

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ**

Інститут (факультет) біотехнології та екологічного контролю
Кафедра біотехнології і мікробіології

«До захисту в ЕК»

Директор інституту (декан факультету)
Наталія ГРЕГІРЧАК
(підпис) (прізвище та ініціали)

« 08 » грудня 2025 р.

«До захисту допущено»

Завідувач кафедри
Віктор СТАБНІКОВ
(підпис) (прізвище та ініціали)

« 08 » грудня 2025 р.

**КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА
НА ЗДОБУТТЯ ОСВІТНЬОГО СТУПЕНЯ МАГІСТРА**

зі спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія»
(код та назва спеціальності)

освітньо-професійної програми «Промислова та фармацевтична біотехнологія»
на тему: Дріжджі роду *Saccharomyces* як основа синбіотиків

Виконав: здобувач II курсу, групи ЗПФБ-2-1

КЛИМЕНКО Діана Вікторівна
(прізвище, ім'я, по батькові повністю) (підпис)

Керівник СТАРОВОЙТОВА Світлана Олександрівна
(прізвище, ім'я та по батькові повністю) (підпис)

Консультанти
(прізвище та ініціали) (підпис)

(прізвище та ініціали) (підпис)

Рецензент
(прізвище, і'мя) (підпис)

Я як здобувач(ка) Національного університету харчових технологій розумію і підтримую політику університету з академічної доброчесності. Я не надавав(-ла) і не одержував(-ла) недозволеної допомоги під час підготовки цієї роботи. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

Здобувач _____
(підпис)

Київ – 2025 р.

НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ

Інститут (факультет) Біотехнології та екологічного контролю

Кафедра біотехнології і мікробіології

Освітній ступінь магістр

Спеціальність 162 «Біотехнології та біоінженерія»

(код і назва)

Освітньо-професійна програма «Промислова та фармацевтична біотехнологія»

(назва)

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри біотехнології і

мікробіології

Віктор СТАБНІКОВ

“ 01 ” жовтня 2025 року

З А В Д А Н Н Я

НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ ЗДОБУВАЧА

КЛИМЕНКО Діани Викторівни

(прізвище, ім'я, по батькові)

1. Тема роботи Дріжджі роду *Saccharomyces* як основа синбіотиків

керівник роботи СТАРОВОЙТОВА Світлана Олександрівна, к.б.н., доцент,

(прізвище, ім'я, по батькові, науковий ступінь, вчене звання)

затверджені наказом закладу вищої освіти від 05.11.2025 року № 912-кс

2. Строк подання здобувачем роботи 26.11.2025

3. Вихідні дані до роботи Штам *S. boulardii* ATCC-MYA-796

4. Зміст пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно розробити) Реферат, Вступ, 1. Огляд літератури, 2. Техніко-економічне обґрунтування виробництва синбіотику, 3. Обґрунтування вибору післяферментаційних процесів одержання біомаси *S. boulardii*, 4. Специфікація обладнання отримання субстанції для синбіотичного препарату, 5. Опис технологічної схеми післяферментаційного виділення і очищення субстанції для синбіотичного препарату, 6. Контроль виробництва субстанції для синбіотичного препарату, 7. Обґрунтування вибору технологічної схеми одержання синбіотичного препарату в капсулах, 8. Специфікація обладнання, 9. Опис технологічної схеми отримання синбіотичного препарату в капсулах, 10. Опис синбіотичного препарату згідно АНД, 11. Проект заявки на корисну модель, Висновки, Список використаних джерел

5. Перелік графічного матеріалу

Апаратурна схема одержання біомаси *S. boulardii*, Технологічна схема одержання біомаси *S. boulardii*, Апаратурна схема одержання біомаси *S. boulardii*, Технологічна схема одержання синбіотичного препарату в капсулах, Апаратурна схема одержання синбіотичного препарату в капсулах.

6. Консультанти розділів роботи

Розділ	Прізвище, ініціали та посада консультанта	Підпис, дата	
		завдання видав	завдання прийняв

7. Дата видачі завдання 01 жовтня 2025 року

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№	Назва етапів виконання кваліфікаційної роботи	Строк виконання етапів роботи	Примітка
1	Вступ	01.10.2025 – 03.10.2025	
2	Огляд літератури	06.10.2025 – 08.10.2025	
3	Техніко-економічне обґрунтування виробництва синбіотику	09.10.2025 – 13.10.2025	
4	Обґрунтування вибору післяферментаційних процесів одержання біомаси <i>S. boulardii</i>	14.10.2025 – 16.10.2025	
5	Специфікація обладнання отримання субстанції для синбіотичного препарату	17.10.2025 – 21.10.2025	
6	Опис технологічної схеми післяферментаційного виділення і очищення субстанції для синбіотичного препарату	22.10.2025 – 24.10.2025	
7	Контроль виробництва субстанції для синбіотичного препарату	27.10.2025 – 29.10.2025	
8	Обґрунтування вибору технологічної схеми одержання синбіотичного препарату в капсулах	30.10.2025 – 03.11.2025	
9	Специфікація обладнання	04.11.2025 – 06.11.2025	
10	Опис технологічної схеми отримання синбіотичного препарату в капсулах	07.11.2025 – 11.11.2025	
11	Опис синбіотичного препарату згідно АНД	12.11.2025 – 14.11.2025	
12	Проект заявки на корисну модель	17.11.2025 – 18.11.2025	
13	Висновки	19.11.2025 – 20.11.2025	
14	Оформлення Списку використаних джерел	21.11.2025 – 24.11.2025	
15	Оформлення вступу та реферату	25.11.2025 – 25.11.2025	
16	Оформлення презентації	26.11.2025 – 26.11.2025	
17	Оформлення пояснювальної записки	26.11.2025 – 26.11.2025	

Здобувач _____
(підпис)

Діана КЛИМЕНКО _____
(ім'я та прізвище)

Керівник роботи _____
(підпис)

Світлана СТАРОВОЙТОВА _____
(ім'я та прізвище)

ABSTRACT

The qualification work analyzed the literature data on the production and use of yeast as a basis for synbiotics.

The probiotic potential of yeast as a basis for synbiotics and the mechanisms of their action were considered. Information on the properties of yeast cell wall biopolymers was also analyzed, which makes them candidates for further use as a basis for synbiotic preparations.

The technological part of the qualification work considered the technological aspects of obtaining yeast biomass *Saccharomyces boulardii* as a basis for a synbiotic preparation with the prebiotic MOS (mannanoligosaccharides). The relevance of the topic was determined in view of the growing demand for synbiotics for the prevention of stress-induced disorders of the gastrointestinal tract.

A feasibility study was conducted: the product was characterized (250 mg of biomass + 80 mg of MOS in a capsule, $\geq 5 \times 10^9$ CFU), the Ukrainian market was analyzed (6 analogues), the annual demand was calculated - 70 kg of biomass (based on 0.01% of the population - 32.9 million people).

The choice of post-fermentation processes was justified: separation (MAXCLEAN 5T separator), lyophilization (Martin Christ ALPHA 1-2LD plus, residual moisture $\leq 3\%$), grinding (roll mill, 15–20 μm). A technological scheme with automated control was developed (microbiological - Koch's method, microscopy; technological - t, pH, vacuum).

The technological aspects of obtaining the finished product in capsules were considered.

The work is presented on 113 pages of printed text. It contains 11 chapters, 117 sources, 3 figures, 7 tables.

Keywords: *Saccharomyces boulardii*, synbiotic, biomass, lyophilization, MOS, quality control.

РЕФЕРАТ

В кваліфікаційній роботі здійснено аналіз літературних даних щодо одержання та використання дріжджів як основи синбіотиків.

Розглянуто пробіотичний потенціал дріжджів як основи синбіотиків та механізми їх дії. Також проаналізовано інформацію щодо властивостей біополімерів клітинних стінок дріжджів, що робить їх кандидатами для подальшого використання як основи синбіотичних препаратів.

В технологічній частині кваліфікаційної роботи розглянуто технологічні аспекти одержання біомаси дріжджів *Saccharomyces boulardii* як основи синбіотичного препарату з пребіотиком МОС (маннанолігосахариди). Визначено актуальність теми з огляду на зростання попиту на синбіотики для профілактики стрес-індукованих порушень шлунково-кишкового тракту.

Проведено техніко-економічне обґрунтування: охарактеризовано продукт (250 мг біомаси + 80 мг МОС у капсулі, $\geq 5 \times 10^9$ КУО), проаналізовано ринок України (6 аналогів), розраховано річну потребу — 70 кг біомаси (на основі 0,01 % населення — 32,9 млн осіб).

Обґрунтовано вибір післяферментаційних процесів: сепарація (сепаратор MAXCLEAN 5T), ліофілізація (Martin Christ ALPHA 1-2LD plus, залишкова вологість ≤ 3 %), подрібнення (валкова дробарка, 15–20 мкм). Розроблено технологічну схему з автоматизованим контролем (мікробіологічний — метод Коха, мікроскопія; технологічний — t, pH, вакуум).

Розглянуто технологічні аспекти одержання готового продукту в капсулах.

Роботу викладено на 113 сторінках друкованого тексту. Він містить 11 розділів, 117 джерел, 3 рисунки, 7 таблиць.

Ключові слова: *Saccharomyces boulardii*, синбіотик, біомаса, ліофілізація, МОС, контроль якості.

ЗМІСТ

Вступ.....	7
1. Огляд літератури.....	10
1.1. Пробиотичний потенціал дріжджів як основи синбіотиків.....	10
1.1.1. Механізми дії пробиотичних штамів <i>S. cerevisiae</i>	12
1.1.2. Пробиотичні властивості дріжджів.....	15
1.2. Застосування дріжджових біополімерів клітинних стінок як пребіотиків (компонентів синбіотиків).....	22
1.2.1. Структура та склад клітинної стінки дріжджів.....	23
1.2.2. Особливості одержання компонентів клітинних стінок дріжджів.....	24
1.2.3. Біологічна сумісність біополімерів із дріжджових клітинних стінок.....	33
1.2.4. β -глюкан як пребіотичний інкапсулятор.....	35
1.2.5. Маннопротеїн як пребіотичний інкапсулянт.....	36
1.2.6. Хітин як пребіотичний інкапсулятор.....	37
1.2.7. Роль біополімерів дріжджових клітинних стінок як пребіотичних інкапсулянтів.....	39
2. Техніко-економічне обґрунтування виробництва синбіотику.....	45
2.1. Аналіз фармакологічних властивостей синбіотика Swanson...	45
2.2 Обґрунтування вибору форми випуску синбіотичного препарату.....	47
2.3. Обґрунтування вибору біологічного агенту для отримання субстанції.....	48
2.4. Розрахунок потреби у субстанції для випуску синбіотичного препарату та розрахунок річної потреби у культуральній рідині.....	52
3. Обґрунтування вибору післяферментаційних процесів одержання біомаси <i>S. boulardii</i>	56
3.1. Обґрунтування вибору післяферментаційних процесів одержання біомаси <i>S. boulardii</i>	56

3.2. Підбір технологічного обладнання з врахуванням	
матеріальних потоків по стадіях.....	64
4. Специфікація обладнання отримання субстанції для синбіотичного	
препарату	67
5. Опис технологічної схеми післяферментаційного виділення і	
очищення субстанції для синбіотичного препарату	68
6. Контроль виробництва субстанції для синбіотичного	
препарату.....	71
7. Обґрунтування вибору технологічної схеми одержання синбіотичного	
препарату в капсулах.....	76
7.1. Розрахунок річної потужності виробництва синбіотичного	
препарату та кількості серій на рік.....	76
7.2. Обґрунтування умов забезпечення виготовлення	
синбіотичного препарату в капсулах	76
8. Специфікація обладнання.....	81
9. Опис технологічної схеми отримання синбіотичного препарату в	
капсулах	84
10. Опис синбіотичного препарату згідно АНД.....	89
11. Проєкт заявки на корисну модель.....	93
Висновки.....	99
Список використаних джерел.....	100

ВСТУП

У травні 2019 року Міжнародна наукова асоціація пробіотиків і пребіотиків (ISAPP) скликала групу дієтологів, фізіологів і мікробіологів для перегляду визначення та сфери застосування синбіотиків. Комісія оновила визначення синбіотика до: «суміші, що містить живі мікроорганізми та субстрат(и), які вибірково використовуються мікроорганізмами-хазяїнами, що забезпечує користь для здоров'я хазяїна» (*"a mixture comprising live microorganisms and substrate(s) selectively utilized by host microorganisms that confers a health benefit on the host"*) [1].

Комісія дійшла висновку, що визначення синбіотиків просто як суміші пробіотиків і пребіотиків може уповільнити інновації у розробленні синбіотиків через те, що кожен компонент повинен відповідати вимогам щодо доз для пробіотиків і пребіотиків окремо [2].

Комплементарний синбіотик, це препарат, у якого складові частини - пробіотик та пребіотик функціонують спільно. Тоді як синергічний синбіотик не обов'язково повинен бути таким. Синергічний синбіотик — це синбіотик, для якого субстрат призначений для вибіркового використання мікроорганізмами, що вводяться разом.

Концепція синбіотиків була вперше описана 25 років тому. Вона передбачала, що неперетравлювані харчові інгредієнти (пребіотики), які вибірково ферментуються, можна поєднувати з пробіотиками. Таким чином, синбіотики були вільно визначені як суміші «пробіотиків і пребіотиків, які сприятливо впливають на організм хазяїна».

Сам термін утворився з грецького префікса «син», що означає «разом», і суфікса «біотичний», що означає «що стосується життя». Незважаючи на наявність схожих сформульованих визначень, серед зацікавлених сторін, включаючи науковців, існує плутанина щодо того, що таке синбіотик.

Загальне непорозуміння могло бути частково через те, що саме початкове

					НУХТ БТЕК 02.01.05 КР ПЗ			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата	Вступ	Літ.	Арк.	Акрушів
Розроб.		Клименко Д.В.						
Перевір.		Старовойтова С.О.					7	113
Реценз.						Кафедра БТМ		
Н. Контр.								
Затверд.		Стабніков В.П.						

визначення — тобто: «суміші пробіотиків і пребіотиків, які сприятливо впливають на організм-хазяїна, покращуючи виживання та імплантацію живих мікробних дієтичних добавок у шлунково-кишковому тракті, шляхом вибіркової стимуляції зростання та/або шляхом активації метаболізму однієї або обмеженої кількості корисних для здоров'я бактерій, таким чином покращуючи добробут хазяїна» (“mixtures of probiotics and prebiotics that beneficially affect the host by improving the survival and implantation of live microbial dietary supplements in the gastrointestinal tract, by selectively stimulating the growth and/or by activating the metabolism of one or a limited number of health-promoting bacteria, thus improving host welfare”) — було надто багатослівним і неточним. Крім того, розширення всієї категорії «—біотики», включаючи такі терміни, як постбіотик і фармабіотик, майже напевно ще більше сприяє плутанині [1].

Синбіотичні препарати на основі дріжджів роду *Saccharomyces* можна поділити на дві групи:

1. Препарати, що містять живі клітини дріжджів роду *Saccharomyces* та пребіотики, наприклад, інулін [2].
2. Препарати, що містять живі клітини молочнокислих бактерій та пребіотики, які являють собою компоненти клітинних стінок дріжджів роду *Saccharomyces* [3].

Кожен такий вид препарату передбачає реалізацію індивідуальних підходів при виробництві починаючи від видів біологічних агентів і закінчуючи пребіотичними речовинами.

Комплементарний («додатковий») синбіотик визначається як суміш пробіотика(ів) і пребіотика(ів), в якій ці головні компоненти доповнюють один одного, причому кожен з них відповідає мінімальним критеріям, які висуваються до пробіотика або пребіотика. Синергічні («такі, що взаємно потенціюють») синбіотики також являють собою суміш вибірково обраних пробіотика(ів) та пребіотика(ів), але, діючи разом, вони не тільки демонструють ефекти, які відзначають при їх одиночному використанні, але й чинять більш потужний сприятливий вплив на організм людини. Експерти Association for Probiotics and Prebiotics підкреслюють, що синбіотики здатні чинити позитивні ефекти не тільки

на ШКТ, але й на інші позакишкові мікробні екосистеми [3], що значно розширює сфери застосування синбіотиків. Сучасна концепція синбіотиків передбачає застосування як загальновідомих пребіотиків, які активно використовувалися раніше (інулін, олігофруктоза, галактоолігосахариди, лактулоза), так і пребіотикоподібних речовин (целюлоза, геміцелюлоза, пектини, гідроколоїди, крохмаль, лігнін та тощо).

Актуальність теми. Синбіотики на основі дріжджів мають ряд переваг порівняно з бактеріальними препаратами, а саме: покращення здоров'я кишківника, підтримка імунітету та краще засвоєння поживних речовин, оскільки поєднують пробіотичні дріжджі (наприклад, *Saccharomyces boulardii*) з пребіотиками для створення синергічного ефекту. Вони можуть зменшувати симптоми подразненого кишківника, стимулювати апетит та покращувати загальну продуктивність організму [4].

Серед спрямованості дії синбіотиків на основі дріжджів ми можемо виділити наступні:

1. Покращення роботи травної системи (зменшують здуття, дискомфорт у животі та симптоми синдрому подразненого кишківника, створюють бар'єр для патогенних бактерій та сприяють росту корисних мікроорганізмів, підкислюють середовище в травному тракті, що перешкоджає розвитку шкідливих бактерій.

2. Зміцнення імунної системи (позитивно впливають на роботу імунної системи та допомагають організму боротися з інфекціями, зменшують запальні процеси в організмі).

3. Поліпшення засвоєння поживних речовин (здоровий кишківник краще всмоктує вітаміни (особливо групи В) та мінерали, такі як кальцій і магній).

4. Підвищення продуктивності (стимулюють апетит і покращують конверсію кормів, що особливо актуально у тваринництві, підвищують загальну збереженість та продуктивність організму).

5. Стимулювання росту корисних бактерій (пробіотичний компонент живить корисні бактерії, забезпечуючи їхній ріст і тривалу присутність) [4].

1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Пробиотичний потенціал дріжджів як основи синбіотиків

Синбіотики — це комбінація пробіотиків і пребіотиків, які діють синергетично, сприяючи здоров'ю кишечника та покращуючи загальне самопочуття. Цей ринок відіграє вирішальну роль у секторах дієтичних добавок і функціональних харчових продуктів, звертаючи увагу на те, що споживачі все більше зосереджуються на здоров'ї та самопочутті. Прогнозується, що складний річний темп зростання для ринку синбіотиків демонструватиме значне зростання з 2024 по 2031 рік, завдяки зростанню обізнаності про переваги здоров'я кишечника, старінню населення та зростанню поширеності розладів травлення.

Основні тенденції, що впливають на це зростання, включають підвищений інтерес споживачів до персоналізованого харчування, прогрес у біотехнології та різке зростання попиту на натуральні харчові продукти. Зростаюча важливість дослідження кишкової мікробіоти ще більше стимулює інновації в синбіотичних продуктах.

У регіональному масштабі очікується, що Північна Америка збереже значну частку завдяки високому споживчому попиту та добре налагодженій системі охорони здоров'я. Європа слідує за цим показником, приділяючи значну увагу функціональним продуктам харчування. Очікується, що в Азіатсько-Тихоокеанському регіоні спостерігатиметься найшвидше зростання за рахунок покращення обізнаності щодо здоров'я та збільшення наявних доходів. Оскільки ці тенденції тривають, ринок синбіотиків готовий до значного розширення, що відображає зростаючі інвестиції споживачів у цілісні рішення для здоров'я.

На жаль, на ринку України обмежена кількість синбіотиків, що поєднують дріжджі роду *Saccharomyces* з пребіотиками. Більшість доступних препаратів містять *Saccharomyces boulardii* як пробіотик без додавання пребіотиків. Однак, існують комбіновані продукти, що містять *Saccharomyces* разом з іншими

					НУХТ БТЕК 02.01.05 КР ПЗ			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата	ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	Літ.	Арк.	Акрушів
Розроб.		Клименко Д.В.						
Перевір.		Старовойтова С.О.					10	113
Реценз.						Кафедра БТМ		
Н. Контр.								
Затверд.		Стабніков В.П.						

пробіотичними бактеріями та пребіотиками. Ось декілька прикладів (табл 1.1):

Таблиця 1.1

Синбіотики на основі сахароміцетів, представлені на ринку України

Назва препарату	Пробіотична складова	Пребіотична складова	Фірма виробник	Країна походження	Посилання
Florastor®	<i>Saccharomyces boulardii</i> CNCM I-745 (ліофілізовані дріжджі)	Інулін	Florastor	Канада	[4]
NOW Saccharomyces Boulardii	<i>Saccharomyces boulardii</i>	Інулін (ФОС: фруктоолігосахариди) та гуарова камедь	Now Foods	США	[5]
Jarrow Formulas	<i>Saccharomyces boulardii</i>	Дріжджова фракція МОС (35 % маноолігосахаридів (<i>S. cerevisiae</i>))	Jarrow	США	[6]
Saccharomyces boulardii	<i>Saccharomyces boulardii</i>	Маноолігосахариди (МОС)	Swanson	США	[7]
Sacro-B	<i>Saccharomyces boulardii</i>	Рисові висівки	Thorne	США	[8]
Saccharomyces boulardii	<i>Saccharomyces boulardii</i>	Органічний інулін (фруктоолігосахарид) і гуарова камедь	Protocol for Life Balance	США	[9]

Створення дріжджових синбіотиків стає дедалі актуальнішим. Такі дріжджі та продукти, що утворюються при їх розвитку в організмі людини, дозволяють зміцнити здоров'я людини шляхом модуляції кишкової мікробіоти [10].

Розуміння механізмів їх комбінованої дії дозволить розробити нові шляхи та підходи для реалізації ефективних рішень у біотехнології та охороні здоров'я. Оскільки зростає інтерес до природних альтернатив традиційним добавкам і терапевтичним препаратам, дріжджові синбіотики є перспективними для вирішення сучасних проблем за допомогою інноваційних, екологічно чистих підходів.

Однак дріжджові синбіотики були досліджені обмежено, і це на жаль, враховуючи, що дріжджі здатні виробляти широкий спектр метаболічних сполук, які мають потенційну користь для здоров'я [11].

Saccharomyces cerevisiae spp. *boulardii* це непатогенний штам дріжджів, широко відомий завдяки своїм пробіотичним властивостям і терапевтичному потенціалу при різних шлунково-кишкових захворюваннях. Дослідження показали ефективність *S. boulardii* PTCC5269 у профілактиці та лікуванні шлунково-кишкових захворювань, включаючи діарею, спричинену прийомом антибіотиків, *Clostridium difficile* інфекція та гостра інфекційна діарея [12]. Крім того, *S. boulardii* було показано, що полегшує симптоми запального захворювання кишечника, синдрому подразненого кишечника та діареї мандрівників, що робить його універсальним терапевтичним засобом для здоров'я кишечника [13]. Дріжджі виділяють антимікробні пептиди та ферменти, які пригнічують ріст патогенних бактерій і відновлюють мікробний баланс у кишечнику [14]. Крім того, *S. boulardii* зміцнює кишковий епітеліальний бар'єр, сприяючи експресії білків щільного з'єднання та знижуючи кишкову проникність, тим самим запобігаючи бактеріальній транслокації та запаленню [15]. *S. boulardii* також синтезують похідні β -глюканів, які виявляють протизапальну активність, а поліаміни мають антиоксидантну дію, покращують бар'єрну функцію кишечника та сприяють апоптозу ракових клітин [16].

Серед метаболітів *S. boulardii* є поліаміни, органічні кислоти, ферменти, вітаміни та фенольні сполуки, які є потенційними постбіотиками. Що стосується внутрішньоклітинних компонентів, біоплівки, манопротеїни, β -глюкани та хітин мають потенційну користь для здоров'я [17].

1.1.1. Механізми дії пробіотичних штамів *S. cerevisiae*

Найбільш широко досліджені механізми дії пробіотичних дріжджів *S. boulardii* проти ентеропатогенів і розладів шлунково-кишкового тракту. Серед механізмів дії, які притаманні дріжджам з пробіотичною активністю, ми можемо виділити:

1. Зв'язування та знешкодження патогенних кишкові бактерії (*C. difficile*, *Escherichia coli*, *Vibrio cholera*, *Salmonella* і *Shigella* spp.) [18].

2. Індукують синтез імунних факторів (sIgA, фактора некрозу пухлини-альфа (TNF- α), інтерлейкіну (IL)-1 β , IL-5, IL-6, IL-10 та IL-12) [19].

Виділений з соку цукрової тростини *S. cerevisiae* UFMG A-905 також продемонстрував потенціал для використання як пробіотику, у тому числі більш високу стійкість до змодельованих стресів, ніж *S. boulardii*. У мишей, які отримували *S. cerevisiae* UFMG A-905 і пізніше інфіковані *C. typhimurium* і *C. difficile*, спостерігалися більш низькі рівні запалення в печінці та товстій кишці відповідно. Такі миші також мали нижчий рівень смертності, ніж контрольні миші, які заражались *C. typhimurium*.

S. cerevisiae UFMG A-905 показали адгезію до деяких ентеропатогенних бактерій, таких як *E. coli*, *S. typhi* і *C. typhimurium*, нейтралізуючи транслокацію останнього з ШКТ у печінку, селезінку та мезентеріальні лімфатичні вузли [20]. Ці пробіотичні дріжджі збільшували виробництво IL-10 і IgA у здорових мишей. У моделі мишачого черевного тифу, *S. cerevisiae* UFMG A-905 зменшив як запалення, так і рівні IL-6, TNF- α , IFN- γ та IL-10 завдяки модуляції сигнальних шляхів, відповідальних за експресію багатьох запальних цитокінів, таких як NF- κ B, AP-1 та шляхи MAPK [21].

S. cerevisiae 982 був виділений з сиру фета і має імуномодулююча активність у тонкій кишці мишей шляхом стимуляції секреції sIgA, TNF- α , IFN- γ , IL-5, IL-6, IL-10 та IL-12, залежних від toll-подібних рецепторів (TLR) -2, експресія TLR-4, TLR-6 і TLR-9. *S. cerevisiae* 982 сприяє відповіді Th1, в той час як штам *S. boulardii* KK1, виділений з фекалій дітей, сприяє відповіді Th2/Treg через нездатність останнього стимулювати секрецію IFN- γ та експресію TLR-4 і TLR-9. Інший штам *S. cerevisiae* LV02/CNCM I-3856 був здатний індукувати секрецію TNF- α та IL-10 у PBMC людини *in vitro* та знижувати рівень IL-6 у сироватці крові на моделі коліту миші [22]. У моделі *in vitro* з використанням лінії епітеліальних клітин свинячого кишечника (IPEC-1) і ентеротоксигенних

Лікування ентероколітів за допомогою штаму *S. cerevisiae* LV02/CNCM

I-3856 пригнічувало медіатори запалення IL-6 та IL-8, індуковані бактеріальною інфекцією. Цей пробіотичний штам модулював шлях MAPK і аглютинував кишкова паличка, таким чином сприяючи протизапальному фенотипу, що спостерігається. однак, *S. cerevisiae* LV02/CNCM I-3856 не запобігає порушенню цілісності бар'єру клітинного моношару IPEC-1, вказуючи на те, що він не діє на ентеротоксини кишкової палички [23].

S. cerevisiae Sc47, ветеринарний пробіотик, який широко використовується в годівлі тварин, також дотримується та нейтралізує кілька *Salmonella* spp. Кілька штамів *S. cerevisiae*, виділені з кефіру, показали потенціал для зменшення запальної відповіді на моделі епітеліальних клітин кишечника *in vitro* [24].

Загалом біологічну активність проявляють не лише живі клітини дріжджів. Наприклад, фрагменти клітинних стінок дріжджів також мають біологічну активність та можуть позитивно впливати на організм хазяїна.

Серед основних компонентів клітинних стінок дріжджів, що мають біологічну активність, ми можемо виділити [25]:

1. **β-Глюкани. Імуномодуюча дія** (β-глюкани активують імунну систему шляхом зв'язування з рецепторами на макрофагах, дендритних клітинах і нейтрофілах (наприклад, Dectin-1), це стимулює продукцію цитокінів (IL-6, TNF-α), посилюючи вроджений імунітет); **антиоксидантна активність** (β-глюкани можуть нейтралізувати вільні радикали, зменшуючи оксидативний стрес); **пробіотичний ефект** (сприяють росту корисних бактерій у кишечнику, діючи як пребіотики); **протизапальна дія** (допомагають зменшувати запальні процеси, наприклад, при захворюваннях кишечника).

2. **Манани (Мананолігосахариди, MOS). Пребіотична дія** (MOS слугують субстратом для корисних кишкових бактерій, таких як біфідобактерії, сприяючи їхньому росту); **антипатогенна дія** (манани здатні зв'язувати патогенні бактерії (наприклад, *Escherichia coli*, *Salmonella* spp.) у кишечнику, запобігаючи їх адгезії до слизової оболонки); **імуномодуляція** (стимулюють продукцію імуноглобулінів (IgA) у кишечнику, посилюючи місцевий імунітет); **Зниження**

холестерину (деякі дослідження показують, що манани можуть знижувати рівень холестерину в крові шляхом зв'язування з жовчаними кислотами).

3. **Хітин. Підтримка структури** (хітин менш активний порівняно з β -глюканами чи мананами, але його похідні (наприклад, хітозан) мають значний біологічний потенціал); **антимікробна дія** (хітозан, отриманий із хітину, демонструє антибактеріальні та протигрибкові властивості, що використовуються в біомедицині); **ранозагоювальні властивості** (хітозан сприяє регенерації тканин і використовується в медичних перев'язувальних матеріалах).

4. **Білки клітинної стінки. Антимікробна дія** (деякі білки, як маннопротеїни, можуть пригнічувати ріст патогенів); **адгезія** (білки сприяють адгезії дріжджів до слизових оболонок, що важливо для їхньої пробіотичної дії); **імуностимуляція** (глікопротеїни можуть активувати імунну відповідь через взаємодію з рецепторами імунних клітин).

Отже, ми можемо зробити висновок, що не лише клітини дріжджів можуть позитивно впливати на організм, а й компоненти клітинних стінок дріжджів, зокрема β -глюкани, манани, хітин і білки, мають широкий спектр біологічної активності, включаючи імуномодулюючу, пробіотичну, антимікробну та антиоксидантну дію. Найбільш вивченим є *Saccharomyces cerevisiae var. boulardii*, чий β -глюкани та манани мають доведену ефективність у лікуванні розладів кишечника. Інші дріжджі, як *Kluyveromyces marxianus* і *Yarrowia lipolytica*, також демонструють перспективні властивості, але потребують подальших досліджень.

1.1.2. Пробіотичні властивості дріжджів

Скринінг перспективних пробіотичних кандидатів може бути трудомістким і дорогим, але певні властивості виявилися корисними та дозволяють проводити початковий скринінг *in vitro*. Ці властивості поділяються на дві групи: функціональні та технологічні.

Серед функціональних характеристик можна виділити чотири основні властивості [26]:

- здатність виживати після доставки до органу-мішені;
- взаємодія з системами хазяїна;

- антипатогенні властивості;
- безпека.

Більшість пробіотиків приймаються перорально, таким чином вони повинні пережити транзит з рота до ШКТ. Це передбачає скринінг потенційних пробіотичних штамів на стійкість до умов навколишнього середовища всередині ШКТ (травні ферменти, шлункові та жовчні солі, рН та температура тіла хазяїна), здатність колонізувати поверхні слизової оболонки та здатність протистояти мікробіоті кишечника (здатність до ауто- та коагрегації, поверхнева гідрофобність та стійкість до антибіотиків) [27]. Пробіотичний штам також повинен бути видово ідентифікований, типований та протестований на безпеку (штам не може виробляти токсини, бути патогенним або мати небезпечну метаболічну активність) та повинен бути здатним вижити в процесі виробництва [28].

Технологічні особливості включають здатність легко виробляти велику кількість біомаси, стійкість до процедур консервування, таких як ліофілізація, з високим терміном зберігання готового продукту, генетичну стабільність та відсутність погіршення органолептичних характеристик кінцевих продуктів [29].

Сьогодні переважно розглядаються два представники дріжджів роду *Saccharomyces*: *S. cerevisiae* та *S. cerevisiae* var. *boulardii*. Таксономічне положення *S. cerevisiae* var. *boulardii* є дискусійним [30]. Сучасна література та Index Fungorum стверджують, що *S. cerevisiae* var. *boulardii* є не більше ніж різновидом *S. cerevisiae*, тісно пов'язаним зі штамми *S. cerevisiae* wine [31]. *S. cerevisiae* var. *boulardii* спочатку був описаний як окремий вид — *Saccharomyces boulardii*. Але наразі він класифікується як *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii*.

Незважаючи на деякі унікальні властивості, його не можна розглядати як окремий вид [32]. Існують відмінності між *S. cerevisiae* var. *boulardii* та *S. cerevisiae* на фізіологічному (тобто відсутність здатності використовувати галактозу як джерело вуглецю та відсутність здатності продукувати аскоспори) та молекулярному рівнях (тобто кількість індивідуальних копій хромосом та генів) [33].

Для пробіотичної дії *S. cerevisiae* var. *bouardii* є кілька механізмів (модуляція нормального мікробіому кишечника, антагонізм проти патогенів, адгезія до слизу, імуномодуляція та трофічний вплив на шлунково-кишковий тракт) [34].

S. cerevisiae var. *bouardii* допомагає відновити нормальну мікробіоту кишечника у пацієнтів після антибіотикотерапії або хірургічного втручання та може тимчасово замінювати природний мікробіом, доки він не відновиться. Серед різних способів антимікробної активності є секреція спеціальних білків, які розщеплюють мікробні токсини (наприклад, холерний токсин) або знижують рівень цАМФ, відповідальний за діарею, та здатність пригнічувати поверхневі ендотоксини *Escherichia coli* шляхом дефосфорилування.

Інші механізми включають стимуляцію вироблення імуноглобуліну А проти токсину А *Clostridium difficile*, деградацію токсину секретованою протеазою [35] та модуляцію вироблення цитокінів. *S. cerevisiae* var. *bouardii* зберігає цілісність ентероцитарного бар'єру, стимулюючи секрецію білків і може зменшувати або виключати взаємодію патогенів з клітинами кишкового епітелію, зв'язуючись безпосередньо з клітинами патогенів через залишки манози, яка міститься в клітинній стінці дріжджів [36].

Серед трофічних ефектів особливо варто виділити такі, як стимуляція мембрани щіткової облямівки; секреція травних ферментів, наприклад, сахарози-ізомальтази, мальтази-глюкоамілази, лактази-флоризингідролази, аланін-амінопептидази, лужної фосфатази та транспортерів поживних речовин (білки транспорту натрію-глюкози), які можуть бути індуковані поліамінами; та модуляція синтезу коротко- та розгалужених жирних кислот, які відіграють різні ролі у фізіологічних та біохімічних функціях різних тканин (кишечник, печінка, жирова тканина, м'язи та мозок) [37].

Протягом останніх років інтерес до теми нових дріжджів з потенційно пробіотичними властивостями зростає. Нові ізоляти були виділені з різних продуктів та середовищ, таких як фрукти та овочі, ферментовані харчові продукти та напої, промислові молочні відходи тощо. Нові ізоляти повинні мати всі властивості, необхідні для пробіотичного штаму, відповідати вимогам безпеки та

мати хороші виробничі властивості. Виділення різних видів з численних середовищ дозволяє відкривати нові пробіотичні штами з інноваційними біохімічними властивостями, наприклад, здатністю до позаклітинної секреції лактази, що може надати додаткову здатність перетравлювати сироватку, яка використовується як харчова добавка в кормах для тварин.

Нещодавні дослідження свідчать про те, що, окрім *S. cerevisiae* var. *bouardii*, інші види мають пробіотичні властивості, наприклад, *Kluyveromyces marxianus* та *Pichia kudriavzevii* [38].

Європейське агентство з безпеки харчових продуктів (EFSA) надало статус QPS (кваліфікованої презумпції безпеки) лише кільком дріжджам, які можуть бути використані як «харчова добавка»: *K. marxianus* var. *lactis* та *K. marxianus* var. *fragilis* [39].

Кілька досліджень, проведених на дріжджах, що не належать до *Saccharomyces*, продемонстрували наявність пробіотичного потенціалу, а саме *Debaryomyces hansenii*, отримані з сиру та рибних кишок. Під час дослідження штам DI 02 показав себе як найкращого кандидата на пробіотик через його здатність переживати стреси шлунково-кишкового тракту, адгезуватися до клітин Caco-2 та муцину та індукувати вищу протизапальну реакцію, ніж *S. cerevisiae* var. *bouardii*. Інший штам, DI 09, міцніше адгезувався до клітин Caco-2 та муцину. Два штами (DI 10 та DI 15) індукували вище співвідношення IL-10/IL-12, ніж штами *S. cerevisiae* var. *bouardii*, що вказує на вищу протизапальну дію на дендритні клітини людини [40].

Деякі дріжджі, виділені з ферментованих столових олив, такі як *Pichia guilliermondii* 25A та *Candida norvegica* 7A, мають пробіотичний потенціал завдяки своїй стійкості до умов модельованого травного тракту на подібному рівні, як і *S. cerevisiae* var. *bouardii*, референтний штам, використаний у дослідженні [41]. Гіл-Родрігес та ін. проаналізували 130 штамів дріжджів з колекції культур і виявили, що два штами *Schizosaccharomyces pombe* (IFI-936 та IFI-2180) демонструють високу здатність до розмноження в кишечнику хазяїна (хороший ріст при 37 °C, добра толерантність до умов шлунково-кишкового тракту та високий відсоток

аутоагрегації) та високу антиоксидантну активність [42]. В таблиці 1.2 наведено основні групи дріжджів та їхні пробіотичні властивості [43].

Таблиця 1.2

Поширені види дріжджів та їхні пробіотичні властивості

Види дріжджів	Пробіотичний ефект	Вплив на організм хазяїна	Використання
<i>Saccharomyces boulardii</i>	Антимікробна активність, відновлення кишкової флори, імуномодуляція	Лікує діарею, запобігає кишковим інфекціям (наприклад, <i>Clostridium difficile</i>), модулює імунну відповідь	Добавки для здоров'я кишечника, профілактики шлунково-кишкових інфекцій та підтримки імунітету
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Глікемічний контроль, імуномодуляція, антиоксидантні властивості	Покращує метаболічне здоров'я (лікування діабету), підтримує імунну функцію, зменшує оксидативний стрес	Добавки для лікування діабету, серцево-судинного здоров'я та покращення метаболічної функції
<i>Pichia kudriavzevii</i>	Зниження рівня холестерину, резистентність до жовчних солей	Знижує рівень холестерину, підтримує серцево-судинну систему, покращує травлення	Добавки, спрямовані на здоров'я серця та контроль рівня холестерину
<i>Kluyveromyces lactis</i>	Адгезія до кишечника, антимікробна дія	Підтримує здоров'я порожнини рота (зменшує кількість патогенів у ротовій порожнині), покращує травлення, модулює кишкову флору	Засоби для догляду за порожниною рота, добавки для здоров'я кишечника та зубів
<i>Debaryomyces hansenii</i>	Імунна модуляція, декон'югація жовчних солей	Зміцнює імунну функцію, запобігає шлунково-кишковим інфекціям, підтримує серцево-судинну систему	Пробіотики для підтримки імунної системи та серцево-судинної системи
<i>Issatchenkia orientalis</i>	стійкість до pH, толерантність до жовчі, пригнічення патогенів	Покращує травлення, полегшує симптоми алергії, підтримує здоров'я кишечника	Добавки для здоров'я кишечника, балансу імунної системи та профілактики алергії

Закінчення таблиці 1.2

<i>Wickerhamomyces anomalus</i>	Утворення біоплівки, антимікробна активність проти патогенів	Підтримує здоров'я ротової порожнини та кишечника, зменшує кількість патогенів у ротовій порожнині (наприклад, <i>Streptococcus mutans</i>), сприяє здоров'ю зубів	Пробіотичні добавки для здоров'я зубів, здоров'я кишечника та профілактики інфекцій ротової порожнини
---------------------------------	--	---	---

При пошуку перспективних продуцентів, які потенційно можуть бути пробіотиками, також звертають увагу на середовища, з яких їх можна виділяти. В таблиці 1.3 наведені приклади природніх середовищ, з яких їх виділили.

Таблиця 1.3

Нові потенційно пробіотичні штами дріжджів виділені з різних середовищ

Види	Штам	Походження	Посилання
<i>Candida orthopsilosis</i>	CCMA 1748	Натурально ферментовані столові оливки, Бразилія	[44]
<i>Candida tropicalis</i>	CCMA 1751	Натурально ферментовані столові оливки, Бразилія	[44]
<i>Debaryomyces hansenii</i>	CCMA 1761	Натурально ферментовані столові оливки, Бразилія	[44]
	DI02	Молочний ізолят, Данія	[40]
<i>Hanseniaspora osmophila</i>	1056, 1094	Харчова промисловість, YBL UCLM, Іспанія	[45]
<i>Kluyveromyces marxianus</i>	B0399	Сироватка, BCCM (номер реєстрації MUCL 41579)	[46]
<i>Lachancea thermotolerans</i>	B13	Мох на дубі, Італія	[47]
<i>Meyerozyma caribbica</i>	9D	Ананас, Бразилія	[48]
	CCMA 1758	Натурально ферментовані столові оливки, Бразилія	[44]
<i>Metschnikowia ziziphicola</i>	B27	Кора бука, Італія	[47]
<i>Pichia fermentans</i>	BY5	Сире молоко, Китай	[49]
<i>Pichia guilliermondii</i>	CCMA 1753	Натурально ферментовані столові оливки, Бразилія	[44]
<i>Pichia kudriavzevii</i>	BY10, BY 15	Сире молоко, Китай	[49]
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	3, 146	Харчова промисловість, YBL UCLM, Іспанія	[45]
	6, 7, 8, 10с, 2PV	Вино Вердіккьо, Італія	[47]

	АКР1	Харія (традиційна індійська страва), Індія	[50]
	ССМА 1746	Натурально ферментовані столові оливки, Бразилія	[44]
<i>Torulaspora delbrueckii</i>	35, 1.1t2, 7.3t2, с7.4, j401, tdvcsff	Сік цукрової тростини, Камерун	[47]
<i>Yarrowia lipolytica</i>	НУ4	Сире молоко, Китай	[49]

Отже, можна зробити висновки, що дослідження пробіотиків на основі пробіотичних дріжджів динамічно розвиваються. Нові дослідження показують широкий потенціал використання пробіотичних дріжджів та використання їх унікальних властивостей, яких немає у пробіотичних бактерій. Найвідоміші пробіотичні дріжджі, *S. cerevisiae* var. *boulardii*, були детально досліджені. Крім них існують інші дріжджі з потенційною пробіотичною активністю, але їх необхідно дослідити, оскільки інформація про них дуже обмежена. Ці дріжджі (з родів *Pichia*, *Hanseniaspora*, *Torulaspora*, *Metchnikowia* тощо), які виділені з харчових та нехарчових середовищ існування, є об'єктами інтенсивних досліджень у наш час, і існує реальна можливість ввести їх у різні види їжі не лише для процесів ферментації, але й для добавок як цінних поживних речовин з користю для здоров'я.

1.2. Застосування дріжджових біополімерів клітинних стінок як пребіотиків (компонентів синбіотиків)

Біополімери дріжджових клітинних стінок, такі як β -глюкан, манопротеїн і хітин, можуть служити життєздатними пребіотиками для синбіотиків. Завдяки своїй стабільності β -глюкан також є придатним кріопротектором для пробіотичних мікроорганізмів під час сублімаційного сушіння.

Компоненти клітинної стінки дріжджів мають потенціал як нові пребіотики при використанні з бактеріальними пробіотиками [50]. Полісахариди та глікопротеїни, з яких складається дріжджова клітинна стінка, є її основним будівельним матеріалом. Один із розповсюджених типів дріжджів, *S. cerevisiae*, має клітинну стінку з потенціалом для інкапсуляції товщиною 100–200 нм і складається з полімерів β -глюкану, які містять мономери глюкози, що містять β -1,3-глюкан і β -1,6-глюкан зв'язується разом, манан (полімер манози), який сполучається з білками, утворюючи манопротеїни, і невелику кількість хітину. Гідрофільне середовище та пористість клітини забезпечуються маннопротеїновим шаром на поверхні дріжджових клітин, а форма та стабільність клітинної стінки зберігаються β -глюканом. Хітин є речовиною, яка забезпечує внутрішній простір клітин з їх міцністю, жорсткістю та захистом, тоді як плазматична мембрана, вибірково проникна та складається з шару фосфоліпідного подвійного шару, також є частиною клітинної стінки.

Компоненти клітинної стінки дріжджів також можуть забезпечувати протекторну дію, тобто захищати клітини бактерій від вологи, підвищеної температури, світла, кисню та випаровування, забезпечуючи стабільність. Наприклад, β -глюкан з відпрацьованих клітин пивних дріжджів може захистити пробіотичні бактерії *Lactobacillus* після ліофільної сушки. Маннопротеїни та β -глюкани, витягнуті з дріжджових клітинних стінок, мають антиоксидантні властивості та підвищують окислювальну стабільність. Маннопротеїновий компонент, витягнутий із дріжджових клітинних стінок, стимулював ріст пробіотичних бактерій *L. plantarum* і *L. salivarius* у шлунково-кишкових рідинах і дозволяв їм колонізувати кишечник [51].

Хітин присутній у помірних кількостях разом із β -глюкановими полімерами та маннотейновими полімерами. Деацетилювання хітину дає хітозан, популярний матеріал для покриття. Перетворення хітину в хітозан робить полімер більш розчинним і придатним для використання. Хітозанове покриття може допомогти пробіотичним бактеріям вижити при зберіганні та травленні.

1.2.1. Структура та склад клітинної стінки дріжджів

Приблизно 15–20 % сухої маси дріжджової клітини складається з клітинної стінки. Товщина клітинної стінки дріжджів значно коливається від 70 до 200 нм. Товщина стінок дріжджових клітин збільшується у відповідь на осмотичний тиск. Клітинна стінка дріжджів є високополярною двошаровою матрицею та складається в основному з глікопротеїнів і полісахаридів. Вона має мережу β -1,3-глюкану, яка зшита з β -1,6-глюканом, маннотейновий шар і хітин [35].

β -глюкан є первинним полісахаридом клітинної стінки дріжджів, який складається з мережі β -1,6-глюкану, зшитого з β -1,3-глюканом, що покриває 50–60 % маси клітинної стінки та водневих зв'язків.

Маннотейни — це глікопротеїни, що складаються з полімерів маннану, які зв'язуються з білками за допомогою ковалентних зв'язків і складаються з 5–20 % білка та 80–90 % манози, з'єднаних зв'язками 1,6- α , які складають приблизно 40–50 % клітинної стінки дріжджів. Маннотейновий шар присутній не лише на поверхні, але й у більш глибоких шарах, захищаючи глюкан від зовнішніх перешкод і створюючи гідрофільне середовище. Іншою домінуючою сполукою клітинної стінки дріжджів є хітин, лінійний полісахарид, що складається з 1,4-2-ацетамідо-2-дезоксид-глюкопіранози. Хітин є важливим компонентом клітинної стінки, незважаючи на його присутність у невеликих кількостях у клітинних залишках (1–3% основної маси клітинної стінки).

Жорсткість і стабільність клітинної стінки пояснюється β -1,3-глюканом і хітином. Тим часом ковалентний зв'язок між маннотейном і глюкановим шаром сприяє пористості клітинної стінки, а також сприяє адгезивній здатності дріжджових клітин. Глікопротеїновий компонент міцно включений у структуру полісахаридів, необхідних для основних клітинних процесів, таких як підтримка

клітинної морфології, захист клітин від чужорідних речовин, передача внутрішньоклітинних сигналів, а також синтез і ремоделювання інших компонентів клітинної стінки. Більшість дріжджових клітинних стінок є гідрофільними, що обмежує дифузію гідрофобних молекул у клітину. Компоненти клітинних стінок дріжджів також сприяють механічній міцності клітини, впливають на інкапсульовані внутрішні сполуки, дозволяючи полярним і неполярним сполукам з молекулярною масою до 760 Да вільно дифундувати [38].

1.2.2. Особливості одержання компонентів клітинних стінок дріжджів

Для отримання компонентів β -глюкану, манопротеїну та хітину для використання їх, як пребіотиків – основи синбіотиків, необхідна попередня обробка клітин дріжджів. Процес включає дві основні стадії: лізис дріжджових клітин і вилучення компонентів із клітинної стінки. Клітинна стінка містить β -глюкан, манопротеїн і хітин; отже, необхідний лізис дріжджових клітин, щоб відокремити клітинну стінку від цитоплазми перед вилученням компонентів.

Методи лізису дріжджових клітин можна класифікувати на механічні та немеханічні (електричні, фізичні, хімічні та ферментативні). Механічні методи зазвичай використовуються для великомасштабного промислового руйнування клітин, такі як бісерні млини, гомогенізація під високим тиском (HPH) і ультразвукова обробка (US) [40]. Однак немеханічні методи є більш селективними та м'якими та зазвичай використовуються в лабораторних масштабах через експлуатаційні та економічні обмеження. Бісерний млин є ефективним механічним способом руйнування клітинних стінок дріжджів, але він вимагає інтенсивного охолодження та енергії. Він також має потенціал для знищення білка, який шукали, але його ефективність у знищенні клітин обмежена впливом зерен або лопатей і підвищеними витратами на процес очищення [51]. Гомогенізатори високого тиску можуть бути застосовані для пошкодження клітин дріжджів шляхом підвищення тиску клітинної суспензії та його подальшого випуску через спеціально розроблений регульований клапан. Ультразвукова обробка - це ще один метод механічного пошкодження клітин, який спирається на великі сили зсуву, створені за допомогою високочастотного ультразвуку [52].

До немеханічних методів належать електричні, ферментативні, хімічні та фізичні. Електричні методи передбачають пошкодження клітин шляхом застосування електричного поля, а фізичні — декомпресію, осмотичний шок і термоліз. Імпульсне електричне поле (PEF) є ефективним методом знищення мікробіологічних клітин шляхом контролю електричних параметрів, таких як напруга, час лікування та енергія. Декомпресія відбувається, коли газ під тиском викликає порушення в клітині, тоді як осмотичний шок і термоліз включають розбавлену суспензію клітин після досягнення рівноваги під високим осмотичним тиском і термічною обробкою. Хімічні та біохімічні методи включають використання хімічних речовин або ферментів під час процесу руйнування клітин. Клітини дріжджів можна лізувати за допомогою NaOH, HCl, оцтової кислоти, лимонної кислоти, поверхнево-активних речовин, миючих засобів або інших агресивних хімічних розчинів. Ферментативні методи поділяють дріжджові клітини на процеси автолізу та гідролізу.

Автоліз дріжджових клітин за допомогою ендогенних ферментів є процесом деградації, який запускається активацією дріжджових внутрішньоклітинних ферментів. Цей процес починається з дезорганізації біологічних мембран, викликаної загибеллю клітин, що призводить до зниження активності дихальних ферментів і прискореної активації гідролітичних ферментів. Ферменти глюканази та протеїнази руйнують клітинну стінку, в результаті чого вона стає пористою та конусоподібною, викликаючи вивільнення внутрішньоклітинних сполук у навколишнє середовище. Клітинна стінка дріжджів звужується під час автолізу, вивільняючи білки великої, середньої та крихітної молекулярної маси, довголанцюгові та коротколанцюгові жирні кислоти та полісахариди через пасивний перенос. Ефекти внутрішньоклітинних ферментів, таких як протеази та нуклеази, також викликають гідроліз внутрішньоклітинних сполук, уможливорюючи вивільнення продуктів розкладання [50].

Крім аутолізу, дріжджові клітини також піддаються лізису певними літичними ферментами. Ферментативний гідроліз може здійснюватися або мікробними ферментами, або іншими екзогенними протеолітичними ферментами клітинної стінки. Ферменти комерційно доступні за доступними цінами, а найбільш

ефективні ферменти для лізису клітинної стінки дріжджів включають зимоліазу, лізоцим, глікозидазу, глюканазу, пептидазу та ліпазу.

Після лізису дріжджових клітинних стінок метод попередньої обробки був продовжений для вилучення компонентів дріжджових клітинних стінок (табл. 1.4). Стінки дріжджових клітин розчиняли в дистильованій воді та центрифугували для відновлення; потім його тричі промивали і двічі екстрагували фосфорною кислотою. Нерозчинний залишок ресуспендували в дистильованій воді та декантували водою, доки рН не досягло 7 і отримало 13,5% β -глюкану. Тим часом деякі методи можна комбінувати для отримання більш високого виходу та чистоти β -глюкану. Комбінація термолізу та обробки ультразвуком може давати до 14% β -глюкану, тоді як покращення за допомогою протеази та сушіння розпиленням дає 11,2% β -глюкану з пивоварні з чистотою до 93%.

Таблиця 1.4

Процеси виділення дріжджових клітинних стінок

Продуцент	Процеси видобутку	Результати	Посилання
Клітинні стінки дріжджів <i>S. cerevisiae</i>	Стінки дріжджових клітин екстрагували NaOH, розчиняли в дистильованій воді та збирали центрифугуванням. Нерозчинний матеріал виділяли, тричі промивали і двічі екстрагували фосфорною кислотою. Нерозчинний залишок, що представляє β -d-глюкан клітинної стінки, відокремлювали, ресуспендували в дистильованій воді та декантували водою до рН 7.	(1 $\rightarrow$ 3)- β -d-глюкан з виходом 13,5 %	[50]

<i>S. cerevisiae</i>	Експозиція дріжджових клітин гарячою водою (автоклавування), термічно індукований автоліз, гомогенізація в бісерному млині, ультразвукова обробка та їх комбінації.	13–14% $\beta(1,3)/(1,6)$ -глюканів	[50]
Суспензія відпрацьованих пивних дріжджів (<i>S. cerevisiae</i>), побічний продукт пивоваріння з 18% твердих речовин	Попереднє очищення, індукований автоліз, обробка гарячою водою, гомогенізація, обробка органічним розчинником, обробка протеазою та сушіння розпиленням.	β -d-глюкан з чистотою 93% і виходом 11,2%	[51]
<i>S. cerevisiae</i> K48L3, K48L4, YPH499	Маннопротеїни виділяли та екстрагували за допомогою SDS та ламінаринази. Клітини пізньої логарифмічної фази збирали, двічі промивали та розщеплювали 1200 одиницями глюканази протягом 3 годин. Екстракт центрифугували, і екстраговані глюканазою маннопротеїни очищали за допомогою іонообмінної та афінної хроматографії.	725–2255 мкг маннопротеїну/100 мг сухої маси дріжджів	[52]

<i>K. marxianus</i>	Осад дріжджових клітин ресуспендували в буферному розчині, промивали оцтовою кислотою і випадали в осад. Супернатант інкубували протягом ночі та центрифугували. Гексадецилтриметиламоній бромід використовували для селективного осадження та очищення манопротейну. Потім осад діалізували проти деіонізованої води протягом 48 годин.	8,42 ± 0,06% сирого манопротейну	[53]
<i>S. uvarum</i>	Нерозчинний матеріал із суспензії автолізованих пивних дріжджів розбавляли, нагрівали та тричі промивали дистильованою водою. Були проведені ультразвукова обробка, екстракція ліпідів і протеоліз, а нерозчинний залишок промивали п'ять разів. Маннопротеїн осаджували, промивали, діалізували та ліофілізували.	4,16 % вихід манопротейну	[54]
<i>S. cerevisiae</i> W301-1A	Клітинні стінки ліофілізували і піддавали лужній і кислотній екстракції. Після центрифугування екстракти збирали та використовували для наступних етапів. Потім зразки ресуспендували в HCl, нейтралізували NaOH, діалізували та ліофілізували.	2,4% хітину	[55]

У процесі виділення та екстракції манопротейнів використовували ламінаризу та деодецилсульфат натрію. Клітини двічі промивали, а потім розщеплювали 1200 одиницями глюканази протягом трьох годин, а потім центрифугували, щоб отримати $\pm 7,25\%$ манопротейну. Гексадецилтриметиламоній бромід можна використовувати для осадження та очищення манопротейну; потім осад діалізували проти деіонізованої води протягом 48 годин для підвищення виходу манопротейну до $8,42\%$. Іншим біополімером, що міститься в дріжджових клітинних стінках, є хітин, який можна екстрагувати центрифугуванням після хемолізу; екстракти ресуспендували в HCl, нейтралізували NaOH, діалізували та ліофілізували з отриманням $2,4\%$ хітину [52].

Екстракція β -глюкану. Першим важливим кроком у процесі екстракції β -глюкану є підготовка клітинної стінки, оскільки β -глюкан знаходиться в ній. З цієї причини необхідний лізис або руйнування клітини, щоб цитоплазма витікала назовні й утворювалася чиста клітинна стінка. Екстракція β -глюкану здійснюється після того, як клітини дріжджів були лізовані або пошкоджені, а цитоплазма була звільнена. Лізис дріжджових клітин досягається за допомогою фізичних (обробка ультразвуком і гомогенізація), хімічних (луг і кислота) та/або ферментативних (літичні ферменти та глюканаза) процедур. Маннопротеїнові сполуки, а потім ліпіди та білки видаляються, в результаті чого утворюються різні фракції чистого β -глюкану.

β -глюкан із дріжджових клітинних стінок екстрагували різними методами екстракції та очищення. Ферментативний лізис дріжджових клітинних стінок вивільняє розчинну цитоплазму для центрифугування у вигляді супернатанту без агресивних хімічних речовин. Обробку ультразвуком проводили для руйнування дріжджової клітинної стінки та вилучення вмісту ліпідів і білків для отримання чистого β -глюкану. Екстракція β -глюкану також може бути здійснена з відпрацьованих пивних дріжджів, які є побічним продуктом спиртового бродіння [51].

Екстракція маннопротеїну. Маннопротеїн є другим найважливішим компонентом дріжджової клітинної стінки (40% , мас./мас.), який складається з глікопротеїну з $50-95\%$ полісахаридів. Дріжджовий білок багатий важливими

амінокислотами лізином, триптофаном і цистеїном, що робить його більш поживним, ніж інші рослинні білки. Маннопротеїни можуть бути нековалентно зв'язаними, ковалентно зв'язаними або дисульфідно зв'язаними з білками клітинної стінки, які ковалентно зв'язані зі структурами глюкану. Лужно-чутливі білки клітинної стінки (Pir-CWP) і глікозилфосфат-дилінозитол-CWP (GPI-CWP) є маннопротеїнами з ковалентним зв'язком, причому GPI CWP є основним класом білків дріжджових клітинних стінок.

Екстракція маннопротеїну за допомогою термічної обробки з використанням додецилсульфату натрію дала менші кількості, ніж ферментативна обробка без глікозильованого білка. Ферментативний метод з використанням ферменту Zymolyase дав найвищий вихід, найвищий вміст маннопротеїну та найвище співвідношення манану до білка. Ферментативний метод із застосуванням ферменту Zymolyase базується на гідролітичній активності β -глюканази для гідролізу β -глюкану, відкриваючи структуру клітинної стінки дріжджів, а потім ефективно вивільняючи маннопротеїн [52].

Вилучення хітину. Хітин - це великий полісахарид з кристалами азоту, виготовлений з N-ацетил-D-глюкозаміну. Як другий за поширеністю полісахарид після целюлози, хітин є основним структурним компонентом екзоскелетів грибів, комах і ракоподібних. β -(1,4)-зв'язані одиниці DN-ацетилглюкозаміну (GlcN) і N-глюкозаміну (Glc-NAc) утворюють лінійний біополімер хітину. Часткове деацетилювання N-ацетил-D-глюкозаміну до D-глюкозаміну перетворює хітин у хітозан.

На відміну від целюлози, яка була ретельно вивчена, хітин використовується недостатньо, незважаючи на його велику кількість і можливі майбутні використання. Високочистий хітин потребує видалення певних забруднень, таких як білки та мінерали, які зв'язуються з хітином біомаси. Екстракція хітину з дріжджової клітинної стінки може бути виконана шляхом механічного лізису дріжджових клітин за допомогою гомогенізатора з наступною лужною та кислотною екстракцією [53].

Розділення та очищення дріжджових клітинних стінок. Важливі біополімери, знайдені в дріжджових клітинних стінках, такі як маннопротеїн, хітин

і β -глюкан, мають широкий спектр використання в різних сферах, включаючи їжу, медицину та нанотехнології. Для ефективного використання цих біополімерів необхідні методи поділу та очищення. Деякі методи поділу та очищення руйнували та розсіювали біополімери дріжджових клітинних стінок, такі як β -D-глюкани в супернатанті, що значно вплинуло на його біологічну функцію [54].

Деякі методи, які використовуються для розділення та очищення біополімерів дріжджових клітинних стінок, представлені в таблиці 1.5. Можна побачити, що аніонообмінна хроматографія діетиламіноетил (DEAE) є кращим методом для розділення та очищення біополімерів клітинної стінки дріжджів, що призводить до більш високого виходу β -глюкану, тоді як хроматографія конканаваліну-A може бути альтернативою для підвищення чистоти на основі отримане співвідношення глюкан/манан. Тим часом афінна хроматографія з використанням колонки HiTrap Con A 4B відокремила маннопротеїни від неглікозильованих білків. Одним із підходів, який поєднувався з іншими, було використання Зимолязи. Маннопротеїни, які були виділені після обробки Zymolyase[®], очищали на колонці афінної хроматографії з сефарозою Concanavalin-A з використанням очисної системи КТА (GE Healthcare, США). Ці методи також супроводжувалися діалізом для підвищення чистоти хітину [55].

Методи розділення та очищення біополімерів клітинної стінки дріжджів [55]

Продукти	Методи	Вихід продукту	Інші результати
<i>S. cerevisiae</i>	DEAE хроматографія	10,36% β -глюкан	Білок (0,004%) Вуглеводи (0,090%) Глюкоза (0,022%) Маноза (0,069%)
<i>S. cerevisiae</i>	DEAE хроматографія	13,00% β -глюкан	Білок (0,3%) Співвідношення глюкан/маннан (30/70)
<i>S. cerevisiae</i>	Конканавалін-А хроматографія	0,32% β -глюкан	Глюкоза (0,014%) Маноза (0,000%)
<i>S. cerevisiae</i>	Конканавалін-А хроматографія	4,00% β -глюкан	Співвідношення глюкан/маннан (100/0)
Пекарські дріжджі <i>S.</i> <i>cerevisiae</i>	Екстракція SDS з подальшою хроматографією на конканаваліні- А	0,98% Маннопротеїн	Співвідношення манан/протеїн (31/100)
<i>Saccharomyces</i> <i>cerevisiae</i>	Зимолаза з подальшою хроматографією на конканаваліні- А та діалізом	127,4 $\pm$ 3,2 мкг/мг β -глюкан 6,2 $\pm$ 0,55% хітин	Маннан (93,3 $\pm$ 3,2 мкг/мг)

1.2.3. Біологічна сумісність біополімерів із дріжджових клітинних стінок

Вибір відповідних пребіотиків для синбіотиків дуже важливий для того, щоб зберегти безпечність, стабільність і властивості отриманих продуктів. З цих причин було розроблено багато загальних критеріїв для вибору пребіотиків як компонентів синбіотиків. При виборі пребіотиків необхідно враховувати кілька факторів:

- фізико-хімічні властивості (хімічний склад, морфологія, механічна міцність і стабільність у шлунково-кишковому тракті);
- токсикологічний тест;
- процеси виробництва та стерилізації;
- механізм випуску;
- функціональні властивості інгредієнтів у кінцевому продукті [56].

Біополімери клітинної стінки дріжджів мають деякі потенційні характеристики. Що стосується хімічних властивостей, β -глюкан із дріжджових клітинних стінок нагадує стільникову структуру, демонструючи механічну міцність, тоді як хітозан має кращу захисну здатність завдяки своїй великій молекулярній масі. Термічна стабільність дріжджових клітинних стінок була показана до 265 °C, а β -глюкановий інкапсулятор виявляв меншу чутливість до термічної обробки. β -глюкан також може відігравати роль кріопротектора, який підтримує життєздатність пробіотиків і посилює захист і прикріплення клітин (таблиця 1.6).

Усі біополімери клітинної стінки дріжджів є нетоксичними речовинами та визнані GRAS, у той час як було встановлено, що хітин має дуже хорошу біосумісність та здатність до біодеградації, а також характерну катіонну дію. Корисність біополімерів клітинної стінки дріжджів була доведена, оскільки манопротеїн продемонстрував свою здатність пригнічувати колонізацію бактерій у кишечнику та регулювати адгезію, тоді як хітин продемонстрував свою здатність взаємодіяти з іншими молекулами для посилення його біологічної активності [55].

Властивості біополімерів дріжджових клітинних стінок [55]

Характеристики	Опис
<i>Механічна міцність</i>	Структура β -глюкану нагадує стільники, тому пробіотичні клітини легше захоплюються.
	Хітозан з більшою молекулярною масою створює мембрану мікрокапсули, яка є більш товстою і, таким чином, краще захищає пробіотичні бактерії.
<i>Термостабільність</i>	Інкапсульовані пробіотичні клітини з β -глюканом виживали при 55 °C протягом 10 хв; однак при підвищенні температури вони були менш чутливі до тепла, ніж вільні пробіотичні клітини. При нагріванні від 55 °C до 75 °C протягом 10 хвилин вільні пробіотики становили від 7,01 до 1,01 log КУО/г, від 6,15 до 0,96 і від 6,15 до 0,99 відповідно.
<i>Кріопротектор</i>	β -глюкан, екстрагований із відпрацьованих пивних дріжджів <i>S. uvarum</i> , є хорошим кріопротектором для 120-денних ліофілізованих пробіотичних культур із меншим зниженням життєздатності. Усі штами β -глюкану зберігали активність пробіотиків протягом понад 60 днів.
<i>Захист</i>	β -глюкан забезпечує захист завдяки високій полімеризації, присутності гідроксильних груп і прикріпленню до клітин.
<i>Нетоксичний</i>	Хітин нетоксичний, має відмінні катіонні властивості, є високобіологічно сумісним і біорозкладаним.
<i>Загальновизнано безпечним</i>	Дріжджові клітини є чудовими та новими потенційними матеріалами для інкапсуляції для харчової промисловості через їх статус GRAS, природу та низьку вартість.
<i>Антипатогенний</i>	Маннопротеїн зменшує колонізацію ентеропатогенних бактерій у кишечнику шляхом зв'язування лектинів з рецепторами D-манози.

Адгезія	Маннопротеїн впливає на пористість клітинної стінки, щоб регулювати вхід і вихід макромолекул у навколишнє середовище та з нього, що має глибокий вплив на здатність мікробів до адгезії.
	Кислотний гідроліз термічно екстрагованих маннопротеїнів знижує здатність прилипання до клітин Caco-2.
Функціональність	Протонування аміногрупи хітину збільшує розчинність, дозволяючи взаємодіяти з іншими молекулами, і виявляє різні біологічні ефекти, включаючи антибактеріальну, протигрибкову, протизапальну та ракову активність.

Клітинні стінки дріжджів також можна використовувати як інкапсуляційні матеріали завдяки своїм складовим компонентам, які підкреслюють їхній потенціал як хороших матеріалів для покриття і які будуть додатково виконувати роль пребіотиків.

1.2.4. β -глюкан як пребіотичний інкапсулятор

Завдяки своїй унікальній стільниковій структурі, на відміну від інших полісахаридів, β -глюкан може бути використаний як інкапсулятор. Завдяки цій особливості пробіотики легко затримуються в тканинних структурах [58]. Валоризація β -глюкану, вилученого з ячменю, для інкапсуляції пробіотичних бактерій *L. plantarum*, *L. casei* та *L. brevis* за допомогою методів емульгування показала значне покращення толерантності до стресів, таких як низький pH, теплова обробка, імітація кишкових умов і зберігання.

Вимірювання за допомогою скануючої електронної мікроскопії (SEM) демонструють, що β -глюкан має непошкоджену структуру клітинної стінки, що нагадує соти з шорсткою поверхнею та великим діаметром отворів. Внутрішня структура, схожа на стільники, а також властивості проти розтріскування та компактності поверхні можуть допомогти β -глюкану протистояти механічним навантаженням і захистити захоплені компоненти від несприятливих умов,

включаючи окислення, світло, низький або високий рН. Мікрофотографії SEM застосування β -глюкану як пребіотичного інкапсулятора показують, що кілька бактеріальних клітин були випадковим чином розподілені по всій матриці. Мікрокапсуляція з використанням техніки сублімаційної сушки призвела до часткового руйнування структури стінок β -d-глюкану, і бактеріальні клітини були випадковим чином розподілені в матриці [59].

Інкапсульовані в таких пребіотиках клітини виживали при 55 °C протягом 10 хв; однак при підвищенні температури вони були менш чутливі до тепла. Термічна стійкість клітин *L. casei*, *L. acidophilus* і *B. bifidum*, інкапсульованих β -глюканом і нагрітих при 60 °C протягом 10 хв, збільшилася на 23,04–45,33%, 32,72–39,19% і 23,20–50,35% відповідно. β -глюкан може захистити клітини в своїй матриці від небезпечних зовнішніх обставин. β -глюкан із відпрацьованих пивних дріжджів, *Saccharomyces uvarum*, може захистити пробіотичні бактерії *L. acidophilus* і *L. plantarum* краще, ніж фруктоолігосахариди/FOS. β -глюкан і ФОС є хорошими кріопротекторами для 120-денних ліофілізованих пробіотичних культур із меншим зниженням життєздатності (1–3 логарифмічні цикли), ніж сольовий розчин (4 логарифмічні цикли) [60].

β -глюкан і фруктоолігосахарид є кріопротекторами з однаковими здібностями захисту навколишнього середовища завдяки їх генотипу та складу клітинної стінки. Вважається, що захист, який забезпечує β -глюкан, пов'язаний зі ступенем полімеризації β -глюкану, який є високим (>100), а також наявністю кількох гідроксильних груп у його структурі. Гідроксильні групи відновлюють воду та стабілізують мембрану, зберігаючи біологічну структуру в тому ж стані, що й до сублімаційної сушки. Вуглеводні полімери є найкращими захисниками, оскільки вони дозволяють пробіотичним клітинам розміщуватися між простором і поверхнею розташування молекул біополімеру, подібно до стільникової структури β -глюкану, тому пробіотичні клітини легше захоплюються [61].

1.2.5. Маннопротеїн як пребіотичний інкапсулянт

Внутрішня плазматична мембрана та жорстка структура дріжджових клітин роблять дріжджові клітини відповідним матеріалом для інкапсуляції, де

маннопротеїн сприяє пористості під час інкапсуляції [38]. Маннопротеїни, високоглікозильовані глікопротеїни у зовнішньому шарі дріжджової клітинної стінки, ковалентно зв'язані з аморфною β -1,3-глюкановою матрицею. Ковалентний зв'язок маннопротеїну з β -глюканом регулює пористість дріжджової клітинної стінки, регулюючи вхід і вихід макромолекул, а також адгезію клітини [41].

Адгезія до клітин кишківника є бажаною властивістю пробіотиків у шлунково-кишковому тракті через їх потенційну користь для здоров'я кишечника. Метод екстракції маннопротеїну та наявність манози у фракції вплинули на ефективність екстракту щодо адгезії бактеріальних клітин та інвазії клітин Caco-2. Маннопротеїни, отримані з термічно екстрагованих дріжджів, мали найвищу здатність пригнічувати інвазію клітин Caco-2; тим часом маннопротеїни, отримані з термічно екстрагованих дріжджів, які піддаються кислотному гідролізу, знижують адгезію до клітин Caco-2, що підтверджує збільшення присутності активних мономерів манози, які конкурують за адгезію. Вуглеводи на основі манози також можуть пригнічувати колонізацію ентеропатогенних бактерій, оскільки бактеріальні лектини зв'язуються з рецепторами, що містять D-маннозу [62].

Застосування екстракту маннопротеїну в молочнокислих бактеріях значно збільшило адгезію *L. plantarum*, *L. salivarius* і *E. faecium* до клітин Caco-2, але зменшило адгезію *L. casei* і *P. damnosus*, що свідчить про те, що білкова частина важливий маннопротеїн. Антиадгезивні властивості маннопротеїнів пов'язані з фракцією манози, оскільки на прикріплення бактерій до кишкових клітин впливає зв'язування бактеріальних лектинів із клітинними рецепторами, що містять D-маннозу. Адгезія *L. plantarum* і *L. acidophilus* була сильно пригнічена присутністю D-маннози, вважається, що в цьому також беруть участь кілька білків на поверхні клітин [63].

1.2.6. Хітин як пребіотичний інкапсулятор

Хітин є природним полімером, який міститься в грибах, зелених водоростях, кутикулах комах, раковинах крабів і креветок і дріжджових клітинних стінках, тоді як хітозан присутній виключно в окремих грибах. Хітозан, комерційно важливий біополімер, можна отримати з хітину через процес часткового деацетилювання

азоту при температурах від 60 до 80 °C з використанням 50 % мас. /мас. лугу. Деацетилювання та молярна маса впливають на властивості та використання хітозану. Хітозан з більшою молекулярною масою створює більш товсту мембрану мікрокапсули та зберігає пробіотичні бактерії краще, ніж вільні клітини та низькомолекулярний хітозан. Гомогенні або гетерогенні умови деацетилювання впливають на мікроструктуру хітозану, розчинність і доставку ліків або їжі [64].

Деацетилювання визначає кількість вільних аміногруп у хітозані, що робить його розчинним у розведених кислотних розчинах. Наявність аміногруп, які утворюють позитивно заряджену поверхню, і гідроксильних груп, які представляють негативний заряд, визначає функціональність хітозану. Аміногрупа легко пропонується, що підвищує розчинність хітозану у водних кислотних розчинах. Таким чином, хітозан може взаємодіяти з іншими молекулами в розчині та виявляти широкий біологічний ефект, включаючи антибактеріальну, протигрибкову, протизапальну та протиракову активність, а також здатність зв'язувати жир, утворювати плівку, антиоксидантну та хелатну здатність; отже, хітозан широко використовується. Крім того, основними перевагами хітозану як інкапсулятора є його унікальний катіонний характер, висока біосумісність і біодеградація, а також нетоксичність; таким чином, він отримав велику увагу як потенційний інкапсулятор, який можна використовувати в мікрокапсуляції пробіотиків [65].

Існують проблеми з хітозаном, коли він використовується як покриття, де хітозан демонструє інгібуючу дію на бактерії, такі як *L. lactis*. Однак завдяки своїй катіонній природі та здатності виживати в кислому середовищі хітозан залишається найбільш широко використовуваним матеріалом покриття для захисту пробіотиків, які широко використовуються для покриття інших негативно заряджених покриттів для зміцнення мікрокапсул, але не самої капсули.

Було виявлено, що хітозан складається з альгінату, коли він використовується як пребіотичний інкапсулятор через деякі недоліки альгінату, такі як чутливість, яка може розкладатися в кислих умовах [66]. Формулювання альгінатних кульок із хітозаном утворює реакцію комплексоутворення та створює корисні властивості для інкапсуляції пробіотиків, такі як зменшення пористості

альгінатних кульок, зменшення витоку в мікрокапсулі, стабільність у різних діапазонах рН та знижений вплив кисню на пробіотики, таким чином підвищуючи їх стабільність за несприятливих умов. Природа негативного заряду альгінату при контакті з позитивним зарядом хітозану з іонними зв'язками утворює напівпроникну мембрану; отже, отримана капсула має більш гладку поверхню зі зниженою проникністю для водорозчинних молекул.

1.2.7. Роль біополімерів дріжджових клітинних стінок як пребіотичних інкапсулянтів

Було представлено деякі застосування біополімерів дріжджових клітинних стінок як пребіотичних інкапсулянтів (табл. 1.7). Інкапсуляція дріжджової клітинної стінки та використання альгінату кальцію для обгортання мікрочастинок пробіотичних бактерій призвели до захисної здатності, яка доставляє життєздатні пробіотики до товстої кишки, і особливо підвищила толерантність *L. acidophilus* до кислоти. Показано, що після змішування пробіотиків зі стінками клітин дріжджів у фізіологічному розчині, оптимізованому за допомогою перемішування та орбітальної мішалки для інкапсуляції, виживання пробіотиків збільшується. Тим часом препарат β -глюкану з дріжджів, змішаний із клітинними суспензіями та ліофілізований, продемонстрував подібну захисну дію з фруктоолігосахаридами, яка також могла діяти як потенційні пребіотики. Інші дослідження продемонстрували потенціал хітозану підвищувати стійкість до симуляції шлункових і кишкових рідин. Незважаючи на те, що певна оптимізація та поєднання методології все ще потрібні, деякі застосування біополімерів дріжджових клітинних стінок як інкапсулянтів показали певний потенціал.

Окрім використання неушкоджених клітин дріжджів для інкапсуляції, сама клітинна стінка дріжджів може використовуватися як мікрокапсула. Деякі програми використовували дріжджові клітинні стінки шляхом фізичного розпаду, і більші пробіотичні бактерії були інкапсульовані в них. Пробіотичні бактерії *L. acidophilus* і *B. bifidum* були інкапсульовані трьома шарами покриття, емульгованого альгінату кальцію. Клітинні стінки *S. cerevisiae*, повторно вкриті шаром альгінату кальцію, сприяють виживанню пробіотичних бактерій у

моделюваному шлунковому соку на 4–7% з життєздатністю понад 10^7 КУО/г після 2 годин моделювання; тим часом, вільні пробіотичні бактерії мали найбільше логарифмічне зниження [67]. *L. acidophilus*, покритий клітинною стінкою *S. cerevisiae*, був більш стійким до ШКТ, ніж інші види лікування. Клітинна стінка дріжджів уповільнює всмоктування шлункового соку в мікрокапсулу. Однак для *B. bifidum* значення логарифму зниження для одно-, дво- та тришарових мікрокапсул не відрізнялися суттєво, особливо коли рН нижче 1,55, оскільки вони чутливі до кислоти та потребують більшого захисту [68].

Ефективність β -глюкану в інкапсуляції пробіотичних бактерій *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus brevis* і *Lactobacillus plantarum* моделюється в шлунково-кишкових умовах. Стабільність β -глюкану при низькому рН і відсутність гідролізуючих ферментів у передній травній системі підтверджують ці результати [69]. Повідомлялося також про кращу життєздатність клітин завдяки ендогенному виробленню β -глюкану *L. paracasei* у симульованому кишковому соку. β -глюкан підтримує стійкість клітинної стінки, запобігаючи взаємодії клітин із солями жовчних кислот, характеристики яких зазвичай зустрічаються в інкапсулянтах на основі олігосахаридів. При безпосередньому впливі імітованого кишкового соку інкапсульовані бактеріальні клітини вивільнялися з матриці β -d-глюкану через 25 хвилин, що вказувало на те, що β -d-глюкан забезпечує захист від пробіотиків, оскільки його стабільність при низькому рН також може запобігти ранньому вивільненню бактерій [70].

Індекс набухання (%) є важливим параметром, який визначає здатність матриці інкапсуляції підтримувати пробіотичні клітини під час проходження через шлунково-кишковий тракт. Чим вище значення індексу набухання, тим більший опір, який надає інкапсуляційний матеріал клітинам з покриттям, так що час вивільнення може бути відкладено. β -d-глюкан, що складається з β -(1,4)-зв'язків, є гнучким і здатним до міжланцюгової агрегації шляхом утворення зон з'єднання, тим самим знижуючи розчинність. Індекс набухання мікрокапсул β -d-глюкану був найвищим при рН шлунка 3 і 4; тим часом при рН 6,5, що є діапазоном рН тонкої кишки, мікрокапсули β -d-глюкану розпалися зі зменшенням індексу набухання. Можна зробити висновок, що вивільнення пробіотичних клітин із матриці

клітинної стінки дріжджів як інкапсулятора залежить від рН, і мікрокапсули починають розчинятися, коли вони потрапляють у тонкий кишечник, де пробіотики найбільше потрібні [71].

Таблиця 1.7

Роль біополімерів клітинної стінки дріжджів як пребіотичних капсул

Пробіотики	Формула	Результати	Посилання
<i>L. acidophilus</i> і <i>B. bifidum</i>	Пробіотичні бактерії інкапсулювали альгінатом кальцію емульсійним методом; потім мікрокульки покривали клітинною стінкою <i>S. cerevisiae</i> , а потім повторно інкапсулювали останнім шаром альгінату кальцію.	Сполуки клітинної стінки <i>S. cerevisiae</i> створюють захисний бар'єр для доставки життєздатних бактеріальних клітин у товсту кишку. Вони покращують кислотостійкість для <i>L. acidophilus</i> , але не для <i>B. bifidum</i> , що робить їхню захисну здатність залежною від типу мікроба.	[71]

<i>L. acidophilus</i> LA-05, <i>L. plantarum</i> 49 і <i>L. plantarum</i> 201	β-глюкан із дріжджів, змішаний із суспензіями клітин, витримували протягом 1 години при кімнатній температурі. Суспензії розділяли на аликвоти по 1 мл, асептично переносили в контейнери по 5 мл і заморожували при 20 °С протягом 24 годин. Зразки сушили заморожуванням у настільному ліофілізаторі протягом 40 годин при 55±2 °С і 1 мм/год. Після сублімаційного сушіння контейнери закривали та охолоджували протягом 120 днів при 0,5 °С.	β-глюкан є потенційним кріопротектором для пробіотичних лактобацил, забезпечуючи аналогічний захист фруктоолігосахаридів після ліофільної сушки, зберігання та впливу імітованих шлунково-кишкових захворювань. Він пропонує потенційне застосування як функціональний харчовий інгредієнт і може бути отриманий із побічних продуктів пивної промисловості, що зменшує вплив на навколишнє середовище.	[72]
<i>L. acidophilus</i>	<i>L. acidophilus</i> розчиняли у фізіологічному розчині та змішували зі стінками дріжджових клітин, перемішували на орбітальному шейкері та оптимізували для інкапсуляції. Фільтрація була покращена за допомогою скляних лійок із вакуумним фільтром і тримачів фільтрів; потім фільтрат центрифугували при 5000 об/хв протягом 15 хв.	Життєздатність інкапсульованих клітин становила 19,048 ± 2,701%, у той час як більшість вільних клітин не могли вижити протягом 150 хв обробки SGJ при рН 2. Інкапсульований <i>L. acidophilus</i> був підвищений, з більшою виживаністю на 56,338 5,094%.	[73]

<i>S. boulardii</i>	Коротко, 1 г хітозану в 100 мл дистильованої води підкислюють 0,4 мл крижаної оцтової кислоти до 3,6. Перед використанням розчин хітозану автоклавували (121 °C протягом 15 хв). Магнітний стрижень обертав частинки альгінату в розчині хітозану протягом 30 хв. Пробіотичні клітини суспендували, фільтрували та промивали дистильованою водою.	Недороге зовнішнє іонне гелеутворення та сушіння при 40 °C підтримують виживання <i>S. boulardii</i> , а покриття з хітозану забезпечує підвищену стійкість до дріжджів і захист від симуляції шлункових і кишкових рідин.	[74]
---------------------	---	--	------

β -глюкан, одержаний з відпрацьованих пивних дріжджів, був корисним як хороший кріопротектор для ліофілізованих пробіотичних бактерій лактобацил під впливом імітованих шлунково-кишкових умов [72]. Контрольний штам, гідратований у фізіологічному розчині після сублімаційного сушіння, продемонстрував більше зниження життєздатності під час травлення *in vitro* (до 2 логарифмічних циклів), ніж ліофілізовані бактеріальні зразки, які були інкапсульовані β -глюканом (0–1 логарифмічні цикли). β -глюкан також має потенціал як пребіотик, який може стимулювати ріст корисної мікрофлори в травному тракті та може захистити пробіотики під час виробництва продукту [72]. Присутність β -глюкану як пребіотику під час росту пробіотичних штамів може підвищити стійкість пробіотичних бактерій до умов шлунково-кишкового тракту.

Було також показано, що маннопротеїн, отриманий з дріжджів, збільшує ріст і життєздатність пробіотичних бактерій при моделюванні. Як джерело вуглецю, екстракт маннопротеїну був більш ефективним, ніж ціла дріжджова клітинна стінка, коли метаболізувався пробіотичними бактеріями, які могли б збільшити їх ріст [17]. Вважається, що захисна функція екстракту маннопротеїну та клітинної стінки дріжджів корелює з ефектом росту бактерій, який також стимулюється присутністю цього екстракту.

Іншим компонентом клітинної стінки дріжджів є хітин, який можна перетворити на хітозан. Хітозан може працювати як буфер, зменшуючи проникність інкапсулятора в кислих умовах, щоб можна було уникнути його впливу на життєздатність пробіотичних бактерій, зберігаючи при цьому його цілісність, зменшуючи виділення пробіотичних бактерій. Катіонні властивості та стабільність у кислому середовищі були виявлені у хітозану при використанні як інкапсуляційного матеріалу в мікрокапсулах, що призводить до стійкості до шлункового соку. У змодельованих шлунково-кишкових умовах інкапсуляція хітозану підвищила виживаність *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 [73]. Інший метод інкапсуляції з протилежно зарядженими поліелектролітами між хітозаном і декстрансульфатом призвів до сильної електростатичної взаємодії, яка утворює компактну структуру, захищаючи пробіотик, який генерує високу життєздатність. Тим часом композиція хітозан-альгінату для інкапсуляції показала багатообіцяючі результати в симульованому середовищі шлункового соку, наприклад відсутність вивільнення клітин *Enterococcus faecium* до 144 годин інкапсуляції; спостерігається підвищення життєздатності пробіотичних бактерій через 2 години, а кількість пробіотиків підтримується вище 10^7 КУО/мл [74, 75].

2. ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ ВИРОБНИЦТВА СИНБІОТИКУ

2.1. Аналіз фармакологічних властивостей синбіотика *Swanson* *Swanson, сахароміцети буларді з пребіотиком МОС* (рис. 2.1)

Харчова добавка з сахароміцетами буларді (*Saccharomyces boulardii*) і пребіотиком МОС розроблена для тих, хто подорожує до інших країн, але вона підійде всім, хто піклується про стабільність шлунково-кишкового тракту.

Сахароміцети буларді — це пробіотичні дріжджі, які витримують вплив шлункового соку, піклуються про кишечник, підтримують імунну систему та захищають корисні бактерії, які важливі для вашого здоров'я та комфорту.

Харчова добавка з *S. boulardii* та пребіотиком МОС стабільна за кімнатної температури, тому її зручно брати із собою та можна приймати разом із бактеріальними пробіотиками.



а

б

Рис. 2.1. Зовнішній вигляд продукту «Swanson, сахароміцети буларді з пребіотиком МОС» (а) та склад харчової добавки (б)

Форма випуску: тверда желатинова капсула в полімерній банці.

Склад: Кожна капсула містить 250 мг *Saccharomyces boulardii* та 80 мг мананолігосахаридів (МОС).

					НУХТ БТЕК 02.01.05 КР ПЗ			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Клименко Д.В.			ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ ВИРОБНИЦТВА ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ	Літ.	Арк.	Акрушів
Перевір.		Старовойтова С.О.					45	113
Реценз.						Кафедра БТМ		
Н. Контр.								
Затверд.		Стабніков В.П.						

Активний інгредієнт: *S. boulardii* 5 млрд КУО в одній капсулі на момент виробництва.

Інші інгредієнти: гіпромелоза (веганська капсула), мікрокристалічна целюлоза (рослинна клітковина), суміш екстрактів рису, діоксид кремнію.

Рекомендації із застосування: як дієтичну добавку приймати по одній вегетаріанській капсулі, запиваючи водою між прийомами їжі. Можна приймати до трьох капсул на день [79].

На ринку України обмежена кількість синбіотиків, що поєднують дріжджі роду *Saccharomyces* з пребіотиками. Більшість доступних препаратів містять *Saccharomyces boulardii* як пробіотик без додавання пребіотиків. Однак, існують комбіновані продукти, що містять *Saccharomyces* разом з іншими пробіотичними бактеріями та пребіотиками. Ось декілька прикладів (табл 2.1):

Таблиця 2.1

Синбіотики на основі сахароміцетів, представлені на ринку України

Назва препарату	Пробіотична складова	Пребіотична складова	Фірма виробник	Країна походження	Посилання
Florastor®	<i>Saccharomyces boulardii</i> CNCM I-745 (ліофілізовані дріжджі)	Інулін	Florastor	Канада	[76]
NOW Saccharomyces Boulardii	<i>Saccharomyces boulardii</i>	Інулін (ФОС: фруктоолігосахариди) та гуарова камедь	Now Foods	США	[77]
Jarrow Formulas	<i>Saccharomyces boulardii</i>	Дріжджова фракція МОС (35 % мананолігосахаридів (<i>S. cerevisiae</i>))	Jarrow	США	[78]
Saccharomyces boulardii	<i>Saccharomyces boulardii</i>	Мананолігосахариди (МОС)	Swanson	США	[79]
Sacro-B	<i>Saccharomyces boulardii</i>	Рисові висівки	Thorne	США	[80]
Saccharomyces boulardii	<i>Saccharomyces boulardii</i>	Органічний інулін (фруктоолігосахарид) і гуарова камедь	Protocol for Life Balance	США	[81]

2.2 Обґрунтування вибору форми випуску симбіотичного препарату

Симбіотичний препарат передбачає поєднання висушеної біомаси дріжджів *Saccharomyces boulardii* із манопротеїном, який виконує функції гранулюючої матриці та додаткового пребіотичного компонента. Технологічна схема включає отримання сухої дріжджової біомаси, її змішування з розчином манопротеїну, формування мікрогранул та подальше фасування цих гранул у тверді капсули. Такий підхід забезпечує стабільність біоактивних речовин, точність дозування та зручність споживання.

Вибір твердої капсульної форми зумовлений низкою технологічних та функціональних чинників. По-перше, капсульна оболонка створює бар'єр від впливу вологи та кисню, що є критичним для збереження життєздатності дріжджових клітин після сушіння. По-друге, капсули дають можливість забезпечити відтворювану дозу мікрогранул, що відповідає вимогам до однорідності маси та наповнення. По-третє, капсульна форма сприяє пролонгованому вивільненню компонентів у кишечнику, оскільки мікрогранули, інкапсульовані в манопротеїновій матриці, демонструють підвищену стійкість до кислотності шлункового соку. Крім того, тверді капсули є зручними для використання та не мають органолептичних недоліків (<https://www.apteka.ua/article/646796>, <http://uk.gelkengelatin.com/news/comparing-hard-and-soft-capsules-benefits-uses-and-considerations/>).

Застосування манопротеїну як структуроутворювальної матриці обґрунтовується його пребіотичними властивостями та здатністю стабілізувати клітини дріжджів у процесі гранулювання [82]. Манопротеїн складається з манози та полісахаридних компонентів клітинної стінки дріжджів, що можуть слугувати субстратом для корисної мікрофлори кишечника. Крім того, білково-полісахаридна природа манопротеїну забезпечує механічний захист клітин, покращує сипучість гранул та сприяє рівномірному наповненню капсул [83].

Кінцева упаковка препарату має забезпечувати бар'єрність щодо вологи та кисню, механічну цілісність гранул і стабільність протягом усього терміну зберігання. Для симбіотичного препарату доцільним є використання флаконів

(баночок) із полімерних матеріалів з осушувачем. Такий варіант обмежує доступ вологи та сприяє збереженню активності біомаси [84].

2.3. Обґрунтування вибору біологічного агенту для отримання субстанції

На основі даних наведених раніше даних можна зробити висновок, що синбіотики на основі *S. boulardii* випускаються в основному закордонними виробниками (здебільшого США). Отже, виробництво синбіотика, який у своєму складі містить дріжджі *S. boulardii* є актуальним на фармацевтичному ринку України.

При виборі біологічного агента потрібно враховувати концентрацію біомаси, ціну та склад поживного середовища, а також тривалість культивування. У табл. 2.1 наведено узагальнена інформація щодо біологічних агентів для отримання біомаси *S. boulardii*.

Таблиця 2.1

Особливості одержання біомаси *Saccharomyces boulardii* RC009, *Saccharomyces boulardii* ATCC-MYA-796 та *Saccharomyces boulardii* SB2

Назва продуцента	Склад середовища, г/л	Тривалість культивування, год	Вихід продукту	Особливості культивування	Посилання
<i>Saccharomyces boulardii</i> RC009	YPD бульйон: Пептон, 20; Дріжджовий екстракт, 10; Декстроза, 20.	24 год	4,02 г/л	t = 30°C. pH 6,5	[85]
<i>Saccharomyces boulardii</i> ATCCMYA-796	глюкоза, 20,0; кукурудзяний екстракт, 15,0; NaNO ₃ , 1,0; KH ₂ PO ₄ , 6,0; MgSO ₄ · 7H ₂ O, 3,0; CuSO ₄ · 5H ₂ O, 0,002; FeSO ₄ · 7H ₂ O, 0,001; ZnSO ₄ · 7H ₂ O, 0,01.	16 год	8,2 г/л	t = 37°C. pH 5,5	[86]

<i>Saccharomyces boulardii</i> SB2	Середовище УМ: Глюкоза – 10,0; Пептон – 5,0; Дріжджовий екстракт – 3,0; Солодовий екстракт – 3,0.	32 год	3,58 г/л	t = 37°C, pH 6	[87]
--	--	--------	----------	----------------	------

Аналіз літературних джерел показав, що найвищий показник синтезу біомаси досягається при вирощуванні штаму *S. boulardii* ATCCMYA-796 (8,2 г/л), який є значно більшим порівняно з штамами *S. boulardii* SB2 та *S. boulardii* RC009 – лише 3,58 г/л та 4,02 г/л біомаси відповідно.

Тривалість культивування також є важливим показником при виборі біологічного агента. Штам *S. boulardii* ATCC-MYA-796 культивують протягом 16 год, *S. boulardii* RC009 – 24 год, а найбільше часу для культивування необхідно *S. boulardii* SB2 – 32 год. Проте така характеристика технологічного процесу є недостатньою для вибору певного біологічного агента. Тому на наступному етапі вибору порівнюємо вартість поживних середовищ для культивування продуцентів (табл. 2.2).

**Вартість компонентів поживного середовища для культивування *S. boulardii*
RC009, *S. boulardii* ATCC-MYA-796 та *S. boulardii* SB2**

Продуцент	Компонент поживного середовища, г/л	Ціна компонента, грн./кг	Вартість компонента (грн) на 1л середовища	Джерело інформації (1,2,3,4, 5,6,7)*
<i>Saccharomyces boulardii</i> RC009	Пептон, 20	750	15	1
	дріжджовий екстракт, 10	1632	16,32	2
	Декстроза, 20	60	1,2	3
Вартість 1 л середовища – 32,52 грн				
<i>Saccharomyces boulardii</i> ATCC-MYA-796	глюкози, 20,0;	28,2	0,56	1
	кукурудзяний екстракт, 15,0;	25	0,3	4
	$NaNO_3$, 1,0;	60	0,06	3
	KH_2PO_4 , 6,0;	55	0,33	5
	$MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 3,0;	65	0,195	3
	$CuSO_4 \cdot 5H_2O$, 0,002;	85	0,00017	3
	$FeSO_4 \cdot 7H_2O$, 0,001;	2,8	0,0000028	6
	$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$, 0,01.	80	0,0008	3
	Вартість 1 л середовища – 1,459728 грн			
<i>Saccharomyces boulardii</i> SB2	Середовище YM: Глюкоза-10,0;	28,2	0,282	1
	Пептон-5,0;	750	3,75	1
	Дріжджовий екстракт – 3,0;	1632	4,896	2
	Солодовий екстракт – 3,0.	50	0,15	7
	Вартість 1 л середовища – 9,078 грн			

Примітка. * - Ціни наведено станом на квітень 2025 р.

- <https://www.systopt.com.ua>
- <http://agar.com.ua>
- <https://prom.ua>
- <https://kiev.flagma.ua>
- <https://him-component.com.ua>
- <https://dnepropetrovsk.flagma.ua>
- <https://kraftbir.com>

Дані, які наведені в *табл. 2.2* показують, що поживне середовище для культивування *S. boulardii* ATCC-MYA-796 є у 22 та 6,2 рази дешевшим ніж для *S. boulardii* RC009 і *S. boulardii* SB2 відповідно.

Для коректного вибору біологічного агента проведемо розрахунок умовної вартості 1 г цільового продукту та кількості утвореної біомаси за годину. Ці показники врахують тривалість культивування біологічного агента та її співвідношення з концентрацією цільового продукту (*табл. 2.3*).

Таблиця 2.3

Умовна вартість 1 мг цільового продукту (біомаси) при культивуванні *S. boulardii* RC009, *S. boulardii* ATCC-MYA-796 та *S. boulardii* SB2

Біологічний агент	Концентрація біомаси, г/л	Тривалість культивування, год	Кількість утвореної біомаси за годину, мг/год	Вартість 1 л середовища, грн	Умовна вартість 1 мг цільового продукту, грн./мг
<i>Saccharomyces boulardii</i> RC009	4,02	24	0,1675	32,52	8,09
<i>Saccharomyces boulardii</i> ATCC-MYA-796	8,2	16	0,513	1,46	0,178
<i>Saccharomyces boulardii</i> SB2	3,58	32	0,079	9,078	2,54

У *S. boulardii* ATCC-MYA-796 кількість утвореної біомаси становить 0,513 мг/год, що є майже втричі більше за утворення біомаси штамом *Saccharomyces boulardii* RC009 – 0,168 мг/год, і майже в 7 раз більше ніж у *S. boulardii* SB2 - 0,079 мг/год.

Узагальнивши дані можна зробити висновок, що доцільнішим буде використання *S. boulardii* ATCC-MYA-796, оскільки вартість цільового продукту становить 0,178 грн/мг, вартість продукту синтезованого штамом *S. boulardii* SB2 - 2,54 грн/мг, а найдорожчим є цільовий продукт отриманий штамом *S. boulardii* RC009, що складає 8,09 грн./мг.

Отже, враховуючи відносно недороге поживне середовище, короткий термін культивування та високий рівень накопичення біомаси вибираємо штам *S. boulardii* ATCC-MYA-796, який є найпродуктивнішим з проаналізованих біологічних агентів для отримання біомаси дріжджів.

2.4. Розрахунок потреби у субстанції для випуску синбіотичного препарату та розрахунок річної потреби у культуральній рідині

Розрахунок потужності виробництва може бути орієнтований на все населення України, оскільки ми знаходимось в стані війни та піддаємось іншим стресовим чинникам таким, як прискорений ритм життя, надмірна кількість інформації, робочі перевантаження, сімейні та соціальні проблеми. Усе це призводить до хронічної напруги.

Однією з найчутливіших систем до дії стресу є травна. Саме вона першою реагує на емоційні переживання, що часто проявляється гастроентерологічними проблемами [88].

Шлунково-кишковий тракт і нервова система тісно пов'язані через так звану вісь «кишечник–мозок». У кишечнику розташована велика кількість нервових клітин — ентеральна нервова система, яку часто називають «другим мозком». Вона регулює перистальтику, секрецію ферментів, роботу сфінктерів. При стресі мозок через гормони (кортизол, адреналін) та вегетативну нервову систему змінює роботу травного тракту, викликаючи функціональні й органічні порушення.

Стрес може уповільнювати або прискорювати просування їжі, що призводить до закрепів або діареї. Під дією гормонів стресу збільшується вироблення кислоти, що підвищує ризик гастриту та виразки.

Також стрес може призводити до зниження захисних механізмів — ослаблюється вироблення слизу в шлунку та кишечнику, тому слизова стає вразливою до пошкоджень. Через постійну дію стресових гормонів зменшується опірність організму, а отже, підвищується ризик інфекційних та запальних хвороб кишечника.

Хронічний стрес змінює склад мікробіоти, сприяючи розвитку дисбактеріозу, що проявляється здуттям, нестійким стільцем, алергічними реакціями.

Найпоширеніші гастроентерологічні проблеми на фоні стресу є синдром подразненого кишечника (СПК). Це одне з найчастіших функціональних розладів. Пацієнти скаржаться на болі в животі, здуття, діарею або закрепи, які посилюються після емоційних навантажень. У пацієнтів із хворобою Крона чи виразковим колітом хронічний стрес здатен провокувати загострення.

Хронічний стрес стимулює підвищене виділення соляної кислоти, пригнічує механізми захисту слизової та сприяє активації бактерії *Helicobacter pylori*.

При стресі розслаблюється нижній стравохідний сфінктер, що викликає печію, відрижку, біль за грудиною та рефлюксну хворобу.

Функціональна диспепсія, а саме відчуття переповненості шлунка, нудота, відрижка часто виникають у людей із нервовою напругою навіть без органічних уражень також може бути реакцією на стрес.

Стрес впливає на тонус жовчних шляхів, сприяючи розвитку дискінезії, що проявляється болем у правому підребер'ї, гіркотою в роті [88].

Отже, розрахуємо річну потребу в синбіотичному препараті для населення України на рік. Зауважимо, що не всі будуть приймати даний препарат, тому ми умовно приймемо, що лише 0,01 % населення буде вживати дану харчову добавку.

Населення України станом на 2025 рік становить 2025 рік - 32,9 млн осіб [89].

0,01 % населення буде 0,00329 млн осіб (3290 осіб).

Як ми казали раніше, на ринку України представлено 6 препаратів даної групи (див. табл. 1.1). Отже, цільовий сегмент споживачів буде становити:

$$3290/6=548 \text{ людини.}$$

Як дієтичну добавку препарат можна приймати по одній капсулі але можна приймати до трьох капсул на день [79].

Ми приймаємо, що споживачі будуть приймати по одній капсулі на день. Отже, кількість капсул на рік буде:

$$548*1*365=200141 \text{ капсул/р.}$$

Кожна капсула містить 250 мг *Saccharomyces boulardii*. Отже, кількість біомаси, необхідна для забезпечення річної потреби, буде:

$$200141 * 0,25 = 50035 \text{ г (50 кг)}.$$

З даних, наведених на рис. 2.2, ми бачимо, що за поточний місяць було куплено 1000 упаковок даного препарату.

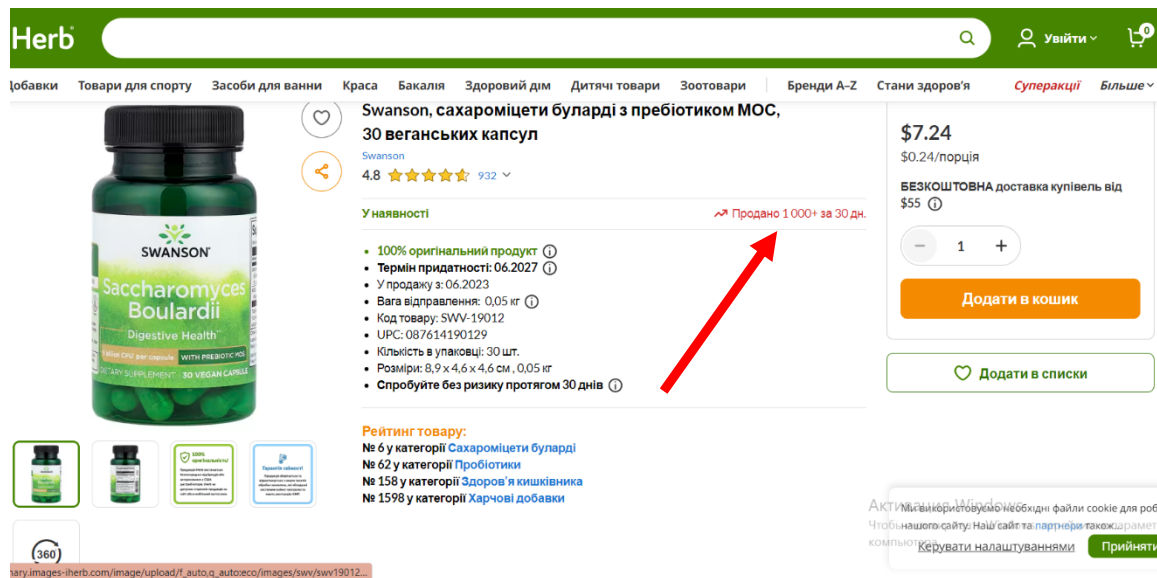


Рис. 2.2. Кількість проданих упаковок синбіотичного препарату (<https://ua.iherb.com/pr/swanson-saccharomyces-boulardii-with-prebiotic-mos-30-vegan-capsules/118475>)

Ми можемо розрахувати кількість придбаних упаковок за рік:

$$1000 * 12 = 12000 \text{ упаковок на рік}.$$

Кожна упаковка містить 30 капсул. Отже, для 12000 упаковок необхідно:

$$12000 * 30 = 360000 \text{ капсул}.$$

Кожна капсула містить 250 мг *S. boulardii*. Отже, кількість біомаси, необхідна для забезпечення річної потреби, буде:

$$360000 * 0,25 = 90000 \text{ г (90 кг)}.$$

Зважаючи на наведені данні приймаємо середнє значення:

$$(50 + 90) / 2 = 70 \text{ кг/рік}.$$

Ще одним компонентом пребіотичного препарату Swanson є мананолігосахарид. Його вміст в одній капсулі становить 80 мг (див. рис. 2.1).

З наведеного вище розрахунку ми можемо бачити, що на рік потрібно виготовити в середньому:

$$X=(200141+360000)/2=280000 \text{ капсул/р.}$$

Отже, потреба у мананолігосахариді буде становити:

$$280000 \cdot 80 = 22400000 \text{ мг мананолігосахариду на рік, або } 22,4 \text{ кг/р.}$$

Мананолігосахариди отримують з дріжджів шляхом їх ферментативного розщеплення або екстрагування. Для цього ми будемо використовувати дріжджі *S. boulardii* які є нашим біологічним агентом. Суха маса *S. boulardii* складається з 22,5 % (або 225 г на 1 кг сухих дріжджів) мананолігосахариду. Отже, для одержання 22,4 кг мананолігосахариду необхідно:

$$X=22,5/0,225=100 \text{ кг сухих дріжджів.}$$

Мананолігосахариди є водорозчинними, оскільки мають багато гідроксильних груп, які утворюють водневі зв'язки з молекулами води.

Одержання очищеного мананолігосахариду включає:

- подрібнення сухої біомаси;
- піддавання технологічного потоку першої стадії фільтрації з використанням нанофільтраційної мембрани з отриманням фільтрату, який містить цільовий мананолігосахарид;
- піддавання фільтрату другої стадії фільтрації з використанням нанофільтраційної мембрани з отриманням ретентату, який містить цільовий мананолігосахарид;
- видалення солі з технологічного потоку з використанням електродіалізу з отриманням очищеного препарату, де цільовий мананолігосахарид являє собою нейтральний олігосахарид;
- розчин очищеного мананолігосахариду піддають сушці розпиленням після стерилізуючої фільтрації.

3. ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ПІСЛЯФЕРМЕНТАЦІЙНИХ ПРОЦЕСІВ ОДЕРЖАННЯ БІОМАСИ *S. BOULARDII*

3.1. Обґрунтування вибору післяферментаційних процесів одержання біомаси *S. boulardii*

Обґрунтування способу відділення біомаси

Вихідним матеріалом для виділення дріжджів *S. boulardii* є культуральна рідина.

Фракціонування культуральної рідини здійснюється:

- сепарацією;
- фільтрацією;
- осадженням.

Фільтрування – відділення твердої фази від рідкої шляхом проходження через фільтруючий матеріал або через полімерну сітку з відповідним діаметром отворів [90].

Принципова схема роботи фільтру проста: суспензія потрапляє на фільтруючу перегородку, при цьому рідка фаза проходить фільтруючий матеріал, а тверда фаза затримується на фільтруючому матеріалі у вигляді шару осаду.

Недоліки процесу фільтрування заключаються в великих втратах біомаси за рахунок проходження частини клітин через пори фільтруючого матеріалу, через що пори засмічуються та потребують заміни чи регенерації [90].

Фільтрація — процес проходження розчину чи суспензії через пористу перегородку (мембрану) за різницею гідростатичного тиску з обох боків мембрани, причому розмір профільтрованих часточок обмежується діаметром пор.

Недоліки процесу – велика втрата біомаси [90].

Сепарація – процес відділення твердої фази від рідкої, оснований на відділенні часточок з різними характеристиками. Рушійною силою процесу являється відцентрова сила [91].

					НУХТ БТЕК 02.01.05 КР ПЗ			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Клименко Д.В.			ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ПІСЛЯФЕРМЕНТАЦІЙ НИХ ПРОЦЕСІВ	Літ.	Арк.	Акрушів
Перевір.		Старовойтова С.О.					56	113
Реценз.						Кафедра БТМ		
Н. Контр.								
Затверд.		Стабніков В.П.						

Сепарація має ряд переваг перед фільтрацією та іншими способами, а саме:

- 1) немає необхідності в застосуванні фільтруючих добавок; це дозволяє непотрібну для подальшої переробки фракцію використовувати в корм тварин;
- 2) матеріал обробляється з найменшими втратами активної речовини;
- 3) процес легше піддається автоматизації, агрегати займають менше приміщень, легше здійснити мийку устаткування.

Сепарація використовується при одержанні хлібопекарських і кормових дріжджів, медичних антибіотиків, етилового спирту, ферментів, амінокислот, продуктів із зелених водоростей, вакцин, вітаміну B₁₂, стимуляторів росту і засобів захисту рослин і багатьох інших продуктів хіміко-фармацевтичної, медичної, мікробіологічної і харчової промисловості.

Принцип дії сепараторів ґрунтується на різниці фізичних або фізико-хімічних властивостей компонентів суміші, що її розділяють. До найпоширеніших належать:

- гравітаційні (наприклад, гвинтові), в яких суміш розділяється на компоненти, різні за густиною, під дією сили тяжіння;
- магнітні, де сепарація відбувається під впливом магнітного поля;
- відцентрові, в яких важча рідина або тверді частинки спрямовуються відцентровими силами до периферичної частини, звідки й видаляються [91].

Серед апаратів для відцентрового розділення компонентів суміші широкого поширення набули рідинні сепаратори, що працюють за принципом тонкошарового центрифугування (сепарації).

З-поміж конструктивних особливостей необхідно відмітити, що ротор відцентрових сепараторів забезпечений пакетом конічних тарілок, встановлених з невеликим зазором (0,4-1,5 мм) по відношенню один до одного. Високий ступінь розділення досягається завдяки протіканню рідини в тонкому шарі зазору між тарілками при ламінарному режимі руху.

Для згущування біомаси *S. boulardii* можна застосовувати рідинні сепаратори з тарілчастими вставками, зокрема тарільчастий сепаратор GEA або MAXCLEAN 5T, що безпосередньо використовується для концентрування різних видів дріжджів.

Сепаратор сепаратор GEA призначений для концентрування дріжджів з частотою обертання 9000 об/хв. З продуктивністю 1м³/год, що краще за все підходить для великого виробництва [92].

Сепаратор MAXCLEAN 5T має частоту обертання 3200 об/хв., при цьому у нього продуктивність 5 м³/год, що підходить для невеликого виробництва [93].

Принцип дії дріжджового сепаратора ґрунтується на розділенні твердих частинок (дріжджів) та рідини (поживного середовища) або двох рідин під дією відцентрової сили. Внаслідок цього легка фаза утворює декілька внутрішніх концентричних шарів (рівномірно розподіляється в міжтарілчастому просторі сепаратора), а тверді частинки збираються на периферії барабана сепаратора. Рідина, що не містить твердих частинок, піднімається у верхню частину сепаратора в зоні осі обертання і виводиться через спеціальні камери під дією сили тяжіння, а згущена біомаса дріжджів – через сопла по периферії ротора (Рис. 3.1).

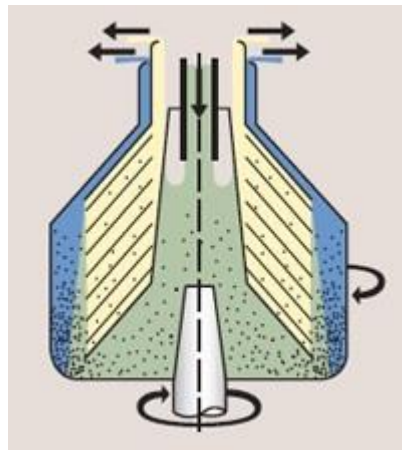


Рис. 3.1. Зображення принципу дії тарілчастого сепаратора.

Отже, для кращого розділення біомаси від рідинної частини обираємо сепарацію, так як вона має значні переваги відносно інших способів концентрування біомаси дріжджів та швидкість виділення дріжджів в сепараторах в тисячі разів перевищує осадження в фільтрування.

Сепаратор MAXCLEAN 5T при невеликій продуктивності 1 м³/год підходить для невеликого виробництва.

Обґрунтування вибору апарату для сушіння біомаси дріжджів

Одним з основних етапів виробництва синбіотичного препарату є одержання якісно висушеної біомаси дріжджових клітин *S. boulardii*.

Зневоднення термочутливих продуктів мікробного біосинтезу – технологічно складний процес. При виборі методу і режиму сушіння матеріалів різної природи основним критерієм вважається якість сухого продукту [94].

Процеси сушіння методом розпилювання. У промисловості метод розпилювання застосовується для сушіння рідких і пастоподібних продуктів та матеріалів: молока, сироватки, альбуміну, кормових дріжджів та ін.

Метод полягає в тому, що продукт диспергується в камері до туманоподібного стану за допомогою спеціальних пристроїв і висушується в потоці теплоносія. За високого ступеня дисперсності процес сушіння відбувається дуже швидко, завдяки чому можна використовувати високі температури теплоносія [95].

У процесі сушіння методом розприскування використовують три методи розпилення: механічними, пневматичними форсунками та відцентровими дисками.

У процесі механічного розпилення рідина, що диспергується, подається в форсунку під значним тиском. Призначення форсунки полягає в тому, щоб розбити рідину на дрібні краплинки. Для цього струм газу пропускається через отвір дуже маленького діаметра. Крім того, за допомогою форсунок струму надається обертотий рух, що забезпечує розпилення рідини.

Нагріте повітря подається в сушильну камеру 1, у верхній частині якої розміщені пневматичні форсунки 2. Відпрацьований теплоносій виводиться в центрі камери, нижня частина якої виконана у вигляді подвійного зрізаного конуса. Частина сухого продукту випадає в нижню частину сушильної камери в разі зміни напрямку руху потоку теплоносія при виході з неї, а останній сухий продукт вловлюється в циклонах.

Процесом ліофілізації (від грец. Lyo - розчиняю і phileo - люблю) називають метод висушування біологічних об'єктів і харчових продуктів в замороженому стані під вакуумом. При цьому вода виділяється із замороженого матеріалу шляхом випаровування льоду, мінаючи рідку фазу [96].

Ліофілізація (сублімація) широко застосовується у ветеринарній, медичній, біологічній практиках і харчовій промисловості для тривалого зберігання бактерій, вірусів, грибів, діагностичних і лікувальних біопрепаратів, тваринних і рослинних тканин тощо. Внаслідок сублімаційного висушування вода з об'єктів видаляється без порушення нативної структури білків; в препаратах різко сповільнюються або припиняються біохімічні реакції, в результаті чого вони стають стійкішими до факторів зовнішнього впливу і зберігають первинні властивості протягом тривалого часу.

Ліофільне висушування здійснюється у вакуум-сублімаційних установках періодичної або безперервної дії. Перша складаються з сублімаційної камери, що містить плити, холодильної машини, конденсатора, вакуумного насосу тощо.

Можна використовувати сублімаційну сушарку типу Martin Christ ALPHA 1-2LD plus, але ця сушарка лабораторно типу, що не може бути використана в виробництві [96]. Ми пропонуємо сушарку типу LyoUltra (Рис. 3.2) - ліофільная установка з розширеною конфігурацією, обладнана тільки сучасними і високоякісними приладами, такими як самозаповнюється двері, автоматичний пробовідбірник, Ni-охолоджувач, компресор з гвинтовим ротором, бездротової детектор температури тощо [97].

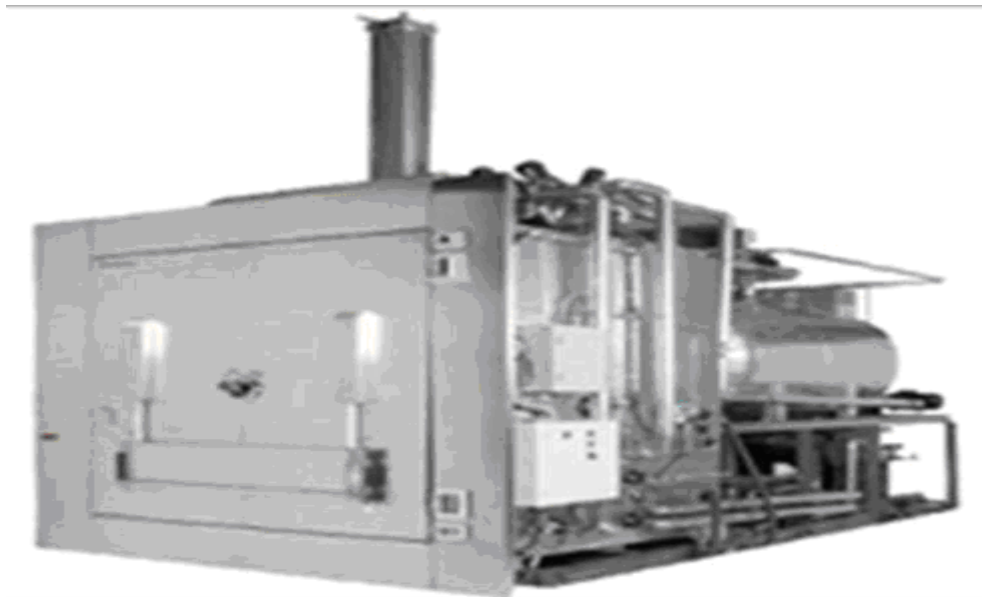


Рис. 3.2. Сублімаційна сушарка типу Martin Christ ALPHA 1-2LD plus

Переваги:

1. Комбіноване обладнання з одночасним процесом заморожування та сушінням.
2. Герметизація дверей: цільна, гарантує герметичність.
3. Дверна рама цільна, тобто більш стійка до стиснення і деформації.
4. Технологія автодозіровання - це автоматичний процес без пошкодження продукту під час сушіння.
5. Технологія бездротової детекції температури відрізняється від традиційних датчиків.
6. Пневматичний вентиль Тусо, висока швидкість потоку і висока ефективність ліофільної сушки.

Основними етапами ліофільного висушування дріжджів, що здійснюється в установці Martin Christ ALPHA 1-2LD plus, є [98]:

1) попереднє заморожування біомаси *S. boulardii* проводиться при t нижче точки евтектики (при якій вся рідина переходить у тверду фазу – лід (наприклад, при температурі $-24\text{ }^{\circ}\text{C}$));

2) первинне висушування біомаси здійснюється при температурі $0\text{ }^{\circ}\text{C}$. У камері сублімаційного висушування створюється вакуум з метою забезпечення вільної дифузії парової рідини від замороженої маси дріжджів до охолодженої поверхні конденсатора;

3) вторинне висушування дріжджів зумовлене видаленням зв'язаної води.

При закінченні цього періоду температура сухої маси становить $25\text{--}40\text{ }^{\circ}\text{C}$.

4) збір сухої маси дріжджів з лотків в поліетиленові пакети.

Час ліофілізації регулюється і реєструють за допомогою автоматичних приладів. Якість сублімаційного висушування оцінюється за такими основними показниками:

- 1) швидка розчинність препарату (1-2 хв);
- 2) залишкова вологість, що не перевищує 1-3%;
- 3) вихідна в'язкість препарату після розчинення;
- 4) характерна структура висушеного матеріалу;

5) рН середовища;

6) збереження активності, специфічності та інших властивостей об'єкта.

Існують різні способи сушіння дріжджі *S. boulardii*, наприклад, висушування в завислому (киплячому) шарі інертного матеріалу, використання процесу ліофілізації та розпилювального сушіння [99]. Кожен з цих методів дозволяє отримати висушену масу клітин мікроорганізмів із підтримкою їх життєздатності, таксономічно важливих і біотехнологічних ознак. Проте, застосування теплового висушування потребує визначення впливу на продукт температури і тривалості нагрівання, тобто його термостійкості, тому найбільш прийнятним і якісним способом зневоднення, який забезпечує збереження і стабілізацію властивостей дріжджів є сублімаційне висушування (ліофілізація), при якому відсутні високі температури нагрівання. Сублімаційне сушіння проводиться у рекомендуєчій установці Martin Christ ALPHA 1-2LD plus, Потужність 167 кВт; корисна площа 25,1м²; розмір полиць 1495×1200×24мм; кількість полиць 14, продуктивність 200 л/добу.

Вибір захисного середовища

S. boulardii — це стійкі дріжджі, але є певні середовища та умови, в яких він значно краще виживає під час стресу, наприклад, заморожування перед висушуванням.

Для ліофілізації найчастіше використовують:

1. 10 % сухе знежирене молоко + 5 % трегалоза + 5 % гліцерин [100]
2. 20 % сухе молоко + 10 % сахароза [101]
3. 10 % трегалоза + 5 % Na-глутамат [102]

При виробництві ліофільно висушеної біомаси *S. boulardii* також можуть використовуватись наступні варіанти захисних середовищ [103]:

1. 21,2 % лактози + 22 % трегалози + 4 % натрій глутамату (виживання ≈ 64 %);
2. 18 % лактози + 18 % трегалози + 3 % натрій глутамат (підвищує виживання в 10–15 разів порівняно з контролем);
3. 10 % знежиреного молока (або 10 % молока + 10 % сахарози/лактози).

Останнє захисне середовище найчастіше використовується для капсульованих препаратів, бо дає найвищу життєздатність і найпростіша у виробництві [103].

Обґрунтування вибору обладнання для подрібнення сухих дріжджів

Після ліофільного висушування маса дріжджів є неоднорідною, тому для досягнення однакових форм і розмірів частинок її подрібнюють за допомогою певного обладнання.

Подрібнення - це процеси руйнування і зменшення розмірів грудок сировини під дією зовнішніх механічних, теплових, електричних сил, направлених на подолання внутрішніх сил зчеплення, що зв'язують між собою частинки твердого тіла.

Подрібнення сировини внаслідок дії на неї зовнішніх механічних сил здійснюється за допомогою певного обладнання – дробарок. Розрізняють щоківі, конусні, валкові, барабанні, молоткові, роторні, вібраційні та дробарки спеціального призначення. Вибір дробарки залежить від технологічного завдання [104].

Зважаючи на те, що нам потрібно подрібнити суху масу дріжджів *S. boulardii*, які входять до пробіотичного препарату, то необхідно використовувати дробарку, що не чинить негативного впливу на продукт і подрібнює його до необхідних розмірів.

Принцип дії молоткової дробарки. В молоткових дробарках матеріал дробиться в основному ударом молотків, які підвішені до ротора, що обертається у робочому просторі дробарки, обмеженому футерованим броньовими плитами корпусом. Додаткове (вторинне) дроблення матеріалу здійснюється при ударі грудки об броньові плити корпусу дробарки. Дроблення матеріалу відбувається доти його зерна не зможуть пройти крізь щілини колосникової решітки [104].

Недоліком молоткової дробарки в тому, що ми не отримаємо подрібненої маси необхідного розміру.

Дробарки валкові (вальцьові) широко застосовуються для тонкого, середнього і дрібного подрібнення різних корисних копалин, харчових продуктів і

хімічних матеріалів (глинисті матеріали, шамот, кварц, шпат, калійна і куховарська солі тощо). Принцип дії цих млинів полягає в подрібненні матеріалу в основному роздавлюванням, частково - стиранням, ударом або вигином між обертовими назустріч один одному валками з гладкою, рифленою або зубчастою поверхнею. У середині станини млина встановлені два валки, вали яких змонтовані в підшипниках. Корпуси підшипників одного з валів жорстко прикріплені до станини. Корпуси підшипників другого валу встановлені з можливістю переміщення і утримуються пружинами. Для забезпечення рівномірної подачі матеріалу валкові дробарки оснащуються валковим живильником. Підприємство випускає валкові дробарки з діаметром валків від 200 мм до 600 мм і довжиною робочої частини від 250 мм до 1500 мм. Дана дробарка в конструкції містить набір сит, що дозволяє швидко здійснювати поділ на фракції та зменшує втрати через винесення продукту [105].

Перевага вальцевої дробарки по відношенню до молоткової в тому, що ми отримуємо потрібний матеріал необхідного розміру (15-20 мкм).

3.2. Підбір технологічного обладнання з врахуванням матеріальних потоків по стадіях

Розрахунок матеріальних потоків по стадіям

Назва сировини і напівпродукту	Використано	Отримано	
	Кількість, кг, дм ³	Назва кінцевого продукту, відходів та втрат	Кількість, кг, дм ³
Сепарування культуральної рідини			
Культуральна рідина	5740	Концентрат біомаси	49,1344
		Фугат	5633,4656
Втрати	1%	Втрати	57,4
Всього:	5740	Всього:	5740
Сублімаційне висушування			
Концентрат біомаси	49,1344	Суша біомаса	6,2688
Захисне середовище	4,9		
		Волога	41,882912

Втрати	1%	Втрати	0,982688
Всього:	49,1344	Всього:	49,1344
Подрібнення сухої біомаси			
Суша біомаса	6,2688	Подрібнена біомаса	5,83
Втрати	1%	Втрати	0,4388
Всього:	6,2688	Всього:	6,2688

Схема одержання мананолігосахариду

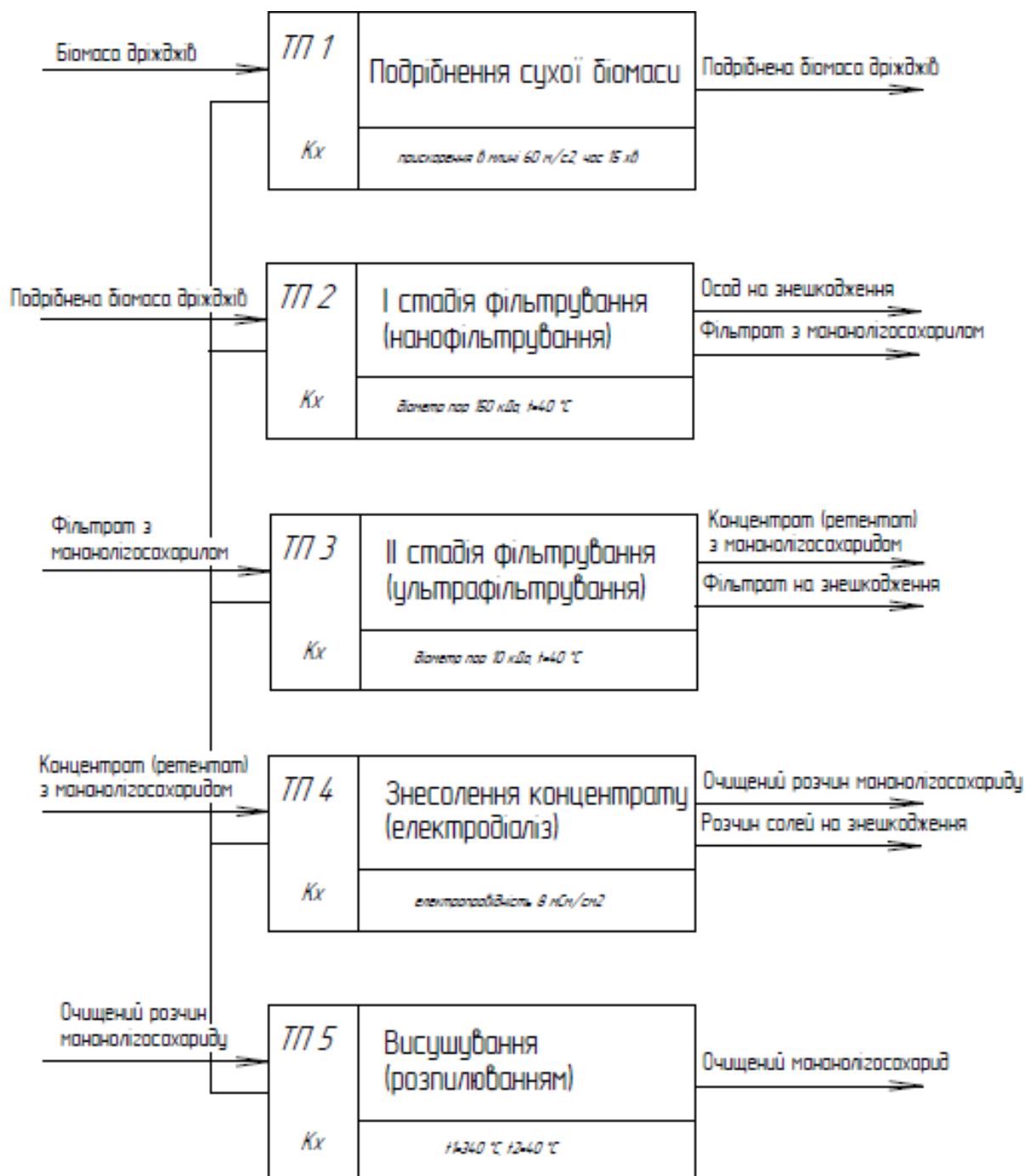


Рис. 3.3. Схема одержання очищеного мананолігосахариду

Розрахунок матеріальних потоків по стадіям

Назва сировини і напівпродукту	Використано	Назва кінцевого продукту, відходів та втрат	Отримано
	Кількість, кг, дм ³		Кількість, кг, дм ³
Подрінення сухої біомаси			
Біомаса дріжджів	100	Подрібнена біомаси	99
Втрати	1%	Втрати	1
Всього:	100	Всього:	100
І стадія фільтрування			
Подрібнена біомаси	99	Фільтрат	55
		Осад	43,1
Втрати	1%	Втрати	0,9
Всього:	99	Всього:	99
II стадія фільтрування			
Фільтрат	55	Концентрат	40
		Осад	14,5
Втрати	1%	Втрати	0,5
Всього:	55	Всього:	55
Знесолення концентрату			
Концентрат	40	Очищений розчин мананолігосахариду	37
		Розчин солей	2,6
Втрати	1%	Втрати	0,4
Всього:	40	Всього:	40
Висушування			
Концентрат	37	Сухий мананолігосахарид	22,4
		Волога	10,9
Втрати	10%	Втрати	3,7
Всього:	37	Всього:	37

4. СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ ОТРИМАННЯ СУБСТАНЦІЇ ДЛЯ СИНБІОТИЧНОГО ПРЕПАРАТУ

Позначення	Назва	Кількість, шт.	Маса обладнання	Примітка
Ср-1	Сепаратор дріжджовий марки MAXCLEAN 5T	1	-	Частота обертання 5100 об/хв., продуктивність 1000 кг/год
З-2	Збірник фугату	1	1	Збірник вертикальний, облаштований мішалкою 400об/хв
СС-3	Ліофілізована сушарка типу Martin Christ ALPHA 1-2LD plus	1	-	Потужність 167 кВт; корисна площа 25,1; розмір полиць 1495*1200*24мм; кількість полиць 14; витрата чистої пари 258 кг/год; Витрата води СІР (≥4 бар) 230 л/хв.; витрата охолоджуючої води 31 т/год
Др-4	Вальцева дробарка	1	-	Діаметр валків від 200 мм до 600 мм, розмір подрібненого матеріалу 15-20 мкм.
З-5	Збірник	1	1	Збірник вертикальний, облаштований мішалкою 400об/хв
ПФ-6	Пакувальний апарат типу PG8-200	1		Кількість робочих станцій: 6-8шт. Тип пакета : саше. 2700 пак/годину.

					НУХТ БТЕК 02.01.05 КР ПЗ					
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата	СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ ОТРИМАННЯ СУБСТАНЦІЇ	Літ.		Арк.	Акрушів	
Розроб.		Клименко Д.В.						67	113	
Перевір.		Старовойтова С.О.				Кафедра БТМ				
Реценз.										
Н. Контр.										
Затверд.		Стабніков В.П.								

5. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ПІСЛЯФЕРМЕНТАЦІЙНОГО ВИДІЛЕННЯ І ОЧИЩЕННЯ СУБСТАНЦІЇ ДЛЯ СИНБІОТИЧНОГО ПРЕПАРАТУ

ТП 1. Концентрування біомаси дріжджів.

Після охолодження біомасу дріжджів подають спочатку в збірник шляхом надлишкового тиску (0,5 – 0,7 МПа), що створюється надходженням стисненого повітря в біореактор, а потім в сепаратор СР-1.

ТП 1.1. Концентрування біомаси дріжджів.

Концентрування біомаси дріжджів проводять в рідинному сепаратор СР-1, що має частоту обертання 3200 об/хв., протягом 7 хв.

ТП 1.2. Внесення захисного середовища.

В збірник з концентрованою біомасою 3-2 вносять захисне середовища висушування, а саме знежирене молоко у кількості 10 % - 4,9 л на 49 кг біомаси.

Вміст місткості перемішують (швидкість обертів перемішуючого пристрою 400 об/хв) і витримують не менше 20 хв. Також відбирають проби для визначення мікробної контамінації та рН.

ТП 2. Ліофілізація біомаси дріжджів.

Ліофільне висушування біомаси дріжджів здійснюють сушаркою Martin Christ ALPHA 1-2LD plus CC-3, що являють собою повністю автоматизовану систему сублімаційного висушування з високою продуктивністю та хорошими технічними характеристиками,

ТП 2.1. Розлив біомаси дріжджів в лотки.

Розлив біомаси дріжджів проводять у стерильних приміщеннях (наприклад, боксах) під ламінарним потоком повітря. Об'єм біомаси, що заливають у лотки залежить від їх місткості, але товщина розлитого шару не повинна перевищувати 10-15 мм. Після заповнення лотки загортають у стерильний папір.

На початку, в середині та в кінці розливу суспензії дріжджів відбираються проби на мікробіологічний контроль.

					НУХТ БТЕК 02.01.05 КР ПЗ			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Клименко Д.В.			ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ПІСЛЯФЕРМЕНТАЦІЙНОГО ВИДІЛЕННЯ І ОЧИЩЕННЯ СУБСТАНЦІЇ	Літ.	Арк.	Акрушів
Перевір.		Старовойтова С.О.					68	113
Реценз.						Кафедра БТМ		
Н. Контр.								
Затверд.		Стабніков В.П.						

ТП 2.2. Ліофілізація

Лотки з суспензією дріжджів поміщають в ліофільну сушарку СС-3 та здійснюють заморожування біомаси при температурі -24°C протягом 48 год.

Первинне сушіння замороженого препарату здійснюють під вакуумом (26,6 Па). Через 30 годин після початку процесу висушування починають плавний підігрів полиць сублімаційної установки на $1-2^{\circ}\text{C}$ за годину до досягнення температури 0°C .

Після первинного висушування суспензії дріжджів починають збільшувати підігрів полиць ліофільної сушки на 23°C до досягнення температури $25-26^{\circ}\text{C}$. При цій температурі лотки з біомасою витримують приблизно 5-6 годин. Величина вакууму в кінці сублімації становить 5,3 Па. Зальна тривалість висушування 55-60 год. Після закінчення ліофілізації вирівнюється тиск в камері повітрям, що надходить через стерилізуючий повітряний фільтр з вологопоглиначем (силікагелем).

Сушу біомасу дріжджів збирають з лотків стерильним шпателем з тефлону і нержавіючої сталі.

З кожної серії висушеної біомаси відбирають проби на визначення життєздатних дріжджів, масову частку води і наявність контамінуючої мікрофлори.

ТП 3. Подрібнення сухих дріжджів.

ТП 3.1. Подрібнення ліофілізованої маси дріжджів.

Подрібнення ліофілізованої маси здійснюють на вальцевій дробарці Др-4, що подрібнює матеріал до необхідних розмірів 15-20 мкм.

Після подрібнення матеріал самопливом по направляючому жолобу направляється на сита, які є елементом вальцевої дробарки Др-4. Просіювання здійснюється за рахунок низькочастотної вібрації сит з стандартизованими діаметрами отворів. Розмір фракції по закінченні просіювання повинен бути в межах $0,5\text{ мм}\pm 1\%$.

Просіяний матеріал передається у проміжну ємність 3-5.

Фракція, яка має більший розмір повертається на повторне подрібнення.

ПМВ 4. Пакування у тару.

ПМВ 4.1 Наповнення стерильних пакетів

Зі складу надходять стерильні пакетики, які вручну наповнюються по 500 г. Вага кожного пакета контролюється вручну на вагах з точністю ± 5 г. Наносять дату та час виробництва, термін придатності, номер серії, назву підприємства, назва препарату, склад.

ПМВ 4.2 Пакування у картоні пачки

У картоні пачки вкладають 10 пакетів із біомасою. Наносять дату виробництва, термін придатності, номер серії, назву підприємства, назва препарату, склад.

ПМВ 4.3 Пакування у транспортну тару

Пакують у картоні тари по 5 пачок, наносять номер серії, дату та час виробництва, назву підприємства.

ЗВ 5. Знешкодження відходів.

ЗВ 5.1. Знешкодження рідких відходів

Рідкі відходи потрапляють зі стадій підготовки води, підготовка технологічного одягу персоналу, підготовки обладнання, дезінфікуючі засоби, ферментація, сепарування. Рідкі відходи, потрапляють до хімічної каналізації. Їх обробляють дезінфікуючим розчином, що нейтралізує небезпечні властивості відходів.

ЗВ 5.2. Знешкодження твердих відходів

Тверді відходи, що потрапляють зі стадії пакування нейтралізуються.

ЗВ 5.3. Знешкодження газоподібних відходів

Газоподібні відходи, що надійшли зі стадій культивування проходить стадії очищення на фільтрах.

6. КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА СУБСТАНЦІЇ ДЛЯ СИНБІОТИЧНОГО ПРЕПАРАТУ

Кт 1.1 Концентрування біомаси	Суспензії дріжджів, фугат, сепаратор	Візуально, за допомогою мірників	Під час проведення процесу	w=5100об/хв Наявність чужорідної мікрофлори не допускається
Кт 1.2 Додавання до біомаси захисного середовища	Суспензія дріжджів, захисне середовища	Ваговий, швидкість обертання мішалки, вимірювальний	Під час процесу	V=162,28л 400 об/хв. Наявність чужорідної мікрофлори не допускається
Кт 2.1 Ліофілізація біомаси дріжджів	Розлив біомаси дріжджів в лотки	Візуально	Під час процесу	l=15 мм
Кт 2.2 Ліофілізація біомаси дріжджів	Ліофілізація	Перевірка температур и, тиску, часу	Під час процесу сушіння	t ₁ = -24 ⁰ С t ₂ = 26 ⁰ С P ₁ = 26,6Па P ₂ = 5,3Па 55-6год
Кт 3.1 Подрібнення ліофілізованого порошку	Вальцева дробарка	Візуально	Під час процесу подрібнення	Відповідність параметрів роботи вібро-дробарки нормативній документації

Методи контролю

Визначення масової частки вологи. Визначення вмісту вологи в напівпродукті проводять по ГОСТ Р 54951-2012

Вимірювання проводять на приладі вологомір ваговий MF-50, фірми «A & D Co. LTD», Японія. Прилад внесений до державного реєстру засобів вимірювальної

					НУХТ БТЕК 02.01.05 КР ПЗ								
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата	КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА СУБСТАНЦІЇ ДЛЯ ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ				Літ.	Арк.	Акрушів		
Розроб.		Клименко Д.В.									71	113	
Перевір.		Старовойтова С.О.							Кафедра БТМ				
Реценз.													
Н. Контр.													
Затверд.		Стабніков В.П.											

техніки Реєстр. № 24789-05.Вимірювання проводяться згідно керівництву по експлуатації фірми «A & D Co. LTD ». В аналізаторі вологості реалізований принцип термогравіметричного аналізу, при якому відбувається висушування зразка за допомогою галогенової лампи і визначення змісту вологи (в%), а також інших значень, що обчислюються на основі різниці між вологою і сухою вагою.

Продукт, виділений із середньої проби, ретельно перемішують. Далі проводять такі дії. Натиснути клавішу RESET для обнуління дисплея перед початком кожного вимірювання. Помістити пробу на чашку для зразка, охолоджену до кімнатної температури. Закрити кришку нагрівача.

Перед початком вимірювань переконайтеся, що значення ваги проби надисплеї стабільно. Для початку вимірювання натисніть клавішу START. Коли зміна рівня вмісту вологи в хвилину (швидкість сушки) досягне заздалегідь заданого значення (значення завершення) вимірювання припиняються, і лунає звуковий сигнал. На дисплеї відображається значення вологості для даного зразка, яке не має перевищувати 10%.

Контроль зовнішнього вигляду і кольору

Зовнішній вигляд і колір препарату визначають візуально по кожній одиниці упаковки вибірки при відборі точкової проби.

Візуально: однорідний порошок від білого до світло-бежевого кольору.

Визначення кількості життєздатних клітин (метод Коха)

Метод застосовують для визначення чисельності життєздатних клітин у різних природних субстратах і в лабораторних культурах. У його основі лежить принцип Коха, відповідно до якого кожна колонія є потомством однієї клітини. Це дозволяє, обрахувавши кількість колоній, що вирости після посіву на щільне поживне середовище певного об'єму досліджуваної суспензії, судити про вихідний вміст у ній клітин мікроорганізмів. Результати кількісного обліку мікроорганізмів, проведеного методом Коха, часто виражають не в числі клітин, а в умовних одиницях – так званих колонієутворювальних одиницях (КУО). Визначення

проводиться у три етапи: приготування розведень, посів на щільне середовище Сабура в чашки Петрі й підрахунок вирослих колоній.

Приготування розведень. Для одержання ізольованих колоній необхідно приготувати ряд послідовних розведень. Розведення готують у стерильній водопровідній воді або 0,9%-вому розчині NaCl (фізрозчині). У ході досліду доцільно використати однаковий коефіцієнт розведення, наприклад 10, що зменшує ймовірність помилки. Для приготування розведень стерильну водопровідну воду розливають по 9 мл у стерильні сухі пробірки.

1 мл досліджуваної суспензії стерильною піпеткою переносять у пробірку з 9 мл стерильної води - це 1-ше розведення. Отримане розведення ретельно перемішують новою стерильною піпеткою, вбираючи в піпетку й випускаючи з неї отриману суспензію. Цю процедуру виконують 3...5 разів, потім тією же піпеткою відбирають 1 мл отриманої суспензії й переносять в 2-гу пробірку – одержують 2-е розведення. У такий же спосіб готують і наступні розведення. Ступінь розведення залежить від щільності досліджуваної популяції мікроорганізмів; відповідно він тим більше, чим більше щільність популяції.

Посів. Висівати суспензію можна поверхневим або глибинним способом. Поверхню агаризованого середовища Сабура перед посівом рекомендується підсушувати для видалення конденсаційної води. Після того як середовище готове, на його поверхню стерильною піпеткою наносять точно відміряний об'єм (0,05 або 0,1 мл) відповідного розведення й розподіляють його стерильним шпателем по поверхні середовища. Висіви на щільне середовище проводять, як правило, із трьох останніх розведень, причому з кожного роблять 2...4 паралельних висіви. Посіви можна робити однією піпеткою, але при цьому починати треба обов'язково з більшого розведення. Для кожного розведення використовують новий стерильний шпатель. Після посіву чашки Петрі поміщають у термостат кришками вниз. При глибинному посіві точно відміряний об'єм (як правило 0,1, 0,5 або 1,0 мл) вихідної суспензії або розведення вносять у розплавлене й охолоджене до 48...50°C агаризоване середовище, ретельно перемішують і потім негайно виливають у чашку Петрі.

Коли середовище застигне, чашки Петрі перевертають догори дном і поміщають у термостат.

Підрахунок колоній. Колонії мікроорганізмів залежно від швидкості росту підраховують через 2...15 доби інкубації. Кращим розведенням варто вважати те, при висіві з якого в чашці Петрі виростає від 30...50 до 100...150 колоній.

Якщо кількість вирослих колоній виявилось менше 10, то ці результати для розрахунку кількості клітин у вихідному матеріалі не використовують.

Результати паралельних висівів з того самого розведення підсумують і визначають середню кількість колоній. Кількість клітин в 1 мл досліджуваного субстрату обчислюють за формулою:

$$M = a \times 10^n / V,$$

де M – кількість клітин в 1 мл суспензії;

a – середня кількість колоній

при висіві розведення, з якого зроблений висів;

V – об'єм суспензії, узятий для посіву, мл; 10^n – коефіцієнт розведень [106].

Визначення антагоністичної активності

Антагоністичну активність відносно патогенних і умовно-патогенних мікроорганізмів оцінюють у *S. boulardii*, який є основою синбіотичного препарату Swanson. Визначення антагоністичної активності *S. boulardii* проводять за допомогою методу відстроченого антагонізму.

Біомаса *S. boulardii* (ліофілізат) відновлюють до початкового висушеного обсягу (але не менше 10^7 КУО/мл), додаючи в ліофілізат стерильний 0,9 % розчин натрію хлориду з розрахунку 1 мл на одну дозу і перемішують піпеткою 8-10 разів.

Отриману суспензію випробуваного зразка перемішують і висівають бактеріологічною петлею діаметром $3,5 \pm 0,5$ мм на 6 чашок Петрі з поживним середовищем Сабуро, проводячи по два паралельних штриха довжиною, що дорівнює діаметру чашки.

Після інкубування протягом 48-96 год при температурі 37 ± 1 ° С. Після інкубування до культури випробуваного зразка підсівають культури тест-штамів (відповідно до вимог нормативної документації). Підсів тест-штамів проводять

петлею діаметром $1,75 + 0,25$ мм в напрямку, перпендикулярному зоні росту досліджуваного мікроорганізму, і не торкаючись його. Чашки Петрі перевернуті догори дном інкубують при температурі $37 + 1$ °С протягом 18-20 год (якщо немає інших вказівок у нормативній документації).

Контролем зростання тест-штамів служить їх паралельний посів на чашки з вказаним вище поживним середовищем без випробуваної культури.

Враховують величину зони відсутності росту тест-штаму, виражену в мм.

Чим більше величина пригнічення росту тест-культур, тим вище антагоністична активність випробуваного штаму.

Визначення розміру часточок

Визначення розміру частинок подрібненої сухої біомаси *S. boulardii* здійснюється методом лазерної дифракції проводили на аналізаторі Laser diffraction particle size analyser SALD-2201 (Shimadzu Corporation, Японія) з програмним забезпеченням WingSALD-II, version 2.1.0 [107]. Діапазон вимірювання приладу від 0,03 мкм до 1000 мкм.

Дослідження проводять для трьох лабораторних серій подрібненої сухої біомаси *S. boulardii*. Як розчинник використовували воду очищену.

Дослідження розміру частинок та їх розподіл проведено за такою методикою: 50 мг зразка подрібненої сухої біомаси *S. boulardii* поміщають у мірну колбу місткістю 100 мл, додають 50 мл води очищеної і ретельно перемішують до повного змочування, після чого доводять об'єм дисперсії до позначки й обробляють ультразвуком із потужністю 50-100 Вт протягом 1-3 хв, ретельно перемішують і негайно відбирають пробу для вимірювання.

Для визначення базової оптичної густини використовують як розчинник воду очищену.

7. ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ОДЕРЖАННЯ СИНБІОТИЧНОГО ПРЕПАРАТУ В КАПСУЛАХ

7.1. Розрахунок річної потужності виробництва синбіотичного препарату та кількості серій на рік

В розділі 2 (підрозділ 2.4. Розрахунок потреби у субстанції для випуску синбіотичного препарату та розрахунок річної потреби у культуральній рідині) ми розраховували кількість капсул, яка буде виготовлятися на рік.

Ми показали, що кількість капсул на рік буде 360000 шт.

Кожна упаковка містить 30 капсул. Отже, для 360000 капсул необхідно:

$$360000 \cdot 30 = 12000 \text{ упаковок на рік.}$$

Ми плануємо випускати однакові партії на кожен виробничий цикл, який буде становити один місяць.

Отже, обсяг однієї партії буде:

$$12000 / 12 = 1000 \text{ упаковок на один виробничий цикл.}$$

7.2. Обґрунтування умов забезпечення виготовлення синбіотичного препарату

Умови виробництва повинні запобігати контамінації та деградації біомаси. До ключових параметрів належать контроль температури (не вище 25 °C на етапах змішування та гранулювання), підтримання відносної вологості повітря на рівні нижче 40–50 %, а також дотримання санітарно-гігієнічних вимог, встановлених для виробництва дієтичних добавок або пробіотичних препаратів (Fenster et al., 2019). Виробництво повинно здійснюватися відповідно до принципів GMP із забезпеченням відповідного контролю сировини, валідації обладнання та протоколювання всіх операцій [107].

Виробництво імунобіологічних препаратів передбачає виконання операцій,

					НУХТ БТЕК 02.01.05 КР ПЗ			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Клименко Д.В.			ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ОДЕРЖАННЯ ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ	Літ.	Арк.	Акрушів
Перевір.		Старовойтова С.О.					78	113
Реценз.						Кафедра БТМ		
Н. Контр.								
Затверд.		Стабніков В.П.						

для яких ризик мікробної, пірогенної та часткової контамінації є критично значущим. З цієї причини технологічний процес має здійснюватися в умовах контрольованого середовища, класифікованого відповідно до вимог належної виробничої практики (GMP) та чинних міжнародних настанов з облаштування чистих приміщень (EU GMP Annex 1; WHO TRS — актуальні редакції). Установлення класів чистоти ґрунтується на принципах оцінки ризиків, характері технологічних операцій, а також на необхідності забезпечення мікробіологічної і фізико-хімічної стабільності кінцевого продукту [108, 109].

Чисті приміщення поділяють на класи А, В, С і D, які відрізняються рівнем допустимої кількості часток та мікроорганізмів у повітрі й на поверхнях. Найбільш високі вимоги встановлюють для операцій, що здійснюються з відкритим стерильним продуктом або компонентами, які не можуть бути піддані подальшій стерилізації. Менш критичні етапи допускають роботу у приміщеннях нижчих класів чистоти, що дозволяє зберегти керованість процесу та забезпечити відповідність вимогам GMP [110, 111].

Обґрунтоване визначення класів чистоти для ключових етапів [112, 113]:

1. Підготовка сировини та допоміжних розчинів — клас D.

Операції з приймання та підготовки вихідної сировини не супроводжуються контактом зі стерильним продуктом, проте потребують контрольованих умов для запобігання небажаному мікробному та частковому забрудненню. Клас D забезпечує базовий рівень чистоти, достатній для операцій первинної підготовки.

2. Оброблення біомаси, фільтраційні та концентрувальні процеси — клас С.

На цій стадії виконують операції із збільшеним ризиком аероконтамінації напівфабрикатів, у тому числі біополімерних та білкових компонентів. Клас С забезпечує підвищений рівень контролю чистоти повітря порівняно з класом D та є необхідним для стабільності проміжного продукту.

3. Асептичні операції з активними компонентами, змішування та гранулювання — клас А (локальна зона) у фоні класу В.

У цих умовах здійснюють операції з відкритим продуктом, який після оброблення не підлягає стерилізації. Клас А забезпечує найвищі стандарти асептичності завдяки ламінарному повітряному потоку та мінімальній кількості

часток. Клас В виконує роль контрольованого фонового середовища, стабілізуючи параметри мікробної чистоти в зоні класу А.

4. Асептичне наповнення капсул — клас А у фоні класу В.

Наповнення є однією з найбільш критичних операцій, оскільки будь-яке забруднення на цій стадії автоматично переноситься до готового лікарського засобу. Поєднання класів А/В є обов'язковим для всіх процедур асептичного наповнення.

5. Закупорювання та етапи, що проводяться з вже закритим продуктом — клас С.

Оскільки продукт у цей момент знаходиться в герметичній первинній упаковці, прямий ризик контамінації мінімальний. Клас С є достатнім для підтримання чистоти поверхонь та повітря на рівні, що виключає непрямий вплив на якість.

6. Групове пакування та складування — клас D.

Операції не передбачають контакту з відкритим продуктом, тому вимоги до чистоти є менш жорсткими. Клас D забезпечує виконання загальних санітарно-гігієнічних норм та підтримку контрольованого середовища для готової продукції.

Запропонований розподіл класів чистоти відображає ступінь критичності технологічних етапів та відповідає принципам каскадного зниження ризику від зони з найбільш суворими вимогами (клас А) до зон з мінімальним ризиком (клас D). Така система дозволяє забезпечити стабільність біологічної активності препарату, запобігти зовнішній контамінації та гарантувати відповідність технологічного процесу міжнародним стандартам GMP.

Технологічний процес отримання симбіотичного препарату включає послідовні операції, спрямовані на формування стабільних мікрогранул із біомаси дріжджів у матриці маннопротеїну та подальше їх дозування у тверді желатинові капсули. Усі стадії виконуються в умовах належної виробничої практики (GMP) із дотриманням встановлених класів чистоти для робіт із сухими субстанціями мікробного походження.

1. Підготовка розчину маннопротеїну

У очищену воду готують розчин маннопротеїну. Розчин має достатню концентрацію сухих речовин (20%) [114, 115], щоб забезпечити формування плівки покриття — при цьому концентрацію слід оптимізувати експериментально, враховуючи в'язкість, розчинність та технологічні характеристики. Після розчинення розчин очищається, фільтрується за потреби, готують для подальшого розпилення.

2. Підготовка сухої біомаси

Суха біомаса дріжджів, як ядро майбутніх гранул, повинна мати контрольовані властивості: залишкову вологість, розмір частинок, відсутність сторонніх домішок [116]. За необхідності виконується просіювання порошку — для забезпечення однорідного розміру частинок та покращення умов псевдозрідження.

3. Гранулювання у псевдозрідженому шарі (fluid-bed coating / granulation) [117].

Сухі частинки біомаси завантажують у гранулятор із псевдозрідженим шаром. Поток нагрітого повітря створює псевдозрідження — частинки утримуються у стані «підвішки» та безперервно рухаються. Через розпилювальну форсунку подають розчин маннопротеїну, який розпилюється на рухомі частинки. Каплі розчину адгезують до поверхні частинок, після чого під дією гарячого повітря миттєво висихають — утворюється рівномірна плівкова оболонка навколо кожної частинки. Таким чином досягається бажане «огорнення» біомаси матрицею маннопротеїну. Параметри (швидкість повітря, температура, швидкість розпилення, концентрація розчину, швидкість подачі) оптимізуються для отримання однорідних, стійких гранул, без агломерації.

4. Сушка та стабілізація гранул

Після нанесення покриття гранули продовжують сушити у тому ж псевдозрідженому шарі, до досягнення цільової залишкової вологості, що забезпечує механічну міцність, сипкість і стабільність продукту.

5. Класифікація / калібрування гранул

Сухі гранули піддають просіюванню (сортванню), щоб видалити дрібнодисперсні частинки та великі агломерати — це потрібне для однорідного дозування при капсулюванні.

6. Капсулювання

Калібровані гранули наповнюють у тверді желатинові капсули відповідного розміру. Проводиться контроль маси наповнення, герметичності капсул, цілісності оболонки.

7. Первинне та вторинне пакування, маркування

Капсули фасують у пластикові банки з відповідними характеристиками для зберігання (бар'єр від вологи, кисню, світла тощо). Додають, при потребі, осушувач. Далі — етикетування (назва препарату, склад, серія, дата, умови зберігання) та вторинне пакування для групової тари.

8. СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ

Позиція	Найменування	Кількість	Технічна характеристика
1	2	3	4
ПЗ – 1	Повітрозабірник	1	Повітрозабірник виконаний з нержавіючої сталі та оснащений металевою сіткою.
Ф-2	Фільтр грубої очистки повітря	1	Панельний фільтр грубої очистки. Клас – G4. Розміри (мм): 592х592х292 ¹
В-3	Вентилятор	1	Повітродувка SEKO BL05000101500. Продуктивність 210 м ³ /год. Максимальний тиск нагнітання (бар) 0,19 ²
К-4	Електрокалорифер	1	Калорифер КПСК 4-5. Продуктивність 250 м ³ /год. Габарити (мм): 602х450х190 ³
П-5	Парозволожувач	1	Пароволожувач ВН 3000. Продуктивність 150 м ³ /год. Витрата води – 3 л/год. Габарити (мм): 520×300×200 ⁴
Ф-6	Фільтр тонкої очистки повітря	1	Кишеньковий фільтр ФЯК. Клас чистоти F9. Габарити (мм): 490х592х500 ⁵
Ф-7	Фільтр надтонкої очистки	1	Повітряний фільтр Mini Pleat ULPA U16. Габарити (мм): 484×484×70 ⁶
3-8 3-13 3-16	Збірник об'ємом 20 л	3	Реактор LSR-20L. Виконаний з нержавіючої сталі. Оснащений подвійною сорочкою та перемішуючим пристроєм. Габарити (мм): 500х500х1850 ⁷
Д-9 Д-19	Дозатор рідинний	1	Дозатор рідинний Trinitri GFK-280. Продуктивність 3,5 л/хв. Має автоматизоване керування. Габарити (мм): 360х255х170 ⁸

					НУХТ БТЕК 02.01.05 КР ПЗ					
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата						
Розроб.		Клименко Д.В.			СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ		Літ.	Арк.	Акрушів	
Перевір.		Старовойтова С.О.							81	113
Реценз.							Кафедра БТМ			
Н. Контр.										
Затверд.		Стабніков В.П.								

Н-10 Н-14 Н-20 Н-23	Насос перистальтичний	4	Насос перистальтичний Т СО 00100. Продуктивність 100 л/год. Робочий тиск до 5 бар ⁹
Ф-11	Фільтр вугільний	1	Вугільний фільтр Organic FS-16-ТС. Продуктивність 1,5 м ³ /год. Габарити (мм): 410 x 1850 ¹⁰
З-12 З-15	Зворотній осмос	2	Зворотний осмос OSFIL-50. Продуктивність 50 л/год. Ступінь видалення солей з очищеної води - до 99,9% ¹¹
Р-18 Р-22	Реактор об'ємом 15 л	2	Реактор GSH-15. Виконаний з нержавіючої сталі. Оснащений подвійною сорочкою та перемішуючим пристроєм. Габарити виробником не наведено ¹²
МУ-21	Мікрофільтраційна установка	1	Мікрофільтраційна установка СМР-01. Продуктивність 50 л/год. Оснащена керамічними мембранами. Об'єм утримання – 8 л. Габарити виробником не наведено ¹³
Д-24	Ваговий дозатор	1	Ваговий дозатор ФС-125. Дозування до 50 кг. Похибка дози (допустима) 1%. Продуктивність – 1,5 т/год. Габарити (мм): 1100x930x1785 ¹⁴
ФВ-25 ФВ-27	Фармацевтичне вібросито	2	Розсів лабораторний РЛУ-3К. Об'єм завантаження до 21 кг. Частота коливань ситового пакета 120/200 ± 10 % (1/хв). Амплітуда коливань 25 мм. Габарити (мм): 360×360×170 ¹⁵
ГП-26	Гранулятор із псевдозрідженим	1	Гранулятор АВ03. Продуктивність 10-100 кг/год. Використання повітря – 3 м ³ /хв. Габарити виробником не наведено ¹⁶

КМ-28	Капсульна машина	1	Капсульна машина по наповненню NJP-400C. Продуктивність – 24000 капсули/год. Габарити (мм): 750х700х1700 ¹⁷
ФМ-29	Фасувальна машина	1	Фасувальна машина MV545. Продуктивність – 75 баночок/хв. Габарити виробником не наведено ¹⁸
ЕМ-30	Еикувальна машина	1	Етикувальна машина DPM-SLM-A. Продуктивність 50-180 шт/хв. Габарити (мм): 2400×1500×1500 ¹⁹
КМ-31	Картонажна машина	1	Картонажна машина CP25 MIDY ELECTRONIC. Продуктивність 10 коробок/хв. Габарити виробником не наведено ²⁰

9. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ОТРИМАННЯ СИНБІОТИЧНОГО ПРЕПАРАТУ В КАПСУЛАХ

ДР 1. Підготовка вентиляційного повітря

ДР 1.1. Забір атмосферного повітря

Атмосферне повітря надходить у систему через повітрозабірник (ПЗ-1), встановлений приблизно на 15 м над рівнем покрівлі виробничого приміщення. Таке розташування дозволяє зменшити потрапляння пилових та мікробіологічних часток у вентиляційну мережу.

ДР 1.2. Первинна очистка повітря

Повітря, що надійшло, проходить фільтр грубої очистки (Ф-2), який утримує частки розміром 5–10 мкм. Після цього повітря потрапляє у вентилятор (В-3) для створення необхідного тиску. Далі потік проходить через електрокалорифер (К-4), де підтримується температура 20–25 °С. Для регулювання вологості до 60 % повітря обробляють у парозволожувачі (П-5).

ДР 1.3. Вторинна очистка повітря

Зволожене повітря направляють на фільтр тонкого очищення (Ф-6), який затримує частки 0,1–0,3 мкм. Ефективність цього етапу досягає приблизно 99,97 %.

ДР 1.4. Остаточна очистка повітря

Останній етап здійснюється на фільтрі надтонкого очищення ULPA (Ф-7), що забезпечує чистоту повітря до 99,999995 %. Таке повітря подається у виробничі приміщення класу чистоти А.

ДР 2. Підготовка очищеної води

ДР 2.1. Пом'якшення водопровідної води

У збірник (З-8) через дозатор (Д-9) подають 15 л води. На технічних вагах відмірюють реагенти: 2,16 кг натрій карбонату, 115,2 г кальцій гідроксиду та 14,4 г натрій ортофосфату. Речовини розчиняють у воді за допомогою мішалки протягом 10 хвилин, після чого суміш залишають на 30 хв для утворення осаду.

					НУХТ БТЕК 02.01.05 КР ПЗ			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Клименко Д.В.			ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ОТРИМАННЯ ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ	Літ.	Арк.	Акрушів
Перевір.		Старовойтова С.О.					84	113
Реценз.						Кафедра БТМ		
Н. Контр.								
Затверд.		Стабніков В.П.						

ДР 2.2. Видалення осаду та знесолення

Через 30 хв проводять повторне перемішування суміші протягом 5 хв для підняття осаду. Суспензію подають насосом (Н-10) на вугільний фільтр (Ф-11) для видалення твердих часток. Потім вода проходить систему зворотного осмосу (З-12) для знесолення протягом 30 хв. Очищена вода збирається у резервуарі (З-13).

ДР 2.3. Отримання очищеної води

З резервуара вода насосом (Н-14) подається на другу установку зворотного осмосу (З-15) для додаткового видалення залишкових домішок протягом 30 хв. Після цього очищена вода накопичується у збірнику (З-16) і готова до використання у виробничих процесах.

ДР 3. Отримання розчину маннопротеїну для гранулювання

ДР 3.1. Розчинення маннопротеїну

На технічних зважують 2 кг маннопротеїну. Наважку переносять до реактора (Р-18) об'ємом 15 л. За допомогою об'ємно-вагового дозатора (Д-19) доливають 8 л води очищеної від ДР 2.3. Вмикається мішалка на швидкості 200 об/хв та розчиняє компонент протягом 15 хвилин.

ДР 3.2. Холодна стерилізація розчину маннопротеїну

За допомогою перистальтичного насосу (Н-20) розчин маннопротеїну потрапляє до мікрофільтраційної установки (МУ-21) з керамічними фільтрами діаметром пор 0,22 мкм. Такий крок потрібен для уникнення мікробного забруднення готового симбіотичного препарату. Тривалість операції _ год. Одержаний розчин потрапляє в простерилізований збірник (Р-22) та зберігається для подальшого застосування.

ТП 4. Одержання мікрогранул синбіотику

ТП 4.1. Просіювання біомаси дріжджів

На ваговому дозаторі (Д-24) зважують 6,26 кг дріжджів *Saccharomyces boulardii* та відправляють на фармацевтичне вібросито (ФВ-25) для відсіювання великих фракцій. Допускається розмір частинок 0,25 мм та менше. Тривалість операції - 15 хвилин.

ТП 4.2. Гранулювання біомаси дріжджів розчином маннопротеїну

Біомасу завантажують у гранулятор із псевдозрідженим шаром (ГП-26). Потік нагрітого повітря підтримує частинки у стані псевдозрідження та забезпечує безперервне перемішування. Через розпилювальну форсунку подають розчин маннопротеїну від ДР 3.2., який осаджується на поверхню частинок. Висока температура потоку сприяє швидкому висиханню крапель та формуванню тонкої плівки на кожній частинці. Процес відбувається за температури 40 °С.

Після нанесення покриття гранули продовжують сушити за тої ж самої температури у псевдозрідженому шарі до досягнення цільової залишкової вологості (не більше 5–7 %). Це забезпечує механічну стійкість, зменшує ризик агломерації і підтримує стабільність біомаси. Тривалість процесу - 1 год. Після цього, гранули вивантажують в металеву переносну ємність об'ємом 20 л та подають на наступну стадію.

ТП 4.3. Просіювання готових мікрогранул

Мікрогранули пересипають на фармацевтичне вібросито (ФВ-27) для відсіювання великих фракцій. Допускається розмір частинок 0,5 мм та менше. Тривалість операції - 20 хв.

ТП 5. Капсулювання синбіотичного препарату

Калібровані гранули біомаси та маннопротеїну завантажують у бункер капсульної машини (КМ-28). Перед початком роботи перевіряють рівномірність подачі, щоб забезпечити дозування гранул, в 1 капсулі має міститись 330 мг. Дозатор капсульної машини подає гранули у нижню частину капсули (капсульна оболонка розділена на половинки). Паралельно здійснюється контроль маси наповнення для кожної капсули, щоб дотримуватися точності $\pm 2\%$. Верхня частина капсули з'єднується з нижньою та герметично замикається. Кількість капсул становить 25 030 шт. Одержані капсули зсипаються в металеву переносну ємність об'ємом заповнення 30 л. Тривалість операції - 1 годину.

ПМФ 6. Пакування, маркування та фасування готових синбіотичних капсул

ПМФ 6.1. Фасування капсул по поліетиленовим баночкам

На цій стадії готові капсули синбіотичного препарату подаються на фасувальну машину (ФМ-29), яка автоматично дозує капсули у поліетиленові

банки. Мета операції — забезпечення точного дозування, зручності зберігання та подальшого використання препарату. Банки подаються на стрічку машини, перевіряється їх чистота та цілісність. Фасувальна машина автоматично заповнює кожен банку по 30 капсул, контролюючи точність дози та цілісність капсул. Після заповнення банки герметично закриваються кришками. За технологією при необхідності додають осушувач у вигляді невеличкого пакетика з силікагелем. Одержані банки в кількості 834 шт. конвеєром передаються на наступну стадію. Тривалість операції - 30 хв.

ПМФ 6.2. Етикування баночок з капсулами синбіотику

Далі банки маркують етикетками з інформацією про серію, склад, дату виготовлення та умови зберігання за допомогою етикувальної машини (ЕМ-30). Вона наносить на стінку банки клеючу етикетку, що містить всю відповідну інформацію. Після цього упаковка готова до групового пакування та відправки на склад. Баночки конвеєром передаються на наступну стадію. Тривалість операції – 30 хв год.

ПМФ 6.3. Групове пакування препарату

Баночки потрапляють до картонажної машини (КМ-31), яка їх групує в кількості 20 штук та упаковує в картонну коробку для подальшого зберігання. Тривалість операції - 10 хв. Одержані коробки в кількості 42 шт. відправляють на склад на зберігання.

10. ОПИС СИНБІОТИЧНОГО ПРЕПАРАТУ ЗГІДНО АНД

Контроль якості синбіотичного препарату здійснюється відповідно до аналітично-нормативної документації (АНД) та включає комплекс фізико-хімічних, мікробіологічних та біологічних методів, що забезпечують безпечність, стабільність та ефективність лікарського засобу.

Специфікація на синбіотичну біологічно-активну добавку

Найменування показників контролю	Встановлені значення	Методи контролю
1	2	3
Опис	Довгасті, блискучі, непрозорі, тверді желатинові капсули зі світло-зеленого кольору корпусом і жовтого кольору кришечкою. Капсули містять гранульований порошок з характерним запахом, жовто-сірого кольору.	За п. 1 АНД, візуально
Автентичність	Овальні клітини, довжиною від 5 до 10 мкм, утворюють аскоспори. Розміщуються у вигляді скупчень або окремих клітин, можуть утворювати ланцюги. Факультативний анаероб.	За п. 2 АНД, бактеріологічно, бактеріоскопічно
Розпадання	При додаванні <i>води Р</i> протягом 30 хвилин капсула повинна розпастись	За п.3 АНД, візуально ДФУ 2.9.1
Однорідність маси	Відхилення маси вмісту кожної капсули від середньої маси має бути в межах $\pm 10\%$	За п.4 АНД, ДФУ 2.9.5
Розчинення	При додаванні <i>води Р</i> протягом 45 хвилин утвориться гомогенна завись жовтуватого кольору	За п.5 АНД, ДФУ 2.9.3, візуально
Втрата в масі при висушуванні	Не більше 3%	За п. 6 АНД, ДФУ, 2.5.12
Мікробіологічна чистота	Відсутність сторонньої мікрофлори, сторонніх дріжджів та пліснявих грибів	За п.7 АНД, ДФУ, доп. 1, р. 2.6.12, с.37, р. 2.6.13, N, с. 42

					НУХТ БТЕК 02.01.05 КР ПЗ		
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата	ОПИС ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ ЗГІДНО АНД		
Розроб.	Клименко Д.В.						
Перевір.	Старовойтова С.О.						
Реценз.							
Н. Контр.							
Затверд.	Стабніков В.П.						
					Літ.	Арк.	Акрушів
						88	113
					Кафедра БТМ		

Специфічна нешкідливість	Має бути нешкідливим	За п. 8. АНД
Специфічна активність - визначення кількості сахароміцетів в 1 дозі препарату; - визначення антагоністичної активності препарату	В одній дозі препарату повинно міститися не менше 5×10^9 живих сахароміцетів Має пригнічувати патогенну та умовно-патогенну мікрофлору	За п.9 АНД За п.9.1 АНД За п.9.2 АНД

(<https://resource.odmu.edu.ua/chair/download/133396/8e5jKO8jRTCQxgSpdmmaBA/%D0%94%D0%A4%D0%A3%20%D1%874.pdf>)

Методи контролю

1. Візуальний та органолептичний контроль

Капсули препарату характеризуються продовгуватою або овальною формою, непрозорою або напівпрозорою оболонкою певного кольору, з гранульованим порошком всередині, що має характерний запах. Візуальна оцінка включає перевірку форми, кольору, блиску та цілісності оболонки капсули, а також кольору та запаху порошку. Ця перевірка проводиться без використання приладів та є початковим критерієм відповідності препарату вимогам.

2. Автентичність діючого компонента

Автентичність визначають бактеріоскопічно та бактеріологічно. Живі клітини *Saccharomyces boulardii* мають овальну форму довжиною 5–10 мкм, здатні утворювати аскоспори, можуть формувати скупчення або окремі клітини, іноді утворюючи ланцюги. Клітини є факультативними анаеробами. Виробничий штам контролюється при надходженні кожної серії, що забезпечує стабільність та ідентичність біологічного компонента.

3. Контроль розпадання капсул

Розпадання капсули перевіряють шляхом занурення її у воду Р протягом 30 хвилин при кімнатній температурі. Капсула вважається розпавшоюся, якщо на сітці залишаються лише м'які частини або фрагменти оболонки, без наявності твердого ядра, яке не змочується. Процедура виконується у спеціальному апараті для розпадання капсул (ДФУ 2.9.1), де капсула розташовується у кошику з диском і занурюється у воду Р.

4. Однорідність маси капсул

Однорідність маси визначається шляхом зважування капсул до та після видалення вмісту. Маса порошку в капсулі не повинна відхилятися від середньої маси більше ніж $\pm 10\%$. Зважування проводиться для 20 капсул з кожної серії. Результати контролю дозволяють визначити відповідність маси вмісту капсули нормативним показникам (ДФУ 2.9.5).

5. Розчинення капсул

Для визначення здатності капсул до розчинення проводять тест у 300 мл води Р при температурі $37,0 \pm 0,5$ °С. Капсула поміщається у кошик, який обертається у

водному середовищі протягом 45 хвилин. В результаті утворюється гомогенна суспензія жовтуватого кольору. Під час тесту проводиться відбір проб, фільтрування та аналіз концентрації діючої речовини, що дозволяє перевірити повне розчинення капсули (ДФУ 2.9.3) [3].

6. Втрата маси при висушуванні

Втрату маси визначають методом сушіння у вакуум-сушильній шафі. Близько 0,1 г розтертого вмісту капсули сушать при температурі 60–65 °С за тиску 1,5–2,5 кПа до постійної маси. Допустима втрата маси не повинна перевищувати 3 % (ДФУ 2.5.12).

7. Мікробіологічна чистота

Препарат повинен бути вільним від сторонньої мікрофлори, дріжджів та пліснявих грибів. Для контролю порошок з 10 капсул розчиняють у 100 мл буферного розчину (розведення 1:10), після чого висівають на густі та рідкі поживні середовища для визначення загальної кількості бактерій, дріжджів та грибів. Інкубація проводиться при 20–37 °С протягом 5 діб. Для ідентифікації специфічних патогенів використовуються середовища для *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aureginosa* та *Staphylococcus aureus*, з наступною інкубацією та пересівом на агаризовані поживні середовища.

8. Специфічна нешкідливість

Перевірка нешкідливості препарату проводиться на білих мишах (14–16 г). Розчин капсули вводять перорально у кількості однієї дози, спостерігаючи за станом тварин протягом 5 діб. Всі миші повинні залишитися живими та не втратити масу тіла. У разі негативного результату контроль повторюють на подвоєній кількості тварин, і при повторному негативному результаті серію препарату бракують.

9. Специфічна активність

Специфічна активність визначається за двома показниками:

Кількість життєздатних клітин *Saccharomyces boulardii*. Для цього проводять серійні десятикратні розведення суспензії препарату та стандартного контрольного зразка, висівання на глюкозо-дріжджовий агар і інкубацію при 37 ± 1 °С протягом 4 діб. Кількість колоній визначають за формулою:

$$N = n \times 10^{m-1}$$

де n — кількість колоній у пробірці, m — порядок розведення. В одній дозі препарату має бути не менше 10^{10} життєздатних клітин.

Антагоністична активність. Визначається методом агарових блоків проти патогенних і умовно-патогенних мікроорганізмів (*Clostridium*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, *Candida*, *Salmonella*, *Escherichia*, *Shigella* та ін.). Ріст тест-культур оцінюють за величиною зони пригнічення росту. Капсули вважаються активними, якщо зона пригнічення ≥ 15 мм.

10. Пакування, маркування та транспортування

Капсули фасують у поліетиленові баночки та наносять всю необхідну інформацію на етикетку, оскільки це - БАД. На упаковці зазначають назву препарату, кількість капсул, номер серії, термін придатності, виробника та умови зберігання. Транспортування здійснюється при температурі 2–8 °С, зберігання – у сухому, захищеному від світла місці при температурі до 25 °С. Термін придатності препарату – 2 роки.

11. ПРОЄКТ ЗАЯВКИ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

Назва: «Синбіотичний препарат на основі дріжджової біомаси *Saccharomyces boulardii* та мананоолігосахаридів і спосіб його одержання»

Галузь і застосування корисної моделі

Корисна модель належить до галузі біотехнології, мікробіологічного та фармацевтичного виробництва і стосується створення синбіотичних препаратів, що поєднують пробіотичні дріжджові культури та пребіотичні компоненти. Запропонований синбіотик на основі біомаси *Saccharomyces boulardii* та мананоолігосахаридів (MOS) призначений для нормалізації стану кишкового мікробіому, профілактики та корекції дисбіотичних порушень, підтримання бар'єрної функції кишечника та зниження ризику інфекційно-асоційованих розладів травної системи. Композиція може застосовуватися як дієтична добавка, компонент функціональних харчових продуктів або як допоміжний засіб у комплексній терапії станів, пов'язаних із високим мікробіологічним навантаженням, стресовими чинниками та антибіотикотерапією.

Завдяки стійкості *S. boulardii* до шлункового середовища, здатності зберігати життєздатність після ліофільного сушіння та вираженим пробіотичним властивостям, препарат може використовуватися у дорослих і дітей (за рекомендаціями відповідних регламентів та стандартів). Додавання MOS посилює ефективність дріжджового компоненту завдяки властивостям пребіотичного субстрату та здатності інгібувати адгезію патогенних мікроорганізмів через манозні рецептори.

Корисна модель може застосовуватись у фармацевтичній, харчовій та нутрицевтичній промисловості, а також у виробництві капсульованих форм пробіотичних препаратів. Технологія одержання синбіотика передбачає використання біомаси дріжджів, відокремленої з культуральної рідини,

					НУХТ БТЕК 02.01.05 КР ПЗ		
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата	ПРОЄКТ ЗАЯВКИ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ		
Розроб.		Клименко Д.В.					
Перевір.		Старовойтова С.О.					
Реценз.							
Н. Контр.							
Затверд.		Стабніков В.П.			Кафедра БТМ		
					Літ.	Арк.	Акрushів
						93	113

стабілізованої у захисному середовищі та підданої ліофільному сушінню, що забезпечує стабільність продукту при зберіганні без потреби у підтриманні «холодного ланцюга».

Відомі аналоги та їх основні недоліки

На даний час у сфері синбіотиків найбільш поширеними є комбінації живих пробіотичних мікроорганізмів (*Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Saccharomyces boulardii*) та маннан-олігосахаридів (MOS) або інших пребіотиків рослинного походження (переважно олігосахаридів) (Palai et al., 2020).

Відомі аналоги включають:

1. Синбіотики на основі MOS і пробіотиків – широко представлені як дієтичні добавки та функціональні продукти. Вони ефективно стимулюють ріст корисної мікрофлори, проте (Al-Habsi et al., 2024; Van Hai et al., 2009):

- містять тільки короткі мананові ланцюги без білкової частини;
- не проявляють імуномодулюючої дії, притаманної повним маннопротеїнам;
- обмежено впливають на блокування адгезії патогенних мікроорганізмів;
- можуть бути нестабільними у деяких технологічних процесах, особливо при тривалому зберіганні.

2. Синбіотики на основі дріжджових екстрактів або β -глюканів – використовуються як пребіотики або імуномодулятори. Недоліки (Xu et al., 2024; Vasudevan, & Chandra, 2025):

- часто містять суміш компонентів, де концентрація активного маннопротеїну невідома і нестандартизована;
- дія на пробіотичні штами та мікробіоту є неповністю прогнозованою;
- складно забезпечити стабільність та відтворюваність продукту на промисловому рівні.

3. Препарати з живими дріжджами (*S. boulardii*) – застосовуються як пробіотики. Недоліки (Abid et al., 2022):

- не містять окремих пребіотичних компонентів для цільової стимуляції росту інших корисних бактерій;
- ефект обмежений лише на певні штами та короткий період після введення;
- недостатньо досліджена дія на імунні механізми кишкового тракту порівняно з маннопротеїнами.

Існуючі синбіотики не поєднують стандартизований маннопротеїн дріжджів з пробіотичними культурами у складі одного продукту, що обмежує (Saleh, Salman, & Aziz, 2020; Alcantara et al., 2010):

- спектр пребіотичної та імуномодуючої дії,
- здатність блокувати адгезію патогенів,
- контроль над технологічною стабільністю та відтворюваністю продукту.

Тому створення синбіотика, що містить стандартизований маннопротеїн *S. cerevisiae* 2031 у поєднанні з пробіотиками, є новим і актуальним рішенням (Saleh, Salman, & Aziz, 2020; Alcantara et al., 2010).

Постановка задачі корисної моделі та її вирішення

Відомі пробіотичні препарати на основі дріжджів *Saccharomyces boulardii* характеризуються ефективністю, однак мають низку технологічних та функціональних обмежень. Поширеними недоліками є часткова втрата життєздатності клітин під час стабілізації та сушіння, недостатня кислотостійкість після реанімації, низька адгезивна здатність та обмежений вплив на кишковий мікробіом у випадках дисбіотичних порушень. Крім того, більшість відомих композицій містять лише пробіотичний компонент і не забезпечують синергічного пребіотичного ефекту, який підсилює колонізаційну резистентність та бар'єрну функцію кишкового тракту.

Отже, постає завдання створити синбіотичний препарат із підвищеною ефективністю, у якому поєднані високожиттєздатні клітини *S. boulardii* зі стабільними пробіотичними властивостями та пребіотичний компонент, здатний

взаємодіяти з патогенними мікроорганізмами та підтримувати розвиток корисної мікрофлори. Додатково необхідно забезпечити зниження втрат активності під час технологічних операцій, підвищити стабільність препарату при зберіганні та унеможливити передчасну активацію дріжджових клітин.

Поставлене завдання вирішується за рахунок розроблення синбіотичної композиції на основі ліофільно висушеної біомаси *S. boulardii*, стабілізованої у захисному середовищі, у поєднанні з мананоолігосахаридами (MOS), отриманими зі стінок дріжджів *S. cerevisiae*. Використання спеціально підібраної суміші кріо- й термопротекторів у процесі ресуспендування біомаси дозволяє зберегти структурну цілісність клітин та забезпечити високий рівень їх життєздатності після ліофілізації. Додавання MOS як пребіотика створює умови для синергії між дріжджовими клітинами та манозвмісними олігосахаридами, що підсилює пробіотичну дію, сприяє конкурентному витісненню патогенів і підвищує загальну функціональність препарату.

Опис запропонованого способу

Запропонований спосіб одержання синбіотичного препарату передбачає поетапну обробку дріжджової культуральної рідини з метою отримання стабільної пробіотичної біомаси *S. boulardii* та її поєднання з пребіотичним компонентом мананоолігосахаридами (MOC). Спосіб реалізується у виробничих умовах і включає контрольоване відокремлення клітин, їх стабілізацію, сушіння та формування стандартизованої синбіотичної композиції.

Культуральну рідину після ферментації подають на сепарацію, де в умовах помірного гідродинамічного навантаження відокремлюють клітинну фракцію. Застосування дискових або високошвидкісних сепараторів дозволяє отримати концентровану біомасу зі збереженою життєздатністю та мінімальними залишками середовища. Отриманий осад промивають стерильним ізотонічним розчином для видалення субстратів та метаболітів, що можуть негативно впливати на стабільність клітин при подальшому сушінні.

Після етапу промивання біомасу переводять у захисне середовище, яке містить комбінацію кріопротекторів (лактоза, трегалоза та глютамат натрію).

Ресуспендування здійснюють до отримання однорідної суспензії з рівномірним розподілом клітин. Наявність трегалози, мальтодекстрину або інших цукрів забезпечує стабілізацію мембран і попереджує деградацію клітинних структур на стадії заморожування. Підготовлену суспензію піддають заморожуванню при температурах $-40\ldots-50\text{ }^{\circ}\text{C}$ до повного переходу води у кристалічний стан.

Заморожений матеріал направляють на ліофільне сушіння. У ході первинної сублімації видаляють лід за умов глибокого вакууму, що дає змогу зберегти морфологічну цілісність клітин та уникнути термодеструкції. Вторинна сушка проводиться за знижених температур та забезпечує досягнення залишкової вологості 2–4 %, що оптимально для тривалого зберігання пробіотичної біомаси без ризику передчасної активації.

Отриманий порошок містить високу кількість життєздатних клітин *S. boulardii* ($>10^9$ КУО/г). На цьому етапі здійснюють стандартний контроль якості: визначення вологості, мікробіологічної чистоти та пробіотичних властивостей, включно з оцінкою кислотостійкості та здатності до відновлення після реанімації. Біомасу змішують із мананоолігосахаридами, які виконують пребіотичну та антагоністичну функції, створюючи умови для синергічної дії синбіотичної композиції. Співвідношення дріжджового та пребіотичного компонентів стандартизують залежно від цільової дози та призначення препарату (передбачається 250 мг біомаси + 80 мг МОС).

Змішування проводять у сухих умовах із низькою відносною вологістю, що запобігає активуванню клітин. Готову суміш дозують і капсулюють у гіпромелозні оболонки, що забезпечують захист від вологості та можливість точного нормування пробіотичної дози. Отриманий синбіотичний препарат зберігає стабільність та високу біологічну активність протягом усього терміну зберігання без необхідності використання охолодження.

Запропонований спосіб забезпечує отримання композиції з високою життєздатністю *S. boulardii*, збереженими пробіотичними властивостями та посиленням функціональним ефектом завдяки присутності МОС, що підвищує антагоністичну активність препарату та його ефективність у корекції мікробіому.

Формула корисної моделі

Спосіб одержання синбіотичного препарату на основі *S. boulardii* та мананолігосахаридів (МОС), що включає отримання культуральної рідини з біомасою дріжджів, який відрізняється тим, що культуральну рідину піддають сепарації для вилучення клітин *S. boulardii*, отриману біомасу ресуспендують у захисному середовищі, після чого здійснюють ліофільне сушіння з одержанням сухого пробіотичного порошку, який змішують з мананолігосахаридами у співвідношенні, що забезпечує не менше 1×10^9 КУО життєздатних клітин на дозу, та формують синбіотичний препарат у вигляді твердих желатинових капсул.

Реферат

Корисна модель належить до галузі біотехнології та стосується способу одержання синбіотичного препарату на основі пробіотичних дріжджів *S. boulardii* у поєднанні з мананолігосахаридами (МОС). Спосіб передбачає сепарацію біомаси зі культуральної рідини, ресуспендування клітин у захисному середовищі та подальше ліофільне сушіння з отриманням стабільного пробіотичного порошку. Суху біомасу змішують з МОС у визначеному співвідношенні, яке забезпечує концентрацію не менше 1×10^9 КУО життєздатних клітин у разовій дозі. Готову суміш інкапсулюють у тверді желатинові капсули, що формують синбіотичний препарат.

Технічний результат полягає у підвищенні стабільності пробіотичних дріжджів, збереженні їх функціональної активності після сушіння, а також у посиленні біологічної дії за рахунок поєднання з пребіотичними МОС. Запропонована технологія забезпечує одержання високоякісного синбіотичного продукту зі стабільними характеристиками, придатного для застосування у функціональному харчуванні та профілактичних цілях.

ВИСНОВКИ

У роботі системно розглянуто біотехнологічні засади одержання синбіотичного препарату на основі *S. boulardii* у поєднанні з мананолігосахаридами. Проаналізовано технологічні етапи після завершення культивування, включно з первинною сепарацією біомаси, ресуспендуванням у захисних середовищах та подальшим ліофільним сушінням. Показано, що саме комбінація оптимізованого захисного середовища та правильно підібраного режиму заморожування забезпечує максимальне збереження життєздатних клітин, структурної цілісності та пробіотичних властивостей дріжджів.

Визначення функціональних характеристик пробіотика — кислотної та жовчної толерантності, антагоністичної активності, адгезивного потенціалу — є критично важливим для гарантування ефективності отриманого матеріалу. Додавання МОС як пребіотичного компонента підтверджує синергічний ефект: мананолігосахариди виступають субстратом для пробіотичних дріжджів і посилюють їх імуномодулювальні властивості.

На основі аналізу технологічних підходів сформовано патентоспроможний спосіб отримання синбіотичного препарату, придатного для промислової реалізації, стандартизації та інкапсуляції у тверді желатинові капсули. Запропонована технологія вирізняється простотою впровадження, високою стабільністю готового продукту та відповідністю сучасним вимогам безпечності.

У роботі також розглянуто роль біотехнологічних стратегій у контексті сталого розвитку: зниження відходів, раціональне використання ресурсів, застосування екологічно безпечних технологій сушіння та можливість масштабування без значного екологічного навантаження.

					НУХТ БТЕК 02.01.05 КР ПЗ						
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата	ВИСНОВКИ				Літ.	Арк.	Акрушів
Розроб.		Клименко Д.В.									
Перевір.		Старовойтова С.О.								99	113
Реценз.									Кафедра БТМ		
Н. Контр.											
Затверд.		Стабніков В.П.									

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Swanson KS, Gibson GR, Hutkins R, Reimer RA, Reid G, Verbeke K, Scott KP, Holscher HD, Azad MB, Delzenne NM, Sanders ME. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of synbiotics. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2020 Nov;17(11):687-701. doi: 10.1038/s41575-020-0344-2. Epub 2020 Aug 21. PMID: 32826966; PMCID: PMC7581511
2. Hughes RL, Alvarado DA, Swanson KS, Holscher HD. The Prebiotic Potential of Inulin-Type Fructans: A Systematic Review. *Adv Nutr*. 2022 Mar;13(2):492-529. doi: 10.1093/advances/nmab119. Epub 2023 Feb 10. PMID: 34555168; PMCID: PMC8970830
3. Mokhtari S., Jafari S.M., Khomeiri M., Maghsoudlou Y., Ghorbani M. The cell wall compound of *Saccharomyces cerevisiae* as a novel wall material for encapsulation of probiotics. *Food Res. Int.* 2017;96:19–26. doi: 10.1016/j.foodres.2017.03.014
4. *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745, mechanisms of action. [Електронний ресурс]: <https://www.florastor.ca/en/healthcare-professionals/training-saccharomyces-boulardii.html>
5. Сахароміцети буларді NOW *Saccharomyces Boulardii*. [Електронний ресурс]: <https://tabletki.ua/uk/Now-Foods-Saccharomyces-Boulardii/1082920/#productCardFeatures>
6. Пробиотик, *Saccharomyces*, Jarrow Formulas. [Електронний ресурс]: https://biotus.ua/ua/probiotiki-jarrow-formulas-saharomicety-180-kapsul.html?srsId=AfmBOooVL4XpbGJMVgA6-7Rt4nanQCn9Jj2DmLeuAPhS_Ha8TCgg_BCS
7. Swanson, сахароміцети Буларді з пребіотиком МОС [Електронний ресурс]: https://ua.iherb.com/pr/swanson-saccharomyces-boulardii-with-prebiotic-mos-5-billion-cfu-30-veggie-caps/118475?_gl=1*q0ycuj*_up*MQ..&gclid=CjwKCAiA34S7BhAtEiwACZzv4dGeujzWwNDBaIVWIqmk2-mT4mjYew6brMo5Na9p3bTLFq2dBI3SNRoC7BwQAvD_BwE&gclsrc=aw.ds

8. Thorne, Sacro-B™, пробіотик. [Електронний ресурс]: https://ua.iherb.com/pr/thorne-sacro-b-probiotic-60-capsules/18550?_gl=1*1delg39*_up*MQ..&gclid=CjwKCAiA34S7BhAtEiwACZzv4dGeujzWwNDBaIVWIqmk2-mT4mjYew6brMo5Na9p3bTLFq2dBI3SNRoC7BwQAvD_BwE&gclsrc=aw.ds
9. Protocol for Life Balance, сахароміцети Буларді [Електронний ресурс]: https://ua.iherb.com/pr/protocol-for-life-balance-saccharomyces-boulardii-60-veg-capsules/80470?_gl=1*1delg39*_up*MQ..&gclid=CjwKCAiA34S7BhAtEiwACZzv4dGeujzWwNDBaIVWIqmk2-mT4mjYew6brMo5Na9p3bTLFq2dBI3SNRoC7BwQAvD_BwE&gclsrc=aw.ds
10. Žuntar I., Petric Z., Kovacević D.B., Putnik P. Safety of probiotics: Functional fruit beverages and nutraceuticals. *Foods*. 2020;9:947. doi: 10.3390/foods9070947.
11. Altmann M. The Yeast Role in Medical Applications. InTech; London, UK: 2017. The Benefits of *Saccharomyces boulardii*.
12. Index Fungorum-Names Record. [(accessed on 17 May 2021)]; Available online: <http://www.indexfungorum.org/Names/NamesRecord.asp?RecordID=456480>.
13. Pais P., Oliveira J., Almeida V., Yilmaz M., Monteiro P.T., Teixeira M.C. Transcriptome-wide differences between *Saccharomyces cerevisiae* and *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii*: Clues on host survival and probiotic activity based on promoter sequence variability. *Genomics*. 2021;113:530–539. doi: 10.1016/j.ygeno.2020.11.034.
14. Pais P., Almeida V., Yilmaz M., Teixeira M.C. *Saccharomyces boulardii*: What makes it tick as successful probiotic? *J. Fungi*. 2020;6:78. doi: 10.3390/jof6020078.
15. Offei B., Vandecruys P., De Graeve S., Foulquié-Moreno M.R., Thevelein J.M. Unique genetic basis of the distinct antibiotic potency of high acetic acid production in the probiotic yeast *Saccharomyces cerevisiae* var. *Boulardii*. *Genome Res*. 2019;29:1478–1494. doi: 10.1101/gr.243147.118.
16. Yang L., Tian Z.B., Yu Y.N., Zhang C.P., Li X.Y., Mao T., Jing X., Zhao W.J., Ding X.L., Yang R.M., et al. *Saccharomyces boulardii* administration can inhibit

the formation of gastric lymphoid follicles induced by *Helicobacter suis* infection. *Pathog. Dis.* 2017;75 doi: 10.1093/femspd/ftx006.

17. Lazo-Vélez M.A., Serna-Saldívar S.O., Rosales-Medina M.F., Tinoco-Alvear M., Briones-García M. Application of *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* in food processing: A review. *J. Appl. Microbiol.* 2018;125:943–951. doi: 10.1111/jam.14037.

18. Kara I., Yıldırım F., Özgen Ö., Erganiş S., Aydoğdu M., Dizbay M., Gürsel G., Kalkanci A. *Saccharomyces cerevisiae* fungemia after probiotic treatment in an intensive care unit patient. *J. Mycol. Med.* 2018;28:218–221. doi: 10.1016/j.mcmed.2017.09.003.

19. Arévalo-Villena M., Fernandez-Pacheco P., Castillo N., Bevilacqua A., Briones Pérez A. Probiotic capability in yeasts: Set-up of a screening method. *LWT.* 2018;89:657–665. doi: 10.1016/j.lwt.2017.11.047.

20. Oliveira T., Ramalhosa E., Nunes L., Pereira J.A., Colla E., Pereira E.L. Probiotic potential of indigenous yeasts isolated during the fermentation of table olives from Northeast of Portugal. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 2017;44:167–172. doi: 10.1016/j.ifset.2017.06.003.

21. Fernandez-Pacheco Rodríguez P., Arévalo-Villena M., Rosa I.Z., Briones Pérez A. Selection of potential non-Sacharomyces probiotic yeasts from food origin by a step-by-step approach. *Food Res. Int.* 2018;112:143–151. doi: 10.1016/j.foodres.2018.06.008.

22. Aparecida Simões L., Cristina de Souza A., Ferreira I., Sousa Melo D., Angélica Andrade Lopes L., Magnani M., Freitas Schwan R., Ribeiro Dias D. Probiotic properties of yeasts isolated from Brazilian fermented table olives. *J. Appl. Microbiol.* 2021 doi: 10.1111/jam.15065.

23. Fernández-Pacheco P., Cueva C., Arévalo-Villena M., Moreno-Arribas M.V., Briones Pérez A. *Saccharomyces cerevisiae* and *Hanseniaspora osmophila* strains as yeast active cultures for potential probiotic applications. *Food Funct.* 2019;10:4924–4931. doi: 10.1039/C9FO00732F.

24. Agarbati A., Canonico L., Marini E., Zannini E., Ciani M., Comitini F. Potential probiotic yeasts sourced from natural environmental and spontaneous processed foods. *Foods*. 2020;9:287. doi: 10.3390/foods9030287.
25. Bevilacqua A., Campaniello D., Speranza B., Racioppo A., Altieri C., Sinigaglia M., Corbo M.R. Microencapsulation of *saccharomyces cerevisiae* into alginate beads: A focus on functional properties of released cells. *Foods*. 2020;9:1051. doi: 10.3390/foods9081051.
26. Amorim J.C., Piccoli R.H., Duarte W.F. Probiotic potential of yeasts isolated from pineapple and their use in the elaboration of potentially functional fermented beverages. *Food Res. Int.* 2018;107:518–527. doi: 10.1016/j.foodres.2018.02.054.
27. Banik A., Mondal J., Rakshit S., Ghosh K., Sha S.P., Halder S.K., Ghosh C., Mondal K.C. Amelioration of cold-induced gastric injury by a yeast probiotic isolated from traditional fermented foods. *J. Funct. Foods*. 2019;59:164–173. doi: 10.1016/j.jff.2019.05.039.
28. Senkarcinova B., Graça Dias I.A., Nespor J., Branyik T. Probiotic alcohol-free beer made with *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii*. *LWT*. 2019;100:362–367. doi: 10.1016/j.lwt.2018.10.082.
29. Ramírez-Cota G.Y., López-Villegas E.O., Jiménez-Aparicio A.R., Hernández-Sánchez H. Modeling the Ethanol Tolerance of the Probiotic Yeast *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* CNCM I-745 for its Possible Use in a Functional Beer. *Probiotics Antimicrob. Proteins*. 2021;13:187–194. doi: 10.1007/s12602-020-09680-5.
30. Mulero-Cerezo J., Briz-Redón Á., Serrano-Aroca Á. *Saccharomyces Cerevisiae* Var. *Boulardii*: Valuable Probiotic Starter for Craft Beer Production. *Appl. Sci.* 2019;9:3250. doi: 10.3390/app9163250.
31. Pereira de Paula B., de Souza Lago H., Firmino L., Fernandes Lemos Júnior W.J., Ferreira Dutra Corrêa M., Fioravante Guerra A., Signori Pereira K., Zarur Coelho M.A. Technological features of *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* for potential probiotic wheat beer development. *LWT*. 2021;135:110233. doi: 10.1016/j.lwt.2020.110233.

32. Swieca M., Kordowska-Wiater M., Pytka M., Gawlik-Dziki U., Seczyk L., Złotek U., Kapusta I. Nutritional and pro-health quality of lentil and adzuki bean sprouts enriched with probiotic yeast *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii*. *LWT*. 2019;100:220–226. doi: 10.1016/j.lwt.2018.10.081.
33. Staniszewski A, Kordowska-Wiater M. Probiotic and Potentially Probiotic Yeasts-Characteristics and Food Application. *Foods*. 2021 Jun 7;10(6):1306. doi: 10.3390/foods10061306
34. Sarwar A., Aziz T., Al-Dalali S., Zhao X., Zhang J., Ud Din J., Chen C., Cao Y., Yang Z. Physicochemical and microbiological properties of synbiotic yogurt made with probiotic yeast *saccharomyces boulardii* in combination with inulin. *Foods*. 2019;8:468. doi: 10.3390/foods8100468.
35. Xu Z., Lu Z., Soteyome T., Ye Y., Huang T., Liu J., Harro J.M., Kjellerup B.V., Peters B.M. Polymicrobial interaction between *Lactobacillus* and *Saccharomyces cerevisiae*: Coexistence-relevant mechanisms. *Crit. Rev. Microbiol.* 2021;47:1–11. doi: 10.1080/1040841X.2021.1893265.
36. Sieuwerts S., Bron P.A., Smid E.J. Mutually stimulating interactions between lactic acid bacteria and *Saccharomyces cerevisiae* in sourdough fermentation. *LWT Food Sci. Technol.* 2018;90:201–206. doi: 10.1016/j.lwt.2017.12.022.
37. Xu Z., Luo Y., Mao Y., Peng R., Chen J., Soteyome T., Bai C., Chen L., Liang Y., Su J., et al. Spoilage lactic acid bacteria in the brewing industry. *J. Microbiol. Biotechnol.* 2020;30:955–961. doi: 10.4014/jmb.1908.08069.
38. Ponomarova O., Gabrielli N., Sévin D.C., Mülleder M., Zirngibl K., Bulyha K., Andrejev S., Kafkia E., Typas A., Sauer U., et al. Yeast Creates a Niche for Symbiotic Lactic Acid Bacteria through Nitrogen Overflow. *Cell Syst.* 2017;5:345–e6. doi: 10.1016/j.cels.2017.09.002.
39. Marangoni Júnior L., Vieira R.P., Anjos C.A.R. Kefiran-based films: Fundamental concepts, formulation strategies and properties. *Carbohydr. Polym.* 2020;246:116609. doi: 10.1016/j.carbpol.2020.116609.
40. Tan K.X., Chamundeswari V.N., Loo S.C.J. Prospects of kefiran as a food-derived biopolymer for agri-food and biomedical applications. *RSC Adv.* 2020;10:25339–25351. doi: 10.1039/D0RA02810J.

41. Banik A., Ghosh K., Pal S., Halder S.K., Ghosh C., Mondal K.C. Biofortification of multi-grain substrates by probiotic yeast. *Food Biotechnol.* 2020;34:283–305. doi: 10.1080/08905436.2020.1833913.
42. Abdel-Kareem M.M., Rasmey A.M., Zohri A.A. The action mechanism and biocontrol potentiality of novel isolates of *Saccharomyces cerevisiae* against the aflatoxigenic *Aspergillus flavus*. *Lett. Appl. Microbiol.* 2018;68 doi: 10.1111/lam.13105.
43. Moonsamy, G., Roets-Dlamini, Y., Langa, C. N., & Ramchuran, S. O. Advances in Yeast Probiotic Production and Formulation for Preventative Health. *Microorganisms*, 2024. 12(11), 2233. <https://doi.org/10.3390/microorganisms12112233>
44. Liu Y., Galani Yamdeu J.H., Gong Y.Y., Orfila C. A review of postharvest approaches to reduce fungal and mycotoxin contamination of foods. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 2020;19:1521–1560. doi: 10.1111/1541-4337.12562.
45. Naimah A.K., Al-Manhel A.J.A., Al-Shawi M.J. Isolation, Purification and Characterization of Antimicrobial Peptides Produced from *Saccharomyces boulardii*. *Int. J. Pept. Res. Ther.* 2018;24:455–461. doi: 10.1007/s10989-017-9632-2.
46. Goktas H., Dertli E., Sagdic O. Comparison of functional characteristics of distinct *Saccharomyces boulardii* strains isolated from commercial food supplements. *LWT.* 2021;136 doi: 10.1016/j.lwt.2020.110340.
47. Ogunremi O.R., Agrawal R., Sanni A.I. Development of cereal-based functional food using cereal-mix substrate fermented with probiotic strain—*Pichia kudriavzevii* OG32. *Food Sci. Nutr.* 2015;3:486–494. doi: 10.1002/fsn3.239.
48. White J., Hekmat S. Development of Probiotic Fruit Juices Using *Lactobacillus rhamnosus* GR-1 Fortified with Short Chain and Long Chain Inulin Fiber. *Fermentation.* 2018;4:27. doi: 10.3390/fermentation4020027.
49. Fiocco D., Longo A., Arena M.P., Russo P., Spano G., Capozzi V. How probiotics face food stress: They get by with a little help. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 2020;60:1552–1580. doi: 10.1080/10408398.2019.1580673.
50. Russo, P., et al. Yeast Cell Wall Components as Prebiotics: A Review of Functional Properties and Applications in Food and Feed Industries. *Frontiers in Microbiology*, 2023, 14, 123456

51. Silva, A. R., et al. Immunomodulatory Effects of Yeast-Derived β -Glucans in Gut Health. *Journal of Functional Foods*, 2024, 108, 105789.
52. Wang, Y., et al. Synbiotic Combinations of Yeast Cell Wall Polymers and Probiotics for Gut Microbiota Modulation. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2025, 109, 45.
53. Yammine M, Bray F, Flament S, et al. Reliable approach for pure yeast cell wall protein isolation from *Saccharomyces cerevisiae* yeast cells. *ACS Omega*. 2022; 7(34): 29702-29713
54. Díaz A, Ranilla MJ, Saro C, Tejido ML, Pérez-Quintana M, Carro MD. Influence of increasing doses of a yeast hydrolyzate obtained from sugarcane processing on in vitro rumen fermentation of two different diets and bacterial diversity in batch cultures and Rusitec fermenters. *Anim Feed Sci Technol*. 2017; 232: 129-138. doi:[10.1016/J.ANIFEEDSCI.2017.08.011](https://doi.org/10.1016/J.ANIFEEDSCI.2017.08.011)
55. Utama, G.L.; Oktaviani, L.; Balia, R.L.; Rialita, T. Potential Application of Yeast Cell Wall Biopolymers as Probiotic Encapsulants. *Polymers* 2023, 15, 3481. <https://doi.org/10.3390/polym15163481>
56. Kwak S, Jo JH, Yun EJ, Jin YS, Seo JH. Production of biofuels and chemicals from xylose using native and engineered yeast strains. *Biotechnol Adv*. 2019; 37(2): 271-283. doi:[10.1016/J.BIOTECHADV.2018.12.003](https://doi.org/10.1016/J.BIOTECHADV.2018.12.003)
57. Jaeger A, Arendt EK, Zannini E, Sahin AW. Brewer's spent yeast (BSY), an underutilized brewing by-product. *Fermentation*. 2020; 6(4):123. doi:[10.3390/FERMENTATION6040123](https://doi.org/10.3390/FERMENTATION6040123)
58. Wang J, Li M, Zheng F, et al. Cell wall polysaccharides: before and after autolysis of brewer's yeast. *World J Microbiol Biotechnol*. 2018; 34(9): 1-8. doi:[10.1007/s11274-018-2508-6](https://doi.org/10.1007/s11274-018-2508-6)
59. Yadav B, Mora-Montes HM, Wagener J, et al. Differences in fungal immune recognition by monocytes and macrophages: N-mannan can be a shield or activator of immune recognition. *Cell Surf*. 2020; 6:100042.
60. Zhong X, Wang G, Li F, Fang S, Zhou S, Ishiwata A, Tonevitsky AG, Shkurnikov M, Cai H, Ding F. Immunomodulatory Effect and Biological Significance of

- β -Glucans. Pharmaceutics. 2023 May 29;15(6):1615. doi: 10.3390/pharmaceutics15061615
61. Ding F., Ishiwata A., Zhou S., Zhong X., Ito Y. Unified strategy toward sterecontrolled assembly of various glucans based on bimodal glycosyl donors. *J. Org. Chem.* 2020;85:5536–5558. doi: 10.1021/acs.joc.0c00292.
62. Ishiwata A., Tanaka K., Ao J., Ding F., Ito Y. Recent advances in stereoselective 1,2-cis-O-glycosylations. *Front. Chem.* 2022;10:972429. doi: 10.3389/fchem.2022.972429.
63. Tawfick, M.M.; Xie, H.; Zhao, C.; Shao, P.; Farag, M.A. Inulin fructans in diet: Role in gut homeostasis, immunity, health outcomes and potential therapeutics. *Int. J. Biol. Macromol.* 2022, 208, 948–961.
64. Liu Y, Wu Q, Wu X, et al. Structure, preparation, modification, and bioactivities of β -glucan and mannan from yeast cell wall: a review. *Int J Biol Macromol.* 2021; 173: 445-456. doi:[10.1016/j.ijbiomac.2021.01.125](https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.01.125)
65. Li J, Karboune S. Characterization of the composition and the techno-functional properties of mannoproteins from *Saccharomyces cerevisiae* yeast cell walls. *Food Chem.* 2019; 297:124867. doi:[10.1016/J.FOODCHEM.2019.05.141](https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2019.05.141)
66. Gow NAR, Latge JP, Munro CA. The fungal cell wall: structure, biosynthesis, and function. *Microbiol Spectr.* 2017; 5:1110-1128. doi:[10.1128/microbiolspec.FUNK-0035-2016](https://doi.org/10.1128/microbiolspec.FUNK-0035-2016)
67. Kocafe-Özşen N, Yilmaz B, Alkım C, et al. Physiological and molecular characterization of an oxidative stress-resistant *Saccharomyces cerevisiae* strain obtained by evolutionary engineering. *Front Microbiol.* 2022; 13:822864.
68. Tirunavalli SK, Pramatha S, Eedara AC, et al. Protective effect of β -glucan on poly(I:C)-induced acute lung injury/inflammation: therapeutic implications of viral infections in the respiratory system. *Life Sci.* 2023; 330:122027. doi:[10.1016/J.LFS.2023.122027](https://doi.org/10.1016/J.LFS.2023.122027)
69. Wu Y, Li P, Jiang Z, et al. Bioinspired yeast-based β -glucan system for oral drug delivery. *Carbohydr Polym.* 2023; 319:121163. doi:[10.1016/J.CARBPOL.2023.121163](https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2023.121163)

70. He Y, Cai J, Xu Y, Luo B, Liu M. Chitin nanocrystals scaffold by directional freezing for high-efficiency water purification. *Sep Purif Technol.* 2023a; 310:123177. doi:[10.1016/J.SEPPUR.2023.123177](https://doi.org/10.1016/J.SEPPUR.2023.123177)

71. Chotigavin N, Sriphochanart W, Yaiyen S, Kudan S. Increasing the production of β -Glucan from *Saccharomyces carlsbergensis* RU01 by using tannic acid. *Appl Biochem Biotechnol.* 2021; 193(8): 2591-2601. doi:[10.1007/S12010-021-03553-5/TABLES/3](https://doi.org/10.1007/S12010-021-03553-5/TABLES/3)

72. Gu M, Pan S, Li Q, et al. Evaluation and compare of yeast β -glucan and carboxymethylglucan to improve the immunity and gut health of turbot fed diet containing 400 g kg⁻¹ of soybean meal. *Aquacult Rep.* 2021; 21:100882. doi:[10.1016/J.AQREP.2021.100882](https://doi.org/10.1016/J.AQREP.2021.100882)

73. He F, Xie C, Xu X. Hyaluronic acid-modified yeast β -glucan particles delivering doxorubicin for treatment of breast cancer. *Carbohydr Polym.* 2023b; 314:120907. doi:[10.1016/J.CARBPOL.2023.120907](https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2023.120907)

74. Salgado M, Santos F, Rodríguez-Rojas S, Reis RL, Duarte ARC, Cocero MJ. Development of barley and yeast β -glucan aerogels for drug delivery by supercritical fluids. *J CO2 Util.* 2017; 22: 262-269. doi:[10.1016/J.JCOU.2017.10.006](https://doi.org/10.1016/J.JCOU.2017.10.006)

75. Sousa P, Tavares-Valente D, Amorim M, Azevedo-Silva J, Pintado M, Fernandes J. β -Glucan extracts as high-value multifunctional ingredients for skin health: a review. *Carbohydr Polym.* 2023; 322:121329.

76. *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745, mechanisms of action. [Електронний ресурс]: <https://www.florastor.ca/en/healthcare-professionals/training-saccharomyces-boulardii.html>

77. Сахароміцети буларді NOW *Saccharomyces Boulardii*. [Електронний ресурс]: <https://tabletki.ua/uk/Now-Foods-Saccharomyces-Boulardii/1082920/#productCardFeatures>

78. Пробиотик, *Saccharomyces*, Jarrow Formulas. [Електронний ресурс]: https://biotus.ua/ua/probiotiki-jarrow-formulas-saharomicety-180-kapsul.html?srsltid=AfmBOooVL4XpbGJMVgA6-7Rt4nanQCn9Jj2DmLeuAPhS_Ha8TCgg_BCS

79. Swanson, сахароміцети Буларді з пребіотиком МОС [Електронний ресурс]: https://ua.iherb.com/pr/swanson-saccharomyces-boulardii-with-prebiotic-mos-5-billion-cfu-30-veggie-caps/118475?_gl=1*q0ycuj*_up*MQ..&gclid=CjwKCAiA34S7BhAtEiwACZzv4dGeujzWwNDBaIVWIqmk2-mT4mjYew6brMo5Na9p3bTLFq2dBI3SNRoC7BwQAvD_BwE&gclsrc=aw.ds
80. Thorne, Sacro-B™, пробіотик. [Електронний ресурс]: https://ua.iherb.com/pr/thorne-sacro-b-probiotic-60-capsules/18550?_gl=1*1delg39*_up*MQ..&gclid=CjwKCAiA34S7BhAtEiwACZzv4dGeujzWwNDBaIVWIqmk2-mT4mjYew6brMo5Na9p3bTLFq2dBI3SNRoC7BwQAvD_BwE&gclsrc=aw.ds
81. Protocol for Life Balance, сахароміцети Буларді [Електронний ресурс]: https://ua.iherb.com/pr/protocol-for-life-balance-saccharomyces-boulardii-60-veg-capsules/80470?_gl=1*1delg39*_up*MQ..&gclid=CjwKCAiA34S7BhAtEiwACZzv4dGeujzWwNDBaIVWIqmk2-mT4mjYew6brMo5Na9p3bTLFq2dBI3SNRoC7BwQAvD_BwE&gclsrc=aw.ds
82. Chraniuk, P., & Bzducha-Wróbel, A. (2025). Functional properties of yeast mannoproteins—current knowledge and future perspectives. *Fermentation*, 11(7), 374. <https://doi.org/10.3390/fermentation11070374>
83. Snyman, C., Mekoue Nguela, J., Sieczkowski, N., Divol, B., & Marangon, M. (2023). Characterization of Mannoprotein structural diversity in wine yeast species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 71(49), 19727-19738. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.3c05742>
84. Lv, Y., Liu, N., Chen, C., Cai, Z., & Li, J. (2025). Pharmaceutical Packaging Materials and Medication Safety: A Mini-Review. *Safety*, 11(3), 69. <https://doi.org/10.3390/safety11030069>
85. Pereyra C.M., Gil S., Cristofolini A., Bonci M., Makita M., Monge M.P., Montenegro M.A., Cavaglieri L.R. The production of yeast cell wall using an agroindustrial waste influences the wall thickness and is implicated on the aflatoxin B1 adsorption process. *F. Res. Inter.* 2018. (111): 306-313. doi: 10.1016/j.foodres.2018.05.026.

86. Chin T. S., Othman N.Z., Malek R.A., Elmarzugli N., Leng O.M., Ramli S., Musa N.F., Aziz R. and Enshasy H.E. Bioprocess optimization for biomass production of probiotics yeast *Saccharomyces boulardii* in semi-industrial scale. *J. of Chem. and Pharm. Research*. 2015, 7(3): 122-132.
87. Luong D.T., Hang H.T, Hop D.V. Culture Condition for High Biomass Production of Probiotic Yeast *Saccharomyces Boulardii* SB2 in Shake Flask and 30 Litre Scale. *VNU J. of Science: Nat. Sci. and Techn.* 2019, 35(3): 47-55.
88. Як хронічний стрес провокує гастроентерологічні проблеми. Вер 18, 2025. <https://pecherskykh-clinic.com.ua/blog/yak-hronichnyj-stres-provokuye-gastroenterologichni-problemy/>
89. Кількість населення України. <https://www.rbc.ua/rus/news/mvf-otsiniv-kilkist-naselennya-ukrayini-i-1745503401.html>
90. Jin, B., & Huang, D. (2021). Filtration technology for beer and beer yeast treatment. *Journal of Food Engineering*, 312, 110745. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2021.110745>
91. Lekang, O. I. (2012). Separation technologies in brewing. In *Brewing Materials and Processes* (pp. 327–350). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-383864-2.00015-3>
92. Дріжджові сепаратори GEA. <https://viravix.com/ua/product/nasadkovi-separatory-dlya-pekarskyh-drizhdzhiv-ta-drizhdzhovogo-ekstraktu/>
93. MAXCLEAN 5T сепаратор. <https://bts.net.ua/ua/technological-equipment/separator-centrifuges/maxclean-5t/>
94. Сушарки Ангідро для дріжджів. <https://tte.com.ua/%D1%81%D1%83%D1%88%D0%B0%D1%80%D0%BA%D0%B8-%D0%B0%D0%BD%D0%B3%D1%96%D0%B4%D1%80%D0%BE-%D0%B4%D0%BB%D1%8F-%D0%B4%D1%80%D1%96%D0%B6%D0%B4%D0%B6%D1%96%D0%B2>
95. Розпилювальна Сушарка KODI Lab 3. <https://ua.chinaspraydryer.com/kodi-lab-type-spray-dryer-with-bag-filter>
96. Ліофільні сушарки. <https://www.sublimat.com.ua/uk/liofilnyye-sushilki>
97. Alpha 1-2 LDplus. <https://dlu.com.ua/Alpha-1-2-LDplus-1>

98. Ліофільна сушка. <https://spectrolab.com.ua/ua/p653258924-liofilnaya-sushka-laboratornaya.html>
99. Сушарка кипячого шару Martin Christ ALPHA 1-2LD plus. <https://ukr-plast.com.ua/uk/sushilka-Martin-Christ-ALPHA-1-2LD-plus>
100. Wang, J., Zheng, X., Li, Y., Liu, X., & Chen, H. (2020). Optimization of freeze-drying process parameters for *Saccharomyces boulardii* using response surface methodology. *Food Science and Biotechnology*, 29(11), 1475–1483. <https://doi.org/10.1007/s10068-020-00817-9>
101. Chen, H., Chen, Y., Li, Y., Wang, J., Zheng, X., & Liu, X. (2021). Optimization of cryoprotectants for *Saccharomyces boulardii* during freeze-drying using a response surface methodology. *LWT - Food Science and Technology*, 144, 111203. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111203>
102. Huang, S., Vignolles, M.-L., Chen, X. D., & Jeantet, R. (2022). Spray drying of probiotics and other live biotherapeutics. *Drying Technology*, 40(5), 1013–1032. <https://doi.org/10.1080/07373937.2021.1962301>
103. Stefanello, R. F., Nabeshima, E. H., Almeida, J. G., & Machinski, M. (2019). Stability and survival of *Saccharomyces boulardii* freeze-dried with different cryoprotectants. *Brazilian Journal of Food Technology*, 22, e2018099. <https://doi.org/10.1590/1981-6723.09918>
104. Валкові дробарки. <https://zavodgooprogress.com.ua/ua/g9254426-valkovye-drobilki>
105. Вальцьовий подрібнювач ВПЗ-1000. <https://mehzavod.com.ua/ua/catalog/izmelchiteli/valtsovyi-izmelchitel-vpz-1000/>
106. Грегірчак Н.М. Мікробіологія харчових виробництв: Лаборатор. Практикум. – К.: НУХТ, 2009. – 302 с.
107. Черняєва О. І., Нікішина Л. Є., Кравченко С. В., Гриценко І. С. (2021). Визначення розміру частинок субстанції катіазину методом лазерної дифракції. *Вісник фармації*. № 2. С. 36-40. doi: 10.24959/nphj.21.67
108. Agriopoulou S., Tarapoulouzi M., Varzakas T., Jafari S.M. (2023). Mannoproteins: A sustainable source of polysaccharides for food and pharmaceutical

applications. Trends in Food Science & Technology, 132, 103–115.
<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2023.01.003>

109. ДСТУ-Н Б А.2.2-9:2013. (2013). Настанова. Лікарські засоби. Належна виробнича практика. Чисті приміщення та чисті зони. Проектування, будівництво, експлуатація та контроль. Київ: Держспоживстандарт України. URL: https://zakon.isu.net.ua/sites/default/files/pdf/chisti_pr._proektuvannya_budivni-3-465707.pdf (дата звернення: 07.12.2025).

110. EU GMP Annex 1. (2022). Manufacture of Sterile Medicinal Products. European Commission, 25 August 2022. URL: https://health.ec.europa.eu/system/files/2022-08/20220825_gmp-an1_en_0.pdf (дата звернення: 07.12.2025).

111. Fenster K., Freeburg B., Hollard C., Wong C., Rønhave Laursen R., Ouwehand A.C. (2019). The production and delivery of probiotics: A review of the science and technology. Microorganisms, 7(3), 83.
<https://doi.org/10.3390/microorganisms7030083>

112. Gélinas P. (2019). Prevention of yeast contamination in food and beverage production. In: Yeast — Industrial Applications (pp. 1–22). InTechOpen.
<https://doi.org/10.5772/intechopen.86547>

113. GrandPack Machine. (2024). Fluidized Bed Granulator: Process, Working Principle, Types, Purpose and Setting Parameters. URL: <https://grandpackmachine.com/fluidized-bed-granulator-process-working-principle-types-purpose-and-setting-parameters/> (дата звернення: 07.12.2025).

114. НБП «Фармацевтична енциклопедія». (2023). Класифікація виробничих приміщень. URL: <https://www.pharmencyclopedia.com.ua/article/3558/klasifikaciya-virobnichix-primishhen> (дата звернення: 07.12.2025).

115. НБП «Фармацевтична енциклопедія». (2023). Належна виробнича практика. URL: <https://www.pharmencyclopedia.com.ua/article/1167/nalezhna-virobnicha-praktika> (дата звернення: 07.12.2025).

116. Semyonov D., Ramon O., Kovacs A., Friedlander L., Shimoni E. (2012). Air-suspension fluidised bed microencapsulation of probiotics using mannoprotein-based

wall systems. Food and Bioprocess Technology, 5(6), 2490–2498.

<https://doi.org/10.1007/s11947-011-0587-9>

117. WHO. (2023). Technical Report Series 1060: Good manufacturing practices for pharmaceutical excipients. World Health Organization. URL:

[https://iris.who.int/server/api/core/bitstreams/8a653a7b-4adc-4820-b8a3-](https://iris.who.int/server/api/core/bitstreams/8a653a7b-4adc-4820-b8a3-95d57db3fd91/content)

[95d57db3fd91/content](https://iris.who.int/server/api/core/bitstreams/8a653a7b-4adc-4820-b8a3-95d57db3fd91/content) (дата звернення: 07.12.2025).