ТЕХНОЛОГІЯ ФЕРМЕНТНИХ ПРЕПАРАТІВ

1. Мета та способи використання ферментів у бродильних виробництвах
2. Характеристика сировини
3. Особливості складу живильних середовищ
4. Продуценти ферментів і їх характеристика
5. Особливості живлення мікроорганізмів
6. Ферментація
   6.1. Поверхневий спосіб
   6.2. Глибинний спосіб
7. Виділення ферментних препаратів
   7.1. Принципи виділення ферментів
   7.2. Методи виділення
   7.3. Особливості виділення ферментів
8. Технологічні схеми виробництва ферментів
   8.1. Технологічна схема поверхневого культивування
   8.2. Технологічна схема глибинного культивування

* **1. Мета та способи використання ферментів у бродильних виробництвах**
*
* У бродильних виробництвах використовують ферменти:
* амілолітичні – для гідролізу крохмалю (виробництва спирту з крохмалевмісної сировини та пива),
* целюлази та геміцелюлази – для підвищення концентрації зброджуваних цукрів у середовищі,
* протеолітичні – для гідролізу білків до амінокислот (живлення дріжджів),
* пектолітичні – у виноробстві для руйнування пектинових речовин, які випадають в осад при витримці вин.

* **Способи використання** ферментів:
* - у неочищеному чи напівочищеному вигляді – у вигляді ферментних препаратів – коли наявність органічних або неорганічних домішок не має суттєвого значення;
* - в очищеному вигляді – коли небажана присутність супутніх ферментів, які мають іншу дію.

2. Характеристика сировини

Для виробництва ферментних препаратів використовують комплексні середовища – суміш синтетичних середовищ і природніх матеріалів рослинного, тваринного та мікробного походження.

Природні матеріали:

1) відходи виробництв – визначають рентабельність виробництва ферментів:

- висівки – є одночасно живленням і поверхнею при поверхневому культивуванні мікроорганізмів,
- меляса, - гідрол – відпадок виробництва глюкози з крохмалю, ~70 % цукрів,
- кукурудзяний екстракт – замочні води кукурудзи в крохмале-патоковому виробництві, упарені до 50 % СР, джерело нітрогену та амінокислот,
- солодові паростки – відпадок виробництва солоду, джерело нітрогену, амінокислот і вітамінів,
- пивна дробина та пивні дріжджі – відходи пивоваріння,
- мелясна, зернова та картопляна барда – відходи виробництва спирту,
- барда ацетонобутилових заводів,
- буряковий жом;

2) більш дорогі матеріали:

- джерела карбону – борошно, картопляний і кукурудзяний крохмаль, картопля,
- джерело нітрогену – соєва мука.

До складу ***синтетичних середовищ*** входять: 1) органічні речовини – джерела карбону – вуглеводи, спирти, органічні кислоти; 2) мінеральні солі.

* **3. Особливості складу живильних середовищ**
* Утворення того чи іншого ферменту залежить не тільки від природи мікроорганізму, але й від складу живильного середовища. Той самий мікроорганізм утворює різні ферменти у середовищах різного складу.
*
* ***Ферменти*** є адаптивними (індуктивними), тому необхідною умовою є наявність у середовищі для синтезу:
* амілаз - крохмалю, декстринів, мальтози;
* протеаз - джерел нітрогену (гідрофосфат амонію, кукурудзяне, соєве, пшеничне та житнє борошно, пшеничні висівки, дріжджовий автолізат, пептон, казеїн);
* пектолітичних ферментів - пектинові речовини;
* целюлаз – целюлози (фільтрувальний папір і буряковий жом).

4. Продуценти ферментів і їх характеристика

Вимогою до продуцентів ферментів є здатність утворювати велику кількість якогось одного ферменту.

Один і той же мікроорганізм при зміні умов легко змінює свій біохімічний механізм на синтез того чи іншого ферменту, адже більшість ферментів є індуктивними (адаптивними).

Продуценти ферментів

Продуценти	Класифікаційна характеристика	Продуковані ферменти	Примітка
Плісеневі гриби	Asp. oryzae Asp. avamori Asp. niger	амілолітичні (α- і глюкоамілази), протеолітичні, пектолітичні	Амілорізин, Проторізин; не синтезують β-амілазу
	Rhizopus	ренін	(сичужний)
	Alternaria Trichoderma Cladosporium Fus. culmorum Fus. oxysporum Aspergillus Pennicilium	целюлази	
	Trichoderma Trichothecium Fusarium Aspergillus Pennicilium	геміцелюлази	
Дріжджі	Endomycopsis sp.209 Sacch. fragilis	α- і глюкоамілази, глюкозилтрансфераза інвертаза пектолітичні	
Бактерії	Bac. mesentericus Bac. subtilis	амілолітичні (α- і глюкоамілази), протеази	не синтезують β-амілазу; Амілосубтилін, Протосубтилін
	Bac. diastaticum Cl. felsineum Cl. pectinovorum	пектолітичні	термост. 50-70°С
	E. coli	лактаза	

5. Особливості живлення мікроорганізмів

Плісеневі гриби:

джерела вуглеводів - різні моно-, оліго- (сахароза, мальтоза) та полісахариди (крохмаль), спирти, органічні кислоти, вуглеводні;

джерела нітрогену - нітрати, солі амонію, аміак, сечовина, амінокислоти.

Бактерії:

джерела вуглеводів - органічні кислоти циклу Кребса, жирні кислоти, моно- та олігосахариди;

джерела нітрогену - нітрати та амінокислоти.

Дріжджі:

джерела вуглеводів - моно- та олігосахариди, не засвоюють полісахариди;

джерела нітрогену - солі амонію та амінокислоти.

***Макроелементи*:**

- джерела сірки – сульфати, амінокислоти (метіонін, цистеїн, цистин), елементарна сірка, сульфіди;
- джерела фосфору – фосфати, фосфатні естери;
- джерела заліза.

***Мікроелементи*:** Zn, Mg, Mo.

Вітаміни. Більшість продуцентів здатні синтезувати більшість вітамінів. Для деяких плісеневих грибів і багатьох видів дріжджів необхідні вітаміни РР, В6, амінобензойна та фолієва кислоти.

* **6. Ферментація**
* **Мета ферментації** - максимальне накопичення потрібного продукту та повне використання живильних речовин середовища.
*
* **Чинники впливу** на нагромадження ферментів:
* - склад середовища,
* - температура культивування,
* - pH,
* - максимальний контакт мікроорганізмів з живильними речовинами,
* - видалення продуктів обміну,
* - забезпечення клітин аеробів киснем.
*
*
* **Способи ферментації**:
* поверхневий,
* глибинний.

6.1. Поверхневий спосіб

Умови проведення ферментації поверхневим способом:

1) вологість повітря: для інтенсивного спороутворення - 40 %, для розвитку та накопичення ферментів – 60 – 70 %;

2) оптимальна температура культивування плісеневих грибів 28 – 30 °С, бактерій 32 – 38 °С.

Тривалість культивування залежить від багатьох чинників і складається з тривалості окремих стадій росту мікроорганізмів.

* ***Стадії розвитку культури:***
* 1) період проростання спор (10 – 20 год) – незначна аерація (4 – 5-кратний обмін повітря за годину), не потрібно відводити тепло;
* 2) стадія активного росту (10 – 20 год) – інтенсивна аерація (30 – 60 об'ємів повітря на один об'єм ростильної камери за годину), відведення тепла та продуктів обміну. Потреба в повітрі становить ~ 600 $м^3$/т*год.;
* 3) стадія максимального накопичення ферментів – у 3 – 5 разів зменшується витрата повітря на аерацію. Тривалість стадії є різною для різних штамів продуцентів і виду ферментів. Для одержання комплексу ферментів необхідно більше часу, оскільки у процесі синтезу різних ферментів існує певна послідовність.
* Наприклад, виробничі штами Asp. oryzae накопичують максимальну кількість амілаз за 21 – 30 год, пізніше – протеази, до 48 год – пектолітичні ферменти, до 72 год – геміцелюлази , до 10 діб – целюлази.
* **Переваги способу:**
* 1) максимальний контакт з киснем;
* 2) не потрібно регулювати pH.

* **6.2. Глибинний спосіб**
* Завдання глибинного способу:
* 1) забезпечення максимального контакту клітин з киснем – шляхом пропускання повітря через культуральну рідину;
* 2) розподіл клітин по всьому об’єму та їх постійне переміщення в рідині – шляхом перемішування.

* Безперервне культивування здійснюють у батареї ферментаторів, з’єднаних між собою так, що культуральна рідина перетікає з одного апарату в інший, зброджуючись.

Таблиця 2

Оптимальні умови глибинної ферментації деяких продуцентів

* - умови ферментації, якщо вони відрізняються від умов приготування засівного матеріалу

Продуцент	Asp. oryzae	Asp. avamori	Asp. oryzae, Asp. terricola
Фермент	α-амілаза	глюкоамілаза	протеолітичні
Пригот-ня засівного матеріалу:			
температура, °С	30 – 32	28 – 32*	30
pH	6,0 – 7,0	7–7,2, 7,6–8*	6,4
тривалість, год	48 + 52*	48 + 52*	48
інтенсивність аерації, $м^3/м^3$*год	30 – 40*		до 60
Активність ферментів:			
максимальна на добу	3		
амілолітична, од./100 мл	30 – 40		
декстринолітична, од./100 мл	1300 – 1400		

7. Виділення ферментних препаратів.

7.1. Принципи виділення ферментів

Завдання виділення ферментів – не змінити структуру молекул, що може привести до втрати ферментативних властивостей.

Технологія виділення ферментів може складатися з різних операцій залежно від призначення препарату.

Операції виділення ферментів

Таблиця 3

Призначення препарату	Операції виділення
у біотехнологічних виробництвах	виділення, очистка, концентрування
у кормових цілях	концентрування культуральної рідини; не потребує виділення та очистки від домішок, що знижує собівартість

Використання того чи іншого способу виділення ферментів залежить від їх локалізації

Способи виділення ферментів залежно від їх локалізації *Таблиця 4*

Локалізація ферментів	у клітинах – ендоферменти	поза клітинами - екзоферменти	між клітинами та культуральною рідиною
Виділення ферментів	1) обробка біомаси після відокремлення культур. рідини; 2) обробка клітин в культур. рідині, відокремлення шламу, обробка культур. рідини	обробка культур. рідини після відокремлення біомаси	обробка обох компонентів після їх розділення

Відокремлення біомаси мікроорганізмів (або шламу) можна проводити шляхом фільтрування чи центрифугування

Відокремлення біомаси продуцентів ферментів *Таблиця 5*

Продуцент або ферменти	**Спосіб відокремлення**	
	фільтрування	**центрифугування**
бактерії	- (забиваються пори)	**+**
дріжджі	- (забиваються пори)	**+**
плісеневі гриби	+	**+**
ферменти після осадження		**+**

Концентрування ферментів проводять до 10 – 40 % шляхом видалення вологи переважно нагріванням - випарюванням. У багатьох випадках одержаний концентрат висушують. У результаті дії температури на ферменти відбувається їх денатурація та зменшення активності, тому чим більша температура, тим меншою повинна бути тривалість обробки.

Умови випарювання

Таблиця 6

Температура, °С	Тривалість, год	Зниження активності ферментів, %
55	5	100
45	5	50 - 75
45	2	20
30 (під вакуумом)		min

* **7.2. Методи виділення:**
* 1) *сушка розпиленням* («душ») – триває долі секунд;
* 2) *ультрафільтрація* – використання напівпроникних мембран – пропускають молекули води та речовин з невеликою молекулярною масою, затримують молекули ферментів. Рушійна сила процесу – фізичний тиск;
* 3) *діаліз* – рушійна сила – різниця концентрацій речовин у розчинах (з одного боку – висококонцентрований розчин, з другого – чиста вода). Розчини рухаються в протилежні боки. Метод використовується не для концентрування (вода залишається), а для звільнення розчину від домішок;
* 4) *виморожування* – денатурація та інактивація ферментів не відбувається. Технологія полягає в заморожуванні розчину з подальшим відокремленням кристалів льоду центрифугуванням;
* 5) *осадження*. Як осаджувачі найчастіше використовують спирти – метиловий, етиловий, ізопропіловий, а також ацетон, змішані розчинники. З метою висолювання використовують сульфати амонію, натрію, цинку та хлорид натрію. Зі збільшенням температури інтенсивність висолювання збільшується. Перевага висолювання – можливість фракціонування ферментів;
* 6) *сублімація* (перехід у газоподібний стан, минаючи рідкий) замороженого розчину в вакуумі без підігріву. Перевага - активність ферментів зберігається майже на 100 %. Недолік – конструктивні та економічні труднощі. Тому цей метод використовують для концентрування розчинів ферментів після попереднього концентрування іншими способами;
* 7) *сорбцією* виділяють ферменти з концентрованих розчинів. Шляхом підбору сорбентів можна розділяти суміші ферментів. Використовують йоніти органічного та неорганічного походження – крохмаль, целюлозу, декстран, карбоксиметилцелюлозу, сефадекс; алюмосилікати – бентоніт, силікагель, глауконіт, кізельгур, каолін, штучні силікати. Після сорбції фермента його можна десорбувати або використовувати в сорбованому (іммобілізованому) вигляді, що дозволяє використовувати його багаторазово.

7.3. Особливості виділення ферментів

Особливості виділення амілолітичних препаратів

Стадії очистки амілолітичних препаратів, одержаних поверхневим способом:

(одержують препарати різного ступеня очистки – Пх, П10х, П15х тощо)

1) екстракція водою – *Пх*;
2) очистка від домішок, завислих речовин, мікроорганізмів;
3) упарювання до вмісту 50 % СР – *П2х*;
4) осадження етанолом - суміш амілаз і протеїназ – *П10х*;
5) фракційне висолювання - амілази, звільнені від протеїназ – *П15х*;
6) осадження етанолом → обробка бентонітом → осадження сульфатом амонію → розчинення → очищення від механічних домішок → діаліз → осадження риванолом → видалення риванолу за допомогою бентоніту → осадження амілаз ацетоном → кристалізація - кристалічна амілаза;
7) стабілізація йонами кальцію.

Стадії очистки амілолітичних препаратів, одержаних глинним способом (Гх):

1) фільтрування - фільтрат культуральної рідини (*Гх*);
2) упарювання культуральної рідини до 50 % СР – *Г2х*;
3) висушування на розпилювальній сушарці з наповнювачем – *Г3х*;
4) концентрування до 6 – 10 % СР;
5) осадження органічними розчинниками, солями, ін. – *Г10х* і *Г15х*.

Особливості виділення протеолітичних препаратів

Стадії очистки протеолітичних препаратів, одержаних поверхневим способом:

1) екстракція водою – *П*х;

2) концентрування до вмісту 50 % СР – *П2х*;

3) осадження етанолом – *П10х* і *П15х*.

Стадії очистки протеолітичних препаратів, одержаних глибинним способом:

1) фільтрування - фільтрат культуральної рідини (*Г*х);

2) упарювання культуральної рідини до 50 % СР – *Г2х*;

2) висушування – суміш ферментів - *Г3х*;3) осадження органічними розчинниками й солями – очищені ферментні препарати - *Г10х* і *Г15х;*

4) сорбція на йонообмінній смолі, десорбція сумішшю амонію та хлориду натрію, осадження сульфатом амонію - очищені ферментні препарати - *Г10х* і *Г15х*.

* **Особливості виділення пектолітичних препаратів**
* *Стадії очистки* пектинолітичних препаратів, одержаних поверхневим способом:
* 1) екстракція водою – *Пх*;
* 2) концентрування – *П10х*;
* 3) осадження етанолом при 2 – 5 °С – очищені ферментні препарати – *П15х*.
*
* *Стадії очистки* пектинолітичних препаратів, одержаних глибинним способом:
* 1) осадження ізопропанолом, ацетоном або висолювання – *Г10х*;
* 2) діаліз і гельфільтрація через сефадекс – очищені ферментні препарати.
*
* **Особливості виділення целюлолітичних препаратів**
* *Стадії очистки* целюлолітичних препаратів, одержаних глибинним способом:
* 1) висолювання сульфатом амонію – комплекс ферментів;
* 2) фракціонування за допомогою солей, йонообмінних смол, сефадексу – одержання окремих ферментів.

Особливості виділення препаратів інвертази

Продуцентом інвертази є дріжджі, зазвичай відходи пивоварного виробництва. Залежно від призначення одержують очищений порошкоподібний ферментний препарат, водно-гліцероловий концентрат, дріжджовий автолізат або сухі дріжджі.

Одержання універсального препарату – 100 – 300 од. ІА/г:

1) очищення, відмивання та сепарування дріжджів,

2) перемішування з сахарозою у співвідношенні 1 : 2,

3) активація дріжджів при 45 °С впродовж 2 – 3 год.

Одержання автолізату (пасти) - ~ 500 од. ІА/г:

1) приготування 5%-ої суспензії дріжджів,

2) обробка ультразвуком, 3) центрифугування, 4) автоліз,

5) перемішування з хлоридом натрію.

Одержання сухих дріжджів (500 – 1 500 од. ІА/г) шляхом висушування відмитих клітин дріжджів на розпилюючій сушарці.

Одержання очищеного препарату:

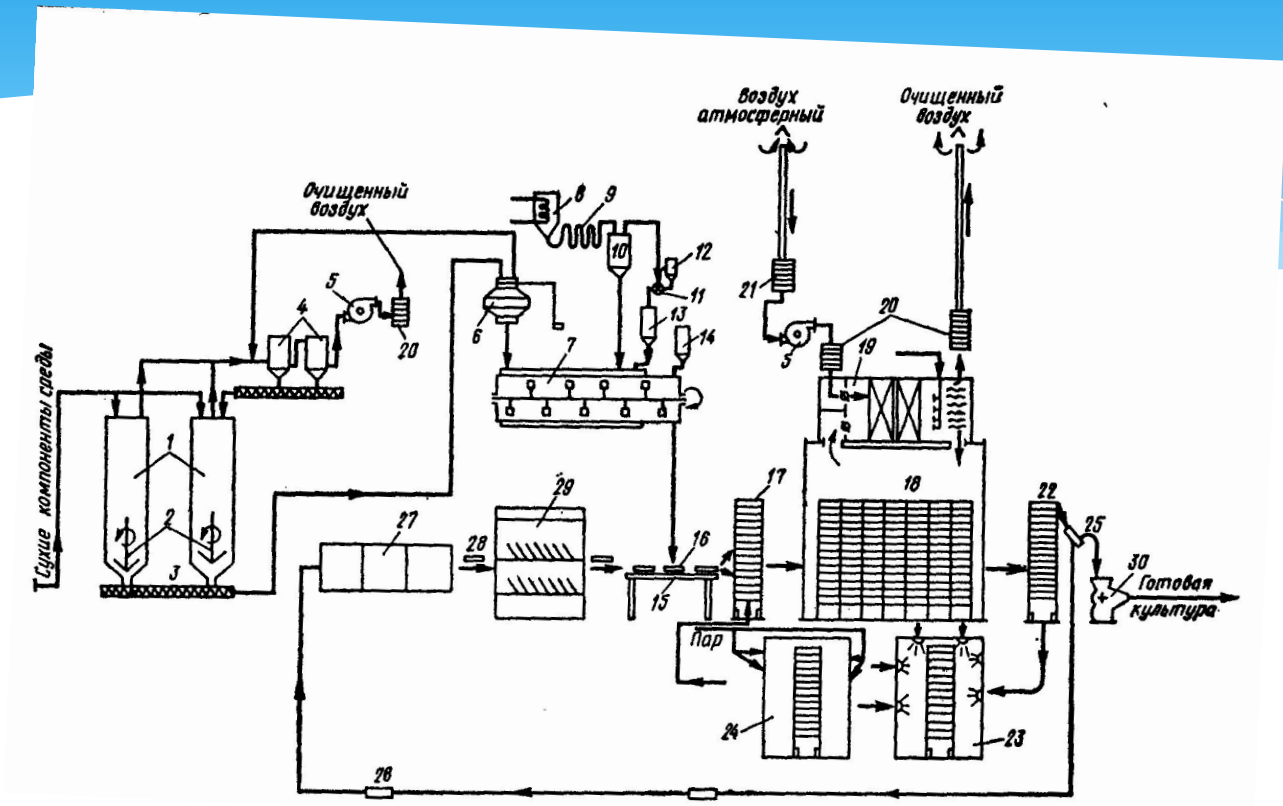
1) руйнування клітин одним із способів: механічно (розтирання), термічно (автоліз), заморожування та розморожування, обробка ультразвуком або отрутами (бензолом, толуолом, хлороформом),

2) центрифугування, 3) осадження етанолом, 4) центрифугування,

5) висушування (15 000 – 20 000 од. ІА/г).

Водно-гліцероловий концентрат (3 000 – 4 000 од. ІА/г) одержують змішуванням осаду після обробки спиртом (див. вище) з гліцеролом (25 %). Термін зберігання концентрату становить декілька років.

* 8. Технологічні схеми одержання ферментних препаратів
* 8.1. Технологічна схема поверхневого культивування



* *Рис. 1.* Принципова технологічна схема одержання культури мікроорганізмів поверхневим способом на твердому середовищі

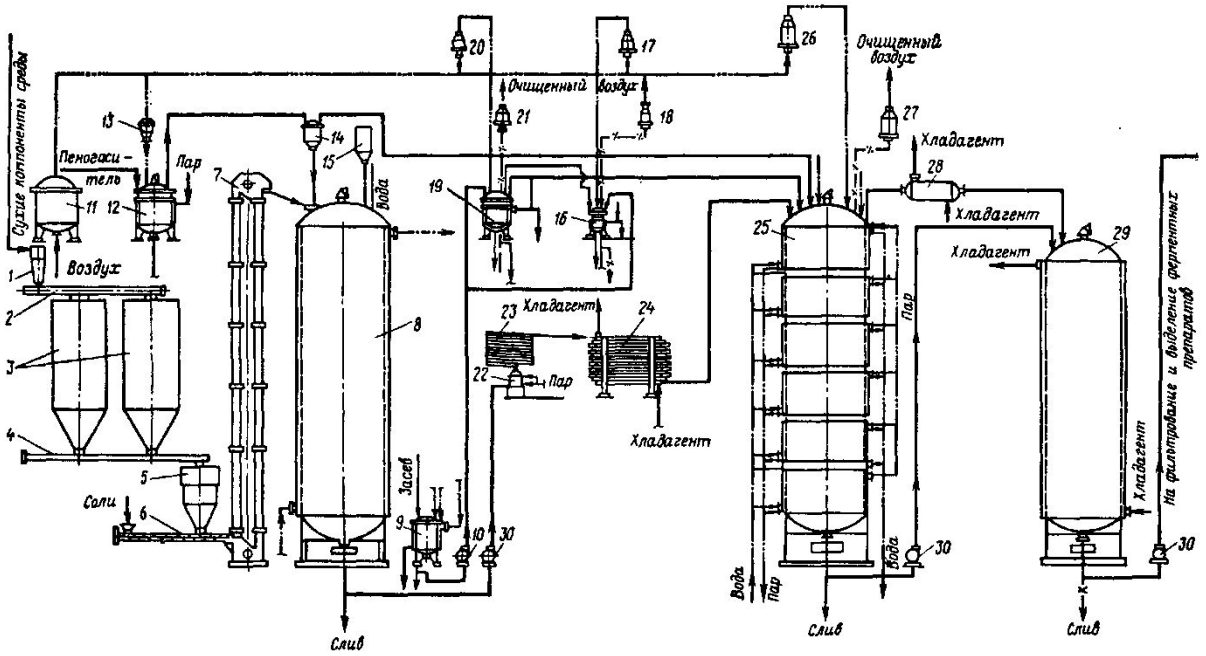
* ***Приготування засівного матеріалу (маточної культури)***
* Виробничий засівний матеріал одержують розмноженням чистої культури гриба на живильному середовищі (середовище для ферментації).
* Розмноження проводять послідовними пересівами у три стадії:
* пробірка → скляна колба → алюмінієва колба → засівна кювета.
* Вирощування маточної культури проводять у спеціальній ростильній камері чистої культури у засівних кюветах до появи рясного спороношення. Після цього культуру в кюветах підсушують шляхом пропускання через камеру сухого теплого знезараженого повітря впродовж декількох годин. Підсушену культуру до її використання зберігають у спеціальній шафі.
*

* ***Приготування живильного середовища***
* Висівки повинні бути крупними та широколопастними, що забезпечує утворення крупнопористої і рихлої структури живильного середовища, яке добре аерується. Вміст крохмалю у висівках повинен становити не менше 20 %.
* Висівки або інші сипучі компоненти (буряковий жом, солодові паростки тощо) з основного складу за допомогою пневмотранспорту направляють у бункер 1, оснащений перемішуючими пристроями 2. Пневмотранспортуюча система подачі сировини оснащена циклонами 4 для очистки від грубого пороху, вентилятором 5 і фільтром очистки повітря 20. З бункера сипучі компоненти по розподілюючому шнеку 3 за допомогою пневмотранспорту надходять у дозатор 6, а потім у стерилізатор 7, оснащений мішалкою, паровою сорочкою та лініями підведення стерильного повітря та пари.
* Перед подачею пари у стерилізатор додають 9%-ий розчин соляної кислоти через мірник 13 і дозатор 11, яку готують з концентрованої 37%-ої кислоти, що міститься в мірнику 12. Соляна кислота додається для підкислення середовища до оптимального значення pH і покращення стерилізації. Для одержання амілолітичних препаратів середовище підкислюють до 4,8 – 4,9, при якому одержаний ферментний препарат має меншу протеолітичну активність. Ця умова необхідна для пивоварного виробництва, оскільки інакше відбувається надто глибокий розклад білків і знижується якість пива. У тих випадках, коли ферментний препарат готують для інших галузей та в них необхідний великий вміст протеолітичних ферментів, здійснювати підкислення не потрібно.
* Стерилізацію сипучих матеріалів здійснюють при температурі 103 – 104°С впродовж 1 – 2 год. При обробці висівок парою її частина конденсується, зволожуючи живильне середовище. Проте цієї кількості води недостатньо для одержання середовища з оптимальною вологістю. Тому вкінці стерилізації висівки дозволожують до 57 – 59 % водою, яку стерилізують у стерилізаторі 8 та охолоджують у теплообміннику 10. Після цього середовище охолоджують до 40 °С пропусканням холодної води через сорочку стерилізатора та подачею холодного знезараженого повітря.

* ***Засів маточною культурою*** здійснюють у стерилізаторі після охолодження середовища, куди задають суспензію засівного матеріалу з ємності 14 у кількості 0,3 % від кількості середовища. Засіяне середовище поступає на розкладальний стіл 15 у чисті стерильні кювети 16, куди розподіляється рівномірним шаром висотою не більше 25 мм. Кювети – це противні розміром 600 * 800 мм, виготовлені переважно з оцинкованого заліза. Кювети з середовищем поміщають на пересувну етажерку 17 і транспортують у ростильну камеру 18 – герметично закрите приміщення, в яке подають знезаражене повітря певної температури та вологості.

* ***Ферментація***
* У ростильній камері за допомогою кондиціонерів 19 підтримують оптимальні умови для росту гриба та накопичення ним ферментів: температура 30 °С, відносна вологість повітря 97 -100 %. Повітря, що надходить з атмосфери, подається на фільтри 21 для очистки від мікроорганізмів.
* Використовують рециркуляцію основної маси повітря з додаванням 5 % свіжого повітря, необхідного для забезпечення гриба киснем. Відпрацьоване повітря очищають від мікроорганізмів на фільтрі 20. Частково це повітря випускають в атмосферу, а основна його маса направляється в повітроохолоджувач, змішується зі свіжим знезараженим повітрям, а потім знову зволожується та доводиться до температури 30 °С вприскуванням гострої пари. Таке кондиціоноване повітря знову надходить у ростильну камеру.
* Через 24 – 26 год. вирощування висівки в кюветах схоплюються міцелієм гриба. Вони мають форму та консистенцію щільного пирога та готові до подрібнення. Вологість одержаного препарату 38 – 40 %.
* Готова культура в кюветах 25 транспортується на етажерках – вагонетках 22 до дробарки 30 і подається по транспортеру в приймальний бункер. Із приймального бункера готова культура може бути направлена на сушку для одержання технічного ферментного препарату у вигляді сухої культури чи на подальшу переробку для одержання очищених ферментних препаратів.
* Далі етажерка направляється в камери для миття 23 і стерилізації 24, а брудні кювети 26 – на миття в мийку кювет 27. Чисті кювети 28 стерилізуються в камері 29 і направляються на завантаження середовищем. Цикл повторюється.

* **8.2. Технологічна схема глибинного культивування**
* Технологічні схеми глибинного культивування аеробних і анаеробних мікроорганізмів майже не відрізняються одна від одної, за винятком того, що в схемах культивування анаеробів виключають стадію підготовки повітря та використовують ферментатори без керуючих і перемішуючих пристроїв.



* *Рис. 2.* Принципова технологічна схема одержання культури мікроорганізмів глибинним способом

* ***Приготування живильного середовища***
* Сухі компоненти середовища подають у складське приміщення заводу по пневмотранспорту. З циклону 1 за допомогою трубоконвейєра 2 вони надходять у бункери 3, а з них по трубоконвейєру 4 – на автоматичні ваги 5. Якщо необхідно ввести до складу середовища солі або якісь інші компоненти в невеликій кількості, то вони надходять у шнек 6, який транспортує сипучі матеріали в норію 7. Далі компоненти середовища надходять у змішувач 8 для приготування виробничого живильного середовища. Сюди ж надходять вода й рідкі компоненти через відповідні дозуючі та мірні пристрої.
* Для розчинення солей та клейстеризації крохмалю середовище підігрівають. Підготовлене підігріте середовище за допомогою насоса 30 надходить у нагрівач 22 системи безперервної стерилізації живильного середовища, а потім подається в спіральний теплообмінник 23 для витримки при температурі 140 °С. Стерильне живильне середовище охолоджується в теплообміннику 24 і направляється в чистий стерильний ферментатор 25, який заповняють на 65 -75 %.

* ***Приготування засівного матеріалу*** здійснюють у засівному відділенні. Середовище для нього готують у спеціальній невеликій ємності 9, нагрівають, перемішують і насосом 10 направляють в інокулятори першого 16 і другого 19 ступенів, де проводять стерилізацію, охолодження та засів середовища. Суспензію вихідної культури з лабораторії пересівають спочатку в колби на качалці, потім подають в інокулятор першого ступеня 16, вирощують у ньому та повністю перетискають в інокулятор другого ступеня 19 у стерильне охолоджене середовище. Вирощений засівний матеріал із інокулятора 19 передають у ферментатор.
*
* ***Приготування піногасника***
* У процесі культивування здійснюють піногасіння. Піногасник стерилізують у спеціальному апараті періодичної дії 12, охолоджують і направляють через мірник 14 у ферментатор.

* ***Приготування кондиціонованого стерильного повітря***
* У процесі культивування в інокуляторах і ферментаторі культуральну рідину аерують кондиціонованим стерильним повітрям. Стиснене у компресорі та нагріте від 80 до 220 °С повітря після видалення конденсаційної вологи надходить у головний фільтр 11, заповнений скловатою. Далі очищене повітря надходить в індивідуальні фільтри тонкої очистки 13, 15, 17, 20, 26 і подається для охолодження піногасника та аерування культури в інокуляторах 16, 19 і ферментаторі 25. Відпрацьоване повітря з інокуляторів і ферментатора очищають у фільтрах 18, 21, 27 та викидають в атмосферу.
*
* ***Ферментацію*** здійснюють у ферментаторі 25 при оптимальних для використовуваної культури мікроорганізмів умовах (п. 6.2).
* Готова культуральна рідина насосом 30 або самотоком при перемішуванні надходить в теплообмінник 28, охолоджується, надходить у збірник 29, з якого при необхідності надходить на фільтраційну установку для одержання технічного ферментного препарату чи на подальшу переробку для одержання очищених ферментних препаратів.