

БІОКОНВЕРСІЯ ЖИРОВІСНОЇ ФАЗИ СТОКІВ РИБОПЕРЕРОБНИХ ПІДПРИЄМСТВ У КОРМОВУ ДОБАВКУ

М.М. Мадані, кандидат технічних наук, доцент

ORCID ID: 0000-0001-9386-7364

Р.І. Шевченко, кандидат технічних наук, доцент

ORCID ID: 0000-0002-7924-1987

О.Л. Гаркович, кандидат технічних наук, доцент

ORCID ID: 0000-0002-7622-521X

Одеська національна академія харчових технологій

*Запропоновано технологію утилізації жировісної фази стоків рибопереробки на основі комбінування фізико-хімічного впливу і біологічного окиснення. Установлено, що найбільш перспективним біодекструктором жирів є дріжджі *Yarrowia lipolytica*, селекціоновані щодо субстрату. Розроблено принципову технологічну схему біоконверсії жировісної фази стоків рибопереробних підприємств в дріжджову біомасу кормового призначення.*

Ключові слова: *технічна екологія, технології захисту, поводження з відходами, нормування навантаження на довкілля, кормова добавка.*

Постановка проблеми. Нині українська харчова промисловість за обсягом виробництва займає провідні позиції серед галузей народного господарства. Однією з основних проблем харчових виробництв є їх невідповідність сучасним екологічним вимогам, що може бути вирішено шляхом впровадження маловідходних технологій. Наприклад, гостро стоїть питання переробки відходів рибопереробного комплексу, які утворюються при обробленні рибної сировини, освітленні стічних вод у жироловці і флотаторі, очищенні каналізаційних колодязів.

Для рибопереробних підприємств основними проблемами є утилізація органічних відходів (кров, кишки, луска, обрізки риби) та жирових стоків. Особливу увагу слід звернути на жирову складову, оскільки на неї припадає основна частка від загальної кількості відходів. Так, тверда рибна маса, яку збирають у відстійниках, містить не менше 25-35% жиру-сирцю [1]. Таким чином, у ході роботи рибопереробних підприємств неминуче утворюються великі кількості жирових відходів, а їх зараженість мікрофлорою призводить до швидкого загнивання з утворенням неприємних запахів. Крім того, високий вміст жирів у стічних водах ускладнює функціонування очисних споруд рибокомбінатів, оскільки сприяє утворенню відкладів на стінках труб і резервуарів.

Необхідно відзначити, що жировісні відходи різняться за складом, який змінюється залежно від

режиму роботи рибопереробного підприємства, в зв'язку з чим більшість існуючих технологій можуть бути застосовані тільки з рядом обмежень.

Існуючі технології переробки жирових відходів можна розділити на два типи: фізико-хімічні та мікробіологічні. Перші потребують специфічних умов, суттєвих капітальних витрат, малоефективні, а попит на продукти переробки відходів недостатньо високий. Мікробіологічні методи вирізняються високою ефективністю, проте їх істотним недоліком є те, що вони не отримують кінцевого продукту, а передбачають лише утилізацію відходів. Це істотно знижує їх цінність з позицій підвищення рентабельності основного виробництва.

Мікробна біомаса, що утворюється в результаті застосування мікробіологічних методів, може бути використана як цінна кормова добавка для сільськогосподарських тварин і птиці. Останнє особливо актуально для сучасного виробництва кормів, оскільки дозволяє більш ефективно використовувати сировинні ресурси і з найменшими витратами досягати максимальної продуктивності тваринництва і птахівництва.

Таким чином, сучасні господарські потреби включають необхідність виробництва білкових кормових добавок та вирішення екологічних питань при переробці жировісних стоків рибопереробних підприємств. Це дозволяє розглядати дослідження, спрямовані на вирішення даних проблем, як такі, що мають велике практичне і соціальне значення.

Аналіз останніх досліджень. Рибопереробні підприємства стикаються з проблемами утилізації цілого ряду різних органічних відходів. Серед них особливо можна виділити жиромісні відходи, що утворюються при переробленні риби, освітленні стічних вод в жироловці і флотаторі, очищенні каналізаційних колодязів [2-4]. Найбільша кількість жиромісних відходів утворюється при очищенні стічних вод, які представляють собою розбавлені емульсії. Вміст забруднюючих жиромісних домішок у стічних водах сягає 900 мг/л, у той час, як допустима концентрація не повинна перевищувати 50 мг/л. Щоб добитися необхідного результату, необхідна ефективність очищення стічних вод близько 95%. До того ж стоки рибопереробних підприємств характеризуються нерівномірністю надходження, зміною концентрації забруднень протягом доби, коливаннями значень рН (6,5 - 8,5) [5-7].

Існуючі технологічні схеми очищення стічних вод передбачають періодичне (1-2 рази на добу) видалення в шламозбірник жиромісного шламу, що спливає, після проходження жироловлювача. Об'єм шламозбірника розрахований на накопичення відходів протягом 3-5 діб, далі вони захоронюються на полігоні твердих побутових відходів [8].

Склад жиромісної фази стічних вод на рибопереробних підприємствах може бути неоднорідним і дуже складним [9], що є однією з основних проблем, які постають при використанні подібних відходів в якості сировини.

Нині пропонується ряд технологій, що дозволяють утилізувати або переробити жиромісні відходи [10-18]. Можна виділити два основні напрямки запропонованих технологій: фізико-хімічні і біологічні.

Аналіз літератури показує, що на сьогодні існує широкий спектр технологій, в основі яких – фізико-хімічний вплив на жиромісні відходи. У деяких з них вдається отримати продукт, який може бути використаний в подальшій господарській діяльності людини [13].

Незважаючи на різні дослідження наукових колективів, як в Україні, так і за кордоном, поки не існує безпечних технологій переробки малоцінних жирів, і жодне виробництво досі не налагоджено у промислових масштабах. Тому малоцінні жири знищуються як відходи очищення стічних вод [15].

Одним із сучасних напрямків переробки жиромісних відходів є комбінування фізико-хімічного впливу і біологічного окиснення [16, 19]. В рамках однієї з таких технологій пропонується використовувати біологічне окиснення як проміжний етап шляхом використання біопрепаратів, що містять комплекс ліполітичних ферментів, а також живу культуру мікроорганізмів. Це дозволяє істотно скоротити терміни очищення стічних вод і водночас знизити економічні витрати. Дана технологія передбачає

подальше окиснення біомаси калій перманганатом і гідроген пероксидом [20].

Необхідно відзначити, що ряд технологічних схем передбачає очистку стоків від жиромісних домішок препаратами, що складаються як з монокультур, так і суміші мікроорганізмів роду *Mucor*, *Bacillus*, *Pseudomonas* та ін. [21-23].

Недоліком запропонованих технологій є відсутність продукту, що представляє інтерес для подальшої діяльності людини. Таким чином, дані способи дозволяють тільки знизити токсичність техногенних відходів, але не переробити їх.

Вже розроблено підходи до біосинтетичної і ензиматичної переробки тваринних жирів на продукти з підвищеною біологічною активністю. Так, існують технології гідролізу жирів стічних вод харчових виробництв за використанням як мікробних ліпаз [20, 24, 25], так і ліпаз підшлункової залози великої рогатої худоби. У результаті ферментативного розщеплення жиру тваринними ліпазами відбувається вивільнення зі структури жирів всього спектру жирних кислот [26]. Таким чином, можуть бути отримані жиромісні добавки з підвищеною біологічною цінністю для харчових композицій і мікробіологічних середовищ [27].

Необхідно відзначити, що пропонуються технології, які дозволяють здійснювати біологічну деструкцію як в аеробних умовах, так і шляхом анаеробного зброджування.

Досить розповсюдженим методом переробки жиромісних відходів харчових підприємств є зброджування молочнокислими бактеріями. Даний спосіб включає в себе термічну обробку сировини, ферментативний гідроліз, за необхідності пропонується додатково здійснювати фільтрацію [28]. Недоліком цього способу є необхідність здійснення декількох стадій, а також використання ферментного препарату, що істотно підвищує собівартість кінцевого продукту.

Також пропонується анаеробне зброджування відходів з метою отримання біогазу та інших газоподібних продуктів [29]. Залишок, що утворюється при такій переробці відходів, може бути використаний як добриво. Його склад залежить від складу вихідної сировини. У сприятливих для анаеробного зброджування умовах зазвичай розкладається близько 70% органічних речовин [30].

Головним фактором, що стримує впровадження даної технології на виробничих підприємствах, незважаючи на всі плюси, є суттєві капітальні витрати [31].

Існують також ряд технологічних схем аеробної переробки жиромісних відходів з використанням дріжджових культур, причому ряд дослідників рекомендує помірно галофільні дріжджі *Yarrowia lipolytica* [32-36].

Аналіз літератури показує, що дріжджі *Y. lipolytica* успішно застосовуються при очищенні жировмісних стоків підприємств, що займаються переробкою різних видів рослинної сировини. Так, наприклад, доведено, що штамп *Y. lipolytica* 3589 знижує хімічне споживання кисню (ХСК) стічних вод підприємств з виробництва пальмового масла на 95% за два дні [34], а штамп *Y. lipolytica* ATCC 20255 знижує ХСК стічних вод виробництва оливкової олії на 80% за 24 години. При цьому накопичення біомаси дріжджів склало 22,45 г/л [37].

Можливості сучасної біотехнології дозволяють знайти альтернативний спосіб використання жировмісних стоків рибопереробних підприємств, який зачіпає не тільки екологічні аспекти виробництва, але і проблему дефіциту кормового білка. Так, в даний час встановлено здатність термофільного штаму *Candida tropicalis* 928 і вищевказаних дріжджів *Y. lipolytica* використовувати жир як вуглецевий субстрат [38]. *Y. lipolytica* рекомендований для очищення стічних вод від жировмісних забруднень в разі використання цільового продукту як кормової добавки.

Вищесказане дозволяє зробити висновок про те, що жировмісні стоки харчових підприємств можуть бути використані як субстрат для культивування мікроорганізмів – продуцентів кормового білка. Аналіз літератури доводить, що дріжджі виду *Y. lipolytica* є однією з культур, використання якої може бути ефективним при проведенні даного процесу [36].

Метою статті є розроблення технологічних основи аеробної біоконверсії жирової складової стоків рибопереробних підприємств в білкову кормову добавку. Для досягнення мети поставлено такі завдання:

1. Визначити хімічні та мікробіологічні показники жирової фази стоків рибопереробних підприємств.

2. Виділити і охарактеризувати автохтонні мікроорганізми; вибрати мікроорганізми з високою ліполітичною активністю, які здатні асимілювати жири в якості єдиного джерела вуглецю.

3. Вивчити процеси культивування мікроорганізмів-деструкторів на жирових субстратах залежно від попередньої обробки субстрату.

4. Дослідити вплив різних режимів культивування мікроорганізмів на характеристики технологічного процесу та якість мікробної біомаси; провести порівняльний аналіз способів концентрування одержаної біомаси.

5. Розробити технологічну схему переробки жировмісної фази стоків рибопереробних підприємств.

Матеріали і методи досліджень. Основним об'єктом дослідження були жировмісні стоки

рибопереробного підприємства ТОВ «РЗК» Південний, виробничі потужності якого знаходяться у м. Білгород-Дністровський Одеської області. Хімічні показники усередненої проби відходів (загальний жир, вільні жири, кислотне число жиру) визначали відповідно до ДСТУ 660:2019, ДСТУ ISO 7847:2006, ДСТУ EN 14105:2009. Мікробіологічні характеристики, а також виділення і дослідження автохтонних культур мікроорганізмів здійснювали з використанням стандартних методів [39].

Мікробними об'єктами були штами мікроорганізмів, що мають ліполітичну активність: бактерії – *B. mesentericus*, *B. subtilis*, *Acinetobacter sp.*; гриби – *A. nysae*, *P. oryzae*, дріжджі – *C. scottii*, *Y. lipolytica*. Культивування проводили в колбах об'ємом 250 мл (100 мл середовища) при перемішуванні (150 об/хв) і в ферментаторі об'ємом 5 л із заповненням поживним середовищем на 70% при перемішуванні (250 об/хв). Ліполітичну активність визначали за реакцією гідролізу оливкової олії [40]. Вміст сирого протеїну, істинного білка, загальних вуглеводів, загального жиру, нуклеїнових кислот в мікробній біомасі визначали відповідно до ДСТУ 8723:2017.

Результати експериментів обробляли методами математичної статистики. Значення показника достовірності знаходили за критерієм Стьюдента при довірчій вірогідності $P=0,95$ і міри свободи $f=n-1$. Допустимою величиною відносної помилки рахували її значення, що не перевищує 5%.

Виклад основного матеріалу

Хімічні та мікробіологічні показники жирових стоків рибопереробних підприємств. Оскільки склад жирової фази стоків може істотно варіювати у результаті життєдіяльності автохтонної мікрофлори, а також залежно від якості сировини, що переробляється, зразки відбирали протягом декількох циклів функціонування підприємства зі шламозбірника на 1, 5 і 13 добу після надходження. Дослідження хімічного складу жирових відходів стоків одних термінів зберігання (табл. 1) виявили незначні відмінності в масових частках аналізованих сполук у складі жирової сировини, що свідчить про однотипність відходів, які утворюються в ході роботи підприємства. Однак явні зміни складу жирової маси в процесі її витримання в шламозбірнику свідчать про активний розвиток автохтонної мікрофлори, яка споживає жир, знижуючи його частку. При цьому накопичується мікробна біомаса, у результаті чого зростає вміст сирого протеїну і вуглеводів. Паралельне зниження масової частки вільного жиру і кислотного числа, ймовірно, пов'язане зі споживанням мікрофлорою, що розвивається, найбільш легкозасвоюваних жирів, в той час як важкозасвоювані жири залишаються не спожитими.

**Хімічні показники жировмісної фази стоків рибопереробки
з різними строками зберігання в шламозбірнику**

Зберігання відходів, діб	Загальний жир, %	Вільно-вилучений жир, %	Кислотне число	Сирий протеїн, %
1	86,9-88,4	82,2-84,3	190,1-219,4	12,5-13,9
5	70,3-76,6	63,3-74,6	131,4-140,3	17,5-21,0
13	58,3-61,4	46,1-48,3	118,8-124,6	19,0-22,1

*- з урахуванням розкиду показників різних проб

При вивченні мікробіологічних показників жирових відходів виявлено високу засміченість (до 108кл/г) відходів (табл. 2). Зі збільшенням

терміну зберігання відходів знижується чисельність бактерій і зростає кількість грибів.

Таблиця 2

**Мікробіологічні показники жировмісної фази стоків рибопереробки
з різними строками зберігання в шламозбірнику**

Зберігання відходів, діб	КУО, 106 кл/г	
	бактерії	гриби
1	100,2	2,5
5	15,4	86,5
13	8,8	167,9

Дослідження грибного ізоляту виявило високу активність екзоліпази (120 од./мг АСБ) і ендоліпази (68 од./мг АСБ). За результатами визначення морфологічних ознак і фізіологічних властивостей ізолят був віднесений до дріжджоподібних грибів *Geotrichum sp.* Оскільки виділений мікроорганізм був домінуючим контамінантом відходів і мав високу ліполітичну активність, необхідним етапом подальших досліджень було з'ясування перспективності його використання для біоконверсії жирової фази стоків.

Відзначено, що інші мікроорганізми (бактерії, цвілеві гриби), які присутні в одиничних кількостях, не здатні асимілювати жири і, мабуть, є алохтонними для даного типу відходів. Відносно високі показники засвоєння жирового субстрату мали ізольовані бактерії, які представляли собою грампозитивні палички розміром 1 мкм, здатні до утворення ендоспор без зміни форми клітини. Незважаючи на високу екзоліполітичну активність, а також здатність асимілювати жири як джерело вуглецю, швидкість росту і максимальне накопичення біомаси у виділених бактерій при рості на поживних середовищах з вмістом жирових відходів 20 г/л не перевищували 0,1 год⁻¹ і 2,2 г/л відповідно. Крім того, виділені бактерії були високочутливі до зміни рН середовища і зараження

грибами, що не дозволяє розглядати їх в якості перспективних деструкторів жирових відходів.

Біоконверсія жировмісної фази стоків рибопереробки з використанням виділеного штаму гриба *Geotrichum sp.* Вивчали ріст грибного ізоляту в лабораторному ферментаторі на середовищі, що містить жирові відходи (20 г/л) з різними термінами зберігання в шламозбірнику (табл. 3).

Одержані результати свідчать про те, що штам *Geotrichum sp.* може бути використаний для біоконверсії жирових відходів: одержувана біомаса містила до 45% білка. Однак процес був тривалим, мав недостатньо високу швидкість росту гриба і низький вихід біомаси. Це може бути обумовлено обмеженою здатністю виділеного гриба асимілювати вищі насичені карбонові кислоти.

При дослідженні різних режимів культивування гриба за показниками якості одержуваної біомаси був зроблений висновок про перевагу глибинного гетерофазного культивування в періодичному режимі. Однак цей режим є нерентабельним за економічними показниками. Інші режими культивування (з підживленням субстрату, безперервний) приводили до значного збільшення вмісту ліпідів і зниження кількості білка в кінцевому продукті.

Ростові характеристики *Geotrichum* sp. при культивуванні на жирових відходах в періодичних умовах

Характеристика	Термін зберігання відходів у шламозбірнику, діб		
	1	5	13
Тривалість культивування, год	46	72	82
Швидкість росту, год ⁻¹	0,10	0,06	0,04
Максимальне накопичення біомаси, г/л	13,5	9,1	6,4
Вихід біомаси, г/г	0,68	0,46	0,37
Склад біомаси, %			
- білок	44-45	28-29	19-20
- сирий протеїн	53-55	34-35	23-25
- загальний жир	11,0-12,5	15,3-19,7	25,0-26,5

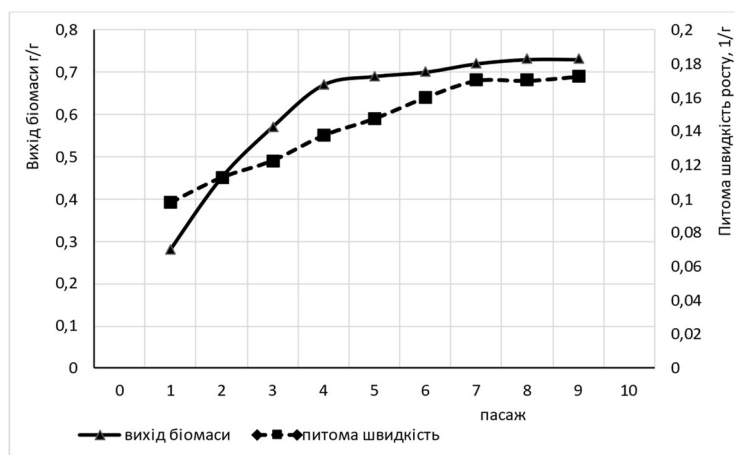


Рис. 1. Зміна ростових характеристик дріжджів *Y. lipolytica* в ході селекції щодо субстрату

Оскільки автохтонні культури є не перспективними для біоконверсії жирової фази стоків у білкову кормову добавку, виникла необхідність пошуку більш ефективного мікробного деструктора жирів з високим ступенем продукування екзоліпаз. Основними критеріями при відборі штамів були обрані активність екзоліпази і вміст білкових речовин в біомасі. Аналіз результатів дозволив зробити висновок, що найбільш перспективним біодекструктором жирів із мікроорганізмів, що розглядалися, є дріжджі *Y. lipolytica*, які мають найвищу ліполітичну

активність, забезпечують при культивуванні на жирових відходах високий вихід біомаси – до 0,6 г/г (рис. 1) та вміст сирого протеїну – 38,3% від АСБ (табл. 4). При рості *Y. lipolytica* в лабораторному ферментаторі в середовищі, що містить в якості субстрату жирові відходи (20 г/л), тривалість процесу склала 5 діб, питома швидкість росту 0,05 год⁻¹. Однак отримана біомаса містила до 21,5% ліпідів, що свідчить про неповне споживання субстрату, і, отже, про необхідність оптимізації умов проведення процесу.

Таблиця 4

Характеристика мікроорганізмів - продуцентів ліпаз

Культура	Активність екзоліпази		Сирий протеїн, %
	питома, од/мг АСБ	загальна, од./мл	
<i>Bacillus mesentericus</i>	0,53	2,9	25,4
<i>Bacillus subtilis</i>	0,73	6,7	28,3
<i>Acinetobacter</i> sp.	2,6	42,1	40,1
<i>Aspergillus oryzae</i>	34,2	4,6	31,5
<i>Penicillium oryzae</i>	0,7	5,1	29,7
<i>Candida scottii</i>	39,0	42,5	39,2
<i>Yarrowia lipolytica</i>	303,4	919,0	38,3

Тому далі досліджували вплив мінерального складу поживного середовища і умов культивування (температури, рН, аерації, «віку» і концентрації жирових відходів) на ліполітичну активність і накопичення біомаси дріжджів *Y. lipolytica*. Найкращі результати були отримані за таких умов: температура культивування 30-32°C; рН 5,0-5,5, вміст жирового субстрату 20 г/л. Збільшення концентрації жирового субстрату понад 20 г/л призводило до істотного зниження швидкості росту дріжджів і максимального накопичення біомаси, що пояснюється як труднощами в аерації, оскільки знижується вміст розчиненого кисню в поживному середовищі, так і тим, що частина його витрачається на спонтанні окиснювальні процеси компонентів жиру. Було відзначено, що при використанні жирових відходів, що зберігалися більше доби, спостерігається зниження ростових характеристик дріжджової культури. Отже, для здійснення ефективного процесу слід використовувати тільки «свіжі» відходи.

У ході роботи було встановлено, що жирові відходи містять компоненти, які пригнічують ріст дріжджів *Y. lipolytica*. Оскільки інгібуючий ефект був вище у відходах більш тривалих термінів зберігання і з високою засміченістю, було зроблено висновок про мікробну природу інгібіторів. Цей негативний ефект може бути усунутий селекцією дріжджів у напрямку їх адаптації до жирового субстрату, що зберігається. Селекцію вели шляхом багаторазових послідовних пересівань дріжджів на середовища, що містять відходи жирових стоків рибопереробки. У результаті до 7 пасажу істотно підвищилася питома швидкість росту мікроорганізмів і вихід біомаси до 0,8 год⁻¹ і 0,69 г/г, відповідно (рис. 1).

Також спостерігається збільшення вмісту істинного білка з 30,6 до 38,9%. Було відзначено, що за використання адаптованої культури дріжджів як інокулята, необхідний об'єм засіву знижується до 0,1% об/об. Доведено, що найбільш доцільно використовувати культуру в фазі лінійного росту. Однак при пересіванні адаптованих до

жирових відходів дріжджів на вуглецевмісні рідкі/тверді поживні середовища раніше досягнуті результати втрачалися.

Для ефективного здійснення біоконверсії жировмісної фази стоків необхідно використовувати штам дріжджів *Y. lipolytica*, селекціонований щодо субстрату, причому зберігатися дріжджі повинні тільки на жировмісних поживних середовищах.

Попередня підготовка жировмісного поживного середовища. Оскільки процес асиміляції жирів мікроорганізмами може бути лімітований площею поверхні субстрату, актуальним є розробка способів підвищення ефективності біоконверсії субстрату шляхом попередньої обробки середовища.

Зменшення розмірів жирових частинок може бути досягнуто хімічним або ферментативним гідролізом, а також за допомогою ультразвукового впливу. В ході досліджень лужний гідроліз сировини проводили з використанням гідроксиду натрію (рН 8-13) з подальшим автоклавуванням при 0,5 і 1 атм. Для гідролізу застосовували панкреатичну ліпазу (1500 од. акт./г), при цьому змінювали концентрацію ферменту і тривалість обробки. Ультразвукову дезінтеграцію проводили в лабораторній ультразвуковій ванні з робочою частотою 22 кГц, змінюючи температуру і тривалість обробки. Було доведено, що проведення гідролізу як лужного, так і ферментативного хоча і дозволяє зменшити розміри частинок жиру, але не збільшує ефективність його біоконверсії дріжджами. На відміну від описаних способів ультразвукове диспергування жиру на стадії підготовки сировини справляло значний вплив на ростові характеристики дріжджів, оскільки ультразвукові хвилі стимулюють процеси окиснення жирів [41, 42] і це сприяє попередній частковій деградації субстрату і підвищенню його біодоступності. Вивчення властивостей (оптична густина) отриманої жирової дисперсії показало, що дія ультразвуком при температурі 30°C і нижче дозволяє досягнути максимального ступеня насичення системи (рис. 2).

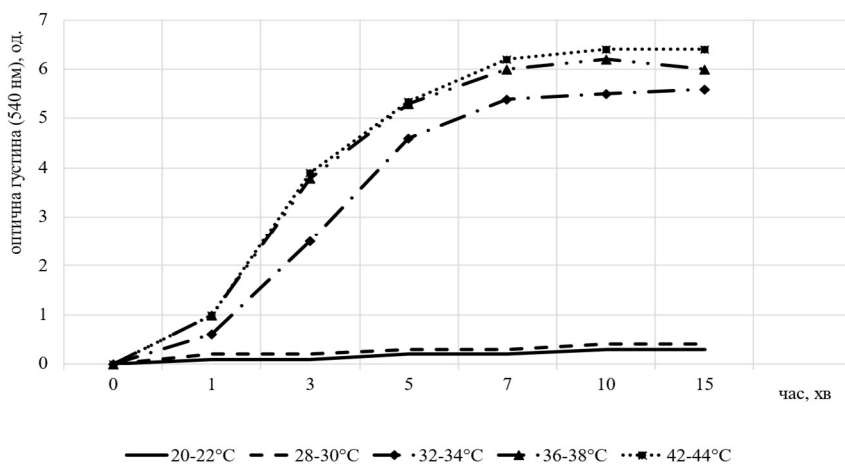


Рис. 2. Зміна оптичної густини дисперсії жирових відходів (1 г/л) в поживному середовищі при різних температурах в ході обробки ультразвуком

При мікроскопуванні отриманої дисперсії встановлено, що відбувається істотне зменшення розміру жирових частинок. Ультразвукова обробка поживного середовища, що містить

20 г/л жирових відходів, протягом 7 хв призводила до зменшення середнього діаметра частинок до 1,5 мкм. Більш тривала дія істотно не впливала на властивості дисперсії (рис. 3).

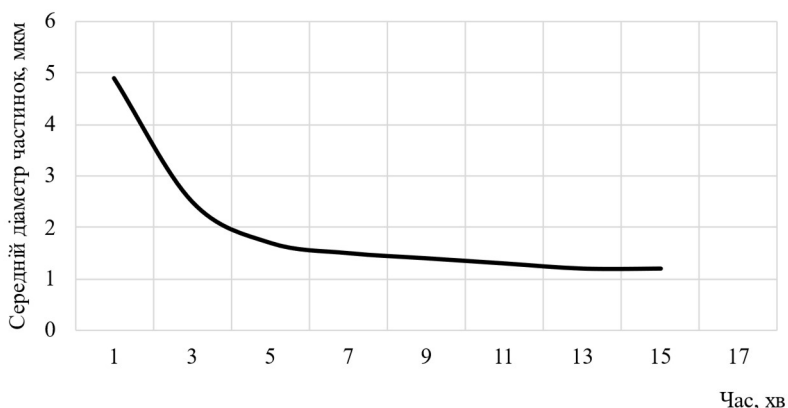


Рис. 3. Вплив тривалості ультразвукової обробки на діаметр частинок

На властивості дисперсії, що отримували обробкою ультразвуком в оптимальному режимі, впливала концентрація жирів: насичення дисперсії досягалося вже при 5 г/л жиру, а при збільшенні концентрації понад 30 г/л спостерігалось зменшення оптичної густини. Останнє може бути обумовлено підвищеною інтенсивністю коагуляції мікрочастинок, які утворюються, при високих концентраціях речовини, що диспергується. Оптимізацію процесу попередньої обробки сировини за всіма трьома параметрами проводили за результатами росту на ній дріжджів *Y. lipolytica*. Згідно з даними табл. 5, оптимальним був режим ультразвукової обробки середовища, що містило 20-30 г/л субстрату при початковій температурі 22 - 24°C, протягом 7 хв, при якому вихід біомаси зріс на 45%. Окрім того, було виявлено додатковий позитивний ефект ультразвукової попередньої

обробки сировини. При культивуванні дріжджів на необроблених жировмісних поживних середовищах у лабораторному ферментаторі субстрат розподілявся нерівномірно в об'ємі ферментатора, налипав на лопаті змішувача і кришку апарату. Після ультразвукової обробки поживного середовища цих недоліків виявлено не було: жир знаходився в культуральній рідині у вигляді дисперсії і не утворював щільних відкладів на поверхнях ферментатора. У результаті попередньої обробки сировини зросли питома швидкість росту (з 0,18 до 0,20 год⁻¹) і накопичення біомаси (до 19,8 - 28,5 г/л), що істотно вище раніше досягнутих результатів. Отже, ультразвукова попередня обробка жирового поживного середовища є необхідним технологічним етапом процесу біоконверсії жирів.

Накопичення біомаси *Y. lipolytica* при різних початкових концентраціях жиривих відходів і режимах попередньої обробки поживного середовища

Початкова концентрація субстрату, г/л	Попередня обробка субстрату ультразвуком		Максимальне накопичення біомаси, г/л	Вихід біомаси, г/г
	тривалість, хв	початкова температура, °С		
10	відсутня		8,14	0,81
10	7	22-24	12,56	1,26
20	відсутня		13,8	0,69
20	7	22-24	19,8	0,99
30	відсутня		19,28	0,64
30	7	22-24	28,50	0,95
50	відсутня		22,71	0,45
50	7	22-24	32,23	0,64
10	6	22-24	9,85	0,99
10	8	22-24	12,57	1,26
10	7	13-15	10,05	1,01
10	7	34-36	12,55	1,26

Дослідження впливу режимів культивування на ефективність процесу біодеструкції жиривмісної фази стоків і якість біомаси. Відпрацювання режимів культивування проводили в лабораторному ферментаторі (об'єм 5 л, заповнення на 70%).

Оскільки завдання досліджень передбачали не тільки підбір умов, оптимальних для біодеградації жиривмісних стоків, але й подальше використання отриманої біомаси як кормової добавки, необхідним

було проведення порівняльного аналізу не тільки характеристик процесу, а й якості отриманої біомаси. Були апробовані кілька режимів культивування (табл. 6). Отримані результати дозволяють зробити висновок про те, що для біодеструкції жиривих стоків доцільне застосування як доливного, так і безперервного методів культивування, які не призводять до суттєвих змін якості одержуваної біомаси.

Таблиця 6

Характеристики процесу біоконверсії жиривмісної фази стоків (20 г/л) дріжджами *Y. lipolytica* при різних режимах культивування

Характеристики	Режими культивування				
	періодичне глибинне	глибинне з підживленням по субстрату	твердофазне	глибинне відбірно-доливне	безперервне
Питома швидкість росту, год ⁻¹	0,26	0,14	0,01	0,24*	0,24**
Максимальне накопичення біомаси, г/л	24,2	86,9	0,0028 г/г	16,5	16,5
Склад біомаси, %					
білок	43,5	35,7	менше 1	42,7	41,4
загальний жир	6,7	18,3	93,6	7,2	7,9

* - доля відбирання культуральної рідини кожну годину;

** - швидкість потоку культуральної рідини.

Концентрування та сушіння біомаси. Концентрування біомаси є однією з найбільш вартісних стадій технології виробництва кормового білка. Нами було проведено дослідження ефективності ряду варіантів відділення біомаси від культуральної рідини при культивуванні дріжджів *Y. lipolytica* на відходах жиривих стоків. Досліджено такі методи концентрування біомаси, як седиментація, сепарування, фільтрація через тканинні фільтри та флотація.

Проведені дослідження показали, що задовільний ступінь концентрування досягається при використанні седиментації, яка є найбільш

дешевим методом відділення біомаси, в результаті чого через три години досягається концентрування сухих речовин в осаді 15,8% мас. При цьому декантат містить не більше 2 г/л АСБ, що дозволяє використовувати його в кількості 70-80% у рециклінгу культуральної рідини. Слід зазначити, що отриманий таким чином концентрат біомаси може бути відправлений на сушку без використання додаткових методів концентрування біомаси. Найбільш доцільно використовувати стрічкову сушарку.

Технологічна схема біоконверсії жиривмісної фази стоків рибопереробних підприємств в

дріжджову біомасу кормового призначення. На основі проведених досліджень нами була розроблена принципова технологічна схема біоконверсії жировмісної фази стоків рибопереробних підприємств у дріжджову біомасу кормового призначення. Технологічна схема передбачає:

- використання адаптованих до субстрату мікроорганізмів;
- попередню обробку поживного середовища ультразвуком для диспергування жиру;
- стадія ферментації в безперервному або відбірно-доливному режимі;
- концентрування біомаси методом відстоювання і сушку.

Розроблена технологія передбачає здійснення селекції культури дріжджів *Y. lipolytica* щодо субстрату (жирових стоків рибопереробки) в лабораторії і наступне культивування в інокуляторах різного об'єму. При титрі клітин не менше 400 млн/мл готову посівну культуру передавлюють стерильним повітрям в основний апарат.

Основний процес проводять у трьох паралельно працюючих апаратах, об'єм яких визначається кількістю відходів. При цьому підтримують рН в

інтервалі 5,0-5,5 внесенням аміачної води (23-26%) через мірник-дозатор. Температуру в ферментаторі підтримують на рівні 30°C за рахунок зміни витрати води, яка подається в змішувачі і сорочку.

Повітря для аерації посівного ферментатора подається по окремих лініях від основної повітрорудки через повітрозабірники. Повітря проходить очистку від пилу на грубому фільтрі і компримується. Повітря надходить на головний стерилізуючий фільтр.

Для приготування поживного середовища із дозаторів подаються всі необхідні компоненти мінерального живлення. Розчин поживних солей і жирових відходів готується в змішувачах з регульованою температурою і подається насосом через теплообмінник-рекуператор в установку стерилізації, де стерилізується. Після чого поживне середовище проходить через теплообмінник-рекуператор і холодильник, де охолоджується до температури 35°C, проходить ультразвукову установку і подається в ферментатор.

Дріжджова суспензія надходить у відстійник. Надосад подається в ємність для освітленої культуральної рідини (ОКР), звідки насосом перекачується в ємність для реалізації рецикла.

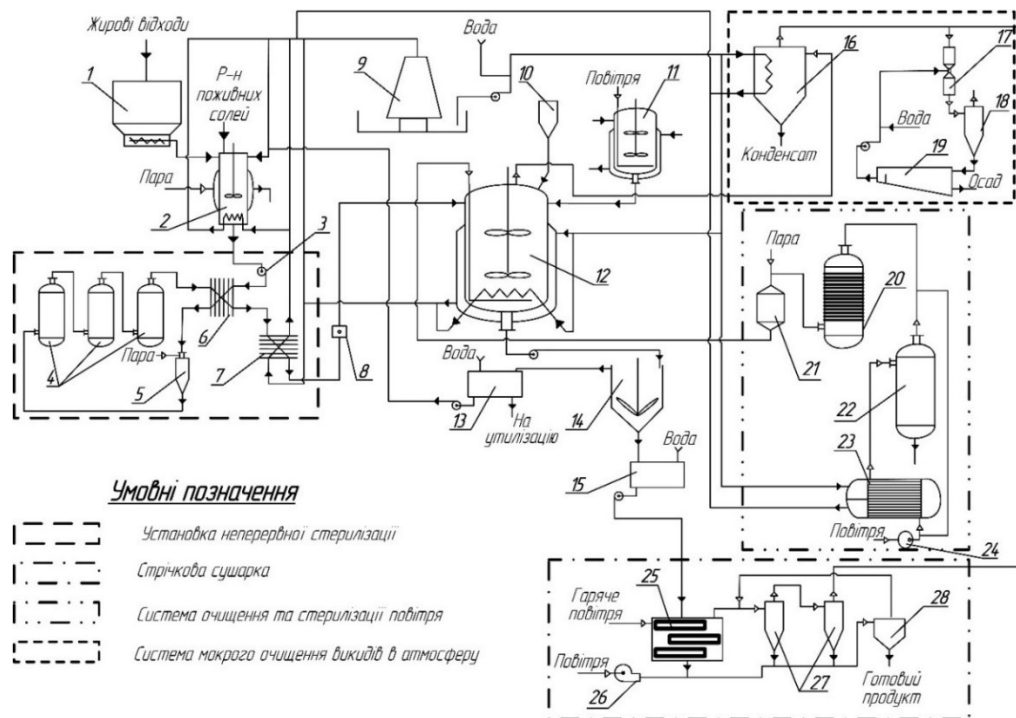


Рис. 4. Принципова технологічна схема біоконверсії жировмісної фази стоків рибопереробки в дріжджову біомасу кормового призначення: 1 - ємність для жировмісної фази стоків відкрита; 2 - змішувач; 3 - насос відцентровий; 4 - витримувачі; 5 - нагрівач-стерилізатор; 6 - теплообмінник-рекуператор; 7 - теплообмінник-охолоджувач; 8 - ультразвуковий диспергатор; 9 - градирня; 10 - мірник-дозатор аміачної води; 11 - інокулятор; 12 - ферментатор; 13 - ємність проміжна для освітлення культуральної рідини; 14 - відстійник неперервної дії; 15 - ємність проміжна для пасти; 16 - теплообмінник; 17 - скрублер Вентурі; 18 - циклон; 19 - відстійник; 20 - повітряний фільтр грубої очистки; 21 - повітряний фільтр тонкої очистки; 22 - ресивер; 23 - теплообмінник; 24 - компресор; 25 - стрічкова сушарка; 26 - повітрорудка; 27 - циклон сушарки; 28 - ємність накопичувальна.

Паста, що отримується в процесі відстоювання, з вмістом 15,8% АСБ, надходить на стрічкову

сушарку, де підсушується до вологості 9-10%. Частина дріжджів з конічної частини сушарки

пневмотранспортом по трубі подається в циклон, де відділяється від відпрацьованого теплоносія, який надходить в скруббер мокрого очищення.

Отриманий висушений матеріал надходить в шнековий змішувач, а звідти в автоматичний ваговий дозатор, де запаковується в крафт-мішки, які направляються на склад готової продукції. Графічне зображення технологічної схеми представлено на рис. 4.

Висновки.

1. Визначено основні хімічні та мікробіологічні показники жировмісної фази стоків рибопереробних підприємств. Встановлено, що у процесі витримування відходів в шламозбірнику (1-13 діб) у результаті життєдіяльності автохтонних мікроорганізмів, вміст жирів знижується з 87 до 58%.

2. Встановлено, що домінуючим організмом автохтонної мікрофлори відходів є гриби *Geotrichum* sp. Установлено, що найбільш перспективним біодекструктором жирів є дріжджі *Yarrowia lipolytica*.

3. Розроблено спосіб попередньої обробки жировмісної твердої фази – ультразвуковим

диспергуванням, у результаті підвищується біодоступність субстрату, зростає питома швидкість росту і вихід мікробної біомаси на 11 і 30% відповідно.

4. Розроблено способи підготовки посівного матеріалу, що дозволяють підвищити ефективність основного процесу за показниками: виходу біомаси на 10,1%); питомої швидкості росту (з 0,20 до 0,26 год⁻¹); вмістом білка (на 16,7%). Способи включають селекцію (5-7 пасажів) високопродуктивних клонів, що проводиться в напрямках підвищення спорідненості до субстрату.

5. Встановлено, що для біодеструкції жирових стоків доцільне застосування як доливного, так і безперервного методів культивування, які не призводять до суттєвих змін якості одержуваної біомаси.

6. За результатами комплексних поетапних досліджень біоконверсії дріжджами *Y. lipolytica* жировмісної твердої фази жирових стоків рибопереробних підприємств в білкову кормову добавку розроблено технологічну схему виробництва у безперервному режимі.

Список використаних джерел:

1. Баль-Прилипка Л. В., Старкова Е. Р., Лебський С. О., Андрощук О. С. Актуальні проблеми рибопереробної галузі: монографія. Київ: Компринт, 2018. 214 с.
2. Shahidi F., Botta J. R. Seafood processing by-products. Seafoods chemistry, processing, technology and quality. Glasgow: Blackie Academic and Professional, 1994. С. 320-334.
3. Ioannis S. Arvanitoyannis, Aikaterini Kassaveti Fish industry waste: treatments, environmental impacts, current and potential uses. *International Journal of Food Science and Technology*. 2008. № 43. 726–745.
4. Дуденко Н. В., Панікарова Б. О., Горбань В. Г. Аналіз харчової та біологічної цінності відходів переробки рибної сировини. *Технологічний аудит і резерви виробництва*. 2015. № 6/7(26). С. 39-41. DOI: <https://doi.org/10.15587/2312-8372.2015.55765>
5. Ковальчук В. А. Високопродуктивні біоокислювачі в системах очистки стічних вод підприємств м'ясної та молочної промисловості. *Науковий вісник будівництва*. Харків: ХДТУБА, ХОТВ АБУ. 2010. Вип. 60. С. 247-251.
6. Ковальчук В. А. Очистка стічних вод. Рівне: Рівненська друкарня, 2002. 622 с.
7. Яромский В. Очистка сточных вод пищевых и перерабатывающих предприятий. Минск : Издательский центр БГУ, 2009. 171 с.
8. Юлевич О. І., Ковтун С. І., Гиль М. І. Біотехнологія. Миколаїв: МДАУ, 2012. 476 с.
9. Паска М. З. Технологія тваринних жирів: навч. пос. Львів: ЛКТ ЛНУВМ та БТ ім. С.З. Гжицького, 2010. 135 с.
10. Ruggieri Luz, Artola Adriana, Gea Teresa, Sanchez Antoni. Biodegradation of animal fats in a co-composting process with wastewater sludge. *International Biodeterioration & Biodegradation* (Elsevier). 2008, Vol. 62, Issue 3. P. 298 – 303. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2008.02.004>
11. Аветісян Ю. І., Копаниця Ю. Д., Аргатенко Т. В. Оптиміальне управління флотаційним блоком комплексу знежирення стічних вод жирового комбінату. *Проблеми водопостачання та гідравліки*. 2009. Вип. 12. С. 78-88.
12. Сухацький Ю. В., Знак З. О. Флотація як стадія кавітаційно-флотаційної технології очищення водних гетерогенних середовищ від дисперсних твердих частинок та органічних сполук. *Хімія, технологія речовин та їх застосування*. 2019. Вип. 2, № 1. С. 53-58.
13. Kempers P. Lipid biotechnology: Industrially relevant production processes. *European journal of Science and technology*. 2009, Vol. 111, Issue 7. P. 627-645 DOI: <https://doi.org/10.1002/ejlt.200900057>
14. Коляда М. К., Плаван В. П., Сафранов Т. А., Мельник К. С. Розробка методу утилізації колагенвмісних відходів рибопереробної промисловості. *Вісник КНУТД*. 2016. №2(96). С. 177-182.
15. Шестопалов О. В., Гетта О. С., Рикусова Н. І. Сучасні методи очищення стічних вод харчової промисловості. *Екологічні науки*. 2019. № 2(25). С. 20-27. DOI: <https://doi.org/10.32846/2306-9716-2019-2-25-4>
16. Петрова И. Б., Клименко А. И. Комплексная переработка отходов рыбоперерабатывающих производств: обзор. *Молодой ученый*. 2012. № 9. С. 61–63.
17. Lakhal D., Bahlaouan B., Boutaleb N., Fathi A., Taiek T., Abouakil N., Lazar S. Biotransformation of Ternary Mixture of Organic Industrial Waste into Poultry Feed. *Journal of Agricultural Science and Technology*. 2018. A8. P. 171-181 DOI:

- <https://doi.org/10.17265/2161-6256/2018.03.005>
18. Muhammad Bilal, Hafiz Iqbal. Sustainable bioconversion of food waste into high-value products by immobilized enzymes to meet bio-economy challenges and opportunities. *Food Research International*. 2019. V. 123. P. 226-240 DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.04.066>
 19. Rustad T. O. Utilisation of marine by-products. *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry*. 2003. № 2. P. 458–463.
 20. Ashok Kumar, Renata Gudiukaite, Alisa Gricajeva, Mikas Sadauskas, Vilius Malunavicius, Hesam Kamyab, Swati Sharma, Tanvi Sharma, Deepak Pant. Microbial lipolytic enzymes – promising energy-efficient biocatalysts in bioremediation. *Energy*. 2020. Vol. 192. P. 127-142. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.energy.2019.116674>
 21. Fan Meng, Hangyao Wang, Guangming Zhang, Xuemei Li, Yi Zhang, Zhiguo Zou. One-step treatment and resource recovery of high-concentration non-toxic organic wastewater by photosynthetic bacteria. *Bioresource Technology*. 2018. Vol. 251. P. 121-127. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.12.002>
 22. Haifeng Lu, Guangming Zhang, Shichao He, Cheng Peng. Production of photosynthetic bacteria using organic wastewater in photobioreactors in lieu of a culture medium in fermenters: From lab to pilot scale. *Journal of Cleaner Production*. 2020. Vol. 259. P. 158-163. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.120871>
 23. Cristian A. Sepulveda-Munoz, Daniel Puyol, Raul Munoz. A systematic optimization of piggery wastewater treatment with purple phototrophic bacteria. *Chemosphere*. 2020. Vol. 253. P. 134-145. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126621>
 24. Mara Cristina P. Zenevicz, Artur Jacques, Debora de Oliveira, Agenor Furigo Jr., Alessandra Valerio, J. Vladimir Oliveira. A two-step enzymatic strategy to produce ethyl esters using frying oil as substrate. *Industrial Crops and Products*. 2017. Vol. 108. P. 52-55. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.06.018>
 25. Vivek P., Sanvidhan G. Effect of lipase from different source on high fat content wastewater of dairy industry. *Indian Journal of Biotechnology*. 2018. Vol. 17(2). P. 244-250. DOI: <http://nopr.niscair.res.in/handle/123456789/45100>
 26. Prem Chandra, Ranjan Singh, Pankaj Kumar Arora. Microbial lipases and their industrial applications: a comprehensive review. *Microb Cell Fact*. 2020. P. 2-42. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12934-020-01428-8>
 27. Venugopal V. Enzymes from Seafood Processing Waste and Their Applications in Seafood Processing. *Adv Food Nutr Res*. 2016. Vol. 78. P. 47-69
 28. Novik Galina, Meerovskaya Olga, Savich, Victoria. Waste Degradation and Utilization by Lactic Acid Bacteria: Use of Lactic Acid Bacteria in Production of Food Additives. *Bioenergy and Biogas*. 2017. P. 105-146. DOI: 10.5772/intechopen.69284
 29. Голуб Н. Б., Шинкарчук М. В., Козловець О. А. Шляхи підвищення продукування біогазу при зброджуванні жиромісних відходів шкіряного виробництва. *Вісник Хмельницького національного університету*. 2018. № 2(259). С. 103-107.
 30. Гаценко К. В., Волошин М. Д. Технологія отримання біогазу на основі харчових відходів. *Збірник наукових праць Дніпропетровського технічного університету*. 2019. Том 1, № 34. С. 131-136. DOI: <https://doi.org/10.31319/2519-2884.34.2019.26>
 31. Пилипенко О. Розвиток харчової промисловості України. *Наукові праці НУХТ*. 2017, Т. 23, № 3. С. 15–25
 32. Oswal N., Sarma P. M., Zinjarde S. S., Pant A. Palm oil mill effluent treatment by a tropical marine yeast. *Bioresource Technology*. 2002. Vol. 85. P. 35-37. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(02\)00063-9](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(02)00063-9)
 33. Chigusa K., Hasegawa T., Yamamota N., Watanabe, Y. Treatment of waste water from oil manufacture plant by yeasts. *Water Science and Technology*. 1996. Vol. 34. P. 51-58. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0273-1223\(96\)00820-7](https://doi.org/10.1016/S0273-1223(96)00820-7)
 34. Zinjarde S. S., Pant, A., Deshpande M. V. Dimorphic transition in *Yarrowia lipolytica* isolated from oil-polluted seawater. *Mycological Research*. 1998. Vol. 10. P. 553-558. DOI: <https://doi.org/10.1017/S0953756297005418>
 35. De Felice B., Pontecorvo G., Carfagna M., Degradation of waste waters from olive oil mills by *Yarrowia lipolytica* ATCC 20255 and *Pseudomonas putida*. *Acta Biotechnologica*. 1997. Vol. 17. P. 231-239. DOI: <https://doi.org/10.1002/abio.370170306>
 36. Scioli D., De Felice B. Impiego di ceppi di lievito nella depurazione dei reflui dell'industria olearia. *Ann. Microbiol Enzimol*. 1993. Vol. 43. P. 61-69.
 37. Custodo Scioli, Lucia Vollaro. The use of *Yarrowia lipolytica* to reduce pollution in olive mill wastewaters. *Wat.res*. 1997. Vol. 31. № 10. P. 2520-2524. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(97\)00083-3](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(97)00083-3)
 38. Иванкин А. Н., Илюхина Р. В. О биотехнологической переработке низкоценных животных жиров. *Мясная индустрия*. 2001. №5. С. 46-47.
 39. Градова Н.Б. Лабораторный практикум по общей микробиологии. М.: Дели принт, 2001. 131 с.
 40. Польшагина Г.В., Чердиченко В.С., Римарева Л.В. Определение активности ферментов: справочник. М.: Дели принт, 2003. 375 с.
 41. Акоюн Б.В., Ершов Ю.А. Основы взаимодействия ультразвука с биологическими объектами: Ультразвук в медицине, ветеринарии и экспериментальной биологии: учеб. пособие / Под ред. С.И. Щукина. – М.: Изд-во МГТУ им. Н.Э. Баумана, 2005. 224 с.
 42. Валитов Р.Б., Курсочкин А.К., Бадиков Ю.В. Рациональная технология приготовления рабочих жидкостей. – *Защита растений*. № 3, 1985. С. 30-31.

М. М. Мадани, Р. И. Шевченко, А. Л. Гаркович. Биоконверсия жиросодержащей фазы стоков рыбоперерабатывающих предприятий в кормовую добавку

Предложена технология утилизации жиросодержащей фазы стоков рыбопереработки на основе комбинирования физико-химического воздействия и биологического окисления. Установлено, что наиболее перспективным биодекструктором жиров являются дрожжи *Yarrowia lipolytica*, селекционированные по

субстрату. Разработана принципиальная технологическая схема биоконверсии жиросодержащей фазы стоков рыбоперерабатывающих предприятий в дрожжевую биомассу кормового назначения.

Ключевые слова: техническая экология, технологии защиты, обращения с отходами, нормирование нагрузки на окружающую среду, кормовая добавка.

M. Madani, R. Shevchenko O., Hankonjich. Biconversion of fat-containing waste of fish processing enterprises in feed additive

*The technology of utilization of fat-containing phase of fish processing effluents on the basis of combination of physical and chemical influence and biological oxidation is offered. It was found that the most promising biodestructor of fats is the yeast *Yarrowia lipolytica*, selected for the substrate. A basic technological scheme of bioconversion of the fat-containing phase of effluents of fish processing enterprises into yeast biomass for feed purposes has been developed.*

Keywords: technical ecology, protection technologies, waste management, normalization of environmental load, feed additive.