

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) (ім'я та прізвище)

«__» лютий 2025 р.

«До захисту допущено»

Завідувач кафедри

Віктор СТАБНИКОВ
(підпис) (ім'я та прізвище)

«__» лютий 2025 р.

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА
НА ЗДОБУТТЯ ОСВІТНЬОГО СТУПЕНЯ БАКАЛАВРА

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

освітньо-професійної програми «Біотехнології: фармацевтична,
промислова, харчова, природоохоронна»

на тему: Одержання біомаси *Streptococcus thermophilus* для виробництва
ряжанки

Виконав: здобувач 5 курсу, групи 1

ЗАЛЕПА Дар'я Романівна
(прізвище, ім'я, по батькові повністю) (підпис)

Керівник БЕЛЕМЕЦЬ Тетяна Олександрівна
(прізвище, ім'я та по батькові повністю) (підпис)

Консультанти _____
(ім'я та прізвище) (підпис)

_____ (ім'я та прізвище) (підпис)

_____ (ім'я та прізвище) (підпис)

Рецензент ЮЩЕНКО Наталія
(ім'я та прізвище) (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 бакалавр

Спеціальність 162 «Біотехнології та біоінженерія»

(код і назва)

Освітньо-професійна програма «Біотехнології: фармацевтична, промислова, харчова, природоохоронна»

(назва)

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри біотехнології

і _____

мікробіології

Віктор

СТАБНІКОВ

“ 06 ” листопада 20 23 року

ЗАВДАННЯ

НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ ЗДОБУВАЧА

ЗАЛЕПА Дар'я Романівна

(прізвище, ім'я, по батькові)

1. Тема роботи Одержання біомаси *Streptococcus thermophilus* для виробництва рязанки

керівник роботи БЕЛЕМЕЦЬ Тетяна Олександрівна, к.т.н., ст.викладач

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

затверджені наказом закладу вищої освіти від 5 листопада 2024 року № 932

2. Строк подання здобувачем роботи 31 січня 2025 р.

3. Вихідні дані до роботи біологічний агент: *Streptococcus thermophilus*, цільовий продукт: біомаса, об'єм ферментера 250 л, коефіцієнт заповнення 0,7

4. Зміст пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно розробити)
РОЗДІЛ 1. Характеристика рязанки. РОЗДІЛ 2. Обґрунтування вибору та характеристика біологічного агента. РОЗДІЛ 3. Техніко-економічне обґрунтування виробництва рязанки. РОЗДІЛ 4. Біосинтез біомаси термофільного стрептокока. РОЗДІЛ 5. Обґрунтування вибору технологічної схеми. РОЗДІЛ 6. Специфікація обладнання для виробництва біомаси *Streptococcus thermophilus*. РОЗДІЛ 7. Опис технологічної схеми виробництва біомаси *Streptococcus thermophilus*. Розділ 8. Контроль виробництва. РОЗДІЛ 9. Охорона довкілля

5. Перелік графічного матеріалу

Технологічна схема виробництва біомаси термофільного стрептококу – 1 аркуш формату А1. Апаратурна схема виробництва біомаси термофільного стрептококу – 1 аркуш формату А1.

6. Консультанти розділів роботи

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

7. Дата видачі завдання 05 листопада 2024 року

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№	Назва етапів виконання кваліфікаційної роботи	Строк виконання етапів роботи	Примітка
1	Характеристика рязанки	05.11.2024- 20.11.2024	
2	Обґрунтування вибору та характеристика біологічного агента	06.11.2024- 20.11.2024	
3	Техніко-економічне обґрунтування виробництва рязанки	06.11.2024- 20.11.2024	
4	Обґрунтування вибору технологічної схеми	06.11.2024- 20.11.2024	
5	Специфікація обладнання для виробництва біомаси <i>Streptococcus thermophilus</i>	20.11.2024- 30.11.2024	
6	Опис технологічної схеми виробництва біомаси <i>Streptococcus thermophilus</i>	20.11.2024- 30.11.2024	
7	Контроль виробництва	20.11.2024- 30.11.2024	
8	Охорона довкілля	20.11.2024- 30.11.2024	
9	Оформлення пояснювальної записки	30.11.2024- 07.12.2024	
10	Виконання графічної частини проекту	30.11.2024- 07.12.2024	

Здобувач _____
(підпис)

Керівник роботи _____
(підпис)

Дар'я ЗАЛЕПА _____
(ім'я та прізвище)

Тетяна БЕЛЕМЕЦЬ _____
(ім'я та прізвище)

РЕФЕРАТ

Кваліфікаційна робота присвячена розробці біотехнологічного виробництва одержання закваски для ряжанки шляхом культивування біомаси *Streptococcus thermophilus* ST12. Даний біологічний агент було обрано через дешевизну клітин та їх високий вміст в культуральному середовищі, а також через швидкість їх утворення, що каже про високу активність культури, а це є важливим показником при виробництві закваски.

Ряжанка є дуже корисним продуктом та доволі вживаним на території України. Це пояснюється високим вмістом поживних мікроелементів, які покращують наш стан здоров'я, а також мікроорганізмами, які використовуються для її виробництва, оскільки більша частина з них мають пробіотичні властивості, тим самим поліпшуючи внутрішню мікрофлору людини.

При обґрунтуванні технологічної схеми для культивування *Streptococcus thermophilus* ST12 було визначено оптимальні умови. Даний біологічний агент культивується в статичних умовах, тому анаеробне культивування буде здійснюватися без додаткових умов (таких як продування інертним газом), передбачається також лужний титрант для врівноваження рівня рН на значенні 6,5, температура культивування – 40 °С. Також, важливим аспектом є асептика виробництва, оскільки температурний режим є оптимальним для більшості мікроорганізмів навколишнього середовища.

Кваліфікаційна робота складається з вступу, 9 розділів, графічної частини та списку використаної літератури з 81 найменувань. Загальний обсяг роботи – 91 сторінка, 10 рисунків, 15 таблиць, 2 креслення формату А1.

Ключові слова: ряжанка, кисломолочні продукти, молочнокислі бактерії, закваски, харчова промисловість, *Streptococcus thermophilus* ST12

ABSTRACT

The qualification work is devoted to the development of biotechnological production of baked ryazhenka starter by cultivating the biomass of *Streptococcus thermophilus* ST12. This biological agent was chosen because of the cheapness of the cells and their high content in the culture medium, as well as the rate of their formation, which indicates high activity of the culture, which is an important indicator in the production of sourdough starter.

Ryazhenka is a very healthy product and is quite popular in Ukraine. This is due to the high content of micronutrients that improve our health, as well as the microorganisms used for its production, as most of them have probiotic properties, thereby improving the internal microflora of humans.

When substantiating the technological scheme for cultivating *Streptococcus thermophilus* ST12, the optimal conditions were determined. This biological agent is cultivated under static conditions, so anaerobic cultivation will be carried out without additional conditions (such as purging with inert gas), an alkaline titrant is also provided to balance the pH level at 6.5, and the cultivation temperature is 40 °C. Also, an important aspect is the aseptic production, as the temperature regime is optimal for most environmental microorganisms.

The qualification work consists of an introduction, 9 chapters, a graphic part and a list of references of 81 titles. The total volume of the work is 91 pages, 10 figures, 15 tables, 2 drawings of A1 format.

Key words: fermented baked milk, fermented milk products, lactic acid bacteria, starter cultures, food industry, *Streptococcus thermophilus* ST12

ЗМІСТ

ВСТУП	6
РОЗДІЛ 1. ХАРАКТЕРИСТИКА РЯЖАНКИ	10
РОЗДІЛ 2. ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТА ХАРАКТЕРИСТИКА БІОЛОГІЧНОГО АГЕНТА	14
2.1. Обґрунтування вибору біологічного агента та поживного середовища для його культивування.....	14
2.2. Розрахунок складу поживного середовища.....	18
2.3. Морфолого-культуральні та фізіолого-біохімічні ознаки біологічного агента.....	19
2.4. Таксономічний статус <i>S. thermophilus</i>	23
РОЗДІЛ 3. ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ ВИРОБНИЦТВА РЯЖАНКИ	24
3.1. Потреба у виробництві ряжанки.....	24
3.2. Визначення загальної потужності виробництва ряжанки.....	30
3.3. Розрахунок загальної кількості циклів проектованого виробництва та об'єму виробничого ферментера.....	32
3.4. Розрахунок кількості необхідних етапів для підготовки посівного матеріалу.....	33
РОЗДІЛ 4. БІОСИНТЕЗ БІОМАСИ ТЕРМОФІЛЬНОГО СТРЕПТОКОКА	36
4.1. Шляхи катаболізму лактози у біологічного агента.....	34
4.2. Схема біотрансформації лактози в біомасу <i>S. thermophilus</i>	35
РОЗДІЛ 5. ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ	42
5.1. Обґрунтування способу культивування і типу ферментера.....	42
5.2. Обґрунтування вибору стадії підготовки аераційного повітря.....	44
5.3. Вибір мийних та дезінфікуючих засобів.....	46
5.4. Особливості підготовки та стерилізації поживного середовища.....	50

РОЗДІЛ 6. СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ ДЛЯ ВИРОБНИЦТВА БІОМАСИ <i>STREPTOCOCCUS THERMOPHILUS</i>	55
РОЗДІЛ 7. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ВИРОБНИЦТВА БІОМАСИ <i>STREPTOCOCCUS THERMOPHILUS</i>.....	58
РОЗДІЛ 8. КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА.....	64
8.1. Карта постадійного контролю.....	64
8.2. Мікробіологічний контроль.....	64
8.3. Визначення концентрації лактози та амінокислот з сухого молока..	69
8.4. Визначення концентрації біомаси та кількості життєздатних клітин.....	71
8.5. Показники якості ряжанки.....	72
РОЗДІЛ 9. ОХОРОНА ДОВКІЛЛЯ.....	74
9.1. Аналіз технологічної схеми виробництва цільового продукту на місця емісії твердих, рідких та газоподібних відходів.....	74
9.2 Перспективи впровадження системи екологізації виробництва.....	75
9.2.1. Система знешкодження та утилізації рідких відходів.....	75
9.2.2. Система знешкодження та утилізації твердих відходів.....	77
9.2.3. Система знешкодження газоповітряних викидів.....	78
9.2.4. Заходи щодо зменшення об'ємів відходів.....	80
СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ.....	84

ВСТУП

Ринок молочнокислої продукції в Україні посідає одне з провідних місць. Навіть зараз, за умов воєнного стану, наша країна лише збільшує експорт молочної продукції в Європу та інші країни, про що свідчить аналітика за квітень 2024 року. Україна в квітні 2024 року експортувала 10,42 тис. т молочних продуктів на суму \$21 млн. Про це повідомляє Асоціація виробників молока з посиланням на дані Держстату. Зазначається, що натуральні обсяги експорту виросли на 18% порівняно до березня поточного року і на 35% порівняно до квітня 2023 року. Грошова виручка за поставлені товари збільшилась на 14% порівняно до березня 2024 року і на 10% порівняно до квітня 2023 року [1].

Експорт кисломолочних продуктів станом на березень 2024 року склав 311 тон в натуральних обсягах, що на 5% більше порівняно до січня. Експортна виручка за поставлений товар склала 375 тис. дол.. Відбулося збільшення натуральних обсягів поставок в Молдову, Вірменію, Грузію. По більшій частині кисломолочні продукти в Україні купували Ліберія, Іспанія, Камерун та Панама. Близько 96% товару в січні було відвантажено в Молдову, 2% в Грузію, по 1% в Вірменію та ОАЕ. В січні-лютому натуральні обсяги експорту кисломолочної продукції виросли до 607 тон (+23%), а грошова виручка за поставлений товар збільшилась до 790 тис. дол. (+24%) порівняно до січня-лютого 2023 року, що свідчить про потребу в таких продуктах на широкий загал споживачів [2].

Ряжанка вважається одним з найрентабельніших виробництв з кисломолочної продукції, на рівні з кефіром та йогуртом. Проте, її основна вікова споживча група складає від 41 до 55 років, що каже про її непопулярність серед більшої частини населення. Але, через ріст цін на продукти все більше споживачів звертає увагу на цей продукт через його дешевизну, через що може виникнути чимала потреба в недалекому майбутньому у збільшенні промислових потужностей по виробництву ряжанки [3].

					<i>НУХТ БТЕК 05.01.03 КР ПЗ</i>			
<i>Змн.</i>	<i>Лист</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>	<i>ВСТУП</i>	<i>Лім.</i>	<i>Арк.</i>	<i>Архуів</i>
<i>Розроб.</i>		<i>Залепа Д.Р.</i>						
<i>Перевір.</i>		<i>Белемець Т.О.</i>					8	93
<i>Реценз.</i>						<i>Кафедра БТМ</i>		
<i>Н. Контр.</i>								
<i>Затверд.</i>		<i>Стабніков В.П.</i>						

Крім того, все більшої популярності набувають різноманітні кисломолочні коктейлі. Раніше, для їх основи використовували морозиво, рідше – йогурт, але ринок не стоїть на місці, через що наразі за основу можна нерідко побачити кефір або ж ряжанку. Це також буде сприяти популяризації даної продукції. Коктейлі на основі кисломолочних продуктів можуть бути смачним та здоровим перекусом, який допоможе зберегти відчуття ситості та підвищити енергетичний тонус [4].

Тож, враховуючи попит українського ринку молочнокислої продукції, ріст цін, тенденцію до здорового образу життя та популяризацію ряжанки як дешевого, корисного та цікавого компонента до інших страв, тема по біотехнологічному виробництву закваски з молочнокислих бактерій з метою одержання ряжанки є актуальним.

Метою цього проекту є розробка технологічної схеми біотехнологічної частини виробництва закваски для ряжанки на основі біомаси *Streptococcus thermophilus* ST12.

Новизною теми є використання високоактивних клітин *S. thermophilus* ST12, який за 22 години культивування продукує до $1,65 \pm 0,13 \times 10^9$ КУО/мл, як основи для закваски з метою одержання ряжанки. Також, обраний штам використовує доволі дешеве поживне середовище, через що робить виробництво ряжанки ще більш рентабельнішим.

РОЗДІЛ 1

ХАРАКТЕРИСТИКА РЯЖАНКИ

Ряжанка - це молочнокислий продукт, що виготовляється шляхом скисання молока за допомогою спеціальних бактерій. Вона має багатий смак і кремову текстуру, що робить її популярним десертом та основою для різних страв [1,2].

Ряжанка виготовляється зі свіжого коров'ячого молока. Іноді для виробництва використовують також козяче молоко або молоко інших тварин. Крім цього, для процесу скисання додають спеціальні культури бактерій, такі як лактобактерії або біфідобактерії. Спочатку молоко піддають пастеризації для знищення шкідливих мікроорганізмів, після чого додають культури бактерій. Під впливом цих бактерій молоко починає скисати, що призводить до утворення творожного осаду та сироватки [1,2].

Ряжанка має кремову текстуру та м'який сирний смак з легким кислинковатим відтінком. Цей смак і текстура залежать від тривалості ферментації і відсутності або кількості доданих ароматизаторів. Цей продукт можна вживати як самостійний, або ж використовувати його як основу для приготування різних страв. Ряжанку можна посипати цукром, додавати свіжі фрукти чи ягоди, а також використовувати як начинку для пирогів або солодких страв [1].

Ряжанка містить багато корисних речовин, таких як білки, кальцій, вітаміни групи В та інші мікроелементи. Вона сприяє зміцненню кісток, поліпшенню шлунково-кишкового тракту та загальному підвищенню імунітету [1].

Ряжанка має численні переваги, зокрема високий вміст кальцію і фосфору. Одна порція цього продукту забезпечує майже чверть добової норми кальцію і п'яту частку добової норми фосфору. Цей напій добре засвоюється

					<i>НУХТ БТЕК 05.01.03 КР ПЗ</i>			
<i>Змн.</i>	<i>Лист</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>	РОЗДІЛ 1 ХАРАКТЕРИСТИКА РЯЖАНКИ	<i>Лім.</i>	<i>Арк.</i>	<i>Аркушів</i>
<i>Розроб.</i>	<i>Залепа Д.Р.</i>						10	93
<i>Перевір.</i>	<i>Белемець Т.О.</i>							
<i>Реценз.</i>								
<i>Н. Контр.</i>								
<i>Затверд.</i>	<i>Стабніков В.П.</i>				<i>Кафедра БТМ</i>			

організмом, білок у ряжанці розщеплюється швидше, ніж у молоці чи кефірі. Ряжанка позитивно впливає на роботу шлунка і травної системи загалом, регулярне її вживання нормалізує роботу нирок і допомагає відновити кислотно-лужний баланс перед їжею. Також, вона містить корисні бактерії, що сприяють розщепленню їжі та поліпшують її засвоєння. Крім того, ряжанка сприяє виділенню жовчі, що стимулює апетит, і рекомендується при підвищеному тиску (гіпертонії) [1].

Існують протипоказання для споживання ряжанки, як і для багатьох інших продуктів. Наприклад, не рекомендується пити ряжанку людям з непереносимістю молочного білка. Також доцільно утриматися від її вживання тим, хто має проблеми з підвищеною кислотністю, як наприклад гастрит з високою кислотністю чи виразкова хвороба [1].

Також варто звернути увагу, що ряжанка містить досить велику кількість жиру, тому вона може бути не відповідною для тих, хто дотримується обмежень у споживанні жирів. Людям з панкреатитом рекомендується вживати ряжанку з особливою обережністю, зокрема, при загостреннях цієї хвороби, краще уникати жирних продуктів і включати невеликі порції ряжанки в раціон лише під час ремісії [1].

Також слід уникати одночасного споживання ряжанки з іншими джерелами білка, такими як риба, м'ясо чи яйця. Ідеально поєднувати ряжанку з овочами, фруктами або бездріжджовим хлібцем, щоб отримати максимальну користь від цього продукту [1].

Ось що важливо враховувати під час вибору готової ряжанки [2]:

1. Правильний колір ряжанки — світло-кремовий, схожий на колір пряженого молока. Він повинен бути однорідним без світліших розводів або неприродних забарвлень.
2. Уникати придбання ряжанки з ознаками газоутворення, такими як здута упаковка чи бульбашки на поверхні напою. Ці ознаки свідчать про можливі зміни мікрофлори через неправильне транспортування або зберігання.

3. Консистенція повинна бути однорідною без грудочок чи розшарованості. Це свідчить про якість продукту і правильний процес його виробництва.
4. Важливо, щоб упакування було герметично-захищеним і не мало пошкоджень, які можуть призвести до забруднення або втрати якості продукту.
5. Натуральна ряжанка здатна зберігатися не більше 7 днів. Перевіряйте термін придатності перед покупкою, щоб переконатися в свіжості продукту. Ряжанку краще зберігати в холодильнику при температурі від +2 до +6 °С. Відкритий продукт слід споживати протягом декількох днів, оскільки він швидко втрачає свої корисні властивості.

Для українського ринку притаманно декілька видів ряжанки за її жирністю, яка починається з 1%, закінчуючи 4% жирності [1,2]. На рис.1.1. показано продукцію різної жирності, а також різного формату випуску, що реалізується на ринку України.



Рис.1.1. Деякі види ряжанки, які реалізуються на теренах України [3-6]

Наразі в Україні ряжанку виготовляють 66 компаній, що може казати про популярність цього кисломолочного продукту. З них, 8 компаній зареєстровано та функціонують в Києві, 4 в Харкові, більша частина потужностей працює в Київській області та на західній Україні [7].

Для виробництва ряжанки використовується поліштамні закваски, які містять декілька різних молочнокислих мікроорганізмів. В табл.1.1. показано закваски для ряжанки, які присутні та продаються в Україні.

Український ринок заквасок для ряжанок

Назва	Виробник/країна	Ціна, грн	Склад	Кількість молока на дозу закваски, л	Джерело
Бактеріальна закваска «РЯЖАНКА»	Vivo / Україна	13	<i>Streptococcus thermophilus</i> <i>Lactococcus lactis</i>	3	[8]
Закваска Іпровіт Ряженка	Іпровіт / Україна	11,25	<i>Streptococcus salivarius</i> subsp. <i>thermophilus</i>	3	[9]
Закваска для ряженки	Cheese master / Італія	6	<i>Streptococcus thermophilus</i>	3	[10]
Закваска для ряженки	Good Food / Україна	13,9	<i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>Lactobacillus bulgaricus</i> , <i>Bifidobacterium bifidum</i> , <i>Bifidobacterium infantis</i> , <i>Bifidobacterium longum</i> , <i>Bifidobacterium breve</i> , <i>Bifidobacterium adolescentis</i>	1-3	[11]
РЯЖАНКА	Закваскін / Італія	11	<i>Streptococcus thermophilus</i> <i>Bifidobacterium bifidum</i> <i>Bifidobacterium infantis</i> <i>Bifidobacterium longum</i>	3	[12]
Заквасочна культура молочнокислих бактерій "Ряжанка"	Dalton / Італія	16	<i>Streptococcus thermophilus</i> <i>Lactobacillus bulgaricus</i>	10	[13]

Отже, з табл.1.1. можна зробити висновок, що в Україні, окрім вітчизняних виробників, також реалізують італійські закваски. Це може бути пов'язано з тим, що Італія славиться своїми сирами, при виробництві яких використовують різні культури молочнокислих бактерій.

РОЗДІЛ 2

ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТА ХАРАКТЕРИСТИКА БІОЛОГІЧНОГО АГЕНТА

2.1. Обґрунтування вибору біологічного агента та поживного середовища для його культивування

Для виробництва ряжанки, аналізуючи табл.1.1. (див розділ 1) завжди використовуються бактерії *S. thermophilus*, тож пропонується розглянути штами саме цих мікроорганізмів для подальшої розробки біотехнологічного виробництва.

На ріст та розвиток мікроорганізмів впливає величезна кількість факторів. З врахуванням того, що молочнокислі бактерії не можуть синтезувати велику кількість метаболітів, які необхідні для їх конструктивного метаболізму, великий вплив мають компоненти поживного середовища. Таким чином, було визначено ключову роль аргініну для *S. thermophilus* T1C2. Визначено, що аргінін має прямий вплив на внутрішньоклітинний рН цього мікроорганізму, а це, в свою чергу, впливало на кількість життєздатних клітин, що є важливим показником при виробництві заквасок. Аргінін зменшує падіння рівня рН, що пояснюється постійним синтезом молочної кислоти, шляхом генерації аміаку, що зрушує рН до лужного. Оптимальною концентрацією аргініну виявилось 1,2 г/л. При цьому, концентрація клітин становила $10^{9,56}$ КУО/мл. Проте, для цього мікроорганізму використовувалось дуже складне хімічне поживне середовище, яке важко використовувати в промислових масштабах [14].

Для культивування *S. thermophilus* ST12 використовується набагато простіше середовище, на основі сухого знежиреного молока. В дослідженні зазначається важливість початкової концентрації клітин для одержання найкращого результату. При початковій концентрації в 10^2 КУО/мл наприкінці культивування можна отримати $1,65 \pm 0,13 \times 10^9$ КУО/мл.

					<i>НУХТ БТЕК 05.01.03 КР ПЗ</i>		
<i>Змн.</i>	<i>Лист</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>			
<i>Розроб.</i>	<i>Залепа Д.Р.</i>				РОЗДІЛ 2 ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТА ХАРАКТЕРИСТИКА БІОЛОГІЧНОГО АГЕНТА		
<i>Перевір.</i>	<i>Белемець Т.О.</i>						
<i>Реценз.</i>							
<i>Н. Контр.</i>							
<i>Затверд.</i>	<i>Стабніков В.П.</i>						
					<i>Літ.</i>	<i>Арк.</i>	<i>Аркушів</i>
						14	93
					<i>Кафедра БТМ</i>		

Попереднє порівняння термофільних стрептококів для виробництва закваски для ряжанки

Біологічний агент	Склад поживного середовища, г/л	Концентрація клітин, КУО/мл	Тривалість процесу, год	Особливості процесу культивування	Джерело
<i>S. thermophilus</i> ST12	Сухе знежирене молоко – 100 CaCl ₂ – 1,11	1,65±0,13×10 ⁹	22	40 °С, Статичні умови, Об'єм інокуляту 1%, рН 6,5	Stulova I., Kabanova N., Kriščiunaite T., Adamberg K., Laht T. M., Vilu R. Microcalorimetric study of the growth of <i>Streptococcus thermophilus</i> in renneted milk. <i>Frontiers in Microbiology</i> . 2015, 6: 121701. https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00079
<i>S. thermophilus</i> LMD-9	Соя – 220 (поживне середовище – соєве молоко)	1×10 ⁹	16	37 °С, Статичні умови, Об'єм інокуляту 1%, рН 7,5	Boulay M., Al Haddad M., Rul F. <i>Streptococcus thermophilus</i> growth in soya milk: Sucrose consumption, nitrogen metabolism, soya protein hydrolysis and role of the cell-wall protease PrtS. <i>International Journal of Food Microbiology</i> . 2020, 335: 108903. https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108903
<i>S. thermophilus</i> CGMCC 14810	Сухе знежирене молоко – 100 Глутамат натрію - 10	1,5×10 ⁹	24	42 °С, Статичні умови, рН 6,5	Han M., Liao W. Y., Wu S. M., Gong X., Bai C. Use of <i>Streptococcus thermophilus</i> for the <i>in situ</i> production of γ-aminobutyric acid-enriched fermented milk. <i>Journal of dairy science</i> . 2020, 103(1): 98-105. https://doi.org/10.3168/jds.2019-16856
<i>S. thermophilus</i> CRL803	Пептон – 15, Триптон – 10, Дріжджовий екстракт – 10, Глюкоза – 10, Твін-80 - 1	1×10 ^{8,8}	24	42 °С, Статичні умови, рН 6,0	Laiño J. E., del Valle M. J., Hébert E. M., de Giori G. S., LeBlanc J. G. Folate production and fol genes expression by the dairy starter culture <i>Streptococcus thermophilus</i> CRL803 in free and controlled pH batch fermentations. <i>LWT-Food Science and Technology</i> . 2017, 85: 146-150. http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2017.07.004

Тривалість культивування становила всього 22 години, що дозволяє за доволі короткий час одержати високий вміст клітин в культуральній рідині [15].

Враховуючи особливості молочнокислих бактерій ля промислового культивування, в табл.2.1. показано біологічні агенти термофільного стрептокока, які культивуються на доволі простих поживних середовищах.

З табл.2.1. можна зробити декілька висновків. По-перше, найвищою концентрацією клітин володіє штам *S. thermophilus* ST12, в той час, як найменша концентрація клітин притаманна *S. thermophilus* CRL803. По-друге, всі біологічні агенти не потребують постійного перемішування, що спрощує конструкцію ферментера, який буде використовуватись для фінального етапу культивування. По-третє, найменший час для культивування притаманний для штаму *S. thermophilus* LMD-9, до того ж, саме цей штам використовує не традиційне середовище, а саме соєве молоко.

Попереднє порівняння не дає чіткого розуміння про найоптимальніший продуцент для закваски з метою одержання ряжанки, тому є потреба в додатковому порівнянні по параметрам умовної вартості за 1 літр поживного середовища, з якого буде реально вирахувати умовну вартість кінцевого продукту ферментації. Тому, табл.2.2. демонструє розрахунок ціни поживного середовища для кожного мікроорганізму порівняння.

Таблиця 2.2.

Визначення умовної вартості поживного середовища для термофільних стрептококів, що порівнюються

Продуцент	Компонент поживного середовища, г/л	Ціна компонента, грн/кг	Вартість компонента (грн) на 1 л середовища	Джерело інформації
<i>S. thermophilus</i> ST12	Сухе знежирене молоко - 100	78	7,8	1*
	CaCl ₂ – 1,11	11	0,01	2*
Вартість 1 л середовища – 7,81 грн				
<i>S. thermophilus</i> LMD-9	Соя - 220	27	5,94	3*
	Вартість 1 л середовища – 5,94 грн			

<i>S. thermophilus</i> CGMCC 14810	Сухе знежирене молоко - 100	78	7,8	1*
	Глутамат натрію - 10	81	0,81	4*
	Вартість 1 л середовища – 8,61 грн			
<i>S. thermophilus</i> CRL803	Пептон – 15	323,55	4,85	5*
	Триптон – 10	303,33	3,03	6*
	Дріжджовий екстракт – 10	808,86	8,09	7*
	Глюкоза – 10	42,9	0,43	8*
	Твін-80 - 1	120	0,12	9*
	Вартість 1 л середовища – 16,52 грн			

Примітка (ціни наведено станом на 11 травня 2024):

1 - <https://www.olx.ua/d/uk/obyavlenie/moloko-suhe-1-kg-obezzhirene-26-IDT9k5m.html>

2 - <https://megachem.com.ua/ua/hlorid-kalciya-pishevoj.html>

3 - https://prom.ua/p1748583859-soya-bez-gmo.html?utm_source=google_pmax&utm_medium=cpc&utm_content=pmax&utm_campaign=Pmax_spa_1_50_krasota_i_zdorove&gad_source=1&gclid=CjwKCAjwrvyxBhAbEiwAEg_Kgt8alwHak1ouhbJPopQN_rRhnZ9XLpTuxLmb9BvZVqVP4I7kCo-ZsxoCzAYQAvD_BwE

4 - https://prom.ua/p279008449-glutamat-natriya.html?token=v2%3ARces3KO08SRE19UQ4hmq3pi-MbU8lusI00Tdv-HVR4Mq4s05a_KsQSDKA9AN1z4fGakEkO79B_NrtTUItM3WdykoU45vlaUUGJPv4pNEZs0darJyRVWkdRFyxprsK5ii&campaign_id=1245568&product_id=279008449&source=prom%3Asearch%3Atag%3Aserp&locale=ru&category_ids=240405&from_spa=true

5 - https://www.alibaba.com/product-detail/High-Purity-CAS-73049-73-7_10000009017685.html?spm=a2700.7724857.0.0.3c803b25FZcIx8

6 - https://www.alibaba.com/product-detail/Peptone-Tryptone-food-grade-Nutrition-Enhancers_1601053031046.html?spm=a2700.7724857.0.0.2d677824SwiDWD

7 - https://www.alibaba.com/product-detail/Wholesale-Food-Grade-Beta-glucan-Yeast_1601046138901.html?spm=a2700.7724857.0.0.7ad537e1mQmlYX

8 - https://prom.ua/p1706186030-glyukoza-dlya-pishevoj.html?token=v2%3AcLcbre8ujvt_4M5OQIb3IEJdl0vv2OBmq_YHOAmsDEj2cdq6KhVz9M4mNJMUyk0mNMRqEswm4Dsns1e3kQ6-1QuA57CL_ydGHJXKmo8R1eu0MBYI9WoV0fbaSYqjbZgF&campaign_id=91306&product_id=1706186030&source=prom%3Asearch%3Atag%3Aserp&locale=ru&category_ids=81704&primelead=M141Mg&from_spa=true

9 - https://prom.ua/p180972165-polisorbat.html?token=v2%3AaBLmH8Pe_ATkE7O6l8EgrgMDcAOqoFHj4w5pGeusoFclse0PefAm3gp_Y500u9NI6o297isEKyyaUL50zadxseExedh6mJADAYzl65PPVRBMbOlagkBKSe7N4oGWrBTZ&campaign_id=1106454&product_id=180972165&source=prom%3Asearch%3Atag%3Aserp&locale=ru&category_ids=82112&primelead=M144Mg&from_spa=true

З табл.2.2. можна побачити, що найдорожче середовище притаманно для *S. thermophilus* CRL803, який, як відомо з табл.2.1., синтезує найменшу кількість клітин, а найдешевшим середовищем виявилось соєве молоко, яке використовує *S. thermophilus* LMD-9 для свого культивування. Проте, як відомо, з табл.1.1., останній біологічний агент синтезує не найбільшу кількість клітин, але має

найменший час культивування. Тому, остаточне порівняння представлено в табл.2.3.

Таблиця 2.3

Узагальнюючі дані

Біологічний агент	Вартість 1 л середовища, грн	Концентрація клітин, КУО/мл	Умовна вартість клітин, грн/КУО×10 ⁸	Тривалість культивування, год	Кількість утворених клітин за годину, КУО×10 ⁸ /год
<i>S. thermophilus</i> ST12	7,81	1,65±0,13×10 ⁹	0,473	22	0,75
<i>S. thermophilus</i> LMD-9	5,94	1×10 ⁹	0,594	16	0,625
<i>S. thermophilus</i> CGMCC 14810	8,61	1,5×10 ⁹	0,574	24	0,625
<i>S. thermophilus</i> CRL803	16,52	1×10 ^{8,8}	2,62	24	0,263

Тож, з останньої таблиці очевидним вибором біологічного агента буде *S. thermophilus* ST12, через ряд наступних переваг: низька вартість клітин, доволі мала тривалість культивування, а також швидкість утворення клітин. Найгірші показники притаманні для *S. thermophilus* CRL803, клітини якого мають найвищу вартість (що не дивно, оскільки саме цей біологічний агент культивується на найдорожчому середовищі, порівняно з іншими обраними для порівняння біологічними агентами), а також які дуже довго утворюються, порівнюючи з іншими мікроорганізмами, що зазначено в табл.2.3. Остаточний вибір робимо в сторону *S. thermophilus* ST12.

Але, для виробничого культивування важливим показником, окрім концентрації життєздатних клітин, є й концентрація біомаси. На жаль, в роботі [15] цього показника не було визначено, тому пропонується зробити перерахунок за сухим знежиреним молоком по вмісту вуглецю та азоту.

2.2. Розрахунок складу поживного середовища

За «ДСТУ 4273:2003 Молоко та вершки сухі» [16], знежирене сухе молоко містить в собі 52% молочного цукру та 37% білків, тому будемо

відштовхуватись саме від цих цифр для нашого подальшого теоретичного розрахунку.

Розрахунок розпочинаємо з визначення кількості вуглецю на потреби біомаси. Тож, в середовищі міститься 100 г сухого знежиреного молока, де 52%, а отже 52 грама припадає на лактозу. Хімічна формула лактози - $C_{12}H_{22}O_{11}$, а її молекулярна маса - 342,30 г/моль. Тож, на 342,3 г лактози припадає $12 \cdot 12 = 144$ г вуглецю. Тоді на 52 г лактози припадатиме $52 \cdot 144 / 342,3 = 21,87$ г вуглецю. Варто зазначити, що половина карбону піде на холосте окиснення, тому кількість, яка буде використовуватись для синтезу біомаси становитиме 10,935 г. На біомасу припадає 50% карбону, тому теоретично можливий вихід з одного літру складає 21,87 г. Дана кількість є доволі зависокою для молочнокислих бактерій, оскільки велику частину поживних речовин вони витрачають на конструктивний метаболізм за відсутності відповідних ферментних комплексів. Тому, варто ще перерахувати концентрацію біомаси по азоту.

Щодо азоту, в сухому молоці міститься 37% білків, а отже на 100 г припадає 37 г білків. В середньому, в білках знаходиться до 16% азоту [17]. Тому, в 37 г білків кількість азоту становитиме $37 \cdot 0,16 = 5,92$ г. На біомасу припадає лише 10% азоту, тому теоретичний вихід за азотом складає $5,92 \cdot 10 = 59,2$ г. Знову ж таки, цей показник неможливий для біомаси молочнокислих бактерій, оскільки саме білкова складова є найвитратнішою складовою через неможливість молочнокислими бактеріями синтезу багатьох амінокислот.

Теоретичний розрахунок не дав правдивих даних щодо концентрації біомаси, але дав розуміння, що лімітуючим фактором в середовищі буде виступати саме вуглецева складова. Через високу концентрацію клітин та чималий теоретичний вихід біомаси пропонується визначити рівень біомаси *S. thermophilus* ST12 як максимально можливий, що складає близько 8 г/л.

2.3. Морфолого-культуральні та фізіолого-біохімічні ознаки біологічного агента

За морфологічними ознаками *S. thermophilus* представляють з себе грампозитивні кокові клітини, розміром 0,7-1,0 мкм. Клітини можуть формувати

короткі або ж дуже довгі ланцюжки. Зазвичай є нерухомими, тож це свідчить про відсутність джгутиків [18].

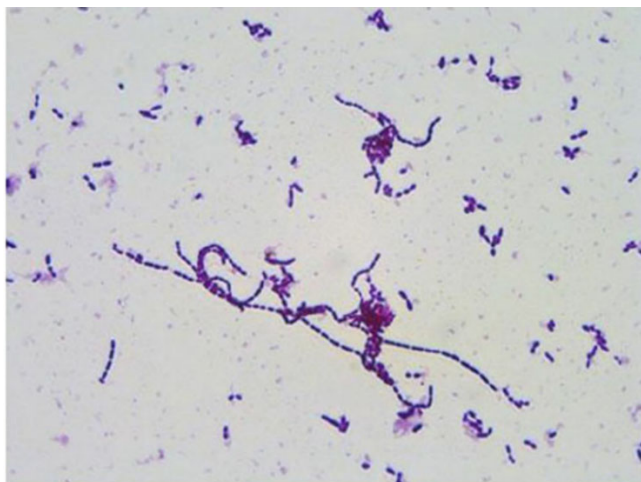


Рис.2.1. Мікроскопіювання клітин *S. thermophilus*, зафарбованих за Грамом, при збільшенні об'єктиву на 90х [19]

За культуральною характеристикою більшість штамів *S. thermophilus* виробляють слабку альфа-реакцію на кров'яному агарі. Маленькі, безпігментовані, гладкі або шорсткі колонії. Багато штамів *S. thermophilus* ростуть при 50 °С і можуть витримувати нагрівання при 65 °С протягом 30 хвилин. Не росте при 10 °С. Оптимум температури лежить в межах 40-45 °С. Факультативно анаеробний. Для свого росту *S. thermophilus* вимагає амінокислот і шести вітамінів групи В, через що, велика частина поживного середовища витрачається на заміщення недостаючих компонентів для конструктивного метаболізму [18].

S. thermophilus здатний генерувати енергію у формі аденозинтрифосфату (АТФ) шляхом аеробного дихання за наявності кисню? однак без присутності кисню він все ще може виробляти АТФ шляхом бродіння. Не утворює спор. Хоча *S. thermophilus* тісно пов'язаний з іншими патогенними стрептококами (такими як *S. pneumoniae* і *S. pyogenes*), *S. thermophilus* класифікується як непатогенний альфа-гемолітичний вид, який є частиною групи вірідіан [20].

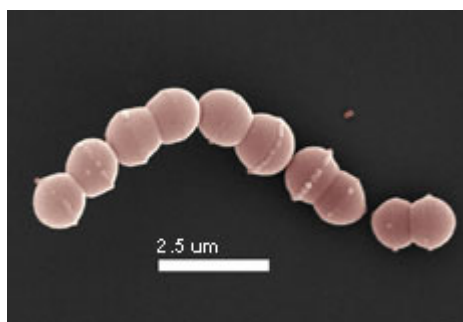


Рис.2.2. Мікроскопічна фотографія *S. thermophilus* [21]

Здатність організму перетворювати лактозу на молочну кислоту, яку класифікують як «молочнокислу бактерію», використовується у виробництві ряду молочних продуктів, таких як йогурти та сири. Він вважається низькопатогенним організмом, оскільки геномні дослідження показали, що загальні гени стрептококової вірулентності або відсутні, або вимкнені у цього виду [19].

Таблиця 2.4.

Морфолого-культуральні характеристики, які притаманні для більшості термофільних стрептококів [22]

Тип тесту	Тест	Характеристика
Характер колоній	Колір	Жовтий
	Форма	Опукла
	Тип	Круглий
Характер клітин	Розмір	0,7-1 мкм
	Форма	Коки
Рухливість	Наявність джгутиків	Відсутні
Біологічні ознаки	Фарбування за Грамом	Позитивне
	Наявність каталази	Відсутнє
	Наявність оксидази	Відсутнє
	Наявність цитохрому	Відсутнє

Для росту *S. thermophilus* використовують агар М-17, МРС агар, молочний та кров'яний агар.

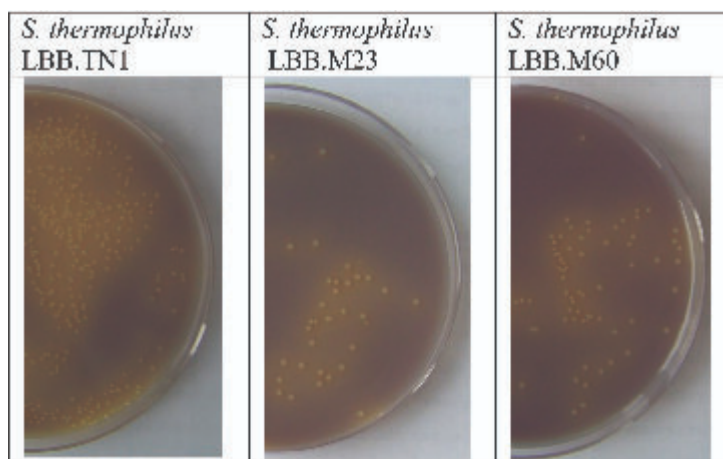


Рис.2.3. Різні штами термофільних страктококів на молочному агарі [23]

Промислові штами *S. thermophilus* повинні бути нечутливими до бактеріофагів, мати стабільні характеристики бродіння та виробляти продукти з незмінними смаковими і текстурними властивостями. Хоча дослідження фізіології *S. thermophilus* виявили важливу інформацію про деякі з цих властивостей, включаючи метаболізм цукру та білка, виробництво полісахаридів і створення смаку, лише нещодавно було визначено генетичну основу багатьох із цих ознак [21].

Геном *S. thermophilus* становить 1,8 Mb, що робить його одним з найменших геномів серед усіх молочнокислих бактерій. Хоча *S. thermophilus* є помірним термофілом, він філогенетично пов'язаний з більш мезофільними лактококами та має порівняно низьке співвідношення G+C (40%). Гени, що кодують метаболічні шляхи, що беруть участь у катаболізмі цукру, утилізації білків і пептидів, виробництві полісахаридів, система реакції на стрес і механізми стійкості до фагів були секвеновані та охарактеризовані. Понад 100 записів про послідовності ДНК наразі перераховані в GenBank. Хоча більшість штамів не містить плазмід, повідомлялося про інші мобільні елементи, а також були розроблені методики для перенесення генів і мутагенезу [21].

Штами *S. thermophilus* не можуть гідролізувати наступні речовини: ескулін, аргінін, казеїн, желатин, гіпурат. Відсутні такі ферменти: уреаза, кисла фосфатаза, лужна фосфатаза, альфа-галактозидаза, цистеїн-аріламідаза, бета-глюкуронідаза, альфа-глюкозидаза, альфа-фукозидаза, піролідоніла аріламідаза,

N-ацетил бета-глюкозамінідаза та валін аріламідаза. Не можуть синтезувати кислоту з: N-ацетилглюкозаміну, адоніту, амігдаліну, арабінози, целобіози, дульцитолу, еритриту, глюконату, гліцерину, глікогену, інуліну, мальтози, маніту, метил D-глюкозиду, метил D-манозиду, метил D-ксилозиду, рамнози, саліцину, сорбіту, трегалози та ксилози. В залежності від штаму можуть бути змінні результати для гідролізу крохмалю, виробництва кислоти з: арбутину, галактози, мелезитози, мелібіози, рафінози та рибози [18].

2.4. Таксономічний статус *S. thermophilus*

За таксономічним статусом по базі даних NCBI *S. thermophilus* [24]:

Царство – Бактерії

Відділ - *Firmicutes*

Група – *Terrabacteria*

Тип – *Bacillota*

Клас – *Bacilli*

Порядок – *Lactobacillales*

Родина – *Streptococcaceae*

Рід – *Streptococcus*

Вид - *Streptococcus thermophilus*

РОЗДІЛ 3

ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ ВИРОБНИЦТВА РЯЖАНКИ

3.1. Потреба у виробництві ряжанки

Ряжанка — це традиційний молочний продукт, який має високу харчову цінність і корисні властивості. Вона багата на [25]:

- Білки: легко засвоювані казеїни, які є джерелом незамінних амінокислот.
- Жири: сприяють засвоєнню жиророзчинних вітамінів (А, D, Е).
- Кальцій і фосфор: підтримують здоров'я кісток і зубів.
- Пробіотики: забезпечують баланс мікрофлори кишечника, зміцнюють імунну систему та покращують травлення.

Ряжанка особливо рекомендується людям із чутливим травленням, оскільки її молочна кислота сприяє кращому засвоєнню поживних речовин [26].

Ряжанка — це невід'ємна частина кулінарної культури багатьох регіонів України та сусідніх країн. Її популярність зумовлена унікальним смаком із карамельними нотками, що утворюються під час тривалого томлення молока, а також зручністю використання в раціоні, оскільки продукт можна споживати як самостійно, так і у складі страв (десерти, смузі, випічка) [25].

Сучасні споживачі все частіше надають перевагу натуральним продуктам із мінімальною обробкою. Ряжанка, виготовлена за традиційними технологіями, відповідає цим вимогам [27]:

- Вона не містить штучних добавок і консервантів.
- Завдяки м'якому способу термічної обробки зберігає більшість корисних компонентів молока.

Ряжанка, як традиційний кисломолочний продукт, пропонує широкий спектр можливостей для розробки нового асортименту, який може задовольнити

					<i>НУХТ БТЕК 05.01.03 КР ПЗ</i>			
<i>Змн.</i>	<i>Лист</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>				
<i>Розроб.</i>		<i>Залепа Д.Р.</i>			РОЗДІЛ 3 ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ ВИРОБНИЦТВА РЯЖАНКИ	<i>Літ.</i>	<i>Арк.</i>	<i>Аркушів</i>
<i>Перевір.</i>		<i>Белемець Т.О.</i>					24	93
<i>Реценз.</i>						<i>Кафедра БТМ</i>		
<i>Н. Контр.</i>								
<i>Затверд.</i>		<i>Стабніков В.П.</i>						

різноманітні запити споживачів та зміцнити позиції брендів на ринку [27].

1. Варіанти ряжанки за вмістом жиру [25]

- Низькокалорійна ряжанка (знежирена або з низьким вмістом жиру), що орієнтована на споживачів, які дотримуються здорового способу життя або спеціальних дієт.
- Ряжанка з середнім вмістом жиру (2,5–4%) - універсальний варіант для повсякденного вживання.
- Високожирна ряжанка (6% і більше) - акцент на насиченому смаку та густій консистенції для гурманів.

2. Ароматизовані та збагачені варіанти [28]

- З натуральними ароматами: ваніль, карамель, мед, кориця.
- З додаванням фруктів чи ягід: полуниця, чорниця, персик, манго. Використання фруктового пюре чи варення робить продукт привабливим для дітей.
- З прянощами: імбир, кардамон, мускатний горіх, що додають екзотичних смакових відтінків.

3. Функціональні та спеціалізовані продукти [29]

- Ряжанка з пробіотиками збагачена штамми корисних бактерій, що сприяють здоров'ю мікробіоти кишечника.
- Збагачена ряжанка з додаванням вітамінів (А, D, Е) і мінералів (кальцій, магній) для підтримки здоров'я різних груп населення, зокрема дітей і літніх людей.
- Ряжанка з білковим підсиленням - продукт для спортсменів або людей з підвищеною фізичною активністю.

4. Спеціальні рецептури для різних категорій споживачів [25,26]

- Безлактозна ряжанка - для людей з непереносимістю лактози.
- Органічна ряжанка - виготовлена з молока органічного походження без штучних добавок.

- Ряжанка для дітей - зі зниженою кислотністю, натуральними ароматизаторами або спеціальною упаковкою.

5. Інноваційні форми випуску [26]

Традиційна форма - у пляшках чи стаканчиках різного об'єму.

Порційні упаковки - міні-стаканчики або тубики для зручності перекусу.

Густий формат - ряжанка у формі пасти, яку можна намазувати на хліб або використовувати як десертний крем.

6. Ряжанка для кулінарного використання [27]

- Кулінарна ряжанка зі зниженою кислотністю для приготування соусів, кремів чи випічки.
- Спеціальні кулінарні добавки - варіанти з травами, спеціями чи іншими смаковими доповненнями для використання в солоних стравах.

7. Ексклюзивні пропозиції [25]

- Ряжанка преміум-класу з ретельно відібраного молока, виготовлена за авторськими технологіями.
- Сезонні пропозиції, наприклад, ряжанка зі смаком гарбуза чи пряного яблука восени, м'ято-шоколадна — взимку.

Розширення асортименту ряжанки дозволяє виробникам задовольнити потреби різних груп споживачів, від шанувальників традиційних продуктів до прихильників інновацій. Завдяки варіативності рецептур, форм випуску та цільових добавок, ряжанка може стати ще популярнішим продуктом на ринку.

Виробництво ряжанки має значний економічний потенціал завдяки її популярності, доступності сировини та низьким виробничим витратам. Цей продукт відкриває можливості для розширення ринку, підвищення прибутковості та оптимізації бізнес-процесів у молочній галузі.

Ряжанка виготовляється зі звичайного коров'ячого молока, яке є широко доступним і має відносно стабільну ціну. Оптимізація молочного циклу дає можливість переробки надлишків молока, які не реалізуються як свіже молоко.

Крім того, виробництво ряжанки дозволяє працювати з молоком будь-якої жирності, що знижує витрати на первинну обробку сировини [29].

Процес виготовлення ряжанки відносно простий і вимагає мінімального використання додаткових інгредієнтів. Технологія томлення використовує невисокі температури, що зменшує витрати на енергію. Для виготовлення ряжанки можна використовувати наявні лінії для кисломолочних продуктів, що не потребує значних інвестицій у нове обладнання. Виробництво ряжанки легко адаптується до потреб ринку, дозволяючи запускати невеликі партії або великі обсяги продукції [28].

Ряжанка користується стабільним попитом серед широких верств населення [28]:

- Традиційні споживачі обирають її як частину повсякденного раціону.
- Зростає інтерес серед людей, які дотримуються здорового харчування, завдяки її природним і корисним властивостям.

Пропонування різних варіантів ряжанки (з ароматизаторами, функціональних, для дітей) дозволяє виробникам:

- Зайняти нові ринкові сегменти.
- Збільшити середню вартість продукції за рахунок інноваційних продуктів преміум-класу або функціональних властивостей.
- Залучити нових споживачів, які цікавляться сучасними харчовими тенденціями.

Ряжанка, як традиційний продукт, може бути привабливим для експорту [30]:

- Національний колорит - продукт цікавий для закордонних споживачів, які хочуть скуштувати щось автентичне.
- Зростання популярності ферментованих продуктів - світовий тренд на здорове харчування створює можливість для виходу на іноземні ринки.

Сучасні підходи до дизайну упаковки та маркетингові стратегії дозволяють збільшити прибутковість продукту [28,30]:

- Інноваційна упаковка - зручні порційні формати, екологічні матеріали, пляшки із кришкою, що відкручується, для багаторазового використання.
- Брендінг - акцент на натуральності, традиційності або функціональності може зробити продукт привабливішим для споживачів.

Завдяки тривалому терміну зберігання ряжанка забезпечує менші втрати продукції в роздрібній торгівлі. Також, є можливість збільшення виробництва у періоди високого попиту, наприклад, взимку, коли кисломолочні продукти популярні через їх поживність. Крім того, можна знайти альтернативне використання сироватки, яка залишається після виготовлення ряжанки, для інших харчових продуктів (наприклад, напоїв або кормів). Виробництво ряжанки сприяє розвитку місцевого молочного господарства, забезпечуючи стабільний попит на сировину.

Економічний потенціал ряжанки полягає у низьких витратах на виробництво, високому попиті, можливості розширення асортименту та виходу на нові ринки. Виробникам ряжанки відкриваються перспективи збільшення прибутків через інновації, брендінг і експансію на іноземні ринки, одночасно підтримуючи місцевих постачальників молока та сприяючи сталому розвитку галузі.

Попит на ряжанку зростає завдяки її корисним властивостям, традиційній рецептурі та економічній привабливості. Розширення асортименту цього продукту може задовольнити різноманітні споживчі запити та підвищити рентабельність молочного виробництва.

На основі аналізу інформації про виробників ряжанки в Україні, можна виділити кілька провідних компаній, які активно займаються виготовленням цього продукту. Нижче наведена таблиця з коротким оглядом ключових виробників (табл.3.1).

Ключові виробники ряжанки в Україні

Виробник	Регіон	Жирність	Вид упаковки	Джерело
Danone Україна	Київська область	2,5%, 4%	Полімерні стаканчики, картонні пакети Tetra Pak	[31]
ТМ "Яготинське"	Київська область	2,5%, 4%	Поліетиленові пакети, пластикові стаканчики	[32]
ТМ "Галичина"	Львівська область	2,5%, 3,2%	Картонні пакети Tetra Pak, плівкові пакети	[33]
Компанія "Лакталіс"	Одеська область	2,5%, 4%	Пластикові стаканчики, пакети з плівки	[34]
Рудь (ZhL)	Житомирська область	3,2%, 4%	Полімерні стаканчики, зручні плівкові пакети	[35]

Найпоширенішими варіантами є 2,5% і 4%, але деякі виробники (наприклад, "Галичина") пропонують також 3,2%. У виробництві використовуються різні види упаковок для зручності споживачів: стаканчики (пластикові або полімерні) та пакети (з плівки або картону).

Ключовим виробникам ряжанки в Україні не вистачає різноманітності продуктового асортименту, інновацій у формі випуску та ефективного позиціонування на ринку здорового харчування. Незважаючи на популярність ряжанки, більшість брендів обмежуються стандартними жирностями (2.5%, 3.2%, 4%) і традиційною упаковкою, що може звужувати коло споживачів. Розширення асортименту через продукти з низьким вмістом жиру або збагачені функціональними інгредієнтами, такими як пробіотики або вітаміни, могло б залучити більше покупців, особливо серед тих, хто дотримується дієт або прагне до здорового харчування.

Ще одним викликом є екологічність і зручність упаковки. Упровадження біорозкладних матеріалів або багаторазових форматів із зручними кришками

могло б підвищити привабливість продукції серед еко-свідомих споживачів. Окрім того, з'являється потреба в розробці нових форматів упаковок, наприклад, порційних для індивідуального вжитку чи сімейних для зручності великих домогосподарств.

Маркетингова підтримка продукту також потребує посилення. Виробники можуть зосередитися на просуванні ряжанки як здорового продукту з природними користями, наприклад, для травлення. Цільові кампанії, орієнтовані на дітей, спортсменів та людей похилого віку, допомогли б розширити цільову аудиторію та створити міцнішу конкурентну позицію на ринку.

3.2. Визначення загальної потужності виробництва ряжанки

У 2024 році очікується, що сільськогосподарські підприємства збільшать обсяги виробництва молока до 2,9 млн тонн. Висока рентабельність у цьому секторі, яка в поточному році перевищує 40%, створює сприятливі умови для подальшого зростання обсягів виробництва. Однак домогосподарства продовжують швидко скорочувати свої виробничі показники, що спричиняє загальне зменшення пропозиції молока. Це падіння мають компенсувати аграрні підприємства [36,37].

Попри скорочення загального виробництва, обсяги переробки молока демонструють позитивну динаміку. Очікується, що у 2024 році на переробку надійде понад 3,3 млн тонн молока, що на 5% більше, ніж у попередньому році. Хоча довоєнного рівня ще не досягнуто, таке зростання пов'язане з поступовим відновленням попиту на молочні продукти серед українських споживачів після значного спаду у 2022 році. Завданням молокопереробних заводів залишається подальше збільшення обсягів переробки для задоволення внутрішнього попиту та підтримання позитивного зовнішньоторговельного балансу [36,37].

У 2021 році середнє споживання молочних продуктів в Україні склало близько 200 кг на особу на рік. Однак це значно нижче за рекомендовані норми, згідно з якими споживання молочних продуктів має становити близько 380 кг на душу населення. Зменшення споживання молочних продуктів в Україні

спостерігається в останні роки, але з огляду на відновлення економічної ситуації, цей показник може поступово зростати в майбутньому [38,39].

Загальна частка ряжанки серед молочнокислих продуктів в Україні невелика, оскільки цей продукт є лише одним із сегментів молочних продуктів. Хоча молочнокислі продукти загалом показують стабільне зростання споживання, ряжанка становить лише частину цього сегмента, поступаючись йогуртам та кефірам, які мають більшу популярність серед споживачів. В Україні виробництво та споживання ряжанки залишається обмеженим порівняно з іншими молочними продуктами, що зумовлено певними уподобаннями споживачів та традиціями [26].

На основі різних оцінок, ряжанка займає невеликий, але стабільний відсоток у загальній структурі молочнокислих продуктів, зокрема в категорії кисломолочних напоїв, що традиційно включають йогурти, кефіри та інші продукти. Станом на 2024 рік, її частка в загальному обсязі молочних продуктів складає близько 5-10% [40,41].

Тож, знаючи, що на одну людину на рік припадає близько 200 кг молочнокислих продуктів, в тому числі й молока. Враховуючи те, що молоко – є найпопулярнішим молочним продуктом, спираємось на те, що половина (100 кг) припадає на нього [41], а інша половина – на молочнокислі продукти. Для теоретичних розрахунків споживання ряжанки, пропонується обрати найменший відсоток, оскільки цей продукт наразі є не дуже популярним (отже, розраховуємо на 5%). Тоді, кількість ряжанки, яку споживає 1 людина на рік становить:

$$100 \times 0,05 = 5 \text{ кг}$$

Населення Чернівецької області станом на 2024 рік становить 858 456 осіб [42]. Тож, потреба в ряжанці для Чернівецької області становить:

$$858\,456 \times 5 = 4\,292\,280 \text{ кг}$$

Враховуючи попит на ринку та існування величезних молочних комплексів, а також через непопулярність зазначеного продукту, пропонується забезпечувати лише 10% від загальної потреби, що становить:

$$4\,292\,280 \times 0,1 = 429\,228 \text{ кг}$$

За основу пропонується обрати закваску для ряжанки від Іпровіт, яка містить в собі лише культуру *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*. За інструкцією, на 3 л молока припадає 1 г закваски. Припустимо, що з 1 л утворюється 1 кг ряжанки [43]. Тож, кількість закваски, яка необхідна, становить:

$$\frac{429\ 228}{3} = 143\ 076\ \text{г} \approx 143,1\ \text{кг}$$

У складі заквасок допоміжні речовини зазвичай становлять невелику частину загального складу, зазвичай від 1% до 5%. Ці допоміжні компоненти включають такі речовини, як стабілізатори, підсилювачі смаку, загущувачі або консерванти, які допомагають поліпшити текстуру, стабільність або термін зберігання закваски. Зазвичай основну частину складають мікроорганізми (бактерії або дріжджі), які відповідають за ферментацію [44]. Тож, для розрахунку визначимо, що 5% від загальної маси припадає на допоміжні компоненти. Тоді кількість біомаси, яку потрібно отримати становить:

$$143,1 - 5\% = 135,945\ \text{кг}$$

Оскільки для обраного біологічного агенту (*S. thermophilus* ST12), концентрація біомаси є не визначеною (визначено лише концентрацію життєздатних клітин, яка повністю відповідає вимогам для використання в заквасках та становить $1,65 \pm 0,13 \times 10^9$ КУО/мл) [5], а середовище є натуральним (тобто не має визначеного хімічного складу), для розрахунків пропонується обрати теоретичну концентрацію, що становить 6 г/л. Тоді, кількість культуральної рідини (без втрат) становитиме:

$$\frac{135\ 945}{6} \approx 22\ 658\ \text{л} \approx 22,7\ \text{м}^3$$

З врахуванням втрат при виділенні та очищенні біомаси, що становлять близько 10%, кількість культуральної рідини на рік становитиме:

$$\frac{22,7}{0,9} \approx 25,2\ \text{м}^3$$

3.3. Розрахунок загальної кількості циклів проектного виробництва та об'єму виробничого ферментера

Наступним кроком розрахуємо, який об'єм культуральної рідини можна отримати за цикл біосинтезу. Згідно із цими даними розрахуємо кількість необхідних етапів підготовки посівного матеріалу. Прийmemo, що кількість робочих трудоднів ($T_{рд}$) = 200, тоді кількість культуральної рідини на добу ($V_{д}$) становитиме:

$$V_{д} = C / T_{рд} = 25\,200 / 220 = 126 \text{ л}$$

Об'єм культуральної рідини за цикл ($V_{пц}$) буде становити:

$$V_{пц} = \frac{K_1 * V_{д} * T_{цф}}{24} = \frac{1,1 * 126 * 30}{24} = 173,25 \text{ л/цикл}$$

де $T_{цф}$ – загальний цикл роботи ферментера, який включає тривалість виробничого біосинтезу (22 год) та час підготовки ферментера до роботи (8 год). K_1 – коефіцієнт запасу, що враховує можливість нестерильних операцій $K_1 = 1,1 - 1,5$.

Розрахований об'єм культуральної рідини (173,25 л) можна одержати у ферментері, геометричний об'єм якого складатиме:

$$V_{г} = \frac{V_{пц}}{K_{зап}} = \frac{173,25}{0,7} = 247,5 \text{ л}$$

Найближчим за об'ємом є стандартний ферментер на 250 л ($V_{ф}$).

Уточнюємо коефіцієнт заповнення для обраного ферментера:

$K_{зап} = V_{г} / V_{ф} = 173,25/250 = 0,693$. Розраховане число не перевищує заданого значення, а отже, об'єм ферментера підібраний правильно.

3.4. Розрахунок кількості необхідних етапів для підготовки посівного матеріалу

Отже, за виробничий цикл можна одержати $V_{пц} = 173,25$ л культуральної рідини. Також слід врахувати, що при одержанні культуральної рідини, можливими є її втрати у результаті краплевиносу через колектор відпрацьованого повітря ($E_{ф}$), які складають 10%.

Отже, розрахуємо кількість поживного середовища та посівного матеріалу перед процесом ферментації:

$$V_{роб1} = V_{роб1} / (1 - E_{ф}) = 173,25 / (1 - 0,1) = 192,5 \text{ л}$$

Встановлена доза для посівного матеріалу складає від 5 до 10 % від об'єму поживного середовища. Приймаємо такий показник $X_{\text{пм1}} = 10\%$. Тому, із врахуванням дози посівного матеріалу $X_{\text{пм1}}$ робочий об'єм ферментера $V_{\text{роб1}}$ складе:

$$V_{\text{роб1}} = V_{\text{пс1}} + V_{\text{пс1}} \cdot X_{\text{пм1}}$$

Звідси, об'єм поживного середовища $V_{\text{пс1}}$ буде:

$$V_{\text{пс1}} = V_{\text{роб1}} / (1 + X_{\text{пм1}}) = 192,5 / (1 + 0,1) = 175 \text{ л,}$$

тоді об'єм посівного матеріалу $V_{\text{пм1}}$ складе

$$V_{\text{пм1}} = V_{\text{роб1}} - V_{\text{пс1}} = 192,5 - 175 = 17,5 \text{ л}$$

Враховуючи втрати у результаті краплевиносу через колектор відпрацьованого повітря в розмірі 10 – 15%, об'єм посівного матеріалу та поживного середовища у посівному апараті буде таким:

$$V_{\text{роб.2}} = V_{\text{пм1}} / (1 - E_{\text{па}}) = 17,5 / (1 - 0,1) = 19,4 \text{ л.}$$

Оскільки попередньо було обрано дозу посівного матеріалу у розмірі 10%, то у посівному апараті об'єм поживного середовища становитиме:

$$V_{\text{пс2}} = V_{\text{роб.2}} / (1 + X_{\text{па}}) = 19,4 / (1 + 0,1) = 17,6 \text{ л,}$$

де $X_{\text{па}} = 0,1$ – встановлена доза інокуляту для посівного апарату.

Далі слід розрахувати об'єм посівного матеріалу для посівного апарату, який становить $V_{\text{пм2}} = V_{\text{роб.2}} - V_{\text{пс2}} = 19,4 - 17,6 = 1,8 \text{ л.}$

Інокулят об'ємом $V_{\text{роб.2}} = 19,4 \text{ л}$ можна отримати протягом вирощування штаму у посівному апараті з геометричним об'ємом $V_{\text{ін2}} = V_{\text{роб.2}} / K_{\text{зап}} = 19,4 / 0,7 = 27,7 \text{ л.}$ Для цього обираємо найближчий за розміром стандартний посівний апарат $V_{\text{спа}} = 30 \text{ л.}$ Перерахований коефіцієнт заповнення складатиме:

$K_{\text{зап2}} = V_{\text{роб.2}} / V_{\text{сін}} = 19,4 / 30 = 0,65.$ Уточнений коефіцієнт заповнення перебуває у вибраних межах для анаеробних процесів

Посівний матеріал об'ємом $V_{\text{пм4}} = 1,8 \text{ л}$ можна одержати культивуванням штаму у колбах на качалці. Для цього застосовують качалочні колби об'ємом $V_{\text{колб}} = 750 \text{ мл}$ та коефіцієнтом заповнення $K_{\text{зк}} = 0,5.$

Тоді кількість колб для отримання посівного матеріалу становитиме:

$$N_{\text{колб}} = V_{\text{пм4}} / (V_{\text{колб}} \cdot K_{\text{зк}}) = 1800 / (750 \cdot 0,5) = 4,8 - 5 \text{ колб.}$$

Отже, для одержання посівного матеріалу необхідно 5 качалочних колб.

Можна зробити висновок, що процес одержання посівного матеріалу для проведення виробничого біосинтезу біомаси *S. thermophilus* ST12 у ферментері об'ємом 250 м³ за коефіцієнту заповнення 0,7 буде проходити у 2 етапи. Узагальнена інформація щодо кількості стадій виробництва біомаси наведена у табл. 3.2.

Таблиця 3.2

Кількість стадій та апаратів, необхідна підготовки посівного матеріалу та виробничого біосинтезу біомаси

№ стадії	Геометричний об'єм обраного апарату, V _г , л	Коефіцієнт заповнення, K _{зап} , частка	Робочий об'єм апарата, V _{роб} , л	Об'єм поживного середовища, V _{пс} , л	Об'єм посівного матеріалу, V _{пм} , л
1	2	3	4	5	6
1	250	0,7	192,5	175	17,5
2	30	0,65	19,4	17,6	1,8
3	0,75×5 колб	0,5	—	1,8	1,8

РОЗДІЛ 4

БІОСИНТЕЗ БІОМАСИ ТЕРМОФІЛЬНОГО СТРЕПТОКОКА

4.1. Шляхи катаболізму лактози у біологічного агента

У якості біологічного агента було обрано штам *S. thermophilus* ST12. Основним джерелом поживних речовин для цього мікроорганізму є сухе молоко знежирене, що вказує на лактозу як основне джерело вуглецю [5].

Оскільки в Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes відсутня схема катаболізму *S. thermophilus* ST12, повністю описати особливості цього процесу для даного штаму неможливо. Тому катаболічний шлях буде продемонстровано на прикладі штаму *S. thermophilus* S9.

Варто відзначити, що у *S. thermophilus* S9 відсутній фермент (КФ 3.2.1.108), який каталізує перетворення лактози на глюкозу. Водночас у нього наявна β -галактозидаза (КФ 3.2.1.23), яка розщеплює лактозу до галактози. Для цього штаму характерний гліколітичний шлях метаболізму. Схема катаболізму зазначеного субстрату представлена на рис. 4.1.

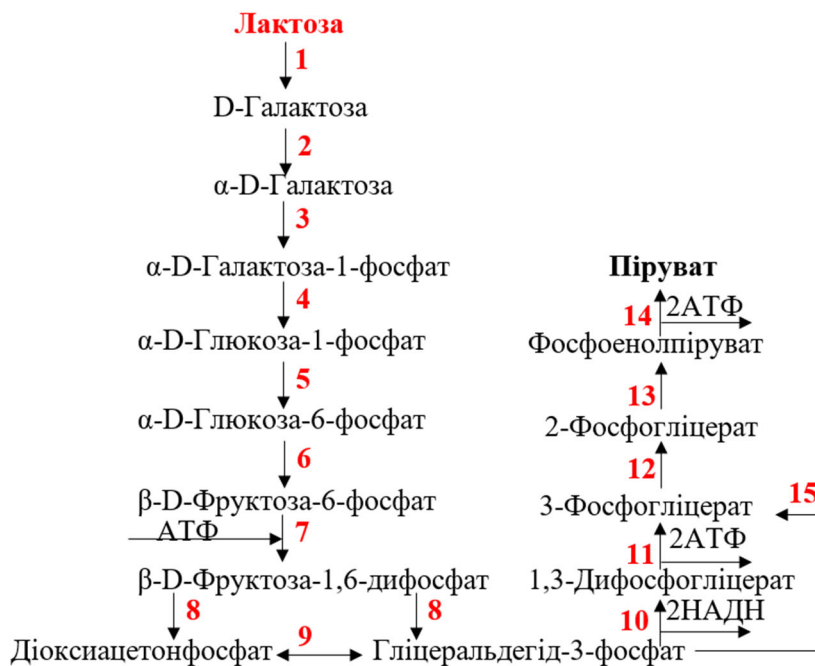


Рис. 4.1. Катаболізм лактози через гліколіз (KEGG)

					НУХТ БТЕК 05.01.03 КР ПЗ			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.	Залепа Д.Р.				РОЗДІЛ 4	Літ.	Арк.	Аркушів
Перевір.	Белемець Т.О.				БІОСИНТЕЗ БІОМАСИ ТЕРМОФІЛЬНОГО СТРЕПТОКОКА		36	93
Реценз.						Кафедра БТМ		
Н. Контр.								
Затверд.	Стабніков В.П.							

Ферменти: 1 – бета-галактозидаза (КФ 3.2.1.23), 2 – галактозна мутаротаза (КФ 5.1.3.3), 3 – галактокіназа (КФ 2.7.1.6), 4 - галактозо-1-фосфат уридилілтрансфераза (КФ 2.7.7.12), 5 – фосфоглюкомутаза (КФ 5.4.2.2), 6 – глюкозо-6-фосфат ізомераза (КФ 5.3.1.9), 7 – фосфофруктокіназа (глюкокіназа) (КФ 2.7.1.11), 8 – фруктозодифосфат альдолаза (КФ 4.1.2.13), 9 – тріозофосфат ізомераза (КФ 5.3.1.1), 10 – гліцеральдегідфосфатдегідрогеназа (КФ 1.2.1.12), 11 – фосфогліцерат кіназа (КФ 2.7.2.3), 12 – фосфогліцератмутаза (КФ 5.4.2.11), 13 – енолаза (КФ 4.2.1.11), 14 – піруваткіназа (КФ 2.7.1.40), 15 - гліцеральдегід-3-фосфатдегідрогенази (НАДФ+) (КФ 1.2.1.9).

4.2. Схема біотрансформації лактози в біомасу *S. thermophilus*

До синтезу біомаси *S. thermophilus* залучається величезна кількість метаболічних реакцій, які потребують великої кількості енергії та відповідних ферментів. Як було зазначено раніше, термофільний стрептокок, як і інші молочнокислі бактерії, є метаболічним інвалідом, а тому не може синтезувати деякі важливі компоненти свого метаболізму. Наприклад, цикл трикарбонових кислот функціонує не повністю, що зменшує кількість потенційних анаплоретичних реакцій, які б могли поновлювати важливі інтермедіати. *S. thermophilus* не може синтезувати фосфоліпіди, які так необхідні для клітинної стінки, але, оскільки основним поживним джерелом є сухе знежирене молоко (знежирене означає 1% жирності), яке так чи інакше містить жирні кислоти та фосфоліпіди, які можуть замінити недостаючі компоненти метаболізму. Теж саме стосується амінокислот, які одержують з білків цього компоненту. Схему показано на рис.4.2.

Зі схеми на рис.3.4. видно, що для синтезу біомаси термофільному стрептококу не вистачає аспартату, аспарагіну, фенілаланіну, тирозину та гістидину. Недостаючі амінокислоти, як це було вже зазначено, біологічний агент отримує з білкових компонентів сухого молока, які становлять 37%.

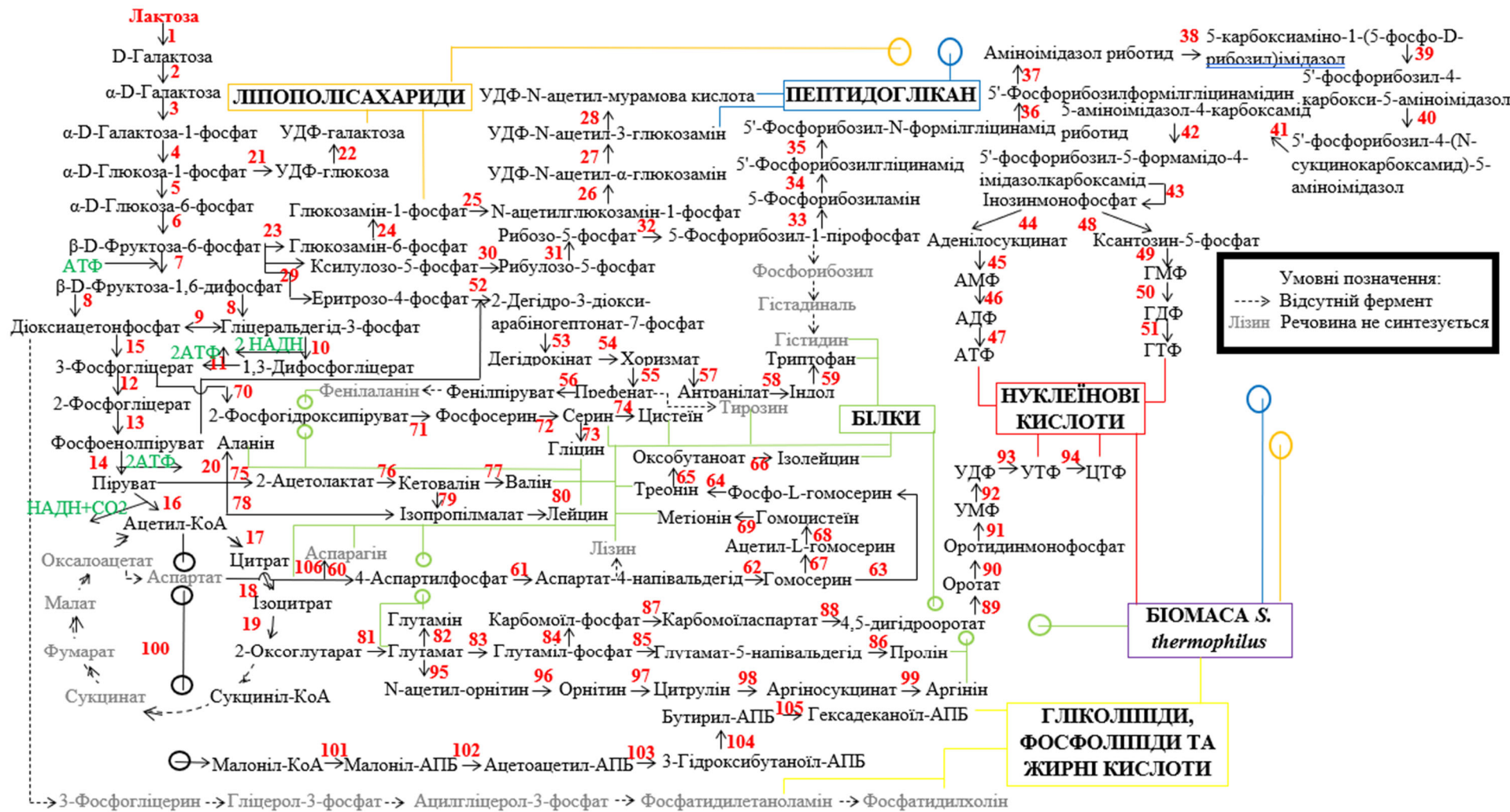


Рис.4.2. Схема біотрансформації основного композиту з молока сухого знежиреного (лактози) в біомасу термофільного стрептококу згідно бази даних KEGG

Ферменти, що вказані на рис.4.1.: 1 - бета галактозидаза (КФ.3.2.1.23), 2 – альдолаз-1-емпіраза (КФ.5.1.3.3), 3 – УДФ-глюкозо-гексозо-1-фосфатуридилтрансфераза (КФ.2.7.7.12), 4 - фосфоглюкомутаза (КФ.5.4.2.2), 5 - глюкозо-6-ізомераза (КФ.5.3.1.9), 6 - 6-фосфофруктокіназа (КФ.2.7.1.11), 7 - фруктозо-дифосфат альдолаза (КФ.4.1.2.13), 8 - гліцеральдегід-3-фосфат дегідрогеназа (КФ.1.2.1.12), 9 - фосфогліцерат кіназа (КФ.2.7.2.3), 10 - фосфогліцерат фосфомутаза (КФ.5.4.2.11), 13 - енолаза (КФ.4.2.1.11), 14 - піруват кіназа (КФ.2.7.1.40), 16 - ацетилтрансфераза (КФ 1.2.4.1), 17 - цитрат синтетаза (КФ.2.3.3.1), 18 - аконітат дегідратаза (КФ 4.2.1.3), 19 - ізоцитрат дегідрогеназа (КФ.1.1.1.42), 20 - аланін-синтезуюча трансаміназа (КФ.2.6.1.2), 21 - УДФ-глюкозо-1-фосфат уридилтрансфераза (КФ 2.7.7.9), 22 - УДФ-глюкоза 4-епімераза (КФ.5.1.3.2), 23 - глютамін-фруктозо-6-фосфат трансаміназа (КФ.2.6.1.16), 24 - фосфоглюкозамінмутаза (КФ.5.4.2.10), 25 - глюкозамін-1-фосфат N-ацетилтрансфераза (КФ.2.3.1.157), 26 - біфункціональна УДФ-N-ацетилглюкозамінпірофосфорилаза (КФ.2.7.7.23), 27 - УДФ-N-ацетилглюкозамін 1-карбоксивінілтрансфераза (КФ.2.5.1.7), УДФ-N-ацетилмураматдегідрогеназа (КФ.1.3.1.98), 29 - транскетолаза (КФ.2.2.1.1), 30 -рибулозофосфат-3-епімераза (КФ.5.1.3.1), 31 - рибоза 5-фосфат ізомераза А (КФ.5.3.1.6), 32 - рибозо-фосфат пірофосфокіназа (КФ.2.7.6.1), 33 - амідфосфорибозилтрансфераза (КФ.2.4.2.14), 34 - фосфорибозиламін-гліцинлігаза (КФ.6.3.4.13), 35 - фосфорибозилгліцинамідформіл трансфераза (КФ.2.1.2.2), 36 - фосфорибозилформілгліцинамідин синтаза (КФ.6.3.5.3), 37 - фосфорибозилформілгліцинамідин циклолігаза (КФ.6.3.3.1), 38 - 5-(карбоксиаміно)імідазол рибонуклеотидсинтаза (КФ.6.3.4.18), 39 – фосфорибозил-аміноімідазол-сукцино-карбоксамід-синтаза (КФ.6.3.2.6), 40 - аденілосукцинат ліаза (КФ.4.3.2.2), 41 – фосфорибозил-аміноімідазол-карбоксамід-форміл трансфераза (КФ.2.1.2.3), 42 - ІМР циклогідролаза (КФ.3.5.4.10), 43 - 5'-нуклеотидаза (КФ.3.1.3.5), 44 - аденозин деаміназа (КФ.3.5.4.4), 45 - УДФ-цукродифосфатаза (КФ.3.6.1.45), 46 - аденілаткіназа (КФ.2.7.4.3), 47 - нуклеозид-дифосфат кіназа (КФ.2.7.4.6), 48 - ІМР дегідрогеназа (КФ.1.1.1.205), 49 - ГМФ-

синтаза (КФ.6.3.5.2), 50 - гуанілат кіназа (КФ.2.7.4.8), 51 - апіраза (КФ.3.6.1.5). 52 - 3-дезоксидефосфогептулатсинтаза (КФ.2.5.1.54), 53 - 3-дегідрохінатсинтаза (КФ.4.2.3.4), 54 - хоризматсинтаза (КФ.4.2.3.5), 55 - хоризмат мутаза (КФ.5.4.99.5), 56 - префенатдегідратаза (КФ.4.2.1.51), 57 - антранілатсинтаза компонент I (КФ.4.1.3.27), 58 - α -ланцюг триптофансинтази (КФ.4.2.1.20), 59 - β -ланцюг триптофансинтази (КФ.4.2.1.20). 60 - аспаратат кіназа (КФ.2.7.2.4), 61 - аспаратат-семіальдегід дегідрогеназа (КФ.1.2.1.11), 62 - гомосерин дегідрогеназа (КФ.1.1.1.3), 63 - гомосеринкіназа (КФ.2.7.1.39), 64 - треонін синтаза (КФ.4.2.3.1), 65 - L-треонін NH₃-ліаза (КФ.4.3.1.19), 66 - лейцин дегідрогеназа (КФ.1.4.1.9), 67 - гомосерин O-ацетил трансфераза (КФ.2.3.1.31), 68 - цистатіонін- γ -синтаза (КФ.2.5.1.48), 69 - гомоцистеїн S-метил трансфераза (КФ.2.1.1.10), 70 - 3-фосфогліцерат дегідрогеназа (КФ.1.1.1.95), 71 - фосфосерин амінотрансфераза (КФ.2.6.1.52), 72 - фосфосерин фосфатаза (КФ.3.1.3.3), 74 - цистеїнсинтаза (КФ.2.5.1.47), 75 - триптофан синтаза (КФ.4.2.1.20), 76 - дигідроксикислотна дегідратаза (КФ.4.2.1.9), 77 - амінокислота амінотрансфераза (КФ.2.6.1.42), 78 - лейцин дегідрогеназа (КФ.1.4.1.9), 79 - 2-ізопропілмалат синтаза (КФ.2.3.3.13), 80 - лейцин трансаміназа (КФ.2.6.1.6), 81 - аланін-синтезуюча трансаміназа (КФ.2.6.1.2), 82 - глютамін синтетаза (КФ.6.3.1.2), 83 - глютамат-5 кіназа (КФ.2.7.2.11), 85 - глютамат-5-семіальдегід дегідрогеназа (КФ.1.2.1.41), 86 - піролін-5-карбоксилат редуктаза (КФ.1.5.1.2), 87 - ЦТФ аспаратат-карбамоїл трансфераза (КФ.2.1.3.2), 88 - дигідрооротаза (КФ.3.5.2.3), 89 - дигідрооротат дегідрогеназа (КФ.1.3.1.14), 90 - уридинмонофосфат синтетаза (КФ.2.4.2.10), 91 - уридинмонофосфат синтетаза (КФ.4.1.1.23), 92 - УМФ-ЦМФ кіназа (КФ.2.7.4.14), 93 - нуклеозид-дифосфат кіназа (КФ.2.7.4.6), 94 - ЦТФ-синтаза (КФ.6.3.4.2), 95 - ацетилорнітинінамін трансфераза (КФ.2.6.1.11), 96 - аміноацилаза (КФ.3.5.1.14), 97 - орнітин-карбамоїл трансфераза (КФ.2.1.3.3), 98 - аргініносукцинат синтаза (КФ.6.3.4.5), 99 - аргініносукцинат ліаза (КФ.4.3.2.1), 100 - ацетил-КоА карбоксилаза α карбокситрансфераза (КФ.6.4.1.2), 101 - S-малонілтрансфераза (КФ.2.3.1.39), 102 - 3-оксоацил синтаза II (КФ.2.3.1.179), 103 - 3-оксоацил редуктаза (КФ.1.1.1.100), 104 - 3-гідроксиацил дегідратаза

(КФ.4.2.1.59), 105 - транс-2-еноіл-КоА редуктаза (КФ. 1.3.1.38), 106 - аспаргатаміачна лігаза (КФ.6.3.1.1)

РОЗДІЛ 5

ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ

5.1. Обґрунтування способу культивування і типу ферментера

S. thermophilus ST12 це термофільні молочнокислі бактерії що мають яйцеподібну форму або форму коків, розміром 0,7–0,9 мкм. Термофільний стрептокок зазвичай утворює пари або ланцюжки, іноді дуже довгі. Оптимальна температура для його росту — 40-45 °С, мінімальна — 20-25 °С, а максимальна — приблизно 47-50 °С. *S. thermophilus* не розщеплює аргінін і здатний зброджувати обмежену кількість цукрів, таких як лактоза, фруктоза, сахароза та глюкоза. При цьому він не ферментує галактозу під час метаболізму лактози, через що частина цього джерела карбону втрачається. Також ця бактерія є відносно чутливою до антибіотиків і засобів для дезінфекції, маючи низьку протеолітичну активність. По відношенню до кисню є факультативним анаеробом, гомоферментативні бактерії [45].

В першу чергу варто звернути увагу на потребу в кисні, оскільки термофільний стрептокок є факультативно анаеробною бактерією. Проте, деякі дані свідчать, що в аеробних умовах, *S. thermophilus* виробляють не лише молочну кислоту, а й здатні до синтезу мурашиної та інших кислот. Це, в свою чергу, буде зрушувати профіль метаболізму поживних речовин не в біомасу, а в кислоти, які будуть додатково пригнічувати ріст нашого біологічного агента, тим самим знижуючи концентрацію життєздатних клітин [46]. Тому, для культивування *S. thermophilus* ST12 варто передбачити анаеробне культивування. Особливістю саме цього біологічного агента є те, що він культивується в статичних умовах (тобто, перемішування не відбувається) [5]. Через це, продування інертним газом (наприклад, азотом) не є доцільним, через те, що він буде поступати та неефективно контактувати з бактеріями, оскільки перемішування відсутнє. При цьому, додатково, бактерії будуть синтезувати

					<i>НУХТ БТЕК 05.01.03 КР ПЗ</i>		
<i>Змн.</i>	<i>Лист</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>			
<i>Розроб.</i>	<i>Залепа Д.Р.</i>				РОЗДІЛ 5 ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ		
<i>Перевір.</i>	<i>Белемець Т.О.</i>						
<i>Реценз.</i>					<i>Літ.</i>	<i>Арк.</i>	<i>Аркушів</i>
<i>Н. Контр.</i>						42	93
<i>Затверд.</i>	<i>Стабніков В.П.</i>				<i>Кафедра БТМ</i>		

вуглекислий газ, який буде створювати ці анаеробні умови. З врахуванням того, що ці бактерії є факультативними анаеробами, а верхня товща початково буде реагувати з залишками повітря, таке рішення є оптимальним задля зменшення відходів виробництва та додаткових витрат на електроенергію.

Щодо температурного режиму культивування, для *S. thermophilus* ST12 використовують оптимальну температуру росту, а саме 40 °C [5,45]. Тож, цей параметр залишаємо незмінним. Але, важливим моментом для виробництва є створення стерильності процесу через те, що температура для культивування термофільного стрептокока може підходити для більшості мезофільних мікроорганізмів, що перебувають в навколишньому середовищі.

Важливим моментом для всіх молочнокислих бактерій є підтримка рівню рН. Оптимальним значенням рН *S. thermophilus* складає від 5,0 до 7,5 [47]. *S. thermophilus* ST12 культивується при рН 6,5 [5], що відповідає оптимальному значенню, але, через утворення молочної кислоти, потрібно постійно контролювати це значення, що передбачає використання титрувальних агентів, в цьому випадку – лужного. Також, варто передбачити, що в чисто статичних умовах зробити рівномірне рН по всьому середовищу – неможливо. Тому, варто передбачити ферментер зі звичайним перемішуючим пристроєм (з лопатевою мішалкою), який буде періодично її вмикати та врівноважувати рівень рН до нормального. Датчик контролю рН потрібно запрограмувати таким чином, щоб коли цей рівень складав 5,0 одиниць та нижче, він автоматично підтритував до значення 6,5.

Оскільки для *S. thermophilus* ST12 передбачається статичне культивування в товщі поживного середовища, використовувати поверхневий метод культивування – недоцільно. Зазвичай, цей метод використовують для культивування грибів з метою одержання ферментів та інших речовин. В розрізі обраного виробництва цей метод не застосовується. Тож, залишаємо глибинний метод культивування [48].

Оскільки культивування відбуватиметься глибинно, потрібно передбачити яким саме воно буде, безперервним, напівбезперервним чи

періодичним. Безперервне культивування є самим бажаним методом, оскільки тримає ріст клітин в постійній експоненційній фазі, проте цей метод не доцільно використовувати для нашого виробництва, оскільки кількість КУО зазначалось для стаціонарної фази, а при експоненційній досягти такої ж кількості вкрай важко. Напівбезперервне культивування передбачає постійне підживлення поживного середовища. Для обраного біологічного агента дана методика також не є доцільною, оскільки підживлення не відбувається, а середовище, само по собі, є звичайним регідратованим знежиреним молоком, яке не потребує додаткових (запасних) розчинів. Тому, ідеальним варіантом залишається періодичне культивування. З врахуванням того, що молочнокислі бактерії постійно синтезують ще й молочну кислоту, яка буде пригнічувати синтез біомаси, що є небажаною реакцією для виробництва закваски, і що буде потребувати постійного нагляду за лужним агентом, періодичне культивування є найоптимальнішим методом синтезу біомаси *S. thermophilus* ST12 [48].

Тож, для культивування *S. thermophilus* ST12 з метою одержання біомаси та високу концентрацію життєздатних клітин обрано наступні параметри біосинтезу: глибинна та періодична ферментація в асептичних умовах без перемішування, підтитровка поживного середовища лужним титрантом задля забезпечення рівню рН 6,5 з частковим перемішуванням лопатевою мішалкою задля стабілізації кислотності середовища, температура в 40 °С, анаеробне культивування без продувки інертного газу, оскільки молочнокислі бактерії культивуються статично та виробляють вуглекислий газ, який буде створювати анаеробні умови.

5.2. Обґрунтування вибору стадії підготовки аераційного повітря

В першу чергу варто звернути увагу на потребу в кисні, оскільки термофільний стрептокок є факультативно анаеробною бактерією. Проте, деякі дані свідчать, що в аеробних умовах, *S. thermophilus* виробляють не лише молочну кислоту, а й здатні до синтезу мурашиної та інших кислот. Це, в свою чергу, буде зрушувати профіль метаболізму поживних речовин не в біомасу, а в кислоти, які будуть додатково пригнічувати ріст нашого біологічного агента, тим

самим знижуючи концентрацію життєздатних клітин. Тому, для культивування *S. thermophilus* ST12 варто передбачити анаеробне культивування. Особливістю саме цього біологічного агента є те, що він культивується в статичних умовах (тобто, перемішування не відбувається) [5]. Через це, продування інертним газом (наприклад, азотом) не є доцільним, через те, що він буде поступати та неефективно контактувати з бактеріями, оскільки перемішування відсутнє. При цьому, додатково, бактерії будуть синтезувати вуглекислий газ, який буде створювати ці анаеробні умови. З врахуванням того, що ці бактерії є факультативними анаеробами, а верхня товща початково буде реагувати з залишками повітря, таке рішення є оптимальним задля зменшення відходів виробництва та додаткових витрат на електроенергію.

Проте, для перекачування інокуляту зі стадії на стадію все ж таки потрібно передбачити підготовку стерильного стисненого повітря, яке буде перекачувати посівний матеріал через трубу перетискування. За мінімальний час контакту обраний біологічний агент не встигне синтезувати величезну кількість кислоти, через що перекачування будемо здійснювати зазначеним чином.

Процес забезпечення стерильного повітря включає кілька послідовних етапів:

1. Забір атмосферного повітря. Повітря відбирається на висоті 20–30 м над землею за допомогою турбокомпресора.
2. Попереднє очищення. Повітря проходить фільтри грубої очистки, які видаляють великі часточки (пил), знижуючи ризик пошкодження чутливих фільтрів на наступних етапах.
3. Стиснення. У турбокомпресорі повітря стискається до 0,35–0,5 МПа, що забезпечує подолання опору матеріалів фільтрування.
4. Нагрівання та осушення/ Повітря нагрівається до 120–250°C, що підвищує його вологість. Для усунення зайвої вологи застосовують охолодження (в ресивері) та краплєвловлювачі.

5. Основне очищення. Повітря проходить через фільтри зі скловолокна та базальтових матеріалів із пористістю 15–50 мкм, які видаляють до 98% мікроорганізмів.
6. Фільтри тонкої очистки. Завершальне очищення проводиться через фільтри з ефективністю 99,999%. Стерильне повітря подається через магістральні трубопроводи у виробничі зони, ферментери, приміщення для культивування, бокси та лабораторії, де працюють із мікроорганізмами.

5.3. Вибір мийних та дезінфікуючих засобів

Виробництво біомаси термофільного стрептокока для виготовлення ряжанки триває 200 робочих днів та включає використання наступного обладнання: ферментера місткістю 250 л, інокулятора на 30 л, ємностей для підготовки та стерилізації компонентів живильного середовища, качалок, а також боксу та лабораторного обладнання.

Процес організований у спеціалізованих приміщеннях, зокрема у виробничому цеху біосинтезу та лабораторії, де розміщені автоклави, бокс, термостати, холодильники й апаратура для моніторингу параметрів процесу.

На рис. 5.1 представлено орієнтовне планування виробничої зони, яке враховує габарити обладнання та забезпечує необхідні відстані між апаратами (не менше 1 м) і від стін (1–1,5 м).

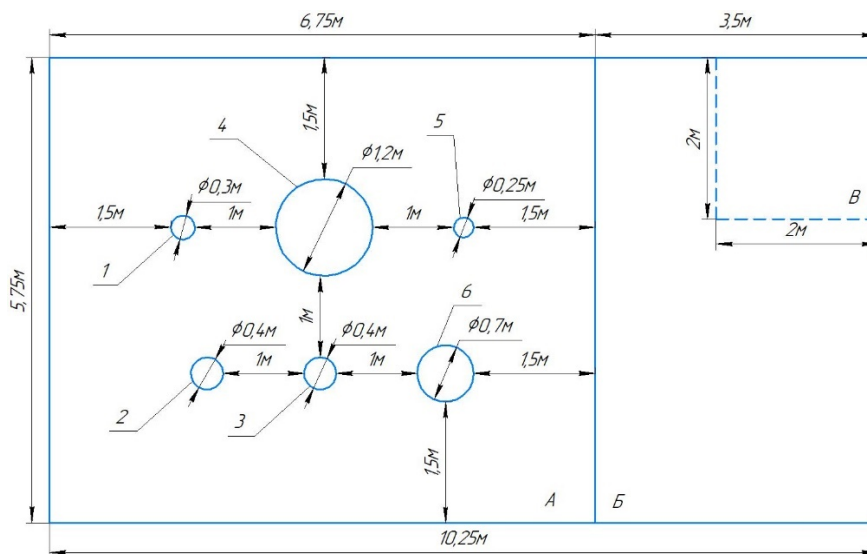


Рис.5.1. План приміщення для виробництва закваски для ряжанки

А – цех виробничого культивування: 1 – збірник об’ємом 10 л, 2 – збірник об’ємом 15 л, 3 – інокулятор об’ємом 30 л, 4 – ферментер 250 л, 5 – збірник об’ємом 100, 6 – ферментер об’ємом 150 л; Б – лабораторія; В – бокс.

Загальний об’єм обладнання, включаючи ферментери, інокулятори та інші апарати для вирощування посівного матеріалу й виробничого біосинтезу, становить 0,555 м³.

Для підтримання санітарних умов у виробничих приміщеннях щодня виконується миття підлоги, що за 200 робочих днів відбувається 200 разів. Раз на місяць проводиться генеральне прибирання, яке включає очищення стін, підлоги, вікон та іншого обладнання, тобто загалом 10 разів на рік.

Для визначення необхідної кількості мийних і дезінфікуючих засобів розраховується загальна площа поверхонь, що підлягають обробці, з урахуванням площі підлоги виробничого приміщення та стін на висоту 2,5 м.

Площа підлоги виробничого цеху біосинтезу становить 59 м², площа стін – 128,75 м², загальна площа обробки – $59 + 128,75 = 187,75$ м².

Таблиця 5.1

Розрахунок загальної площі приміщень для виробництва закваски для ряжанки

Приміщення	Площа приміщення, м ²	Площа стін, м ²
Виробничий цех	39	80
Лабораторія з боксом	20	4,75
Всього	59	128,75

Зведені дані щодо площі поверхонь, що підлягають миттю, наведено в табл. 5.2.

Кількість виробничих циклів для вирощування біомаси термофільного стрептокока становить 146.

Оскільки миття обладнання проводиться перед кожним циклом, загальна кількість процесів миття за весь період виробництва становить 147 (включаючи додаткове миття після завершення останнього циклу).

Тоді загальний об’єм миття становитиме:

$$147 * 0,555 = 81,6 \text{ м}^3$$

**Розрахунок загальної площі миття та/або дезінфекції оброблюваного
об'єкту за весь період виробництва**

Об'єкт миття та/або дезінфекції	Площа (об'єм) оброблюваного об'єкту, м² (м³)	Кількість процесів миття та/або дезінфекції за весь період виробництва	Загальна площа (об'єм) оброблюваного об'єкту за весь період виробництва, м² (м³)
Обладнання	0,555	147	81,6
Підлога	59	200	11 800
Стіни, двері, вікна	128,75	10	1287,5

Мийні засоби необхідні для ефективного очищення обладнання, трубопроводів, ємностей і поверхонь від залишків живильного середовища, біомаси та органічних забруднень. У виробництві біомаси термофільного стрептокока застосовують лужні, кислотні та комплексні мийні засоби.

1. Бланідас-Ц Ген Део [49]

2. Тип: Лужний мийний засіб для СІР-мийки

Діюча речовина: Гідроксид натрію (NaOH)

Основні властивості:

Ефективно видаляє жири, білкові залишки, органічні забруднення

Забезпечує глибоке очищення внутрішніх поверхонь ферментерів та технологічного обладнання

Пінний ефект сприяє кращому зчепленню з поверхнями

Область застосування: СІР-мийка у біотехнологічному виробництві, очищення трубопроводів і ємностей

Виробник: Blanidas

2. Blanidas-Acid СІР [50]

Тип: Кислотний мийний засіб

Діюча речовина: Фосфорна кислота (H₃PO₄)

Основні властивості:

Видаляє мінеральні відкладення (накип, кальцієві, фосфатні утворення)

Відновлює кислотний баланс після лужної мийки

Підходить для очищення ємностей, трубопроводів та теплообмінників

Область застосування: Завершальний етап мийки після лужного очищення

Виробник: Blanidas

3. DEZO® Лужний пінний засіб [51]

Тип: Лужний мийний засіб для ручного та автоматичного застосування

Діюча речовина: Гідроксид натрію (NaOH)

Основні властивості:

Інтенсивно розчиняє органічні залишки та забруднення

Створює активну стійку піну для кращого контакту із забрудненнями

Підходить для відкритої та пінної мийки виробничих зон

Область застосування: Мийка обладнання, поверхонь та технологічного інвентарю

Виробник: DEZO

Дезінфекція є ключовим етапом у біотехнологічному виробництві, що забезпечує мікробіологічну чистоту обладнання та знижує ризики контамінації небажаними мікроорганізмами. У виробництві термофільного стрептокока використовують окислювальні агенти, четвертинні амонієві сполуки (ЧАС) та комбіновані засоби.

1. Blanidas-Оксидез [52]

Тип: Окислювальний дезінфікуючий засіб

Діюча речовина: Надоцтова кислота

Основні властивості:

Має широкий спектр антимікробної активності, включаючи бактерії, грибки та віруси

Швидко розкладається на безпечні компоненти (оцтова кислота, кисень, вода)

Сумісний з СІР-мийкою, не залишає залишків після ополіскування

Область застосування: Дезінфекція технологічного обладнання та трубопроводів

Виробник: Vlanidas

2. DEZO® Дезінфікуючий засіб на основі ЧАС [53]

Тип: Четвертинні амонієві сполуки (ЧАС)

Діюча речовина: Комплекс ЧАС

Основні властивості:

Висока ефективність проти бактерій, вірусів і грибків

Утворює захисну плівку, що запобігає повторному забрудненню

Відсутність запаху та низька корозійна активність

Область застосування: Дезінфекція обладнання, інвентарю та поверхонь

Виробник: DEZO

3. Інтердез [54]

Тип: Комбінований дезінфікуючий засіб

Діюча речовина: ЧАС + третинний амін + бігуанід

Основні властивості:

Поєднує кілька активних компонентів для максимальної ефективності

Має пролонговану дію

Використовується для обробки обладнання, що контактує із середовищами культивування

Область застосування: Ферментери, трубопроводи, технологічні лінії

Виробник: Інтердез

5.4. Особливості підготовки та стерилізації поживного середовища

Для культивування *S. thermophilus* ST12 використовується доволі просте за компонентним складом поживне середовище на основі регідратованого знежиреного молока та має наступний компонентний склад (г/л) [5]:

Сухе знежирене молоко – 100,

CaCl₂ – 1,11

Узагальнена характеристика витрат мийних та дезінфікувальних засобів для виробництва закваски

Назва мийного/дезінфікувального засобу	Об'єкт миття та/або дезінфекції	Концентрація робочого розчину, %	Загальна площа (об'єм) миття та/або дезінфекції об'єкту за весь період виробництва, м ² (л)	Кількість робочого розчину за весь період виробництва, л	Вартість 1 л/кг мийного або дезінфікувального засобу, грн	Вартість 1 л робочого розчину, грн	Загальна вартість миття та/або дезінфекції за весь період виробництва, грн
Бланідас-Ц Ген Део	Обладнання	0,05	81,6	8053,9	95	0,049	409,7
Blanidas-Acid CIP		0,05			108	0,054	434,9
DEZO® Лушний пінний засіб		0,05			50	0,025	201,3
Blanidas-Оксидез	Стіни, підлога, вікна, двері	0,05	13 087,5	1308,8	257	0,13	170,1
DEZO® Дезінфікуючий засіб на основі ЧАС		0,05			116	0,06	78,5
Інтердез		0,5			455	2,28	2984

Враховуючи те, що середовище містить в собі лише 2 компоненти, але які мають різний режим стерилізації, поділ на композиції буде наступним:

Композиція А: сухе знежирене молоко стерилізується за 112 °С протягом 20 хвилин при тиску в 0,05 МПа;

Композиція Б: сіль хлориду кальцію, яка буде стерилізуватись за 131 °С протягом 40 хвилин при тиску в 0,15 МПа.

Для сухого знежиреного молока обираємо самий найменший за температурою режим стерилізації через те, що в її основі міститься лактоза та пептиди, які потребують меншої температури стерилізації. Для солі хлориду кальцію застосовуємо самий жорсткий режим стерилізації задля максимального забезпечення асептики виробництва.

Особливості приготування поживного середовища для колб показано в табл.5.4.

Таблиця 5.4

Розрахунок об'єму композицій для стадії колб

Компонент	Концентрація, г/л	Вміст компоненту в 1,8 л, г (мл)	Композиція	Об'єм композиції, мл
Сухе знежирене молоко	100	180	А	450
Вода	450 мл			
CaCl ₂	1,11	2	Б	1350
Вода	1350 мл			
Всього				1800

Тож, за даними таблиці 2.1. для обох композицій логічно використати дві термостійкі скляні колби. Для композиції А об'ємом 1 л, а для композиції Б – на 2 л.

Розрахунки для стадії підготовки посівного матеріалу в інокуляторі, об'ємом 30 літрів, показано в табл.5.5.

Таблиця 5.5

**Розрахунок об'єму композицій та інокуляту для стадії інокулятору на
30 л**

Компонент	Концентрація, г/л	Вміст компоненту в 17,6 л, г (мл)	Композиція	Об'єм композиції, мл
Сухе знежирене молоко	100	1760	А	6 600
Вода	6000 мл			
Конденсат	600 мл			
CaCl ₂	1,11	19,5	Б	11 000
Вода	10 000 мл			
Конденсат	1000 мл			
Всього				17 600

Стерилізувати сухе знежирене молоко варто в реакторі, об'ємом 10 л, а хлорид кальцію – в реакторі об'ємом 15 л. Інокулят на цій стадії буде потрапляти до інокулятору через засівну колбу.

Розрахунки для стадії виробничого культивування в ферментері, об'ємом 250 л, показано в табл.5.6.

Таблиця 5.6

**Розрахунок об'єму композицій та інокуляту для виробничого
біосинтезу**

Компонент	Концентрація, г/л	Вміст компоненту в 175 л, кг (л)	Композиція	Об'єм композиції, л
Сухе знежирене молоко	100	17,5	А	65
Вода	59 л			
Конденсат	≈ 6 л			
CaCl ₂	1,11	0,2	Б	110
Вода	100 л			
Конденсат	≈ 10 л			
Всього				175

Композицію А варто готувати та стерилізувати в реакторі, об'ємом 100 л, а сіль – в реакторі об'ємом 150 л. Інокулят до ферментеру буде потрапляти через трубу перетискування.

Для підтримання рН на рівні 6,5, згідно із умовами культивування, використовувався аміачна вода. Кислотний титрант не передбачається, оскільки молочнокислі бактерії продукують молочну кислоту, яка буде знижувати рН. Теоретичний розрахунок титранту (30 мл на 1 л культуральної рідини) показано в табл.5.7.

Таблиця 5.7.

Розрахунок аміачної води

Об'єм культуральної рідини на стадії, л	Кількість титранту, мл
19,4	582
192,5	5775

Для стадії культивування в колбах титрант зазвичай не готують через високий ризик контамінації, що може в подальшому призвести до негативних наслідків.

РОЗДІЛ 6
СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ ДЛЯ ВИРОБНИЦТВА
БІОМАСИ *STREPTOCOCCUS THERMOPHILUS*

Узагальнений перелік обладнання, використовуваного для біосинтезу біомаси термофільного стрептококу наведено у табл. 6.1. Відповідне обладнання представлено у графічній частині (апаратурна схема).

Таблиця 6.1

Специфікація обладнання. Виробництво біомаси *S. thermophilus*
ST12

Поз иція	Найменування позиції	Кільк ість	Характеристика обладнання
ПЗ-1	Повітрязабірник	1	Металевий повітрязабірника, обладнаний металевою сіткою для видалення зайвих часточок
Ф-2	Фільтр грубого очищення	1	Панельний фільтр грубої очистки повітря. Клас очищення G4. Розмір фільтру 592x287x292 мм. Площа фільтрматеріалу – 9 м ² [55].
К-3	Компресор стиснення	1	Компресор Procraft AC-24. Продуктивність – 206 л/хв. Максимальний тиск – 8 бар [56].
Т-4 Т-6	Теплообмінник-охолоджувач/нагрівач	2	Пластинчастий теплообмінник THERMAKS PTA (GX)-7. Робочі температури від -10 до +180 °С. Робоче середовище – вода [57].
Р-5	Ресивер	1	Ресивер для заохолодження повітря об'ємом 100 л. розрахований на робочий тиск в 12 атмосфер і укомплектований: манометром, кранами, клапанами [58].

					НУХТ БТЕК 05.01.03 КР ПЗ				
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата					
Розроб.	Залепа Д.Р.				РОЗДІЛ 6		Лім.	Арк.	Аркушів
Перевір.	Белемець Т.О.				СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ ДЛЯ ВИРОБНИЦТВА БІОМАСИ <i>STREPTOCOCCUS</i>			55	93
Реценз.					<i>THERMOPHILUS</i>		Кафедра БТМ		
Н. Контр.									
Затверд.	Стабніков В.П.								

Ф-7	Фільтр очищення	головного	1	Фільтр тонкої очистки серії Futura. Фільтр очистки скомпресованого повітря. Діаметр пор – 0,3 мкм. Температура від -10 °С до +50. Максимальний тиск – 16 бар [59].
Ф-8 Ф-9	Фільтр очисти	індивідуальної	1	Фільтр надочищення стисненого повітря АФ 0056. Продуктивність до 60 м ³ /год. Максимальний тиск – 16 бар [60].
Д-10 Д-13 Д-19 Д-22	Дозатор для води		4	Дозатор рідинний. Регулювання потоку рідини від 20 л/год до 10000 л/год. Робочий тиск від 0.01 МПа до 1.0 МПа [61].
РЗ-11	Реактор-змішувач об'ємом 10 л для сухого молока на стадії підготовки посівного матеріалу		1	Сталевий хімічний реактор об'ємом 10 л. Оснащений мішалкою та подвійною сорочкою. Наявні датчики контролю. Габарити: 580*580*1500 мм [62].
Н-12 Н-15	Насос перистальтичний		2	Перистальтичний дозувальний насос. Продуктивність: 50-800 мл/хв. Дуже високоточний. Застосовується для дозування й розливання рідких добавок та хімії [63].
РЗ-14	Реактор-змішувач об'ємом 15 л для солі на стадії підготовки посівного матеріалу		1	Сталевий хімічний реактор об'ємом 15 л. Оснащений мішалкою та подвійною сорочкою. Наявні датчики контролю. Габарити: 1400*1400*1400 мм [64].
ПА-16	Посівний апарат об'ємом 30 л		1	Посівний апарат BLBIO-30SCA. Оснащений датчиками контролю температури, рН, обертів мішалки, розчиненого кисню та ін. Виконаний з нержавіючої сталі. Габарити: 300*470*1400 мм [65].

Д-17	Ваговий дозатор	1	Дозатор сипких речовин ДВС-301-50-2. Комерційна точність дозування (клас 0,5). Висока $\pm 0,5\%$ точність [66]
РЗ-18	Реактор-змішувач об'ємом 100 л для сухого молока на стадії виробничого біосинтезу	1	Хімічний реактор LSSF-100L. Оснащений мішалкою та подвійною сорочкою. Наявні датчики контролю. Габарити: 700*680*1700 мм [67].
Н-20 Н-23 Н-25	Насос перистальтичний	3	Перистальтичний насос SEKO MS1C165C51C4000. Продуктивність 500 л/год. Робочий тиск – 3 бар [68].
РЗ-21	Реактор-змішувач об'ємом 150 л для солі на стадії виробничого біосинтезу	1	Хімічний реактор DJR-150L. Оснащений мішалкою та подвійною сорочкою. Наявні датчики контролю. Габарити: 700*880*1900 мм [69].
ФР-24	Виробничий ферментер на 250 л	1	Посівний апарат об'ємом 250 л. Оснащений датчиками контролю температури, рН, обертів мішалки, розчиненого кисню та ін. Виконаний з нержавіючої сталі. Габарити: 1500*1470*2200 мм [70].

РОЗДІЛ 7

ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ВИРОБНИЦТВА БІОМАСИ *STREPTOCOCCUS THERMOPHILUS*

ДР 1. Підготовка аераційного повітря

ДР 1.1. Забір атмосферного повітря

Атмосферне повітря відбирають за допомогою повітрязабірника (ПЗ-1) у на висоті 20 м. Повітря подається до подальшої системи очистки.

ДР 1.2. Очистка повітря від грубих часток

Попереднє очищення повітря проводять у фільтрі (Ф-2), що забезпечує ступінь очищення до 90%, затримуючи при цьому частинки діаметром 50 мкм.

ДР 1.3. Стиснення повітря

Стискання повітря здійснюють у компресорі (К-3), щоб забезпечити аерацію та подолати гідравлічний тиск стовпа рідини у ферментері. Умови процесу: тиск – 0,35 МПа, температура – до 250°C.

ДР 1.4. Охолодження повітря і видалення зайвої вологи

Стиснене повітря, утворене при компресуванні, (від ДР 1.3) надходить до теплообмінника-охолоджувача (Т-4), де охолоджується до температури 25-30°C. Згодом зайву вологу видаляють за допомогою ресивера (Р-5), де проходить усунення пульсацій руху повітря. На даному етапі показник вологості зменшується до 60%.

ДР 1.5. Нагрівання повітря

Охоложене повітря (від ДР 1.4) надходить до теплообмінника-нагрівача (Т-6), де нагрівається до температури 45-50°C. На даному етапі показник вологості зменшується до 50%.

ДР 1.6. Очищення повітря у головному фільтрі

Нагріте повітря (від ДР 1.5) надходить до головного фільтра очистки (Ф-7), який ставлять біля ферментаційних відділень. На даному етапі ступінь

					НУХТ БТЕК 05.01.03 КР ПЗ						
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата							
Розроб.		Залепа Д.Р.			РОЗДІЛ 7 ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ВИРОБНИЦТВА БІОМАСИ <i>STREPTOCOCCUS</i> <i>THERMOPHILUS</i>			Літ.	Арк.	Аркушів	
Перевір.		Белемець Т.О.							58	93	
Реценз.								Кафедра БТМ			
Н. Контр.											
Затверд.		Стабніков В.П.									

очищення складає 95%.

ДР 1.7. Очищення повітря в індивідуальному фільтрі

Повітря (від ДР 1.6) через трубопроводи подається безпосередньо в індивідуальні фільтри кожного з інокуляторів. Ступінь кінцевої очистки повітря складає 99,999% та КУО – 0.

ДР 2 Приготування та стерилізація поживного середовища

ДР 2.1. Приготування та стерилізація поживного середовища для стадії підготовки інокуляту в колбах в термостаті

ДР 2.1.1. Приготування та стерилізація композиції А

На технічних вагах зважують 180 грам сухого молока знежиреного та пересипають в стійку до температури, конічну, плоскодонну скляну колбу, об'ємом 1 л. Після цього, за допомогою мірного циліндра на 500 мл доливають 450 мл води водопровідної. В колбу обережно поміщають магніт та ставлять її на магнітну мішалку з підігрівом, з метою повної регідратації сухого молока. Підігрів вмикають на невисоку температуру, для того, щоб регідратація відбулася швидше. Після повного розчинення, магніт з колби видаляють магнітною вудкою, а саму колбу відставляють, закривають ватно-марлевым корком. Далі, коли передають на стерилізацію в автоклаві при температурі в 112 °С при тиску в 0,05 МПа протягом 20 хвилин.

ДР 2.1.2. Приготування та стерилізація композиції Б

На технічних вагах зважують 2 грами кальцію хлориду та пересипають в стійку до температури, конічну, плоскодонну скляну колбу, об'ємом 2 л. Після цього, за допомогою мірного циліндра на 2 л доливають 1350 мл води водопровідної. В колбу обережно поміщають магніт та ставлять її на магнітну мішалку, з метою повного розчинення солі. Після повного розчинення, магніт з колби видаляють магнітною вудкою, а саму колбу відставляють, закривають ватно-марлевым корком. Далі, коли передають на стерилізацію в автоклаві при температурі в 131 °С при тиску в 0,15 МПа протягом 40 хвилин.

ДР 2.2. Приготування та стерилізація поживного середовища для стадії підготовки інокуляту в інокуляторі, об'ємом 25 л

ДР 2.2.1. Приготування та стерилізація композиції А

На технічних вагах зважують 1760 грам сухого молока знежиреного та пересипають в стальний нержавіючий реактор-змішувач, об'ємом 10 л (РЗ-11). Після цього, за допомогою об'ємно-вагового дозатора (Д-10) доливають 6 л води водопровідної. Кришку реактора щільно закривають та вмикають перемішувач для розчинення молока. Потім, коли молоко розчиниться, до сорочки подається пара насичена та вода холодна для стерилізації композиції в реакторі при температурі в 112 °С при тиску в 0,05 МПа протягом 20 хвилин.

ДР 2.2.2. Приготування та стерилізація композиції Б

На технічних вагах зважують 19,5 грама кальцію хлориду пересипають в стальний нержавіючий реактор-змішувач, об'ємом 15 л (РЗ-14). Після цього, за допомогою об'ємно-вагового дозатора (Д-13) доливають 10 л води водопровідної. Кришку реактора щільно закривають та вмикають перемішувач для розчинення солі. Потім, коли сіль розчиниться, до сорочки подається пара насичена та вода холодна для стерилізації композиції в реакторі при температурі 131 °С при тиску в 0,15 МПа протягом 40 хвилин.

ДР 2.3. Приготування та стерилізація поживного середовища для стадії виробничого культивування в ферментері, об'ємом 500 л

ДР 2.3.1. Приготування та стерилізація композиції А

На ваговому дозаторі (Д-17) зважують 17,5 кг сухого молока знежиреного та пересипають в стальний нержавіючий реактор-змішувач (Р-18), об'ємом 100 л. Після цього, за допомогою об'ємно-вагового дозатора (Д-19) доливають 59 л води водопровідної. Кришку реактора щільно закривають та вмикають перемішувач для розчинення молока. Потім, коли молоко розчиниться, до сорочки подається пара насичена та вода холодна для стерилізації композиції в реакторі при температурі в 112 °С при тиску в 0,05 МПа протягом 20 хвилин.

ДР 2.3.2. Приготування та стерилізація композиції Б

На технічних вагах зважують 200 грамів кальцію хлориду та пересипають в сталений нержавіючий реактор-змішувач, об'ємом 150 л (РЗ-21). Після цього, за допомогою об'ємно-вагового дозатора (Д-22) доливають 100 л води водопровідної. Кришку реактора щільно закривають та вмикають перемішуючий пристрій для розчинення солі. Потім, коли сіль розчиниться, до сорочки подається пара насичена та вода холодна для стерилізації композиції в реакторі при температурі в 131 °С при тиску в 0,15 МПа протягом 40 хвилин.

ТП 3. Підготовка посівного матеріалу

ТП 3.1. Підтримання колекційної культури

Культуру *S. thermophilus* ST12 зберігають на скошеному агарі М-17 при 4°С. Пересів роблять кожен місяць задля підтримки активності культури. Всі роботи з культурою виконують в асептичних умовах.

ТП 3.2. Одержання робочої культури на агаризованому середовищі

Колекційну культуру, що зберігається в пробірках з агаром М-17, розсівають петлею на чашки Петрі із таким самим агаризованим середовищем і вирощують при температурі 40 °С упродовж 48 год.

ТП 3.3. Вирощування посівного матеріалу в пробірках

Отримані ізольовані колонії (від ТП 3.2) пересівають петлею в пробірки зі скошеним агаром М-17 (одна ізольована колонія використовується для засіву однієї пробірки). Тривалість вирощування – 48 год. Засіяні пробірки ставлять у термостат з температурою 40 °С та витримують впродовж 48 год. Контроль за чистотою культури здійснюють візуально, а також за допомогою мікроскопіювання.

ТП 3.4. Вирощування посівного матеріалу в колбах в термостаті

У колбу об'ємом 2 л із 1350 л розчину композиції Б (від ДР 2.1.2) в асептичних умовах вносять 450 мл розчину композиції А (від ДР 2.1.1). Весь вміст колби перемішують і розливають по 360 мл в 5 стерильних скляних колб об'ємом 750 мл.

У пробірку з робочою культурою *S. thermophilus* ST12, вирощеною на агаризованому середовищі М-17, вносять 1 мл стерильного фізіологічного розчину, суспендують клітини за допомогою стерильної мікробіологічної петлі, а після бактеріальну суспензію з однієї пробірки вносять в одну колбу з поживним середовищем. Таким чином, на одну колбу припадає одна пробірка з бактеріями, а отже, використовується 5 пробірок з агаризованим середовищем М-17.

Культивування бактерій здійснюється в колбах без перемішування в термостаті, тобто в статичних умовах. Температура термостату має становити – 40 °С. Тривалість росту культура складає 48 годин. По закінченню цього часу культуральну рідину з колб переносять у стерильну засівну колбу об'ємом 1 л.

ТП 3.5. Вирощування інокуляту в інокуляторі, об'ємом 25 л

До простерилізованого посівного інокулятора (ПА-16) на 30 літрів за допомогою перистальтичних насосів вносять 6,6 л композиції А (від ДР 2.2.1), а також 11 л композиції Б (від ДР 2.2.2). В сорочку апарата подають холодну воду та насичену пару і контролюють значення температури поживного середовища на рівні 40 °С.

Інокулят (від ТП 3.4) переносять в апарат в строго асептичних умовах за допомогою засівної колби об'ємом 1 л. Температура рідкої фази має становити – 40 °С. Тривалість росту культура складає 1 добу. Під час процесу також контролюється рівень рН. До апарату під'єднують колбу з аміачною водою. Рівень рН має становити 6,5. За досягнення рН в 5,0 одиниць, датчик рН повинен автоматично вирівняти рівень рН до зазначеного оптимального. При цьому, на 5 хв вмикається мішалка для врівноваження кислотності по всій товщі поживного середовища. Датчиком вуглекислого газу контролюється його рівень задля створення анаеробних умов і за потреби – зайві газу автоматично відводяться.

ТП 4. Біосинтез

ТП 4.1. Виробничий біосинтез

До простерилізованого ферментеру (ФР-24) на 250 л за допомогою перистальтичних насосів подають 65 літрів композиції А (від ДР 2.3.1) та 110 л

композиції Б (від ДР 2.3.2). В сорочку ферментера подають холодну воду та насичену пару контролюють значення температури поживного середовища на рівні 40°C.

Інокулят (від ТП 3.5) переносять у ферментер в строго асептичних умовах за допомогою труби перетискування. Температура рідкої фази має становити – 40 °С. Тривалість росту культура складає 22 години. Під час процесу також контролюється рівень рН. До апарату під'єднують велику колбу з аміачною водою. Рівень рН має становити 6,5. За досягнення рН в 5,0 одиниць, датчик рН повинен автоматично вирівняти рівень рН до зазначеного оптимального. При цьому, на 5 хв вмикається мішалка для врівноваження кислотності по всій товщі поживного середовища. Датчиком вуглекислого газу контролюється його рівень задля створення анаеробних умов і за потреби – зайві газу автоматично відводяться.

Культивування ведуть до досягнення концентрації біомаси 6 г/л, при цьому концентрація життєздатних клітин повинна становити $1,65 \pm 0,13 \times 10^9$. Отриману культуральну рідину передають далі на одержання закваски для ряжанки.

РОЗДІЛ 8 КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА

8.1. Карта постадійного контролю

Дані щодо проведення постадійного контролю наведено у табл. 8.1.

8.2. Мікробіологічний контроль

Мікробіологічний контроль у біотехнологічному виробництві - це ключовий етап, який включає в себе перевірку стерильності поживного середовища та чистоти культури.

Для визначення стерильності поживного середовища беруть 50 мл проби простерилізованого поживного середовища і проводять прямий висів на агаризовані середовища. Контроль здійснюють шляхом розсівання проби на чашки Петрі з відповідним агаризованим поживним середовищем і подальшим інкубуванням. Для посіву беруть 0,1 мл проби стерильною піпеткою і наносять її на поверхню для виявлення мікроорганізмів. Прямий висів виконують посівом культуральної рідини чашки Петрі з м'ясо-пептонним агаром для виявлення сторонніх бактерій, сусло-агаром або глюкозо-картопляним агаром – грибів та дріжджів. Чашки з посівами поміщають у термостат за температури 30-40 °С. Аналіз посівів проводять через 6-8 годин. Для більш екстреного аналізу чистоти поживного середовища використовується камера Горяєва та мікроскоп. В полі зору мікроскопу клітини сторонніх мікроорганізмів мають бути повністю відсутні [71].

Для визначення чистоти культури в першу чергу передбачається метод мікроскопіювання. Мікроскопіювання проводять світловим мікроскопом з імерсійною системою (тобто, використовують імерсійну лінзу на 90x та більше). Для підготовки препарату на чисте предметне скло наносять культуральну рідину (у випадку вже процесу підготовку інокуляту або ж виробничого біосинтезу) або

					<i>НУХТ БТЕК 05.01.03 КР ПЗ</i>			
<i>Змн.</i>	<i>Лист</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>				
<i>Розроб.</i>	<i>Залепа Д.Р.</i>				РОЗДІЛ 8 КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА	<i>Лім.</i>	<i>Арк.</i>	<i>Аркушів</i>
<i>Перевір.</i>	<i>Белемець Т.О.</i>						64	93
<i>Реценз.</i>						<i>Кафедра БТМ</i>		
<i>Н. Контр.</i>								
<i>Затверд.</i>	<i>Стабніков В.П.</i>							

Карта постадійного контролю виробництва біомаси термофільного стрептококу

Номер позиції (контрольної точки) та її назва	Об'єкт, обраний для контролю та показник	Засоби та методики контролю	Періодичність здійснення контролю та відбору аналізованих проб	Нормоване значення показника контрольованог о об'єкту
1	2	3	4	5
Кт, Км 2.1.1 <i>Приготування і стерилізація композиції А</i>	Тиск, час, стерильність	Манометр, годинник, фізико-хімічний метод, мікробіологічни й контроль	Тривалість і тиск визначають безперервно, а визначення концентрації та здійснення мікробіологічного контролю після завершення стерилізації	P = 0,05 МПа, t = 112 °C τ = 20-30 хв, відсутність мікробіоти
Кт, Км 2.1.2 <i>Приготування і стерилізація композиції Б</i>	Тиск, час, стерильність	Манометр, годинник, фізико-хімічний метод, мікробіологічни й контроль	Тривалість і тиск визначають безперервно, а визначення концентрації та здійснення мікробіологічного контролю після завершення стерилізації	P = 0,15 МПа, t = 131 °C τ = 40 хв, відсутність мікробіоти

Кт, Км 2.2.1 <i>Приготування і стерилізація композиції А</i>	Тиск, час, стерильність	Манометр, годинник, фізико-хімічний метод, мікробіологічний контроль	Тривалість і тиск визначають безперервно, а визначення концентрації та здійснення мікробіологічного контролю після завершення стерилізації	$P = 0,05$ МПа, $t = 112$ °С $\tau = 20-30$ хв, відсутність мікробіоти
Кт, Км 2.2.2 <i>Приготування і стерилізація композиції Б</i>	Тиск, час, стерильність	Манометр, годинник, фізико-хімічний метод, мікробіологічний контроль	Тривалість і тиск визначають безперервно, а визначення концентрації та здійснення мікробіологічного контролю після завершення стерилізації	$P = 0,15$ МПа, $t = 131$ °С $\tau = 40$ хв, відсутність мікробіоти
Кт, Км 2.3.1 <i>Приготування і стерилізація композиції А</i>	Тиск, час, стерильність	Манометр, годинник, фізико-хімічний метод, мікробіологічний контроль	Тривалість і тиск визначають безперервно, а визначення концентрації та здійснення мікробіологічного контролю після завершення стерилізації	$P = 0,05$ МПа, $t = 112$ °С $\tau = 20-30$ хв, відсутність мікробіоти
Кт, Км 2.3.2 <i>Приготування і стерилізація композиції Б</i>	Тиск, час, стерильність	Манометр, годинник, фізико-хімічний метод, мікробіологічний контроль	Тривалість і тиск визначають безперервно, а визначення концентрації та здійснення мікробіологічного контролю після завершення стерилізації	$P = 0,15$ МПа, $t = 131$ °С $\tau = 40$ хв, відсутність мікробіоти

<p>Кт, Км 3.1 <i>Підтримання колекційної культури</i></p>	<p>Колекційна культура <i>S. thermophilus ST12</i> температура, час, мікробіологічна чистота</p>	<p>Холодильник, мікробіологічний контроль</p>	<p>Температура – безперервно при зберіганні, мік- робиологічний контроль – кожні 3-4 місяці</p>	<p>t = 2 – 4 °С, τ = 3 – 4 місяці, відсутність сторонньої мікробіоти</p>
<p>Кт, Км 3.2 <i>Одержання робочої культури</i></p>	<p>Робоча культура <i>S. thermophilus ST12</i> на чашках Петрі температура, час, мікробіологічна чистота</p>	<p>Термостат, мікробіологічний контроль</p>	<p>Температура контролюється під час вирощування безперервно, а після вирощування – мікробіологічний контроль</p>	<p>t = 40 °С, τ = 48 год, відсутність сторонньої мікробіоти</p>
<p>Кт, Км 3.3 <i>Вирощування інокуляту у пробірках на агаризованих середовищах</i></p>	<p>Робоча культура <i>S. thermophilus ST12</i> у пробірках температура, час, мікробіологічна чистота</p>	<p>Термостат, мікробіологічний контроль</p>	<p>Температура контролюється під час вирощування безперервно, а після вирощування – мікробіологічний контроль</p>	<p>t = 40 °С, τ = 48 год, відсутність сторонньої мікробіоти</p>
<p>Кт, Км 3.4 <i>Вирощування інокуляту у колбах на качалках</i></p>	<p>Посівний матеріал температура, час, частота обертів мішалки, концентрація біомаси, мікробіологічна чистота</p>	<p>Термометр, годинник, тахометр, спектрофотометр, мікробіологічний контроль</p>	<p>Температура і частота обертів контролюється під час вирощування безперервно, а після вирощування – мікробіологічний контроль та визначення концентрації біомаси</p>	<p>t = 40 °С, τ = 48 год, відсутність сторонньої мікробіоти</p>

<p>Кт, Км 3.5 <i>Вирощування інокуляту у посівних апаратах об'ємом 30</i></p>	<p>Посівний матеріал температура, час, рН, частота обертів мішалки, частота концентрація біомаси, мікробіологічна чистота</p>	<p>Датчик температури, рН, годинник, тахометр, ротамер, спектрофотометр, мікробіологічний контроль</p>	<p>Температура, рН, концентрація кисню і частота обертів мішалки контролюється під час вирощування продуцента безперервно, а після вирощування – мікробіологічний контроль (також кожні 4 год) та визначення концентрації біомаси</p>	<p>t = 40 °С, τ = 48 год, рН = 6,0 – 6,5, відсутність сторонньої мікробіоти</p>
<p>Кт, Км 4.1 <i>Виробничий біосинтез у ферментері об'ємом 250 л</i></p>	<p>Культуральна рідина температура, час, рН, частота обертів мішалки, частота розчиненого кисню, концентрація біомаси і рибофлавіну, мікробіологічна чистота</p>	<p>Датчик температури, рО₂ і рН, годинник, тахометр, ротамер, центрифуга, спектрофотометр, мікробіологічний контроль</p>	<p>Температура, рН, концентрація кисню і частота обертів мішалки контролюється під час вирощування продуцента безперервно, а після вирощування і кожні 4 год – мікробіологічний контроль та визначення концентрації біомаси та клітин</p>	<p>t = 40 °С, τ = 22 год, рН = 6,0 – 6,5 Склітин = 1,65±0,13×10⁹ Сбіомаси=6 г/л, відсутність сторонньої мікробіоти</p>

готують препарат мазок для агаризованої культури шляхом розтирання її по краплі та подальшим висушуванням. Далі, препарати зафарбовують за Грамом. Оскільки термофільний стрептокок є грампозитивною бактерією, він повинен мати синє або фіолетове забарвлення (в залежності від використаного барвника, метиленового синього чи генціанфіолету). Після цього проводять мікроскопію під великим збільшенням мікроскопа з застосування імерсійної олії та спирту для протирання об'єктиву [71].

Під мікроскопом повинні бачити сині або фіолетові кокові бактерії, що формують короткі або довгі ланцюжки. На агаризованому середовищі (М-17 або МРС) мусять прорости жовтуваті круглі глянцевої колонії.

8.3. Визначення концентрації лактози та амінокислот з сухого молока

Основним джерелом карбону в середовищі є молочний цукр, який доволі часто визначають титруванням [72].

Методика визначення лактози за допомогою непрямого методу на основі кількості калію перманганату (VII), використаного для титрування іонів Fe^{2+} , включає наступні етапи.

Метод базується на кількісному відновленні іонів Cu^{2+} до Cu^+ , яке відбувається під дією лактози в лужному середовищі (рН ~ 12) при підвищеній температурі. Після цього іони Cu^+ окиснюються калію перманганатом (VII) у присутності розчину заліза (III), і утворюються Fe^{2+} . Визначення кількості Fe^{2+} здійснюється титруванням розчином калію перманганату (VII). Отримана кількість Cu_2O перераховується у вміст лактози за допомогою спеціальних таблиць.

Реактиви та обладнання:

Бертранів розчин I: мідь (II) сульфат (VI) пентагідрат.

Бертранів розчин II: виннокислий натрій-калій (сечовинний тартрат) і натрій гідроксид.

Бертранів розчин III: розчин заліза (III) сульфату (VI) у кислому середовищі.

Стандартний розчин калію перманганату (VII) 0.02 моль/дм³.

Вода дистильована.

Лабораторне обладнання: мірні колби, титрувальні бюретки, термостійкий посуд, нагрівальний прилад.

Послідовність виконання:

Підготовка зразка:

- Взяти 10 мл досліджуваної сироватки (супернатанту). Перенести зразок у термостійкий посуд.

Відновлення іонів Cu²⁺ до Cu⁺:

Додати визначений об'єм Бертранових розчинів I та II до зразка. Нагріти розчин до утворення осаду Cu₂O (оксид міді (I)).

Окиснення Cu⁺ до Cu²⁺:

Додати Бертранів розчин III. У результаті іони Cu⁺ окислюються до Cu²⁺, а Fe³⁺ відновлюються до Fe²⁺.

Титрування Fe²⁺:

Титрувати розчин стандартним розчином калію перманганату (VII), обережно перемішуючи. Записати об'єм розчину калію перманганату (VII), витрачений на титрування (V).

Розрахунок вмісту лактози:

$$C_{lactose} = V_{(0,02mol \text{ KMnO}_4)} \cdot 0,604 \left[\frac{g}{100ml} \right]$$

де:

V — об'єм калію перманганату (VII), витрачений на титрування, мл.

0.604 — коефіцієнт перерахунку для лактози на 10 мл зразка.

Для аналізу розчинів продуктів реакції амінокислот та нінгідрину використовують фосфатно-буферний розчин гідрофосфату та дигідрофосфату

калію з рН 6,6. Вимірювання проводять при довжині хвилі 540 нм, яка відповідає стабільному показнику оптичної щільності. Для нінгідринової реакції використовують оптимальні умови: температуру 70°C та тривалість нагрівання від 10 до 30 хвилин. Після реакції розчини змінюють колір на синьо-фіолетовий. При охолодженні до 20°C вимірюють оптичну щільність досліджуваних розчинів. Для порівняння використовують контрольний зразок розчину фосфатного буферу [73,74].

8.4. Визначення концентрації біомаси та кількості життєздатних клітин

Для визначення концентрації біомаси варто використовувати ваговий метод. Він передбачає висушування біомаси при 105 °C до постійної абсолютно сухої маси.

Для такого аналізу нерідко використовують вологоаналізатори, оскільки принцип його роботи як раз заснований на постійному висушуванні при сталій температурі, постійному зважуванні та порівнянні початкової та кінцевої вологості. Проте, для цього апарату потрібно використовувати не культуральну рідину, а відцентрифуговану вологу біомасу. Тому, для простого визначення ліпше використовувати звичайну сухожарову шафу. Для цього, відбирається близько 10 мл культуральної рідини та наливається в невеличкий лоток, маса якого є постійно стабільною та відомою. Лоток поміщають в сухожар на 105 °C та постійно, з певною періодичністю зважують до тих пір, поки вага не стане стабільною. Від одержаної ваги віднімають вагу лотка та перераховують значення на один літр (тобто, множать на 100), щоб дізнатись концентрацію біомаси в г/л [75,76].

Щодо концентрації клітин, її дізнаються звичайним методом десятикратних розведень (метод Коха). Для цього, відбирають 1 мл культуральної рідини. Далі, її розводять до 10^{-4} – 10^{-8} , додаючи в стерильних умовах по 0,1 мл суспензії клітин в пробірки з стерильним фізіологічним розчином. Далі, відповідні розведення висівають на агар М-17 та ставлять в термостат на 40 °C на два дні. Далі, колонії підраховують та визначають скільки

ж КУО/мл термофільного стрептококу виросло. Розрахунок виконують шляхом множення підрахованого числа колоній на відповідне розведення. Після цього, одержане число перемножують для того, щоб дізнатись скільки клітин припадає на 1 мл суспензії і отримують кінцеве значення (оскільки для швидкого аналізу клітини висівають поверхнево, а для цього висівають всього 0,1 мл розведеної суспензії) [77].

8.5. Показники якості ряжанки

Якість ряжанки в Україні регламентується національним стандартом ДСТУ 4565:2006 «Ряжанка та варенець. Технічні умови» [78]. Цей стандарт встановлює вимоги до виробництва, якості та маркування ряжанки та варенця. Основні параметри:

Органолептичні показники:

- Зовнішній вигляд і консистенція – однорідна, ніжна, густа маса без згустків і сироваткового відокремлення.
- Колір – світло-кремовий або бежевий, рівномірний по всій масі.
- Смак і запах – чистий, виражений топлений, злегка солодкуватий, без сторонніх присмаків і запахів.

Фізико-хімічні показники:

- Масова частка жиру – 1,0%, 2,5%, 4,0% або інші значення залежно від рецептури.
- Масова частка білка – не менше 2,8%.
- Масова частка сухих речовин – не менше 10,0%.
- Кислотність – 65–130 °Т (Тернера).
- Масова частка вологи – не більше 89,0%.
- Вміст лактози – 3,0–4,5%.

Мікробіологічні показники:

- Кількість життєздатних молочнокислих бактерій – не менше 10^7 КУО/г.
- Кількість дріжджів і пліснявих грибів – не більше 50 КУО/г.

- БГКП (бактерії групи кишкової палички) – не допускаються в 0,1 г продукту.
- Стафілококи (*S. aureus*) – не допускаються в 1,0 г продукту.
- Патогенні мікроорганізми (включаючи сальмонелу, лістерії) – відсутні.

Токсикологічні показники:

Масова частка афлатоксинів, нітратів, нітритів, важких металів – не перевищує допустимих норм, встановлених санітарними регламентами.

Інші показники:

Температура зберігання – від 2 до 6 °С.

Термін придатності – зазвичай від 3 до 10 діб залежно від умов виробництва та упаковки.

РОЗДІЛ 9 ОХОРОНА ДОВКІЛЛЯ

9.1. Аналіз технологічної схеми виробництва цільового продукту на місця емісії твердих, рідких та газоподібних відходів

Виробництво біомаси термофільного стрептококу супроводжується утворенням різних видів відходів: твердих, рідких та газоподібних. Розглянемо основні етапи технологічного процесу та місця виникнення цих відходів.

1. Підготовка поживного середовища:

Пластикова тара від компонентів поживного середовища.

Залишки розчинів компонентів середовища.

2. Стерилізація обладнання та середовища:

Використані миючі та дезінфікуючі засоби після санітарної обробки обладнання та приміщень.

3. Ферментація (біосинтез біомаси):

Виділення вуглекислого газу (CO₂) в процесі метаболізму бактерій.

Супернатант, що утворюється після відокремлення біомаси.

4. Упаковка та зберігання:

Відходи пакувальних матеріалів.

Об'єм вуглекислого газу, що виділяється: Точний об'єм CO₂, який виділяється під час ферментації *S. thermophilus*, залежить від умов процесу, таких як склад поживного середовища, температура та тривалість ферментації. У промислових масштабах виробництва молочних продуктів з використанням термофільних стрептококів об'єм виділеного CO₂ може досягати кількох літрів на годину на один ферментер. Для отримання більш точних даних рекомендується провести лабораторні вимірювання або звернутися до спеціалізованої літератури з промислової мікробіології.

					<i>НУХТ БТЕК 05.01.03 КР ПЗ</i>					
<i>Змн.</i>	<i>Лист</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>						
<i>Розроб.</i>		<i>Залепа Д.Р.</i>			РОЗДІЛ 9 ОХОРОНА ДОВКІЛЛЯ					
<i>Перевір.</i>		<i>Белемець Т.О.</i>						<i>Лім.</i>	<i>Арк.</i>	<i>Аркушів</i>
<i>Реценз.</i>									74	93
<i>Н. Контр.</i>								<i>Кафедра БТМ</i>		
<i>Затверд.</i>		<i>Стабніков В.П.</i>								

Визначення місць утворення відходів

Тип відходів	Назва відходів	Речовини, що входять до складу відходів	Стадія виробництва	Приблизна кількість відходів за 1 цикл виробництва	Клас небезпек
Газові	Повітряні відходи під час накопичення біомаси	Вуглекислий газ	Накопичення біомаси	3,6 м ³	IV
	Повітряні відходи під час виробничого біосинтезу		Виробниче культивування	16,5 м ³	IV
Рідинні	Бландіас	Лужний розчин	Під час технологічного процесу	56 л	IV
	Інтердез	ЧАС		18,8 л	III
	Супернатант після центрифугування біомаси	Залишки компонентів поживного середовища та уламки клітин		192,5 л	IV
Тверді	Пакувальні матеріали для миючих та компонентів поживного середовища	Поліетилен		2,0 кг	IV
		поліпропілен		2,0 кг	IV

9.2 Перспективи впровадження системи екологізації виробництва

9.2.1. Система знешкодження та утилізації рідких відходів

Одним із найефективніших рішень для очищення рідких відходів, що містять миючі засоби та супернатант, є використання мембранного біореактора (MBR). Ця система поєднує традиційні методи біологічного очищення з мембранною фільтрацією, що дозволяє досягти високого рівня видалення забруднень і мінімізувати негативний вплив на навколишнє середовище [79].

Процес очищення у мембранному біореакторі розпочинається з попередньої механічної очистки, під час якої рідкі відходи проходять через сітчасті фільтри. Це необхідно для видалення великих часток, які можуть пошкодити систему або вплинути на ефективність біологічного очищення. Після цього відходи потрапляють у біореактор, де відбувається основний етап очищення [79].

У біореакторі застосовується аеробне очищення, що передбачає активне насичення води киснем. Це створює оптимальні умови для життєдіяльності мікроорганізмів, які розщеплюють органічні забруднення, зокрема залишки поживного середовища та білкові сполуки супернатанту. Завдяки цьому значно знижується рівень забруднення води, а органічні речовини трансформуються у біологічно інертні сполуки [79].

Після біологічного очищення рідина проходить через ультрафільтраційні мембрани, які мають пори розміром 0.1–0.4 мкм. Ці мембрани ефективно затримують бактерії, біополімери та залишкові забруднення, дозволяючи отримати очищену воду високої якості. На цьому етапі з води повністю видаляються не тільки мікроорганізми, але й більшість твердих часток та залишків біосинтезу [79].

Залишковий активний мул, який утворюється в процесі очищення, потребує додаткової обробки. Він може бути висушений або спрямований на біодеструкцію за допомогою спеціальних установок, що дозволяє зменшити обсяг відходів та запобігти забрудненню довкілля. Очищена вода, що пройшла всі стадії обробки, може бути безпечно скинута у каналізацію або використана повторно у виробничих процесах, наприклад, для промивання обладнання [79].

Застосування мембранного біореактора для очищення рідких відходів у виробництві біомаси *S. thermophilus* має низку переваг. Завдяки поєднанню біологічного розкладу органічних речовин та високотехнологічної мембранної фільтрації, така система забезпечує видалення понад 99% забруднень. Вона також дозволяє значно зменшити обсяг активного мулу, що утворюється в процесі очищення, та сприяє раціональному використанню водних ресурсів.

Оскільки MBR є компактною та модульною установкою, вона легко адаптується до різних виробничих умов, що робить її ідеальним рішенням для біотехнологічних підприємств.



Рис.9.1. Реальна установка мембранного біореактора [79]

9.2.2. Система знешкодження та утилізації твердих відходів

У процесі виробництва біомаси *S. thermophilus* утворюються тверді відходи, серед яких значну частину становить пластикова тара. Ці відходи утворюються після використання миючих засобів, а також компонентів поживного середовища, загальна маса яких складає приблизно 4 кг на виробничий цикл. Оскільки пластик є стійким до біологічного розкладу, його необхідно ефективно знешкоджувати та утилізувати відповідно до екологічних норм [80].

Першим етапом у системі поводження з пластиковими відходами є їх збір та сортування. Використані пластикові контейнери та упаковки повинні бути відокремлені від інших видів сміття, щоб забезпечити можливість їх подальшої

переробки або безпечного знешкодження. Для цього на виробництві встановлюються спеціальні контейнери для збору використаної тари, що запобігає її змішуванню з органічними або небезпечними відходами [80].

Наступним кроком є дезінфекція пластикових відходів. Оскільки тара контактувала з миючими засобами та компонентами поживного середовища, перед подальшою утилізацією її слід обробити, щоб усунути залишки біомаси або хімічних речовин. Для цього використовуються методи промивання гарячою водою або дезінфекційними розчинами [80].

Після дезінфекції відходи направляються на подрібнення. Використання промислових подрібнювачів дозволяє зменшити об'єм пластикових матеріалів, що полегшує їх транспортування та переробку. Подрібнені пластикові фрагменти можуть бути передані на підприємства з переробки вторинної сировини, де вони піддаються плавленню та перетворенню на гранулят для виготовлення нових виробів [80].

Якщо ж пластикові відходи не підлягають переробці, їх можна утилізувати методом піролізу або термічного спалювання в спеціалізованих установках з системою фільтрації диму. Піроліз є більш екологічно безпечним методом, оскільки дозволяє отримувати синтетичне паливо або хімічні сполуки без значних викидів шкідливих газів у атмосферу [80].

Таким чином, система знешкодження та утилізації твердих пластикових відходів на виробництві передбачає збір, дезінфекцію, подрібнення та подальшу переробку або екологічно безпечне знищення. Такий підхід дозволяє мінімізувати негативний вплив на навколишнє середовище та сприяє раціональному використанню ресурсів.

9.2.3. Система знешкодження газоповітряних викидів

Мембранна сепарація — це процес, в якому гази проходять через напівпроникну мембрану, що дозволяє відокремити CO₂ від інших газів. Мембрани, зазвичай, виготовляються з матеріалів, які вибірково пропускають молекули CO₂, утримуючи більшість інших газів, таких як азот, кисень або водяна пара [81].

Етапи процесу [81]:

Газоповітряні викиди, що містять CO_2 , подаються в систему через спеціальні трубопроводи. Ці викиди можуть мати різну концентрацію CO_2 в залежності від процесу ферментації.

Газ проходить через мембрану, яка має властивість селективно пропускати молекули CO_2 , залишаючи інші компоненти газу позаду. Мембрани працюють за принципом дифузії, де гази з високою концентрацією часток (в даному випадку CO_2) прагнуть пройти через мембрану в зону з меншою концентрацією. Вуглекислий газ, як більш дрібна молекула, проходить через мембрану, а інші компоненти (наприклад, азот, кисень) залишаються на іншому боці.

В результаті мембранної сепарації CO_2 збирається у висококонцентрованому потоці, а очищений газ (з низьким вмістом CO_2) направляється у викиди або на подальшу обробку.

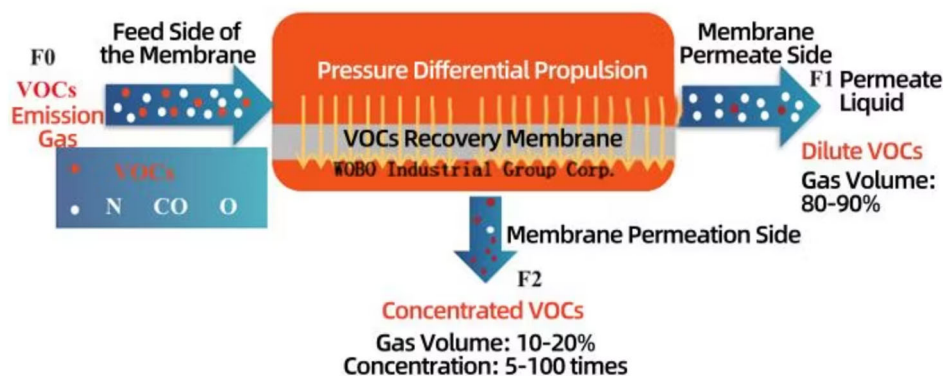


Рис.9.2. Схема роботи мембранної очистки газоподібних відходів [81]

Очищений газ (знижений рівень CO_2) може бути викинутий в атмосферу або спрямований на використання в інших виробничих процесах, таких як хімічне виробництво чи використання CO_2 у харчовій промисловості. Вуглекислий газ, що було відділено, може бути також зберіганий або підданий подальшій утилізації.

Переваги мембранної сепарації CO_2 :

- Мембранні технології забезпечують високу ефективність відділення CO_2 — до 90% або більше, що дозволяє досягти значного зниження рівня вуглекислого газу в викидах.
- Мембранна сепарація зазвичай вимагає менше енергії, ніж інші методи очищення газів, такі як абсорбція або сорбція, що робить цей метод економічно вигідним.
- Оскільки мембранна сепарація не потребує використання хімічних реагентів (як у випадку з абсорбцією), це зменшує потребу у хімічних витратах та знижує кількість відходів, що утворюються в процесі.
- Мембранні установки займають менше місця порівняно з іншими технологіями, а також можуть бути модульними, що дозволяє їх легко масштабувати в залежності від потреб виробництва.
- Цей метод може бути використаний для очищення різних газів з різними концентраціями CO_2 , що дає можливість адаптувати систему до специфічних умов конкретного виробництва.



Рис.9.3. Реальна мембранна установка для очистки вуглекислого газу

[81]

Мембранна сепарація CO₂ є ефективною та економічною технологією для зменшення викидів вуглекислого газу в біотехнологічних та інших виробничих процесах. Вона є екологічно безпечною, не потребує великої кількості енергії та дає можливість повторно використовувати відділений CO₂, що робить її відмінним вибором для знешкодження газоповітряних викидів у різних промислових галузях.

9.2.4. Заходи щодо зменшення об'ємів відходів

Для зменшення об'ємів відходів, що утворюються під час виробничих процесів, необхідно впроваджувати комплексний підхід, який включає як технічні, так і організаційні заходи. Ось основні стратегії та методи:

1. Запобігання утворенню відходів

Найбільш ефективним методом зменшення об'ємів відходів є запобігання їх утворенню на етапі проектування та виробництва:

Виведення більш ефективних технологій, які дозволяють зменшити витрати матеріалів і утворення відходів. Це може включати використання більш точних дозувальних систем для поживних середовищ або оптимізацію ферментаційних процесів.

Використання матеріалів, які мають менший вплив на навколишнє середовище і здатні до повторного використання або біодеградації, дозволяє зменшити кількість шкідливих відходів.

Покращення технічних характеристик обладнання: Впровадження нових, більш ефективних машин і технологій, що зменшують втрати сировини або енергії.

2. Повторне використання та переробка відходів

Якщо відходи вже утворилися, наступним кроком є їх повторне використання або переробка:

Повторне використання тари та упаковки: Пластикові тарни від компонентів поживного середовища може бути очищені і повторно використані в виробничому циклі або передані на переробку.

Переробка побічних продуктів: Для органічних відходів, таких як супернатант після біосинтезу, можна застосувати методи компостування, біогазування або інші біологічні процеси, що дозволяють отримувати корисні продукти, як-от органічні добрива або біогаз.

Використання відходів у виробничих циклах: Наприклад, вуглекислий газ (CO₂), що утворюється в процесі біосинтезу, можна використовувати для вирощування водоростей або в інших промислових процесах, що дозволяє знизити загальний рівень викидів і підвищити ефективність виробництва.

3. Технології зниження об'ємів відходів

Впровадження сучасних технологій, що дозволяють зменшити кількість утворених відходів або знизити їх об'єм:

Вода чи супернатант після біосинтезу може бути очищена за допомогою мембранних систем фільтрації (ультрафільтрація, зворотний осмос), що дозволяє отримати більш чисті продукти та зменшити об'єм відходів.

За допомогою спеціальних технологій (наприклад, вакуумного випарювання або сушіння) можна знизити об'єм рідких відходів, що робить їх зберігання і транспортування більш ефективним.

4. Енергетична ефективність та використання енергії від відходів

Перетворення відходів у джерела енергії:

Органічні відходи, зокрема супернатанти або інші побічні продукти, можна використовувати для виробництва біогазу, що стане альтернативою традиційним джерелам енергії.

Деякі органічні відходи можуть бути спалені або використані в когенераційних установках для виробництва тепла або електричної енергії.

5. Моніторинг і контроль

Оцінка утворених відходів і моніторинг їх кількості:

Для ефективного управління відходами необхідно проводити регулярний моніторинг їх кількості та складу. Це дозволить вчасно виявляти можливості для зменшення обсягів.

Використання систем, які дозволяють не лише знижувати утворення відходів, а й управляти їх збором, сортуванням, зберіганням і транспортуванням.

6. Підвищення обізнаності і навчання персоналу

Одним із важливих аспектів є підвищення обізнаності працівників щодо важливості зменшення обсягів відходів та їх правильного управління:

Оскільки людський фактор може мати великий вплив на утворення відходів, важливо навчити працівників ефективним методам використання ресурсів, зменшення втрат сировини та збереження навколишнього середовища.

Впровадження систем заохочення для працівників за успішне зниження відходів, що може стимулювати їх до активної участі в екологічних ініціативах.

Таким чином, зменшення обсягів відходів вимагає комплексного підходу, включаючи впровадження нових технологій, покращення процесів виробництва, переробку відходів та належний контроль. Це не лише дозволяє зменшити вплив на навколишнє середовище, але й може сприяти економії ресурсів і зниженню виробничих витрат.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Експорт молочних продуктів з початку року зріс на 40%. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://agroportal.ua/news/ukraina/eksport-molochnih-produktiv-z-pochatku-roku-zris-na-40>
2. Україна наростила експорт молочних продуктів в лютому на фоні росту цін. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://avm-ua.org/uk/post/ukraina-narostila-eksport-molocnih-produktiv-v-lutomu-na-foni-rostu-cin>
3. Селіна Л. Розвиток молочної промисловості в Україні. Матеріали X Всеукраїнської науково-практичної конференції “ЕКОЛОГІЧНІ ТА СОЦІАЛЬНІ АСПЕКТИ РОЗВИТКУ ЕКОНОМІКИ В УМОВАХ ЄВРОІНТЕГРАЦІЇ” (м. Миколаїв, 25-27 жовтня 2023 року). С. 103-105.
4. Бірта Г. О., Чернуха О. Дослідження якості сучасних кисломолочних напоїв. Матеріали XLVI Міжнародної наукової студентської конференції за підсумками науково-дослідних робіт студентів за 2022 рік (м. Полтава, 25 квітня 2023 року). С.536-538.
5. Унікальна користь ряжанки: кому, коли і скільки варто її пити. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://milkalliance.com.ua/blog/ua/stattya/unikalnaia-koryst-riazhanky-komu-koly-i-skilky-varto-ii-pyty>
6. Чим корисна ряжанка для організму? [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://blog.tablycjakalorijnosti.com.ua/chym-korysna-razhanka-dlya-organizmu/>
7. Ряжанка. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://radymo.ua/production/riazhanka/>
8. Галичина, 870 г, Ряжанка, 4%. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://np.aquamarket.ua/uk/1771-ryazhanka>
9. Ряжанка 3,2% жиру. [Електронний ресурс]. Режим доступу: https://milkvisit.com/type_products/ryazhanka-32-zhiru-3/

10. РЯЖАНКА ЯГОТИНСЬКЕ 4% 450 Г. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://varus.ua/ryazhanka-yagotinske-4-450g>
11. Список компаній - Кефір, ряжанка – Україна. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://ua.kompass.com/a/%D0%BA%D0%B5%D1%84%D1%96%D1%80-%D1%80%D1%8F%D0%B6%D0%B0%D0%BD%D0%BA%D0%B0/0449044/>
12. РЯЖАНКА. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://www.zakvaski.com/production/ryazhanka.html>
13. Ряжанка. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://iprovit.com.ua/zakvaska-iprovit-riazhanka-zakvaska-iprovit-riazhanka/>
14. ЗАКВАСКА РЯЖАНКА. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://zakvasik.com.ua/ryazhenka>
15. Закваска для ряженки. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://goodfood.ua/ru/zakvaski/zakvaska-ryazhanka/>
16. РЯЖАНКА (ІТАЛІЯ). [Електронний ресурс]. Режим доступу: <http://zakvaskin.com.ua/products/ryazhanka-italiya>
17. Закваска для ряжанки на 10л молока. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://syrna-sprava.com.ua/ua/p1674662580-zakvaska-dlya-ryazhenki.html>
18. Nishimura J., Makino S., Kimura K., Isogai E., Saito T. Influence of Different Sterilization Conditions on the Growth and Exopolysaccharide of *Streptococcus thermophilus* and Co-Cultivation with *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* OLL1073R-1. *Advances in Microbiology*. 2015, 5(11): 760. <http://dx.doi.org/10.4236/aim.2015.511080>
19. U.S. Patent No. 7,615,367. *Streptococcus thermophilus* strains producing stable high-molecular-mass exopolysaccharides / De Vuyst L., Vaningelgem F. Pub. 11.12.2003.
20. Чебан Л.М. Загальна біотехнологія: навчально-методичний посібник. Модуль 1. – Чернівці: Чернівецький нац.ун-т, 2017. – 116 с.
21. *Streptococcus thermophilus* CNRZ1066. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?id=299768>

22. *Streptococcus salivarius* & *S. thermophilus*. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://tgw1916.net/Streptococcus/salivarius.html>
23. Stephens J., Turner D. P. *Streptococcus thermophilus* bacteraemia in a patient with transient bowel ischaemia secondary to polycythaemia. *JMM Case Reports*. 2015, 2(3). <http://dx.doi.org/10.1099/jmmcr.0.000060>
24. Harnett J., Patrick A., Caddick C., Pearce L., Davey G. (2022). Lactic acid bacteria: *Streptococcus thermophilus*. *Encyclopedia of Dairy Sciences* (Third edition). 2022. P. 256-262. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.22983-1>
25. Унікальна користь ряжанки: кому, коли і скільки варто її пити. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://milkalliance.com.ua/blog/ua/stattya/unikalnaia-koryst-riazhanky-komu-koly-i-skilky-var-to-ii-pyty>
26. Ряжанка заряджає енергією і нормалізує травлення. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://vidomosti-ua.com/newspaper/40737>
27. Чим корисна і шкідлива ряжанка для організму людини. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://ukr.media/medicine/423090/>
28. Чернюшок, О. А., & Кочубей-Литвиненко, О. (2010). Ряжанка–українська простокваша. Молочные и масложировые продукты. С. 46-47.
29. Кігель, Н., Даниленко, С., Науменко, О., & Потемська, О. (2017). ОГЛЯД ІННОВАЦІЙНИХ БІОТЕХНОЛОГІЙ ЗАКВАШУВАЛЬНИХ КУЛЬТУР ТА БАКТЕРІАЛЬНИХ ПРЕПАРАТІВ ІНСТИТУТУ ПРОДОВОЛЬЧИХ РЕСУРСІВ НААН. *ПРОДОВОЛЬЧІ РЕСУРСИ*, 5(09), 195-202.
30. А Ви знаєте, що ряжанка – основа здорового харчування! [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://garmonija.ua/rjazhanca-osnova-zdorovogo-kharchuvannja>
31. Danone Україна. [Електронний ресурс]. Режим доступу: https://danone.ua/milk-product/?no_cache=1
32. ТМ «Яготинське». [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://milkalliance.com.ua/ryazhenka/tm-yagotynske/>

33. ТМ "Галичина". [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://galychyna.com.ua/production/galychyna/page/2/>
34. Компанія "Лакталіс". [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://lactalis.com.ua/>
35. Рудь. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://rud.ua/products/dairy/ryazhenka/>
36. Обсяги виробництва промислового молока цього року зросли на 5%. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://agroportal.ua/news/zhivotnovodstvo/obsyagi-virobnictva-promislovogo-moloka-cogo-roku-zrosli-na-5>
37. Молочний бізнес-2024. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://uadairy.com/molochnyj-biznes-2024-2>
38. Споживання молока та молочних продуктів у розрахунку на одну особу, кг/рік. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://sdg.ukrstat.gov.ua/uk/2-1-2/>
39. Краснощок, А. О., & Шульгіна, Л. М. (2016). Сутність та економічний зміст інноваційного розвитку підприємств молочної галузі України. *Актуальні проблеми економіки та управління*, (10).
40. Аналіз ринку молочної продукції в Україні. 2019 рік. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://pro-consulting.ua/ua/issledovanie-rynka/analiz-rynka-molochnoj-produkcii-v-ukraine-2019-god>
41. Ринок молочної продукції в Україні: краще менше, та краще. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://pro-consulting.ua/ua/pressroom/rynok-molochnoj-produkcii-v-ukraine-luchshe-menshe-da-luchshe>
42. Чернівецька область, Україна — статистика. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://uk.zhujiworld.com/ua/399960-chernivtsi-oblast/>
43. Бактеріальна закваска Ряжка Іпровіт 1 флакон. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://rozetka.com.ua/ua/448337717/p448337717/>

44. Santivarangkna, C., Higl, B., & Foerst, P. (2008). Protection mechanisms of sugars during different stages of preparation process of dried lactic acid starter cultures. *Food microbiology*, 25(3), 429-441.

<https://doi.org/10.1016/j.fm.2007.12.004>

45. Huang S., Ai Z. W., Sun X. M., Liu G. F., Zhai S., Zhang M., et al. Influence of arginine on the growth, arginine metabolism and amino acid consumption profiles of *Streptococcus thermophilus* T1C2 in controlled pH batch fermentations. *Journal of applied microbiology*. 2016, 121(3): 746-756.

<https://doi.org/10.1111/jam.13221>

46. Stulova I., Kabanova N., Kriščiunaite T., Adamberg K., Laht T. M., Vilu R. Microcalorimetric study of the growth of *Streptococcus thermophilus* in renneted milk. *Frontiers in Microbiology*. 2015, 6: 121701.

<https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00079>

47. ДСТУ 4273:2003 Молоко та вершки сухі. [Електронний ресурс]. Режим доступу: https://ksv.do.am/GOST/DSTY_ALL/DSTY2/dsty_4273-2003.pdf

48. БІЛКИ І АМІНОКИСЛОТИ. [Електронний ресурс]. Режим доступу:

[https://roycher.com/stati/belki-i-](https://roycher.com/stati/belki-i-aminokisloty.html#:~:text=%D0%9F%D0%B5%D1%80%D0%B5%D0%B4%D0%B1%D0%B0%D1%87%D0%B0%D1%94%D1%82%D1%8C%D1%81%D1%8F%2C%20%D1%89%D0%BE%20%D0%B1%D1%96%D0%BB%D0%BA%D0%B8%20%D0%B2%20%D1%85%D0%B0%D1%80%D1%87%D0%BE%D0%B2%D0%B8%D1%85,%25%2C%20%D0%B4%D0%B0%D1%94%20%D0%B7%D0%BD%D0%B0%D1%87%D0%B5%D0%BD%D0%BD%D1%8F%20%D0%B7%D0%B0%D0%B3%D0%B0%D0%BB%D1%8C%D0%BD%D0%BE%D0%B3%D0%BE%20%D0%B1%D1%96%D0%BB%D0%BA%D0%B0)

[aminokisloty.html#:~:text=%D0%9F%D0%B5%D1%80%D0%B5%D0%B4%D0%B1%D0%B0%D1%87%D0%B0%D1%94%D1%82%D1%8C%D1%81%D1%8F%2C%20%D1%89%D0%BE%20%D0%B1%D1%96%D0%BB%D0%BA%D0%B8%20%D0%B2%20%D1%85%D0%B0%D1%80%D1%87%D0%BE%D0%B2%D0%B8%D1%85,%25%2C%20%D0%B4%D0%B0%D1%94%20%D0%B7%D0%BD%D0%B0%D1%87%D0%B5%D0%BD%D0%BD%D1%8F%20%D0%B7%D0%B0%D0%B3%D0%B0%D0%BB%D1%8C%D0%BD%D0%BE%D0%B3%D0%BE%20%D0%B1%D1%96%D0%BB%D0%BA%D0%B0](https://roycher.com/stati/belki-i-aminokisloty.html#:~:text=%D0%9F%D0%B5%D1%80%D0%B5%D0%B4%D0%B1%D0%B0%D1%87%D0%B0%D1%94%D1%82%D1%8C%D1%81%D1%8F%2C%20%D1%89%D0%BE%20%D0%B1%D1%96%D0%BB%D0%BA%D0%B8%20%D0%B2%20%D1%85%D0%B0%D1%80%D1%87%D0%BE%D0%B2%D0%B8%D1%85,%25%2C%20%D0%B4%D0%B0%D1%94%20%D0%B7%D0%BD%D0%B0%D1%87%D0%B5%D0%BD%D0%BD%D1%8F%20%D0%B7%D0%B0%D0%B3%D0%B0%D0%BB%D1%8C%D0%BD%D0%BE%D0%B3%D0%BE%20%D0%B1%D1%96%D0%BB%D0%BA%D0%B0)

49. Бланідас-Ц Ген Део. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://clean-ua.com/blanidas-c-gen-deo-201/>

50. Blanidas-Acid CIP. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://clean-ua.com/ru/kislotniy-zasib-dlya-cip-sistem-blanidas-a-atsid-blanidas-a-acid-201/>

51. DEZO® Лужний пінний засіб. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://dezo.com.ua/shop/zasib-mijnij-luzhnij-pinnij-hlornij-z-dezinfikuyuchoyu-diyeyu-dezo-lx124>

52. Blanidas-Оксидез. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://hlorka.in.ua/ua/p587583533-blanidas-oksidez.html#:~:text=%D0%91%D0%BB%D0%B0%D0%BD%D0%B8%D0%B4%D0%B0%D1%81%20%D0%9E%D0%BA%D1%81%D0%B8%D0%B4%D0%B5%D0%B7%20%2D%20%D1%81%D1%80%D0%B5%D0%B4%D1%81%D1%82%D0%B2%D0%BE%20%D0%B4%D0%BB%D1%8F%20%D0%BF%D1%80%D0%BE%D0%B2%D0%B5%D0%B4%D0%B5%D0%BD%D0%B8%D1%8F,%D0%B2%D0%B8%D1%80%D1%83%D1%81%D0%BD%D1%8B%D1%85>

53. DEZO® Дезінфікуючий засіб на основі ЧАС. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://epicentrk.ua/ua/shop/mplc-zasib-dezinfikuucij-dla-obrobki-obladnanna-ta-primisen-efir-dezo-20-kg-dezo320-1ee8fca0-5f89-646e-a16a-c10b6dbd7114.html>

54. Інтердез. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://epicentrk.ua/ua/shop/mplc-zasib-dezinfikuyuchii-interdez-sanikon-dlya-peredsterilizatsiinogo-pribirannya-1-1-1135136963-1eb86ee2-d2f0-6ab4-9093-23b40760dd7b.html>

55. Фільтр грубої очистки повітря (панельний). [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://ventfilter.kiev.ua/goods/filtr-gruboy-ochistki-vozduha-panelniy/>

56. Компресор Procraft AC-24. [Електронний ресурс]. Режим доступу: https://storgom.ua/product/procraft-222179.html?utm_source=google&utm_medium=cpc&utm_campaign=20815192723&utm_content=&utm_term=&utm_id=&gad_source=1&gclid=Cj0KCQiApNW6BhD5ARIsACmEbkVTHv5LXp6Z4wHO7EYoKoJqC8ft3VIRasiVxgIHqCkDqLkO1JRC8ckaAu_8EALw_wcB#properties-tab

57. Пластинчастий теплообмінник THERMAKS РТА (GX)-7. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://opeks.ua/ua/plastinchastij-teploobminnik-thermaks-rta-gx-7/>
58. Повітрозбірник (ресивер) 100 л. [Електронний ресурс]. Режим доступу: https://kms-market.com.ua/ua/p59536363-vozduhosbornik-resiver-100.html?source=merchant_center&utm_source=google&utm_medium=pc&utm_term=&utm_content=sp&utm_campaign=Performance%20Max-KMS-All&gad_source=1&gclid=Cj0KCQIApNW6BhD5ARIsACmEbkVD6jCQeCRRYaeiGPXLyp2D2GzzF3Zsx3arGRau4ZPy5zmvTS6DCokaAjaOEAALw_wcB
59. Фільтр тонкої очистки серії Futura, 0,3 мкм, розміри різьби від 1/4 до 1 дюйма. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://pneumatyka.com.ua/product-groups/pre-filtry-serii-futura/>
60. Фільтр очищення стисненого повітря. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://ultrafilter.com.ua/catalog/filtr-ochistki-szhatogo-vozdukha/>
61. Регулятор витрати води, рідини. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://agro-teh.com.ua/ua/p370230625-regulyator-rashoda-vody.html>
62. 10 L chemical customized batch stainless steel reactor. [Електронний ресурс]. Режим доступу: https://www.alibaba.com/product-detail/10-L-chemical-customized-batch-stainless_1601236619362.html?spm=a2700.7724857.0.0.3b882101uGKQvX
63. Перистальтичний дозувальний насос 50-800 мл/хв. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://agro-teh.com.ua/ua/p643581922-peristalticheskij-doziruyuschij-nasos.html?srsltid=AfmBOop5xz8UPr7fT-57ZEihcYUfEQjxpdXYvmJ25ZjspoReXXojFJWF>

64. 15L Laboratory Corrosion Resistance Chemical Fluidized reactor. [Электронный ресурс]. Режим доступа: https://www.alibaba.com/product-detail/15L-Laboratory-Corrosion-Resistance-Chemical-Fluidized_1600425795091.html?spm=a2700.7724857.0.0.201f415fKTxYCH
65. High Quality EU Standard Stainless Steel Bioreactor 30L-300L Bottom Magnetic Stirring Tank Reactor GMP Workshop Featuring PLC. [Электронный ресурс]. Режим доступа: https://www.alibaba.com/product-detail/High-Quality-EU-Standard-Stainless-Steel_1601205220426.html?spm=a2700.galleryofferlist.normal_offer.d_title.5fcf13a08oxKk3
66. Дозатор для легко сипких (текучих) матеріалів. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://sweda.com.ua/produksiya/dozator-dlia-legko-sypuchikh-tekuchikh-materialov/>
67. 10L 20L 50L 100L Stainless Steel tank decarboxylation chemical reactor Single Jacketed stainless steel reactor. [Электронный ресурс]. Режим доступа: https://www.alibaba.com/product-detail/10L-20L-50L-100L-Stainless-Steel_1600861573939.html?spm=a2700.7724857.0.0.1b3d3ac7tbSHAL
68. Насос дозуючий SEKO MS1C165C51C4000, 500 л/Год, 3 бар, PP, FPM. [Электронный ресурс]. Режим доступа: https://dosingtech.com.ua/uk/product/nasos-dozuyuchij-seko-ms1c165c51c4000-500-l-god-3-bar-pp-fpm/?srsltid=AfmBOopA_FROzL1KcokUKsvEGQWF7zBSfJiDWvjIXcGivZqsWgWgaCH
69. 150L - 1000L Liquid Stirring Technical Chemistry Reactions Tanks Stainless Steel Large Stir Tank Extraction Jacketed Reactor. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://www.alibaba.com/product-detail/150L->

[1000L-Liquid-Stirring-Technical-Chemistry_60706393270.html?spm=a2700.7724857.0.0.64e763f8y2eWms](https://www.alibaba.com/product-detail/1000L-Liquid-Stirring-Technical-Chemistry_60706393270.html?spm=a2700.7724857.0.0.64e763f8y2eWms)

70. cell bioreactor stirred tank cell culture biological fermenter reactors. [Електронний ресурс]. Режим доступу: https://www.alibaba.com/product-detail/cell-bioreactor-stirred-tank-cell-culture_1601061471573.html?spm=a2700.7724857.0.0.4124548enrp6gN

71. Красінько В. О. Методи контролю біотехнологічних, фармацевтичних і харчових виробництв: конспект лекцій для здобув. освіт. ступ. «бакалавр» спец. 162 «Біотехнології та біоінженерія». – К.: НУХТ, 2019. – с. 144-157.

72. Maślanka, S., Kos, A., Bańczyk, M., Czopek, I., & Adam, Ł. (2015). Study of concentration of lactic acid obtained in the process of lactic fermentation of lactose contained in the spent whey using *Lactobacillus*. *Chemik*, 69(4), 247-251.

73. Byakika, S., Mukisa, I. M., & Byaruhanga, Y. B. (2020). Sorghum malt extract as a growth medium for lactic acid bacteria cultures: A case of *Lactobacillus plantarum* MNC 21. *International Journal of Microbiology*, 2020(1), 6622207.

74. European Brewery Convention, “Ninhydrin colometric method (Method 8.8.7),” *Analytica-EBC*р. 141, 4th edition, Brauerrei- und Getranke-Rundschau, Zurich, Switzerland, 1987.

75. Hudeckova, H., Neureiter, M., Obruca, S., Frühauf, S., & Marova, I. (2018). Biotechnological conversion of spent coffee grounds into lactic acid. *Letters in applied microbiology*, 66(4), 306-312.

76. Учебно-методическое пособие по микробиологии для студентов направления подготовки 6091501 «Товароведение» / авторы А.С. Быкова, Е.В. Ващенко. – Харьков: НТУ “ХПИ”, 2016. – с.78-82

77. Zhang, C., Yang, L., Ding, Z., Yin, B., Chen, D., Guan, C., & Gu, R. (2019). New selective media for isolation and enumeration of *Lactobacillus rhamnosus* and *Streptococcus thermophilus*. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 13, 1431-1439.

78. ДСТУ 4565:2006 «Ряжанка та варенець. Технічні умови». [Електронний ресурс]. Режим доступу: https://ksv.do.am/GOST/DSTY_ALL/DSTY2/dsty_4565-2006.pdf

79. Мембранний біореактор. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://bioeng.ua/products/mbr>

80. Як правильно утилізувати та сортувати пластик? [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://kf-systems.com.ua/blog/yak-pravilno-utilizuvati-ta-sortuvati-plastik>

81. High Productivity Micro Vocs Gas Membrane Separator for Light Industry. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://wobogroup.en.made-in-china.com/product/RwufZeodlFrX/China-High-Productivity-Micro-Vocs-Gas-Membrane-Separator-for-Light-Industry.html>