приступают к отгонке на аппарате Къельдаля.

Одновременно со сжиганием пробы проводится определение концентрации АСВ в пробе.

Непосредственно перед началом перегонки в приёмник – коническую колбу объёмом 50 мл – вносят 10 мл реактива Конвея. В перегонную колбу вносят 10 мл пробы, несколько капель смешанного индикатора. Как только вся проба сольётся внутрь перегонной колбы, туда вносят 3 – 4 мл 40% раствора гидроксида натрия до появления зеленоватого окрашивания индикатора, после чего сразу начинается перегонка. Перегонку прекращают, когда рН на выходе из перегонной колбы становится 6 – 7 (по индикаторной

бумаге).

Содержимое приёмной колбы титруется 0,1 н раствором серной кислоты при непрерывном перемешивании.

Расчёт проводят по формуле:

$$N = [(V \cdot 14 \cdot 0,1 \cdot 0,001 \cdot 100) / (АСВ \cdot 10)] \cdot 100\%, \text{ где}$$

N- количество азота в пробе, %;

V- объём серной кислоты, пошедшей на титрование, мл;

0,1·0,001- титр серной кислоты;

100- объём пробы;

10- объём пробы, взятой на отгонку аммиака, мл;

14- атомный вес азота;

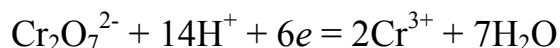
АСВ- содержание АСВ в пробе, взятой на сжигание, г [133].

Сырой протеин определяли, умножая общее количество азотсодержащих веществ на коэффициент 6,25 [133].

7. Определение уровня химического потребления кислорода (ХПК) бихроматным методом.

а) В отсутствие хлоридов.

В 18 н по содержанию серной кислоты растворе (разбавление 1:1) бихромат калия действует как сильный окислитель:



Окисление органических веществ ускоряется и охватывает при этом почти все органические соединения, если в качестве катализатора вводят сульфат серебра. Окисление органических веществ идёт до образования двуокси углерода и воды; азот выделяется в виде элементарного. Окисление большинства органических веществ в этих условиях проходит на 95 – 100%; алифатические углеводороды, спирты и кислоты с неразветвлённой цепью атомов углерода окисляются на 85 – 95%. Если катализатор не прибавлять, то указанные алифатические соединения окисляются в очень небольшой мере.

Незначительное число соединений (к ним относятся бензол, толуол, и другие ароматические углеводороды, пиридин и т.п.) совсем не окисляются и в присутствии катализатора.

Реактивы:

Серная кислота, пл. 1,84 г/см³.

Сульфат серебра, твёрдый.

Индикатор, один из следующих растворов: а) N-фенилантраниловая кислота; 0,25 г растворяют в 12 мл 0,1 н. раствора едкого натра и разбавляют водой до 250 мл; б) дифениламинсульфонат натрия или бария, 0,2%-ный раствор; в) ферроин: 1,485 г 1,10-фенантролина и 0,695 г FeSO₄·7H₂O растворяют в воде и раствор разбавляют водой до 100 мл; г) дифениламин; 1%-ный раствор в концентрированной серной кислоте.

Бихромат калия, 0,25 н. титрованный раствор. 12,259 г бихромата калия, предварительно высушенного в течение 2 ч при 105 °С, растворяют в дистиллированной воде и раствор разбавляют до 1 л.

Соль Мора, приблизительно 0,25 н. раствор. Растворяют 98 г соли Мора в дистиллированной воде, прибавляют 20 мл концентрированной серной кислоты и раствор разбавляют дистиллированной водой до 1 л. Титр этого раствора устанавливают по титрованному раствору бихромата калия. Отобрав 25 мл титрованного раствора бихромата калия, разбавляют его дистиллированной водой до 250 мл, приливают 20 мл концентрированной серной кислоты и дают остыть. Затем прибавляют 3 – 4 капли раствора ферроина или дифениламина или 10 – 15 капель раствора N-фенилантраниловой кислоты или дифениламинсульфоната и титруют раствором соли Мора.

Ход определения

Отобрав такую порцию анализируемой сточной воды, чтобы на её окисление расходовалось не более 20 мл титрованного раствора бихромата калия, разбавляют её дистиллированной водой до 50 мл, переносят в круглодонную колбу ёмкостью 300 мл, прибавляют 25 мл титрованного

раствора бихромата калия и осторожно, малыми порциями вливают 75 мл концентрированной серной кислоты, тщательно перемешивая смесь после добавления каждой порции. Затем всыпают 0,3 – 0,4 г сульфата серебра, вводят в колбу несколько стеклянных бусинок или кусочков пемзы, закрывают пробкой, соединённой с обратным холодильником, нагревают до слабого кипения, которое поддерживают в течение 2 ч. Затем охлаждают, обмывают стенки холодильника 25 мл дистиллированной воды и переносят содержимое этой колбы в коническую колбу ёмкостью 500 мл, обмывая стенки первой колбы несколько раз дистиллированной водой. Добавив дистиллированную воду до объёма 350 мл, вводят 3 – 4 капли раствора ферроина или дифениламина (10 – 15 капель раствора N-фенилантраниловой кислоты или дифениламинсульфоната) и оттитровывают избыток бихромата титрованным раствором соли Мора.

Проводят «холостой» опыт; для этого берут 50 мл дистиллированной воды и проводят её через все ступени анализа.

Расчёт. Окисляемость бихроматным методом, часто называемую химическим поглощением кислорода (ХПК), выраженную числом миллиграммов кислорода на 1 л сточной воды, вычисляют по формуле:

$$\text{ХПК}=(a - b) \cdot N \cdot 8 \cdot 1000/V,$$

где a – объём раствора соли Мора, израсходованной на титрование в «холостом» опыте, мл;

b – объём того же раствора, израсходованного на титрование пробы, мл;

N – нормальность титрованного раствора соли Мора;

V – объём анализируемой сточной воды, мл;

8 – грамм-эквивалент кислорода.

б) В присутствии хлоридов.

Если анализируемая сточная вода содержит хлориды и в ней

присутствуют лишь легко окисляемые органические вещества, то можно провести определение без добавления катализатора – сульфата серебра. Хлорид-ионы окисляются количественно до свободного хлора; из полученного результата надо вычесть поправку: на 1 мг хлорид-ионов расходуется 0,23 мг кислорода.

Если проба помимо хлоридов содержит органические вещества, окисляющиеся достаточно полно только в присутствии сульфата серебра (см. выше), рекомендуется следующий способ.

Реактивы:

Кроме указанных в пункте 1, сульфат ртути (II), кристаллический.

В пробу вводится соль ртути (II) в таком количестве, чтобы на каждый миллиграмм хлорид-ионов пришлось 15 мг ртути. Образуется растворимый, но очень мало диссоциированный хлорид ртути (II), который при избытке ионов ртути (II) достаточно устойчив даже в присутствии концентрированной серной кислоты и бихромата.

Ход определения

К 50 мл пробы (или меньшему её объёму, разбавленному дистиллированной водой до 50 мл), содержащей во взятом объёме не более 40 мг хлорид-ионов, прибавляют 1 г сульфата ртути (II), 5 мл концентрированной серной кислоты для растворения соли ртути, 25,0 мл титрованного раствора бихромата калия, очень осторожно вливают 70 мл концентрированной серной кислоты, всыпают 0,75 г сульфата серебра и нагревают с обратным холодильником при слабом кипении в течение 2 ч. Дальше продолжают, как описано в пункте 1.

в) В присутствии хлоридов и сульфидов.

В присутствии сульфидов (а также меркаптанов, органических сульфидов и дисульфидов) при добавлении соли ртути (II) выпадает чёрный осадок сульфида ртути, не растворяющийся при дальнейшей обработке. В этих случаях рекомендуется несколько изменить порядок прибавления реактивов по сравнению с описанным выше.

Ход определения.

К 50 мл пробы (или меньшему её объёму, разбавленному дистиллированной водой до 50 мл) сначала прибавляют 25,0 мл титрованного раствора бихромата, затем вливают 5 мл концентрированной серной кислоты и дают постоять 10 – 20 мин при комнатной температуре для окисления легко окисляющихся веществ, в том числе и сернистых соединений. Затем прибавляют 1 г сульфата ртути (II), вводят 70 мл концентрированной серной кислоты, 0,75 г сульфата серебра и продолжают, как описано в пункте 2 [41].

8. Определение содержания фосфат-ионов.

Сущность метода.

При обработке раствора, содержащего фосфат в виде ортофосфата, молибденовокислым аммонием в кислой среде образуется фосфорномолибденовая кислота $H_7[P(Mo_2O_7)_6]$. При взаимодействии с восстановителем – аскорбиновой кислотой – образуется смесь комплексов, содержащих молибден разной степени окисления. Смесь их комплексов растворима в воде и называется молибденовой синью. Интенсивность синей окраски пропорциональна количеству фосфора в растворе и может быть измерена с помощью фотоэлектрокалориметра или спектрофотометра.

Аппаратура, материалы, реактивы:

Плитка электрическая или газовая горелка.

Весы лабораторные аналитические 3-го класса точности, любой марки.

Колбы мерные объёмом 25, 50, 100, 200 и 1000 см³.

Воронки типа В.

Пипетки лабораторные стеклянные.

Фарфоровая чашка I.

Пробирки Ш-16-150 хс.

Колбы Кьельдаля вместимостью 50 см³.

Спектрофотометр или фотоэлектрокалориметр ФЭК-56М.

1 М раствор ацетата натрия

0,2 М ацетатный буфер рН 4,0.

1%-ного раствора аскорбиновой кислоты на 0,001 М $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$.

Хлорная кислота HClO_4 57%-ная хч.

1%-ный раствор молибдата аммония в 0,05 н серной кислоте.

Стандартный раствор однозамещённого фосфата калия с концентрацией фосфора 1 г/л.

Проведение испытания.

а) Построение калибровочной кривой.

В мерные колбы объёмом 100 см³ вносят следующие количества стандартного раствора однозамещённого фосфата калия: 0,5 мл; 1,0 мл; 1,5 мл; 2,0 мл; 2,5 мл; 3,0 мл и доводят дистиллированной водой до метки. Это соответствует 0,5; 1,0; 2,0; 2,5; 3,0 мг внесённого фосфора, а концентрация фосфора (мг в 1л) будет 5; 10; 15; 20; 25; 30. В пронумерованные пробирки вносят по 1 мл приготовленных растворов и в одну 1 мл дистиллированной воды. Затем в каждую пробирку прибавляют 1 мл 1 М раствора ацетата натрия, 2 мл ацетатного буфера рН 4,0 и 0,5 мл 1%-ного раствора аскорбиновой кислоты, приготовленной на 0,001 М $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$. Через 10 мин добавляют 1 мл 1%-ного $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4$, приготовленного на 0,05 н H_2SO_4 . Выдерживают 10 мин, по истечении этого времени измеряют оптическую плотность окрасившихся в синий цвет растворов по отношению к реактивам и дистиллированной воде. При измерении на фотоэлектрокалориметре ФЭК-56М используют красный светофильтр №8 и кюветы с толщиной поглощающего свет слоя 3 мм; измерение на спектрофотометре производят при длине волны 750 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. За окончательную величину оптической плотности, соответствующей данной концентрации фосфора, принимают среднюю арифметическую величину трёх параллельных анализов. Интенсивность развивающейся окраски зависит от времени, поэтому следует добавлять реактивы не более, чем к 8 – 10 пробам одновременно и при этом выдерживать указанные выше интервалы времени.

По полученным данным строят калибровочную кривую, откладывая на

оси абсцисс содержание фосфора, а по оси ординат – соответствующие показания оптической плотности. График должен иметь вид прямой линии, проходящей через начало координат.

б) Определение концентрации фосфат-иона в водно-солевом растворе.

Испытуемые растворы разводят дистиллированной водой с помощью мерных колб и пипеток соответствующей вместимости так, чтобы они содержали фосфат-ион в пересчёте на фосфор не более 30 мг/л. Если растворы содержат взвешенные частицы или мутны, то их осветляют фильтрованием или центрифугированием. От разбавленной и, если необходимо, профильтрованной жидкости пипеткой отбирают 1 см³ пробы и переносят её в пробирку, куда добавляют реагенты в той последовательности и количестве, как было указано при построении калибровочной кривой, строго соблюдая временные интервалы, необходимые для протекания реакций. Измерение оптической плотности производится так же, как и при построении калибровочной кривой.

в) Обработка результатов испытаний.

Концентрацию фосфат - иона в водно – солевом растворе рассчитывают по формуле:

$$[(\text{PO})_4^{3-}] = (x \cdot P) / (31 \cdot 1000), \text{ моль/л, где}$$

$[(\text{PO})_4^{3-}]$ – концентрация фосфат - иона в молях на литр;

x – концентрация фосфора в проанализированном разведении, найденная по калибровочному графику;

31 – относительная атомная масса фосфора;

1000 – коэффициент для перевода мг в г;

P – соответствующее разведение исследуемого образца [41].

9. Определение pH растворов.

Значение pH растворов определяли потенциометрическим способом на pH-метре pH-150МИ [41].

10. Спектрофотометрические измерения.

Спектрофотометрические измерения выполняли на фотоэлектрокалориметре ФЭК-56М и спектрофотометре SPECORD M-40 [41].

11. Проницаемость фильтров (X, %) и эффективность фильтрации.

Процесс фильтрации исследовали на лабораторном нутч-фильтре. В качестве фильтрующих материалов использовали ткань «Бельтинг», а также синтетические фильтрационные материалы производства Великобритании NAM 640-06, PX 562-04, NPX 700-41, PX 291-07, PX 339-07. Проницаемость фильтров (X, %) и эффективность фильтрации оценивали по изменению титра клеток в фильтрате, скорости фильтрования (производительности процесса – G (л/м²·ч)), а также по степени осветления культуральной жидкости (K), определяемых по формулам:

$$X=N_{\text{фильтр}}/N_{\text{сусп}}, K=N_{\text{сусп}}/N_{\text{фильтр}}$$

где N_{сусп} – количество клеток культуры в суспензии, млн./мл;

N_{фильтр} – количество клеток культуры в фильтрате, млн./мл;

$$G=V/(S \cdot h),$$

где V – объём фильтруемой суспензии, л;

S – площадь фильтрующей поверхности, м²;

h – время фильтрования, ч.

Использование этих методов позволяло проводить расчёты стадий культивирования, фильтрования и рециркуляции фильтрата в процессе получения РУБК [133].

ГЛАВА 3.

Результаты и обсуждение.

3.1. Гидролиз пивной дробины.

3.1.1. Кислотный гидролиз пивной дробины.

1. Кислотный гидролиз цельной пивной дробины.

Пивная дробина (цельная) содержит в своём составе как твёрдую нерастворимую фазу, представленную непрогидролизованавшимися остатками зерна, так и жидкую фазу, содержащую довольно высокие концентрации растворимых углеводов. Жидкая фаза представляет собой не отделённое от пивной дробины пивное сусло. В нашей работе мы проводили отдельно гидролиз цельной пивной дробины (вместе с жидкой фазой) и гидролиз твёрдой фазы пивной дробины (пивной дробины, отмытой от остатков сусла).

На первом этапе нашей работы мы проводили исследования процесса кислотного гидролиза цельной пивной дробины. Гидролиз цельной пивной дробины с концентрацией 40 г/л проводили при pH=4,5 и 2,0 и времени гидролиза 60 мин. В процессе гидролиза измеряли концентрацию углеводов в среде. Результаты гидролиза представлены на рис. 2.

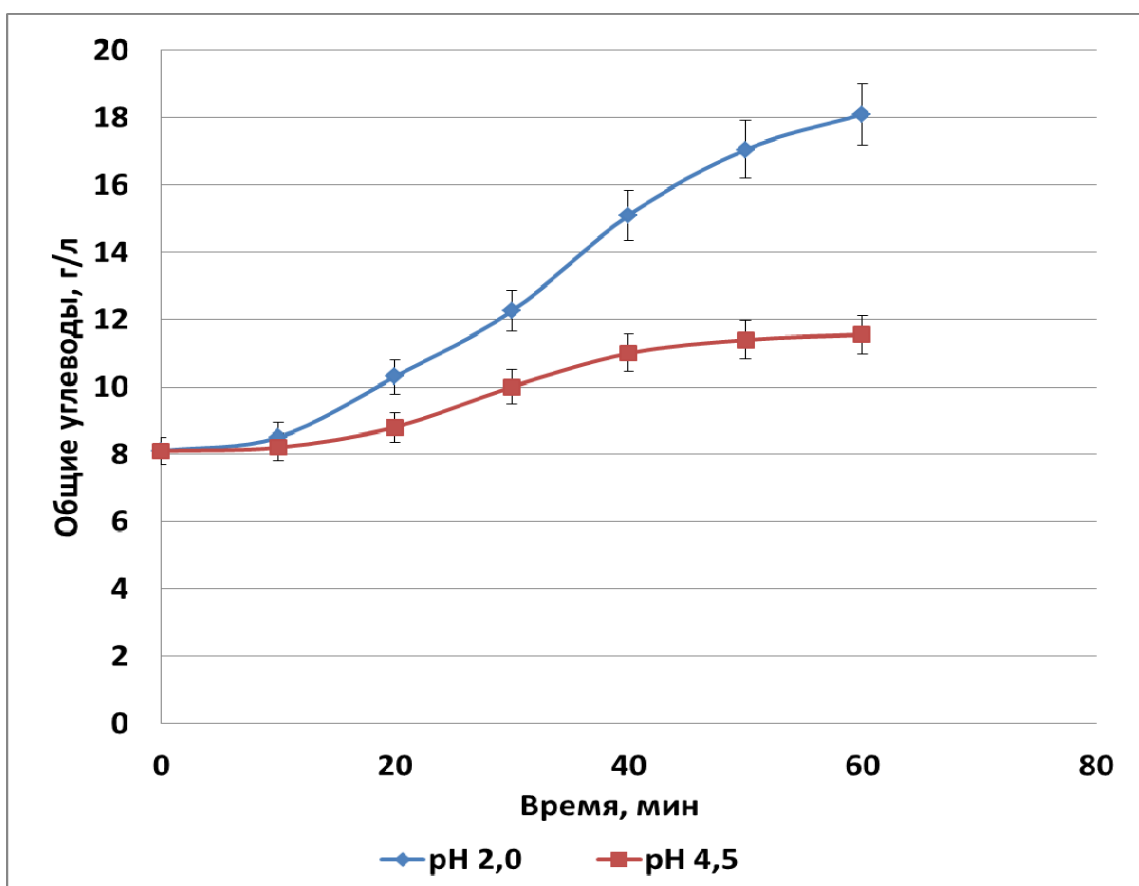


Рис.2. Кривые кислотного гидролиза цельной пивной дробины.

Как видно из рис. 2, цельная пивная дробина содержит довольно высокую начальную концентрацию углеводов (8,0 г/л). Высокая начальная

концентрация углеводов в среде объясняется высоким их содержанием в остаточном пивном сусле. В процессе гидролиза в течение 60 мин концентрация углеводов увеличивается до 18,1 г/л (в 2,3 раза по – сравнению с исходной концентрацией) в случае гидролиза при рН=2,0, и до 11,5 г/л (в 1,4 раза по – сравнению с исходной концентрацией) в случае гидролиза при рН=4,5. К 60 мин гидролиза скорость накопления углеводов в среде замедляется. Таким образом, мы можем сделать вывод, что оптимальное время гидролиза цельной пивной дробины – 60 мин.

Также мы проводили гидролиз цельной пивной дробины, разбавленной водой до концентрации 20 и 40 г/л при различных значениях рН: 2,0; 3,0; 4,5 и 5,6 в течение 1 ч. Зависимость концентрации углеводов в среде от рН гидролиза представлена на рис. 3.

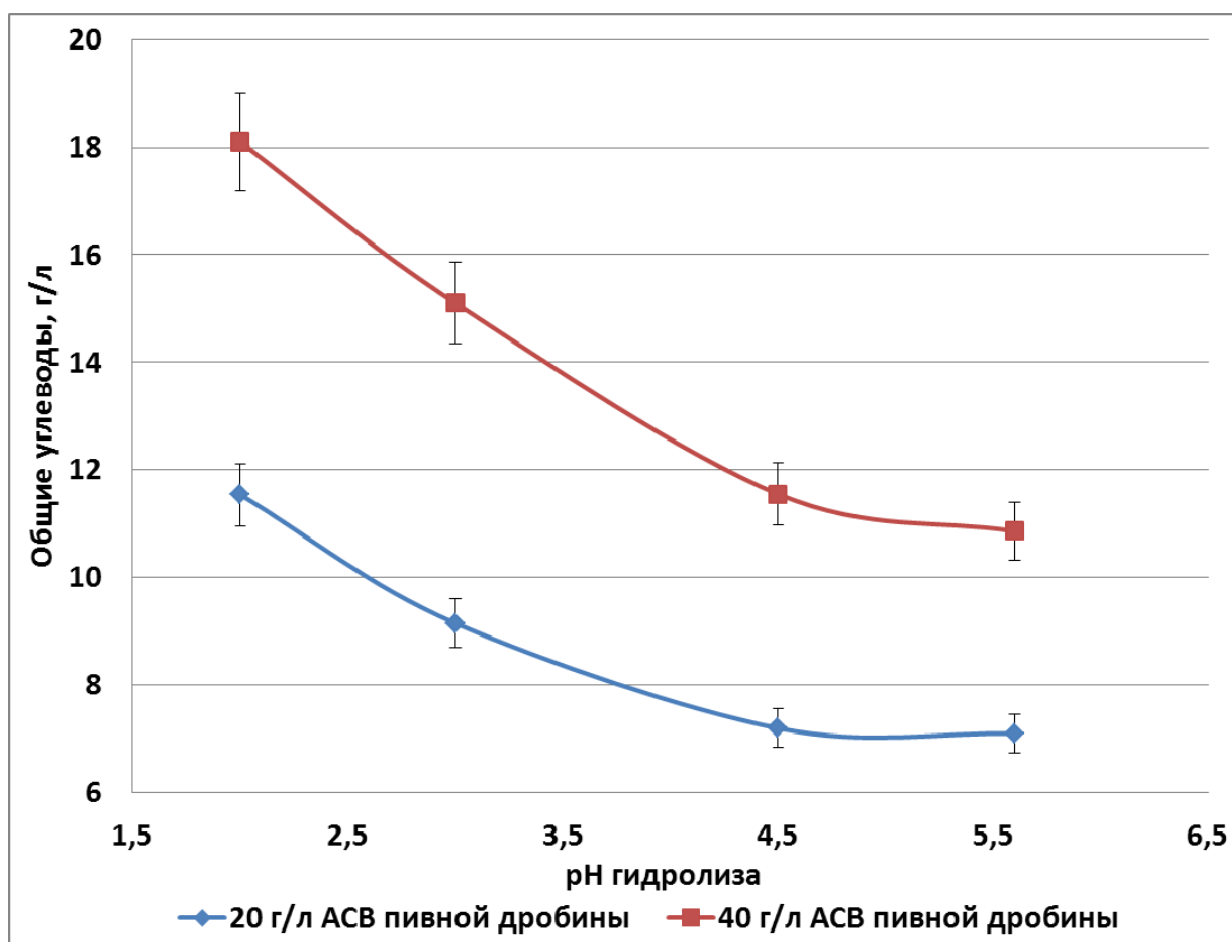


Рис. 3. Зависимость концентрации углеводов в гидролизатах цельной пивной дробины от рН гидролиза.

Как видно из рис.3, с уменьшением рН гидролиза цельной пивной дробины концентрация углеводов в среде увеличивается. Концентрация углеводов в среде при концентрации цельной пивной дробины 40 г/л примерно на 60% выше, чем при концентрации пивной дробины 20 г/л.

2. Кислотный гидролиз твёрдой фазы пивной дробины.

На следующем этапе нашей работы мы исследовали процесс кислотного гидролиза твёрдой фазы пивной дробины (пивной дробины, отмытой от остатков пивного сусла). Для этого пивную дробину 2 раза промывали в 10-кратном объёме дистиллированной воды в течение 30 мин. Отмывка пивной дробины от пивного сусла позволяет избавиться от влияния на рост микроорганизмов веществ, входящих в состав пивного сусла. Кислотный гидролиз отмытой от пивного сусла пивной дробины, разбавленной до концентрации 40 г/л в пересчёте на абсолютно сухое вещество (АСВ), проводили при рН: 4,5; 3,0; 2,0. Кривые гидролиза представлены на рис. 4.

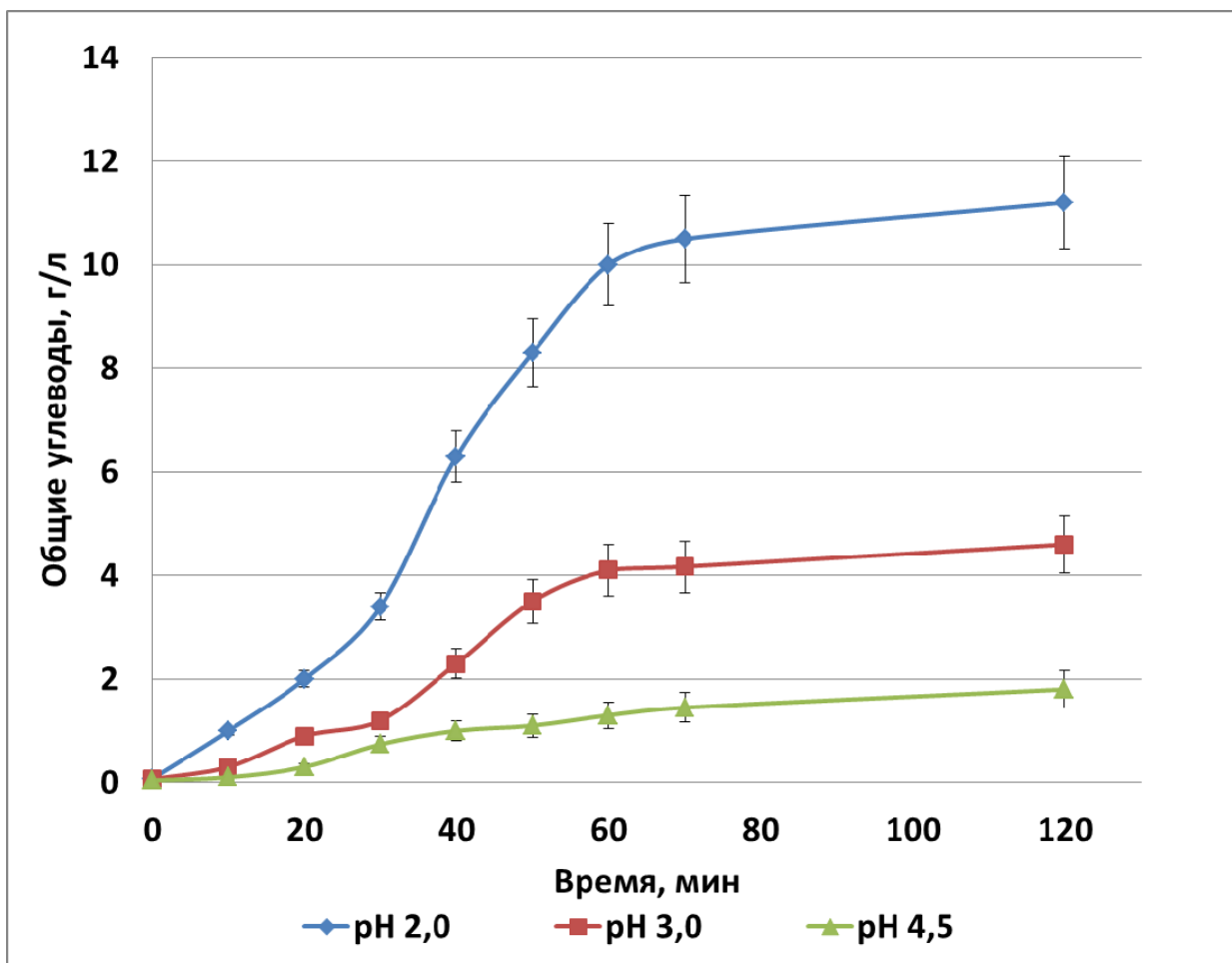


Рис. 4. Кривые кислотного гидролиза твёрдой фазы пивной дробины при различных значениях pH гидролиза

Как видно из рис. 4, наибольшая концентрация углеводов в среде наблюдается при проведении процесса гидролиза при pH=2,0 и достигает 11,2 г/л после 120 мин гидролиза. Гидролиз при pH=3,0 идёт медленнее, чем при pH=2,0, и к 120 мин гидролиза концентрация углеводов в среде составляет 4,6 г/л. При проведении гидролиза при pH=4,5 к 120 мин гидролиза в среде накапливается 1,8 г/л углеводов. При этом максимальная скорость накопления углеводов в среде наблюдается в течение первых 60 мин гидролиза, а после этого снижается. В отличие от цельной пивной дробины, начальная концентрация углеводов в среде для твёрдой фазы пивной дробины является невысокой и составляет 0,040 – 0,076 г/л.

Таким образом, были подобраны следующие оптимальные условия

кислотного гидролиза как цельной пивной дробины, так и твёрдой фазы пивной дробины: рН=2,0, давление в автоклаве 1,0 ати, время гидролиза – 60 мин.

3.1.2. Ферментативный гидролиз пивной дробины.

1. Ферментативный гидролиз цельной пивной дробины.

Ранее ферментативный гидролиз под действием целлюлолитического комплекса ферментов грибов *Trichoderma viride*, бактерий *Bacillus cereus* БП-46 и технических мультиэнзимных композиций, включающих целлюлолитические и протеолитические ферменты был изучен в отношении зерновой дробины в диссертации Касаткиной А.Н. [52]. В нашей работе мы исследовали процесс ферментативного гидролиза цельной пивной дробины. Для этого мы проводили ферментативный гидролиз пивной дробины, разбавленной до концентрации 40 г/л, с помощью ферментного препарата Целловиридин, который брали в количестве 1; 2; 4 % от концентрации пивной дробины, при 40°С и рН=6,5. Результаты эксперимента представлены в таблице 1.

Таблица 1.

Результаты ферментативного гидролиза цельной пивной дробины

Концентрация целловиридина, % от концентрации пивной дробины	Общие углеводы нач., г/л	Общие углеводы кон., г/л	Увеличение концентрации углеводов, г/л	Увеличение концентрации углеводов, % от начальной
1	7,1	8,8	1,7	24
2	7,1	10,5	3,4	48
4	7,1	12,2	5,1	72

Графики ферментативного гидролиза цельной пивной дробины представлены на рис. 5.

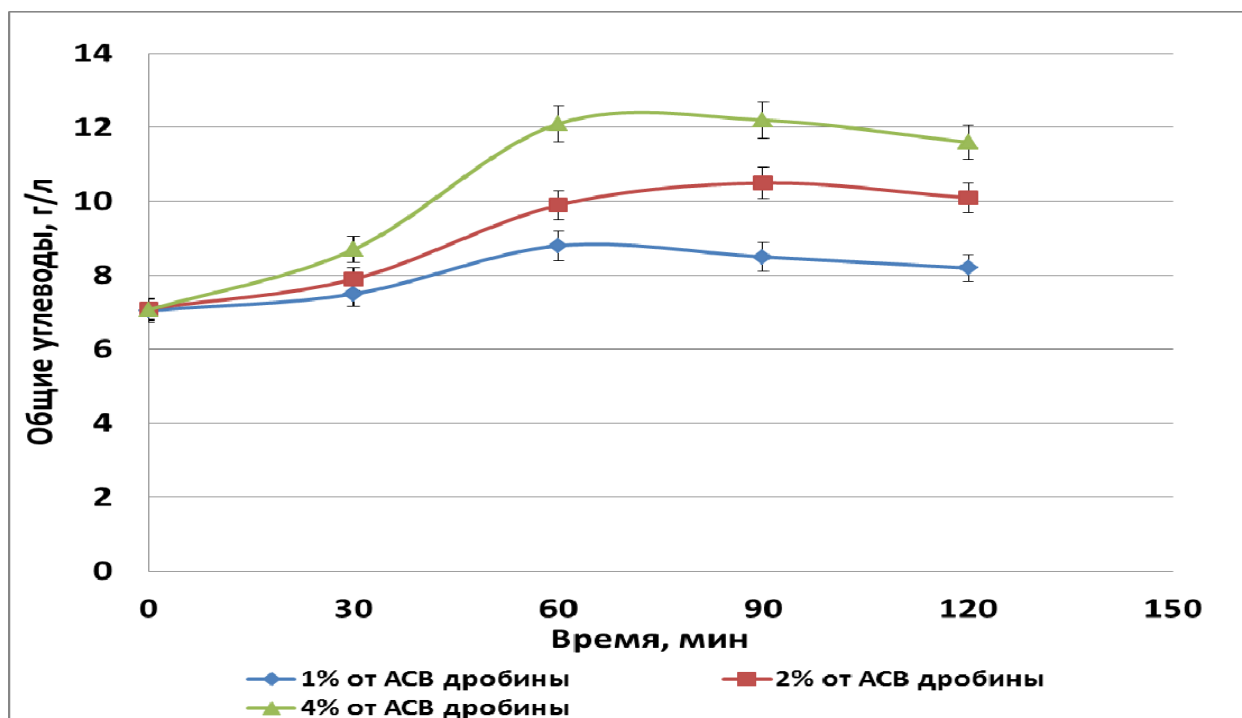


Рис. 5. Ферментативный гидролиз цельной пивной дробины с помощью Целловиридина.

Зависимость концентрации углеводов от концентрации Целловиридина представлена на рис. 6.

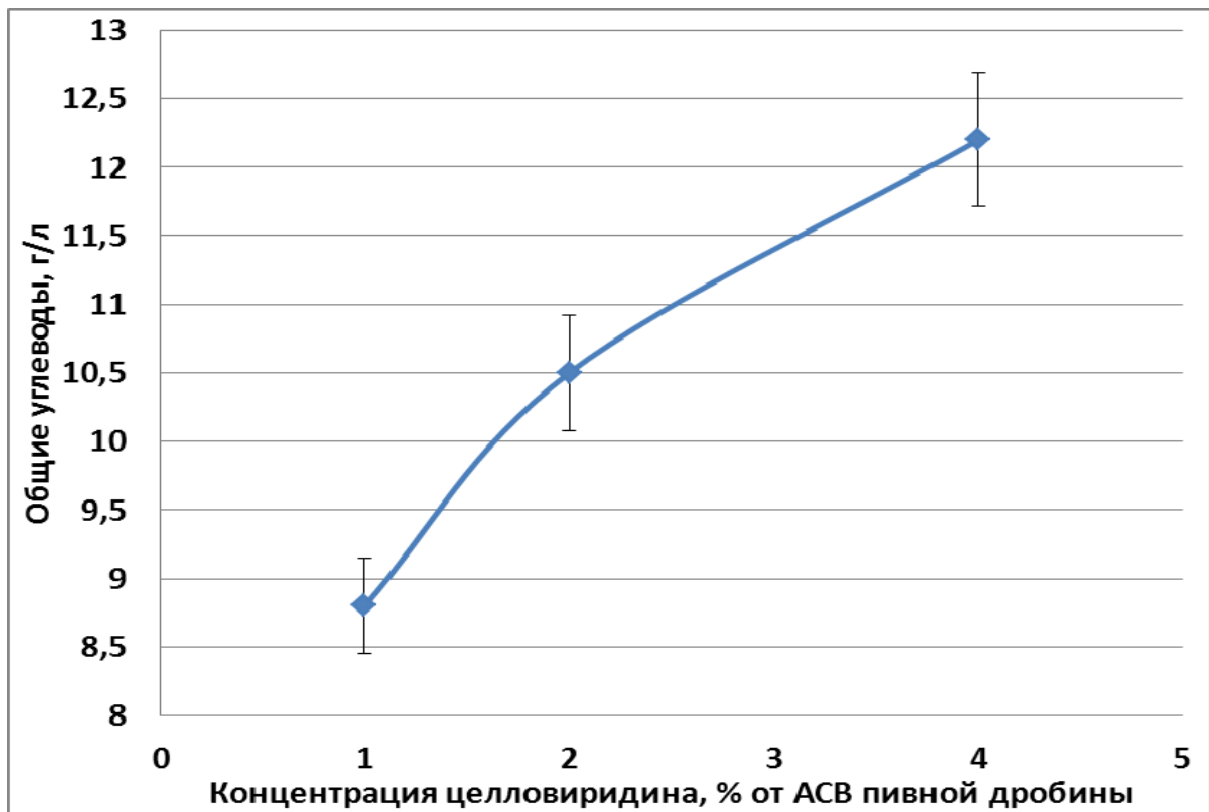


Рис. 6. Зависимость концентрации углеводов при ферментативном гидролизе цельной пивной дробины от концентрации Целовиридина

Как видно из рис. 5, гидролиз цельной пивной дробины в присутствии Целовиридина заканчивается к 60 – 70 мин гидролиза, а после этого приостанавливается и дальнейшего увеличения концентрации углеводов в среде не происходит. Так же, как и в случае кислотного гидролиза цельной пивной дробины, при ферментативном гидролизе цельной дробины высока начальная концентрация углеводов в среде (7,1 г/л). Замедление ферментативного гидролиза цельной пивной дробины, вероятно, связано с ингибированием Целовиридина избытком углеводов, присутствующих в ней. Как видно из рис. 5 и 6, с увеличением концентрации Целовиридина увеличивается концентрация углеводов и скорость гидролиза цельной пивной дробины. Так при концентрации Целовиридина 1% от концентрации цельной пивной дробины концентрация углеводов в среде после гидролиза составляет 8,8 г/л, при концентрации целовиридина 2% концентрация углеводов составляет 10,5 г/л, а при концентрации 4% - 12,2 г/л. В дальнейшей

работе для гидролиза пивной дробины мы использовали концентрацию Целловиридина 2% от концентрации пивной дробины, так как более высокая концентрация Целловиридина невыгодна экономически. Концентрация углеводов при ферментативном гидролизе цельной пивной дробины немного уступает концентрации углеводов при кислотном гидролизе и составляет 10,5 г/л (при концентрации Целловиридина 2% от концентрации цельной пивной дробины), в то время как при кислотном гидролизе концентрация углеводов составляет 18,1 г/л (при кислотном гидролизе при $pH=2,0$).

2. Ферментативный гидролиз твёрдой фазы пивной дробины.

На следующем этапе нашей работе мы исследовали ферментативный гидролиз твёрдой фазы пивной дробины для получения низкомолекулярных сахаров. Оптимальные условия для проведения ферментативного гидролиза (температуру, pH среды, концентрацию Целловиридина), а также время проведения процесса определяли, варьируя значения данных параметров.

Кривые накопления растворимых углеводов в среде при концентрации твёрдой фазы пивной дробины 40 г/л (в пересчёте на АСВ), различных pH среды, температуре и концентрациях Целловиридина представлены на рис. 7 – 11.

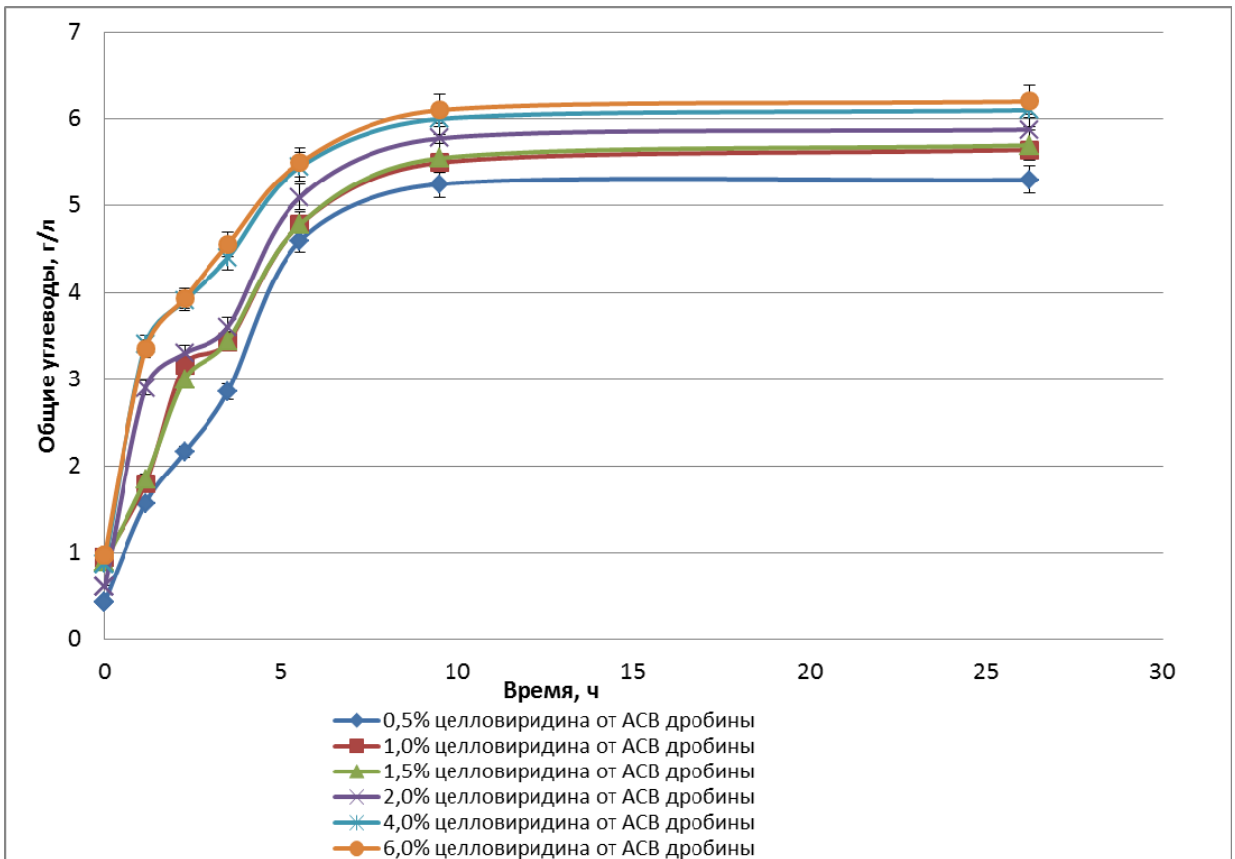
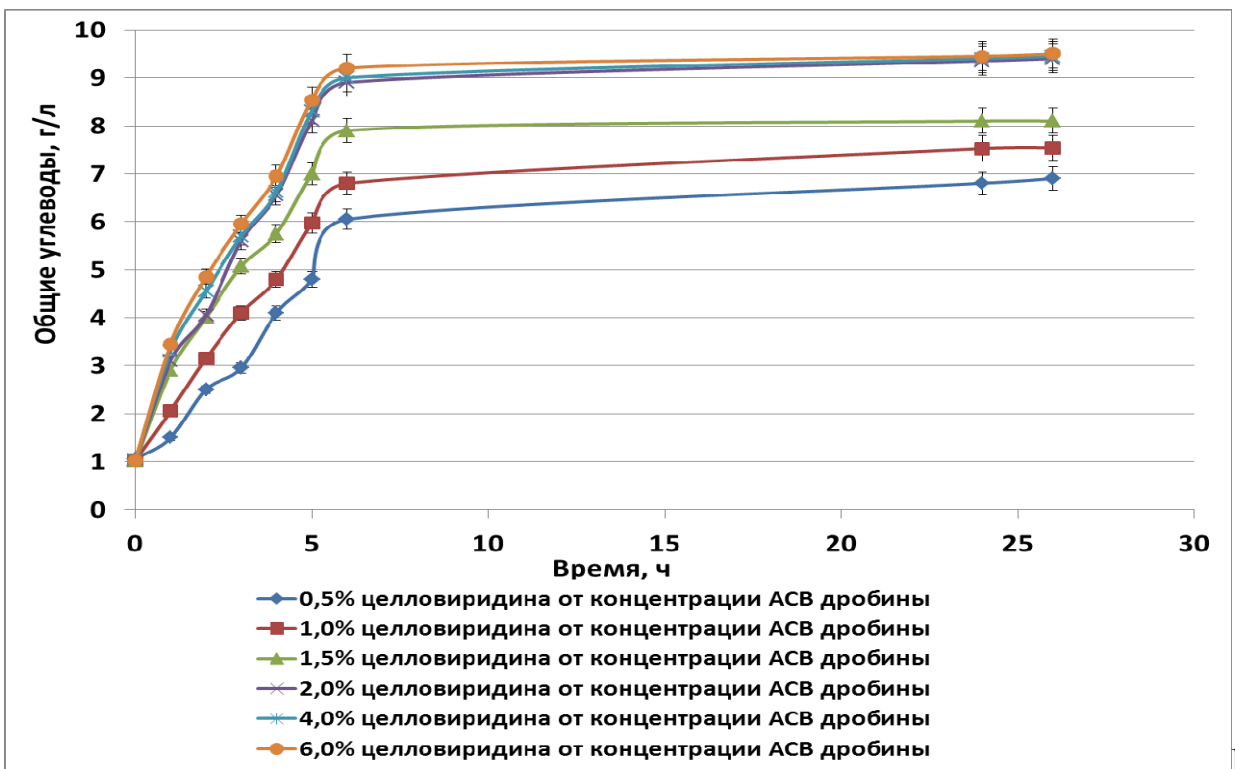


Рис.7. Ферментативный гидролиз твёрдой фазы пивной дробины при рН=4,5, температуре 50°С и различной концентрации Целловиридина.



ис.8. Ферментативный гидролиз твёрдой фазы пивной дробины при рН=5,5, температуре 50°С и различной концентрации Целловиридина.

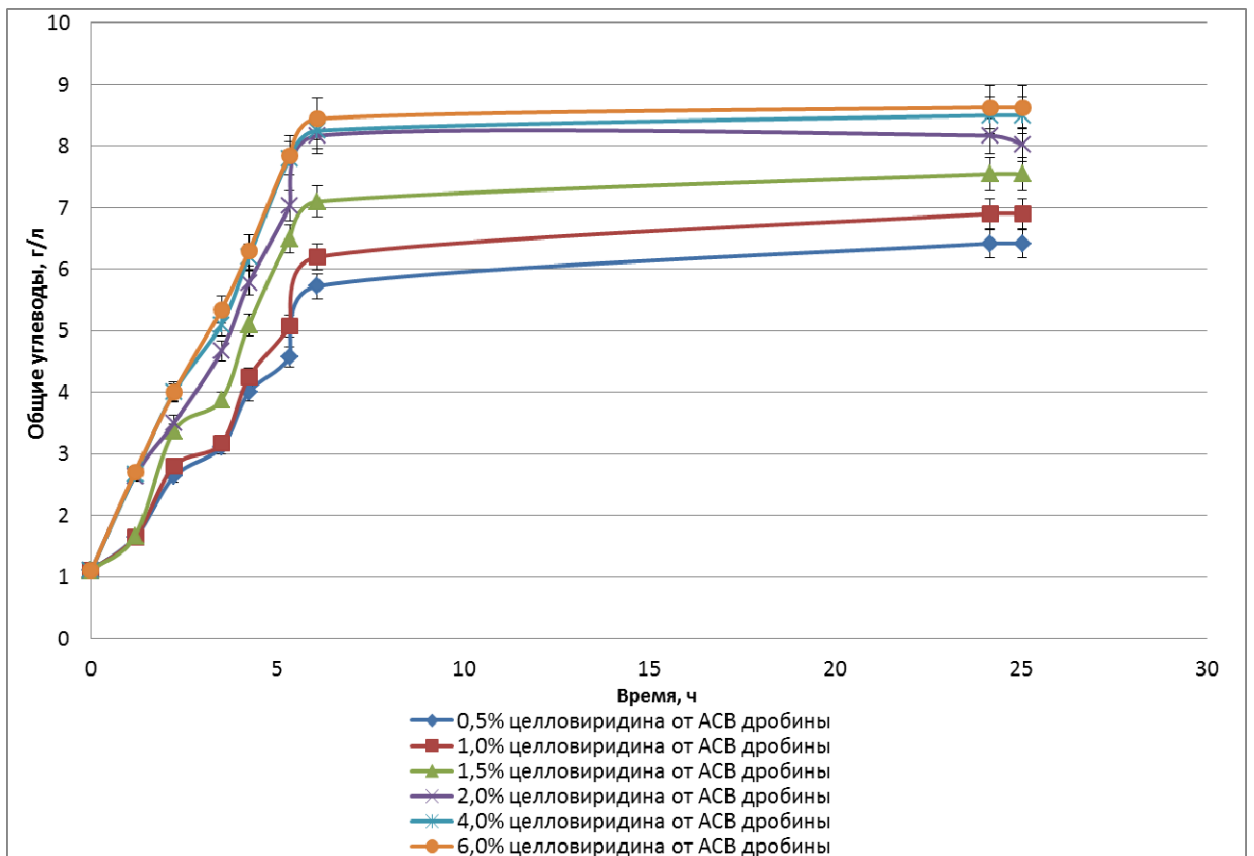


Рис.9. Ферментативный гидролиз твёрдой фазы пивной дробины при рН=6,5, температуре 50°C и различной концентрации Целловиридина.

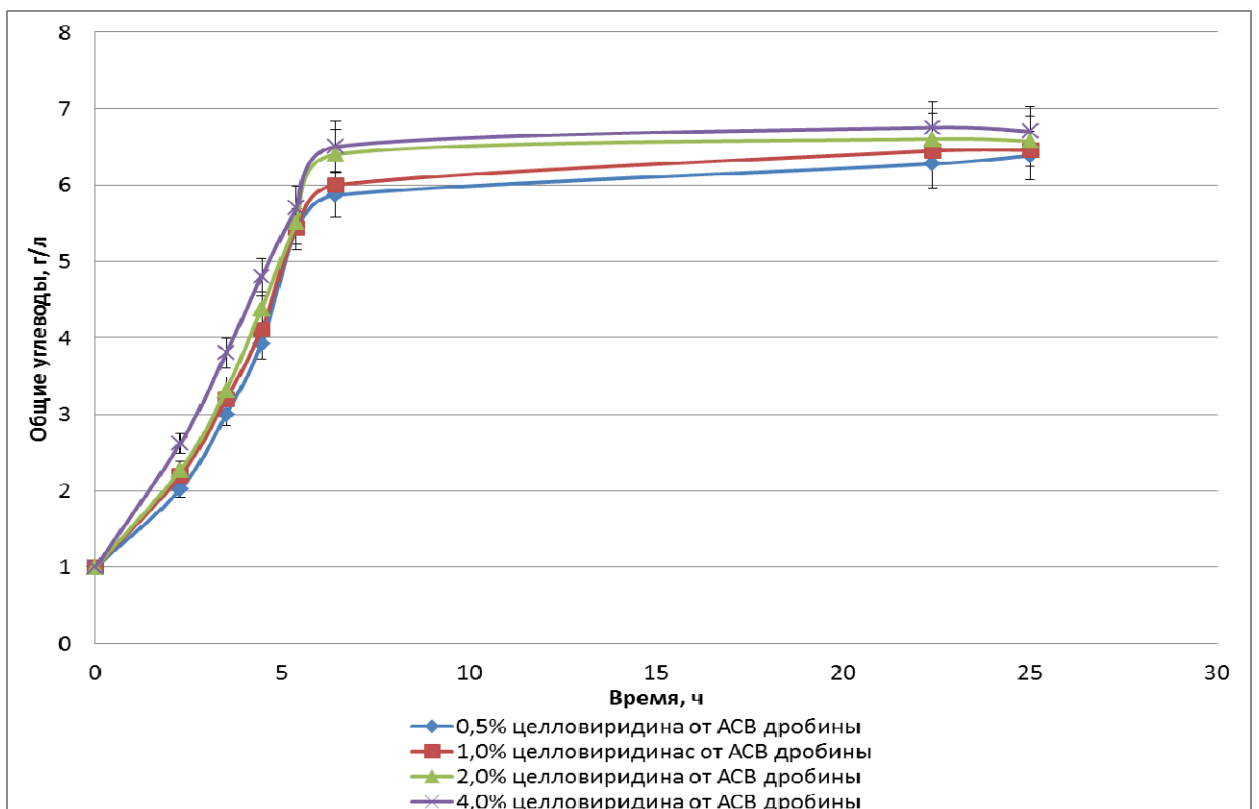


Рис.10. Ферментативный гидролиз твёрдой фазы пивной дробины при рН=5,5, температуре 40°C и различной концентрации Целловиридина.

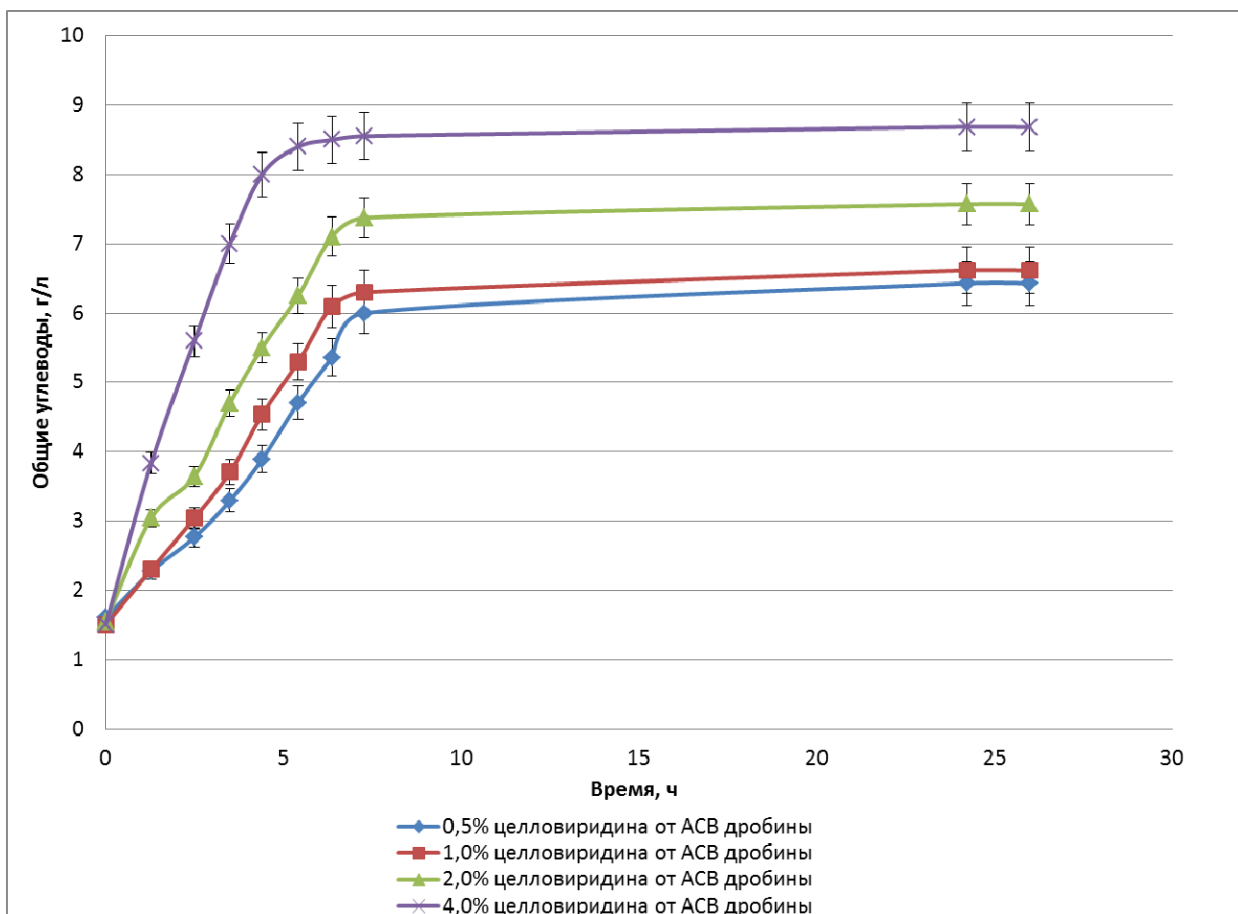


Рис. 11. Ферментативный гидролиз твёрдой фазы пивной дробины при $\text{pH}=5,5$, температуре 60°C и различной концентрации Целловиридина.

Как видно из рис. 7 - 11, процесс накопления в среде углеводов в основном заканчивается за 6 ч, а после этого резко замедляется, и дальнейшего увеличения содержания в среде углеводов почти не происходит. На основании данного эксперимента мы можем сделать вывод, что оптимальная продолжительность процесса ферментативного гидролиза твёрдой фазы пивной дробины – 6 ч.

Зависимость концентрации углеводов от концентрации Целловиридина после ферментативного гидролиза твёрдой фазы пивной дробины при различных значениях pH гидролиза приведена на рис.12.

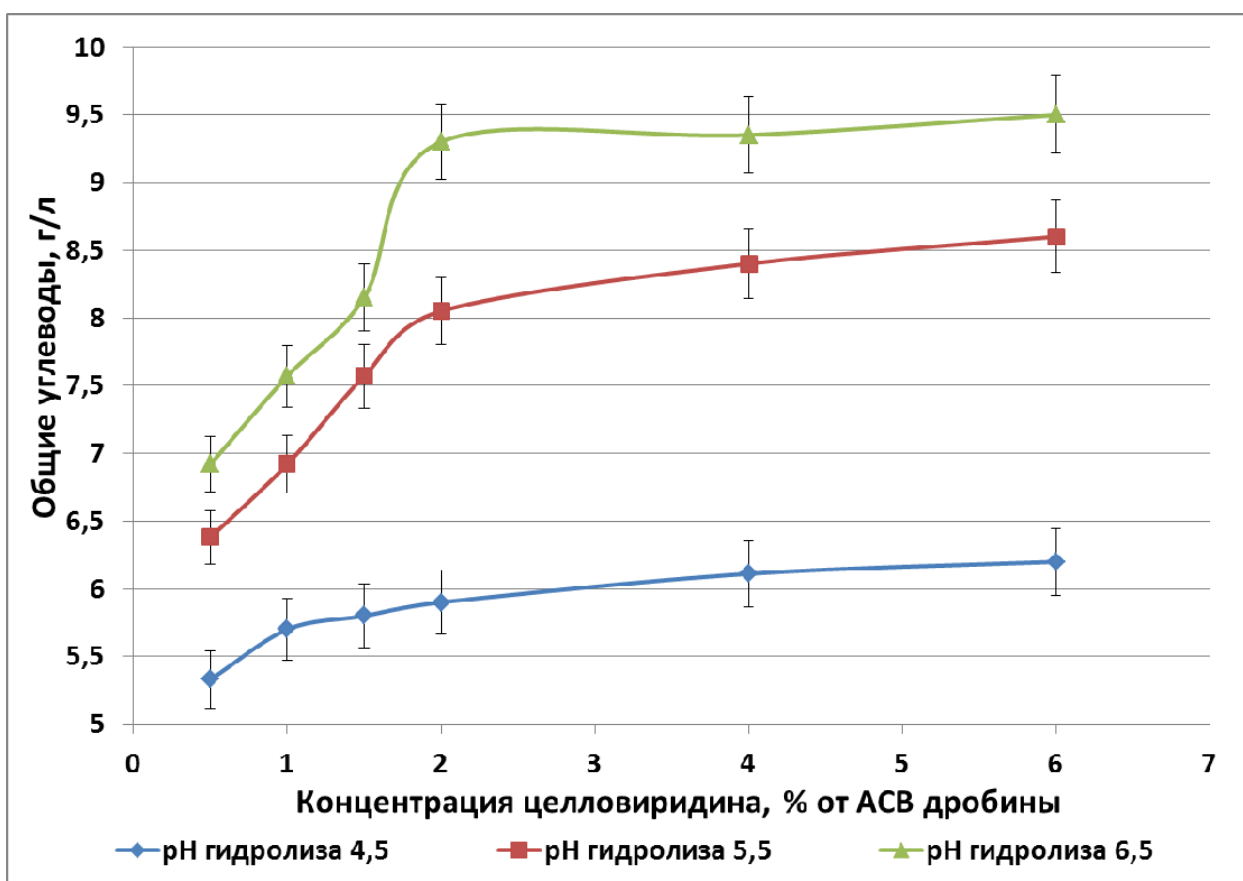


Рис.12. Зависимость накопления в среде общих углеводов от концентрации Целловиридина при ферментном гидролизе твёрдой фазы пивной дробины.

Как видно из рис.12, при увеличении концентрации Целловиридина с 0,5 до 2,0 % от концентрации АСВ твёрдой фазы пивной дробины концентрация углеводов в среде быстро увеличивается при всех значениях рН. Дальнейшее увеличение концентрации Целловиридина приводит к крайне незначительному увеличению концентрации углеводов в среде. На основании данного эксперимента считаем оптимальной концентрацию Целловиридина для проведения ферментативного гидролиза 2,0% от концентрации АСВ дробины.

Зависимости концентрации углеводов при ферментативном гидролизе твёрдой фазы пивной дробины от рН среды при различной концентрации Целловиридина представлены на рис.13.

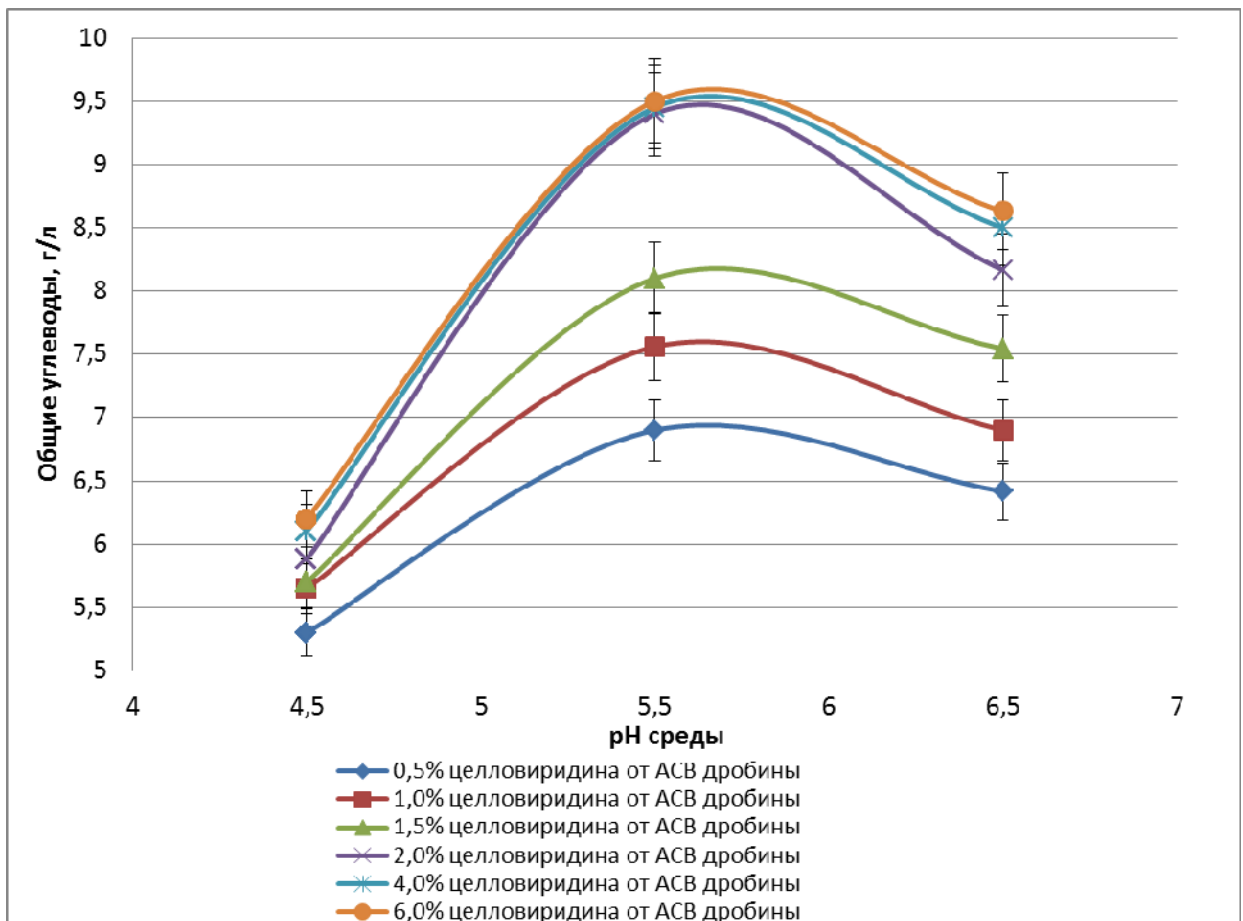


Рис.13. Зависимость накопления в среде углеводов при ферментном гидролизе твёрдой фазы пивной дробины в присутствии Целовиридина от рН среды.

Как видно из рис. 13, максимальная концентрация углеводов после гидролиза наблюдается при проведении процесса в среде с рН=5,5, которая является оптимальной.

Зависимости концентрации углеводов при ферментативном гидролизе твёрдой фазы пивной дробины от температуры при различной концентрации Целовиридина представлены на рис.14.

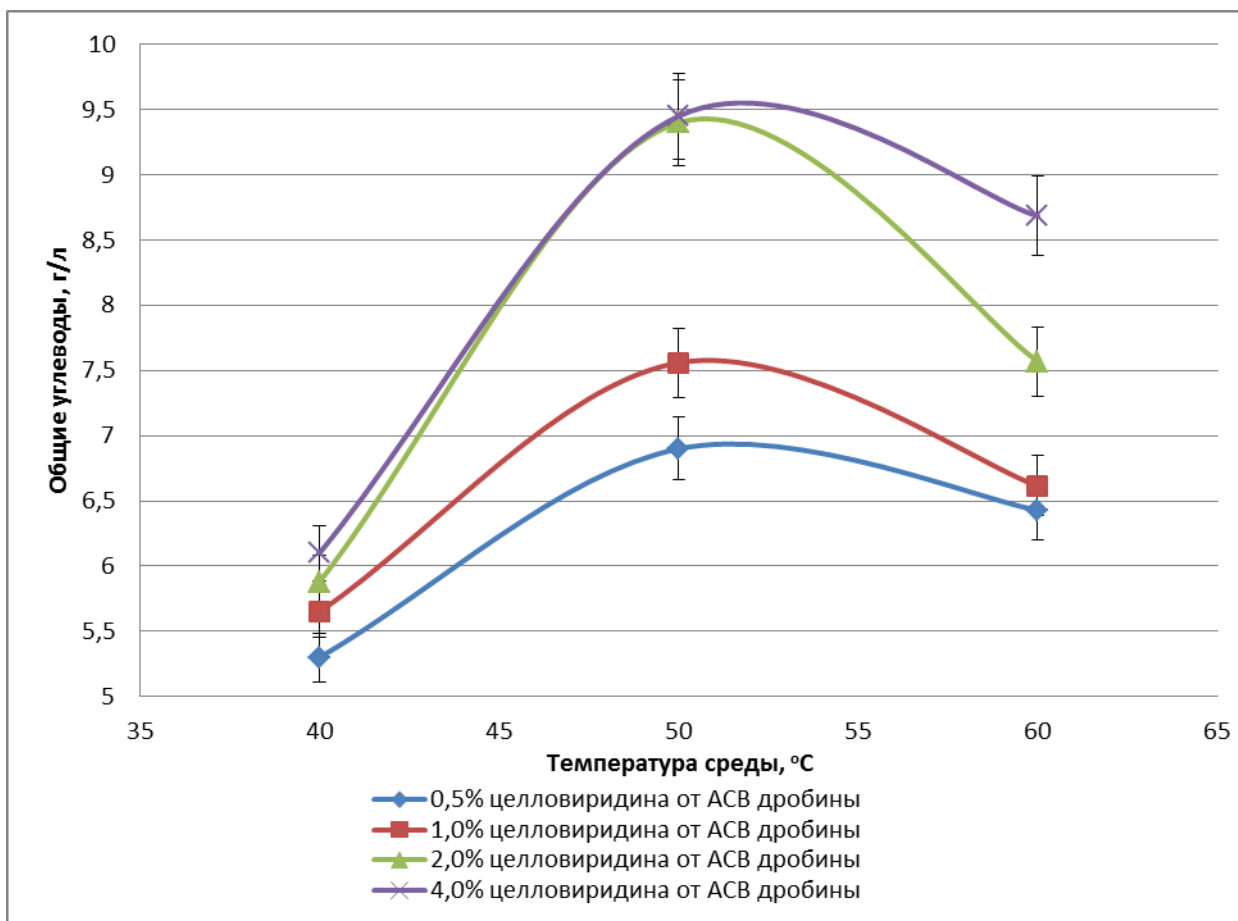


Рис.14. Зависимость накопления общих углеводов в среде при ферментативном гидролизе твёрдой фазы пивной дробины от температуры.

Как видно из рис.14, максимальная концентрация углеводов наблюдается при температуре проведения процесса 50° С. Данная температура является оптимальной для проведения процесса ферментативного гидролиза.

Таким образом, нами были подобраны следующие оптимальные условия ферментативного гидролиза пивной дробины с целью получения максимального выхода низкомолекулярных углеводов: концентрация Целлювиридина 2,0 % от концентрации АСВ дробины; рН=5,5; температура 50° С; продолжительность процесса – 6 ч. При данных условиях концентрация углеводов в среде после гидролиза твёрдой фазы пивной дробины составляет 9,3 г/л, что очень близко к концентрации углеводов после кислотного гидролиза твёрдой фазы пивной дробины (10,0 г/л при рН гидролиза 2,0 и времени гидролиза 70 мин).

3.1.3. Смешанный гидролиз пивной дробины.

В процессе проведения кислотного гидролиза в первую очередь гидролизу подвергаются такие легкогидролизуемые полисахариды, как гемицеллюлозы, фруктозаны и крахмал. В то же время целлюлоза подвергается гидролизу в меньшей степени. Поэтому накопление растворимых углеводов в среде при проведении кислотного гидролиза связано в первую очередь с гидролизом гемицеллюлоз, фруктозанов и крахмала. При проведении ферментативного гидролиза, в противоположность кислотному гидролизу, в первую очередь подвергается гидролизу трудно гидролизуемая при кислотном гидролизе целлюлоза, а легко гидролизуемые кислотой гемицеллюлозы, фруктозаны и крахмал из-за специфичности фермента гидролизу почти не подвергаются. Поэтому для того, чтобы объединить достоинства кислотного и ферментативного способов гидролиза и добиться максимального выхода растворимых углеводов, на следующем этапе нашей работы мы исследовали возможность подвергать дробину последовательно двум видам гидролиза. Для этого после ферментативного гидролиза (концентрацией Целловиридина 2,0% от концентрации пивной дробины; рН=5,5%; продолжительность гидролиза 6 ч), мы подвергали полученный гидролизат кислотному гидролизу при рН=2,0, 1,0 ати и продолжительности гидролиза – 1 ч. Содержание углеводов в полученном гидролизате составляло 13,6 г/л, что примерно в 1,5 раза больше, чем в средах, полученных с помощью только кислотного или ферментативного гидролиза.

Сводная таблица по результатам различных способов гидролиза представлена ниже (Табл. 2)

Результаты гидролиза пивной дробины различными способами

Фракция пивной дробины	Способ гидролиза	Концентрация общих углеводов, $C_{ув}$, г/л
Цельная пивная дробина	Кислотный	18,1
	Ферментативный	10,5
Твёрдая фаза пивной дробины	Кислотный	10,0
	Ферментативный	9,3
	Смешанный	13,6

3.2. Культивирование микроорганизмов в средах на основе гидролизатов пивной дробины в периодическом режиме.

3.2.1. Культивирование дрожжей в средах на основе кислотных гидролизатов пивной дробины.

1. Культивирование дрожжей *Candida scotti*.

а) Культивирование дрожжей *Candida scotti* в средах на основе кислотных гидролизатов цельной пивной дробины.

Сначала мы исследовали влияние рН гидролиза цельной пивной дробины на параметры культивирования дрожжей *Candida scotti*. При этом гидролиз цельной пивной дробины, разбавленной водой до концентрации 20 и 40 г/л, проводили при различных значениях рН: 2,0; 3,0; 4,5 и 5,6. Результаты культивирования дрожжей представлены в таблице 3. Кривые роста дрожжей и кривые потребления углеводов представлены на рис. 15 – 22.

Таблица 3.

Результаты культивирования дрожжей *Candida scotti* при различных рН гидролиза и концентрации цельной пивной дробины.

рН гидролиза	Концентрация дробины, г/л	С _{БМ} , г/л	μ , ч ⁻¹	Общие углеводы нач., г/л	Общие углеводы кон., г/л	[PO ₄] ³⁻ нач. мг/л	[PO ₄] ³⁻ кон. мг/л	Содержание сырого протеина в готовом продукте, %
2,0	20	1,1	0,20	7,5	5,5	41,5	25,7	22,8
	40	3,0	0,25	12,2	7,1	55,1	49,0	21,8
3,0	20	1,5	0,22	6,2	3,5	63,2	46,2	23,8
	40	4,2	0,11	12,0	4,3	61,5	51,1	22,0
4,5	20	2,2	0,17	4,6	0,79	47,0	26,7	25,0
	40	6,1	0,24	11,8	1,3	63,6	47,3	26,2
5,6	20	1,6	0,28	3,7	0,80	31,4	12,7	24,3
	40	3,7	0,23	8,1	1,5	70,3	26,4	24,6

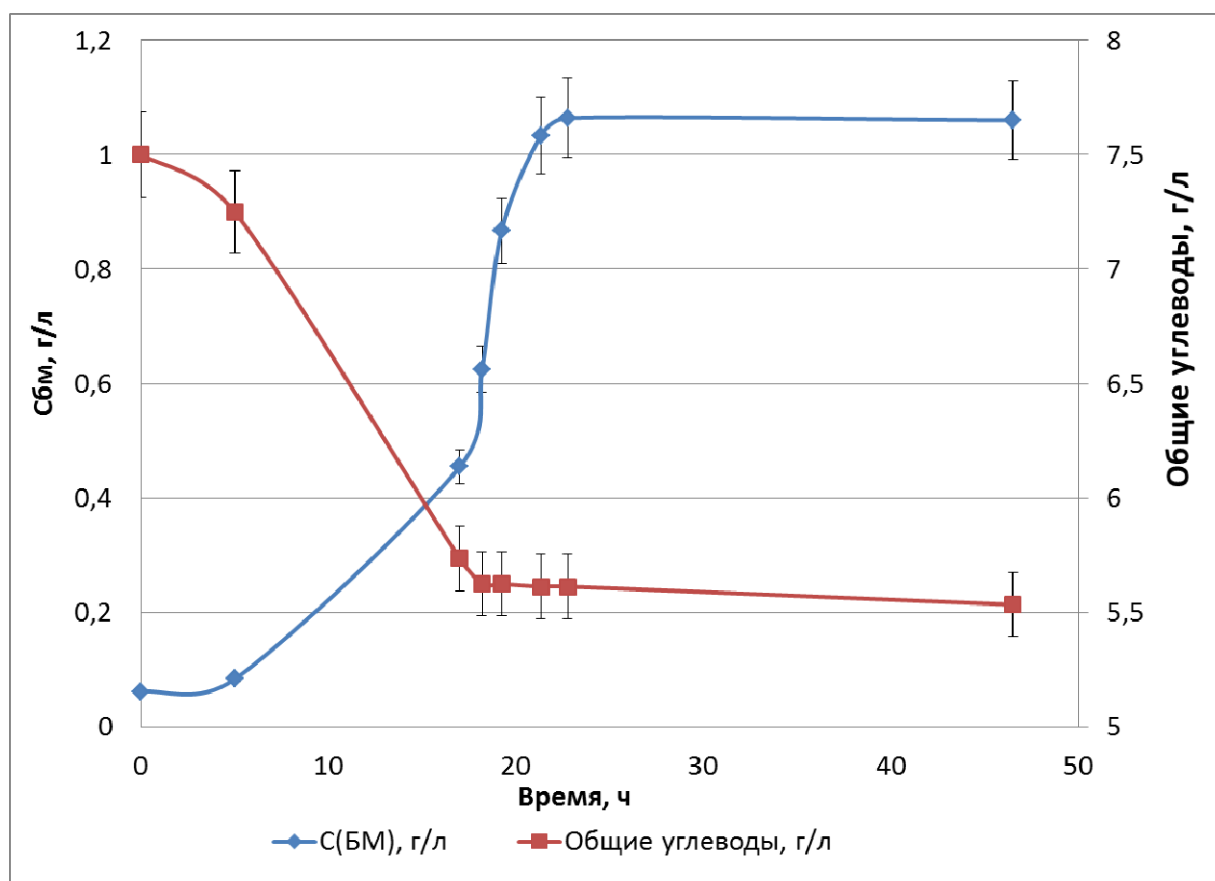


Рис. 15. Кривые роста и потребления углеводов дрожжами *Candida scotti*. Концентрация цельной пивной дробины 20 г/л, рН гидролиза 2,0.

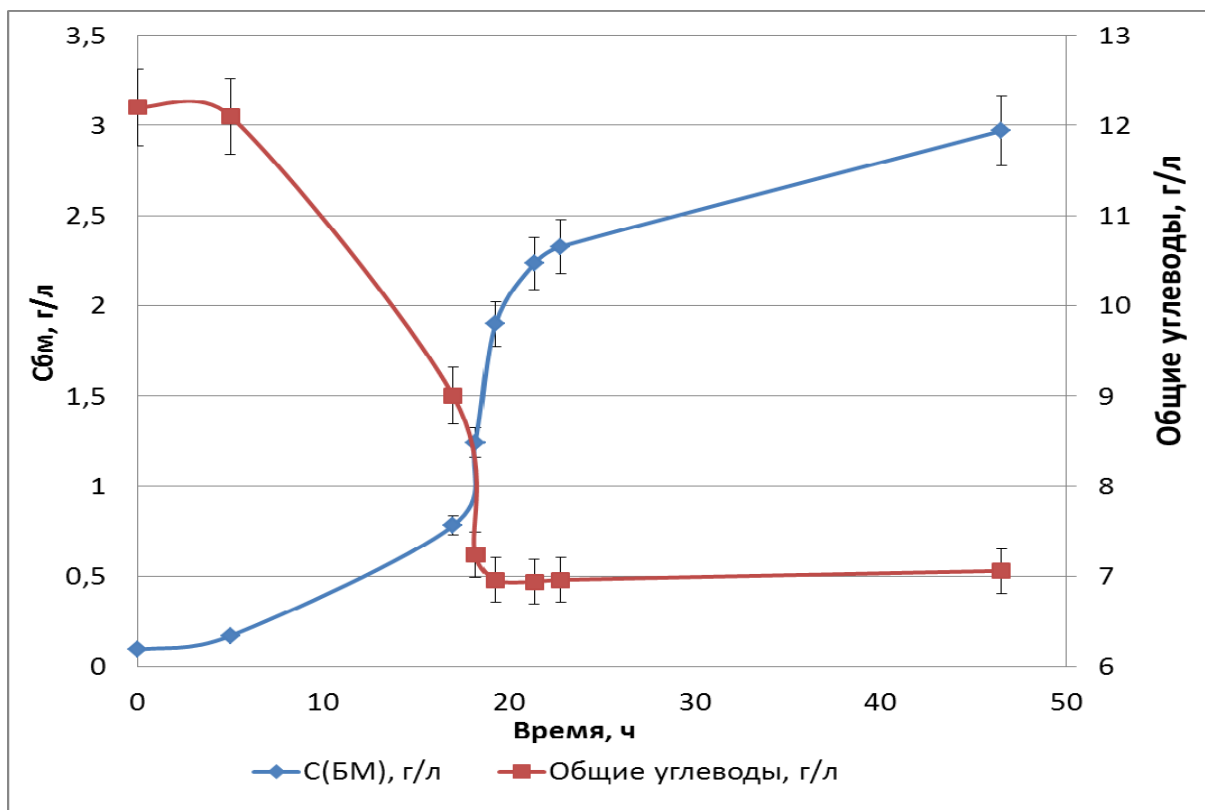


Рис. 16. Кривые роста и потребления углеводов дрожжами *Candida scotti*.
Концентрация цельной пивной дробины 40 г/л, рН гидролиза 2,0

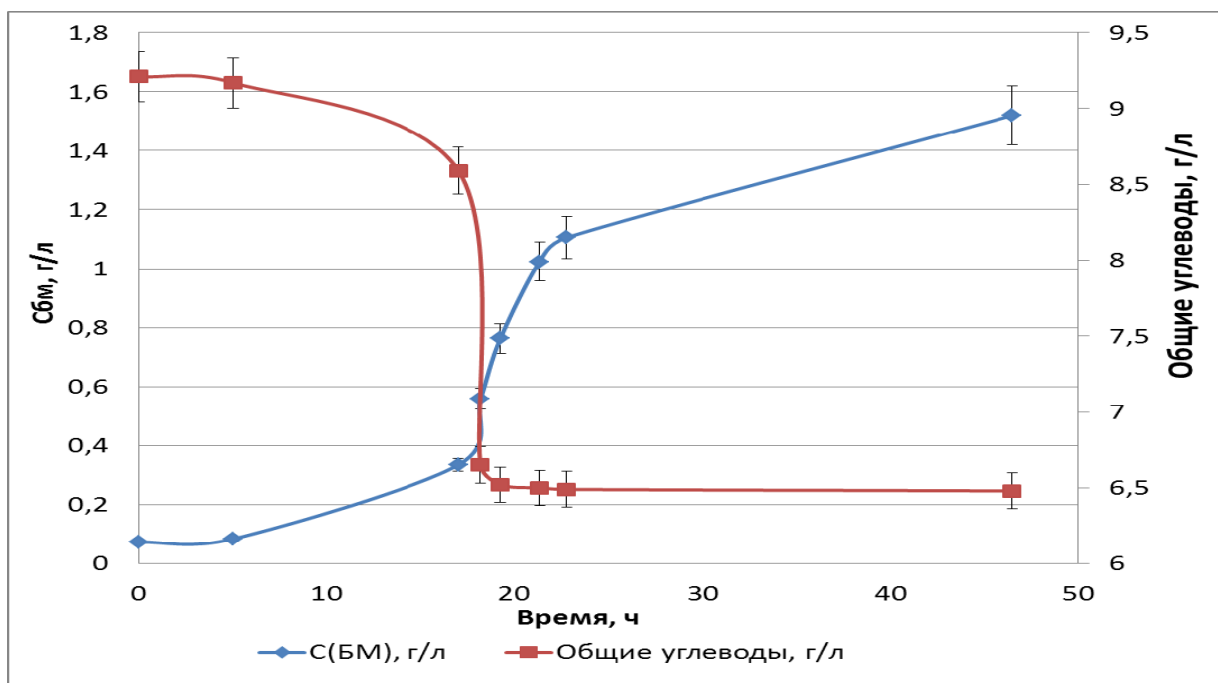


Рис. 17. Кривые роста и потребления углеводов дрожжами *Candida scotti*.
Концентрация цельной пивной дробины 20 г/л, рН гидролиза 3,0.

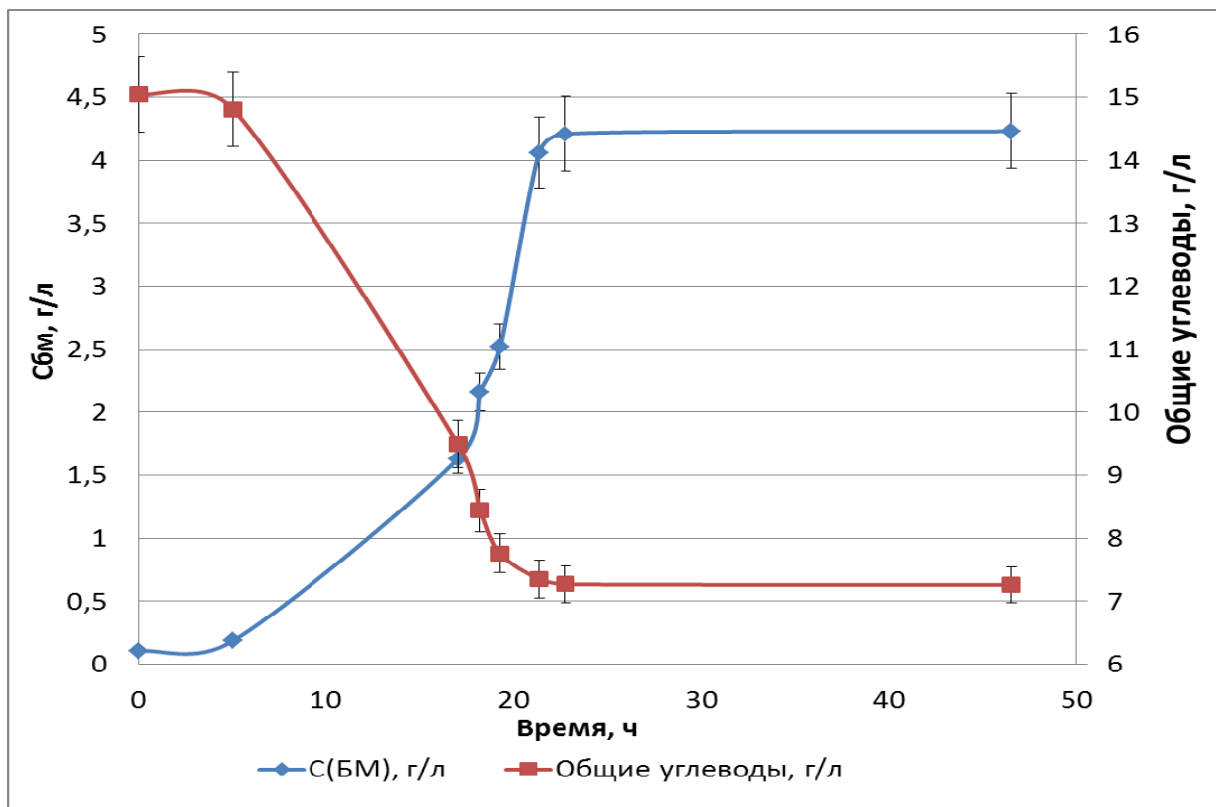


Рис. 18. Кривые роста и потребления углеводов дрожжами *Candida scotti*. Концентрация цельной пивной дробины 40 г/л, рН гидролиза 3,0.

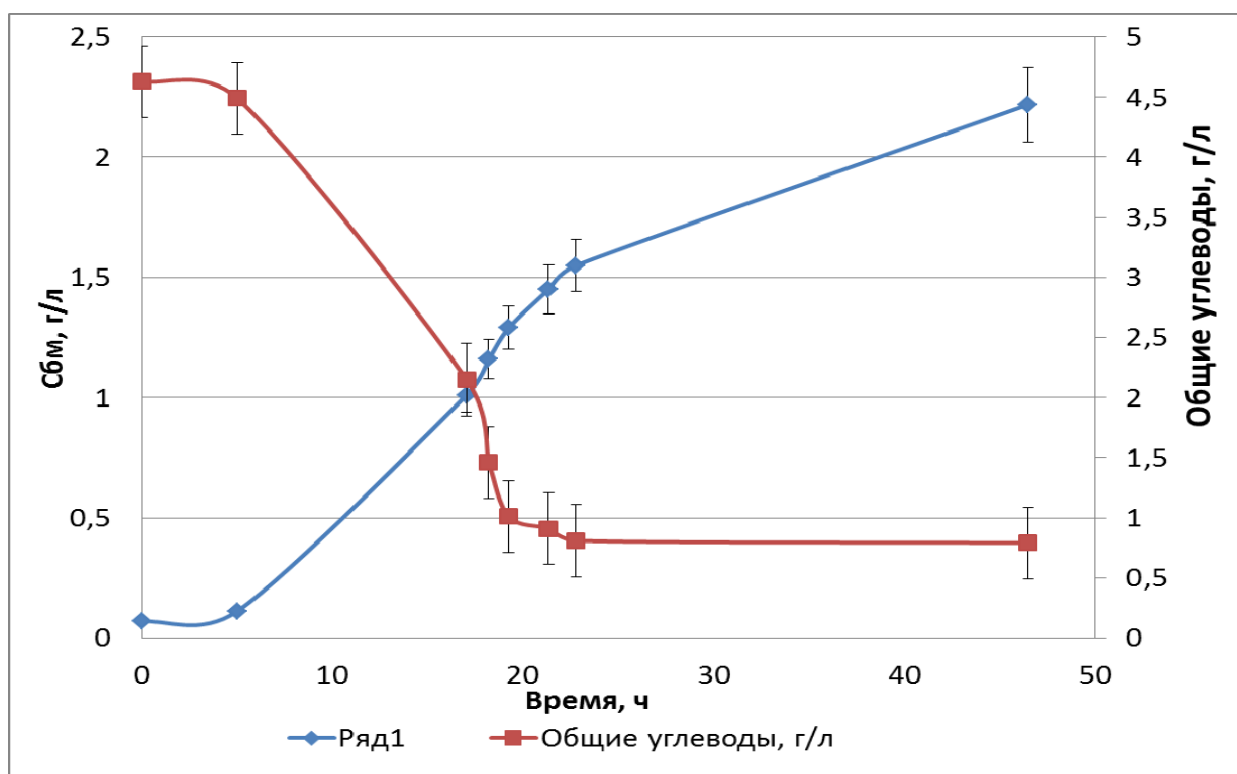


Рис. 19. Кривые роста и потребления углеводов дрожжами *Candida scotti*. Концентрация цельной пивной дробины 20 г/л, рН гидролиза 4,5

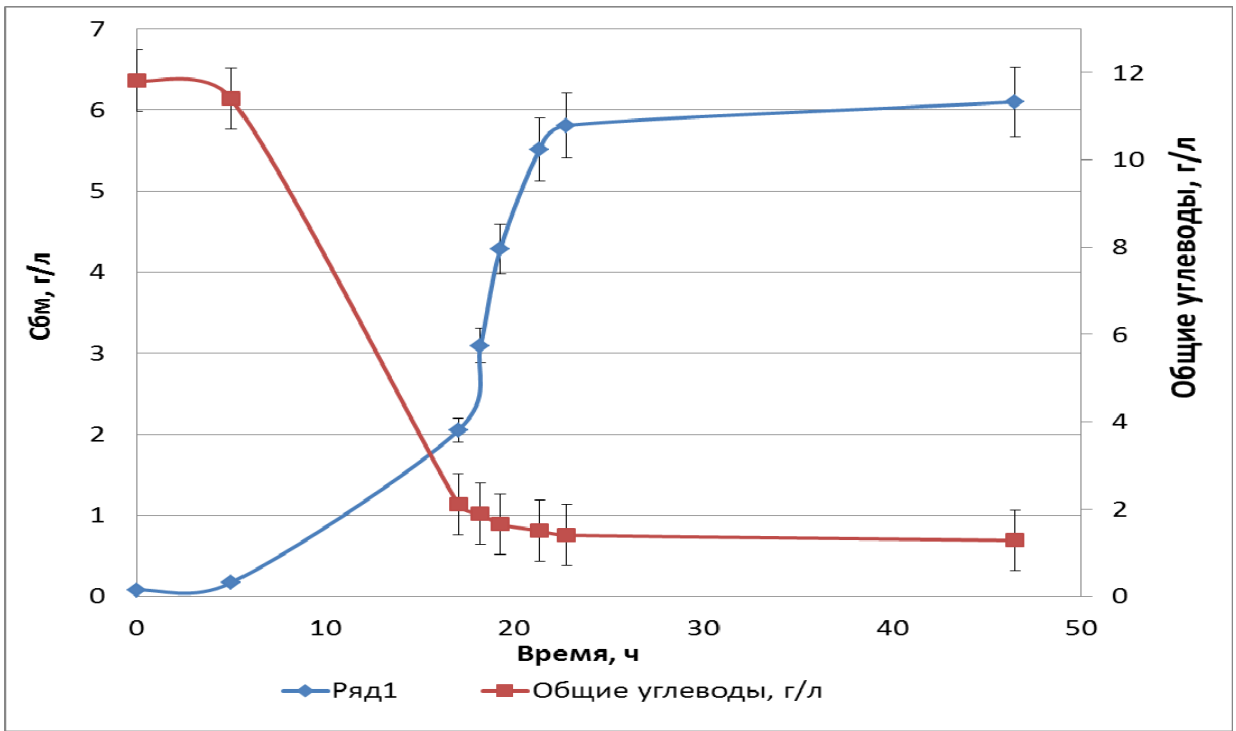


Рис. 20. Кривые роста и потребления углеводов дрожжами *Candida scotti*. Концентрация цельной пивной дробины 40 г/л, рН гидролиза 4,5.

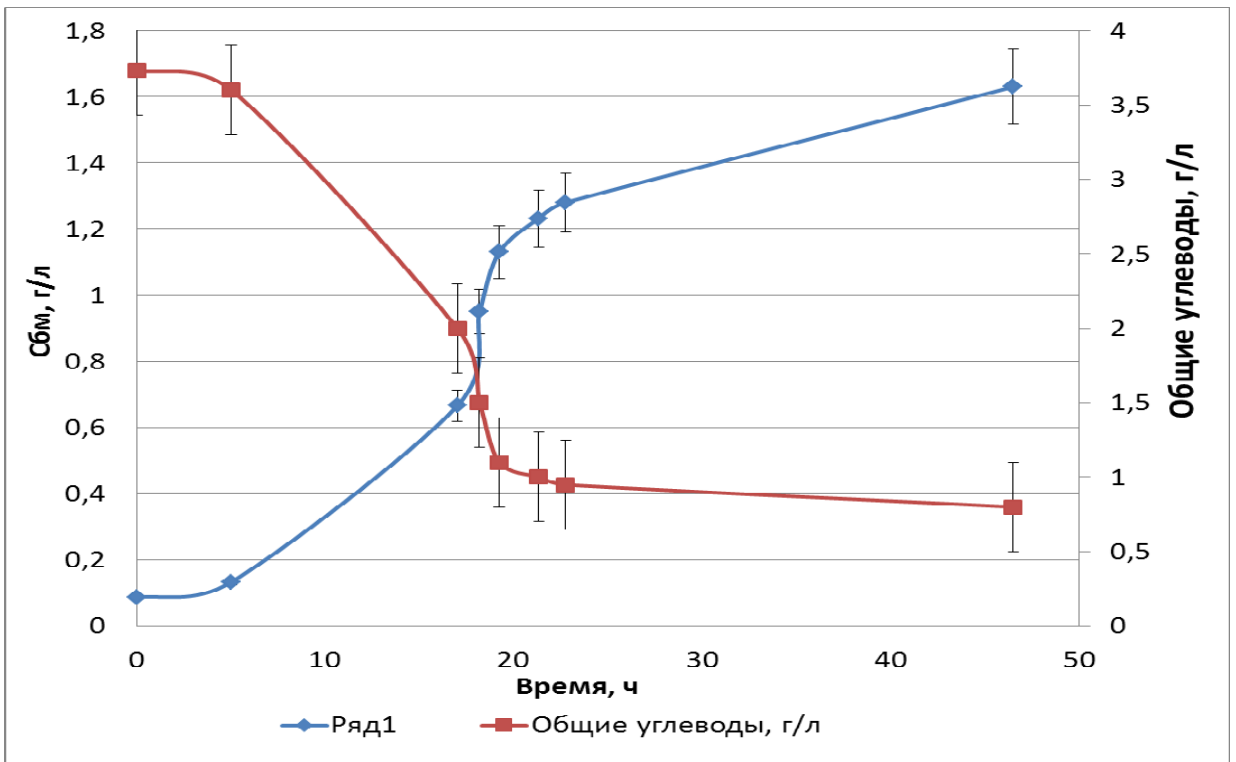


Рис. 21. Кривые роста и потребления углеводов дрожжами *Candida scotti*. Концентрация цельной пивной дробины 20 г/л, рН гидролиза 5,6.

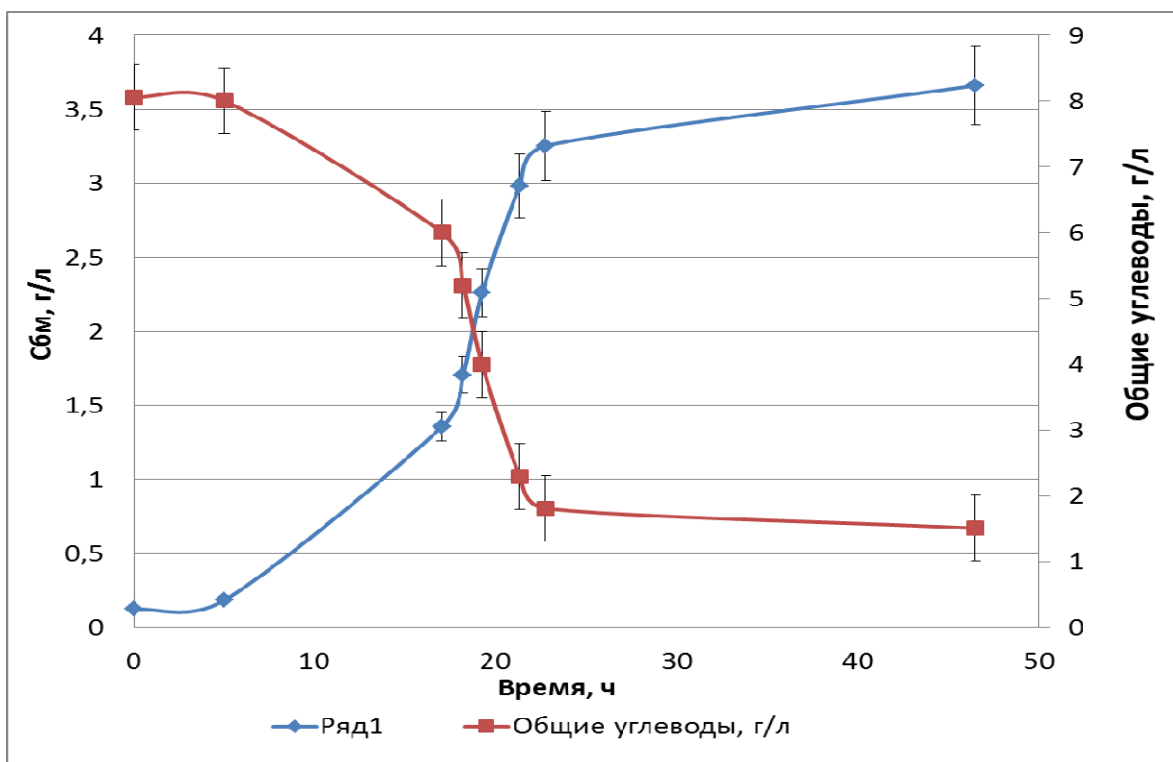


Рис. 22. Кривые роста и потребления углеводов дрожжами *Candida scotti*.
Концентрация цельной пивной дробины 40 г/л, рН гидролиза 5,6.

Кривые роста дрожжей при различных концентрациях и рН гидролиза цельной пивной дробины представлены на рис. 23.

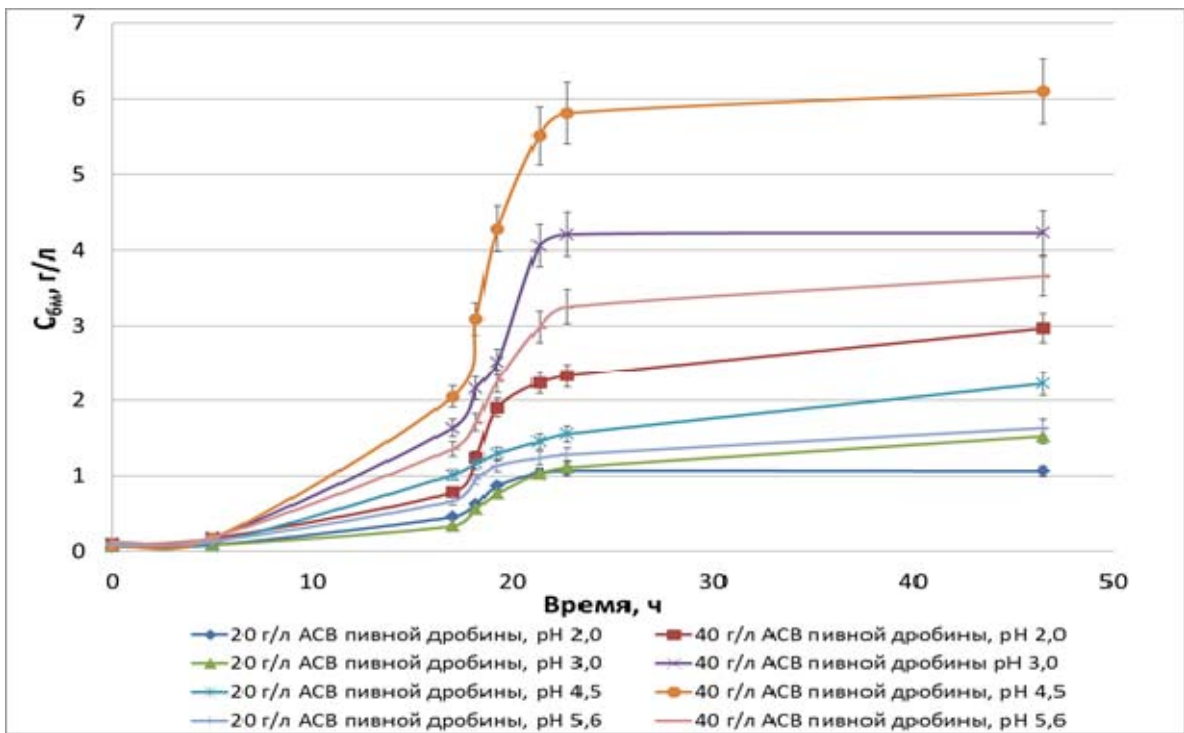


Рис. 23. Кривые роста дрожжей *Candida scotti* при различных рН гидролиза цельной пивной дробины.

Зависимость прироста клеток дрожжей от рН гидролиза цельной пивной дробины представлена на рис. 24.

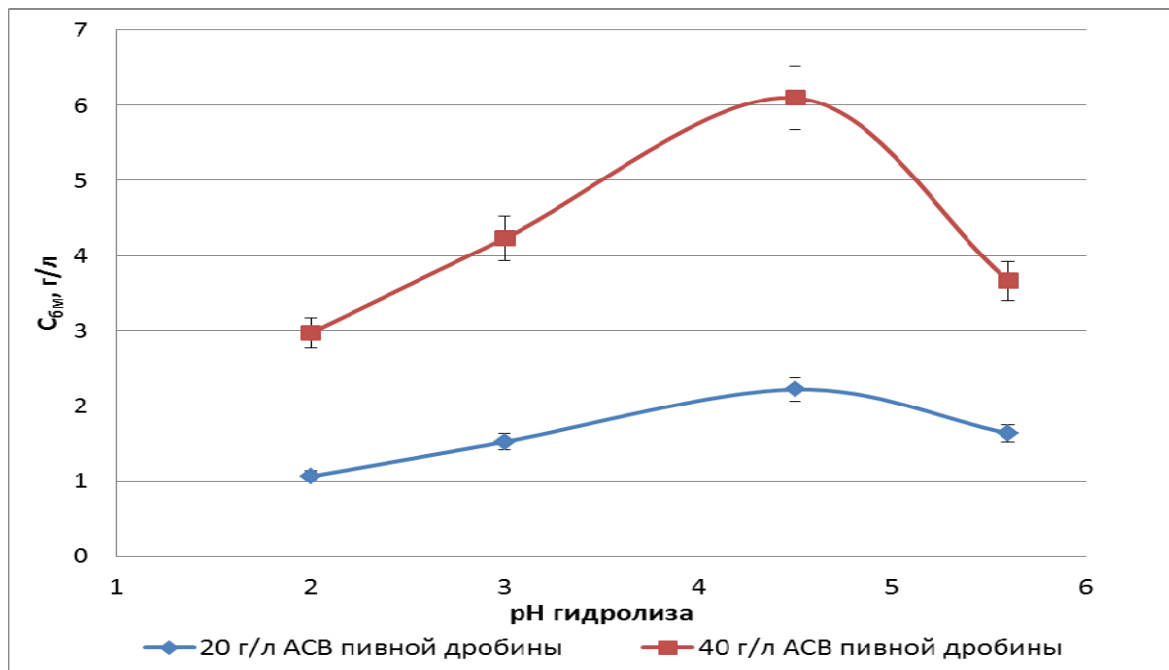


Рис. 24. Зависимость прироста дрожжей *Candida scotti* от рН гидролиза цельной пивной дробины.

Как видно из рис. 23 и 24, максимальный прирост биомассы дрожжей наблюдается в случае гидролиза цельной пивной дробины при рН=4,5 (2,2 г/л при концентрации цельной пивной дробины 20 г/л и 6,1 г/л при концентрации пивной дробины 40 г/л), а при снижении и увеличении рН гидролиза накопление биомассы дрожжей снижается. Снижение накопления биомассы дрожжей *Candida scotti* при увеличении рН гидролиза объясняется снижением содержания углеводов в среде. Снижение накопления биомассы дрожжей при снижении значения рН гидролиза пивной дробины объясняется снижением доброкачественности образующихся при более жёстких условиях гидролиза углеводов, несмотря на то, что концентрация углеводов при снижении рН гидролиза увеличивается (рис.3).

Зависимость содержания сырого протеина от рН гидролиза пивной дробины представлена на рис. 25.

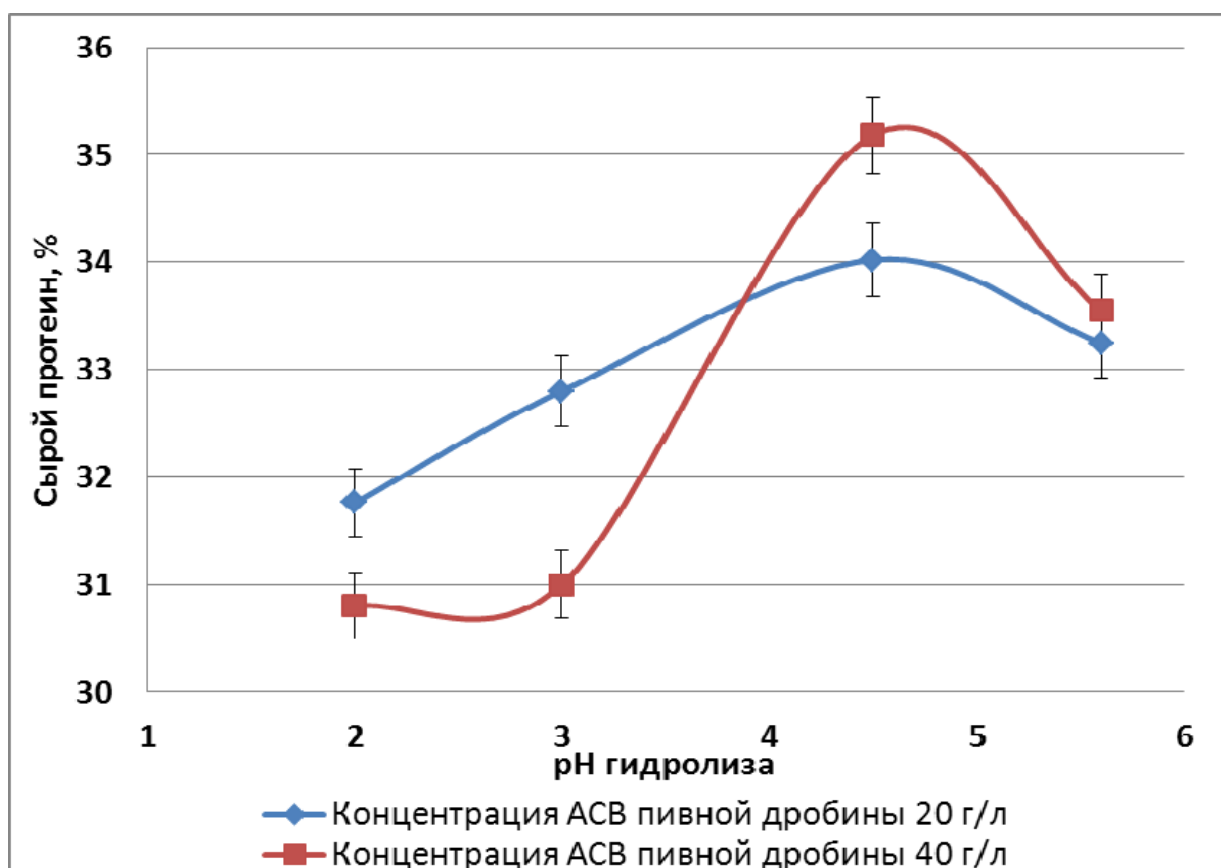


Рис. 25. Зависимость содержания сырого протеина в РУБК от рН гидролиза цельной пивной дробины.

Как видно из рис. 25, содержания сырого протеина в готовом продукте не сильно отличается для концентрации пивной дробины 20 г/л и 40 г/л. Максимальное содержание сырого протеина в готовом продукте наблюдается при значении рН гидролиза пивной дробины 4,5 и составляет, соответственно, 34,0 и 35,2 % для концентрации пивной дробины 20 и 40 г/л. При более низких и более высоких значениях рН гидролиза пивной дробины содержание сырого протеина в готовом РУБК снижается, что объясняется снижением пророста дрожжей.

Таким образом, оптимальными с целью подготовки питательной среды для культивирования дрожжей *Candida scotti* являются следующие условия гидролиза цельной пивной дробины: избыточное давление 1,0 ат; рН=4,5; концентрация пивной дробины 40 г/л в пересчёте на АСВ; время гидролиза 1 ч.

На следующем этапе нашей работы мы исследовали влияние на прирост биомассы дрожжей *Candida scotti* рН культивирования. Для этого мы гидролизовали цельную пивную дробину, разбавленную до концентрации 40 г/л при рН=2,0 в течение 60 мин, после этого доводили рН среды до следующих значений рН: 3,0; 4,0; 5,0; 6,0; 7,0 и в полученных средах проводили культивирование дрожжей *Candida scotti*. Кривые роста и потребления питательных веществ при различных значениях рН представлены на рис. 26 - 34.

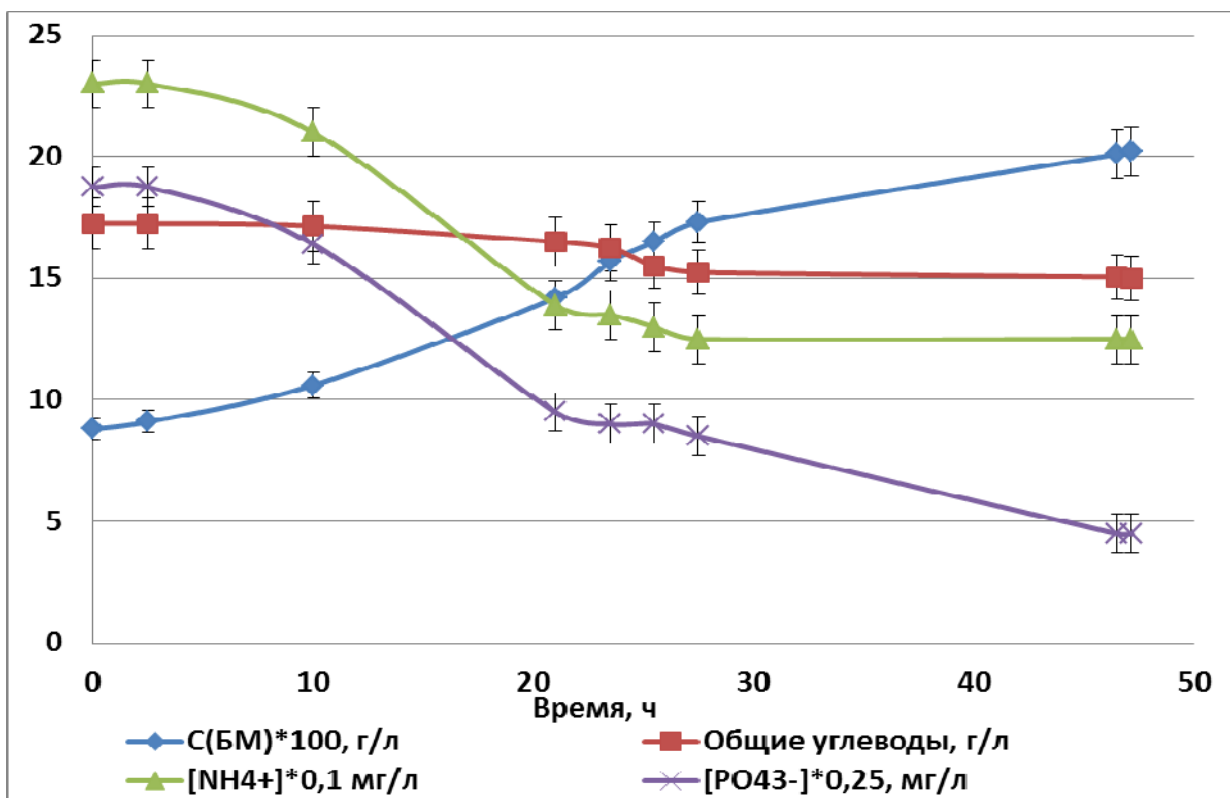


Рис. 26. Кривые роста и потребления питательных веществ дрожжами *Candida scotti* при культивировании в среде на основе гидролизата цельной пивной дробины при рН=3,0, 1-я повторность.

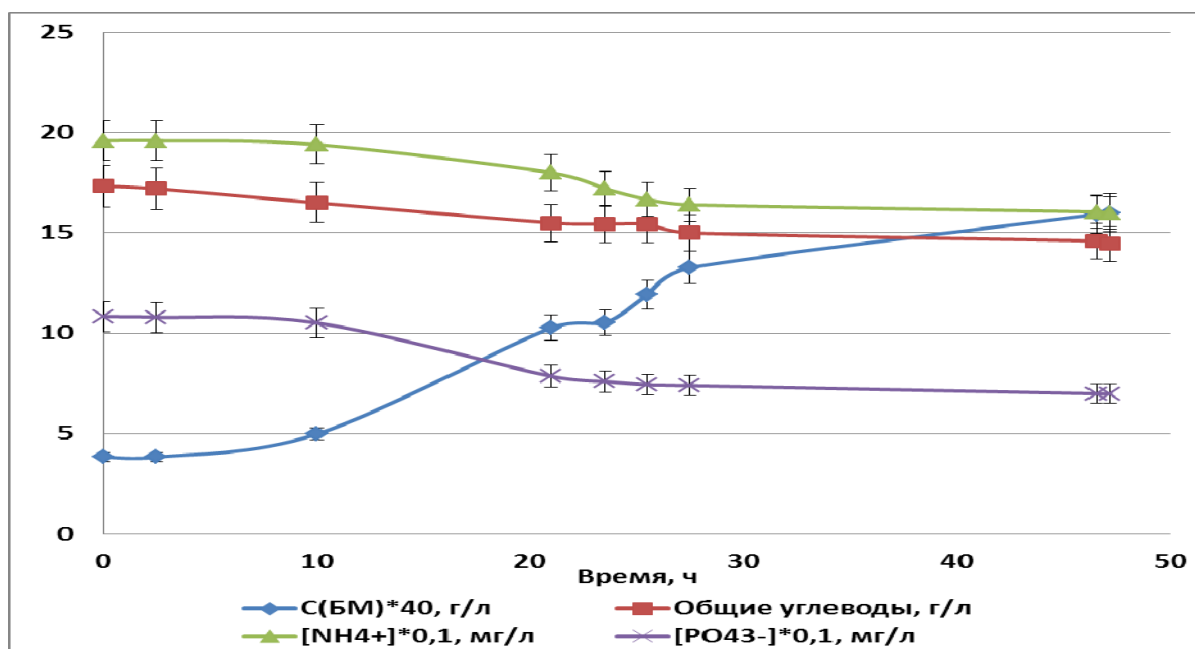


Рис. 27. Кривые роста и потребления питательных веществ дрожжами *Candida scotti* при культивировании в среде на основе гидролизата цельной пивной дробины при рН среды 3,0, 2-я повторность.

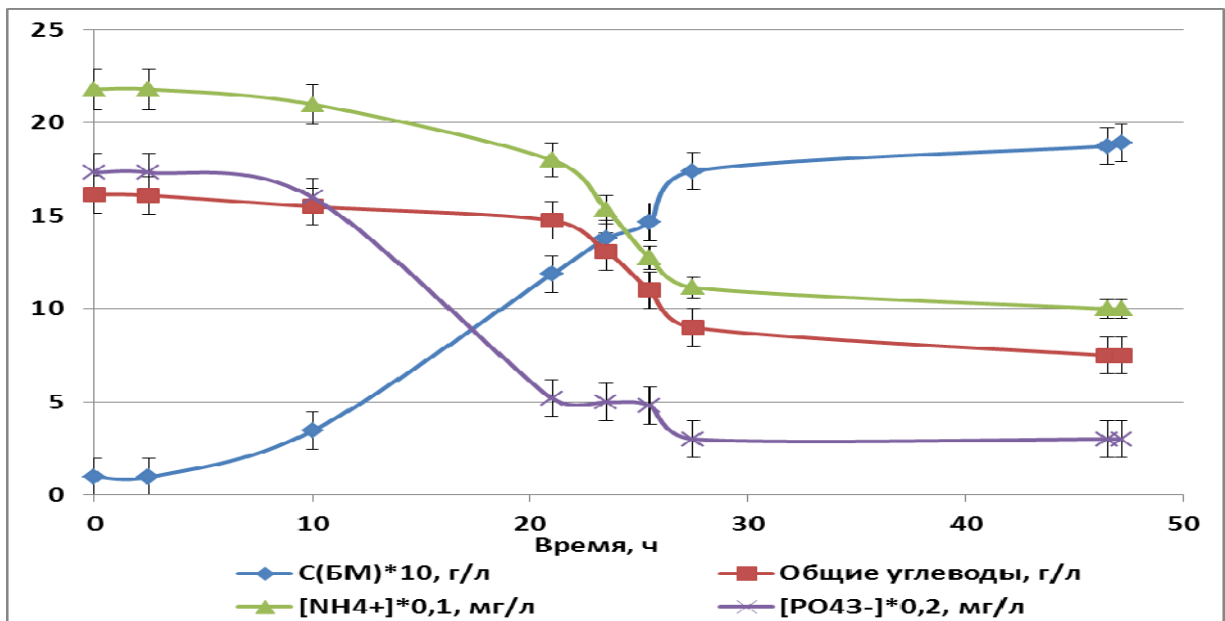


Рис. 28. Кривые роста и потребления питательных веществ дрожжами *Candida scotti* при культивировании в среде на основе гидролизата цельной пивной дробины при рН среды 4,0, 1-я повторность.

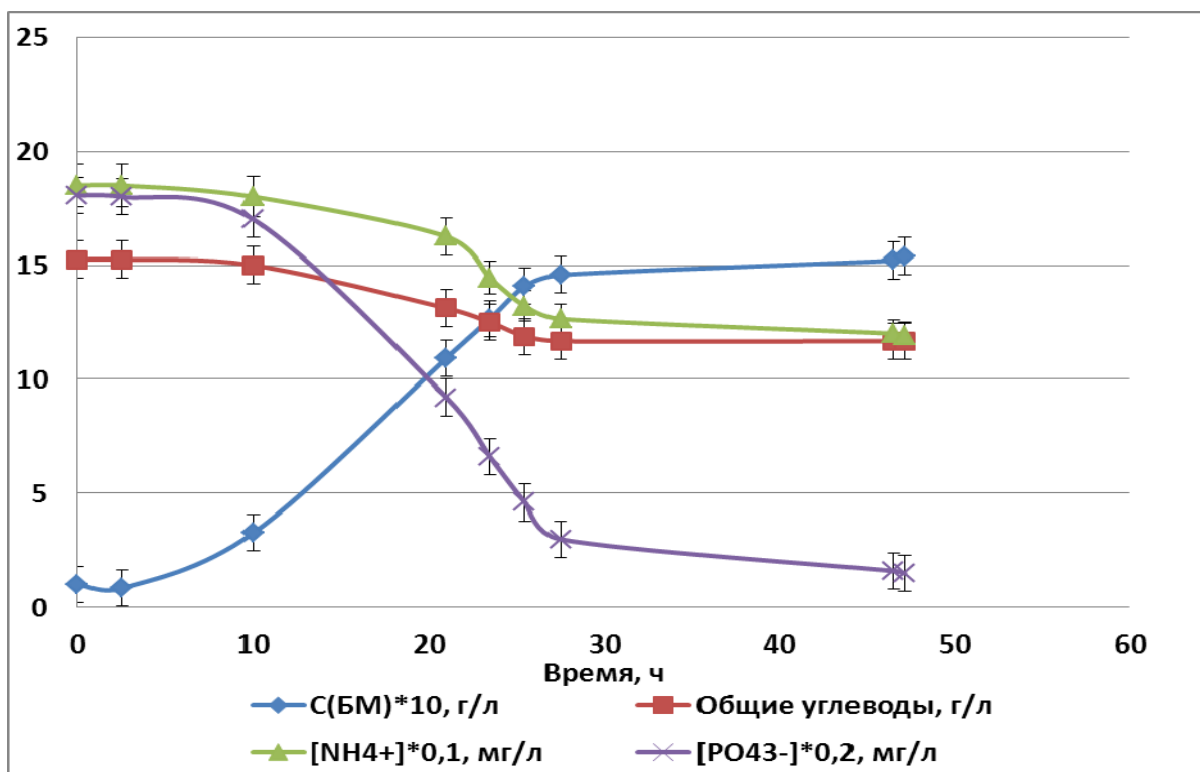


Рис. 29. Кривые роста и потребления питательных веществ при культивировании *Candida scotti* в среде на основе гидролизата цельной пивной дробины при рН среды 4,0, 2-я повторность.

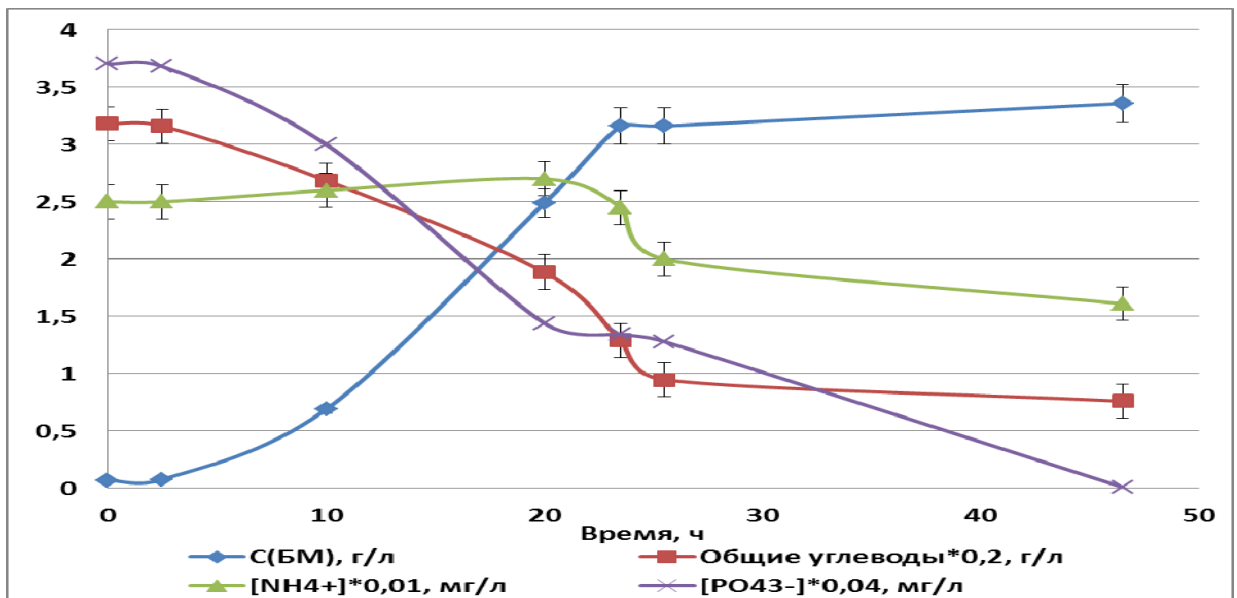


Рис. 30. Кривые роста и потребления питательных веществ дрожжами *Candida scotti* при культивировании в среде на основе гидролизата цельной пивной дробины при рН культивирования 5,0, 1-я повторность.

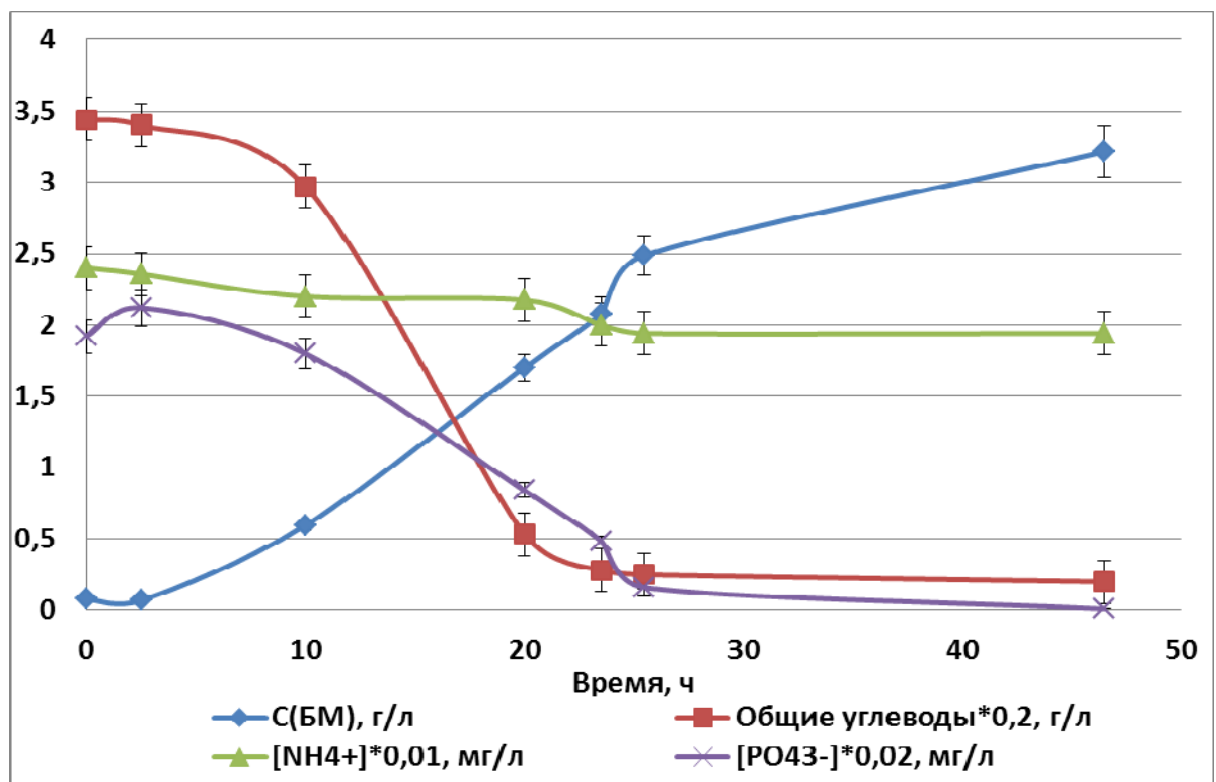


Рис. 31. Кривые роста и потребления питательных веществ дрожжами *Candida scotti* при культивировании в среде на основе гидролизата цельной пивной дробины при рН культивирования 5,0, 2-я повторность.

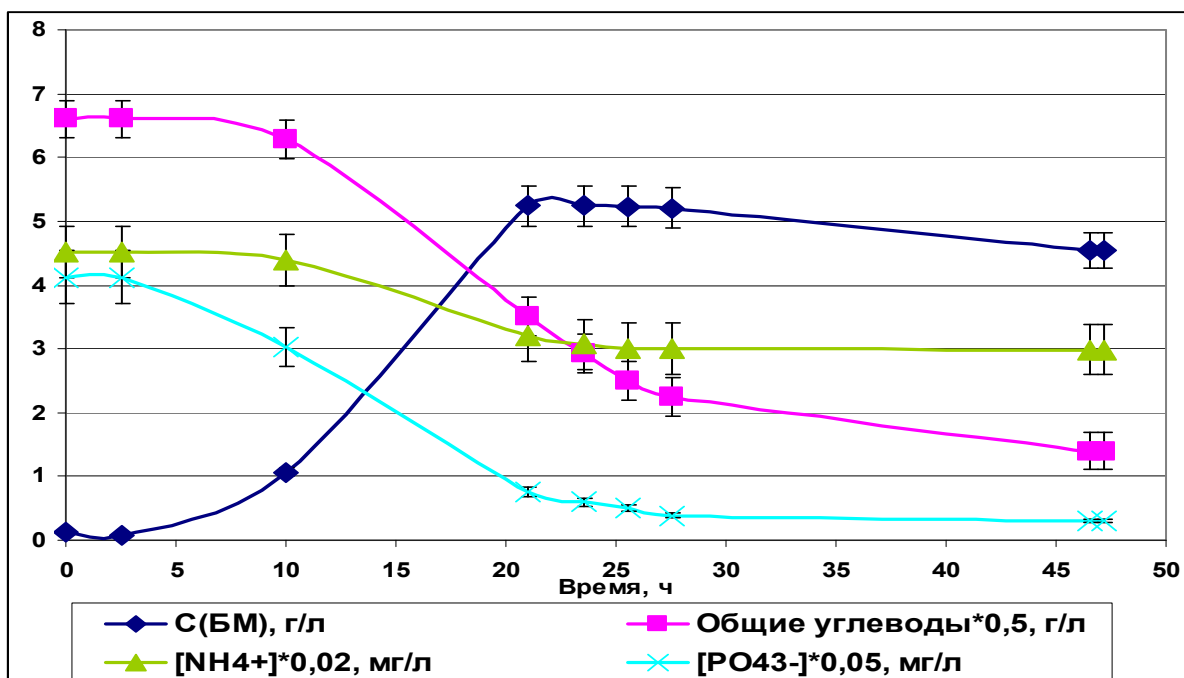


Рис. 32. Кривые роста и потребления питательных веществ дрожжами *Candida scotti* при культивировании в среде на основе гидролизата цельной пивной дробины при pH среды 6,0, 1-я повторность.

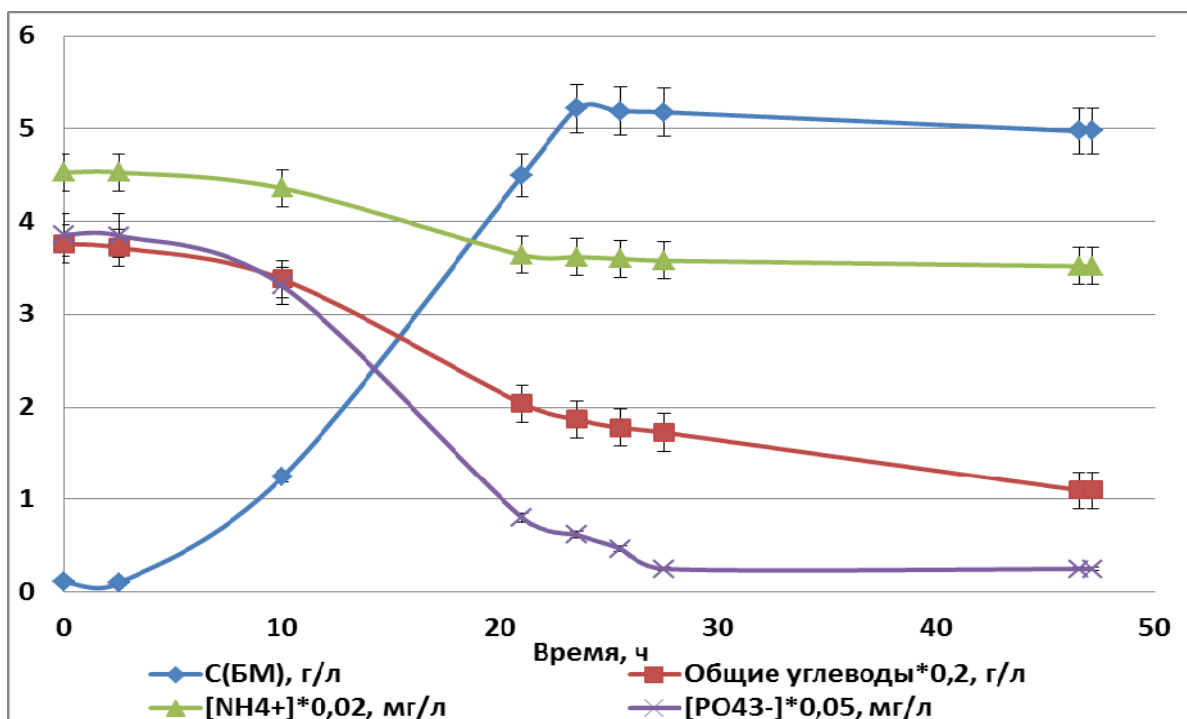


Рис. 33. Кривые роста и потребления питательных веществ дрожжами *Candida scotti* при культивировании в среде на основе гидролизатов цельной пивной дробины при pH культивирования 6,0, 2-я повторность.

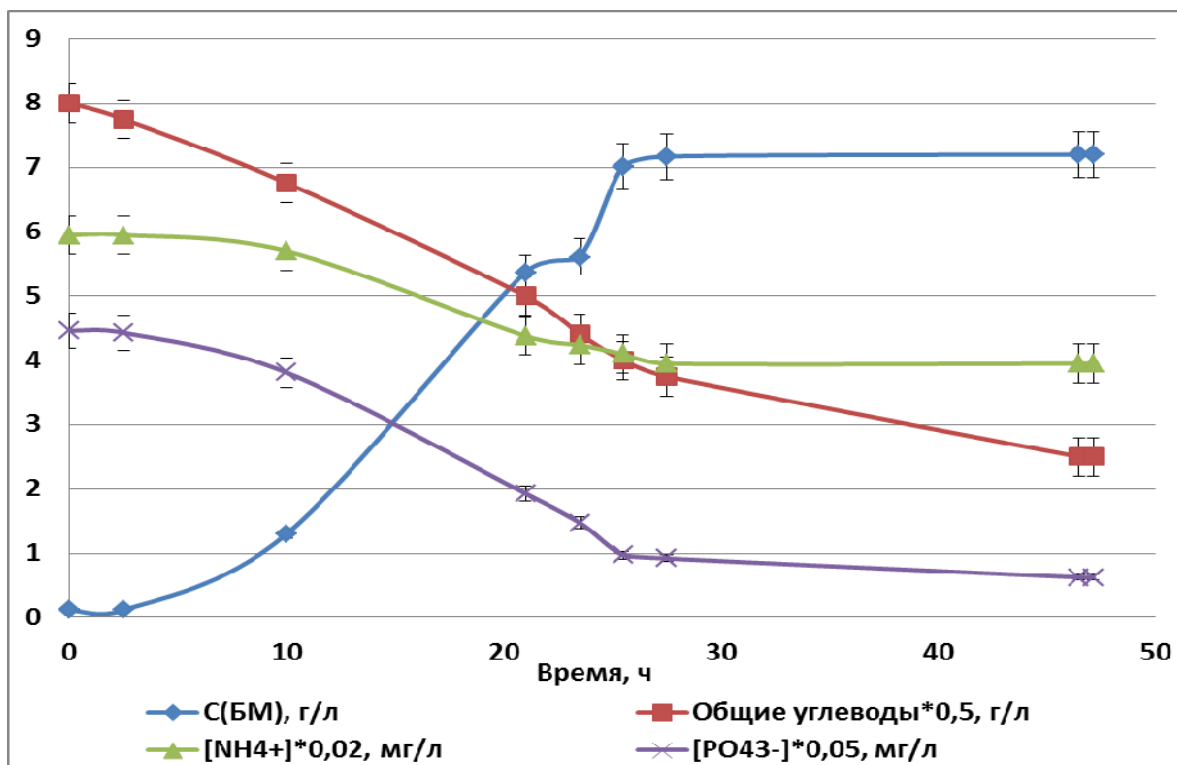


Рис. 34. Кривые роста и потребления питательных веществ дрожжами *Candida scotti* при культивировании в среде на основе гидролизата цельной пивной дробины при рН среды 7,0.

Все кривые роста в одних координатах представлены на рис. 35.

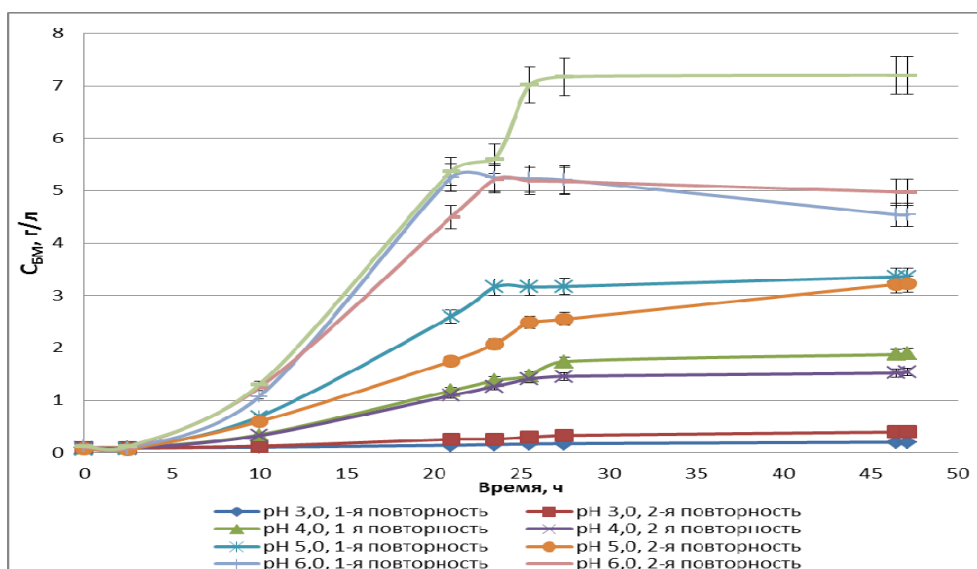


Рис. 35. Кривые роста дрожжей *Candida scotti* при культивировании в среде на основе гидролизатов цельной пивной дробины при различных значениях рН культивирования.

Результаты культивирования дрожжей представлены в таблице 4.

Таблица 4.

Результаты культивирования дрожжей *Candida scotti* в средах на основе гидролизатов цельной пивной дробины при различном значении рН среды.

рН культивирования	$S_{\text{БМ}}$, г/л	μ , ч ⁻¹	Общие углеводы нач., г/л	Общие углеводы кон., г/л	$[\text{NH}_4]^+$ нач., мг/л	$[\text{NH}_4]^+$ кон., мг/л	$[\text{PO}_4]^{3-}$ нач., мг/л	$[\text{PO}_4]^{3-}$ кон., мг/л
3,0	0,3	0,04	17,2	14,8	213,8	143,7	91,6	45,2
4,0	1,7	0,12	15,7	9,5	203,6	110,2	88,6	10,9
5,0	3,3	0,16	16,5	2,8	249,9	177,7	98,9	0,10
6,0	5,2	0,22	15,9	4,1	228,9	162,9	79,6	5,7
7,0	7,2	0,21	15,8	4,8	298,7	198,7	88,9	13,3

Зависимость накопления биомассы дрожжами *Candida scotti* от рН культивирования представлена на рис. 36.

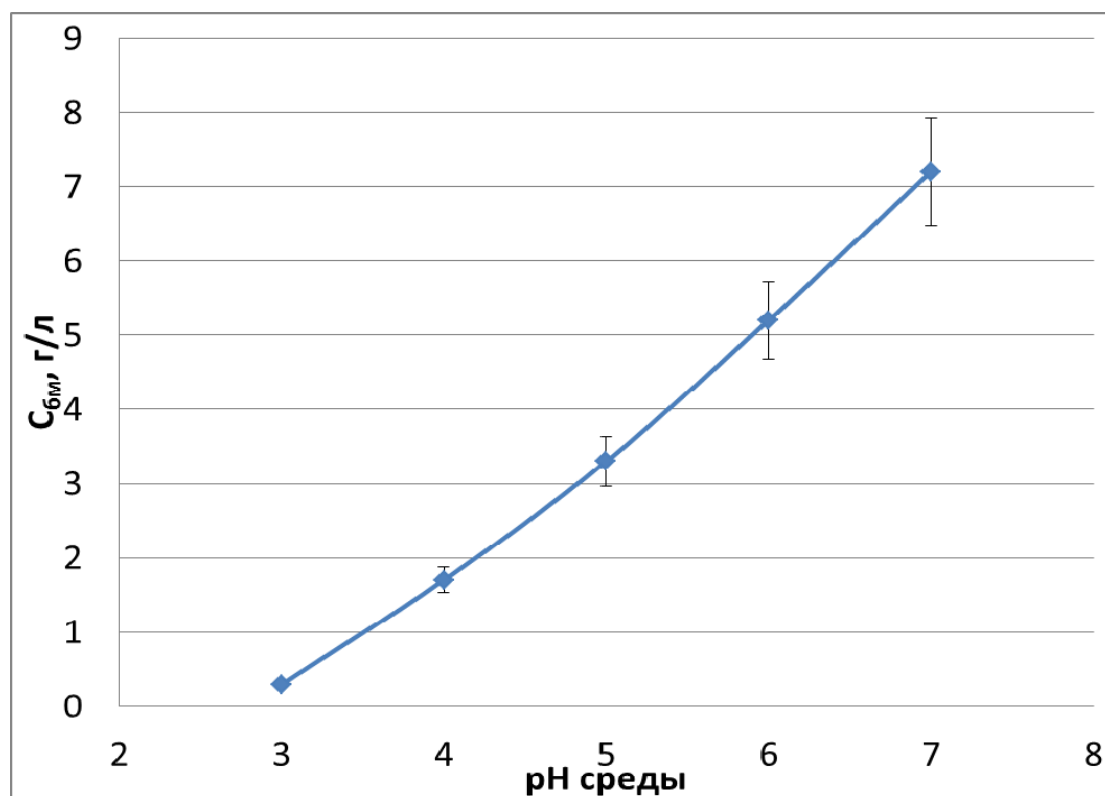


Рис. 36. Зависимость накопления биомассы дрожжей *Candida scotti* при культивировании в среде на основе гидролизатов цельной пивной дробины от рН среды.

Зависимость удельной скорости роста дрожжей от рН культивирования представлена на рис. 37.

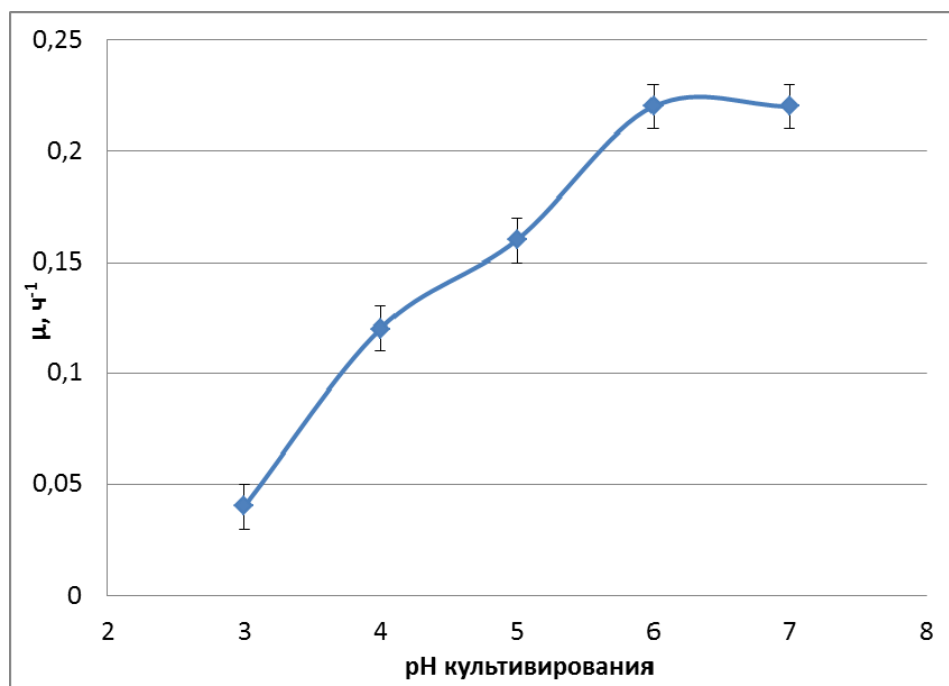


Рис. 37. Зависимость удельной скорости роста дрожжей (μ) *Candida scotti* в среде на основе гидролизатов цельной пивной дробины от рН культивирования.

Как видно из рис. 35, рис. 36 и таблицы 4, с увеличением рН культивирования увеличивается накопление биомассы дрожжей *Candida scotti* в средах на основе гидролизатов цельной пивной дробины. Максимальное накопление биомассы наблюдается при рН культивирования 7,0 и составляет 7,2 г/л, а минимальный пророст – 0,3 г/л наблюдается при рН культивирования 3,0. Однако, для дальнейших экспериментов мы выбрали рН культивирования 5,0. При данном значении рН прирост клеток ниже, чем при более высоких значениях рН и составляет 3,3 г/л, однако, более высокое значение рН среды способствует размножению посторонней бактериальной микрофлоры. Как видно из рис. 36 и таблицы 4, максимальное значение удельной скорости роста наблюдается при рН культивирования дрожжей 6,0 – 7,0 и составляет 0,22 ч⁻¹. При рН 5,0 удельная скорость роста дрожжей составляет 0,16 ч⁻¹.

б) Культивирование дрожжей *Candida scotti* в средах на основе твёрдой фазы пивной дробины.

Результаты культивирования дрожжей *Candida scotti* в питательных средах на основе гидролизатов твёрдой фазы пивной дробины, в зависимости от условий гидролиза, представлены на рис.38.

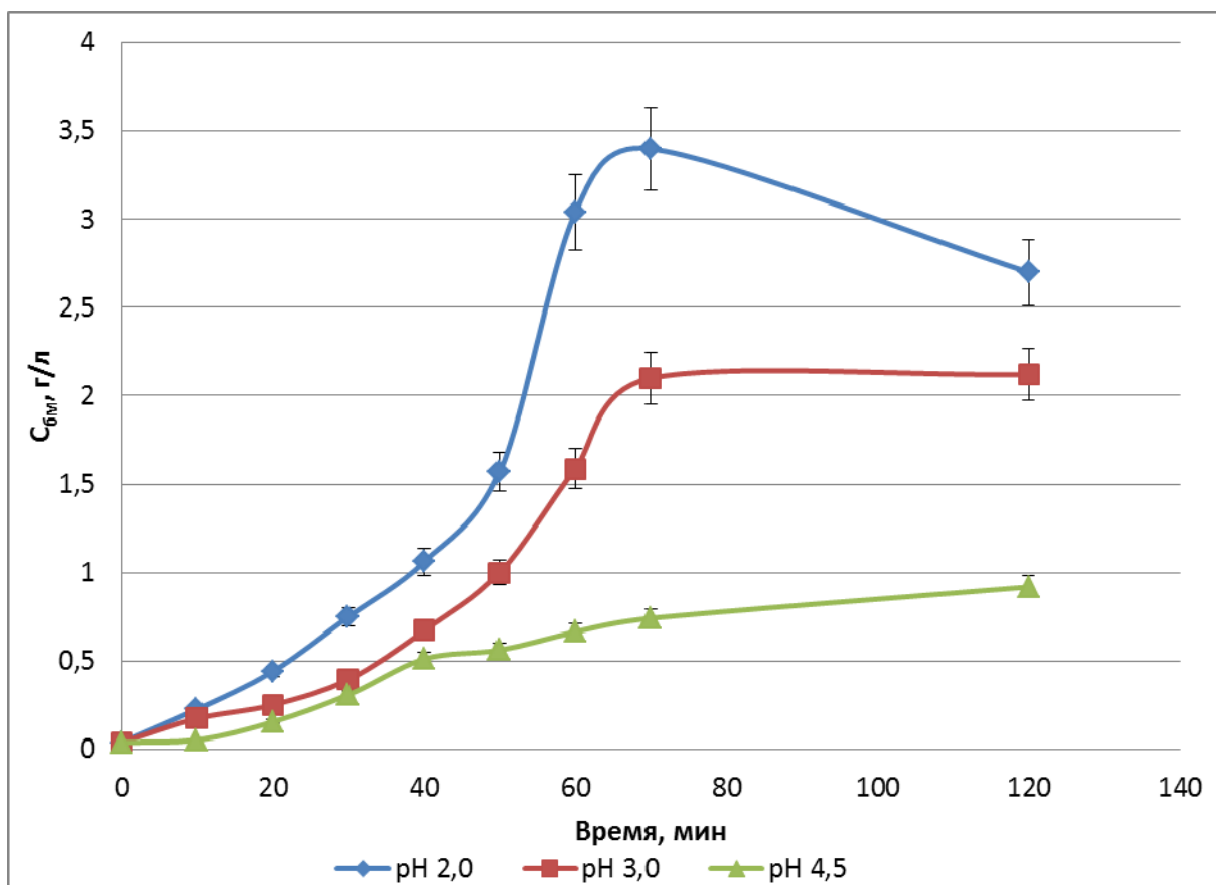


Рис. 38. Зависимость накопления биомассы *Candida scotti* от продолжительности гидролиза твёрдой фазы пивной дробины

Как видно из рис.38, максимальные концентрации биомассы наблюдаются при следующих условиях гидролиза твёрдой фазы пивной дробины: pH гидролиза 2,0, длительность гидролиза 70 мин (3,4 г/л). На основании проведённых экспериментов нами было установлено, что оптимальными с целью получения питательных сред для культивирования дрожжей являются следующие условия кислотного гидролиза: pH=2,0; давление 1,0 ати; продолжительность гидролиза - 70 мин. При данных условиях гидролиза

концентрация углеводов в среде составляет 9,97 г/л, а накопление биомассы 3,4 г/л. Более длительный гидролиз проводить нецелесообразно с экономической точки зрения.

2. Культивирование *Endomycopsis fibuligera*.

На следующем этапе нашей работы мы подбирали оптимальные условия подготовки среды на основе гидролизатов твёрдой фазы пивной дробины для культивирования микроорганизмов *Endomycopsis fibuligera*.

Сначала мы подбирали оптимальную концентрацию твёрдой фазы пивной дробины. Твёрдую фазу добавляли в следующих концентрациях: 10; 20; 30; 40; 50 г/л и подвергали её гидролизу в лабораторном автоклаве при 1,0 ати в течение 1 ч при рН=4,5. После этого в полученных средах проводили культивирование *Endomycopsis fibuligera* при рН=5,0 и температуре 34°C в течение 48 ч. Результаты культивирования представлены в таблице 5. Зависимость накопления биомассы и содержания сырого протеина в готовом продукте от концентрации пивной дробины представлена на рис.39 и в таблице 5.

Таблица 5

Результаты культивирования *Endomycopsis fibuligera* при различных концентрациях твёрдой фазы пивной дробины в среде.

Концентрация пивной дробины, г/л	С _{БМ} , г/л	Общие углеводы нач., г/л	Общие углеводы кон., г/л	[NH ₄] ⁺ нач., мг/л	[NH ₄] ⁺ кон., мг/л	[PO ₄] ³⁻ нач., мг/л	[PO ₄] ³⁻ кон., мг/л	Содержание сырого протеина в готовом продукте, %
10	0,43	0,97	0,16	296,2	55,5	351,6	77,4	26,3
20	0,49	1,1	0,20	290,0	48,5	455,0	85,0	28,8
30	0,64	1,6	0,27	308,5	50,9	361,9	69,5	33,2
40	0,83	1,8	0,31	271,5	40,7	406,7	77,0	35,8
50	0,95	2,6	0,56	320,9	56,8	468,7	98,4	28,9

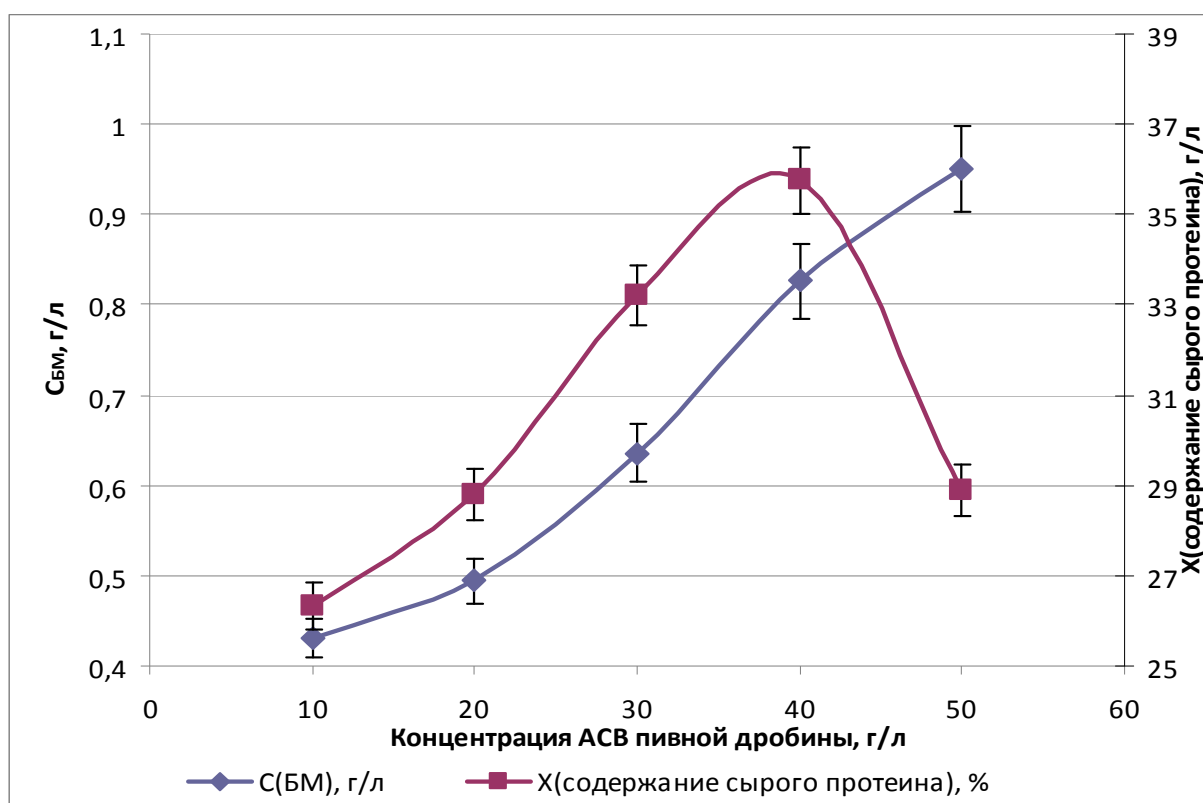


Рис. 39. Зависимость накопления биомассы *Endomycopsis fibuligera* и содержание сырого протеина в готовом продукте от концентрации твёрдой фазы пивной дробины.

Как видно из рис. 39, накопление биомассы *E. fibuligera* слабо увеличивается при увеличении концентрации твёрдой фазы пивной дробины. Максимальное накопление биомассы наблюдается при концентрации твёрдой фазы 50 г/л и составляет 0,95 г/л. Прирост биомассы при концентрации твёрдой фазы пивной дробины в среде 40 г/л несколько ниже, чем при концентрации 50 г/л и составляет 0,83 г/л. Однако, как видно из таблицы 5 и рис. 39, максимальное содержание сырого протеина в готовом продукте (35,75%) наблюдается при концентрации твёрдой фазы пивной дробины 40 г/л. Как при увеличении, так и при уменьшении концентрации твёрдой фазы пивной дробины содержание сырого протеина в готовом продукте снижается. На основании этих данных в качестве оптимальной концентрации твёрдой фазы пивной дробины нами была выбрана концентрация 40 г/л.

В следующем эксперименте мы определяли оптимальное значение pH для культивирования *Endomycopsis fibuligera* в среде, содержащей гидролизат твёрдой фазы пивной дробины от pH культивирования. Среду для культивирования микроорганизмов мы готовили так же, как и в предыдущем эксперименте, но варьировали pH культивирования, устанавливая следующие значения: 6,0; 5,5; 4,5; 4,0; 3,5 разбавленной серной кислотой. Результаты эксперимента представлены в табл. 6 и на рис. 40.

Таблица 6

Результаты культивирования *Endomycopsis fibuligera* при различных pH

рН культивирования	С _{БМ} , г/л	Общие углеводы нач., г/л	Общие углеводы кон., г/л	[NH ₄] ⁺ нач., мг/л	[NH ₄] ⁺ кон., мг/л	[PO ₄] ³⁻ нач., мг/л	[PO ₄] ³⁻ кон., мг/л
3,5	0,08	2,75	2,19	459,1	146,8	541,1	246,4
4,0	0,22	1,78	0,62	450,5	137,8	508,4	211,8
4,5	0,60	1,64	0,40	475,1	95,5	529,0	150,5
5,0	0,83	1,84	0,31	271,5	40,7	406,70	77,0
5,5	0,85	2,80	0,39	629,4	70,7	440,45	75,5
6,0	0,83	2,66	0,38	518,3	60,4	525,6	92,1

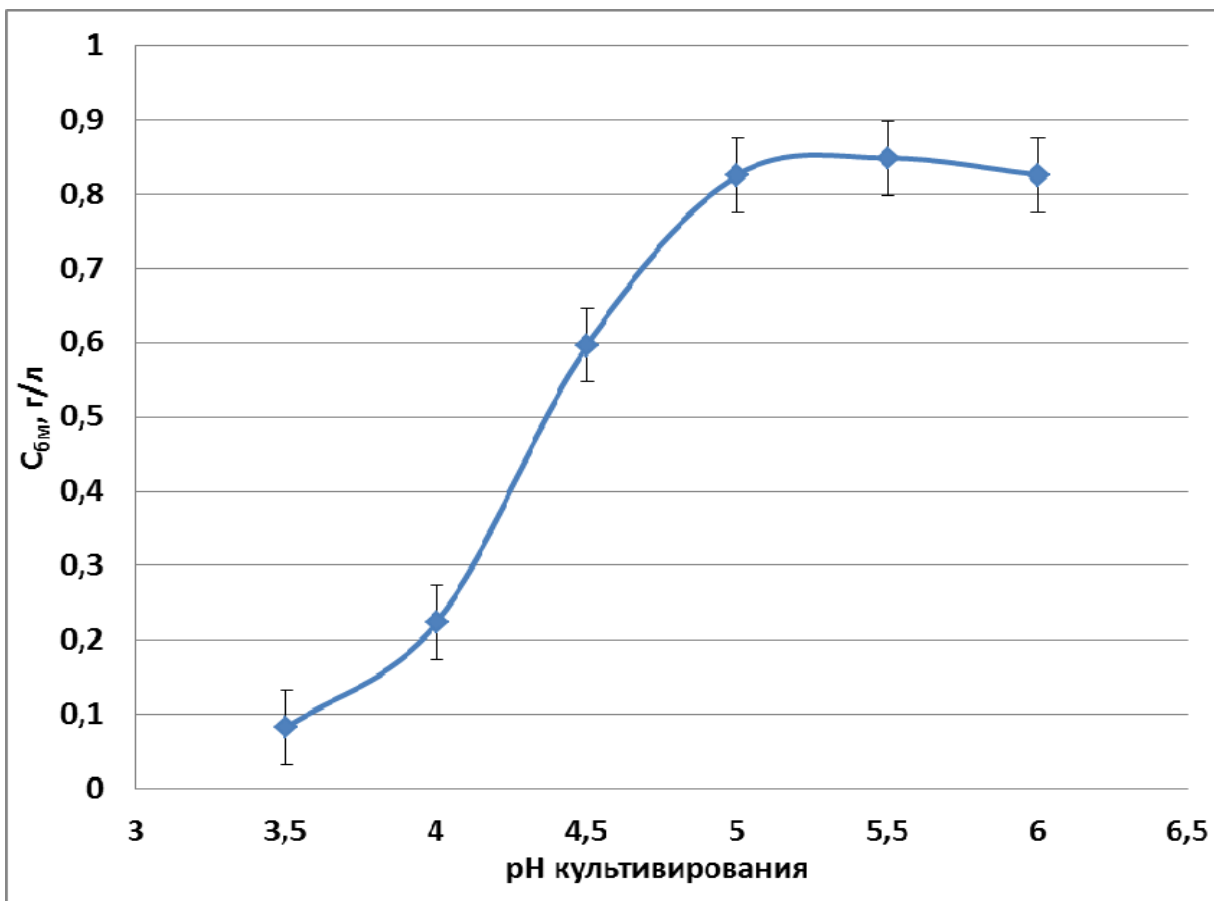


Рис. 40. Зависимость накопления биомассы *Endomycopsis fibuligera* в средах на основе твёрдой фазы пивной дробины от рН культивирования.

Как видно из рис. 40 и таблицы 6, наибольшее накопление биомассы *Endomycopsis fibuligera* наблюдается при рН=5,5 (8,20 г/л).

В следующем эксперименте мы определяли зависимость прироста биомассы *Endomycopsis fibuligera* от температуры культивирования. Среду для культивирования микроорганизмов мы готовили так же, как и в предыдущем эксперименте. Варьировали температуру культивирования. Культивирование проводили при следующих значениях температуры: 31; 32; 33; 34; 35 °С и рН=5,5 в течение 48 ч. Зависимости прироста биомассы от температуры культивирования представлены на рис. 41.

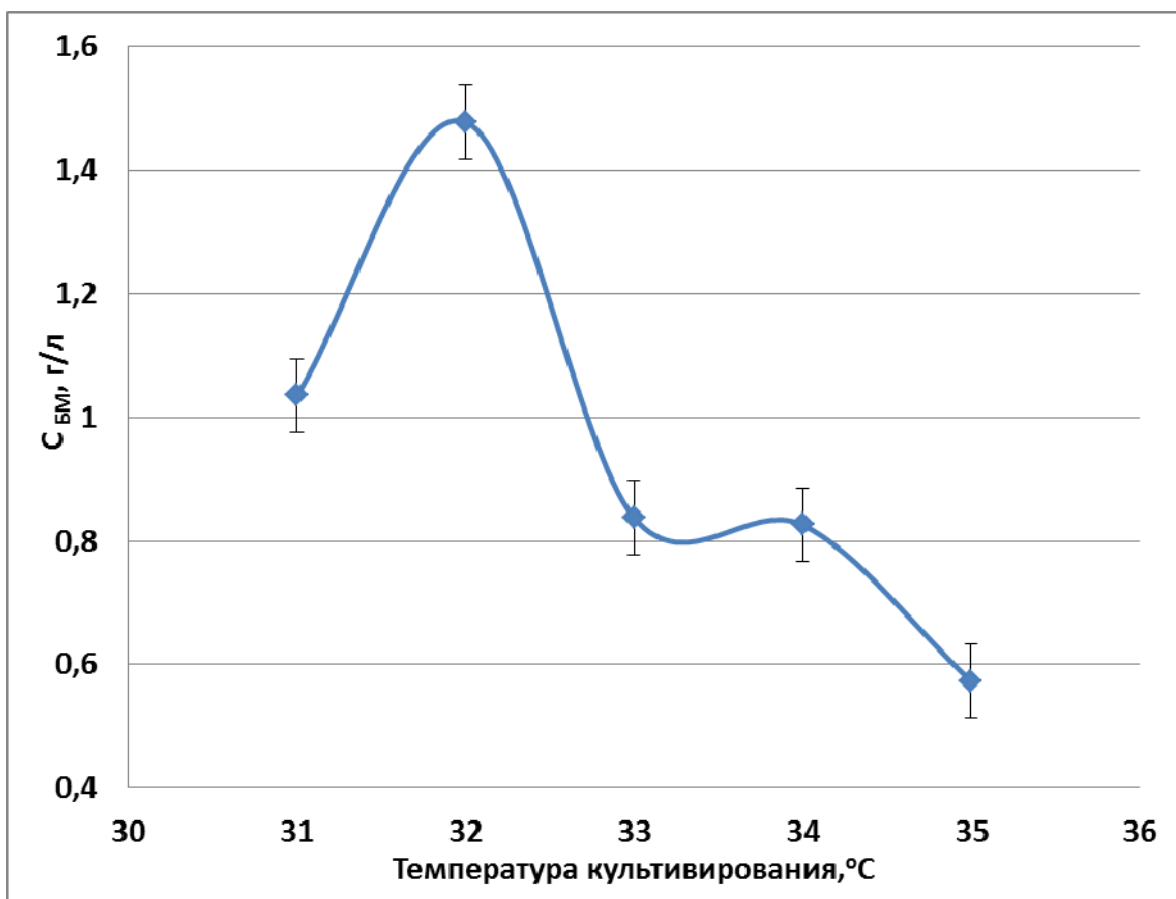


Рис. 41. Зависимость накопления биомассы *Endomycopsis fibuligera* от температуры культивирования.

Как видно из рис. 41, оптимальной температурой для культивирования *Endomycopsis fibuligera* является температура 32° С. При данной температуре наблюдается максимальный прирост биомассы (9,57 г/л).

В следующем эксперименте мы подбирали оптимальное значение рН гидролиза твёрдой фазы пивной дробины. Твёрдую фазу пивной дробины гидролизовали при 1,0 ати в течение 1 ч при следующих значениях рН: 5,0; 4,0; 3,0; 2,0; 1,0. Остальные параметры среды и условия культивирования *Endomycopsis fibuligera* были такими, как они были подобраны в предыдущих экспериментах по оптимизации среды: концентрация твёрдой фазы пивной дробины 40 г/л; рН среды 5,5; температура 32° С. Результаты эксперимента представлены в таблице 7. Зависимость накопления биомассы от рН гидролиза представлена на рис. 42.

Таблица 7

Результаты культивирования *Endomycopsis fibuligera* при различном значении рН гидролиза твёрдой фазы пивной дробины.

рН гидролиза дробины	$S_{\text{БМ}}$, г/л	Общие углеводы нач., г/л	Общие углеводы кон., г/л	$[\text{NH}_4]^+$ нач., мг/л	$[\text{NH}_4]^+$, кон., мг/л
1,0	1,51	7,7	2,6	1362,5	469,5
1,5	5,3	6,6	1,2	888,6	175,7
2,0	4,47	6,6	1,1	888,6	138,4
3,0	2,68	2,6	0,41	493,7	69,2
4,0	1,99	2,4	0,39	494,9	61,7
5,0	0,96	2,4	0,36	592,4	67,1

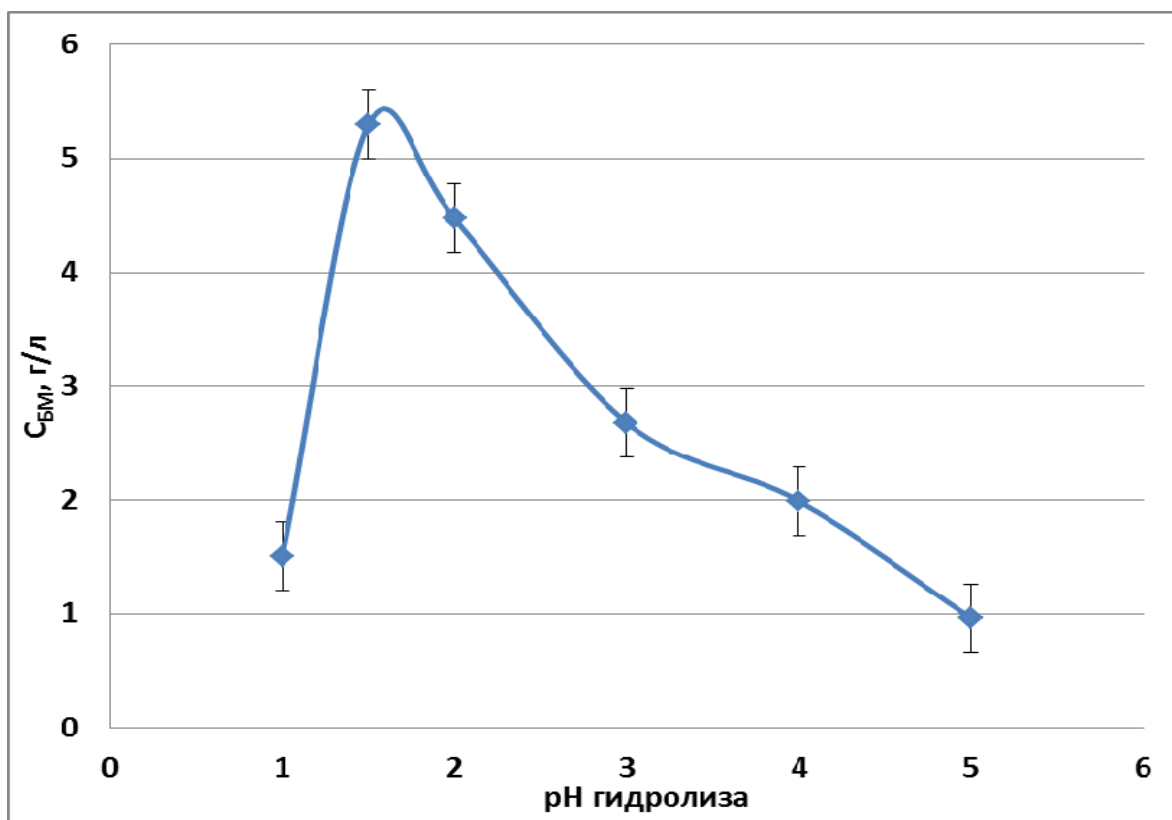


Рис. 42. Зависимость накопления биомассы *Endimycopsis fibuligera* от рН гидролиза твёрдой фазы пивной дробины.

Как видно из рис. 42, наибольшее накопление биомассы (5,3 г/л) наблюдается при рН гидролиза твёрдой фазы пивной дробины 1,5. При более низком значении рН гидролиза, видимо, снижается доброкачественность субстрата и

поэтому уменьшается прирост биомассы микроорганизмов. При более высоком рН гидролиза в среде содержится небольшое количество РВ и это ограничивает рост микроорганизмов.

Содержание сырого протеина в готовом продукте (РУБК) с влажностью 10% при подобранных оптимальных условиях подготовки питательной среды и культивирования микроорганизмов составляет 35-40%. При этом в процессе культивирования значение ХПК культуральной среды снижается с 31800 мг О₂/л до 3530 мг О₂/л, т.е., на 89%.

3. Культивирование дрожжей *Yarrowia lipolytica*.

В средах на основе кислотных гидролизатов твёрдой фазы пивной дробины мы проводили также культивирование дрожжей *Yarrowia lipolytica*. При этом для определения оптимальных условий подготовки гидролизатов пивной дробины для получения максимального выхода биомассы дрожжей мы варьировали такие параметры, как рН гидролиза и концентрацию пивной дробины. Результаты культивирования дрожжей *Yarrowia lipolytica* в средах на основе гидролизатов твёрдой фазы пивной дробины при различных условиях гидролиза представлены на рис. 43 - 51.

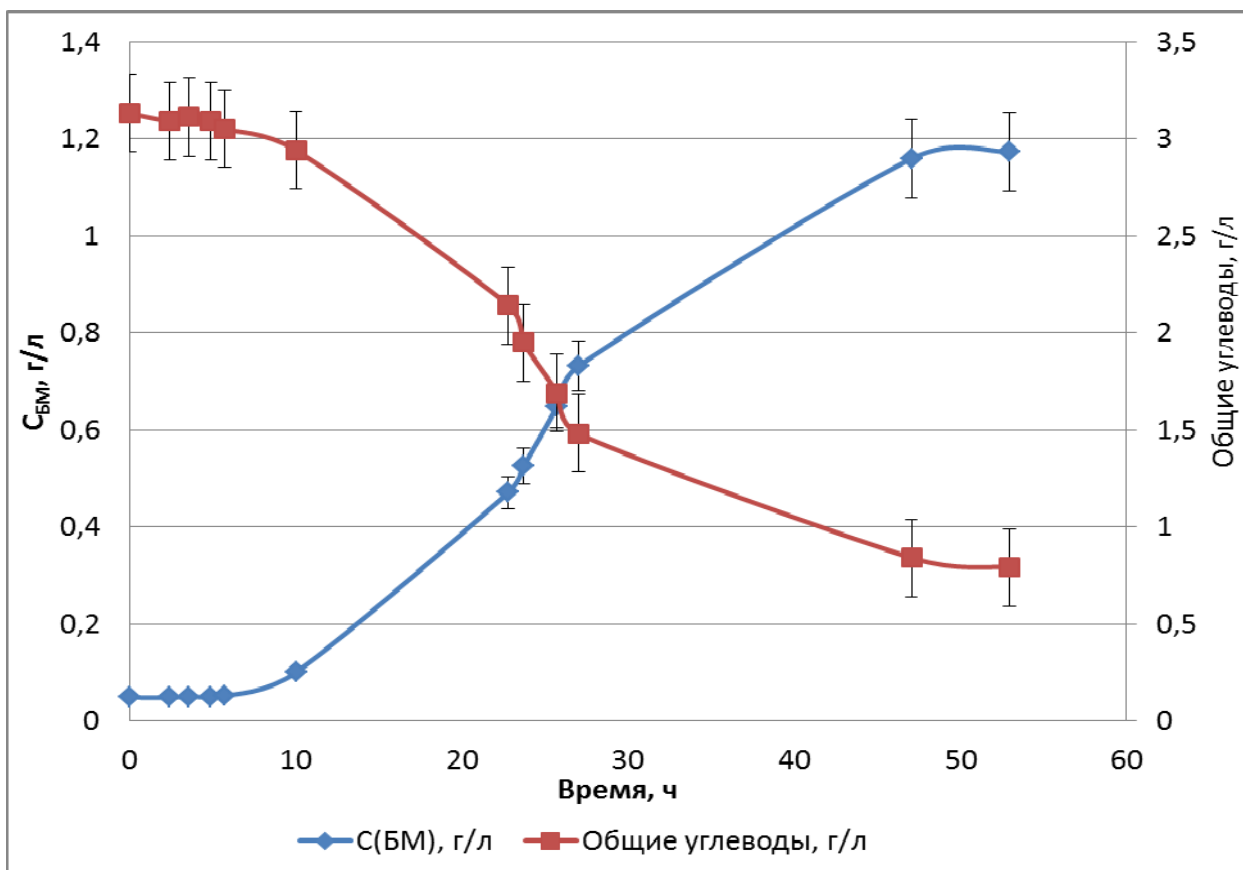


Рис. 43. Кривые роста и потребления углеводов дрожжами *Yarrowia lipolytica* при концентрации твёрдой фазы пивной дробины 20 г/л и рН гидролиза 2,0

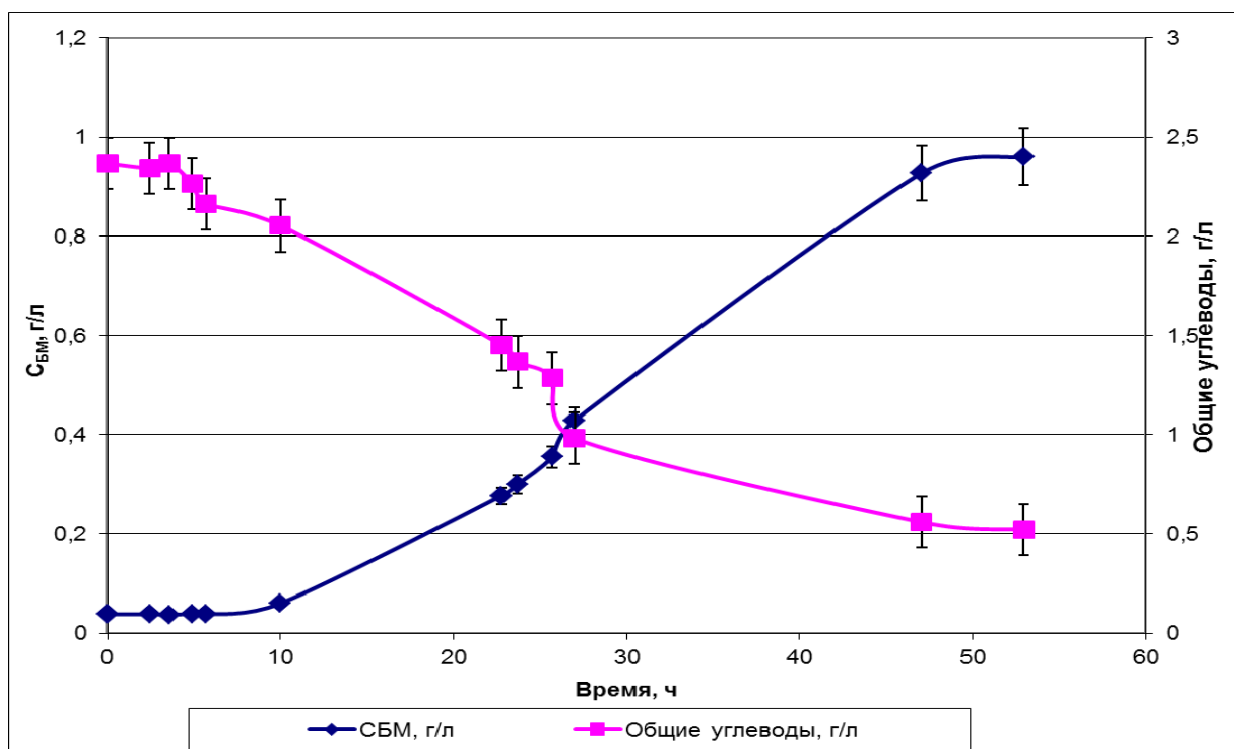


Рис. 44. Кривые роста и потребления углеводов дрожжами *Yarrowia lipolytica* при концентрации твёрдой фазы пивной дробины 20 г/л и рН гидролиза 3,0.

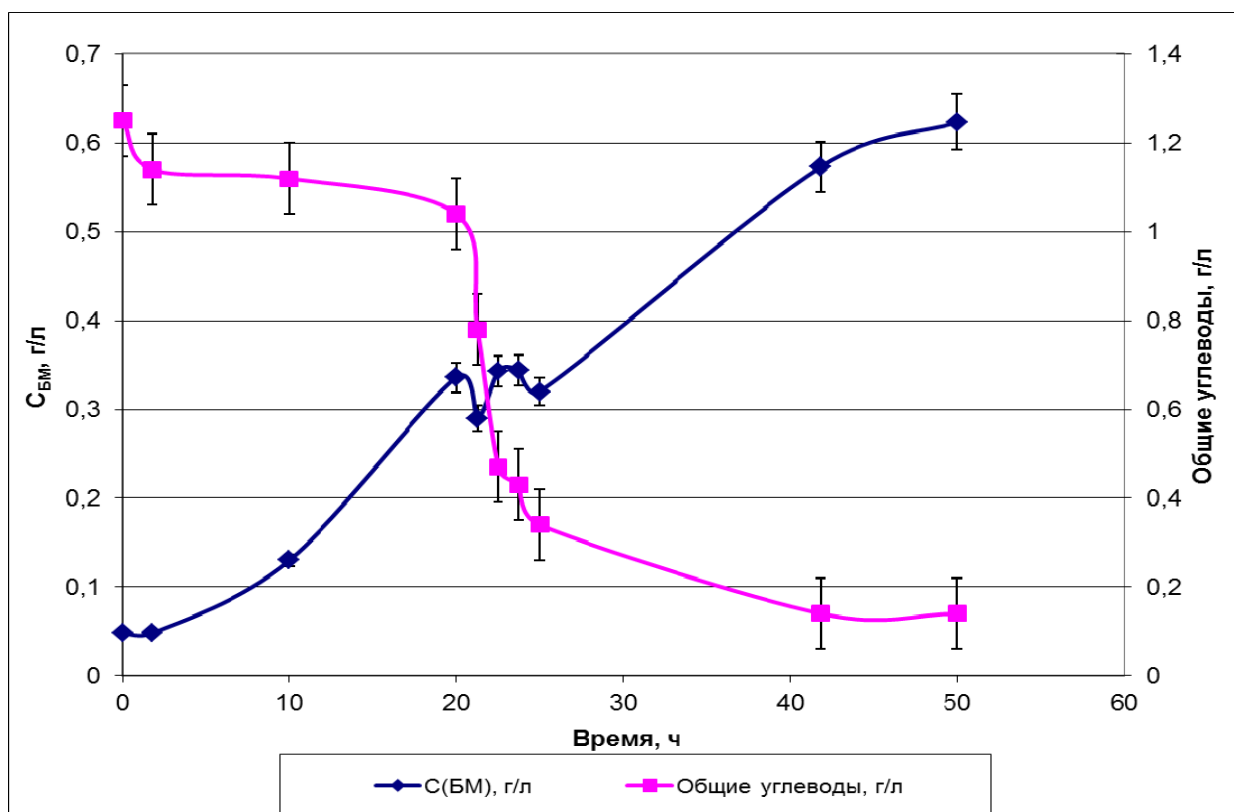


Рис. 45. Кривые роста и потребления углеводов дрожжами *Yarrowia lipolytica* в среде с концентрацией твёрдой фазы пивной дробины 20 г/л и рН гидролиза 4,5.

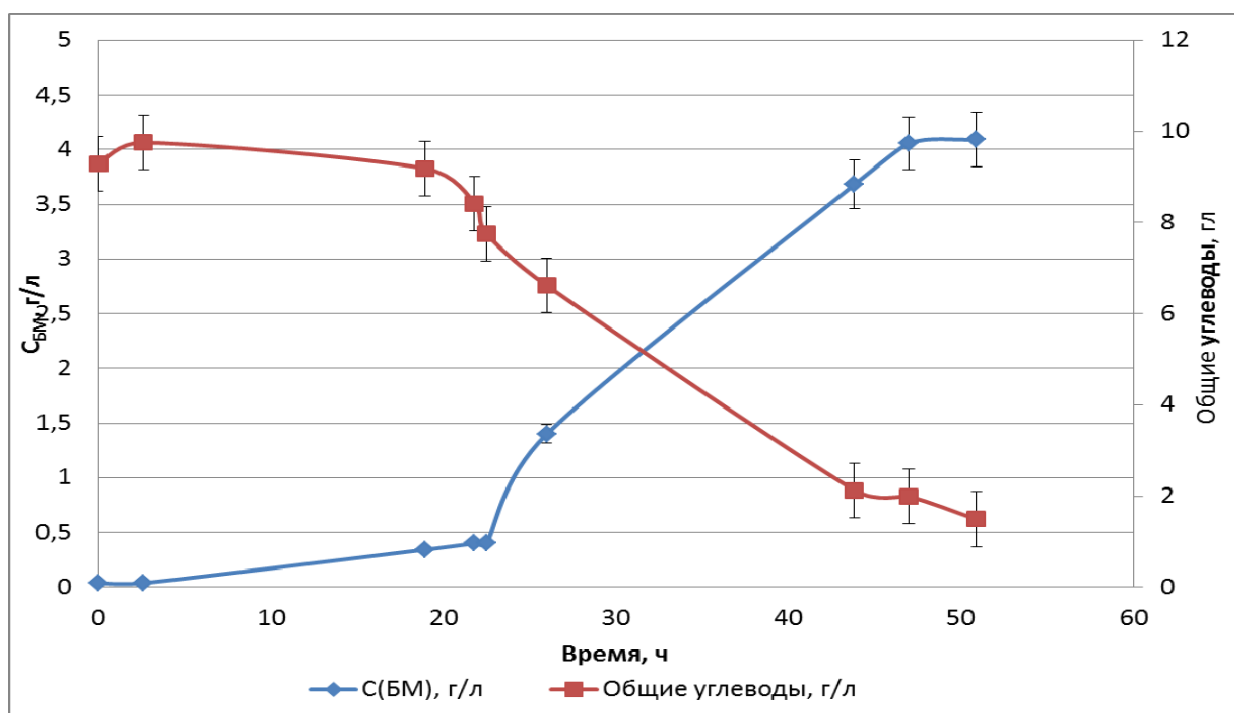


Рис. 46. Кривые роста и потребления углеводов дрожжами *Yarrowia lipolytica* при концентрации твёрдой фазы пивной дробины 40 г/л и рН гидролиза 2,0.

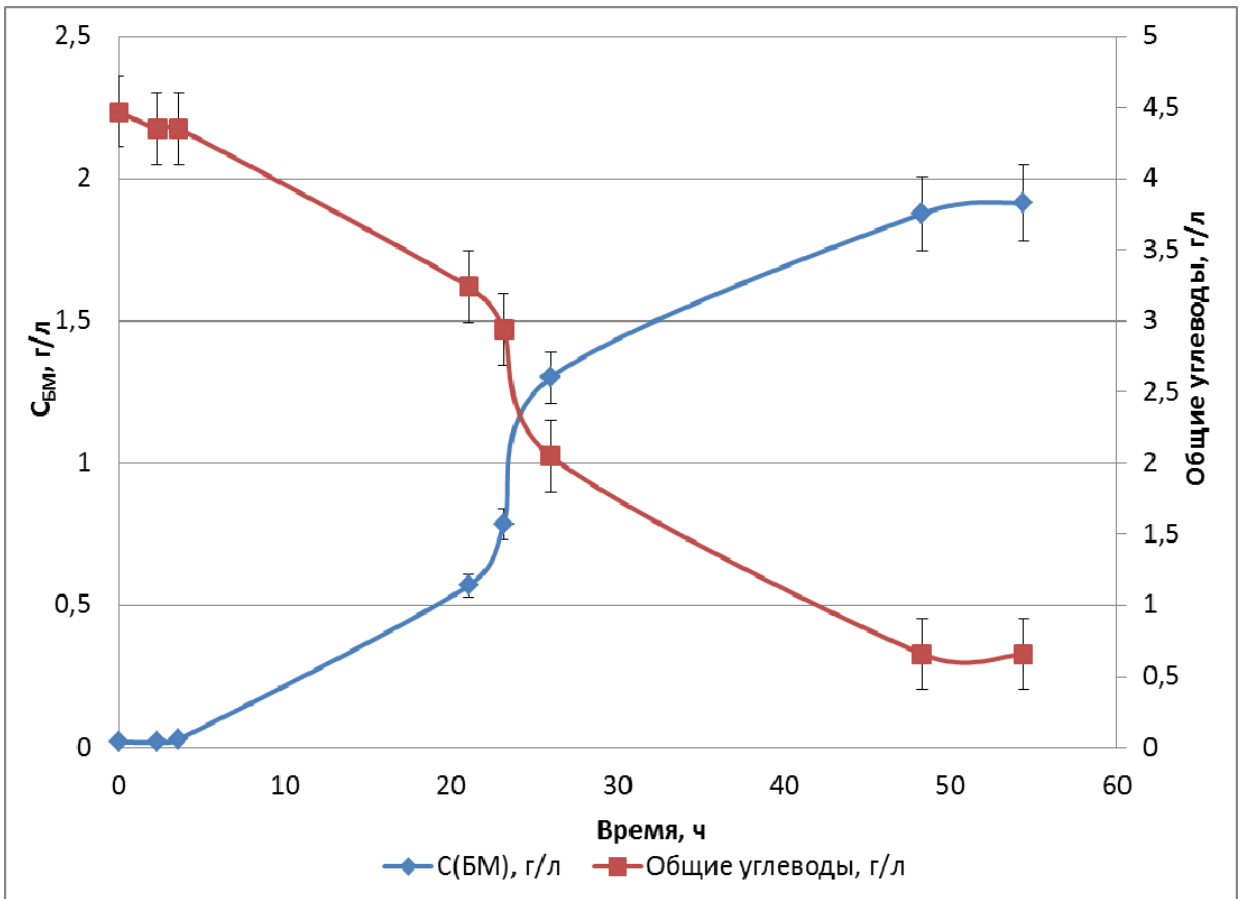


Рис. 47. Кривые роста и потребления углеводов дрожжами *Yarrowia lipolytica* при концентрации твёрдой фазы пивной дробины 40 г/л и рН гидролиза 3,0.

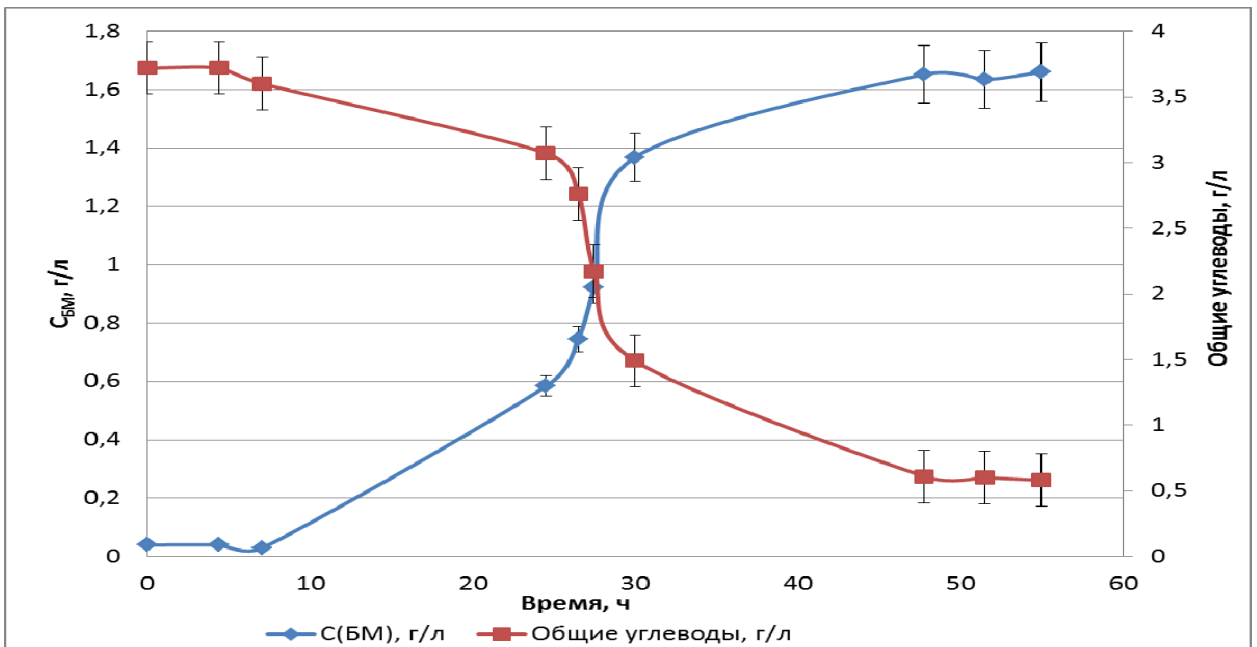


Рис. 48. Кривые роста и потребления углеводов дрожжами *Yarrowia lipolytica* при концентрации твёрдой фазы пивной дробины 40 г/л и рН гидролиза 4,5.

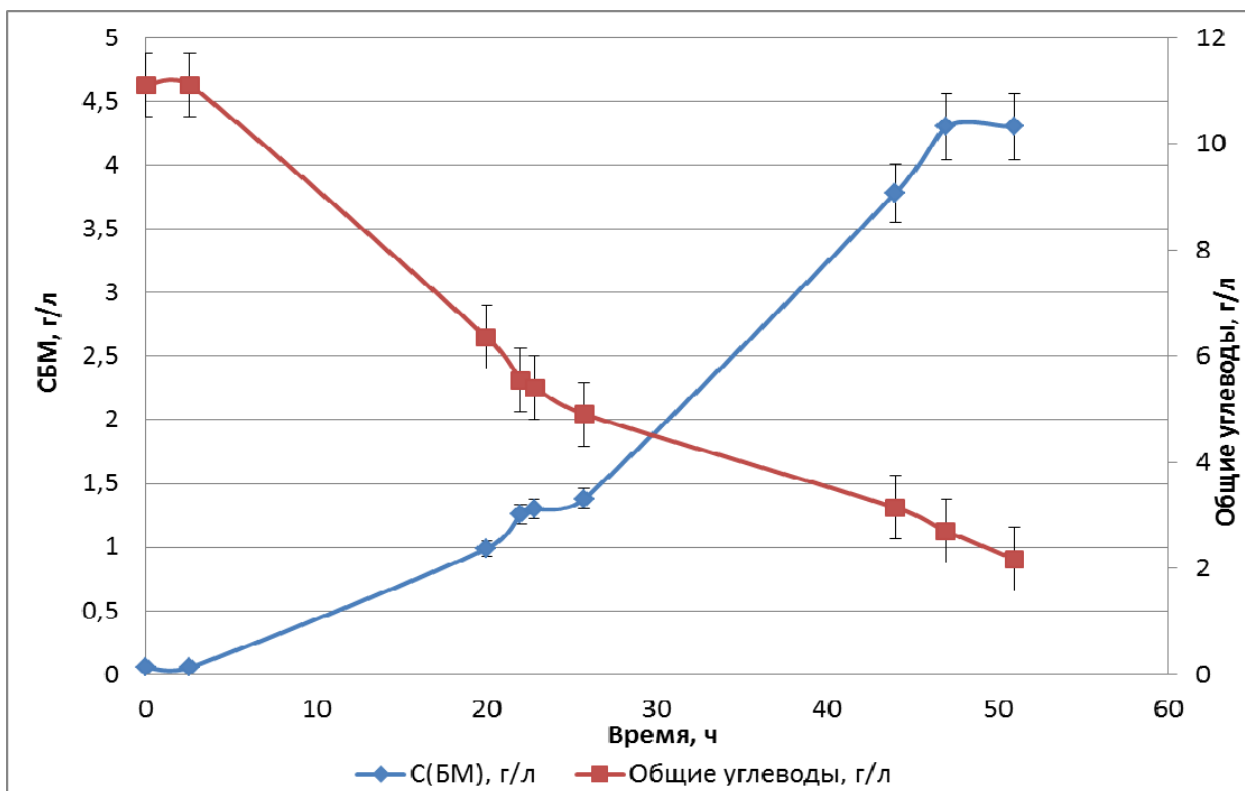


Рис. 49. Кривые роста и потребления углеводов дрожжами *Yarrowia lipolytica* при концентрации твёрдой фазы пивной дробины 60 г/л и рН гидролиза 2,0.

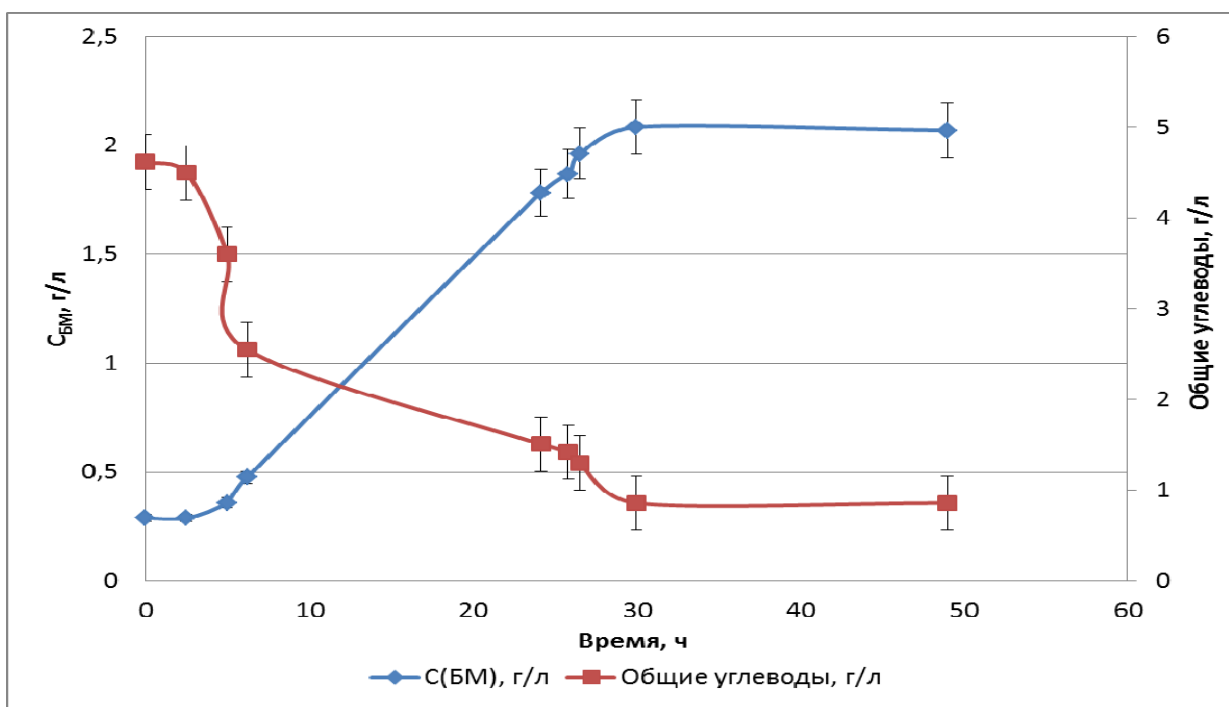


Рис. 50. Кривые роста и потребления углеводов дрожжами *Yarrowia lipolytica* при концентрации твёрдой фазы пивной дробины 60 г/л и рН гидролиза 3,0.

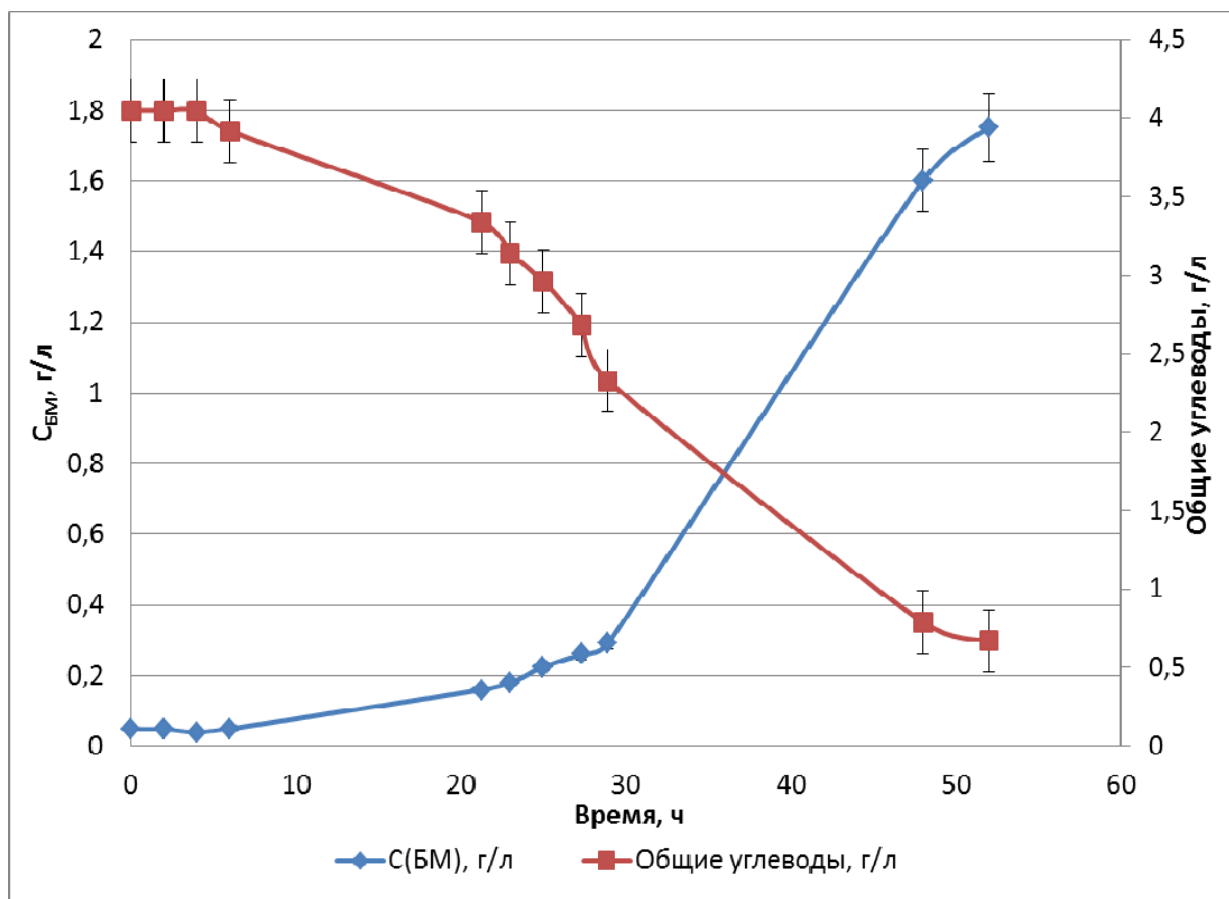


Рис. 51. Кривые роста и потребления углеводов дрожжами *Yarrowia lipolytica* при концентрации твёрдой фазы пивной дробины 60 г/л и рН гидролиза 4,5.

Результаты культивирования дрожжей *Yarrowia lipolytica* представлены в таблице 8. Таблица 8

Результаты культивирования дрожжей *Yarrowia lipolytica* при различных рН гидролиза и концентрации твёрдой фазы пивной дробины.

Концентрация дробины, С _{дроб} , г/л (по АСВ)	рН гидролиза пивной дробины	Накопление биомассы, С _{БМ} , г/л	Удельная скорость роста дрожжей, μ , ч ⁻¹	Общие углеводы	
				С _{нач} , г/л	С _{кон} , г/л
20	2,0	1,2	0,14	3,7	0,93
	3,0	0,98	0,12	1,1	0,23
	4,5	0,64	0,10	0,61	0,07
40	0,0	0,01	-	6,6	6,6
	2,0	4,1	0,44	5,6	0,85
	3,0	1,9	0,21	3,7	0,56
	4,5	1,7	0,19	1,4	0,21
60	2,0	4,2	0,19	7,4	1,4
	3,0	2,0	0,08	3,9	0,72
	4,5	1,7	0,08	2,1	0,34

Зависимость накопления биомассы дрожжей *Yarrowia lipolytica* от pH гидролиза твёрдой фазы пивной дробины представлена на рис.52.

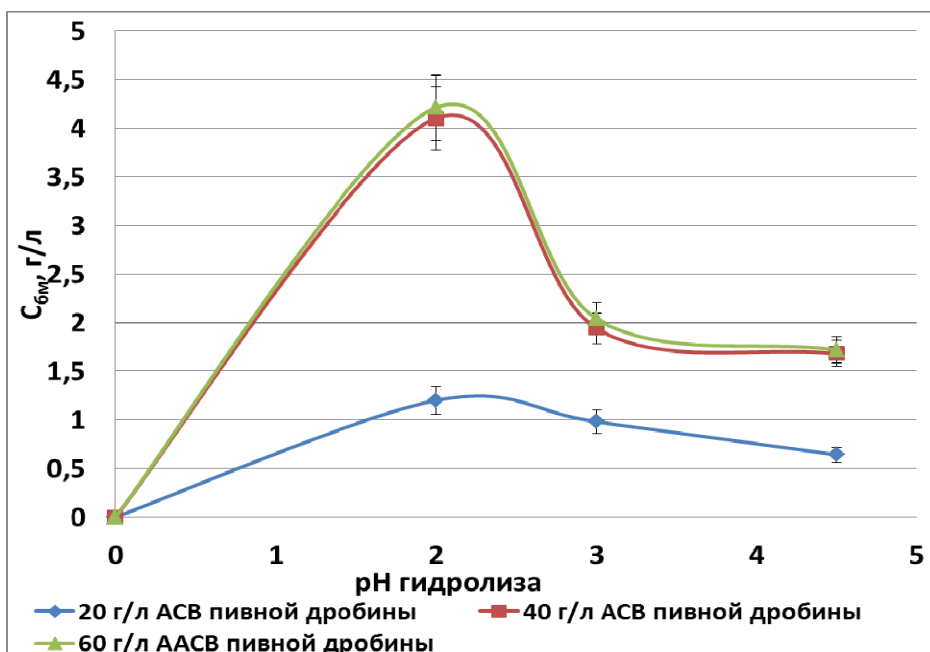


Рис. 52. Зависимость накопления биомассы дрожжами *Yarrowia lipolytica* от pH гидролиза твёрдой фазы пивной дробины при различной концентрации пивной дробины.

Как видно из рис. 52, максимальное накопление биомассы дрожжей наблюдается при pH гидролиза 2,0. Как снижение, так и увеличение pH гидролиза приводит к снижению накопления биомассы дрожжей. Снижение накопления биомассы при увеличении pH гидролиза обусловлено снижением концентрации углеводов в среде. Снижение накопления биомассы дрожжей при уменьшении pH гидролиза, очевидно, вызвано снижением доброкачественности образующихся при гидролизе углеводов.

Как видно из зависимостей удельной скорости роста дрожжей от рН гидролиза (представлена на рис.53), при снижении рН гидролиза в интервале 2,0 – 4,5 удельная скорость роста дрожжей увеличивается, также как и накопление биомассы.

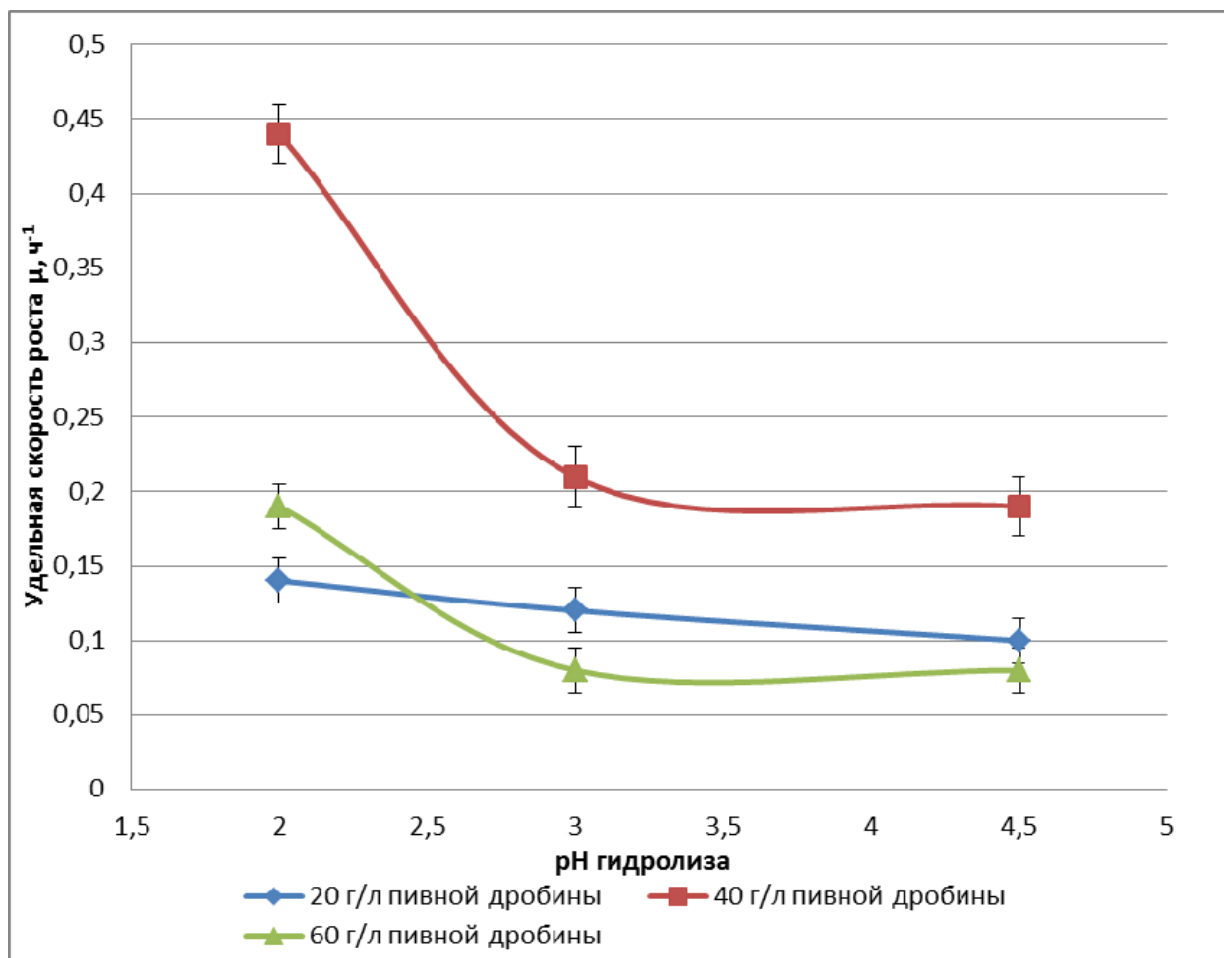


Рис. 53. Зависимость удельной скорости роста дрожжей *Yarrowia lipolytica* в экспоненциальной фазе от рН гидролиза твёрдой фазы пивной дробины.

Как видно из зависимости накопления биомассы дрожжей от концентрации твёрдой фазы пивной дробины (представленной на рис. 54),

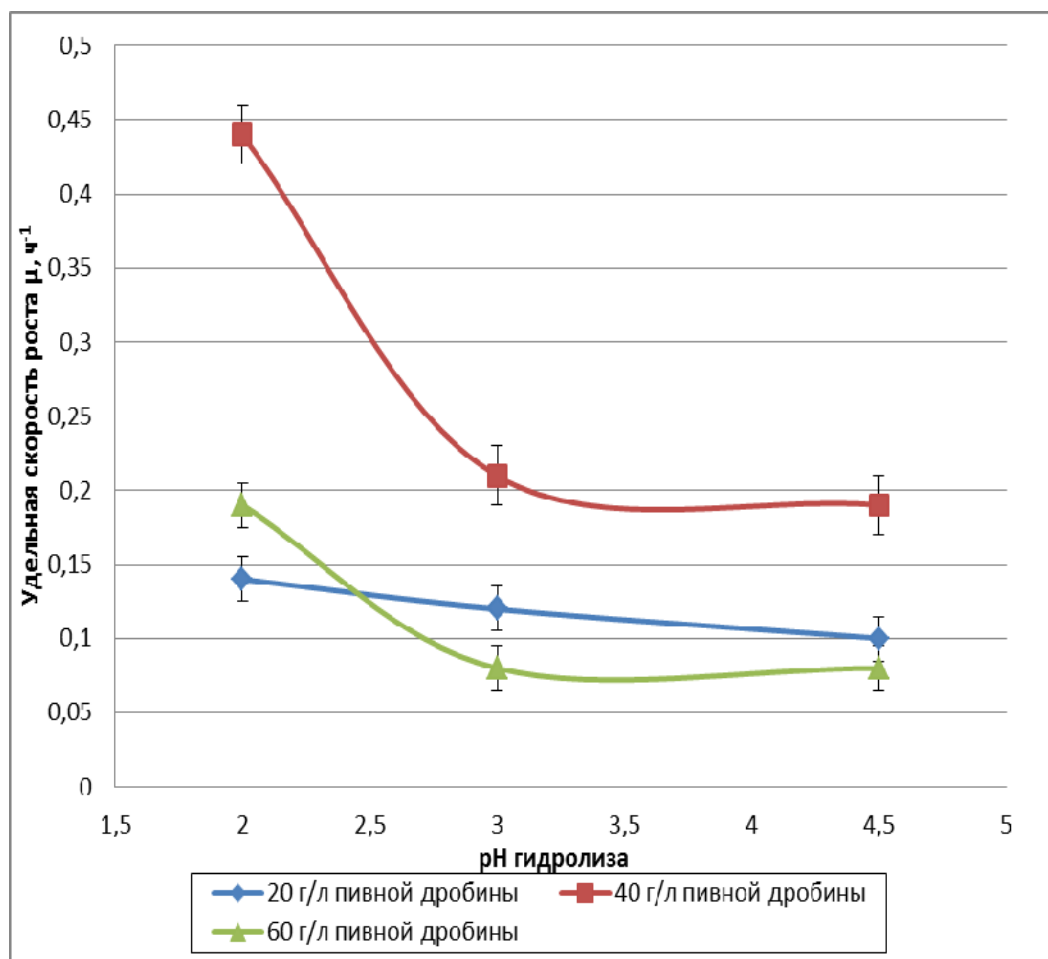


Рис. 54. Зависимость накопления биомассы дрожжами *Yarrowia lipolytica* от концентрации твёрдой фазы пивной дробины при различных значениях pH гидролиза.

Увеличение концентрации твёрдой фазы пивной дробины при любых значениях pH гидролиза приводит к увеличению накопления биомассы дрожжей. Причём, при увеличении концентрации твёрдой фазы с 20 до 40 г/л увеличение накопления биомассы в среде выражено сильнее, чем при увеличении концентрации с 40 до 60 г/л. Таким образом, максимальное накопление биомассы дрожжей (4,2 г/л) наблюдается при концентрации твёрдой фазы пивной дробины 60 г/л и pH гидролиза 2,0. В то же время, как видно из зависимостей удельной скорости роста дрожжей от концентрации

твёрдой фазы пивной дробины (показаны на рис. 55), максимальная удельная скорость роста в экспоненциальной фазе, в отличие от накопления биомассы, наблюдается при концентрации пивной дробины 40 г/л. Это говорит о том, что несмотря на увеличение накопления биомассы при увеличении концентрации твёрдой фазы пивной дробины с 40 до 60 г/л, скорость роста дрожжей снижается. Как снижение, так и увеличение концентрации пивной дробины приводит к снижению удельной скорости роста дрожжей.

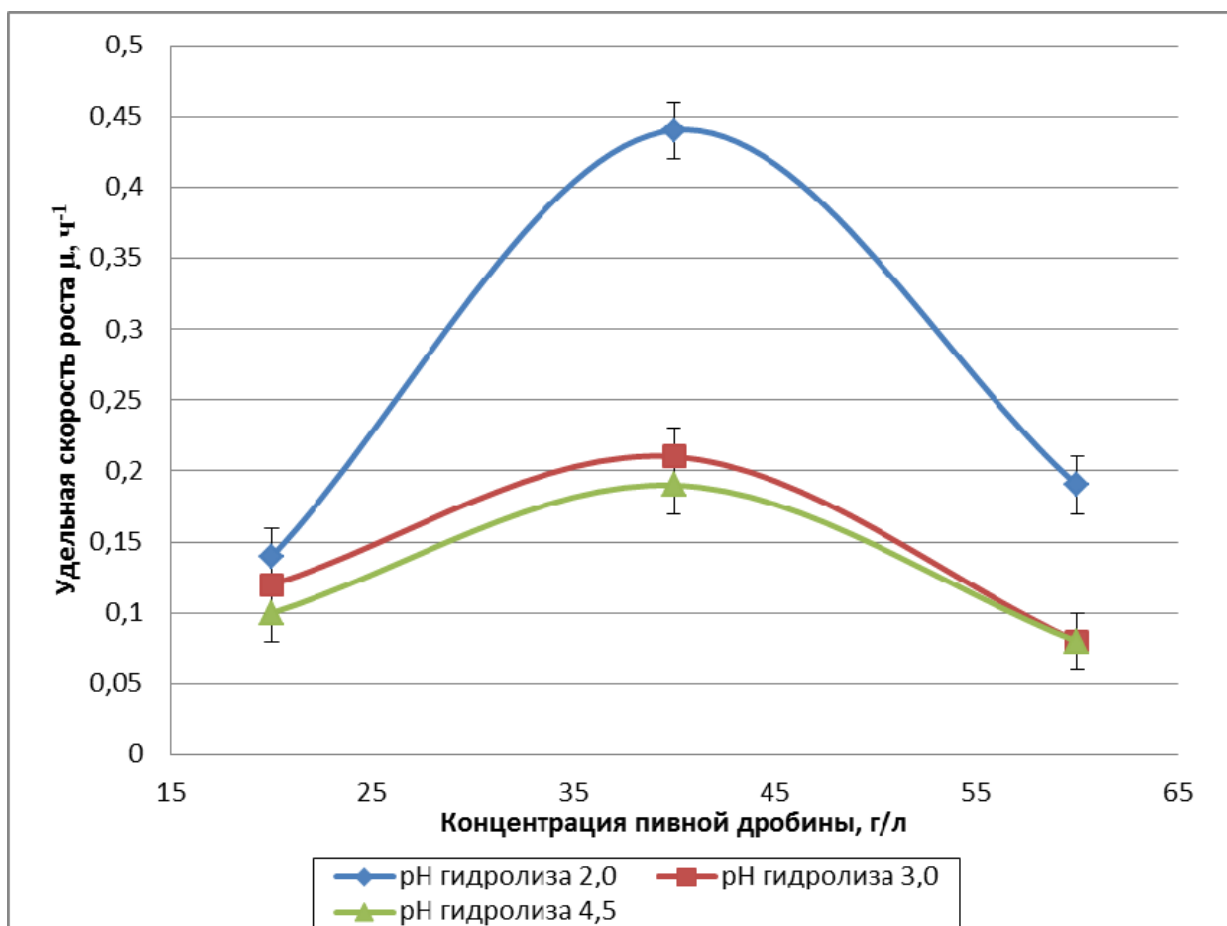


Рис. 55. Зависимость удельной скорости роста дрожжей *Yarrowia lipolytica* в экспоненциальной фазе роста от концентрации твёрдой фазы пивной дробины.

4. Культивирование дрожжей *Candida utilis*.

Результаты культивирования дрожжей *Candida utilis* в средах на основе гидролизатов твёрдой фазы пивной дробины при различных условиях гидролиза представлены на рис. 56 – 60.

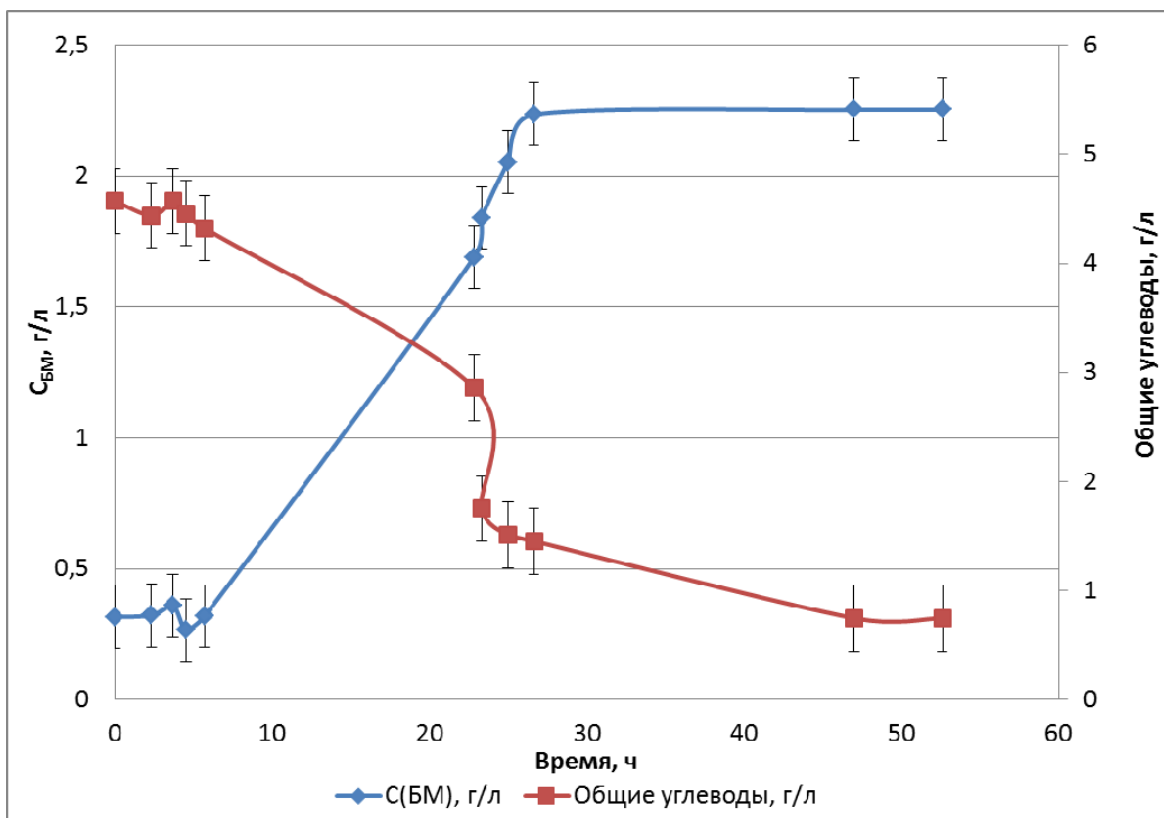


Рис. 56. Кривые роста и потребления углеводов дрожжами *Candida utilis* при концентрации твёрдой фазы пивной дробины 20 г/л и рН гидролиза 3,0.

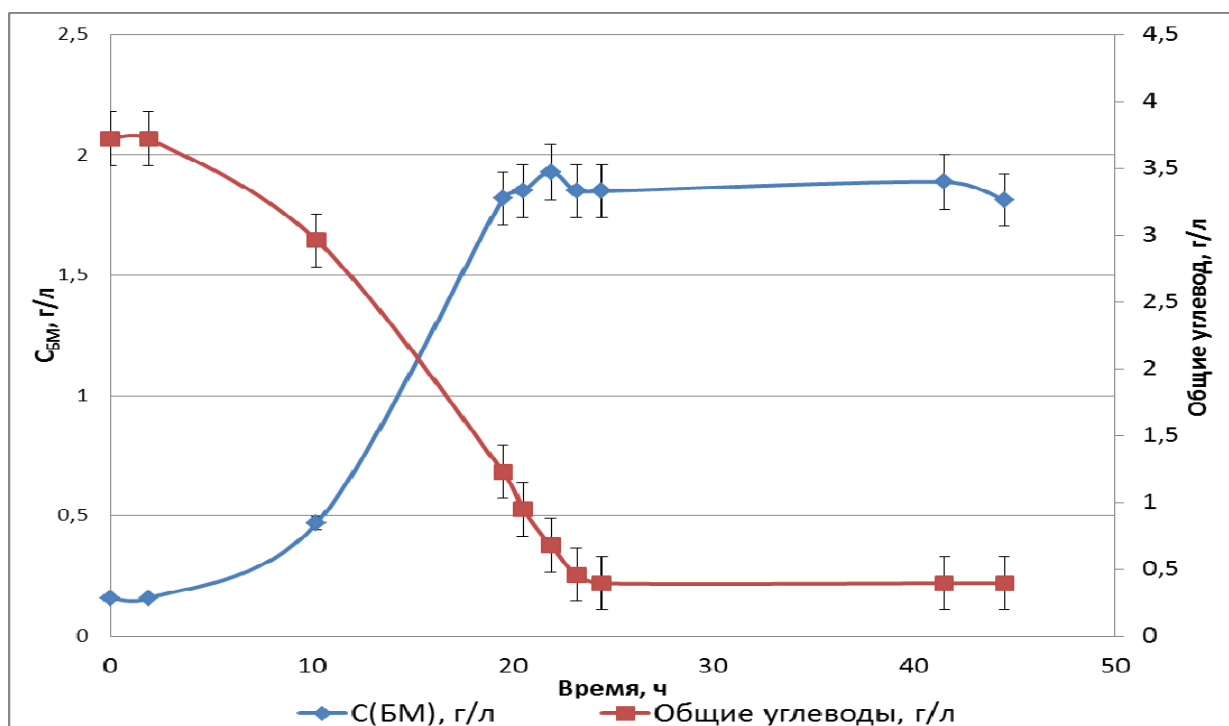


Рис. 57. Кривые роста и потребления углеводов дрожжами *Candida utilis* при концентрации твёрдой фазы пивной дробины 20 г/л и рН гидролиза 4,5.

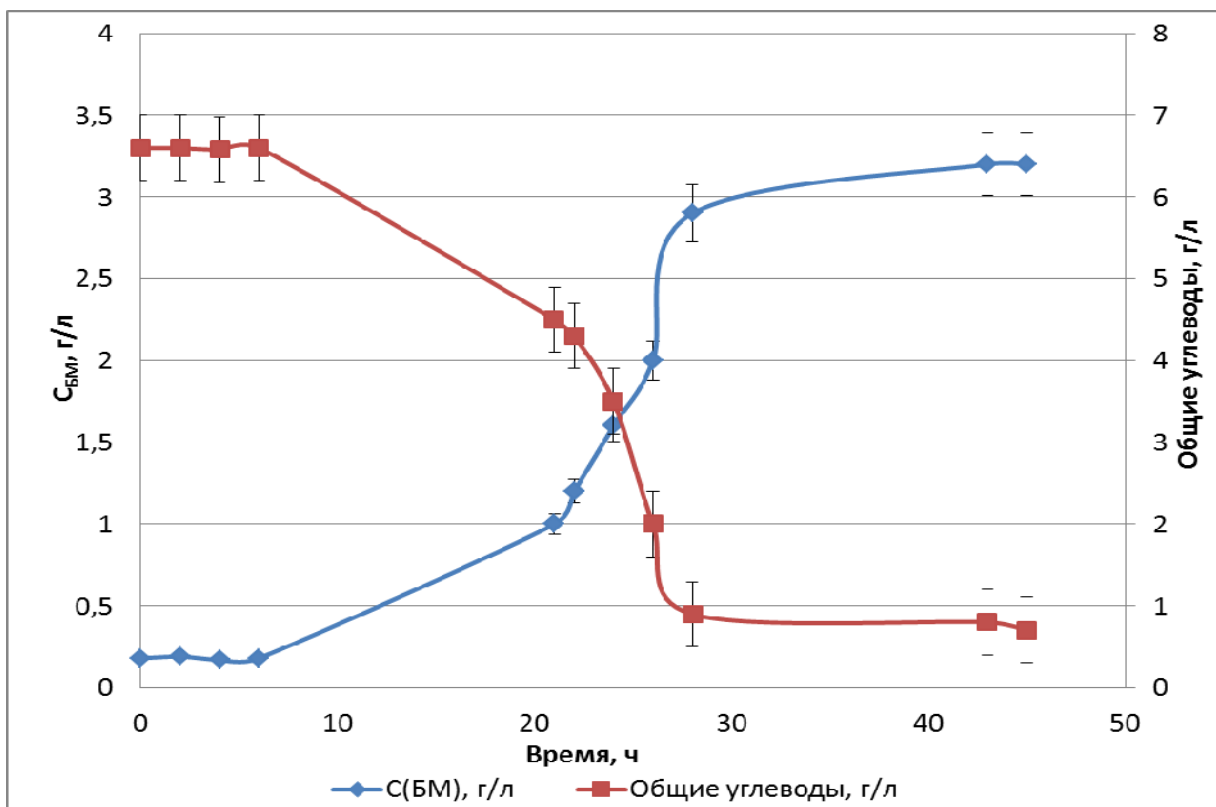


Рис. 58. Кривые роста и потребления углеводов дрожжами *Candida utilis* при концентрации твёрдой фазы пивной дробины 40 г/л и рН гидролиза 3,0.

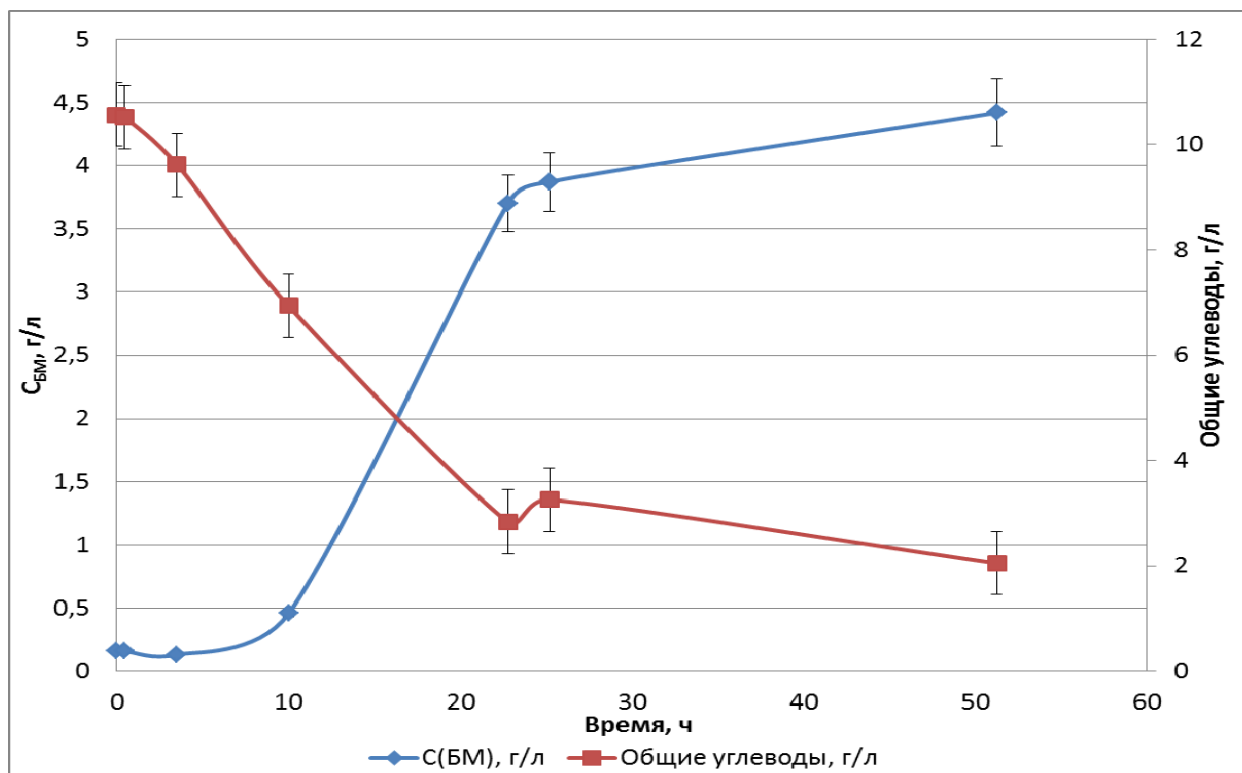


Рис. 59. Кривые роста и потребления углеводов дрожжами *Candida utilis* при концентрации твёрдой фазы пивной дробины 60 г/л и рН гидролиза 3,0.

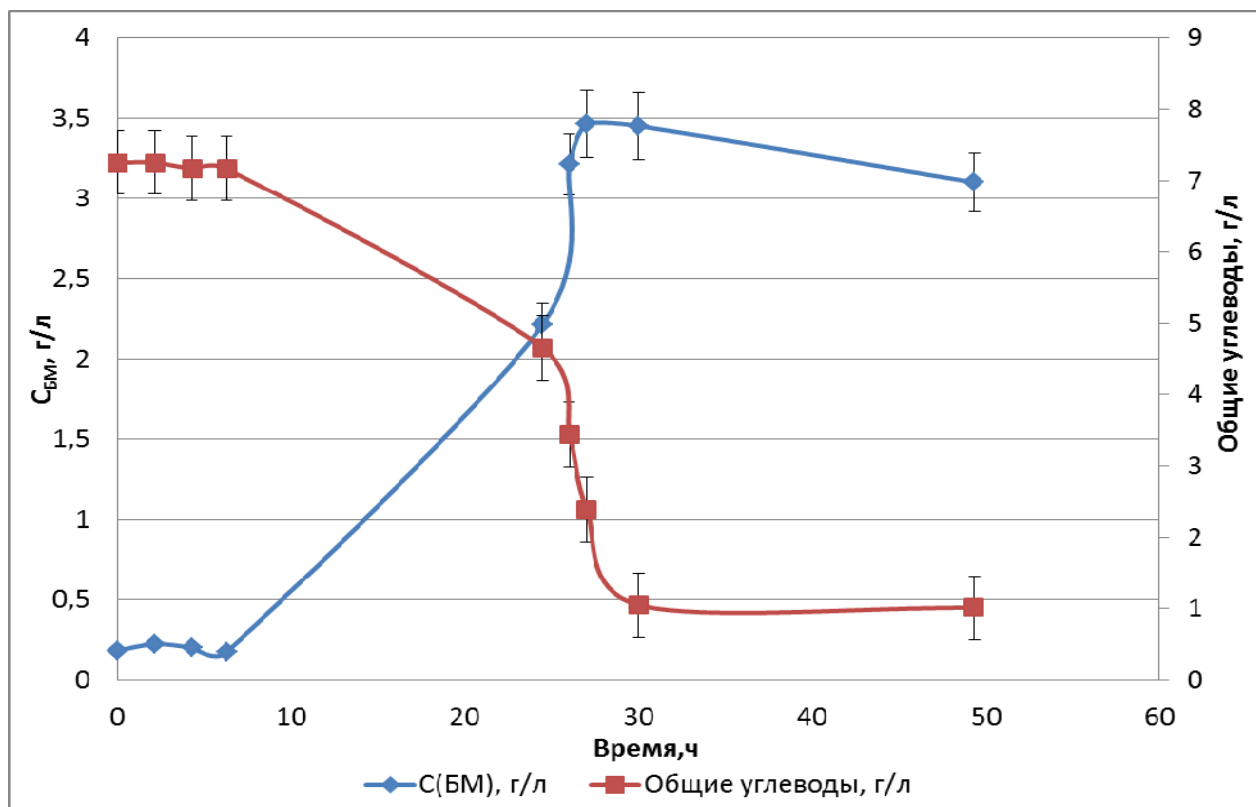


Рис. 60. Кривые роста и потребления углеводов дрожжами *Candida utilis* при концентрации твёрдой фазы пивной дробины 60 г/л и рН гидролиза 4,5.

Результаты культивирования дрожжей *Candida utilis* в средах на основе кислотных гидролизатов твёрдой фазы пивной дробины представлены в таблице. 9.

Таблица 9

Результаты культивирования дрожжей *Candida utilis* при различных рН гидролиза и концентрации твёрдой фазы пивной дробины.

Концентрация дробины, $C_{\text{дроб}}$, г/л (по АСВ)	рН гидролиза пивной дробины	Накопление биомассы, $C_{\text{БМ}}$, г/л	Удельная скорость роста дрожжей, μ , ч ⁻¹	Общие углеводы	
				$C_{\text{нач}}$, г/л	$C_{\text{кон}}$, г/л
20	3,0	2,3	0,15	4,6	0,75
	4,5	1,9	0,14	3,7	0,40
40	3,0	3,2	0,16	6,6	0,71
60	3,0	4,4	0,17	10,6	2,1
	4,5	3,5	0,15	7,3	1,0

Как видно из данных по культивированию дрожжей *Candida utilis* в средах на основе гидролизатов твёрдой фазы пивной дробины, снижение рН

гидролиза с 4,5 до 3,0 приводит к увеличению накопления биомассы дрожжей. Увеличение концентрации пивной дробины также приводит к увеличению накопления биомассы дрожжами. Снижение рН гидролиза пивной дробины приводит к снижению глубины потребления углеводов дрожжами. Эти зависимости аналогичны зависимостям, выявленным для дрожжей *Yarrowia lipolytica*.

Сравнение результатов культивирования различных штаммов кормовых микроорганизмов в средах на основе твёрдой фазы пивной дробины представлены в таблице 10.

Таблица 10

Результаты культивирования микроорганизмов в средах на основе гидролизатов твёрдой фазы ПД

Штамм	Основа питательной среда	Источник минеральных веществ	Накопление биомассы м/о, г/л
<i>C. scotti</i>	Твёрдая фаза пивной дробины	-	1,5
<i>C. scotti</i>	Твёрдая фаза пивной дробины	Минеральные соли	3,4
<i>E. fibuligera</i>	Твёрдая фаза пивной дробины	Минеральные соли	5,3
<i>Y. lipolytica</i>	Твёрдая фаза пивной дробины	Минеральные соли	4,1
<i>C. utilis</i>	Твёрдая фаза пивной дробины	Минеральные соли	3,2
<i>E. fibuligera</i>	Твёрдая фаза пивной дробины	Экстракт куриного помёта	5,1

Как видно из таблицы 10, из исследованных штаммов микроорганизмов максимальный прирост наблюдается у *E. fibuliger*, на 2-м месте - у *Y. lipolytica*, на 3-м месте – у *C. scott*, а наименьший прирост наблюдается у *C. utilis*. Также, из таблицы 1 видно, что сравнивать прирост *E. fibuligera* на

среде с твёрдой фазой пивной дробины и фильтратом гидролизата куриного помёта практически равен приросту на среде с минеральными солями. Таким образом, фильтрат гидролизата помёта может служить полноценной заменой последним.

3.3. Культивирование с рециклом фильтрата КЖ дрожжей *Candida scotti* в средах, содержащих гидролизат цельной пивной дробины.

На следующем этапе нашей работы мы проводили эксперимент по рециклу фильтрата культуральной жидкости. Для подготовки питательной среды для культивирования дрожжей *Candida scotti* мы гидролизовали цельную пивную дробину (с концентрацией 40 и 20 г/л по АСВ) в автоклаве при рН=4,5; 1,0 ати в течение 1 ч. Фильтровали полученную суспензию через фильтр "Бельтинг". Эксперимент по рециклу фильтрата КЖ на основе среды, содержащей 40 г/л пивной дробины, мы проводили в двух повторностях, а эксперимент по рециклу фильтрата КЖ на основе гидролизата пивной дробины с концентрацией 20 г/л мы проводили в одной повторности. Результаты эксперимента представлены в таблицах 11, 12 и 13. Изменение накопления биомассы по рециклам представлено на рис. 61.

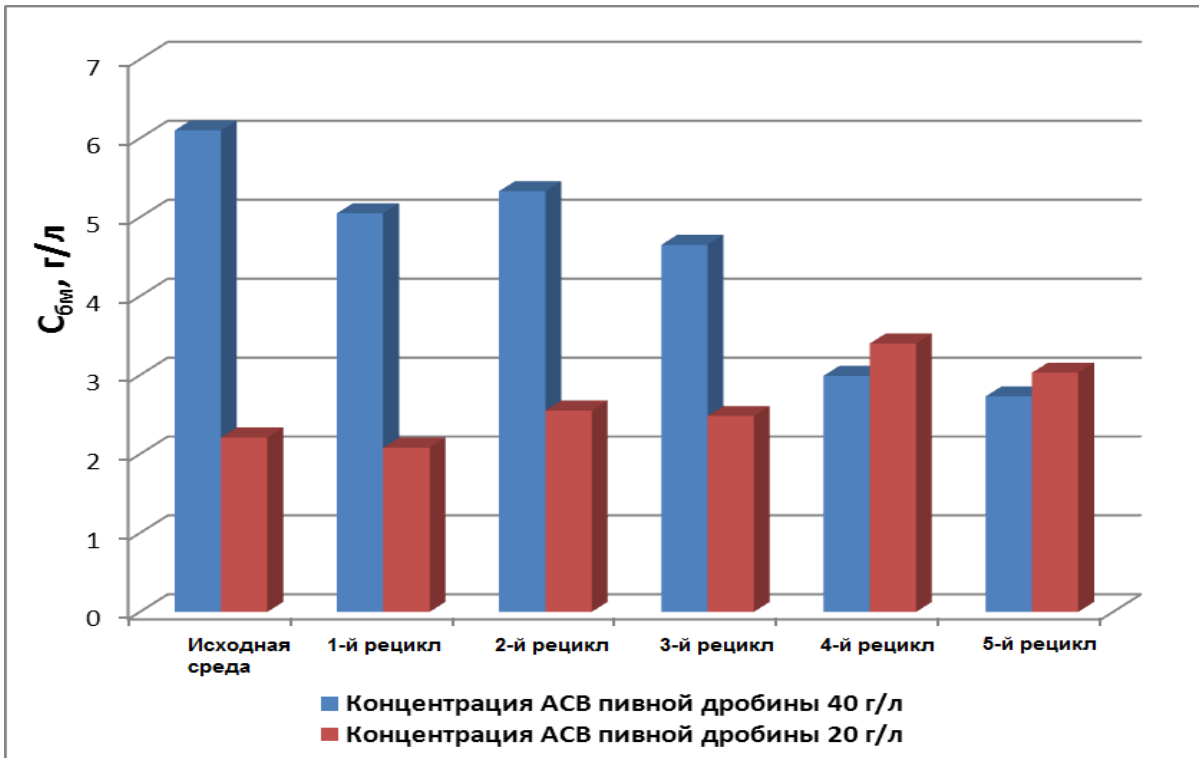


Рис. 61. Зависимость величины накопления биомассы дрожжами *Candida scotti* при культивировании дрожжей с рециклом фильтрата КЖ от номера рецикла.

Таблица 11

Результаты культивирования с рециклом фильтрата КЖ дрожжей *Candida scotti* в среде с концентрацией пивной дробины 40 г/л (1-я повторность).

Номер рецикла	Объём фильтрата КЖ на рецикл	С _{БМ} , г/л	Общие углеводы нач., г/л	Общие углеводы кон., г/л	[NH ₄] ⁺ нач. мг/л	[NH ₄] ⁺ кон. мг/л	[PO ₄] ³⁻ нач. мг/л	[PO ₄] ³⁻ кон. мг/л	Производительность фильтрации, G, л/м ² ·ч	Концентрация биомассы в фильтрате, С _{БМ(фильтр)} , мг/л	Проницаемость фильтра, X, %	Степень осветления КЖ, К	Сырой протеин, %
Исходная среда	-	5,6	11,5	1,6	64,4	10,5	68,1	4,1	79,3	524,2	3,27	30,6	37,5
1	67	4,9	11,4	2,2	70,3	81,4	62,6	30,3	71,3	79,9	0,57	176,3	-
2	64	5,9	11,0	2,5	90,8	14,1	69,5	30,6	95,4	67,0	0,39	256,2	-
3	59	4,4	11,6	2,5	285,9	56,5	83,8	35,4	88,4	100,7	0,80	125,7	-
4	63	2,9	11,0	2,6	52,1	32,2	81,3	25,2	106,1	111,4	1,31	76,1	-
5	64	3,0	11,9	3,2	42,2	2,6	83,9	-	69,5	23,2	0,27	374,0	34,0

Таблица 12

Результаты культивирования с рециклом фильтрата КЖ дрожжей *Candida scotti* в среде с концентрацией пивной дробины 40 г/л (2-я повторность)

Номер рецикла	Объём фильтрата КЖ на рецикл	$S_{\text{БМ}}$, г/л	Общие углеводы нач., г/л	Общие углеводы кон., г/л	$[\text{NH}_4]^+$ нач. мг/л	$[\text{NH}_4]^+$ кон. мг/л	$[\text{PO}_4]^{3-}$ нач. мг/л	$[\text{PO}_4]^{3-}$ кон. мг/л	Производительность фильтрации, Г, л/м ² ·ч	Концентрация биомассы в фильтрате, $S_{\text{БМ(фильтр)}}$, мг/л	Проницаемость фильтра, X, %	Степень осветления КЖ, К
Исходная среда	-	6,6	11,7	1,9	73,2	5,9	62,0	8,9	-	-	-	-
1	55	5,2	11,6	2,1	278,3	70,0	51,7	9,8	80,9	22,7	0,15	660,0
2	50	4,7	10,9	2,2	82,0	40,1	65,4	13,8	92,6	32,7	0,24	424,3
3	51	4,9	11,1	2,2	277,7	54,5	95,7	18,3	62,1	68,6	0,48	210,1
4	29	3,0	11,2	3,0	37,2	19,0	51,4	20,0	87,5	141,2	1,61	62,0
5	61	2,5	11,3	2,9	39,3	3,8	56,2	15,7	97,3	12,9	0,18	557,1

Таблица 13

Результаты культивирования с рециклом фильтрата КЖ дрожжей *Candida scotti* в среде с концентрацией пивной дробины 20 г/л.

Номер рецикла	Объём фильтрата КЖ на рецикл	С _{БМ} , г/л	Общие углеводы нач., г/л	Общие углеводы кон., г/л	[NH ₄] ⁺ нач. мг/л	[NH ₄] ⁺ кон. мг/л	[PO ₄] ³⁻ нач. мг/л	[PO ₄] ³⁻ кон. мг/л	Производительность фильтрации, G, л/м ² ·ч	Концентрация биомассы в фильтрате, С _{БМ(фильтр)} , мг/л	Проницаемость фильтра, X, %	Степень осветления КЖ, К	Сырой протеин, %
Исходная среда	-	2,2	7,1	2,6	171,3	22,00	44,3	10,8	245,9	120,8	1,89	52,9	37,3
1	68	2,1	7,5	2,0	127,4	55,4	43,4	13,1	335,4	46,4	0,77	129,7	-
2	74	2,6	7,6	1,9	126,5	27,5	62,3	20,1	141,6	59,5	0,81	123,1	-
3	73	2,5	7,3	1,3	33,1	8,2	52,0	24,8	143,7	63,1	0,88	113,0	-
4	70	3,4	8,1	1,9	36,9	-	59,6	-	84,4	20,6	0,21	475,6	-
5	72	3,0	6,8	1,3	24,3	14,4	52,2	17,9	114,8	219,6	2,51	39,8	37,9

Зависимость концентрации углеводов в среде от номера рецикла представлена на рис. 62.

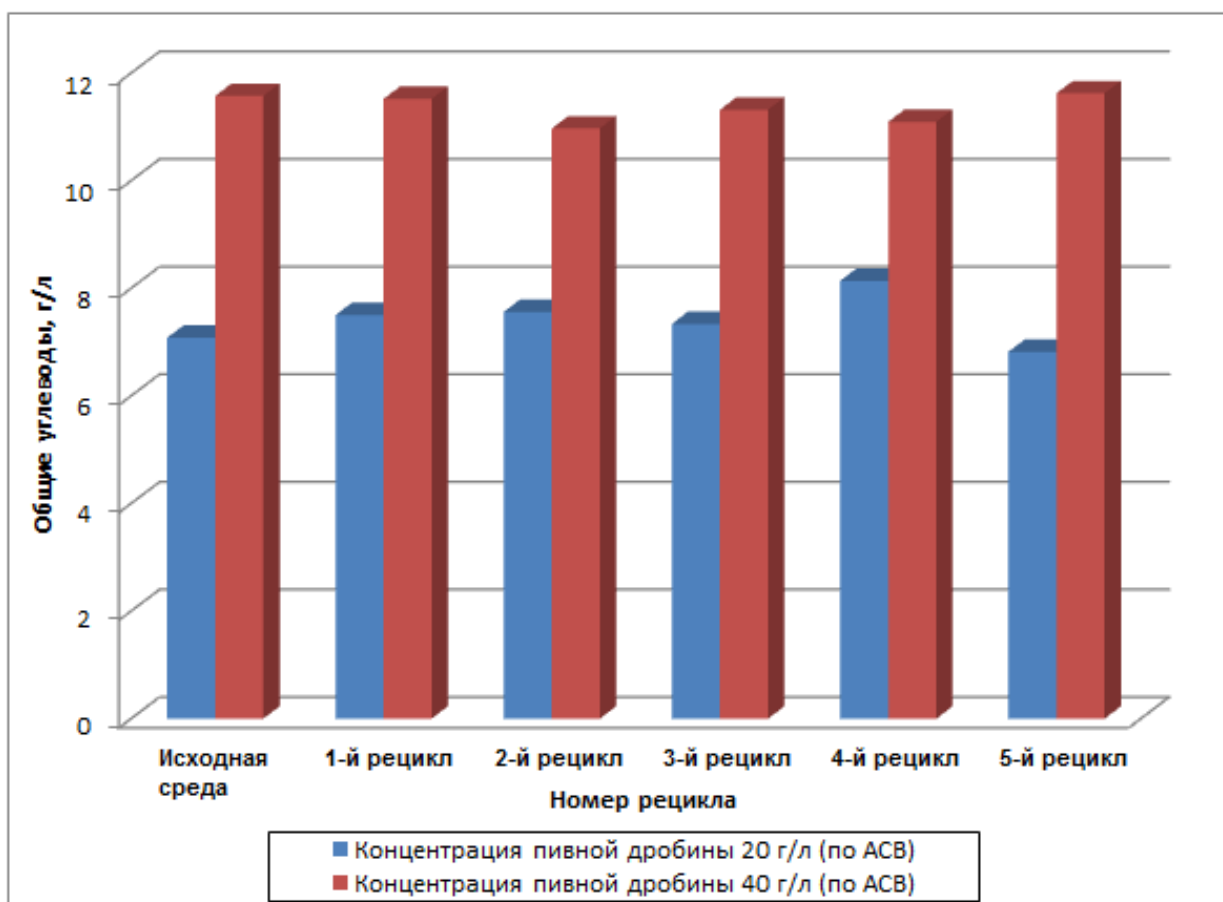


Рис. 62. Зависимость концентрации углеводов в среде при культивировании дрожжей *Candida scotti* от номера рецикла фильтрата КЖ.

Производительность фильтрации по рециклам представлена на рис. 63.

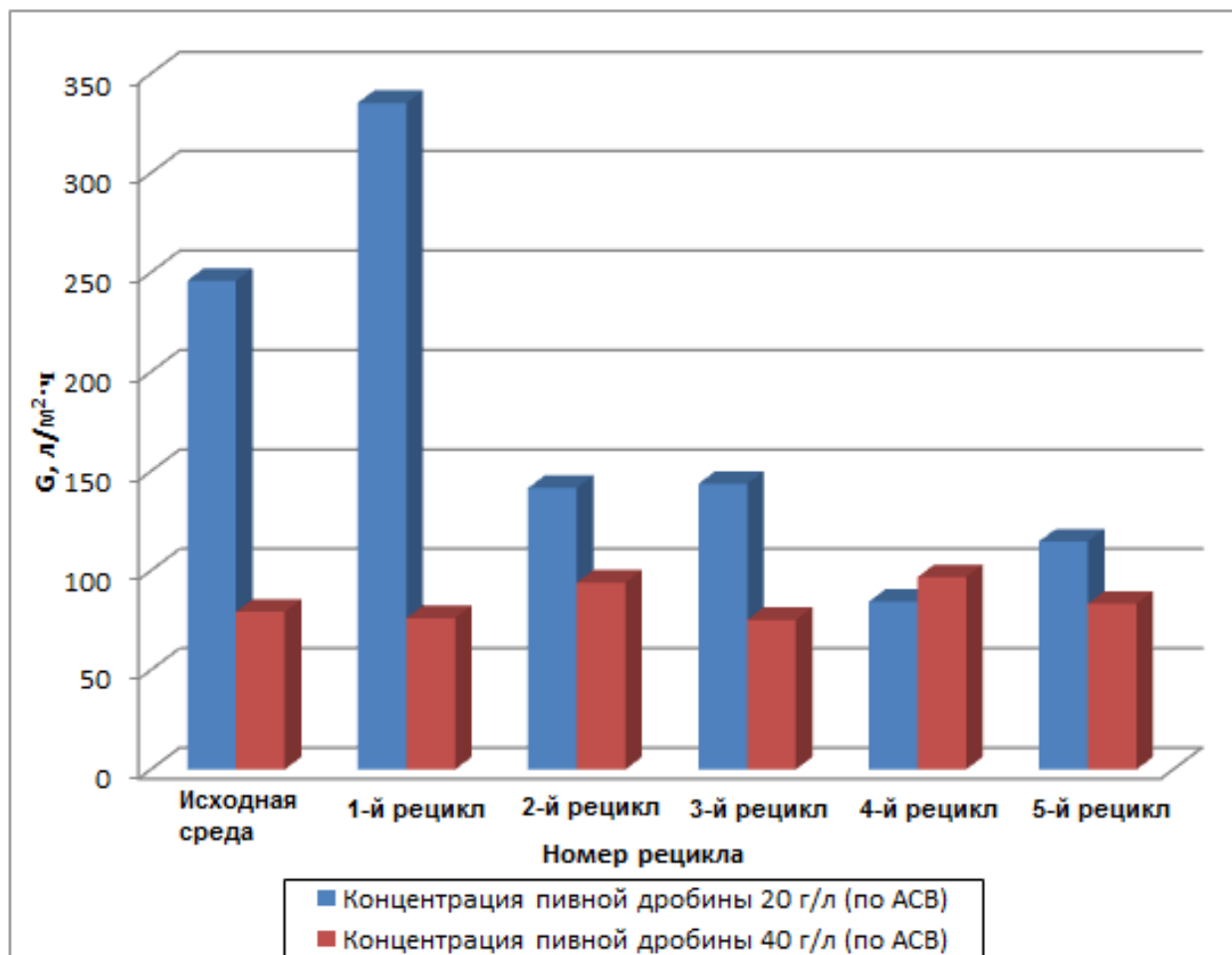


Рис. 63. Зависимость производительности фильтрации от номера рецикла при культивировании *Candida scotti* с рециклом фильтрата КЖ.

Как видно из рис. 61, при увеличении номера рецикла накопление биомассы дрожжей при концентрации пивной дробины в среде 40 г/л снижается в 2 раза (с 6,1 г/л в исходной среде до 2,75 г/л в среде после 5-го рецикла КЖ). Причём до 3-го рецикла фильтрата КЖ снижение накопления биомассы дрожжей не столь значительно. Так, после третьего рецикла прирост биомассы дрожжей составляет 4,65 г/л, что только на 23,8% ниже, чем в среде, приготовленной на основе не прошедшей рецикл среды. Наиболее резкий спад накопления биомассы наблюдается после 4-го рецикла фильтрата КЖ. Так, накопление биомассы после 4-го рецикла составляет 3,2 г/л, что на 31,2 % ниже, чем после 4-го рецикла и почти в 2 раза ниже, чем

при культивировании в исходной среде (не прошедшей рецикл). В то же время, как видно из рис. 61, при культивировании дрожжей в среде на основе гидролизата пивной дробины с концентрацией 20 г/л снижения накопления биомассы дрожжей при увеличении номера рецикла не происходит, а, напротив, наблюдается некоторый рост накопления биомассы с 2,2 и 2,1 г/л, соответственно, в исходной среде и среде после 1-го рецикла до 3,4 и 3,0 г/л при 4-м и 5-м рецикле фильтрата КЖ. Мы предполагаем, что снижение накопления биомассы при культивировании в среде с концентрацией пивной дробины 40 г/л объясняется накоплением ингибиторов роста. При культивировании в среде с концентрацией пивной дробины 20 г/л влияние ингибиторов роста с увеличением номера рецикла не наблюдается в связи с меньшим приростом биомассы дрожжей. Как видно из рис.61, концентрация углеводов в среде почти не зависит от номера рецикла и колеблется в пределах от 6,8 до 8,1 г/л при концентрации пивной дробины 20 г/л и от 10,9 до 11,9 г/л при концентрации пивной дробины 40 г/л. Как видно из рис.62, с увеличением номера рецикла производительность фильтрации для среды с концентрацией пивной дробины 20 г/л снижается очень быстро, с 245,92 и 335,35 л/м²·ч соответственно для исходной среды и после 1-го рецикла до 84,41 и 114,76 л/м²·ч – для 4-го и 5-го рецикла. Таким образом, наблюдается 3-х кратное снижение производительности фильтрации. В то же время, как видно из рис. 63, для среды с концентрацией пивной дробины 40 г/л такого снижения не наблюдается и во всех рециклах производительность фильтрации колеблется на одном уровне - от 75,25 до 96,77 л/м²·ч. Причём к 4 – му - 5 – му рециклам производительность фильтрации для сред с концентрацией пивной дробины 20 и 40 г/л сравнивается. Мы высказали предположение, что снижение производительности фильтрации вызывается, прежде всего, блокированием пор фильтра высокомолекулярными полисахаридами и белками. Резкое снижение производительность фильтрации для среды с концентрацией пивной дробины 20 г/л объясняется невысокой концентрацией

полисахаридов и белков в среде до рецикла фильтрата КЖ. Однако, концентрация их резко увеличивается с увеличением номера рецикла, пока не достигает некоего равновесного значения. В случае концентрации пивной дробины в среде 40 г/л концентрация высокомолекулярных соединений находится на высоком уровне (близкому к равновесному состоянию) уже в исходной среде и дальнейшего увеличения их концентрации при увеличении количества рециклов не происходит. Как видно из таблицы 13, при концентрации пивной дробины 40 г/л концентрация сырого протеина в готовом продукте снижается с 37,49% (при культивировании в исходной среде) до 33,97% (в среде после 5-го рецикла фильтрата КЖ), что объясняется снижением накопления биомассы дрожжей к 5-му рециклу. Как видно из таблицы 15, при культивировании дрожжей в среде с концентрацией пивной дробины 20 г/л концентрация сырого протеина почти не меняется после многократного рецикла КЖ. Так в исходной среде концентрация сырого протеина в готовом продукте составила 37,25 %, а после 5-го рецикла КЖ - 37,91%.

3.4. культивирования *Endomycopsis fibuligera* в средах на основе кислотных гидролизатов твёрдой фазы пивной дробины с добавлением фильтрата гидролизата куриного помёта.

На следующем этапе нашей работы мы исследовали возможность замены солей куриным помётом при культивировании микроорганизмов в средах на основе гидролизатов пивной дробины. Куриный помёт содержит высокие концентрации соединений азота, фосфора, кальция, различных макро- и микроэлементов. В то же время, гидролизаты пивной дробины содержат значительную концентрацию углеводов, но имеют значительный недостаток минеральных веществ, и, особенно, азота, фосфора и микроэлементов. Добавка в качестве источника питательных веществ куриного помёта позволит одновременно обеспечить его эффективную утилизацию и экономить на минеральных солях, добавляемых в среды на

основе пивной дробины как дополнительные источники питательных веществ. В среду на основе гидролизатов пивной дробины мы добавляли не цельный куриный помёт, а фильтрат гидролизата, так как цельный помёт содержит большое количество посторонних твёрдых примесей, такие как камни, песок, остатки перьев, не переваренные грубые части растений, и так далее.

Мы проводили эксперименты по подбору оптимальной концентрации экстракта помёта, как источника минерального питания для микроорганизмов. Мы варьировали концентрацию экстракта помёта при постоянном содержании пивной дробины в КЖ, равном 40 г/л по АСВ. Результаты эксперимента представлены на рис. 64.

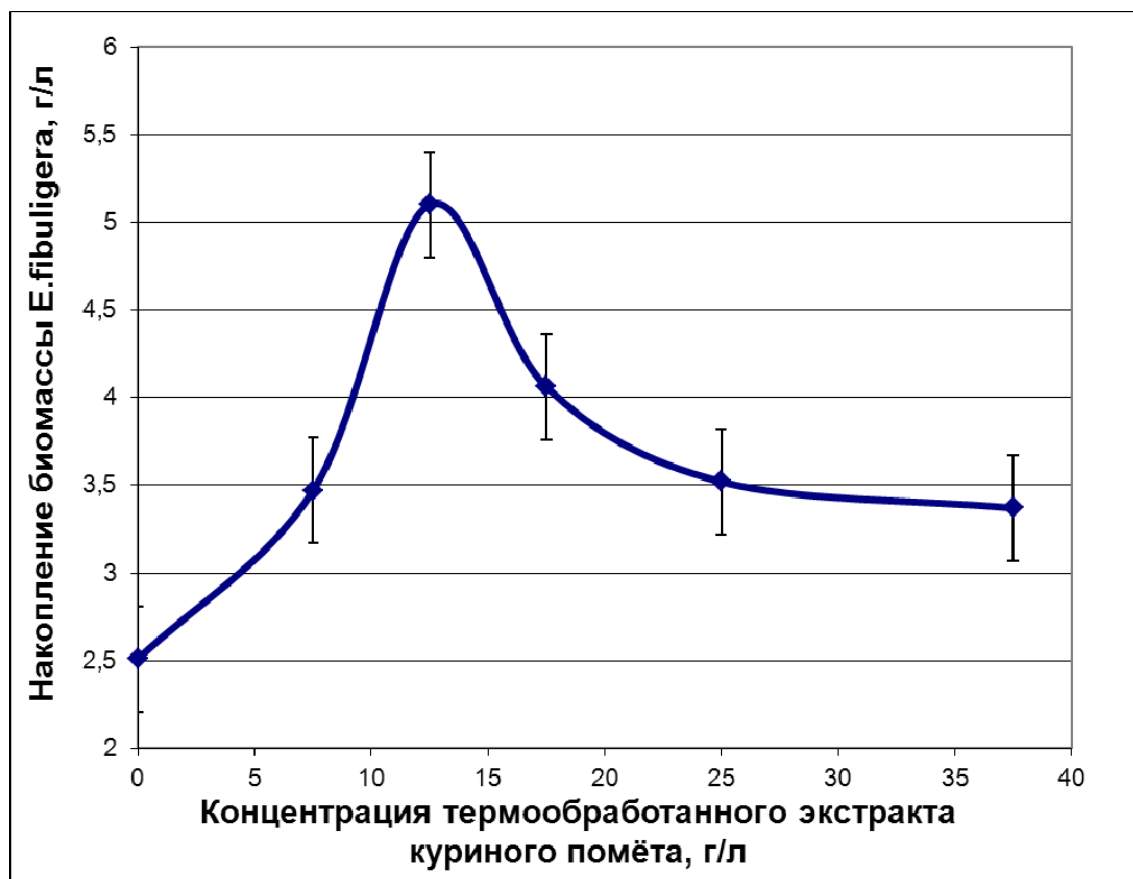


Рис. 64. Зависимость накопления биомассы *Endomycopsis fibuligera* от концентрации экстракта куриного помёта.

Как видно из рис.63, оптимальной концентрацией экстракта помёта является концентрация 12,5 г/л по АСВ. При более низком содержании экстракта помёта в среде наблюдается недостаток питательных веществ, поэтому прирост биомассы снижается, а более высокая концентрация экстракта помёта в среде, видимо, приводит к ингибированию роста дрожжей.

3.5. Культивирование дрожжей в средах на основе ферментативных и смешанных (с последовательным применением ферментативного и кислотного гидролиза) гидролизатов цельной пивной дробины

На следующем этапе нашей работы мы проводили культивирование дрожжей в средах на основе ферментативных гидролизатов цельной пивной дробины. Сравнительные результаты культивирования *C.scotti* в средах при различных способах гидролиза пивной дробины представлены в таблице 14.

Таблица 14

Результаты культивирования *C.scotti* в средах на основе гидролизатов цельной ПД

Штамм	Среда	Способ гидролиза	Накопление биомассы м/о, С _{бм} , г/л
<i>C. scotti</i>	Цельная пивная дробина, мин. соли	Кислотный	6,1
<i>C. scotti</i>	Цельная пивная дробина, мин. соли	Ферментативный	8,0
<i>C. scotti</i>	Цельная пивная дробина, мин. соли	Смешанный (кислотный + ферментативный)	7,2

Результаты культивирования дрожжей *Candida scotti* в среде на основе ферментативного гидролизата цельной пивной дробины представлены на рис. 65.

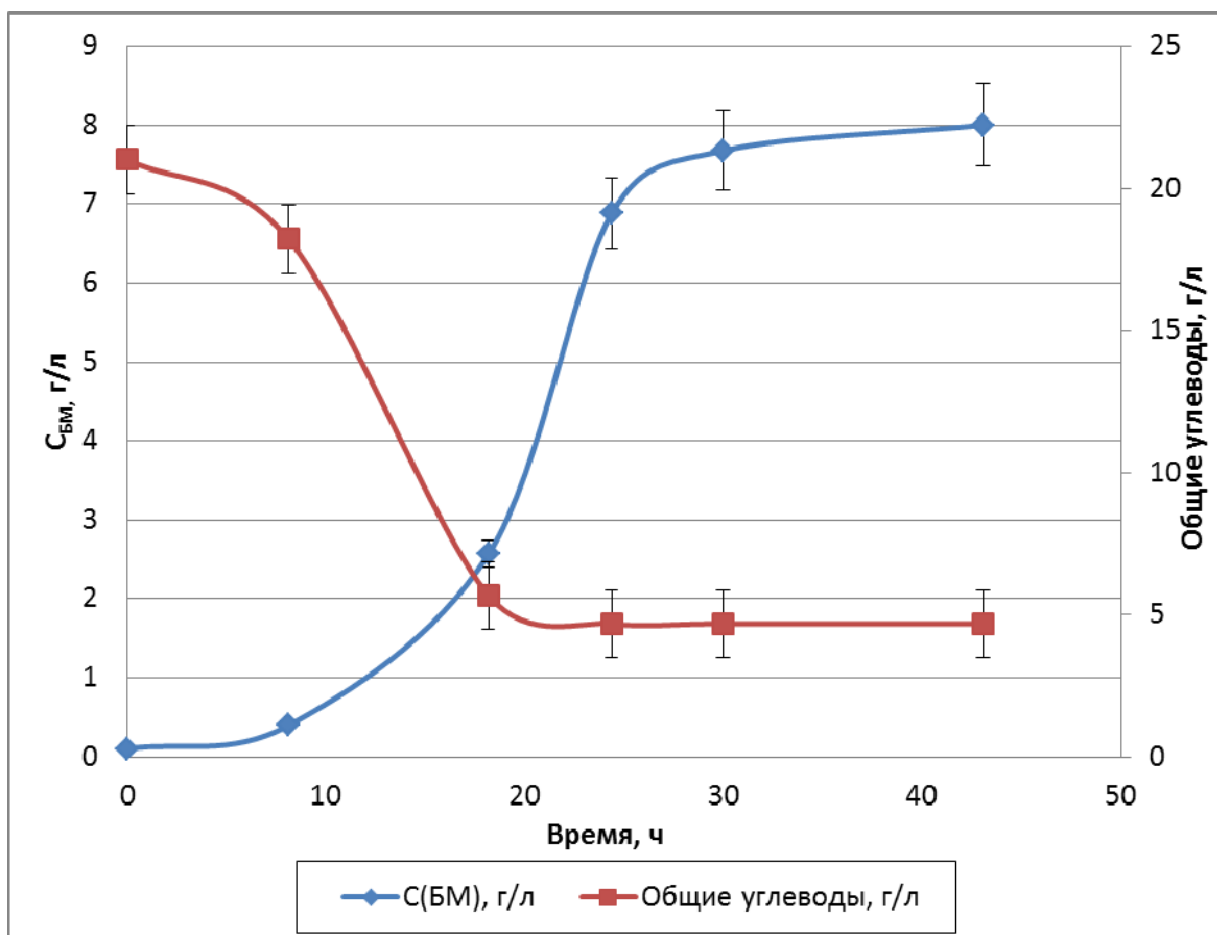


Рис. 65. Кривые роста и потребления питательных веществ дрожжами *Candida scottii* при культивировании в среде на основе ферментного гидролизата цельной пивной дробины.

Как видно из приведённых данных, при культивировании дрожжей *C. scottii* в среде на основе ферментативного гидролизата цельной пивной дробины накопление биомассы составило 8,0 г/л, что превышает аналогичный показатель для кислотного гидролизатов (6,1 г/л). При этом концентрации углеводов в среде на основе ферментативного и кислотного гидролизатов пивной дробины близки и составляют, соответственно, 10,4 и 11,8 г/л. Это объясняется более высокой доброкачественностью углеводов, образующихся при мягких условиях ферментативного гидролиза по сравнению с жёсткими условиями кислотного гидролиза. Из таблицы 3 видно, что прирост *C. scottii* при культивировании в среде на основе ферментативного гидролизата пивной дробины на 31% выше по сравнению со средой на

основе кислотного гидролизата, что, скорее всего, говорит о более высокой доброкачественности углеводов. В то же время, смешанный гидролиз обеспечивает меньший прирост по-сравнению с ферментативным. Таким образом, применение смешанного гидролиза пивной дробины нецелесообразно.

3.6. Исследование процесса фильтрации культуральной жидкости.

3.6.1. Исследование фильтрации культуральной жидкости через фильтрующий материал «Бельтинг»

На следующем этапе нашей работы мы исследовали процесс фильтрации КЖ через фильтр «Бельтинг» после глубинного гетерофазного культивирования различных микроорганизмов. Мы исследовали зависимость производительности фильтрации от концентрации пивной дробины, рН гидролиза и штамма микроорганизма.

1. Исследование фильтрации культуральной жидкости после культивирования *Candida scotti*.

Параметры процесса фильтрации КЖ через фильтр «Бельтинг» после культивирования дрожжей *Candida scotti* при различных значениях рН гидролиза пивной дробины представлены в таблице 15. Зависимость производительности фильтрации КЖ через фильтр «Бельтинг» от рН гидролиза пивной дробины при концентрации цельной пивной дробины 20 и 40 г/л после культивирования дрожжей *Candida scotti* представлена на рис. 66.

Показатели фильтрации КЖ через фильтр «Бельтинг» после культивирования дрожжей *Candida scotti* при различных рН гидролиза и концентрации пивной дробины

рН гидролиза	Концентрация дробины, г/л	Производительность фильтрации, G, л/м ² ·ч	Количество клеток в суспензии, N, млн. кл./мл	Количество клеток в фильтрате, N _{фильтр} , млн. кл./мл	Проницаемость фильтра, X, %	Степень осветления КЖ, K
2,0	20	197,3	62,0	0,36	0,58	170,8
	40	98,2	173,5	1,93	1,11	89,9
3,0	20	323,4	88,7	0,83	0,93	107,5
	40	163,4	247,0	0,92	0,37	267,3
4,5	20	210,1	129,8	1,43	1,10	90,8
	40	99,6	356,5	0,61	0,17	581,6
5,6	20	154,2	95,1	1,72	1,80	55,5
	40	68,93	214	3,531	1,650	60,61

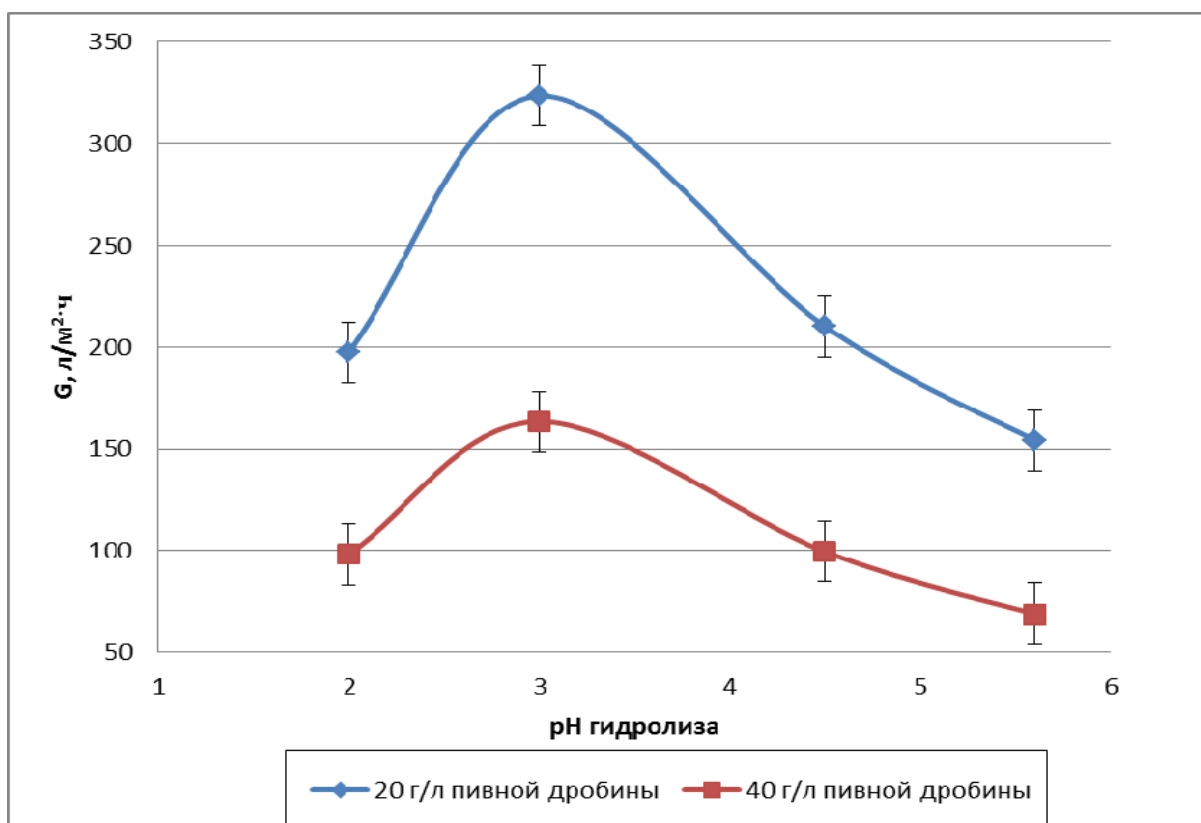


Рис. 66. Зависимость производительности фильтрации культуральной жидкости от рН гидролиза пивной дробины.

Как видно из рис. 66, максимальная производительность фильтрации суспензии наблюдается при рН гидролиза пивной дробины 3,0 (323,4 л/м²·ч при концентрации пивной дробины 20 г/л и 163,37 л/м²·ч при концентрации пивной дробины 40 г/л). Уменьшение производительности фильтрации при увеличении рН гидролиза объясняется образованием коллоидного раствора из непрогидролизованых полисахаридов, которые забивают поры фильтра. Уменьшение производительности фильтрации при снижении рН гидролиза пивной дробины объясняется сильным измельчением частиц пивной дробины, которые забивают фильтр. Снижение производительности фильтрации при увеличении концентрации пивной дробины объясняется общим увеличением содержания частиц, забивающих поры фильтра.

2. Исследование фильтрации суспензий после культивирования *Endomycopsis fibuligera*.

Зависимость производительности фильтрации КЖ после культивирования *Endomycopsis fibuligera* в средах на основе кислотных гидролизатов пивной дробины от концентрации пивной дробины представлена на рис. 67.

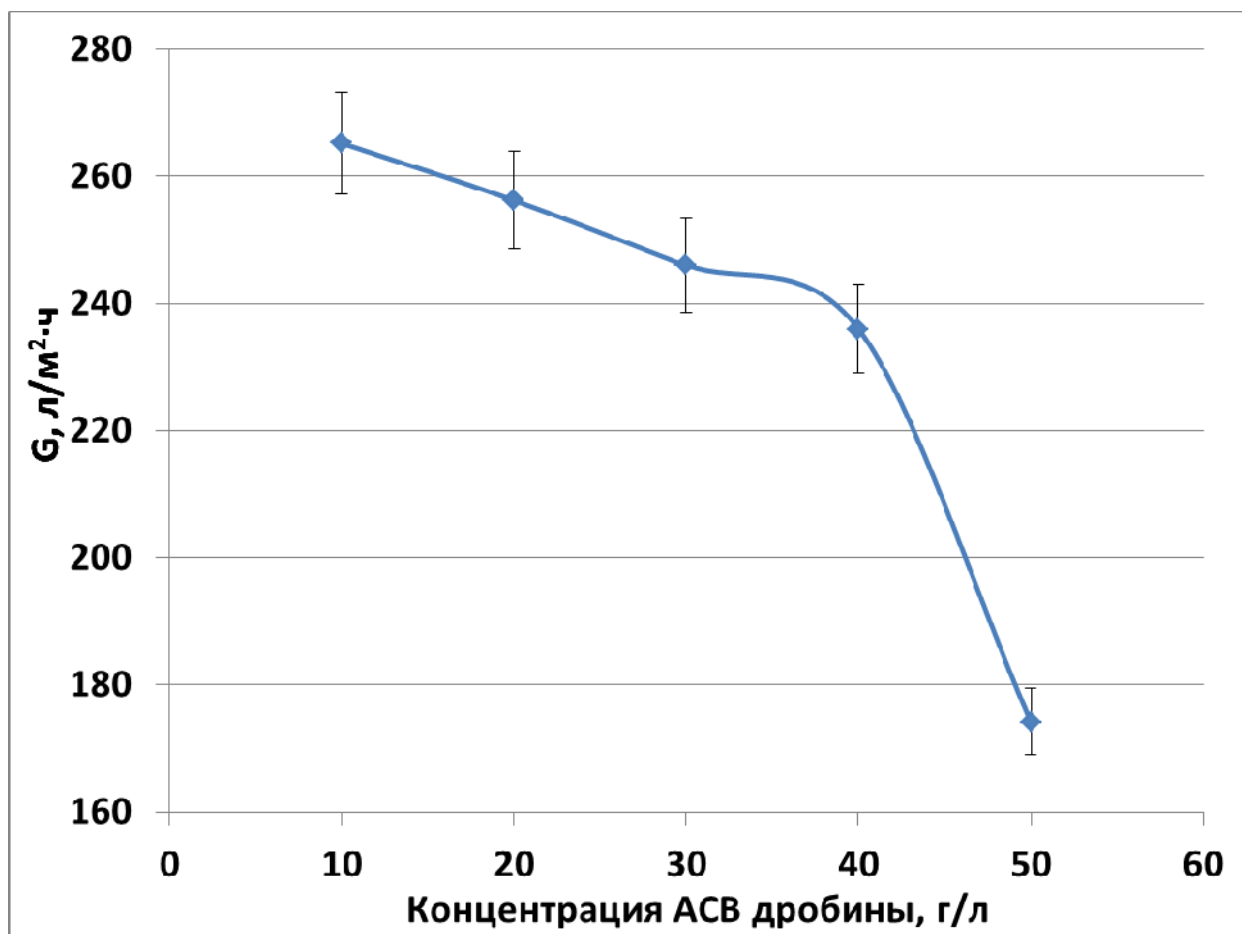


Рис. 67. Зависимость производительности фильтрации КЖ через фильтр "Бельтинг" после культивирования *Endomycopsis fibuligera* от концентрации пивной дробины.

Как видно из рис. 67, при увеличении концентрации твёрдой фазы пивной дробину в среде производительность фильтрации снижается. Однако при увеличении концентрации твёрдой фазы пивной дробины с 10 до 40 г/л это снижение довольно медленное – с 265,2 до 236,0 л/м²·ч, а при увеличении концентрации с 50 до 40 г/л наблюдается резкое снижение производительности фильтрации – с 236,0 до 174,2 л/м²·ч. На основании данных по содержанию сырого протеина в готовом продукте (рис. 40) и данных по производительности фильтрации (рис. 69) мы можем сделать вывод, что самой оптимальной концентрацией твёрдой фазы пивной дробины для культивирования *Endomycopsis fibuligera* является концентрация 40 г/л. При данной концентрации наблюдается максимальное накопление сырого

протеина (35,75%), а производительность фильтрации находится на высоком уровне.

Зависимость производительности фильтрации КЖ через фильтр «Бельтинг» от рН культивирования *Endomycopsis fibuligera* представлена на рис. 68.

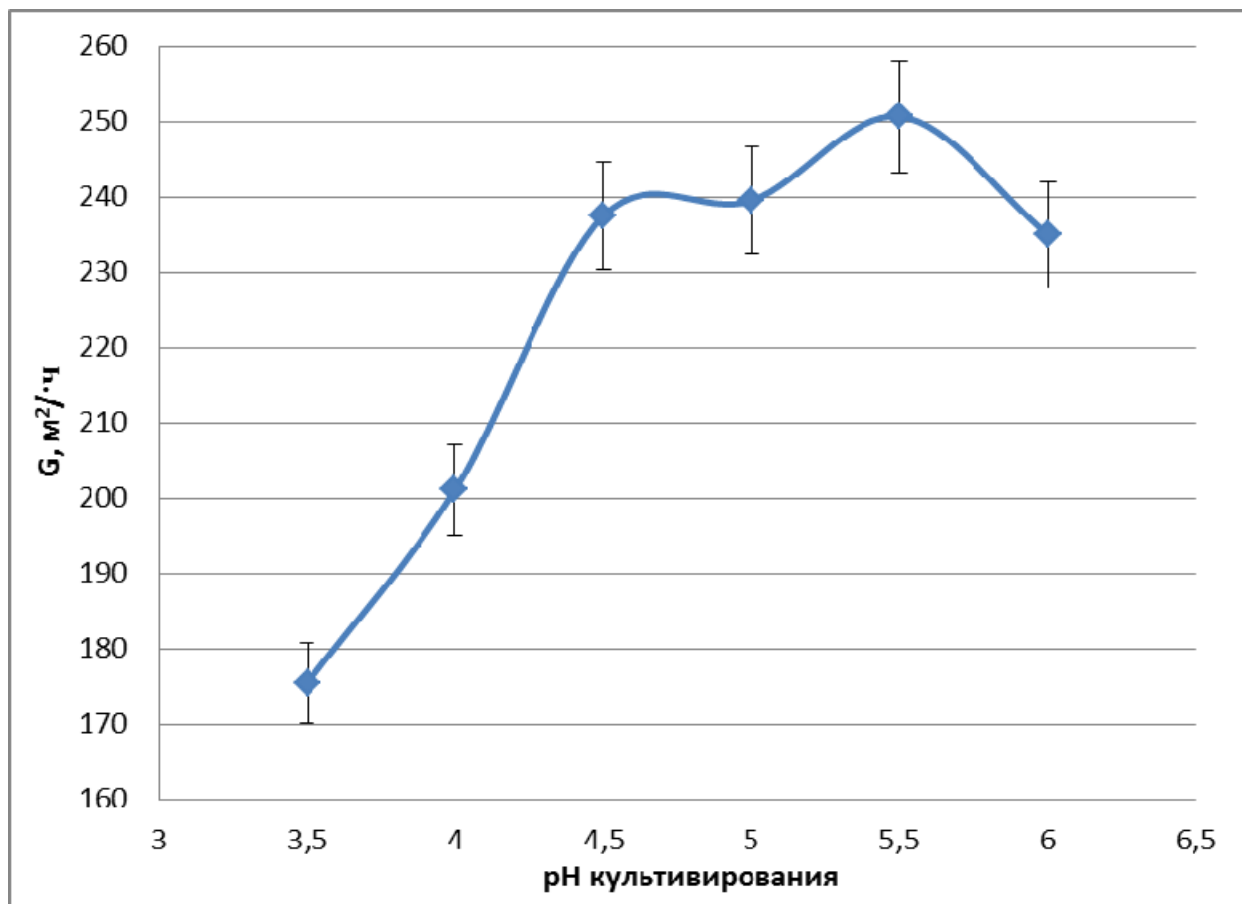


Рис. 68. Зависимость производительности фильтрации КЖ через фильтр "Бельтинг" после культивирования *Endomycopsis fibuligera* в средах на основе пивной дробины от рН культивирования.

Как видно из рис. 68, максимальная производительность фильтрации (250,65 ч/м²·ч наблюдается при рН культивирования 5,5. Как видно из рис. 40, при рН=5,5 наблюдается также и максимальное накопление биомассы *Endomycopsis fibuligera*. Таким образом, оптимальным значением рН для культивирования *Endomycopsis fibuligera* является рН=5,5.

Зависимость производительности фильтрации КЖ после культивирования *Endomycopsis fibuligera* от температуры культивирования представлена на рис. 69.

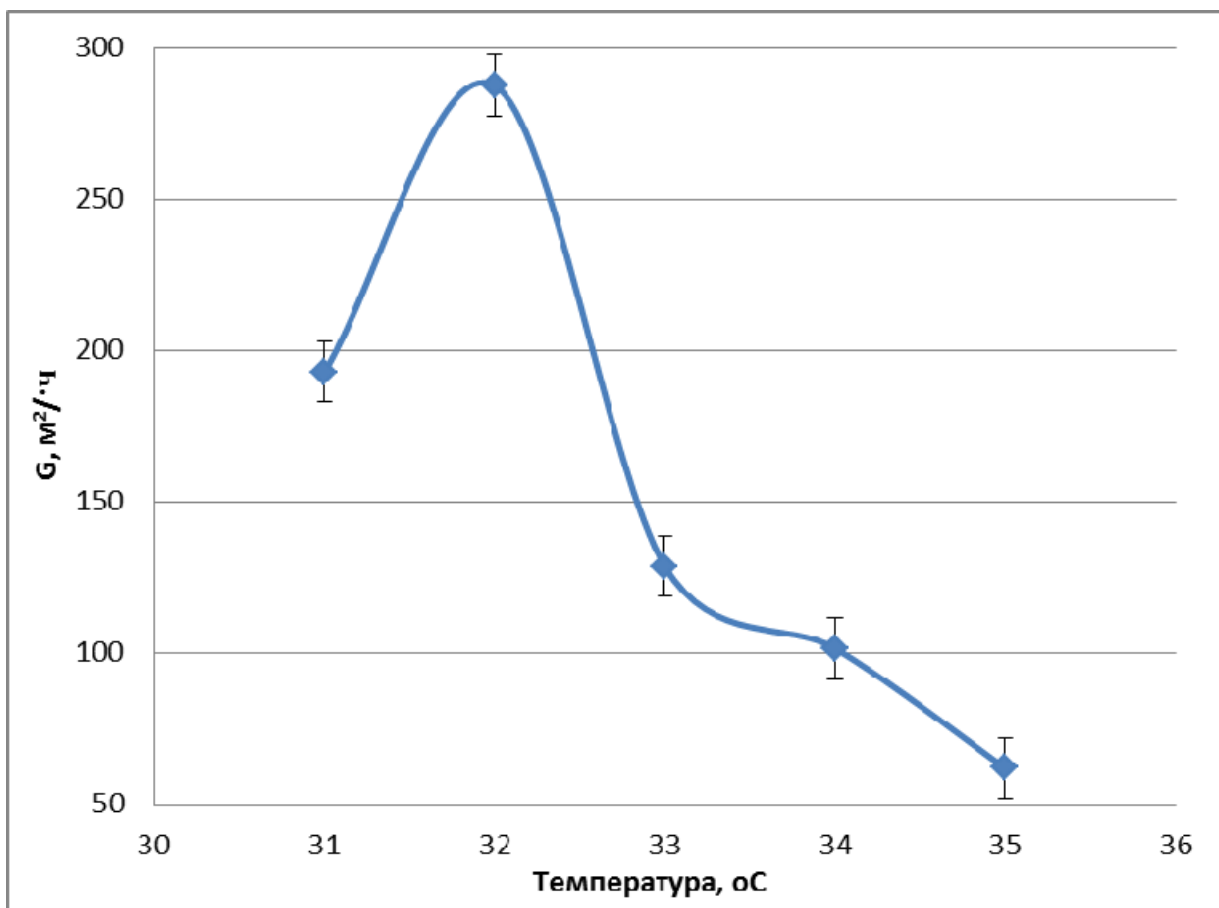


Рис. 69. Зависимость производительности фильтрации КЖ через фильтр "Бельтинг" после культивирования *Endomycopsis fibuligera* от температуры культивирования.

Как видно из рис. 68, максимальная производительность фильтрации 287,52 л/м²·ч наблюдается при температуре культивирования 32° С. Как видно из данных по культивированию *Endomycopsis fibuligera* (рис. 41), при температуре 32° С наблюдается также максимальное накопление биомассы микроорганизмов (197,0 млн. кл./мл). На основании этих данных мы можем сделать вывод, что оптимальной температурой для культивирования *Endomycopsis fibuligera* является температура 32° С.

Зависимость производительности фильтрации КЖ после культивирования *Endomycopsis fibuligera* от рН гидролиза пивной дробины представлена на рис. 70.

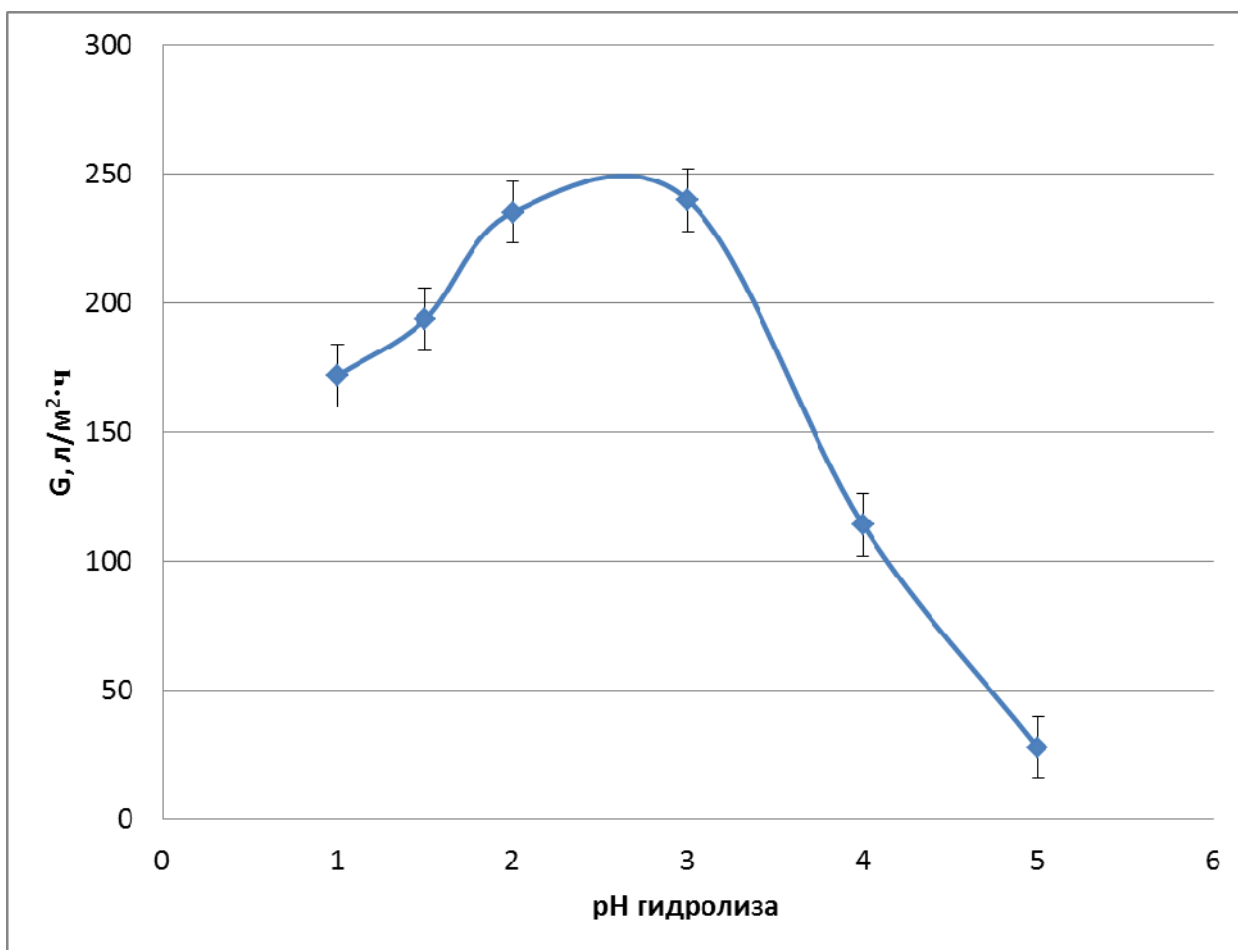


Рис. 70. Зависимость производительности фильтрации КЖ через фильтр "Бельтинг" после культивирования *Endomycopsis fibuligera* от рН гидролиза пивной дробины.

Как видно из рис. 70, максимальная производительность фильтрации (235,2 – 240,0 л/м²·ч) наблюдается при значении рН гидролиза пивной дробины 2,5-3,0. Как при снижении, так и при увеличении рН гидролиза производительность фильтрации снижается. При более высоких значениях рН производительность фильтрации падает, т.к. идёт образование коллоидного раствора. При более низких значениях рН поры забиваются мелкими частичками дробины, состоящими преимущественно из трудногидролизуемых полисахаридов, и производительность фильтрации

также снижается. Как видно из зависимости накопления биомассы от рН гидролиза пивной дробины (рис. 42), максимум накопление биомассы микроорганизмов (271,0 млн. кл./мл) наблюдается при рН гидролиза 1,6. Таким образом, значение рН гидролиз, при котором наблюдается максимальное накопление биомассы микроорганизмов, не совпадает с рН максимальной производительности фильтрации. В качестве оптимального значения рН гидролиза мы выбрали рН=1,6. При данном значении рН гидролиза накопление биомассы максимально, а производительность фильтрации по сравнению с максимальной снижается незначительно и составляет 200,0 л/м²·ч.

3. Исследование фильтрации суспензий после культивирования *Yarrowia lipolytica*.

Далее мы проводили исследование процесса фильтрации КЖ через фильтр «Бельтинг» после глубинного гетерофазного культивирования дрожжей *Yarrowia lipolytica* в средах на основе кислотных гидролизатов пивной дробины. Мы меняли два параметра – концентрацию пивной дробины и (20; 40 и 60 г/л по АСВ) и рН гидролиза (2,0; 3,0 и 4,5). Результаты по фильтрации КЖ после культивирования представлены в таблице 16.

Показатели фильтрации КЖ через фильтр «Бельтинг» после культивирования дрожжей *Yarrowia lipolytica* при различных рН гидролиза и концентрации пивной дробины.

Концентрация дробины, г/л (по АСВ)	рН гидролиза пивной дробины	Производительность фильтрации G, л/м ² ·ч	Количество клеток в суспензии, N, млн.кл/мл	Количество клеток в фильтрате, N _{фильтр} , млн.кл/мл	Проницаемость фильтра, X, %	Степень осветления КЖ, К
20	2,0	133,9	64,0	8,4	13,1	7,6
	3,0	205,9	52,5	0,082	0,16	640,2
	4,5	85,6	33,8	9,0	26,6	3,8
40	2,0	129,5	223,0	0,25	0,11	892,0
	3,0	189,0	104,0	1,4	1,3	77,0
	4,5	50,2	90,5	1,6	1,8	56,6
60	2,0	70,9	233,0	3,2	1,4	72,6
	3,0	126,5	113,0	0,90	0,80	125,6
	4,5	32,7	95,1	2,8	2,9	34,1

Как видно из таблицы 16, фильтрация через фильтр «Бельтинг» в большинстве случаев обеспечивает высокую степень осветления КЖ, которая колеблется от 34,1 до 892,0. Однако, в двух случаях: при концентрации пивной дробин 20 г/л и рН гидролиза 2,0 и концентрации пивной дробин 20 г/л и рН гидролиза 4,5, наблюдается низкая степень осветления КЖ (соответственно 7,6 и 3,8). Такая низкая степень осветления характерна для суспензии, подвергнутой гидролизу в условиях далёких от оптимальных, накопление биомассы в этих средах характеризовалось низкими значениями (соответственно, 64,0 и 33,8 млн. кл./мл) и это обусловило такую низкую степень осветления.

Зависимость производительности фильтрации КЖ после культивирования дрожжей *Yarrowia lipolytica* от рН гидролиза пивной дробины при различной концентрации пивной дробины представлены на рис. 71.

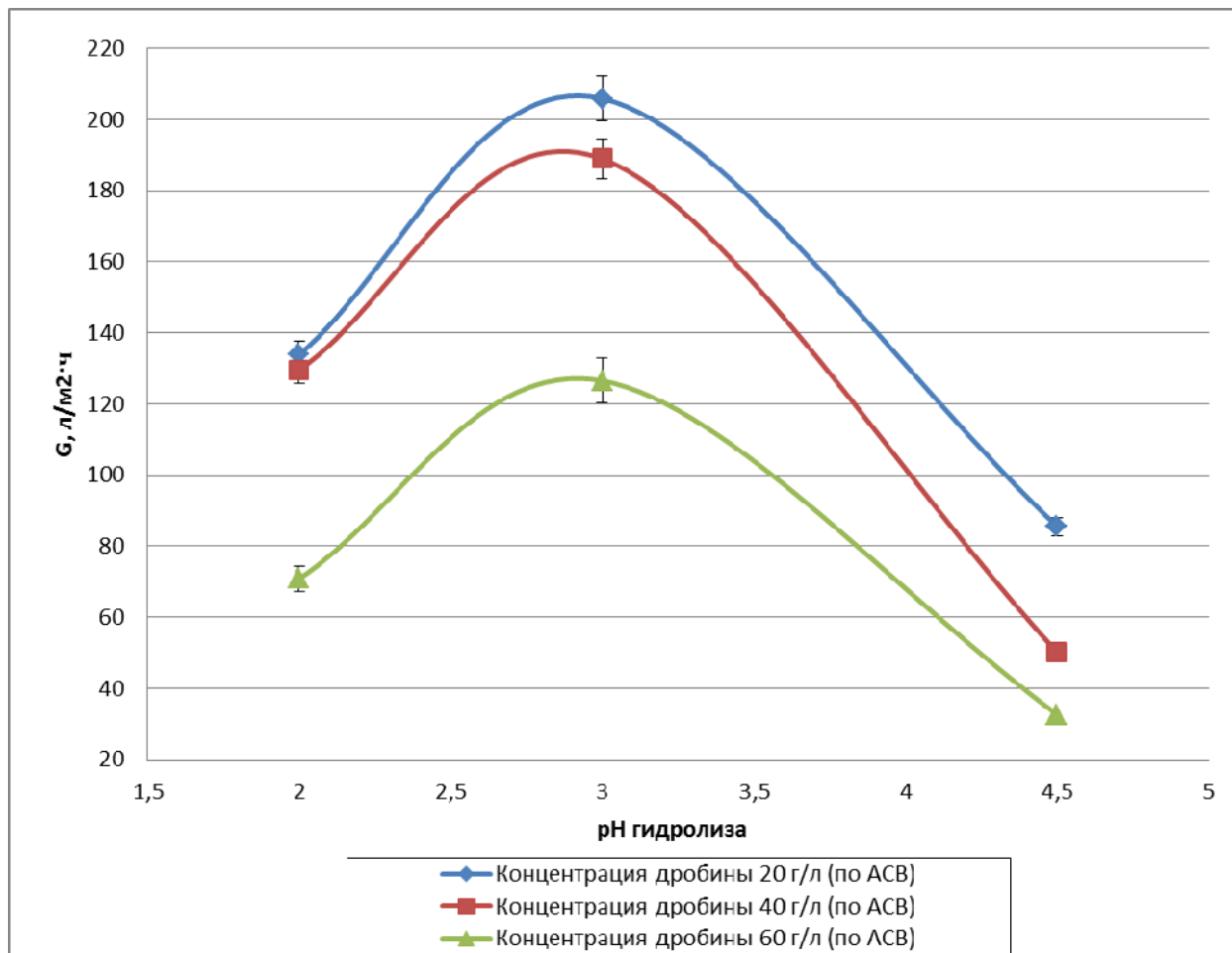


Рис. 71. Зависимость производительности фильтрации КЖ при культивировании дрожжей *Yarrowia lipolytica* от рН гидролиза при различной концентрации пивной дробины.

Как видно из рис. 71 максимальная производительность фильтрации наблюдается при рН гидролиза 3,0. При данном значении рН гидролиза производительность фильтрации составляет: 205,9; 189,0; 126,5 л/м²·ч, соответственно, при концентрациях дробины 20; 40 и 60 г/л.

Зависимость производительности фильтрации КЖ после культивирования дрожжей *Yarrowia lipolytica* от концентрации пивной

дробины представлена на рис. 72.

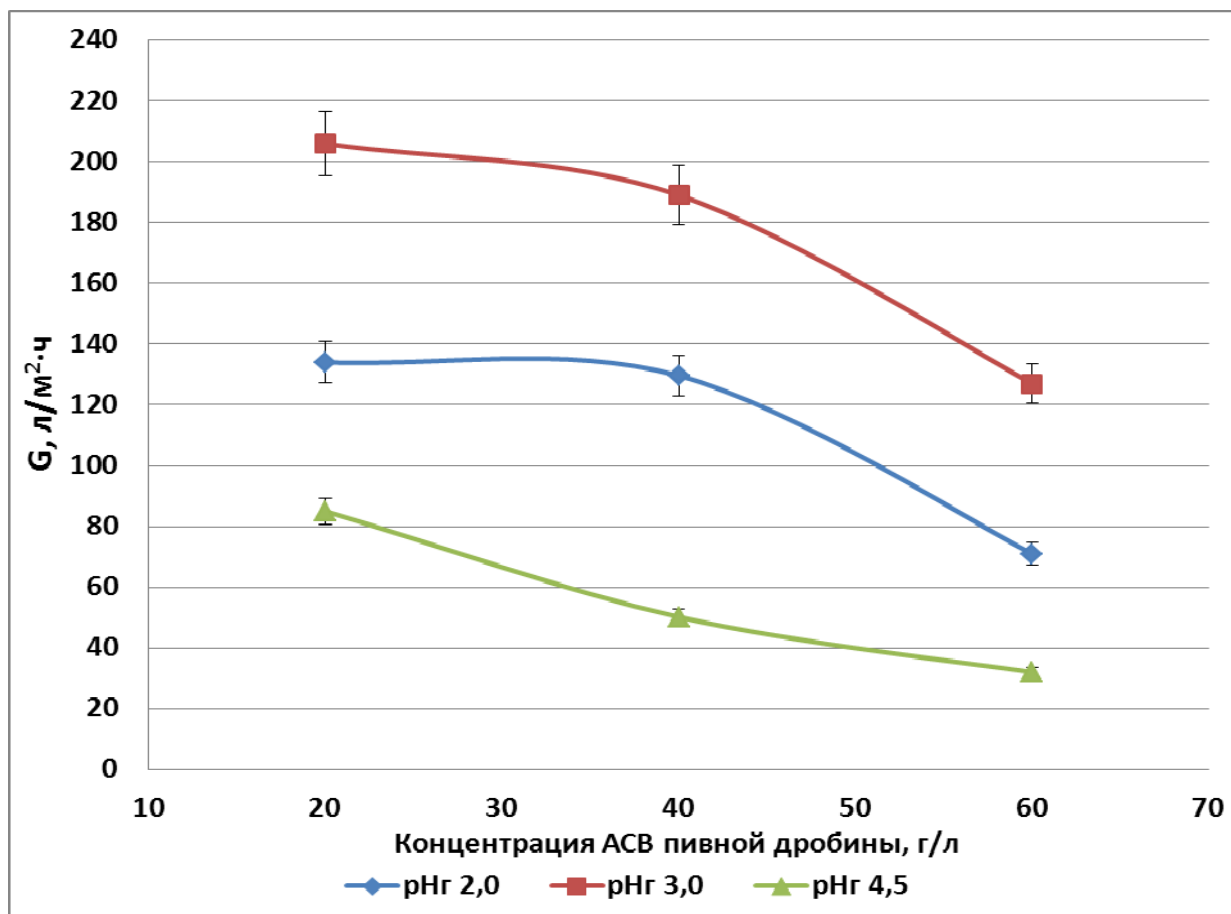


Рис. 72. Зависимость производительности фильтрации КЖ при культивировании дрожжей *Yarrowia lipolytica* от концентрации пивной дробины при различных значениях рН гидролиза

Как видно из рис. 72, увеличение концентрации пивной дробины приводит к снижению производительности фильтрации КЖ. Особенно резкое снижение производительности фильтрации (сильнее выраженное при рН гидролиза 2,0 и 3,0) наблюдается при увеличении концентрации пивной дробины с 40 г/л до 60 г/л. На основании данного эксперимента мы считаем, что оптимальной концентрацией пивной дробины для гидролиза является концентрация 40 г/л, а рН гидролиза – 3,0.

Сравнение производительности фильтрации КЖ после культивирования *C. scotti*, *E. fibuligera* и *Y. lipolytica* при различных рН гидролиза пивной дробины на одном графике представлена на рис. 73.

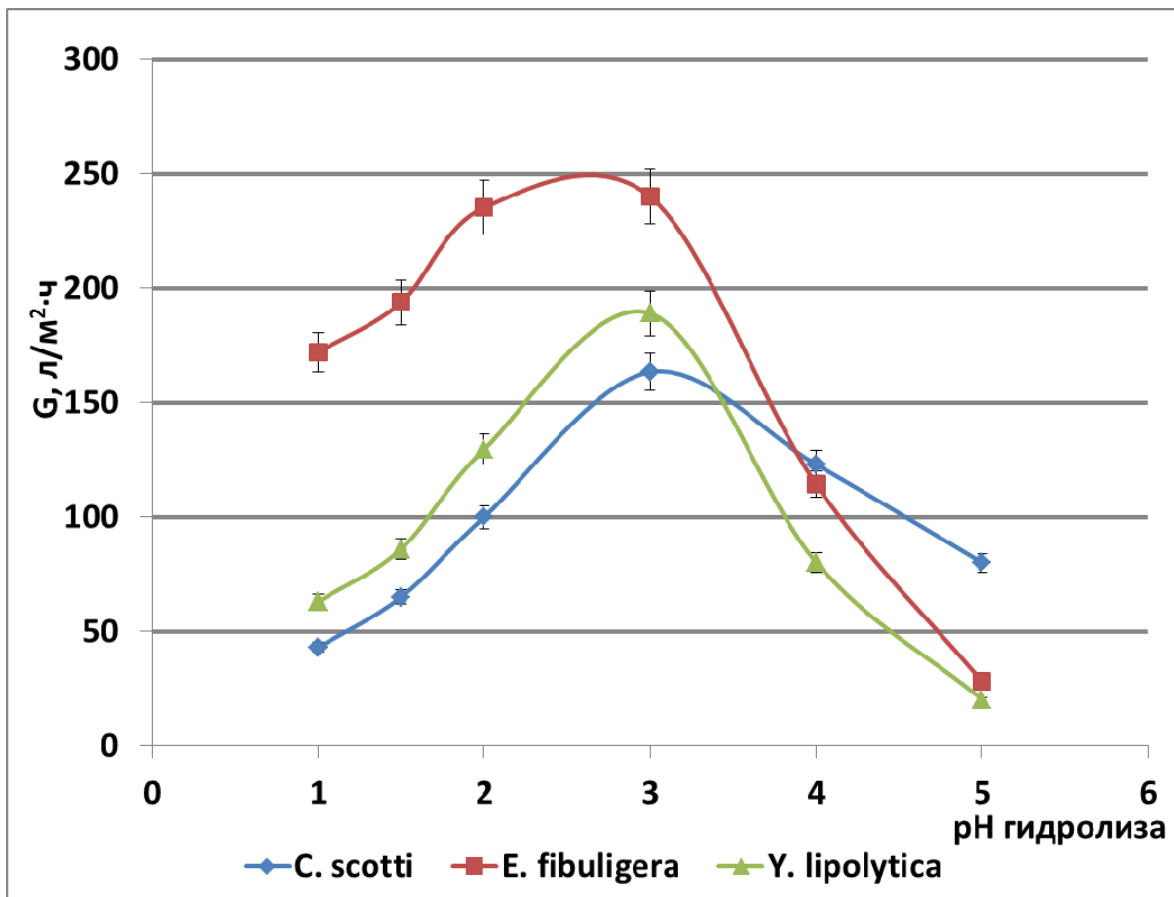


Рис. 73. Зависимость производительности фильтрации после культивирования различных штаммов микроорганизмов от pH гидролиза пивной дробины

Как видно из рис. 73, максимальная производительность фильтрации для всех трёх штаммов микроорга наблюдается при значении pH гидролиза пивной дробины около 3,0. При этом производительность фильтрации для *E.fibuligera* значительно выше, чем для *Y.lipolytica* и *C.scotti*, что может объясняться более структурированным осадком *E.fibuligera*, образующим псевдомицелий и меньше блокирующим поры фильтра, чем осадок, образованный отдельными клетками дрожжей *C. scotti* и *Y. lipolytica*

3.6.2. Исследование различных фильтрующих материалов применительно к культуральным жидкостям на основе кислотных гидролизатов пивной дробины

На следующем этапе нашей работы мы сравнивали эффективность различных применяемых в промышленности фильтрующих материалов

применительно к культуральным жидкостям на основе кислотных гидролизатов пивной дробины и сравнение их параметров с фильтром «Бельтингом». Мы взяли фильтрующие материалы NAM 640-06, PX 562-04, NPX 700-41, PX 291-07, PX 339-07. Технические характеристики используемых фильтрационных материалов приведены в таблице 17

Таблица 17

Сравнительные характеристики фильтрующих материалов применительно к культуральным жидкостям на основе кислотных гидролизатов пивной дробины

Марка ткани	Материал	Вид плетения	Поверхностная плотность, г/м ²	Воздухопроницаемость, л/дм ² /мин	Разрывная нагрузка	
					По основе	Поутку
NAM 640-06	Полиэстер	Иглопробивное полотно	640	25	125	50
PX 562-04	Полипропилен	Атласное (сатиновое), двустороннее	500	5	700	290
NPX 700-41	Полипропилен обработкой поверхности	Иглопробивное сполотно	700	280	160	110
PX 291-07	Полипропилен	Сатиновое	330	400	360	180
PX 339-07	Полипропилен	Атласное (сатиновое)	330	25	400	130

Результаты исследования приведены в таблице 18.

Сравнительные характеристики фильтрующих материалов применительно к ферментационным суспензиям на основе кислотных гидролизатов пивной дробины

Фильтрующий материал	<i>Yarrowia lipolytica</i>			<i>Endomycopsis fibuligera</i>		
	G, л/м ² ·ч	Проницаемость фильтра, X, %	Степень осветления КЖ, К	G, л/м ² ·ч	Проницаемость фильтра, X, %	Степень осветления КЖ, К
НАМ 640-06	513,0	1,2	85,0	403,9	0,46	216,5
PX 562-04	706,2	0,015	6,67·10 ³	1069,7	0,010	1,0·10 ⁴
NPX 700-41	555,7	6,6	15,3	1026,2	1,21	82,4
PX 291-07	349,2	36,3	2,75	325,3	10,2	9,8
PX 339-07	409,2	11,2	8,9	519,8	2,31	43,3
Бельтинг	189,0	1,30	77,0	240,0	0,53	190,5

Как видно из таблицы 18, наилучшими характеристиками из выбранных фильтрующих материалов обладает материал PX 562-04, а наихудшими – материал PX 291-07. Фильтрующий материал «Бельтинг» обладает удовлетворительной степенью осветления КЖ, но самой низкой производительностью фильтрации. В среднем производительность фильтрации и степень осветления КЖ для большинства материалов выше для дрожжеподобного гриба *Endomycopsis fibuligera* чем для дрожжей *Yarrowia lipolytica*.

3.7. Технологическая схема производства.

На основании проведённых исследований мы предложили следующие технологические схемы производства углеводно – белкового кормового продукта на основе пивной дробины. Одна из них предполагает использование солей в качестве основы минерального питания при культивировании микроорганизмов, в другой источником минеральных солей выступает куриный помёт.

3.7.1. Технологическая схема с использованием солей в качестве источника минеральных веществ.

На рис. 74 представлена технологическая схема производства углеводно – белкового кормового продукта на основе пивной дробины с использованием солей в качестве источника минеральных веществ.

Описание технологического процесса:

Пивная дробина из бункера-хранителя шнековым транспортёром 1 подаётся в бункер-дозатор 2. С помощью бункера-дозатора пивная дробина порциями подаётся в сборник-смеситель питательной среды с мешалкой 3, где смешивается с водой и фильтратом. Полученная после смешения в сборнике-смесителе суспензия пивной дробины насосом 4 через рекуператор тепла 7 подаётся в нагревательную колонку 5, где острым паром нагревается до 120 – 130°C. После этого суспензия выдерживается в трубчатом выдерживателе 6 в течение 15 мин. и далее проходит через рекуператор тепла 7, где отдаёт часть тепла входящей холодной суспензии дробины. Далее суспензия пивной дробины проходит через холодильник питательной среды 8, где охлаждается холодной водой до температуры культивирования 29-31°C. Охлаждённая суспензия поступает в промежуточную ёмкость с мешалкой 9, из которой с помощью насоса 10 периодически подаётся в аппарат чистой культуры 14, где происходит выращивание инокулята.

С помощью насоса 10 основной ферментёр 18 ($V_H = 288 \text{ м}^3$, $V_{\text{раб}} = 190 \text{ м}^3$) сначала наполняется до объёма 40 - 50 м^3 . После этого включается интенсивное перемешивание и аэрация. После этого в основной ферментёр

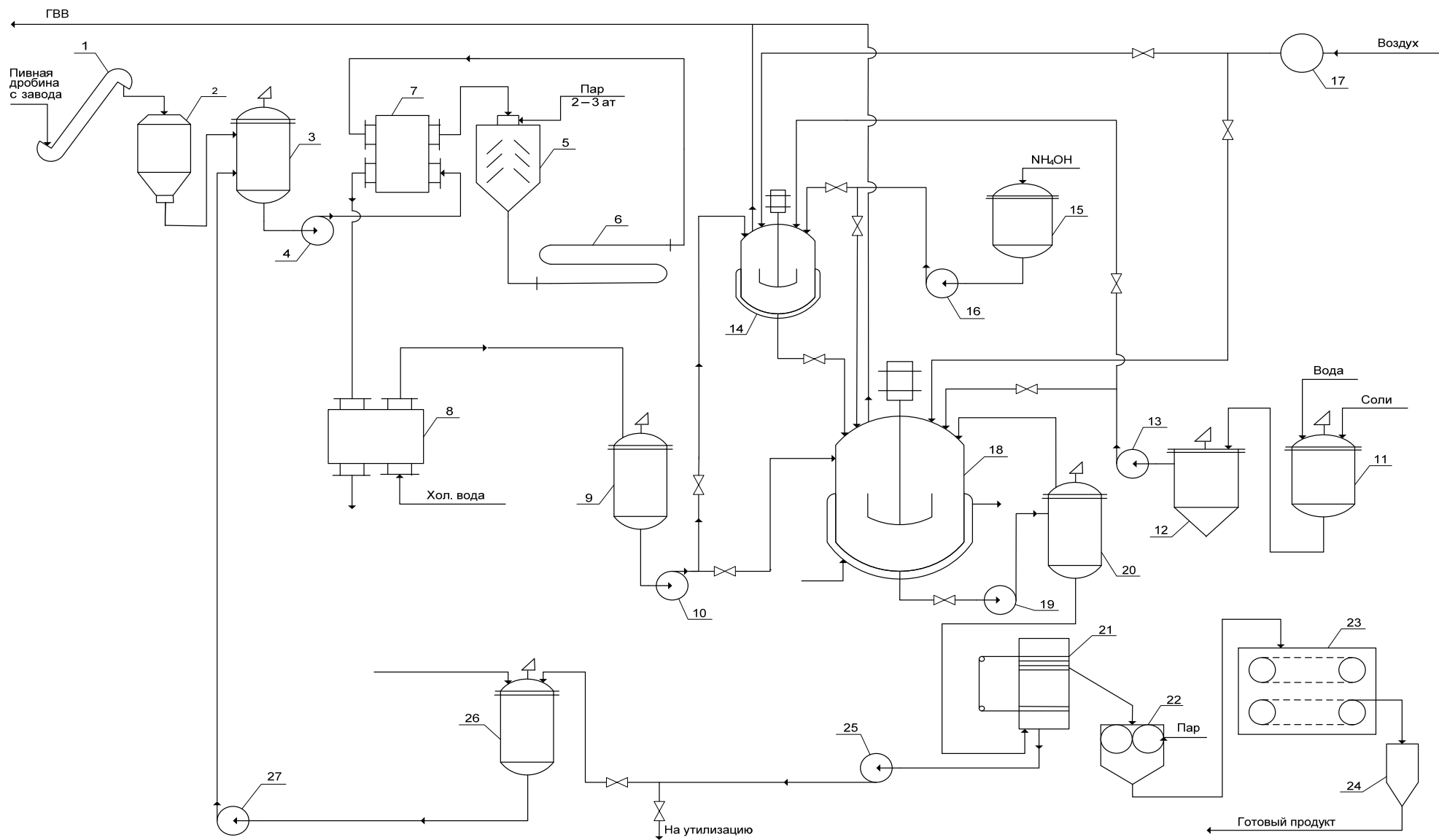


Рис. 74. Технологическая схема производства углеводно – белкового кормового продукта на основе пивной дробины с использованием солей в качестве источника минеральных веществ.

подаётся 4 м³ засевной культуры из АЧК 14, объём среды доводят до 190 м³ и проводят культивирование в безотборном режиме.

Питательные соли и вода поступают в сборник-смеситель с мешалкой 11, где происходит растворение солей. Далее раствор солей поступает в отстойник 12, где отделяются нерастворимые примеси. Раствор солей насосом 13 подаётся в аппарат чистой культуры 14 и основной ферментёр 18. Загрузка основного аппарата составляет 190 м³, интенсивность аэрации не менее 75 – 80 нм³/м³·ч, температура культивирования 29-31 °С. Каждый час измеряют рН среды, значение которого поддерживают на уровне 4,3 – 4,6 внесением аммиачной воды. При рН выше 5,5 суспензия сильно пенится и создаются благоприятные условия для роста посторонней бактериальной микрофлоры, а при рН ниже 3,8 заметно замедляется скорость роста клеток дрожжей. Каждые два часа необходимо контролировать и фиксировать содержание РВ и титр клеток, как во входящей, так и в выходящей суспензии.

Поддержание рН среды в процессе культивирования как в АЧК 14, так и в основном ферментёре 18 осуществляется периодической подачей насосом - дозатором 16 аммиачной воды из ёмкости 15, а температуры – подачей охлаждающей воды в теплообменники ферментёра.

Воздух для аэрации АЧК и основного ферментёра подаётся с помощью воздуходувки 17.

После достижения клетками дрожжей в основном ферментёре стадии замедленного роста культивирование переводят в отъёмно-доливной режим. При этом из ферментёра периодически отбирают 19 м³ культуральной суспензии и вместо неё подают 19 м³ свежей питательной среды.

После культивирования культуральная суспензия подаётся насосом 19 в промежуточную ёмкость-сборник 20, из которой далее поступает на фильтр-пресс 21.

Фильтрат, содержащий не более 1 млн.кл./мл насосом 25 подаётся в дезэмульгатор с мешалкой 26, а после него насосом 27 - на стадию

приготовления суспензии пивной дробины в сборник-смеситель 3. Таким образом, осуществляется рецикл. Фильтрат после осуществления необходимого количества рециклов поступает на утилизацию.

Влажный осадок после фильтр-пресса с содержанием АСВ 35 – 40% поступает в гранулятор-плазмоллизатор 22, где он подвергается инаktivации и гранулированию. После этого осадок поступает на ленточную сушилку 23, где под действием горячих топочных газов подвергается сушке до влажности 5%. После этого сухой гранулированный продукт поступает в фасовочную машину 24, где запаковывается в крафт-мешки, которые направляются на склад готовой продукции или сразу к потребителям.

3.7.2. Технологическая схема с использованием куриного помёта в качестве источника минеральных веществ.

На рис. 75 представлена технологическая схема производства углеводно – белкового кормового продукта на основе пивной дробины с использованием куриного помёта в качестве источника минеральных веществ.

Описание технологического процесса:

Пивная дробина из бункера-хранителя шнековым транспортёром 1 подаётся в бункер-дозатор 2. С помощью бункера-дозатора пивная дробина порциями подаётся в сборник-смеситель питательной среды с мешалкой 3, где смешивается с водой и фильтратом. Полученная после смешения в сборнике-смесителе суспензия пивной дробины насосом 4 через рекуператор тепла 7 подаётся в нагревательную колонку 5, где острым паром нагревается до 120 – 130°C. После этого суспензия выдерживается в трубчатом

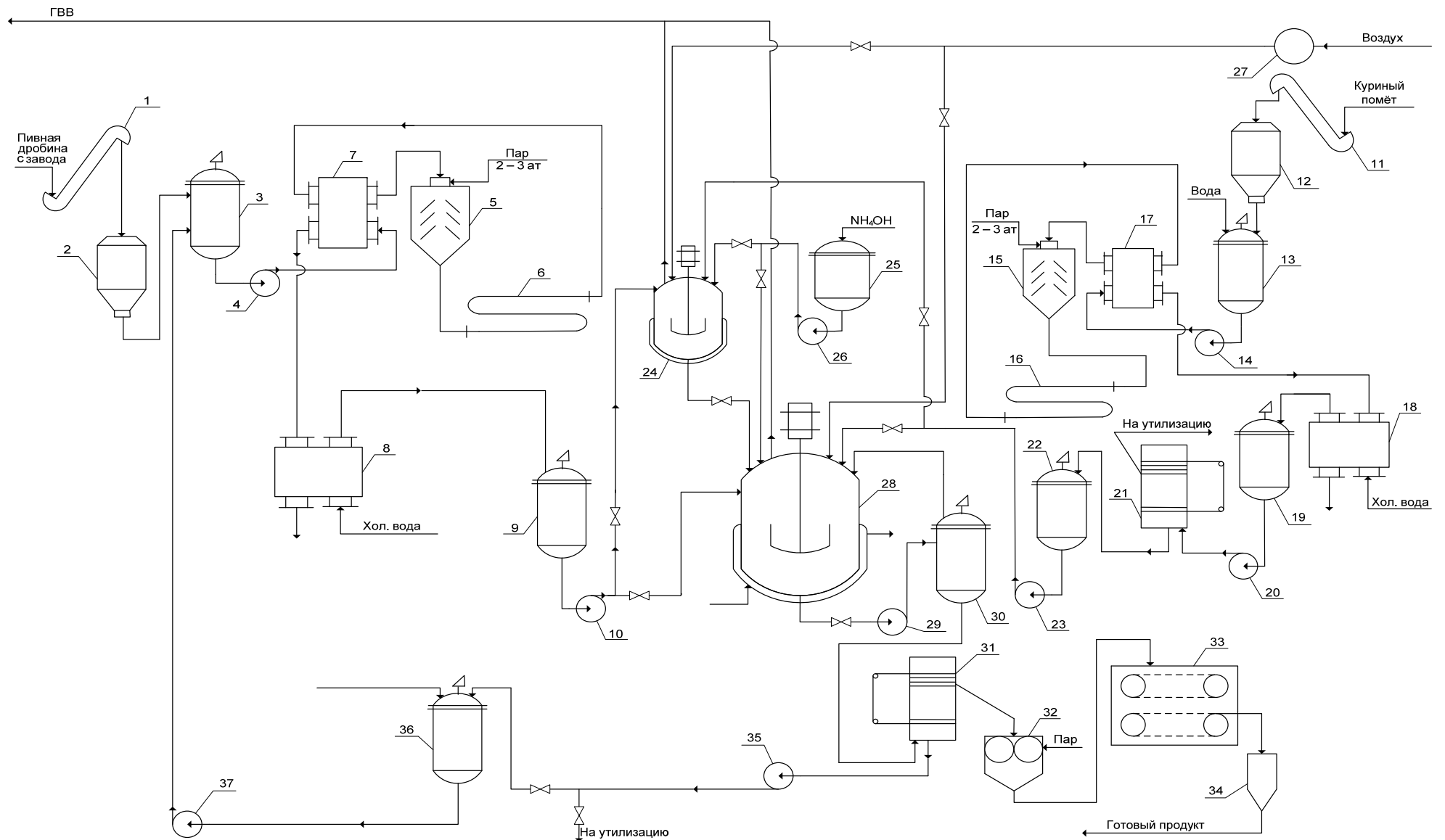


Рис. 75. Технологическая схема производства углеводно – белкового кормового продукта на основе пивной дробины с использованием куриного помёта в качестве источника минеральных веществ.

выдерживателе 6 в течение 15 мин. и далее проходит через рекуператор тепла 7, где отдаёт часть тепла входящей холодной суспензии дробины. Далее суспензия пивной дробины проходит через холодильник питательной среды 8, где охлаждается холодной водой до температуры культивирования 29-31°C. Охлаждённая суспензия поступает в промежуточную ёмкость с мешалкой 9, из которой с помощью насоса 10 периодически подаётся в аппарат чистой культуры 24, где происходит выращивание инокулята.

С помощью насоса 10 основной ферментёр 28 ($V_H = 288 \text{ м}^3$, $V_{\text{раб}} = 190 \text{ м}^3$) сначала наполняется до объёма в 40 - 50 м^3 . После этого включается интенсивное перемешивание и аэрация. После этого в основной ферментёр подаётся 4 м^3 засевной культуры из АЧК 24, объём среды доводят до 190 м^3 и проводят культивирование в безотборном режиме.

Куриный помёт из бункера-хранителя шнековым транспортёром 11 подаётся в бункер-дозатор 12. С помощью бункера-дозатора помёт порциями подаётся в сборник-смеситель помёта с мешалкой 13, где смешивается с водой. После сборника-смесителя суспензия куриного помёта насосом 14 через рекуператор тепла 17 подаётся в нагревательную колонку 15, где под действием острого пара нагревается до температуры 120 - 130 °С и начинается стерилизация куриного помёта. После этого суспензия куриного помёта выдерживается в трубчатом выдерживателе 16 в течение 15 мин., где заканчивается стерилизация куриного помёта. Далее суспензия куриного помёта проходит через рекуператор тепла 17, где отдаёт часть тепла входящей холодной суспензии куриного помёта. Далее суспензия помёта проходит через холодильник 18, где охлаждается холодной водой до температуры 23 - 25 °С и далее поступает в промежуточную ёмкость для суспензии куриного помёта 19. Из промежуточной ёмкости 19 суспензия куриного помёта с помощью насоса 20 подаётся на фильтр-пресс 21. Фильтрат гидролизата куриного помёта после фильтр-пресса поступает в ёмкость 22. Из ёмкости 22 фильтрат гидролизата куриного помёта насосом 23 подаётся в аппарат чистой культуры 24 и основной ферментёр 28.

Нерастворимый осадок куриного помёта с содержанием АСВ 40-45% после фильтр-пресса 21 поступает на утилизацию.

Загрузка основного аппарата составляет 190 м³, интенсивность аэрации не менее 75 – 80 нм³/м³·ч, температура культивирования 29-31 °С. Каждый час измеряют рН среды, значение которого поддерживают на уровне 4,3 – 4,6 внесением аммиачной воды. При рН выше 5,5 суспензия сильно пенится и создаются благоприятные условия для роста посторонней бактериальной микрофлоры, а при рН ниже 3,8 заметно замедляется скорость роста клеток дрожжей. Каждые два часа необходимо контролировать и фиксировать содержание РВ и титр клеток, как во входящей, так и в выходящей суспензии.

Поддержание рН среды в процессе культивирования как в АЧК 24, так и в основном ферментёре 28 осуществляется периодической подачей насосом - дозатором 26 аммиачной воды из ёмкости 25, а температуры – подачей охлаждающей воды в теплообменники ферментёра.

Воздух для аэрации АЧК и основного ферментёра подаётся с помощью воздуходувки 27.

После достижения клетками дрожжей в основном ферментёре стадии замедленного роста культивирование переводят в отъёмно–доливной режим. При этом из ферментёра периодически отбирают 19 м³ культуральной суспензии и вместо неё подают 19 м³ свежей питательной среды.

После культивирования культуральная суспензия подаётся насосом 29 в промежуточную ёмкость-сборник 30, из которой далее поступает на фильтр-пресс 31.

Фильтрат, содержащий не более 1 млн.кл./мл насосом 35 подаётся в дезэмульгатор с мешалкой 36, а после него насосом 37 - на стадию приготовления суспензии пивной дробины в сборник-смеситель 3. Таким образом, осуществляется рецикл. Фильтрат после осуществления необходимого количества рециклов поступает на утилизацию.

Влажный осадок после фильтр-пресса с содержанием АСВ 35 – 40% поступает в гранулятор-плазмоллизатор 32, где он подвергается инактивации и гранулированию. После этого осадок поступает на ленточную сушилку 33, где под действием горячих топочных газов подвергается сушке до влажности 5%. После этого сухой гранулированный продукт поступает в фасовочную машину 34, где запаковывается в крафт-мешки, которые направляются на склад готовой продукции или сразу к потребителям.

Были проведены технико - экономические расчёты разработанного технологического процесса. Результаты представлены в таблице 19.

Таблица 19

Технико-экономические показатели производства растительного углеводно-белкового кормового продукта (РУБК) на основе пивной дробины

№ п/п	Наименование показателя	Единица измерения	Источник минеральных веществ	
			Минеральные соли	Птичий помёт
1	Годовой выпуск продукции в натуральном выражении	т	6703	7080
2	Годовой выпуск продукции в натуральном выражении	тыс. руб.	636785,00	672600,00
3	Капитальные затраты	тыс. руб.	129287,69	156975,12
4	Полная себестоимость годового выпуска	тыс. руб.	242912,92	225915,31
5	Себестоимость единицы продукции	тыс. руб./т	36,24	31,91
6	Стоимость годового выпуска продукции	тыс. руб./т	242912,92	225915,31
7	Прибыль годовая	тыс. руб.	242817,97	446684,63
8	Рентабельность а) производственных фондов б) продукции	%	42,87	64,95
		%	99,96	197,72
9	Срок окупаемости капитальных вложений	год	2,13	1,41

4. Выводы.

1. Подобраны оптимальные условия подготовки пивной дробины посредством кислотного и ферментативного гидролиза для достижения максимального выхода легкоусвояемых микроорганизмами углеводов. Было показано, что среды на основе кислотных и ферментативных гидролизатов пивной дробины являются полноценными для следующих микроорганизмов: *C. scotti*, *C. utilis*, *Y. lipolytica*, *E. fibuligera*.

2. Подобраны оптимальные состав среды и условия культивирования в средах на основе кислотных и ферментативных гидролизатов пивной дробины микроорганизмов *Candida scotti*, *Candida utilis*, *Yarrowia lipolytica* и *Endomycopsis fibuligera*.

3. Показана возможность замены питательных минеральных солей на фильтрат гидролизата куриного помёта. Данная замена позволяет решить сразу две задачи: экономию солей и утилизацию куриного помёта, являющегося крупнотоннажным отходом птицеводства и загрязнителем окружающей среды.

4. Исследован процесс фильтрации культуральной жидкости и подобраны оптимальные условия подготовки пивной дробины для обеспечения максимальной производительности фильтрации. Технология концентрирования микробных суспензий посредством фильтрования является энергосберегающей по-сравнению с широко известными энергоёмкими процессами сепарации и вакуум-концентрирования. Высокая эффективность процесса фильтрации в нашей работе достигается в результате включения в культуральную среду непрогидролизованых остатков пивной дробины (без их отделения) в КЖ при проведении процесса глубинного геторофазного культивирования.

5. Показана возможность осуществления рецикла фильтрата КЖ. Осуществление рецикла позволяет экономить на дополнительной очистке сточных вод предприятия и минимизировать их сброс.

6. Оценено качество получаемого углеводно – белкового кормового

продукта по содержанию сырого протеина и токсичности для живых организмов. Разработанная малоотходная энергосберегающая технология позволяет перерабатывать скоропортящийся продукт (пивную дробину) в высококачественный, обогащённый белком, витаминами и минеральными веществами сухой кормовой белковый продукт. Содержание сырого протеина в готовом продукте (влажностью 10%) составляет 35 – 40%.

Список литературы:

1. Азизов Т.Б., Халиков Х.А., Трофимова Р.К. Влияние птичьего помета на урожайность зеленцового кенафа: сб. науч. тр. / Узб. опыт. станция лубяных культур, 1988. – Т. 17. – С. 4-8.
2. Акимов Е.К., Галиуллин А.К. Микробиологические подходы к процессам культивирования культур микроорганизмов // Учёные записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана, 2013. – С. 15-19.
3. Андреев А.А., Брызгалов Л.Н. Производство кормовых дрожжей. – М.: Лесная промышленность, 1973. – 344 с.
4. Аппарат для гидролиза растительного сырья. А.с. 1541263 СССР; заявл. 14.01.88; опубл. 07.02.88, Бюл. № 5. – 4 с.
5. Ахметвалиев М.С., Николаев В.Н., Литаш А.В. Теоретическое определение выхода жидкой фракции пивной дробины в вибрационно – центробежной центрифуге // Аграрный вестник Урала. – 2017. – № 8. – С. 56-59.
6. Бабьева И.П., Голубев В.И. Методы выделения и идентификации дрожжей. – М.: Пищевая промышленность, 1979. – 120 с.
7. Бабьева И.П., Чернов И.Ю. Биология дрожжей. – М.: Товарищество научных изданий КМК, 2004. – 239 с.
8. Баланов П.Е. Смотряева И.В., Иванченко О.Б., Хабибуллин Р.Э. Утилизация органических отходов бродильных производств // Вестник Казанского технологического университета. – 2016. – Т. 19. – № 1. – С. 131-134.
9. Батищева Н.В. Инновационные способы утилизации пивной дробины // Научное обозрение. Технические науки. – 2016. – № 6. – С. 10-14.
10. Бачило Н.Г., Нестеренко В.Н. Сравнительная эффективность действия жидкого помета кур и торфо-пометного компоста на урожайность ячменя // Земледелие и растениеводство в БССР. – 1991. – Вып. 34. – С. 63-67.

11. Бейли Дж., Оллис Д. Основы биохимической инженерии: в 2 ч. – М.: Мир, 1989. – Ч. 1. – 686 с.; Ч. 2. – 590 с.
12. Белоглазов И.Н., Голубев В.О. Основы расчёта фильтрационных процессов. – Санкт-Петербург: Руда и металлы, 2002. – 210 с.
13. Белуха Т.А., Кормин В.П. Влияние подстилочного куриного помёта на продуктивность капусты белокочанной и плодородие почвы в условиях лесостепи Омской области // Электронный научно-методический журнал Омского ГАУ. – 2017. – № 2. – С. 1-7.
14. Белуха Т.А., Кормин В.П., Шмидт А.Г. Влияние подстилочного птичьего помёта на продуктивность ярового ячменя и почвенное плодородие в условиях Омской области // Электронный научно — методический журнал Омского ГАУ. – 2017. – 2017. – Т. 10. – № 3. – С. 1-8.
15. Бобареко Э.А. Исследование флотационного метода выделения дрожжей // Гидролизная и лесохимическая промышленность. – 1964. – № 3. – С. 7-8.
16. Бобренко И.А., Кормин В.П., Гоман Н.В. Эффективность применения органического удобрения на основе куриного помёта под капусту белокочанную // Вестник Омского ГАУ. – 2017. – №4. – С. 13-19.
17. Болотникова О.И., Михайлова Н.П., Базарнова Ю.Г. и др. Кислотный и энзиматический гидролиз непищевых источников растительной биомассы: перспективы промышленной реализации // Известия СПбГТИ. – 2017 г. – № 39. – С. 89-95.
18. Бортников И.И., Босенко А.М. Машины и аппараты микробиологических производств. – Минск: Вышэйш. школа, 1982. – 288 с.
19. Будаева В.В., Макарова Е.И., Скиба Е.А., Сакович Г.В., Самирский В.В., Лисовский Д.В., Ивашкевич О.В. Исследование кислотного и ферментативного гидролиза пеллет из рапсовой соломы // Ползуновский вестник. – 2013. – № 3. – С. 173-179.

20. Будаева В.В., Митрофанов Р.Ю., Золотухин В.Н. Исследование ферментативного гидролиза отходов переработки злаков // Ползуновский вестник. – 2008. – № 3. – С. 322-327.
21. Будаева Г.И., Загребельный С.Н. Методы концентрирования биологического материала. – М.: НТИ Главмикробиопрома, 1975. – 52 с.
22. Булгаков Н.И. Биохимия солода и пива. – М.: Пищевая промышленность, 1976. – 357 с.
23. Быков В.А. Разработка безотходной технологии углеводных и белковых компонентов кормов на основе гидролиза и биоконверсии целлюлозного сырья: автореферат дис. ... докт. техн. наук. – М., 1989. – 39 с.
24. Быкова И.А. Разработка способов использования пивной дробины в качестве компонента различных биологических систем. автореферат дис. ... канд. биол. наук. – Оренбург, 2003. – 21 с.
25. Варфоломеев С.Д., Гуревич К.Г. Биокинетика: практический курс. – М.: ФАЙР-ПРЕСС, 1999. – 720 с.
26. Виноградова А.В., Козлова Г.А. Культивирование микроорганизмов. – Пермь: Изд-во Пермского нац. Исслед. политехнического ун-та, 2013. – 96 с.
27. Волкова А.А., Баланченко О.Б., Баланов П.Е. Влияние ферментных препаратов на увеличение аминного азота в ферментативном гидролизате пивной дробины // Пиво и напитки. – 2010. – № 6. – С. 13-15.
28. Волобуева Е.С., Анискин М.В. Технология выработки кормовой добавки из пивной дробины // Новости науки и АПК. – 2018. – № 2-1 (11). – С. 48-50.
29. Вторичные материальные ресурсы пищевой промышленности. Справочник / Аракелова В. А., Комаров В. И., Лепешкин И. П. и др. – М.: Экономика, 1984. – 328 с.
30. Гайнетдинов М.Ф. Рациональное использование отходов пищевой промышленности в животноводстве. – М.: Россельхозиздат, 1978. – 199 с.

31. Гапонов К.П. Процессы и аппараты микробиологических производств. – М.: Лёгкая и пищевая промышленность, 1981. – 239 с.
32. Головлева Л.А., Ганбаров Х.Г. Микробная деградация лигнина // Успехи микробиологии. – 1982. – №17. – С. 136-158.
33. Градова Н.Б., Бабусенко Е.С., Горнова И.Б., Гусарова Н.А. Лабораторный практикум по общей микробиологии. – М.: ДеЛи принт, 2001. – 132 с.
34. Грачёва И.М., Кривова А.Ю. Технология ферментных препаратов. – 3-е изд., перераб. и доп. – М.: Элевар, 2000. – 512 с.
35. Гриченко А.А., Ельшин А.И., Путинцев С.А. О возможности применения процесса фильтрования при сгущении биосуспензии в производстве кормовых дрожжей // Концентрирование, выделение и очистка продуктов микробиологического синтеза: тез. докл. всесоюз. совещ., 1985. – С. 8-10.
36. Даниляк Н.И., Семичаевский В.Д., Дудченко Л.Г. и др. Ферментные системы высших базидиомицетов. – Киев: Наук. Думка, 1989. – 280 с.
37. Денисова М.Н. Характеристики образцов целлюлозы из соломы злаковых, полученных гидротропным способом, и результаты их исследования в качестве субстратов для ферментативного гидролиза // Ползуновский вестник. – 2016. – Т.1. – №4. – С. 170-173.
38. Доронина А.С., Лиходумова М.А., Прохасько Л.С. Актуальные решения утилизации отходов пивоваренной промышленности // Молодой учёный. – 2014. – № 9. – С. 133-135.
39. Драганов И.Ф. Использование пивной дробины на кормовые цели // Достижения науки и техники АПК. – 1988. – №10. – С. 61-62.
40. Ельшин А.И. Сгущение суспензии микробиологических производств и способы интенсификации процесса // Процессы и аппараты микробиологических производств. – 1987. – Вып. 3. – С. 25.
41. Емельянова И.З. Химико-технологический контроль гидролизных производств. – М.: Лесная промышленность, 1976. – 328 с.

42. Ермичев Г.Ю., Арьков А.А. Пивная дробина в кормлении гусят // Научный вестник. – Волгоградская государственная академия, 1997. – Выпуск 1. С. 123-125.
43. Жужиков В.А. Фильтрование. Теория и практика разделения суспензий.– М.: Химия, 1971. – 440 с.
44. Забродский А.Г. Производство кормовых дрожжей на меласно - спиртовых заводах. – М.: Пищевая промышленность, 1981. – 367 с.
45. Забудский Ю.И., Попов П.А. Конверсия отходов птицеводства на основе вермикомпостирования // Сборник научных трудов ВНИТИП. – Сергиев Посад, 2001. – С. 15-21.
46. Загорская Е.П., Иванов А.А. Применение детритофагов в процессе получения биогумуса // Самарская Лука: проблемы региональной и глобальной экологии. – 2019. – Т. 28. – №2. – С. 277-282.
47. Зуев Б.Г. Фильтры для жидкостей микробиологической промышленности. – М.: ВНИИСЭНТИ, 1985. – 54 с.
48. Зуев Б.Г., Тимашков В.К. Фильтрование микробиологических суспензий. Концентрирование, выделение и очистка продуктов микробиологического синтеза // Тезисы докладов Всесоюзного совещания. – М.: ВНИИСЭНТИ, 1985. – С. 67.
49. Иванов Д.Г. Метод энергетической переработки помета // Сборник научных трудов. – ГНУ СЗНИИМЭС Россельхозакадемии, 2010. – Вып. 8. – 324 с.
50. Каменный В.И. Выделение, концентрирование и получение товарных форм биопродуктов: учебное пособие для студентов высших учебных заведений, обучающихся по специальности "Биотехнология". – Архангельск: Изд-во АГТУ, 2009. – 212 с.
51. Касаткин А.Г. Основные процессы и аппараты химической технологии. – М.: Альянс, 2005. – 750 с.

52. Касаткина А.Н. Зерновая дробина как основа для получения биологически активных добавок с пробиотическими свойствами: дис. ... канд. биол. наук. – М., 2008. – 146 с.
53. Каткевич Ю.Ю., Вевере П.Я. Ферментативный гидролиз древесных целлюлоз // Превращения древесины при энзиматическом и микробиологическом воздействиях: Тезисы доклада 3-го научного Семинара. – Рига, 1988. – С. 7-26.
54. Келдиёрова Ш., Тошмуродов Д., Аликулов Б. Обзор современных исследований по ферментативному гидролизу лигноцеллюлозосодержащего сырья // Вестник науки. – 2020. –Т. 1. – № 3. – С. 96-102.
55. Киреева К.В., Владимиров Н.И. Эффективность использования гранулированной смеси на основе сухой пивной дробины в рационах лактирующих коров // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. – 2019. – № 5 (175). – С. 92-95.
56. Кислухина О.В. Ферменты в производстве пищи и кормов. – М.: ДеЛи принт, 2002. – 336 с.
57. Клесов А.А. Ферментативное превращение целлюлозы // Итоги науки и техники. – 1983. – №1. – С. 63-150.
58. Клесов А.А., Синицин А.П. Ферментативный гидролиз целлюлозы. Влияние физико-химических и структурных факторов субстрата на эффективность ферментативного гидролиза // Биоорганическая химия. – 1981. – Т.7. – №12. – С. 1801-1812.
59. Колпакчи А.П., Голикова Н.В., Андреева О.П. Вторичные материальные ресурсы пивоварения. – М.: Агропромиздат, 1986. – 160 с.
60. Колпакчи А.П., Голикова Н.В., Кравченко Л.В. Безотходная технология в пивоваренной отрасли // Пищевая промышленность. – 1989. – № 11. – С. 17-19.
61. Коновалов С.Б., Васильев С.А. Техничко-экономические аспекты производства кормовых биодобавок из отходов пивоваренного

- производства // Воронежская государственная технологическая академия: Сборник научных трудов. – Воронеж, 1977. – Вып. 7. – С. 123-125.
62. Коротаев В.М., Балашов В.Е., Александрова И.Ф. Исследование процесса гранулирования солодовой дробины окатыванием. – М.: ЦНИИТЭИпищепром, 1980. – Вып. 4. – С.18-20.
63. Кривошеин Д.И. и др. Инженерная защита поверхностных вод от промышленных стоков: учебное пособие для студентов высших учебных заведений, обучающихся по направлениям подготовки дипломированных специалистов "Защита окружающей среды" и "Безопасность жизнедеятельности". – М.: Высш. шк., 2008. – 343 с.
64. Кубась В.Г. Этиология, патогенез и лабораторная диагностика кандидоза // Микология [Электронный журнал]. – НИИ медицинской микологии СПбМАПО. – СПб.
65. Кудряшов В.Л., Кислов А.С., Преснякова О.П. Комплексная линия переработки вторичного сырья пивзаводов на основе мембранных процессов // Пиво и напитки. – 2008. – № 2. – С. 22-25.
66. Кутовой Г.И. Из опыта применения пивной дробины и солодовых ростков в производстве ферментных препаратов // Ферментная и спиртовая промышленность. – 1971. – № 3. – С. 32-33.
67. Лабутина Н.Д., Юрина Н.А., Скворцова Л.Н., Петенко А.И. И др. Кормовая добавка на основе отходов переработки растительного сырья в кормлении птицы // Сборник научных трудов КНЦЗВ. – 2020. – Т.9. – № 1. – С. 352-356.
68. Лазаревич А.Н. Новые технологии в кормлении свиней находящихся на дорастивании // Инновации в науке и образовании: опыт, проблемы, перспективы развития: материалы Всероссийской научно-практической и науч-методологической конференции с международным участием/ Краснояр. гос. аграр. ун-т. – Красноярск, 2011. – С. 291-293.
69. Лазаревич А.Н. Пивная дробина в кормлении свиней // Свиноводство. – 2010. – № 8. – С. 34-36.

70. Лазаревич А.Н. Пивная дробина – один из дополнительных источников получения кормового протеина // Инновации в науке и образовании: опыт, проблемы, перспективы развития: мат-лы Всеросс. науч-практ. и науч-метод. конф. с международ. участ. / Краснояр. гос. аграр. ун-т. Красноярск, 2010. – С. 262-264.
71. Лысенко В.П. Переработка отходов птицеводства. – Сергиев Посад: ВНИ-ТИП, 1998. – 151 с.
72. Лысенко В. П. Перспективная технология переработки помета // Птицеводство. – 2011. – № 1. – С. 52-54.
73. Лысенко В.П. Перспективные технологии переработки птичьего помёта // Механизация и электрификация сельского хозяйства. – 1995. – №1. –С. 7-9.
74. Люторович В.А. Флотационное многоступенчатое концентрирование дрожжевых суспензий. – Ленинград: Ленинградский технологический институт им. Ленсовета, 1987. –19 с.
75. Макаренко С.В. Технологии компостирования // Химизация сельского хозяйства. – 1989. – Т. 11. – С. 23-26.
76. Макарова Е.А., Будаева В.В., Митрофанов Р.Ю. Использование мультиэнзимных композиций для гидролиза нетрадиционного целлюлозосодержащего сырья // Ползуновский вестник. – 2010. – № 4-1. – С. 192-197.
77. Маккларенс Э. До последней капли – снижение количества отходов при производстве пива // Пиво и напитки. – 2012. – № 5. – С. 36–38.
78. Мартыненко К.Д., Ефимов В.А. Технологическое оборудование гидролизного производства. – М.: Лесная промышленность, 1973. – 344 с.
79. Методика определения предотвращённого экологического ущерба. Утверждена Председателем Государственного комитета Российской Федерации по охране окружающей среды В.И.Даниловым-Данильяном 30 ноября 1999 г.

80. Миронов В.В. Экобиотехнологии переработки органических отходов // Вестник ВНИИМЖ. – 2018. – № 1(29).
81. Миронов В.В., Зацепин И.С. Разработка классификации способов и технических средств переработки отходов животноводства // Техника и технологии в животноводстве. – 2015. – № 4(20).
82. Миронов В.В., Ножевникова А.Н. Биотехнологические методы трансформации органического вещества отходов животноводства// Вестник ВНИИМЖ. – 2016. – № 1(21).
83. Мишуров Н.П. Инновационные технологии подготовки птичьего помёта к использованию // Вестник ВНИИМЖ. – 2015. – № 4(20).
84. Моисеев Н.Н., Сурнова Б.Д., Морузи И.В. Использование муки из личинок мухи для кормления сеголеток карпа: Переработка свиного навоза личинками комнатной мухи. – Новосибирск: НСХИ, 1979. – С. 57-58.
85. Морозов А.М., Колесов А.А., Глущенко Е.В. Ферментативное получение глюкозы из целлюлозосодержащих материалов на стендовой установке непрерывного действия // Биотехнология. – 1987. – №1. – С. 31-38.
86. Морозова Ю.А., Скворцов Е.В., Алимова Ф.Х. Ксиланазы *Trichoderma reesei* – биосинтез и применение для гидролиза зерновых кормов // Учёные записки Казанского университета. – 2013. – том. 155. – кн. 2. – С. 127-138.
87. Морфология и физиология микроорганизмов – продуцентов биологически активных веществ: методические указания для студентов специальности 1015. М.: Московский технологический институт пищевой промышленности, 1978. – 156 с.
88. Мосичев М.С., Складнев А.А., Котов В.Б. Общая технология микробиологических производств. – Москва: Лёгкая и пищевая промышленность, 1982. – 263 с.

89. Назаров В. И., Бичев М. А. Разработка процессов утилизации отходов с получением гранулированного продукта // Пиво и напитки. – 2011. – № 3. – С. 32–35.
90. Неверова О.П., Зуева Г.В., Сарапулова Т.В. Экосистемный подход к утилизации помёта // Аграрный вестник Урала. – 2014. – №8. – С. 38-41.
91. Пазизина К. В. Скармливание пивной дробины стельным коровам // Молочное и мясное скотоводство. – 1980. – № 2. – С. 17-18.
92. Палиев Х., Илиева И., Канев С., Клисуров Х., Станчева М. Изпитнаве на суха бирена каша в комбинирани фуражи при прасета за угояване // Животновъдни науки. – 1982. – Т. 19. – № 6. – С. 1009-1016.
93. Петров С.М., Филатов С.Л., Пивнова Е.П., Шибанов В.М. К вопросу о способах утилизации пивной дробины // Пиво и напитки. – 2014. – № 6. – С. 32-37.
94. Пискаева А.И. Анализ способов переработки сельскохозяйственных органических отходов на примере куриного помёта // Электронный научный журнал «Экономика: экономика и сельское хозяйство», 2016
95. Питательная среда для производства жидкого кормового биомицина методом глубинной ферментации. А.с. 131214 СССР; заявл. 02.12.59; опубл. 10.10.60, Бюл. №16. – 4 с.
96. Попов В.Н., Корнеева О.С., Искусных О.Ю., Искусных А.Ю. Инновационные способы переработки биоотходов птицеводства // Вестник ВГУИТ. – 2020. – № 1. – С. 194-200.
97. Похоронько Т.В. Эффективность применения птичьего помёта под капусту белокочанную в условиях лесостепи Западной Сибири. 2013.
98. Пунда Н.А. Применение удобрений в Омской области. – Новосибирск: СО ВАСХНИЛ, 1985. – 99 с.
99. Сапотницкий С.А. Использование сульфитных щелоков. М.: Лесная промышленность, 1965. – 283 с.

100. Сельскохозяйственная наука и производство. Серия «Экономика, кормопроизводство, животноводство»; под ред. А.П. Солдатова. – М.: ВНИИТЭИ агропромышленного комплекса, 1985. – №3. – 75 с.
101. Сеницын А.П., Гусаков А.В., Черноглазов В.М. Биоконверсия лигноцеллюлозных материалов: учеб. пособие. – М.: Изд-во МГУ, 1995. – 224 с.
102. Сеницын А.П., Клесов А.А. Влияние предобработки на эффективность ферментативного превращения хлопкового линта // Прикладная биохимия и микробиология. – 1981. – Т.17. – №5. – С. 682-695.
103. Сеницын А.П., Ковалев Г.В., Меса-Манреса С.Р. Сравнительное изучение влияния различных видов предобработки на скорость ферментативного гидролиза природных целлюлозосодержащих материалов // Химия древесины. – 1984. – №5. – С. 60-71.
104. Скворцова Л.Н., Осепчук Д.В. Способ повышения продуктивности цыплят-бройлеров за счёт использования функциональной добавки // Научный журнал КубГАУ. – 2016.
105. Сеницарь А.А., Дардик В.Б., Сеницарь А.И. Эффективность производства и перспективы использования сухой пивной дробины // Практик. – 2002. – № 2. – С34-37.
106. Сеницарь А.И., Рыжов С.А., Траханова Е.М., Маслобоев О.А. Использование пивной дробины при производстве колбасных изделий и полуфабрикатов // Хранение и переработка сельхозсырья. – 2001. – №10. – с. 59-60.
107. Сеницарь А.И., Яхин А.Я., Бабаев И.Э. и др. Сухая дробина – компонент комбикормов для поросят // Свиноводство. – 2004. – № 2. – С. 10-12.
108. Способ получения биомассы кормовых дрожжей на отходах пивоваренного производства: А. с. 1413130 СССР; заявл. 05.01.87; опубл. 30.07.88, Бюл. №7. – 6 с.
109. Способ получения глютамата натрия: пат. 148877 СССР; заявл. 15.02.61; опубл 01.01.62, Бюл. №14. – 4 с.

110. Степаненко Б. Н. Итоги науки. Биохимия. Углеводы. Успехи в изучении строения и метаболизма. – М.: ВИНТИ, 1968. – 300 с.
111. Суханова И.М., Газизов Р.Р., Биккина Л.М.-Х., Яппаров И.А. Технология вермикомпостирования как одно из решений экологических проблем // Агрехимический вестник. –2015. – №6
112. Сухова М.Н., Ерофеева Т.В., Эрнст Л.К. и др. Массовое культивирование комнатной мухи как метод утилизации свиного навоза и охраны внешней среды от загрязнения // Материалы VII съезда Всесоюз. энтомол. о-ва, ч. I. – Л., 1974. – С. 259.
113. Суховеркова В.Е. Способы утилизации птичьего помёта, представленные в современных патентах // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. – 2016. – № 9. – С. 45-55.
114. Табаков Н.А Лазаревич А.Н. Леснов А.П. Рекомендации по производству и использованию углеводно-белкового корма полученного путем биоферментации пивной дробины / Краснояр. гос. аграр. ун-т. – Красноярск, 2013. – С. 291-293.
115. Теучеж А.А. Применение птичьего помёта в качестве органического удобрения // Научных журнал КубГАУ. – 2017.
116. Тихонов И.В., Воронин Е.С., Грязнева Т.Н., Дервинов Д.А., Васильев А.В., Чекмарев А.Д., Маслов С.А. Основы биотехнологических процессов: учебно-методическое пособие по биотехнологии. – Ч. III. Выделение, концентрирование и очистка биопрепаратов. – М.: МГАВМиБ им. К.И. Скрябина, 2002. – 170 с.
117. Токарев В.С., Ценер А.Г. Технология приготовления и качество кормовой муки из личинок синантропных мух. – В кн.: Переработка свиного навоза личинками синантропных мух. – Новосибирск, 1979. – с. 41-42.
118. Толоконин П.С., Баурин Д.В. Пивная дробина: кислотный гидролиз и потенциал для биоконверсии // Успехи в химии и химической технологии. – 2017. – Т.31. – № 9. – С. 26-28.

119. Толстова С.В., Калунянец К.А., Садова А.И., Лисюк Г.М. Гидролиз пивной дробины целлюлазными препаратами // Ферментная и спиртовая промышленность. – 1984. – № 7. – С. 16-17.
120. Третьяк Л. Н., Ребезов М. Б. Преобразования пивоваренного сырья в ходе технологического процесса. Учёные записки института сельского хозяйства и природных ресурсов НовГУ. – Великий Новгород: НовГУ, 2009. – Т. 18. – Вып. 1. – С.53–56.
121. Трусова Л.А., Петров Д.В. Эффективность действия и последствия оргавита и компоста многоцелевого назначения при возделывании свеклы и щавеля в условиях Северо-Запада РФ // Известия Санкт-Петербургского государственного аграрного университета. – 2018.
122. Уваров Р.А. Результаты исследований потерь питательных веществ при биоконверсии подстилочного птичьего помёта в биоферментационной установке камерного типа // Сборник научных трудов. ИАЭП. – 2015. – Вып.86. – С. 139-147.
123. Фискин В.И., Егоров И.А., Сницарь А.И., Мурачев Д.А. Белково – минеральная добавка на основе пивной дробины в рационах бройлеров // Мясная индустрия. – 2000. – №8. – С. 45-47.
124. Хазипов Н.Н., Зиганшин А.И., Громаков В.В., Якимов А.В. Эффективное использование отходов пивоваренной промышленности в свиноводстве // Материалы III научно-практической конференции. Современные технологические и селекционные аспекты развития животноводства России. – Дубровицы, 2005. – Т.2. – С.139-141.
125. Химия древесины; под. ред. Б.Л. Браунинга. М.: Мир, 1967. 400 с.
126. Холькин Ю.И. Технология гидролизных производств. – М.: Лесная промышленность, 1989. – 496 с.
127. Хорин Б.В., Лабутина Н.Д., Юрина Н.А., Петенко А.И., Гнеуш А.Н. Кормовая добавка на основе пивной дробины в бройлерном птицеводстве // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. – 2020. – Т. 224. – № 4. – С. 221-224.

128. Целлюлоза и ее производные; под. ред. Н. Байкльза , Л. Сегала : в 2 Т. – М.: Мир, 1974. – Т. 1. – 500 с.; Т. 2. – 500 с.
129. Цуркан М.А., Урсу А.Ф. Агрехимические основы применения органических удобрений. – Кишинев: Штиинца, 1985. – 287 с.
130. Чашина Е.Р., Ефременко З.А., Саловарова В.П., Гавриков Д.Е., Приставка А.А. Гидролиз целлюлозы ферментным комплексом *Trichoderma viridae* в присутствии фторида натрия: влияние структуры субстрата и сорбционной активности целлюлаз // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. – 2020. – Т.10. – № 2. – С. 261-273.
131. Чудаков Г.М. Разделение суспензий: монография. - Краснодар: Издательский дом – Юг, 2011. – 148 с.
132. Чуканов В.И. Жидкий бесподстилочный помет и его использование // Науч.-техн. Бюл. – Сибирский НИИ земледелия и химизации с.х, 1984. – Т. 49. – с. 24-27.
133. Шакир И.В., Красноштанова А.А., Бабусенко Е.С., Парфенова Е.В., Суясов Н.А., Смирнова В.Д. Общая биотехнология: лабораторный практикум: учебное пособие РХТУ. – М.: РХТУ им. Д. И. Менделеева, 2008. – 120 с.
134. Шмидт А.Г., Трубина Н.К., Кормин В.П. Химический состав птичьего помёта в Омской области и эффективность удобрений на его основе // Электронный научно-методический журнал Омского ГАУ. – 2018. – С.1-4.
135. Шубаков А.А., Михайлова Е.А., Мартынов В.В. Биоконверсия целлюлозосодержащего сырья. Ферментативный гидролиз целлюлозы (обзор литературы) // Известия Коми научного центра УРО РАН. – 2022. – №4(56). – С. 27-37.
136. Шурхно Р.А., Ахмадуллина Ф.Ю., Сироткин А.С., Галанцева Л.Ф., Ильинская О.Н. Анализ питательной ценности растительных кормов и и вторичного сырья // Вестник Казанского технологического университета. – 2014. – Т. 17. – № 8. – С. 223-228.

137. Эрнст Л.К. Продовольственная программа и проблемы развития животноводства. В кн.: Проблемы развития молочного скотоводства. – Таллин, 1983. – с. 3-13.
138. Эрнст Л.К., Вагапов Р.Г., Поздеева Е.С., Жемчужина А.А., Зверева Е.Л. Высокобелковый корм из птичьего помета // Птицеводство. – 1984. – № 1. – С. 30.
139. Эрнст Л.К., Зельнер В.Р., Птак И.Р. Переработка и использование в корм отходов животноводства. – М.: ВНИИ информации и технико-экономических исследований по с.-х., 1974. – 56 с.
140. Эрнст Л.К., Злочевский Ф.И., Ерастов Г.М. Переработка отходов животноводства и птицеводства // Животноводство России. – 2004. №6. – С. 33-34.
141. Юрина Н.А., Лабутина Н.Д., Хорин Б.В. и др. Кормовая добавка на основе пивной дробины в комбикормах для цыплят — бройлеров // Сборник научных трудов КНЦЗВ. – 2021. – Т. 10. – № 2. – с. 34 - 38.
142. Akermann A., Weiermüller J., Chrstmann J. et al. Brewers' spent grain liquor as a feedstock for lactate production with *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* // End Life Sci. – 2020. – № 20(5-6). – P. 168-180.
143. Barclay R. Upgrading spent grains // Brew. Guard. – 1982. – № 7. – P. 18-19.
144. Beard R.L., Sands D.G. Factors, affecting degradation of poultry manure by flies // Environ.Entomol. – 1973. – v. 2. – № 5. – P. 801-805.
145. Bianco A. et al. The role of microorganisms on biotransformation of brewers' spent grain // Appl microbial biotechnol. – 2020. – Vol. 20. – № 104. – P. 8661-8678.
146. Bonifacio-Lopes T, et al. Bioactive extracts from brewer's spent grain // Food Funct. – 2020. – Vol. 10. – № 11. – P. 8963-8977.
147. Bornemissza G.F. Could dung eating insects improve our pastures? // J.Austral.Inst.Agr.Sci. – 1960. – v. 26. – № 1. – P. 54-56.

148. Bornemissza G.F., Williams C.H. An effect of dung beetle activity on plant yield // *Pedobiol.* – 1970. – v. 10. – №. 1. – P. 1-7.
149. Boughton R.A. Spent Grains. A Protein Source Brewer. – 1976. – № 743. P. 286-289.
150. Calvert C.C., Morgan N.O., Martin R.D. House fly larvae biodegradation of hen excreta to useful products // *Poultry Sci.* – 1970. – v. 49. – № 2. – P. 588-589.
151. Canada Animal Manure Management Guide. Agriculture Canada, Ottawa. – 1979. – P. 1-37.
152. Deltoro López J., Fernandez Carmona J. Evaluation of brewer's dried grains in the diets of broiler chickens // *Anim. Feeds Sc. Tehnol.* – 1981. – v. 6. – № 2. – P. 179-188.
153. Deltoro López J., Fernandez Carmona J., Martinez Pascual J.L. Evaluation of brewer's dried grains in the diets of laying hens // *Anim. Feeds Sc. Tehnol.* – 1981. – v. 6. – № 2. – P. 169-178.
154. Finley J.W., Hanamoto M.M. Milling and Baking Properties of Dried Brewer's Spent Grains *Cereal Chemistry.* – 1980. – № 3. – P. 166-168.
155. Fontenot, J.P. et al. Ensiling broiler litter with corn forage, corn grain and water. – In: *Proc. of the Third International Symp. on Livestock Wastes, Michigan, U.S.A., 1975.* – P. 222-226.
156. Fontenot J.P., Webb K.E. Poultry wastes as feedstuffs for ruminants // *Fed. Proc.* – 1974. – v. 33. – № 8. – P. 1936-1937.
157. Głowacki S., Salamon A., Sojak M., Tulej W., Bryś A., Hutsol T., Salamon M., Kukharets S., Janaszek-Mańkowska M. The use of brewer's spent grain after beer production for energy purposes // *Materials (Basel).* – 2022. – Vol. 15. – № 10. – P. 3703.
158. Gusacov A.V., Sinitsyan A.P. A theoretical comparison of the reactors for the enzymatic hydrolysis of cellulose // *Biotechnology and Bioengineering.* – 1987. – Vol. 29. – № 27. – P. 898-900.

159. Hang J.D. Citric Acid Fermentation of Brewery Waste // Journal of Food Science. – 1977. – № 2. – P. 383-384.
160. Hang J.D. Utilization of Brewery Spent Grain Liquor by *Aspergillus niger* // Applied Microbiology. 1975. v. 30. № 5. P. 879-880.
161. Hodapp F. Bietreber und ihre Verwendungsmöglichkeiten // Monatsschrift für Brauere. – 1979. – № 2. – P. 88-90.
162. Hug H. Malztreber – ein preisgünstigen Kraftfuttermittel // Brauerei – Rundschau. – 1981. – P. 12.
163. Hug H., Pfenninger H. Praxisversuche zum Rückführen von Rieselqurfilter – Rückstand // Bbrauerei – Rundschau. – 1983. – № 12. – P. 297-299.
164. Hug H., Sonderregger H. Versuche zur kurzfristigen Lagerung von Nassmalztrebern mit und ohne Zusatz von Konservierungsmitteln // Brauerei Rdsch. – 1984. – № 4. – P. 53-57.
165. Hunt C.W., Paterson J.A., Fischer I.R., Williams J.E. The effect of sodium hydroxide treatment of fescue – corn stillage diets on intake, digestibility and performance with lambs // J. anim. Sc. – 1983. – v. 57. – № 4. – P. 1013-1019.
166. Ilian, M.A. and Salman, J.A. Feeding processed hatchery wastes to poultry // Agricultural Wastes. – 1986. – № 15. – P. 179-186.
167. Jackowski M., Niedzwiecki L, Jagiello K., Uchanska O. Brewer' s spent grains – valuable beer industry by-product // Biomolecules. – 2020. – Vol.12. – №10. – P. 1669.
168. Jaenger A., Zannini E., Sahin A.W., Arendt E.A. Barley protein properties, extraction and applications, with a focus on brewer' spent gran protein // Foods. – 2021– Vol.6. – №10. – P. 1389.
169. Jones E.O., Lee J.M. Kinetic analysis of bioconversion of cellulose in attrition bioreactor // Biotechnol. Bioeng. – 1988. – Vol. 31. – №. 31. – P. 35-40.
170. Kim T., Heo S., Na H.-E., Lee G., Lee J.-H., Kim J.-Y., Jeong D.-W. Increased production of γ -aminobutyric acid from brewer's spent grain trough

- Bacillus fermentation // J Microbiol Biotechnol. – 2023. – Vol. 33. – №. 4. – P. 527-532.
171. Kobelev K.V. et al. Study of brever's spent grain environmentally friendly processing ways // Molecules. – 2023. – Vol. 11. – №. 28. – P. 4553.
172. Koirala P., Maina N.H., Nihtilä H., Katina K., Coda R. Brewers' spent grain as substrate for dextran biosynthesis by *Leuconostoc pseudomesenteroides* DSM 20193 and *Weissella confuse* A16 // Microb cell fact. – 2021. – Vol.1. – № 20. – P.23.
173. Lao E.J., Dimoso N., Raymond J, Mbega E.R. The prebiotic potential of brewers' spent grain on livestock's health: a review. Trop anim health prod. – 2020. – Vol.2. – № 52. – P. 461-472.
174. Larry U.L. Column cellulose hydrolysis reactor: the effect of retention time, temperature, cellulose concentration and exogenously added cellobiase on the overall process // Appl. Biochem. Biotechnol. 1987. – Vol. 26. – № 1. – P. 21-27.
175. Lee J.M., Wolf J.H. Continuous attrition bioreactor with enzyme recycling for the bioconversion of cellulose // Appl. Biochem. Biotechnol. 1988. – Vol. 18. – P. 203-215.
176. Linton J.H. Pollution abatement throughout Utilization of «Wet2 Brewery By-Products in Livestock Feeding // Brewer's Digest. – 1973. – v. 48. – № 1. – P. 42, 44, 46, 74.
177. Livestock Waste Facilities Handbook. Second Edition, Midwest Plan Service, Ames, Iowa, U.S.A., 1985. – P. 110-111.
178. Loncin M., Schornick G. Gewinnung von Protein – Konzentrat aus Bierterbern // Brauwelt. – 1977. – № 3. – P. 252-255.
179. Mussatto S.I. Brewer' spent grain: valuble feedstock for industrial applications // J Sci Food Agric. – 2014. – № 94 (7). – P. 1264-1275.
180. Niefind H. – J. Neuser F. Kohls G. Biertreber für die menschliche Ernährung // Brauwelt. – 1982. – № 11. – P. 428-432.

181. Oshio T., Ikeuchi H., Maeda S. Studies on the breeding of flies in domestic animal fecal materials. I. On the dipterous flies breeding out of fecal materials of domestic animals // *Jap.J.Sanit.Zool.* – 1962. – v.13. – № 4. – P. 253-258.
182. Palmquist D.L., Conrad H.R. Utilization of distillers dried grains plus solubles by dairy cows in early lactation // *J. Dairy Sc.* – 1982. – v. 65. – № 9. – P. 1729-1733.
183. Parchami M., Mahboubi A., Agnihotri S., Taherzadeh M.J. Biovalorization of brewer's spent grain as single-cell protein through coupling organosolv pretreatment and fungal cultivation // *Waste Manag.* – 2023. – № 169. – P. 382-391.
184. Patel A., Mikes F., Bühler S., Matsakas L. Valorization of brewers' spent grain for the production of lipids by oleaginous yeast // *Molecules.* – 2018. – v. 23. – №12. – P. 3052-3062.
185. Pomeranz J. Single – Cell Protein form By-Products of Malting and Brewing // *Brewer's Digest.* – 1976. – №1. – P. 49 - 55, 60.
186. Potthast V., Gübblen Th. Bietreber – eine kostengünstige Alternative // *Brauwelt.* – 1981. – № 1. – P. 49 - 55, 60.
187. Puri V.P. Ozone pretreatment to increase digestibility of lignocellulose // *Biotechnology.* – 1983. – Vol. 5. – P. 773-776.
188. Roberts R.T. Use of an Extract of Spent Grains as an Antifoaming Agent in Fermentators // *Jour. Inst. Brew.* – 1976. – № 2. – P. 96.
189. Rojas-Chamorro J.A., Romero-Garcia J.M., Cara C., Romero I., Castro E. Improved ethanol production from the slurry of pretreated brewers' spent grain through different co-fermentation strategies // *Bioresource technology.* – 2020. – Vol. 296.
190. Ryu S.K. Lee I.M. Bioconversion of waste cellulose by using an attrition bioreactor // *Biotechnol. Bioeng.* – 1983. – Vol. 25. – № 1. – P. 53-65.
191. Schettino R., Verni M., Acin-Aliac et al. Bioprocessed brewers' spent grain improves nutritional and antioxidant properties of pasta. *Antioxidants (Basel).* – 2021. – Vol. 5. – № 10. – P. 742.

192. Silver R.S. Saccharification method // USA patent 4409329. 1983.
193. Soberka R., Krryzaniak Z. Proby kiszenia wyslodzin (miota browarnego) w praktuce // Przem Ferm. I. Rolny, 1979. – № 5.
194. Szlag D.C. Factors affecting yeast flocculation. M.S Thesis, Univ. of Colorado, Boulder, CO, 1998.
195. Taylor Y.T. The Influence on Lipids Deribed from Malt Spent Grains on Yast Metabolism and Fermentation // Journ. Inst. Brew. – 1979. – v. 85. – № 4. – P. 219-227.
196. Townsley P.M. Preparation of commercial products from brewer's waste grain and trub // Bereragest. – 1981. – v. 38. – № 4. – P. 18-20, 22.
197. Townsley P.M. Preparation of commercial products from brewer's waste grain and trub // MBAA, Techn. Quart. – 1979. – № 16. – P. 130.
198. Vezey, S.A. and Dobbins, C.N. Ensiling poultry floor litter and cage layer manure. In: Proc. of the Third International Symp. on Livestock Wastes, Michigan, U.S.A., 1975. – P. 195-196.
199. Warzech A., Soberka R. Moxliiwosl, zastosowanja niektoryck srodrow chemicznych I dodatrow roslinnych do kiszenia wyslodzin slodowych (miota browarnego) // Przem. Form. i Rolny. – 1971. – № 6.
200. Wilke C.R., Lee I.M. Process development studies on the enzymatic hydrolysis the cellulose // Biotechnol. Bioeng. Symp. – 1975. – Vol. 5. – P. 253-274.

Приложение 1. Экономическая часть.

4.1. Расчёт себестоимости растительного углеводно – белкового кормового продукта (РУБК) на основе пивной дробины с использованием солей в качестве источника минеральных веществ.

Мощность производства принимаем равной 35000 т пивной дробины в год, что соответствует средней мощности пивоваренного завода. Годовой выпуск РУБК - 6703 т.

Эффективное время работы производства принимаем равным 345 дня/год (8280 ч/год).

Принимаем режим работы цеха непрерывным в три смены по 8 ч.

1.1. Расчет преискурантной стоимости оборудования

Цены на оборудование взяты из прайс-листов отечественных фирм.

№ п/п	Наименование	Количество	Цена, тыс. руб	Стоимость, тыс. руб
1	Шнековый транспортёр	4	129,32	517,28
2	Бункер-дозатор ДС-12	4	135,00	540,0
3	Сборник-смеситель питательной среды с мешалкой, V=5 м ³	4	150,00	600,00
4	Нагревательная колонка, Q=3 т/ч	4	155,00	620,00
5	Выдерживатель трубчатый	4	100,00	400,00
6	Рекуператор тепла (пластинчатый т/о, F=5 м ²)	4	147,18	588,72
7	Холодильник	4	278,00	1112,00

	питательной среды (пластинчатый т/о, F=10 м ²)			
8	Промежуточная ёмкость с мешалкой для питательной среды, V=5 м ³	4	150,00	600,00
9	Сборник-смеситель для приготовления питательных солей с мешалкой, V=4 м ³	4	140,00	560,00
10	Отстойник для питательных солей с гребешковой мешалкой, V=4 м ³	4	130,00	520,00
11	АЧК, V=4,2 м ³ , d=1344 Н=2959 с рубашкой, барботёром и мешалкой	4	395,00	1580,00
12	Ферментёр, V=21 м ³ 288 м ³ , d=2298, H=5059	8	946,40	7571,20
13	Ёмкость для аммиачной воды, V= 3 м ³	4	135,00	840,00
14	Промежуточная ёмкость-сборник микробной суспензии с мешалкой, V= 6 м ³	4	180,00	720,00
15	Фильтр-пресс КМП 12,5	4	4000,00 8000,00	16000,00
16	Гранулятор-	4	323,75	1295,00

	плазмоллизатор			
17	Ленточная сушилка ЛС3,0-8НК-02 Ленточная сушилка ЛС3,0-20НК-01	4	4000,00 9000,00	16000,00
18	Машина фасовочная дискретного действия шнековая МФДШ-50	4	148,53	594,12
19	Дезэмульгатор с мешалкой, V= 5 м ³	4	150,00	600,00
20	Воздуходувка ТВ 50- 1,6-01.У3 Воздуходувка ТВ 80- 1,8-01.У3	4	310,70 608,41 477,89	1242,8
21	Насосный узел - перекачка сред - питательных солей - аммиачной воды	24 8 8	71,54 39,74 37,71	1716,96 317,92 301,68
	ИТОГО:			54837,68

1.2. Расчет итоговой стоимости оборудования

№ п/п	Наименование	Стоимость, тыс. руб	Примечание
1	Прейскурантная стоимость	54837,68	
2	Неучтенное оборудование	8225,65	15% от ст.1
3	Итого:	63063,33	
4	Транспортные расходы	6306,33	10% от ст.3
5	Итого:	69369,66	
6	Монтаж оборудования	6936,97	10% от ст.5
7	КИП и их монтаж	3468,48	5% от ст. 5

8	Трубопроводы	3468,48	5% от ст. 5
9	Спецработы	3468,48	5% от ст. 5
	ИТОГО:	86712,07	

1. Расчет стоимости строительства зданий

Стоимость зданий принимаем равной 42% от полной стоимости оборудования

$$0,42 \times 86712,07 = 36419,07 \text{ тыс. руб.}$$

Наименование	Основные фонды, тыс. руб	Внеобъектные затраты, тыс. руб.	Капитальные затраты, тыс. руб
1. Оборудование	86712,07	4335,60	91047,67
2. Здания	36419,07	1820,95	38240,02
Итого:	123131,14	6156,55	129287,69

2. Расчет капитальных затрат

Пояснения: внеобъектные затраты принимаем в размере 5% от стоимости основных фондов.

3. Расчет фонда заработной платы рабочих

В соответствии с графиком работы оборудования для обслуживания установки необходимо 16 человек в смену, поэтому в сутки явочная численность составит 48 человек.

Находим списочное число рабочих:

$$48 \times 345/239 = 70 \text{ человек.}$$

Зарплата одного рабочего в месяц составляет 35000 руб. Тогда годовой фонд заработной платы основных рабочих составит:

70 x 35000 x 12 = 29400 тыс. руб/год.

Наименование, единицы	Цена, руб/ед.	Норма расхода, ед./т	Затраты на 1 т, руб/т	Количество в год, ед.	Затраты на год, тыс. руб
Сырьё					
Серная кислота конц., кг	23,20	29,07	674,42	194856,21	4520,64
Аммиак водный, кг	30,96	123,39	3820,15	827083,17	25606,47
Аммоний сернокислый, кг	40,00	29,37	1174,8	196867,11	7874,68
Калий фосфорнокислый 1-замещ., кг	301,00	16,32	4912,32	109392,96	32927,28
Магний сернокислый, кг	24,23	11,42	276,71	76548,26	1854,76
Натрий хлористый, кг	29,00	5,71	165,59	38274,13	1109,95
Пеногаситель (пропинол Б-400), кг	96,00	2,00	192,00	13406,00	1286,98
Материалы					
Бумажные крафт-мешки, шт.	11,19	20	223,8	134060,00	1500,13
ИТОГО:			11439,79		76680,89

Для работы установки также необходимо:

- 12 рабочих по уходу и надзору за оборудованием. Их заработная плата составляет 25000 руб/мес, а в год:

$$12 \times 25000 \times 12 = 3600 \text{ тыс. руб.}$$

- 8 рабочих по текущему ремонту оборудования. Их заработная плата составляет 25000 руб/мес, а в год:

$$8 \times 25000 \times 12 = 2400 \text{ тыс. руб.}$$

1.6. Расчет заработной платы цехового персонала

Наименование	Фонд заработной платы в мес, тыс. руб	Годовой фонд заработной платы, тыс. руб	Премия, тыс. руб (30% от оклада)	Годовой фонд заработной платы с премией
Нач. цеха	60,00	720,00	216,00	936,00
Нач. смены (4 чел)	55,00	2640,00	792,00	3432,00
Технолог	50,00	600,00	180,00	780,00
Экономист	50,00	600,00	180,00	780,00
Уборщик (4 чел)	15,00	720,00	216,00	936,00
Лаборант (8 чел)	25,00	2400,00	720,00	3120,00
Итого:		7680,00	2304,00	9984,00

1. Расчет затрат на сырье и материалы

1.8. Расчет годового расхода электроэнергии

Наименование электрооборудования	Мощность, кВт	Количество	Суммарная мощность, кВт	К-т спроса	К-т потерь	Общая мощность, кВт	Эфф. фонд времени работы	Расход эл. энергии, кВт ч

							обору- дова- ния, ч	
Шнековый транспор- тёр	2,2	4	8,8	1,1	0,6	5,808	1035	6011,28
Бункер- дозатор ДС-12	0,2	4	0,8	1,1	0,6	0,528	2070	1092,96
Сборник- смеситель питатель- ной среды с мешалкой, V=3 м ³ 5	3,5	4	14	1,1	0,6	9,24	2070	19126,80
Нагревател ьная колонка, Q=3 т/ч	5,0	4	20	1,1	0,6	13,2	2070	27324,00
Промежуто чная ёмкость с мешалкой для питатель- ной среды, V=3 м ³ 5	3,5	4	14	1,1	0,6	9,24	4140	38253,60
Сборник- смеситель для приготов- ления питата-	3,0	4	12	1,1	0,6	7,92	4140	32788,80

тельных солей с мешалкой, V= 2 м ³ 4								
Отстойник для питательных солей с гребешковой мешалкой, V=2 м ³ 4	3,0	4	12	1,1	0,6	7,92	4140	32788,80
АЧК, V=2,1 м ³ , d=1700, H=2645 с рубашкой, барботёром и мешалкой	5,25	4	21	1,1	0,6	13,86	828	11476,08
Ферментёр, V=21 м ³ , d=5500, H=12110	10,0	8	80	1,1	0,6	52,8	8280	437184,00
Промежуточная ёмкость-сборник микробной суспензии с мешалкой, V=3 м ³ 6	4,0	4	16	1,1	0,6	10,56	1656	17487,36

Фильтр-пресс КМП 12,5	24	4	96	1,1	0,6	63,36	7452	472158,72
Гранулятор-плазмоллизатор	25	4	100	1,1	0,6	66,00	7452	491832,00
Ленточная сушилка ЛС3,0-8НК-02	20	4	80	1,1	0,6	52,8	7452	393465,60
Машина фасовочная дискретного действия шнековая МФДШ-50	1	4	4	1,1	0,6	2,64	7452	19673,28
Дезэмульгатор с мешалкой, V= 3 м ³ 5	3,5	4	14	1,1	0,6	9,24	2070	19126,80
Воздуходувка ТВ 50-1,6-01.У3	110	4	440	1,1	0,6	290,4	8142	2364436,80
Насос для перекачки сред	30	24	720	1,1	0,6	475,20	2070	983664,00
Насос для перекачки питательных солей	30	8	240	1,1	0,6	158,40	2070	327888,00
Насос для	11	8	88	1,1	0,6	58,08	1035	60112,80

перекачки аммиачной воды								
ИТОГО:								5755891,68

1.9. Расчет энергозатрат

Наименование, единицы	Цена, руб/ед	Норма расхода, ед/т	Затраты на 1 т, руб/т	Количество в год, ед	Затраты на год, тыс. руб
Вода технологическая, м ³	23,13	9,20	212,80	61667,60	1426,37
Вода обессоленная, м ³	78,00	0,063	4,91	422,29	32,94
Электроэнергия, кВт ч	4,34	858,70	3726,76	5755891,68	24980,57
Условное топливо или газ, м ³	4,24	320,87	1360,49	2150791,61	9119,36
ИТОГО:			5304,96		35559,24

1.10. Расчет средневзвешенной нормы амортизации по оборудованию

№ п/п	Наименование	Стоимость, тыс. руб.	Норма амортизации, %	Амортизацион-ные отчисления, тыс. руб.
1	Шнековый транспортёр	517,28	11	56,90
2	Бункер-дозатор ДС-12	540,0	11	59,4
3	Сборник-смеситель питательной среды с мешалкой, V=29 м ³	600,00	6,3	37,8
4	Нагревательная	620,00	20	124,00

	колонка, Q=30 т/ч			
5	Выдерживатель трубчатый	400,00	20	80,00
6	Рекуператор тепла (пластинчатый т/о, F=50м ²)	588,72	7	41,21
7	Холодильник питательной среды (пластинчатый т/о, F=100м ²)	1112,00	7	77,84
8	Промежуточная ёмкость с мешалкой для питательной среды, V=29 м ³	600,00	6,3	37,8
9	Сборник-смеситель для приготовления питательных солей с мешалкой, V=4 м ³	560,00	6,3	35,28
10	Отстойник для питательных солей с гребешковой мешалкой, V=2 м ³	520,00	7	36,4
11	АЧК, V=6 м ³ , d=1700, H=2645 с рубашкой, барботёром и мешалкой	1580,00	6,7	105,86
12	Ферментёр, V=288 м ³ , d=5500, H=12110	7571,20	6,7	507,27
13	Ёмкость для аммиачной воды,	840,00	6,3	52,92

	V=3 м ³			
14	Промежуточная ёмкость-сборник микробной суспензии с мешалкой, V=29 м ³	720,00	6,3	45,36
15	Фильтр-пресс КМП 25	16000,00	10	1600,00
16	Гранулятор-плазмолизатор	1295,00	10	129,50
17	Ленточная сушилка ЛСЗ,0-20НК-01	16000,00	10	1600,00
18	Машина фасовочная дискретного действия шнековая МФДШ-50	594,12	6,3	37,43
19	Дезэмульгатор с мешалкой, V= 28 м ³	600,00	6,3	37,80
20	Воздуходувка ТВ 80-1,8-01.УЗ	1242,8	10	124,28
21	Насосный узел - перекачка сред - питательных солей - аммиачной воды	1716,96 317,92 301,68	10 10 10	171,70 31,79 30,17
	ИТОГО:	54837,68		5060,71

Норма амортизации средневзвешенная = $5060,71/54837,68 = 9,23 \%$

1.11. Расчет амортизационных отчислений

Наименование	Стоимость, тыс. руб.	Норма амортизации,	Амортизационные отчисления, тыс. руб.
--------------	----------------------	--------------------	---------------------------------------

		%	
Оборудование	86712,07	9,23	8003,52
Здания	36419,07	1,30	473,45

1.12. Смета расходов по содержанию и эксплуатации оборудования

Наименование	Стоимость, тыс. руб.	Примечание
1. Расходы по уходу и надзору за оборудованием:		
а) Заработная плата рабочих по уходу и надзору за оборудованием	3600,00	
б) единый социальный налог	936,00	26% от ст. 1а
в) смазочные материалы	1734,24	2% стоимости оборудования
Итого по статье 1	6270,24	
2. Расходы по ремонту оборудования:		
а) Заработная плата рабочих по ремонту оборудования	2400,00	
б) единый социальный налог	624,00	26% от ст. 2а
в) материалы и запчасти	4335,60	5% стоимости оборудования
Итого по статье 2:	7359,6	
3. Амортизация оборудования	8003,52	
4. Итого по статьям 1 - 3	21633,36	
5. Прочие расходы	2163,34	10% от ст.4
6. Всего по смете	23796,70	

1.13. Смета цеховых расходов

Наименование	Стоимость, тыс. руб.	Примечание
1. Заработная плата цехового персонала	7680,00	Без премии
2. Единый социальный налог	2595,84	26% от суммы с премией
3. Содержание зданий и	1820,95	5% от их стоимости

сооружений		
4. Текущий ремонт зданий и сооружений	1092,57	3% от их стоимости
5. Амортизация зданий	473,45	
6. Расходы по охране труда	8850,00	25% зарплаты всех рабочих
7. Итого по статьям 1 – 6	22512,81	
8. Прочие расходы	2251,28	10% от ст. 7
9. Всего по смете	24764,09	

1.14. Калькуляция себестоимости 1 т РУБК

Наименование	Затраты на 1 т, руб./т	Затраты на годовой выпуск, тыс. руб.
1. Сырье и материалы	11439,79	76680,89
2. Энергия на технологические цели	5304,96	35559,24
3. Заработная плата основная и дополнительная производственных рабочих	5281,22	35400,00
4. Единый социальный налог	1373,12	9204,00
5. Расходы на подготовку и освоение производства	528,12	3540,00
6. Расходы по содержанию и эксплуатации оборудования	3550,16	23796,70
7. Цеховые расходы	3694,48	24764,09
8. Итого цеховая себестоимость	31171,85	208944,92
9. Общезаводские расходы	3960,92	26550,00
10. Прочие производственные расходы	396,09	2655,00
11. Итого себестоимость производства	35528,86	238149,92

12. Внепроизводственные расходы	710,58	4763,00
Итого полная себестоимость	36239,44	242912,92

2. Сводная таблица технико-экономических показателей

Наименование	Единицы измерения	
1. Годовой выпуск продукции:		
а) в натуральном выражении	т	6703
б) по себестоимости	тыс. руб	242912,92
в) в оптовых ценах	тыс. руб	636785,00
2. Численность работающих		
а) всего	чел.	109
б) рабочих	чел.	90
в) ИТР и МОП	чел.	19
3. Производительность труда		
а) одного работающего	т/чел.	61,50
б) одного рабочего	т/чел.	74,48
4. Капитальные затраты	тыс. руб.	129287,69
5. Удельные капитальные затраты	тыс. руб./т	19,29
6. Основные фонды	тыс. руб.	123131,13
7. Нормируемые оборотные средства	тыс. руб.	18469,67
8. Полная себестоимость единицы продукции	руб./т	36239,44
9. Полная себестоимость годового выпуска	тыс. руб.	242912,92
10. Прибыль годовая	тыс. руб.	242817,97
11. Рентабельность производства	%	42,87
12. Рентабельность продукции	%	99,96
13. Срок окупаемости капитальных вложений	Лет	2,13
14. Фондоотдача	руб./руб.	0,477
15. Фондовооруженность	руб./чел.	1129,64

Для расчета принимаем $Ц = 2,621453 * С$.

$Ц = 2,6214533 * 36239,44 = 95000,00$ руб.

Стоимость годового выпуска: $95000,00 * 6703 = 636785,00$ тыс. руб.

Годовая валовая прибыль:

$Пв = (Ц - С) * В$,

$Пв = (95000,00 - 36239,44) * 6703 = 242817,97$ тыс. руб.

Рентабельность производства:

$Эф = Пв / ((Фо + Он) * (1 + Кк)) * 100$,

$Эф = 242817,97 / ((123131,13 + 18469,67) * (1 + 3)) * 100 = 42,87 \%$.

Рентабельность продукции:

$Эпр = Пв / С * 100$,

$Эпр = 242817,97 / 242912,92 * 100 = 99,96 \%$.

Срок окупаемости капитальных вложений:

$T = K (1 + Кк) / Пв = 129287,69 (1 + 3) / 242817,97 = 2,13$ года

Коэффициент экономической эффективности:

$E = Пв / K (1 + Кк) = 242817,97 / 129287,69 (1 + 3) = 0,470$

ВЫВОДЫ ЭКОНОМИЧЕСКОЙ ЧАСТИ

3. Структура полной себестоимости

Наименование	%
1. Сырье и материалы	42,33
2. Энергия на технологические цели	13,07
3. Заработная плата основная и дополнительная производственных рабочих	11,99
4. Единый социальный налог	3,12
5. Расходы на подготовку и освоение производства	1,20
6. Расходы по содержанию и эксплуатации оборудования	8,06
7. Цеховые расходы	8,39
8. Общезаводские расходы	8,99
9. Прочие производственные расходы	0,90
10. Внепроизводственные расходы	1,96
Итого полная себестоимость	100

4. Расчет предотвращенного экологического ущерба

В условиях пивоваренного завода основным отходом является отработанная пивная дробина. Для ее утилизации последнюю разбавляют водой до содержания 1,5% сухих веществ и направляют на очистные сооружения. В результате внедряемой технологии происходит как снижение объема годового стока, так и снижение его ХПК. Для того, чтобы оценить этот эффект мы проводим следующий расчёт.

4.1. Исходные данные для расчета

1) Состав стока. Оцениваем по величине ХПК.

$$\text{ХПК}_{\text{стока до}} = 60000 \text{ мгО/л.}$$

$$\text{ХПК}_{\text{стока после}} = 3530 \text{ мгО/л.}$$

2) Концентрация загрязняющих веществ в стоке до внедрения предлагаемой технологии:

$$q_{i \text{ баз}} = 60000 \text{ мгО/л.}$$

3) Концентрация загрязняющих веществ в стоке после внедрения предлагаемой технологии:

$$q_i = 3530 \text{ мгО/л.}$$

4) Годовые объемы стоков:

$$\text{до внедрения: } Q_{\text{вод. баз.}} = 29167 \text{ м}^3/\text{год.}$$

$$\text{после внедрения: } Q_{\text{вод.}} = 25612 \text{ м}^3/\text{год.}$$

5) Показатель относительной агрессивности вещества для стоков с ХПК > 40000 мгО/л по данным [63] равен $K_j^{\text{вод}} = 0,05$ усл. т/год.

6) Показатель относительной опасности загрязнения водоемов для предприятия, расположенного в бассейне Москва-реки:

$$\sigma^{\text{вод.}} = 1,2.$$

7) Удельный ущерб от сброса одной условной тонны вещества:

$$Y_{\text{ут}}^{\text{вод.}} = 36340,5 \text{ руб./усл. т.}$$

4.2. Расчет

1. Массы сбрасываемых веществ:

- до внедрения:

$$m_j^{\text{баз.}} = q_i^{\text{баз.}} Q_{\text{вод.баз.}} = 60000 \times 29167 = 1750,02 \text{ т/год}$$

- после внедрения:

$$m_j = q_i Q_{\text{вод.}} = 3530 \times 25612 = 90,41 \text{ т/год}$$

2. Приведенные массы сбрасываемых веществ:

- до внедрения:

$$M_j^{\text{баз.}} = m_j^{\text{баз.}} K_j^{\text{вод.}} = 1750,02 \times 0,05 = 87,50 \text{ усл.т/год.}$$

- после внедрения:

$$M_j = m_j K_j^{\text{вод.}} = 90,41 \times 0,05 = 4,52 \text{ усл.т/год.}$$

4) Ущерб от загрязнения водоемов:

$$Y_{\text{вод. баз.}} = M_j^{\text{баз.}} \times \sigma^{\text{вод.}} \times Y_{\text{ут. вод.}} = 87,50 \times 1,2 \times 36340,5 = 3815,75 \text{ тыс. руб./год}$$

$$Y_{\text{вод.}} = M_j \times \sigma^{\text{вод.}} \times Y_{\text{ут. вод.}} = 4,52 \times 1,2 \times 36340,5 = 197,11 \text{ тыс. руб./год}$$

5) Предотвращенный ущерб:

$$\Delta Y = Y_{\text{вод. баз.}} - Y_{\text{вод.}} = 3815,75 - 197,11 = 3618,64 \text{ тыс. руб./год}$$

4.2. Расчёт себестоимости растительного углеводно – белковогокормового продукта (РУБК) на основе пивной дробины с использованием куриного помёта в качестве источника минеральных веществ.

Мощность производства принимаем равной 35000 т пивной дробины в год, что соответствует средней мощности пивоваренного завода. Годовой выпуск РУБК - 7080 т.

Эффективное время работы производства принимаем равным 345 дня/год (8280 ч/год).

Принимаем режим работы цеха непрерывным в три смены по 8 ч.

1.1. Расчет преysкурантной стоимости оборудования

Цены на оборудование взяты из прайс-листов отечественных фирм.

№ п/п	Наименование	Количество	Цена, тыс. руб	Стоимость, тыс. руб
1	Шнековый транспортёр	8	129,32	1034,56
2	Бункер-дозатор ДС-12	8	135,00	1080,00
3	Сборник-смеситель питательной среды с мешалкой, V=5 м ³	4	150,00	600,00
4	Нагревательная колонка для питательной среды, Q=3 т/ч	4	155,00	620,00
5	Выдерживатель трубчатый для питательной среды	4	100,00	400,00
6	Рекуператор тепла для питательной среды (пластинчатый т/о, F=5 м ²)	4	147,18	588,72
7	Холодильник питательной среды (пластинчатый т/о, F=10 м ²)	4	278,00	1112,00
8	Промежуточная ёмкость с мешалкой для питательной среды, V=5 м ³	4	150,00	600,00
9	Сборник-смеситель для помёта с мешалкой, V=4 м ³	4	145,00	580,00
10	Нагревательная колонка для суспензии помёта, Q=2 т/ч	4	125,00	500,00
11	Выдерживатель трубчатый для суспензии помёта	4	96,00	384,00
12	Рекуператор тепла для суспензии помёта	4	117,00	468,00

	(пластинчатый т/о, F= 3 м ²)			
13	Холодильник для суспензии помёта (пластинчатый т/о, F= 5 м ²)	4	185,00	740,00
14	Промежуточная ёмкость с мешалкой для суспензии помёта, V= 4 м ³	4	145,00	580,00
15	Фильтр-пресс КМП 5	4	2000,00	8000,00
16	Ёмкость для фильтрата гидролизата помёта с мешалкой, V=3,5 м ³	4	140,00	560,00
17	АЧК, V=6 м ³ , d=1700, H=2645 с рубашкой, барботёром и мешалкой	4	395,00	1580,00
18	Ферментёр, V=288 м ³ , d=5500, H=12110	8	946,40	7571,2
19	Ёмкость для аммиачной воды, V=3 м ³	4	135,00	540,00
20	Промежуточная ёмкость-сборник микробной суспензии с мешалкой, V=6 м ³	4	180,00	720,00
21	Фильтр-пресс КМП 12,5	4	4000,00	16000,00
22	Гранулятор-плазмолизатор	4	323,75	1295,00
23	Ленточная сушилка ЛС3,0-8НК-02	4	4000,00	16000,00
24	Машина фасовочная дискретного действия шнековая МФДШ-50	4	148,53	594,12
25	Дезэмульгатор с мешалкой, V= 5 м ³	4	150,00	600,00

26	Воздуходувка ТВ 50-1,6-01.УЗ	4	310,70	1242,80
27	Насосный узел - перекачка сред - аммиачной воды	32	71,54	2289,28
		8	37,71	301,68
	ИТОГО:			66581,36

1.2. Расчет итоговой стоимости оборудования

№ п/п	Наименование	Стоимость, руб	тыс.	Примечание
1	Прейскурантная стоимость	66581,36		
2	Неучтенное оборудование	9987,20		15% от ст.1
3	Итого:	76568,56		
4	Транспортные расходы	7656,86		10% от ст.3
5	Итого:	84225,42		
6	Монтаж оборудования	8422,54		10% от ст.5
7	КИП и их монтаж	4211,27		5% от ст. 5
8	Трубопроводы	4211,27		5% от ст. 5
9	Спецработы	4211,27		5% от ст. 5
	ИТОГО:	105281,77		

1.3. Расчет стоимости строительства зданий

Стоимость зданий принимаем равной 42% от полной стоимости оборудования

$$0,42 \times 105281,77 = 44218,34 \text{ тыс. руб.}$$

1.4. Расчет капитальных затрат

Наименование	Основные фонды, тыс. руб	Внеобъектные затраты, тыс. руб.	Капитальные затраты, тыс. руб
1. Оборудование	105281,77	5264,09	110545,86
2. Здания	44218,34	2210,92	46429,26
Итого:	149500,11	7475,01	156975,12

Пояснения: внеобъектные затраты принимаем в размере 5% от стоимости основных фондов.

1.5. Расчет фонда заработной платы рабочих

В соответствии с графиком работы оборудования для обслуживания установки необходимо 18 человека в смену, поэтому в сутки явочная численность составит 54 человек.

Находим списочное число рабочих:

$$54 \times 345/239 = 78 \text{ человек.}$$

Зарплата одного рабочего в месяц составляет 35000 руб. Тогда годовой фонд заработной платы основных рабочих составит:

$$78 \times 35000 \times 12 = 32760 \text{ тыс. руб/год.}$$

Для работы установки также необходимо:

- 14 рабочих по уходу и надзору за оборудованием. Их заработная плата составляет 4000 руб/мес, а в год:

$$14 \times 25000 \times 12 = 4200 \text{ тыс. руб.}$$

- 10 рабочих по текущему ремонту оборудования. Их заработная плата составляет 4000 руб/мес, а в год:

$$10 \times 25000 \times 12 = 3000 \text{ тыс. руб.}$$

1.6. Расчет заработной платы цехового персонала

Наименование	Фонд	Годовой фонд	Премия,	Годовой
--------------	------	--------------	---------	---------

	заработной платы в мес, тыс. руб	заработной платы, тыс. руб	тыс. руб (30% от оклада)	фонд заработной платы с премией
Нач. цеха	60,00	720,00	216,00	936,00
Нач. смены (4 чел)	55,00	2640,00	792,00	3432,00
Технолог	50,00	600,00	180,00	780,00
Экономист	50,00	600,00	180,00	780,00
Уборщик (4 чел)	15,00	720,00	216,00	936,00
Лаборант (8 чел)	25,00	2400,00	720,00	3120,00
Итого:		7680,00	2304,00	9984,00

1.7. Расчет затрат на сырье и материалы

Наимено- вание, единицы	Цена, руб/ед.	Норма расхода, ед./т	Затраты на 1 т, руб/т	Количество в год, ед.	Затраты на год, тыс. руб
Сырьё					
Серная кислота конц., кг	23,20	55,05	1277,16	389754,00	9042,29
Аммиак водный, кг	30,96	132,77	4110,56	940011,60	29102,76
Пеногаситель (пропинол Б- 400), кг	96,00	2,00	192,00	14160,00	1359,36
Материалы					
Бумажные крафт-мешки, шт.	11,19	20	223,80	141600,00	1584,50
ИТОГО:			5803,52		41088,91

1.8. Расчет годового расхода электроэнергии

Наименование электрооборудования	Мощность, кВт	Количество	Суммарная мощность, кВт	К-т спроса	К-т потеря	Общая мощность, кВт	Эфф. фонд времени работы оборудования, ч	Расход эл. энергии, кВт ч
Шнековый транспортер	2,2	8	17,6	1,1	0,6	11,616	1035	12022,56
Бункер-дозатор ДС-12	0,2	8	1,6	1,1	0,6	1,056	2070	2185,92
Сборник-смеситель питательной среды с мешалкой, V=29 м ³	3,5	4	14,0	1,1	0,6	9,24	2070	19126,8
Нагревательная колонка, Q=30 т/ч	5,0	4	20,0	1,1	0,6	13,2	2070	27324,0
Промежуточная ёмкость с	3,5	4	14,0	1,1	0,6	9,24	4140	38253,6

мешалкой для питатель- ной среды, $V=29 \text{ м}^3$								
Сборник- смеситель для помёта с мешалкой, $V=18 \text{ м}^3$	3,0	4	12,0	1,1	0,6	7,92	2070	16394,4
Нагрева- тельная колонка для суспензии помёта, $Q=15 \text{ т/ч}$	4,0	4	16,0	1,1	0,6	10,56	2070	21859,2
Промежу- точная ёмкость с мешалкой для суспензии помёта, $V=18 \text{ м}^3$	3,0	4	12,0	1,1	0,6	7,92	2070	16394,4
Фильтр- пресс КМП 12,5	24	4	96	1,1	0,6	63,36	4140	262310,40
Ёмкость для фильтрата гидролиза-	2,0	4	8,0	1,1	0,6	5,28	2070	10929,6

та помёта с мешалкой, V=9 м ³								
АЧК, V=6 м ³ , d=1700, H=2645 с рубашкой, барботёр и мешалкой	5,25	4	21,0	1,1	0,6	13,86	828	11476,08
Ферментёр, V=288 м ³ , d=5500, H=12110	10,0	8	80,0	1,1	0,6	52,8	8280	437184,00
Промежуточная ёмкость-сборник микробной суспензии с мешалкой, V=29 м ³	4,0	4	16,0	1,1	0,6	10,56	1656	17487,36
Фильтр-пресс КМП 25	24,0	4	96,0	1,1	0,6	63,36	7452	472158,72
Гранулятор-плазмоллизатор	25,0	4	100,0	1,1	0,6	66,00	7452	491832,00
Ленточная сушилка ЛС3,0-20НК-01	20	4	80,0	1,1	0,6	52,8	7452	393465,60

Машина фасовочная дискретного действия шнековая МФДШ-50	1	4	4,0	1,1	0,6	2,64	7452	19673,28
Дезэмульгатор с мешалкой, V= 28 м ³	3,5	4	14,0	1,1	0,6	9,24	2070	19126,80
Воздуходувка ТВ 80-1,8-01.УЗ	110	4	440,0	1,1	0,6	290,40	8142	2364436,80
Насос для перекачки сред	30	32	960,0	1,1	0,6	633,6	2070	1311552,00
Насос для перекачки аммиачной воды	11	8	88,0	1,1	0,6	58,08	1035	60112,80
ИТОГО:								6025306,32

1.9. Расчет энергозатрат

Наименование, единицы	Цена, руб/ед	Норма расхода, ед/т	Затраты на 1 т, руб/т	Количество в год, ед	Затраты на год, тыс. руб
Вода технологическая, м ³	23,13	8,77	202,85	62091,60	1436,18
Вода обессоленная, м ³	78,00	0,078	6,08	552,24	43,07
Электроэнергия,	4,34	851,03	3693,47	6025306,32	26149,83

кВт ч					
Условное топливо или газ, м ³	4,24	320,87	1360,49	2271759,60	9632,26
ИТОГО:			5262,89		37261,34

1.9. Расчет средневзвешенной нормы амортизации по оборудованию

№ п/п	Наименование	Стоимость, тыс. руб.	Норма амортизации, %	Амортизацион-ные отчисления, тыс. руб.
1	Шнековый транспортёр	1034,56	11	113,80
2	Бункер-дозатор ДС-12	1080,00	11	118,80
3	Сборник-смеситель питательной среды с мешалкой, V=29 м ³	600,00	6,3	37,80
4	Нагревательная колонка, Q=30 т/ч	620,00	20	124,00
5	Выдерживатель трубчатый	400,00	20	80,00
6	Рекуператор тепла (пластинчатый т/о, F=50м ²)	588,72	7	41,21
7	Холодильник питательной среды (пластинчатый т/о, F=100м ²)	1112,00	7	77,84
8	Промежуточная ёмкость с мешалкой для питательной среды, V=29 м ³	600,00	6,3	37,8

9	Сборник-смеситель для помёта с мешалкой, $V=18 \text{ м}^3$	580,00	6,3	36,54
10	Нагревательная колонка для суспензии помёта, $Q=15 \text{ т/ч}$	500,00	20	100,00
11	Выдерживатель трубчатый для суспензии помёта	384,00	20	76,80
12	Рекуператор тепла для суспензии помёта (пластинчатый т/о, $F= 16 \text{ м}^2$)	468,00	7	32,76
13	Холодильник для суспензии помёта (пластинчатый т/о, $F= 32 \text{ м}^2$)	740,00	7	51,80
14	Промежуточная ёмкость с мешалкой для суспензии помёта, $V=18 \text{ м}^3$	580,00	6,3	36,54
15	Фильтр-пресс КМП 12,5	8000,00	10	800,00
16	Ёмкость для фильтрата гидролизата помёта с мешалкой, $V=9 \text{ м}^3$	560,00	6,3	35,28
17	АЧК, $V=6 \text{ м}^3$, $d=1700$, $H=2645$ с рубашкой, барботёром и	1580,00	6,7	105,86

	мешалкой			
18	Ферментёр, V=288 м ³ , d=5500, H=12110	7571,2	6,7	507,27
19	Ёмкость для аммиачной воды, V=3 м ³	540,00	6,3	34,02
20	Промежуточная ёмкость-сборник микробной суспензии с мешалкой, V=29 м ³	720,00	6,3	45,36
21	Фильтр-пресс КМП 25	16000,00	10	1600,00
22	Гранулятор-плазмолизатор	1295,00	10	129,50
23	Ленточная сушилка ЛС3,0-20НК-01	16000,00	10	1600,00
24	Машина фасовочная дискретного действия шнековая МФДШ-50	594,12	6,3	37,43
25	Дезэмульгатор с мешалкой, V= 28 м ³	600,00	6,3	37,80
26	Воздуходувка ТВ 80-1,8-01.У3	1242,80	10	124,28
27	Насосный узел - перекачка сред - аммиачной воды	2289,28	10	228,93
		301,68	10	30,17
	ИТОГО:	66581,36		6281,59

Норма амортизации средневзвешенная = $6281,59/66581,36 = 9,43\%$

1.11. Расчет амортизационных отчислений

Наименование	Стоимость, тыс. руб.	Норма амортизации, %	Амортизационные отчисления, тыс. руб.
Оборудование	105281,77	9,43	9928,07
Здания	44218,34	1,30	574,84

1.12. Смета расходов по содержанию и эксплуатации оборудования

Наименование	Стоимость, тыс. руб.	Примечание
1. Расходы по уходу и надзору за оборудованием:		
а) Заработная плата рабочих по уходу и надзору за оборудованием	4200,00	
б) единый социальный налог	1092,00	26% от ст. 1а
в) смазочные материалы	2105,64	2% стоимости оборудования
Итого по статье 1	7397,64	
2. Расходы по ремонту оборудования:		
а) Заработная плата рабочих по ремонту оборудования	3000,00	
б) единый социальный налог	780,00	26% от ст. 2а
в) материалы и запчасти	5264,09	5% стоимости оборудования
Итого по статье 2:	9044,09	
3. Амортизация оборудования	9928,07	
4. Итого по статьям 1 - 3	26369,80	
5. Прочие расходы	2636,98	10% от ст.4
6. Всего по смете	29006,78	

1.13. Смета цеховых расходов

Наименование	Стоимость,	Примечание
--------------	------------	------------

	тыс. руб.	
1. Заработная плата цехового персонала	7680,00	Без премии
2. Единый социальный налог	2595,84	26% от суммы с премией
3. Содержание зданий и сооружений	2210,92	5% от их стоимости
4. Текущий ремонт зданий и сооружений	1326,55	3% от их стоимости
5. Амортизация зданий	574,84	
6. Расходы по охране труда	9990,00	25% зарплаты всех рабочих
7. Итого по статьям 1 – 6	24378,15	
8. Прочие расходы	2437,82	10% от ст. 7
9. Всего по смете	26815,97	

1.14. Калькуляция себестоимости 1 т РУБК

Наименование	Затраты на 1 т, руб./т	Затраты на годовой выпуск, тыс. руб.
1. Сырье и материалы	5803,52	41088,91
2. Энергия на технологические цели	5262,89	37261,34
3. Заработная плата основная и дополнительная производственных рабочих	5644,07	39960,00
4. Единый социальный налог	1467,46	10389,60
5. Расходы на подготовку и освоение производства	564,41	3996,00
6. Расходы по содержанию и эксплуатации оборудования	4097,00	29006,78
7. Цеховые расходы	3787,57	26815,97
8. Итого цеховая себестоимость	26626,92	188518,6
9. Общезаводские расходы	4233,05	29970,00
10. Прочие производственные расходы	423,31	2997,00
11. Итого себестоимость производства	31283,28	221485,6
12. Внепроизводственные расходы	625,67	4429,71
Итого полная себестоимость	31908,95	225915,31

2. Сводная таблица технико-экономических показателей

Наименование	Единицы измерения	
1. Годовой выпуск продукции:		
а) в натуральном выражении	т	7080
б) по себестоимости	тыс. руб	225915,31
в) в оптовых ценах	тыс. руб	672600,00
2. Численность работающих		
а) всего	чел.	121
б) рабочих	чел.	102
в) ИТР и МОП	чел.	19
3. Производительность труда		
а) одного работающего	т/чел.	58,51
б) одного рабочего	т/чел.	69,41
4. Капитальные затраты	тыс. руб.	156975,12
5. Удельные капитальные затраты	тыс. руб./т	22,17
6. Основные фонды	тыс. руб.	149500,11
7. Нормируемые оборотные средства	тыс. руб.	22425,02
8. Полная себестоимость единицы продукции	руб./т	31908,95
9. Полная себестоимость годового выпуска	тыс. руб.	225915,31
10. Прибыль годовая	тыс. руб.	446684,63
11. Рентабельность производства	%	64,95
12. Рентабельность продукции	%	197,72
13. Срок окупаемости капитальных вложений	Лет	1,41
14. Фондоотдача	руб./руб.	0,62
15. Фондовооруженность	руб./чел.	2156,12

Для расчета принимаем $Ц = 2,977221 * С$.

$Ц = 2,977221 * 31908,95 = 95000,00$ руб.

Стоимость годового выпуска: $95000,00 * 7080 = 672600,00$ тыс. руб.

Годовая валовая прибыль:

$$Пв = (Ц - С) * В,$$

$$Пв = (95000,00 - 31908,95) * 7080 = 446684,63 \text{ тыс. руб.}$$

Рентабельность производства:

$$Эф = Пв / ((Фо + Он) * (1 + Кк)) * 100,$$

$$Эф = 446684,63 / ((149500,11 + 22425,02) * (1 + 3)) * 100 = 64,95 \%$$

Рентабельность продукции:

$$Эпр = Пв / С * 100,$$

$$Эпр = 446684,63 / 225915,31 * 100 = 197,72 \%$$

Срок окупаемости капитальных вложений:

$$Т = К (1 + Кк) / Пв = 156975,12 (1 + 3) / 446684,63 = 1,41 \text{ года}$$

Коэффициент экономической эффективности:

$$Е = Пв / К (1 + Кк) = 446684,63 / 156975,12 (1 + 3) = 0,711$$

3. Структура полной себестоимости

Наименование	%
1. Сырье и материалы	20,09
2. Энергия на технологические цели	7,97
3. Заработная плата основная и дополнительная производственных рабочих	19,54
4. Единый социальный налог	5,08
5. Расходы на подготовку и освоение производства	1,95
6. Расходы по содержанию и эксплуатации оборудования	14,18
7. Цеховые расходы	13,11
8. Общезаводские расходы	14,65
9. Прочие производственные расходы	1,47
10. Внепроизводственные расходы	1,96
Итого полная себестоимость	100

4. Расчет предотвращенного экологического ущерба

В условиях пивоваренного завода в данном случае основным отходом является отработанная пивная дробина. Для ее утилизации последнюю

разбавляют водой до содержания 1,5% сухих веществ и направляют на очистные сооружения. Отходом птицефабрик является птичий помёт. Для утилизации его также разбавляют до содержания 1,5% сухих веществ и направляют на очистные сооружения. В результате внедряемой технологии происходит как снижение объема годового стока, так и снижение его ХПК.

Проводим расчет предотвращенного ущерба от загрязнения жидкими отходами по методике [79].

4.1. Исходные данные для расчета

1) Состав стока. Оцениваем по величине ХПК.

$$\text{ХПК}_{\text{стока до (дроб.)}} = 60000 \text{ мгО/л.}$$

$$\text{ХПК}_{\text{стока до (пом.)}} = 50000 \text{ мгО/л.}$$

$$\text{ХПК}_{\text{стока после}} = 8642 \text{ мгО/л.}$$

2) Концентрация загрязняющих веществ в стоке до внедрения предлагаемой технологии:

$$q_i \text{ баз (дроб.)} = 60000 \text{ мгО/л.}$$

$$q_i \text{ баз (пом.)} = 50000 \text{ мгО/л.}$$

3) Концентрация загрязняющих веществ в стоке после внедрения предлагаемой технологии:

$$q_i = \text{мгО/л.}$$

4) Годовые объемы стоков:

$$\text{до внедрения: } Q_{\text{вод. баз. (дроб.)}} = 29168 \text{ м}^3/\text{год.}$$

$$Q_{\text{вод. баз. (пом.)}} = 9115 \text{ м}^3/\text{год.}$$

$$\text{после внедрения: } Q_{\text{вод. (дроб.)}} = 33615 \text{ м}^3/\text{год.}$$

5) Показатель относительной агрессивности вещества для стоков с ХПК > 40000 мгО/л по данным [63] равен $K_j^{\text{вод}} = 0,05$ усл. т/год.

6) Показатель относительной опасности загрязнения водоемов для предприятия, расположенного в бассейне Москва-реки:

$$\sigma^{\text{вод.}} = 1,2.$$

7) Удельный ущерб от сброса одной условной тонны вещества:

$$U_{\text{ут}}^{\text{вод.}} = 36340,5 \text{ руб./усл. т.}$$

4.2. Расчет

1. Массы сбрасываемых веществ:

- до внедрения:

$$m_j^{\text{баз. (дроб.)}} = q_i^{\text{баз (дроб.)}} \cdot Q_{\text{вод. баз (дроб.)}} = 60000 \cdot 29168 = 1750,08 \text{ т/год}$$

$$m_j^{\text{баз. (пом.)}} = q_i^{\text{баз (пом.)}} \cdot Q_{\text{вод. баз (пом.)}} = 50000 \cdot 9115 = 455,75 \text{ т/год}$$

$$m_j^{\text{баз.}} = m_j^{\text{баз. (дроб.)}} + m_j^{\text{баз. (пом.)}} = 1750,08 + 455,75 = 2205,83 \text{ т/год}$$

- после внедрения:

$$m_j = q_i \cdot Q_{\text{вод.}} = 8642 \cdot 33615 = 290,50 \text{ т/год}$$

4. Приведенные массы сбрасываемых веществ:

- до внедрения:

$$M_j^{\text{баз.}} = m_j^{\text{баз.}} \cdot K_j^{\text{вод}} = 2205,83 \cdot 0,05 = 110,29 \text{ усл.т/год.}$$

- после внедрения:

$$M_j = m_j \cdot K_j^{\text{вод}} = 290,50 \cdot 0,05 = 14,53 \text{ усл.т/год.}$$

4) Ущерб от загрязнения водоемов:

$$Y_{\text{вод. баз.}} = M_j^{\text{баз.}} \cdot \sigma^{\text{вод.}} \cdot Y_{\text{ут}}^{\text{вод}} = 110,29 \cdot 1,2 \cdot 36340,5 = 4809,59 \text{ тыс. руб./год}$$

$$Y_{\text{вод.}} = M_j \cdot \sigma^{\text{вод.}} \cdot Y_{\text{ут}}^{\text{вод}} = 14,53 \cdot 1,2 \cdot 36340,5 = 633,63 \text{ тыс. руб./год}$$

5) Предотвращенный ущерб:

$$\Delta Y = Y_{\text{вод. баз.}} - Y_{\text{вод.}} = 4809,59 - 633,63 = 4175,96 \text{ тыс. руб./год}$$