

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

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

«До захисту в ЕК»
Декан факультету

(підпис) Наталія ГРЕГІРЧАК
(ім'я та прізвище)

«До захисту допущено»
Завідувач кафедри

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

«__» __ червень 2023 р.

«__» __ червень 2023 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 сметани

Виконав: здобувач 4 курсу, групи 1

БОЙКО Валерія Ярославівна
(прізвище, ім'я та по батькові повністю) _____ (підпис)

Керівник ГРЕГІРЧАК Наталія Миколаївна
(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 _____
(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 – 2023 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 СТАБНИКОВ

“ 1 ” березня 2023 року

З А В Д А Н Н Я

НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ ЗДОБУВАЧА

БОЙКО Валерії Ярославівни

(прізвище, ім'я, по батькові)

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

керівник роботи ГРЕГІРЧАК Наталія Миколаївна, доц., к.т.н.,
(прізвище, ім'я, по батькові, науковий ступінь, вчене звання)

затверджені наказом закладу вищої освіти від 28 березня 2023 року № 193-к

2. Строк подання здобувачем роботи 31 травня 2023 р.

3. Вихідні дані до роботи біологічний агент: *Streptococcus thermophilus* 95/2, цільовий продукт: біомаса

4. Зміст пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно розробити) Розділ 1. Характеристика *Streptococcus thermophilus* у складі заквашувальної композиції для виробництва сметани; Розділ 2. Обґрунтування вибору та характеристика біологічного агента; Розділ 3. Техніко-економічне обґрунтування; Розділ 4. Біосинтез цільового продукту; Розділ 5. Обґрунтування вибору технологічної схеми; Розділ 6. Специфікація обладнання доферментаційних процесів та виробничого біосинтезу; Розділ 7. Опис технологічної схеми доферментаційних процесів та виробничого біосинтезу; Розділ 8. Контроль виробництва; Розділ 9. Аналіз перспектив впровадження системи екологізації виробництва; Розділ 10. Нормативно-технічна документація, використана під час проектування виробництва

5. Перелік графічного матеріалу

Технологічна схема ділянки виробничого біосинтезу біомаси – 1 аркуш формату А1; Апаратурна схема ділянки виробничого біосинтезу біомаси – 1 аркуш формату А1.

6. Консультанти розділів роботи

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

7. Дата видачі завдання 01 березня 2023 року

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№	Назва етапів виконання кваліфікаційної роботи	Строк виконання етапів роботи	Примітка
1	РОЗДІЛ 1. Характеристика <i>Streptococcus thermophilus</i> у складі заквашувальної композиції для виробництва сметани	01.03.2023 – 05.03.2023	
2	РОЗДІЛ 2. Обґрунтування вибору та характеристика біологічного агента	06.03.2023 – 11.03.2023	
3	РОЗДІЛ 3. Техніко-економічне обґрунтування	12.03.2023 – 17.03.2023	
4	РОЗДІЛ 4. Біосинтез цільового продукту	18.03.2023 – 23.03.2023	
5	РОЗДІЛ 5. Обґрунтування вибору технологічної схеми	24.03.2023 – 05.04.2023	
6	РОЗДІЛ 6. Специфікація обладнання доферментаційних процесів та виробничого біосинтезу	06.04.2023 – 15.04.2023	
7	РОЗДІЛ 7. Опис технологічної схеми доферментаційних процесів та виробничого біосинтезу	16.04.2023 – 23.04.2023	
8	РОЗДІЛ 8. Контроль виробництва	24.04.2023 – 26.04.2023	
9	РОЗДІЛ 9. Аналіз перспектив впровадження системи екологізації виробництва	27.04.2023 – 31.04.2023	
10	РОЗДІЛ 10. Нормативно-технічна документація, використана під час проектування виробництва	01.05.2023- 12.05.2023	
11	Оформлення пояснювальної записки	13.05.2023- 20.05.2023	
12	Виконання графічної частини роботи	21.05.2023- 31.5.2023	

Здобувач

_____ (підпис)

Валерія БОЙКО

_____ (ім'я та прізвище)

Керівник роботи

_____ (підпис)

Наталія ГРЕГІРЧАК

_____ (ім'я та прізвище)

РЕФЕРАТ

В даній кваліфікаційній роботі пропонується можливий варіант розробки біотехнологічного виробництва на основі біомаси *Streptococcus thermophilus* 95/2 з подальшим одержанням сметани. Проект описує особливості даного виробництва, спираючись на особливості запропонованого мікроорганізму.

За техніко-економічним обґрунтуванням було визначено кількість споживачів, яка складає 2,5 % від населення України (695 тис.). Спираючись на цей показник, визначено кількість молока для виробництва сметани (22 750 000 л), а також кількість біомаси стрептококу, яка необхідна для створення молочнокислого продукту (947 кг). З цього було визначено номінальний об'єм ферментеру, а саме 400 л.

Цільовим продуктом даного виробництва є біомаса *S. thermophilus*. Тому, стадія відділення складається з 2 основних операцій: відокремлення біомаси та її сушіння. До проміжного процесу варто віднести змішування з захисним середовищем. Без використання цього середовища, кількість життєздатних клітин буде катастрофічно низькою, що говорить про неякісний заквасочний продукт і є небажаною реакцією.

Миття та дезінфекція – важливі етапи підготовки виробництва. Спираючись на переваги цих засобів, для миття обладнання було обрано лужний засіб, який представляє Лойран Про Фоам, а кислотний – CRYSTAL. Щодо дезінфекційних розчинів, обрано 3 препарати, для уникнення утворення резистентності мікроорганізмів навколишнього середовища, а саме: МІРОДЕЗ, Клиндезин ОПА плюс та ЕСТЕР ДЕЗ.

Кваліфікаційна робота складається з 116 сторінок тексту, який включає в себе вступ, 10 розділів, список використаної літератури, в якому знаходиться 99 найменувань. В роботі представлено 11 рисунків та 24 таблиць.

Ключові слова: молочнокислі бактерії, сметана, молочна промисловість, біомаса, *Streptococcus thermophilus* 95/2.

ЗМІСТ

ВСТУП.....	8
РОЗДІЛ 1. Характеристика <i>Streptococcus thermophilus</i> у складі заквашувальної композиції для виробництва сметани.....	10
1.1. Загальна характеристика <i>Streptococcus thermophilus</i>	10
1.2. Застосування <i>Streptococcus thermophilus</i> в заквашувальних композиціях.....	12
РОЗДІЛ 2. Обґрунтування вибору та характеристика біологічного агента.....	15
2.1. Обґрунтування вибору біологічного агента та поживного середовища для його культивування.....	15
2.2. Розрахунок складу поживного середовища.....	22
2.3. Морфолого-культуральні та фізіолого-біохімічні ознаки <i>Streptococcus thermophilus</i>	23
2.4. Таксономічний статус <i>Streptococcus thermophilus</i>	25
РОЗДІЛ 3. Техніко-економічне обґрунтування.....	26
3.1. Потреба в сметані.....	27
3.2. Розрахунок потужності виробництва.....	31
3.3. Розрахунок об'єму ферментера та кількості виробничих циклів.....	33
3.4. Розрахунок кількості стадій підготовки посівного матеріалу.....	33
РОЗДІЛ 4. Біосинтез цільового продукту.....	36
4.1. Шляхи катаболізму ростового субстрату у біологічного агента.....	36
4.2. Біотрансформація ростового субстрату у цільовий продукт.....	38
РОЗДІЛ 5. Обґрунтування вибору технологічної схеми.....	43
5.1. Обґрунтування доферментаційних процесів та виробничого біосинтезу.....	43
5.1.1. Обґрунтування способу культивування і типу ферментера.....	43
5.1.2. Обґрунтування вибору стадії підготовки аераційного повітря.....	45
5.1.3. Вибір мийних та дезінфікуючих засобів.....	46
5.1.4. Особливості підготовки та стерилізації поживного середовища....	61

5.2. Основні етапи післяферментаційного виділення, концентрування та очищення цільового продукту.....	61
5.3. Пропозиції щодо підбору обладнання для реалізації післяферментаційних процесів.....	65
РОЗДІЛ 6. Специфікація обладнання доферментаційних процесів та виробничого біосинтезу.....	67
РОЗДІЛ 7. Опис технологічної схеми доферментаційних процесів та виробничого біосинтезу.....	71
РОЗДІЛ 8. Контроль виробництва.....	84
8.1. Мікробіологічний контроль.....	84
8.2. Показники росту і синтезу цільового продукту.....	86
8.2.1. Концентрація біомаси.....	86
8.2.2. Концентрація клітин.....	86
8.2.3. Концентрація джерела вуглецю і азоту.....	87
8.3. Вимоги до заквашувальних композицій.....	89
8.3.1. Ідентифікація термфільного стрептокока.....	90
8.3.2. Методи контролю закваски.....	92
РОЗДІЛ 9. Аналіз перспектив впровадження системи екологізації виробництва.....	94
9.1. Системи знешкодження рідких відходів.....	94
9.2. Системи знешкодження газоподібних відходів.....	96
9.3. Системи знешкодження твердих відходів.....	98
РОЗДІЛ 10. Нормативно-технічна документація, використана під час проектування виробництва.....	103
СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ.....	106

ВСТУП

Молоко та молочні продукти є одними з найбільш звичних продуктів харчування для населення. Відомо, що молоко є корисним для організму, оскільки містить такі поживні речовини, як білок, лактоза, мінеральні солі та вітаміни. Для виробництва молока високої якості необхідно не тільки правильно годувати тварин, але й дотримуватися гігієнічних умов, при порушенні яких виникає високе бактеріальне забруднення молока і сприятливе середовище для розвитку мікроорганізмів [1].

Протягом останніх 30 років в Україні спостерігається постійне скорочення поголів'я корів. У 2021 році поголів'я корів скоротилося більш ніж у п'ять разів порівняно з 1990 роком. Така ж негативна тенденція спостерігається і у виробництві молока, яке у 2021 році становило близько третини від обсягу 1990 року. За даними Головного управління статистики, на початок 2022 року в господарствах усіх категорій налічувалося близько 2,7 млн голів великої рогатої худоби (1,6 млн голів) та понад 1 млн овець і кіз [1].

Сметана є високожирним молочним продуктом і користується високим попитом серед населення. Вона, як правило, корисна не тільки через високий вміст жирів, необхідних для нормального функціонування організму, але і через високий вміст вітамінів, які зміцнюють організм. Тому її рекомендують пацієнтам, які страждають від втрати апетиту і розладів травлення. Сметана - кисломолочний продукт, виготовлений з пастеризованих вершків, заквашений чистою культурою молочнокислих бактерій і закваскою термофільних молочнокислих стрептококів [2].

Сметана – продукт, який часто піддається фальсифікації. Найчастіше зустрічаються такі види фальсифікації сметани: заниження жирності, заміна молочного жиру рослинною олією, гідрогенізованими жирами, розбавлення кефіром або кислим молоком, додавання крохмалю, кисломолочного сиру, сухого

					<i>НУХТ БТЕК 04.01.11 КР ПЗ</i>		
		<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>				
<i>Розроб.</i>	<i>Бойко В.Я.</i>			<i>ВСТУП</i>	<i>Літ.</i>	<i>Арк.</i>	<i>Аркушів</i>
<i>Перевір.</i>	<i>Грегірчак Н.М.</i>					8	116
<i>Реценз.</i>					<i>Кафедра БТМ</i>		
<i>Н. Контр.</i>							
<i>Затверд.</i>	<i>Стабніков В.П.</i>						

знежиреного молока, рослинної олії, пектину, камеді, желатину тощо [2].

Останні 30 років функціонування України як окремої та незалежної держави показали лише зниження кількості молокопереробних підприємств, що втричі менше від початкових показників. У перші тижні війни 32% молочних компаній зупинили або скоротили виробництво через логістичні проблеми, але до кінця травня цей показник знизився до 17%. Молочний ринок останнім часом працює в умовах дефіциту сировини, а сама ситуація ще більше погіршилася з лютого 2022 року [1].

Падіння виробництва молока загострило проблеми молокопереробної галузі з точки зору потужностей, масштабів виробництва, внутрішнього споживання та експорту молочної продукції. Якість сировини залишається низькою, і через дефіцит переробники змушені закуповувати молоко у сільгоспвиробників з бактеріальним забрудненням (2 клас за ДСТУ 3662-97), що в 30 разів перевищує максимально допустимий в країнах ЄС [3].

Для покращення якості молочних продуктів необхідні сучасні модернізовані молочні ферми, які б виробляли значні обсяги молока-сировини та забезпечували безперебійну роботу підприємств. На сьогодні завантаженість виробничих потужностей молокопереробних підприємств знаходиться на рівні 35-40 %. Отже підприємства змушені конкурувати за сировину, закуповуючи її по більш високій вартості, що позначається на ціні кінцевого продукту [1].

Тому, актуальним є проектування якісного виробництва біотехнологічного характеру для забезпечення молокопереробної галузі гарними, ефективними заквасками. Метою цієї роботи є розробка ефективного виробництва біомаси *S. thermophilus* 95/2 [4] для подальшого використання в заквашувальній композиції для одержання високоякісної сметани.

Новизною роботи є застосування штаму *S. thermophilus* 95/2, який до цього не використовувався в промислових заквасках. Особливістю цього мікроорганізму можна виділити підвищену температуру культивування - 45 °С, в той час як більшість молочнокислих бактерій оптимальна температура складає 37 °С [4].

РОЗДІЛ 1

ХАРАКТЕРИСТИКА *STREPTOCOCCUS THERMOPHILUS* У СКЛАДІ ЗАКВАШУВАЛЬНОЇ КОМПОЗИЦІЇ ДЛЯ ВИРОБНИЦТВА СМЕТАНИ

1.1. Загальна характеристика *Streptococcus thermophilus*

S. thermophilus – це термофільний стрептокок, який нерідко застосовується у заквашувальних композиціях для одержання молочнокислих продуктів, не лише сметаний, а й, наприклад, сиру. Саме цей вид стрептококу відрізняється цілковитою безпекою для здоров'я людини, підтвердженою багаторічним досвідом його використання у виробництві різних продуктів харчування, у тому числі призначених для дітей раннього віку [5].

Визначено, що ключовими кінцевими продуктами *S. thermophilus* є позаклітинні полісахариди, протеолітичні ферменти та деякі ароматичні речовини. Окрім цього, продуцент в процесі культивування синтезує кислоти. Всі ці продукти мають важливий вплив на якість молочних продуктів. Синтез позаклітинного полісахариду поліпшує текстуру продуктів. Ароматичні речовини підвищують органолептичні показники. Протеолітична активність штамів впливає не тільки на поглинання джерела азоту, а й на утворення запаху (шляхом деградації казеїну) [6].

Смак є однією з найважливіших властивостей харчових продуктів і є ключовим фактором переваги того чи іншого молочнокислого продукту. У йогурті міститься понад 100 різних смакових сполук, включаючи спирти, альдегіди, кетони, кислоти, ефіри, лактони, сірковмісні сполуки, гетероциклічні сполуки тощо. Ці ароматичні сполуки включають леткі речовини, які вже присутні в молоці, і специфічні смакові сполуки, отримані в результаті ферментації молока. Молочна кислота, ацетальдегід, діацетил, ацетоїн, ацетон і 2-бутанон є важливими смаковими сполуками, які відповідають за типовий аромат і смак йогурту. Штами *S. thermophilus*, як смакові продукти, культивують 2,3-

					НУХТ БТЕК 04.01.11 КР ПЗ		
		№ докум.	Підпис				
Розроб.	Бойко В.Я.			РОЗДІЛ 1 ХАРАКТЕРИСТИКА <i>STREPTOCOCCUS THERMOPHILUS</i> У СКЛАДІ ЗАКВАШУВАЛЬНОЇ КОМПОЗИЦІЇ ДЛЯ ВИРОБНИЦТВА СМЕТАНИ	Літ.	Арк.	Аркушів
Перевір.	Грегірчак Н.М.					10	116
Реценз.					Кафедра БТМ		
Н. Контр.							
Затверд.	Стабніков В.П.						

бутандіол, октанал, нонанал, гексанал, 1-октен-3-ол та етанол [6,7].

Зазначаються пробіотичні властивості штамів *S. thermophilus*. Відомо, що перше використання культур термофільного стрептококу в складі пробіотичного препарату було для полегшення непереносимості лактози. Культури *S. thermophilus*, які використовуються для виготовлення йогурту, особливо багаті бета-галактозидазою і здатні швидко гідролізувати лактозу в молоці. Тому під час виробництва йогурту кількість лактози з молока зменшується за рахунок ферментації закваски [8].

Схоже, що *S. thermophilus* має ряд пробіотичних властивостей, але, в першу чергу, він здатний продукувати біологічно активні молекули, які здатні пригнічувати запальну дію, а також стимулювати імунітет хазяїна для синтезу прозапальних і протизапальних цитокінів. Наприклад, комбінація пробіотиків VSL#3 є однією з найбільш широко використовуваних рецептур, де *S. thermophilus* є одним із кількох видів, що використовуються в суміші. Цей продукт був використаний в успішних клінічних дослідженнях хвороби Крона, зниженої проникності кишківника, атопічного дерматиту та інгібування специфічних кишкових патогенів [8].

Окрім пробіотичних властивостей окремо зазначається протипухлинна дія. Наразі вивчається дія різних продуктів молока на спричинення раку. За останніми дослідженнями зазначається, що люди, які вживають молочнокислі продукти менш схильні до онкологічних захворювань. Окремо зазначається, що такі продукти мають захисну дію проти колоректального раку, раку сечового міхура, раку шлунка та раку молочної залози [9].

Таким чином, визначено низку штамів термофільного стрептококу, які, окрім властивостей пробіотика, мають антрацикліну дію. Штами M17PTZA496 та TN982 відносяться саме до таких. Окрім цього, при порівнянні з промисловим пробіотичним штамом *Lactobacillus rhamnosus* GG стрептококи мали набагато кращі результати. Наразі штами досліджують для можливого їх введення у терапію онкологічних захворювань [10].

1.2. Застосування *Streptococcus thermophilus* в заквашувальних композиціях

Оскільки *S. thermophilus* використовується у складі закваски, то не дивно, що досліджується різний вплив ко-культивування (сумісне культивування з іншими мікроорганізмами) на якість різних молочних продуктів. Таким чином зазначається, що при сумісному культивуванні *L. plantarum*, *Bifidobacterium animalis* та *S. thermophilus* виявлено вищу згуртованість, більше летючих речовин і кращу сенсорну якість порівняно з молоком, ферментованим лише *S. thermophilus* [11].

Отже, розглянемо різні закваски, які представлено на ринку, для одержання сметани (табл. 1.1)

Таблиця 1.1

Склад різних заквасок для сметани, представлених на ринку

Назва	Торгова марка	Склад	Джерело
Сметана Vivo	Vivo	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>diacetylactis</i> <i>Streptococcus salivarius</i> subsp. <i>thermophilus</i> <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>Lactis</i>	[12]
Закваска сметана Бакздрав	БАКЗДРАВ	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>Lactis</i>	[13]
Закваска для сметани	LAT BIO	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> <i>Streptococcus thermophilus</i>	[14]
Закваска сметана-Н	Narine	<i>Streptococcus thermophilus</i> <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> <i>Lactobacillus salivarius</i> , <i>Lactobacillus delbruckii</i> subsp. <i>Bulgaricus</i>	[15]
Закваска Іпровіт-ССК для виготовлення сметани	Іпровіт	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i> <i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>cremoris</i> <i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>diacetylactis</i> <i>Streptococcus salivarius</i> ssp. <i>Thermophilus</i>	[16]

Як видно з табл. 1.1. у більшості заквасок використовується *Streptococcus thermophilus*. Окремо зазначимо, що в загальній картині вміст таких заквасок є поліскладовими, що підтверджує доречність ко-культивування для одержання якісного кінцевого продукту.

Також, *S. thermophilus* використовується й в інших заквасках для одержання різноманітних харчосмакових продуктів (табл. 1.2)

Таблиця 1.2

Закваски, в яких використовується *S. thermophilus*

Продукт	Назва	Торгова марка	Склад	Джерело
Йогурт	Пробіо Йогурт VIVO	VIVO	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i> <i>Bifidobacterium lactis</i> <i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>Lactobacillus casei</i> <i>Lactobacillus paracasei</i> <i>Streptococcus thermophilus</i> <i>Bifidobacterium infantis</i> <i>Lactobacillus rhamnosus</i>	[17]
	Закваска "Йогурт для дітей"	MilkDay	<i>Streptococcus salivarius</i> subsp. <i>thermophilus</i> <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>Bulgaricus</i>	[18]
	Закваска для йогурту	Cheesemaster	<i>Streptococcus salivarius</i> subsp. <i>thermophilus</i> <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>Bulgaricus</i>	[19]
Сир	Закваска ГАУДА ЧИЗПРО	ЧИЗ	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> biovar <i>diacetylactis</i> <i>Leuconococcus mesenteroides</i> subsp. <i>cremoris</i> <i>Lactobacillus casei</i> <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> <i>Lactobacillus helveticus</i> <i>Streptococcus thermophilus</i>	[20]
	Закваска для сира сулугуні	Dalton	<i>Streptococcus thermophilus</i>	[21]
	Закваска для сиру	BIOPROX	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> <i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i> biovar <i>diacetylactis</i> <i>Streptococcus thermophilus</i>	[22]

Кефір	Бактеріальна закваска Іпровіт-Кефір	Іпровіт	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> Мікрофлора кефірних грибків <i>Saccaromices unisporus</i> <i>Streptococcus thermophilus</i>	[23]
	Закваска "Кефір для дітей"	MilkDay	Мікрофлора кефірних грибків <i>Streptococcus thermophilus</i> <i>Lactobacillus acidophilus</i>	[24]
Кефір	Закваска для БіоКефіру	Dalton	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> var. <i>diacetylactis</i> <i>Leocnoston mesenteroides</i> subsp. <i>cremoris</i> <i>Streptococcus thermophilus</i> <i>Streptococcus filant</i> <i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>Bifidobacterium bifidum</i> <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>lactis</i> <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	[25]

РОЗДІЛ 2

ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТА ХАРАКТЕРИСТИКА БІОЛОГІЧНОГО АГЕНТА

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

Для порівняння нами обрано 3 штами – *S. thermophilus* 95/2 [4], *S. thermophilus* PTCC 1738 [26] та виділений з йогурту представник *S. thermophilus*, описаний у роботі [27], штаму якого не вказано.

Вибір цих штамів для подальшого обґрунтування вибору біологічного агента з метою отримання заквашувальної композиції для одержання сметани був зумовлений здатністю даних представників роду *Streptococcus* до синтезу біомаси у достатньо високих значеннях у діапазоні 2,9–9,65 г/л. Штами порівнювали за концентрацією біомаси, складом поживного середовища та особливостями процесу їх культивування.

Так, згідно інформації, наведеної у табл. 3.1, найнижчу кількість біомаси отримали при культивуванні штаму *S. thermophilus* PTCC 1738 у середовищі з сироватковим розчином та дріжджовим екстрактом – протягом 6 год вирощування за температури 45,6 °С та рН 6,5 концентрація біомаси даного штаму склала всього 2,9 г/л [26].

Деяко вищі значення концентрації біомаси зафіксували при вирощуванні *S. thermophilus* (штами не вказано), процес культивування якого описано у статті [27]. Встановлено, що протягом 48 годин вирощування цього продуценту при підтримці значень рН на рівні 6,5 та 5,5-7,0 одержали 4,6 г/л біомаси *S. thermophilus*. Слід відмітити, що в якості основного субстрату використовували сахарозу [27] у досить високих концентраціях – 50 г/л.

У свою чергу, найвищі показники синтезу біомаси спостерігали за культивування штаму *S. thermophilus* 95/2, особливості вирощування якого наведено у роботі [4],

				НУХТ БТЕК 04.01.11 КР ПЗ			
		№ докум.	Підпис				
Розроб.	Бойко В.Я.			РОЗДІЛ 2 ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТА ХАРАКТЕРИСТИКА БІОЛОГІЧНОГО АГЕНТА	Літ.	Арк.	Аркушів
Перевір.	Грегірчак Н.М.					15	116
Реценз.					Кафедра БТМ		
Н. Контр.							
Затверд.	Стабніков В.П.						

Таблиця 2.1

Біологічний агент	Склад поживного середовища	Концентрація біомаси, г/л	Тривалість виробничого процесу, год	Особливості виробничого процесу	Література
<i>Streptococcus thermophilus</i> (штам не вказано)	Сахароза – 50 г/л, КН ₂ РО ₄ – 3 г/л, Дріжджовий екстракт – 10 г/л, MgSO ₄ ·7H ₂ O – 0,05 г/л.	4,6	48	30 °С, рН 6,5	Benattouchea Z., Bouhadib D., Rahoc G. B. Antioxidant and Antibacterial Activities of Exopolysaccharides Produced by Lactic Acid Bacteria Isolated from Yogurt. <i>International Journal of Food Studies</i> . 2018, 7: 30-37. [27]
<i>Streptococcus thermophilus</i> 95/2	Молочна сироватка – 50 г/л, Кукурудзяний екстракт – 50 г/л, К ₃ РО ₄ – 20 г/л, Казеїновий пептон – 20 г/л.	9,65	8	45 °С, рН 7,0–7,6	Tari C., Ustok F. I., Harsa S. Optimization of the associative growth of novel yoghurt cultures in the production of biomass, β-galactosidase and lactic acid using response surface methodology. <i>International Dairy Journal</i> . 2009, 19(4): 236–243. doi:10.1016/j.idairyj.2008.10.009 [28].
<i>Streptococcus thermophilus</i> PTCC 1738	Молочна сироватка – 80 г/л, Твін-80 – 1 мл, Дріжджовий екстракт – 100 г/л, MgSO ₄ ·7H ₂ O – 1 г/л, СаСО ₃ – 1 г/л.	2,9	6	45,6 °С, рН 6,5	Aghababaie M., Khanahmadi M., Beheshti M. Developing a detailed kinetic model for the production of yogurt starter bacteria in single strain cultures. <i>Food and Bioprocess Processing</i> . 2015, 94: 657–667. doi:10.1016/j.fbp.2014.09.007 [26].
<i>Streptococcus thermophilus</i> S02FT	Лактоза – 20 г/л, Казеїновий пептон - 5,0 г/л, Соевий пептон - 5,0 г/л, Дріжджовий екстракт - 2,5 г/л, Екстракт яловичини - 5,0 г/л, Аскорбінової кислоти - 0,5 г/л, Динатрій-β-гліцерофосфат – 19 г/л, MgSO ₄ ·7H ₂ O – 0,25 г/л.	0,68	30	30 °С, рН 6,8	Mahmood T., Masud T., Imran M., Ahmed I., Khalid N. Selection and characterization of probiotic culture of <i>Streptococcus thermophilus</i> from dahi. <i>International journal of food sciences and nutrition</i> . 2013, 64(4): 494-501. doi: 10.3109/09637486.2012.749840 [29]

Закінчення табл.2.1

<i>Streptococcus thermophilus</i> (штам не вказано)	Лактоза – 70 г/л, Казеїновий пептон – 10 г/л, Дріжджовий екстракт – 12 г/л, K ₂ HPO ₄ – 2 г/л, Ацетат натрію – 2,75 г/л, Натрію цитрат – 2,12 г/л, MgSO ₄ ·7H ₂ O – 0,1 г/л, MnSO ₄ ·7H ₂ O – 0,05 г/л	5,8	6	45 °C, pH 6,8	Spann R., Gernaey K. V., Sin G. A compartment model for risk-based monitoring of lactic acid bacteria cultivations. <i>Biochemical Engineering Journal</i> . 2019, 151: 107293. doi: 10.1016/j.bej.2019.107293 [30]
<i>Streptococcus thermophilus</i> Iprovit	Сухе молоко – 30 г/л, Глюкоза – 10 г/л, Казеїновий пептон – 10 г/л, Дріжджовий екстракт – 20 г/л, Цитрат натрію – 10 г/л, MgSO ₄ ·7H ₂ O – 1 г/л, Аскорбінова кислота – 1 г/л, Суміш амінокислот – 1 г/л.	2,64	10	40 °C, pH 6,6–7,0	Naumenko O., Danylenko S., Bal-Prylypko L., Gunko S. Development of the biotechnology of <i>Streptococcus thermophilus</i> bacteria as producers of exopolysaccharides. <i>Food science and technology</i> . 2020, 14(3): 29-36 [31]

оскільки всього за 8 год процесу культивування при забезпеченні температури 45 °С та значення рН у діапазоні 7,0–7,6 концентрація біомаси даного продуцента становила 9,65 г/л, що у 1,5-3 рази вище, порівняно із значеннями концентрації біомаси за вирощування продуцентів, особливості культивування яких досліджено у роботах [27], [26] та [28] (див. табл. 2.1).

Окрім здатності до продукування високого рівня біомаси за невеликої тривалості процесу (8 год), перевагою використання штаму *S. thermophilus* 95/2 в якості біологічного агента для отримання заквашувальної композиції з метою одержання сметани є використання молочної сироватки в якості субстрату – це є економічно вигідним рішенням, оскільки молочна сироватка є побічним продуктом у молочній промисловості та відповідно характеризується низькою вартістю. Також культивування штаму проводять за температури 45 °С, що також є вигідним рішенням, адже такий температурний режим унеможливує розвиток більшості сторонньої мікрофлори, що представлена мезофільними мікроорганізмами.

Таблиця 2.2.

Вартість поживних середовищ для вирощування різних штамів *S. thermophilus*

Продуцент	Компонент поживного середовища, г/л	Ціна компонента, грн/кг	Вартість компонента (грн) на 1 л середовища	Джерело інформації
<i>Streptococcus thermophilus</i> (штам не вказано)	Сахароза – 50	31	1,55	1
	Дріжджовий екстракт – 10	387,6	3,88	2
	КН ₂ РО ₄ – 3	49	0,15	3
	МgSO ₄ ·7H ₂ O – 0,05	14	0,0007	4
	Вартість 1 л середовища – 5,59 грн			
<i>Streptococcus thermophilus</i> 95/2	Молочна сироватка – 50	55	2,75	5
	Кукурудзяний екстракт – 50	285,9	14,29	6
	К ₃ РО ₄ – 20	70	1,4	7
	Пептон казеїновий – 20	285,9	5,72	8
	Вартість 1 л середовища – 24,16 грн			

<i>Streptococcus thermophilus</i> PTCC 1738	Молочна сироватка – 80	55	4,4	5
	Твін-80 – 1	180	0,18	9
	Дріжджовий екстракт – 100	387,6	38,76	2
	MgSO ₄ ·7H ₂ O – 1	14	0,01	4
	CaCO ₃ – 1	28	0,03	10
	Вартість 1 л середовища – 43,38 грн			
<i>Streptococcus thermophilus</i> S02FT	Лактоза – 20	52	1,04	11
	Пептон казеїновий - 5,0	285,9	1,43	8
	Соевий пептон - 5,0	260,4	1,3	12
	Дріжджовий екстракт - 2,5	387,6	0,97	2
	Екстракт яловичини - 5,0	5530	27,65	13
	Аскорбінової кислоти - 0,5	268	0,13	14
	MgSO ₄ ·7H ₂ O – 0,25	14	0,01	4
	Динатрій-β-гліцерофосфат – 19	1040	19,76	15
Вартість 1 л середовища – 52,29 грн				
<i>Streptococcus thermophilus</i> (штам не вказано)	Лактоза – 70	52	3,64	11
	Пептон казеїновий – 10	285,9	2,86	8
	Дріжджовий екстракт – 12	387,6	4,65	2
	K ₂ HPO ₄ – 2	49	0,1	3
	Ацетат натрію – 2,75	42	0,12	16
	Натрію цитрат – 2,12	51	0,11	17
	MgSO ₄ ·7H ₂ O – 0,1	14	0,01	4
	MnSO ₄ ·7H ₂ O – 0,05	19,4	0,01	18
Вартість 1 л середовища – 11,68 грн				
<i>Streptococcus thermophilus</i> Iprovit	Сухе молоко – 30	74	5,18	19
	Глюкоза – 10	45,8	0,46	20
	Гідролізат казеїну – 10	285,9	2,86	8
	Дріжджовий екстракт – 20	387,6	7,75	2
	Цитрат натрію – 10	51	0,51	17
	MgSO ₄ ·7H ₂ O – 1	14	0,01	4
	Аскорбінова кислота – 1	268	0,27	14
	Суміш амінокислот – 1	86,8	0,09	21
Вартість 1 л середовища – 17,13 грн				

Примітка (ціни наведено станом на травень 2023): 1 - <https://prom.ua/p1232648955-sahar-pesok-besarabiko.html?&primelead=MS4wMg>, 2 - <https://www.emkolbaski.ru/ekstrakt-drojzey-suhoy-50gr-100gr-500gr/>, 3 - <https://prom.ua/p1059869951-monofosfat-kaliya.html>, 4 - <https://prom.ua/p1297710209-sulfat-magniya-magnij.html?&primelead=MC44>, 5 - https://pekar-konditer.com.ua/syvorotka-molochnaya-suhaya?gclid=Cj0KCQiAi9mPBhCJARIsAHchl1xgtKfmgMc4EwOxbkmM-Q_ZUz1zFd7J7-

https://russian.alibaba.com/product-detail/manufacture-natural-myo-inositol-corn-extract-corn-silk-extract-60117892256.html?spm=a2700.7735675.normal_offer.d_image.2fe959acvRwK4n, 6 - https://russian.alibaba.com/product-detail/peptone-peptone-high-quality-additive-cas-91079-40-2-food-grade-peptone-powder-price-1600410792336.html?spm=a2700.galleryofferlist.normal_offer.d_image.63f7150aGvLrgX&s=p, 7 - <https://prom.ua/p1267047719-ortofosfat-kaliya.html>, 8 - https://russian.alibaba.com/product-detail/peptone-peptone-high-quality-additive-cas-91079-40-2-food-grade-peptone-powder-price-1600410792336.html?spm=a2700.galleryofferlist.normal_offer.d_image.63f7150aGvLrgX&s=p, 9 - <https://prom.ua/p1014894441-polisorbat-tvin.html?&primelead=MC41NQ>, 10 - <https://prom.ua/p1261706371-kaltsij-karbonat-uglekislyj.html?&primelead=MS41MQ>, 11 - <https://prom.ua/p1241997202-laktoza-pishevaya-polmlek.html?&primelead=NQ>, 12 - https://russian.alibaba.com/p-detail/Manufacturer-60735200013.html?spm=a2700.7724857.normal_offer.d_title.686f2035SMCwmy, 13 - <http://art-medika.com/catalog/mikrobiologia/components/product-2814.html>, 14 - <https://prom.ua/p818429926-askorbinovaya-kislota.html>, 15 - <https://prom.co.ua/p621819706-glitserofosfat-dinatriya-pentagidrat.html>, 16 - <https://prom.ua/p701885018-natrij-uksusnokislyj-atsetat.html>, 17 - <https://prom.ua/p658510326-tsitrat-natriya-25kg.html?&primelead=MC44>, 18 - <https://prom.ua/p1520017159-magnij-sernokislyj-sulfat.html?&primelead=M14wNA>, 19 - <https://prom.ua/p1004640575-moloko-suhoe-500g.html>, 20 - <https://prom.ua/p818429907-dekstroza-meshok.html>, 21 - <https://russian.alibaba.com/p-detail/Micronutrient-62050142454.html?spm=a2700.8699010.29.232.44eb1f9eUOAult>

Зважаючи на вищеописане, найкращим біологічним агентом за табл. 2.1 для отримання заквашувальної композиції з метою одержання сметани серед наведених є саме *S. thermophilus* 95/2. Але, такий аналіз не висвітлює певних показників, які є важливими для промислового біосинтезу. Тобто, відсутня вартість 1 л поживного середовища, а також невідома умовна вартість 1 г цільового продукту, який в даній роботі виступає у вигляді біомаси *S. thermophilus*.

Визначення вартості поживного середовища зазначено в табл.2.2. Остаточну інформацію висвітлено в табл.2.3.

Таблиця 2.3

Узагальнюючі дані

Біологічний агент	Вартість 1 л середовища, грн	Концентрація біомаси, г/л	Умовна вартість 1 г біомаси, грн/г	Тривалість культивування, год	Кількість утвореної біомаси за годину, г/год
<i>Streptococcus thermophilus</i> (штам не вказано)	5,59	4,6	1,2	48	0,096
<i>Streptococcus thermophilus</i> 95/2	24,16	9,65	2,5	8	1,206
<i>Streptococcus thermophilus</i> PTCC 1738	43,38	2,9	14,96	6	0,483

<i>Streptococcus thermophilus</i> S02FT	52,29	0,68	78,89	30	0,023
<i>Streptococcus thermophilus</i> (штам не вказано)	11,68	5,8	2,01	6	0,967
<i>Streptococcus thermophilus</i> Iprovit	17,13	2,64	6,49	10	0,264

Отже, як видно з табл. 2.3. неефективно розглядати лише показників концентрації цільового продукту (табл. 2.1.). В останній таблиці можна відмітити переваги кожного продуцента. У *S. thermophilus* PTCC 1738 це найменший час культивування та відносно високе утворення біомаси за 1 год ферментації. В *S. thermophilus* штам якого не вказано – це дешевизна кінцевого продукту, але головним недоліком є час культивування. Саме цей продуцент є найгіршим за кількістю утворюваної біомаси за годину, що дозволяє нам зробити висновки стосовно використання цього мікроорганізму в промисловому виробництві, а саме недоцільність, оскільки вихід цільового продукту є найменшим, а за часом – найдовшим.

Ще один штам без назви також мав би потенціал у промисловому використанні, оскільки культивується на не самому найдорожчому поживному середовищі, але все одно має ряд недоліків. *S. thermophilus* Iprovit це доволі відомий штам, який використовує ДДП ІПР НААН (Державне дослідне підприємство Інституту продовольчих ресурсів НААН України) і має небезпідставне застосування у промисловості, але також не є найкращим продуцентом в нашому порівнянні.

Найгіршим продуцентом можна поправу вважати штам S02FT. Порівняно з усіма, даний штам має найдорожче поживне середовище та найменшу кількість синтезованої біомаси. Дані показники впливають як на умовну вартість кінцевого продукту, так і на кількість її утворення за годину. Оскільки бажаний продукт

синтезується довго, ще й коштує дорожче за всіх – даний штам використовувати недоцільно.

Стосовно *S. thermophilus* 95/2, порівняно з минулими – це найоптимальніший біологічний агент для промислового використання. За годину він утворює найбільшу кількість біомаси. Незважаючи на те, що вартість нашого продукту вище майже в 2 рази, порівняно з найдешевшим штамом, але кількість утвореної біомаси є вищою в 12,5 раз, що дозволить виготовити ще більше продукту. Приймаючи це до уваги, використання штаму РТСС 1738 буде недоцільно тому, що він має ряд недоліків перед штамом 95/2. Тож, обираємо *S. thermophilus* 95/2 як продуктивний біологічний агент.

2.2. Розрахунок складу поживного середовища

Розрахунок вмісту в середовищі джерел вуглецевого живлення

Відомо, що біомаса складається на 50 % з карбону, тоді кількість карбону у 9,65 г біомаси становить $9,65 \times 0,5 = 4,825$ г. Враховуючи 40% втрат субстрату на «холосте окислення», тоді кількість карбону, яка необхідна становить: $(4,825 \times 0,4) + 4,825 = 7,2375$ г.

Джерелами вуглецю в середовищі для синтезу *S. thermophilus* 95/2 виступає молочна сироватка, казеїновий пептон та кукурудзяний екстракт. В молочній сироватці міститься від 60 до 80% лактози [32]. Для розрахунку обираємо усереднене значення, а саме 70%. Отже, кількість лактози в середовищі становить $50 \times 0,7 = 35$ г. Хімічна формула лактози: $C_{12}H_{22}O_{11}$, молекулярна маса - 342,3 г/моль. Отже, на 342,3 г припадає $12 \times 12 = 144$ г. Тоді, кількість вуглецю в молочній сироватці становить: $(35 \times 144) / 342,3 = 14,72$ г вуглецю. Цього повністю вистачає, для синтезу біомаси *S. thermophilus* 95/2. Тому, подальший розрахунок виконувати не будемо, а також не будемо змінювати кількість молочної сироватки, оскільки вона є ще джерело азоту.

Розрахунок вмісту в середовищі джерел азотного живлення

У біомасі міститься 10 % Нітрогену, отже вміст азоту у 9,65 г біомаси становить $9,65 \times 0,1 = 0,965$ г.

В молочній сироватці кількість азоту варіюється від 10 до 20%, усереднене значення становить 15% [32]. Отже. Кількість нітрогену з молочної сироватки становить $50 \times 0,15 = 7,5$ г. Цього також повністю вистачає для синтезу біомаси.

Змінювати кількість джерел вуглецю та азоту немає, оскільки мова йде про молочнокислі бактерії, які є метаболічними інвалідами і потребують великої кількості амінокислот. Оскільки молочна сироватка, кукурудзяний екстракт та пептон є джерелами пептидів та амінокислот, змінювати їх концентрацію не будемо.

2.3. Морфолого-культуральні та фізіолого-біохімічні ознаки *Streptococcus thermophilus*

S. thermophilus характеризується факультативною анаеробністю. Це означає, що він здатний виробляти енергію у формі АТФ за допомогою аеробного дихання з наявністю кисню. За відсутності кисню вони можуть виробляти АТФ шляхом бродіння [33].

Як біохімічні характеристики він представляє позитивний тест Фогеса-Проскауера і не ферментує аргінін, маніт або сорбіт. Вони не підтримують високих концентрацій NaCl, що відрізняє його від родів *Enterococcus* та *Lactococcus* [33].



Рис.2.1. Ріст *S. thermophilus* на агарі M17 [34]

S. thermophilus це ацидофільна, гомоферментативна бактерія. Тому при додаванні до молока відбувається швидке підкислення середовища шляхом бродіння лактози, сприяючи згортанню [33].

S. thermophilus спостерігається як грампозитивні коки діаметром від 0,7 до 0,9 мкм, які розташовані парами або ланцюжками змінної довжини. Його клітинна стінка складається з N-ацетилглюкозаміну (NAG) та N-ацетилмуранської кислоти (NAM), зв'язаних ефірними зв'язками. Ця структурна характеристика надає їй властивості витримувати високі температури з оптимальною швидкістю росту 45 °С [33].



Рис.2.2. Клітини *S. thermophilus* під мікроскопом при збільшенні 90х пофарбовані за Грамом [35]

S. thermophilus містить дві унікальні пептидази - олігопептидазу та амінопептидазу. Ці ферменти каталізують відщеплення специфічних амінокислот від кінця поліпептиду. Його протеолітична здатність робить його корисним для харчової промисловості, оскільки він може гідролізувати молочний білок (казеїн), хоча він робить це дуже погано, що вимагає включення інших пробіотиків. З іншого боку, екзополісахариди, що виробляються цією бактерією, є важливими для формування текстури ферментованих молочних продуктів та органолептичних властивостей. Наприклад, *S. thermophilus* має здатність гідролізувати гідрофобні пептиди. Ця властивість необхідна для зменшення гіркого смаку сиру. Інша характеристика, яку забезпечують екзополісахариди гетерополісахаридного типу, вироблені *S. thermophilus*, це більша ємність, яку вони повинні зв'язувати з водою в процесі дозрівання сиру. Це забезпечує утримання води в кінцевому продукті, забезпечуючи кращі показники [33].

2.4. Таксономічний статус *Streptococcus thermophilus*

S. thermophilus належить до домену бактерій, типу *Firmicutes*, класу *Bacilli*, порядок *Lactobacillales*, сімейства *Streptococaceae*, роду *Streptococcus*, виду *thermophilus* [33].

Відповідно до класифікації, заснованої на послідовності гена 16SrRNA, *S. thermophilus* є частиною групи Саліварі разом із двома більш близькими видами, якими є *S. vestibularis* та *S. salivarius*. Усі три види зустрічаються в ротовій порожнині людини *S. thermophilus* природним середовищем існування є бичача слизова оболонка та його молоко [33].

РОЗДІЛ 3

ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБГРУНТУВАННЯ

3.1. Потреба в сметані

Свою назву цей кисломолочний продукт отримав від споконвічного способу виробництва сметани в домашніх умовах. Після того, як зливався верхній шар молока, що відстоявся, віником або ложкою збирали (змітали) другий шар, що знаходився під вершками [36].

За харчовою, біологічною цінністю і дієтичними властивостями сметана відрізняється іноді значно. Вимогам дієтичного харчування більше за інших відповідає свіжа сметана 10% жирності, кислотність якої за шкалою Тернера не перевищує 90 ° [36].

Жирність сметани може змінюватися від 10 до 58%, однак у магазинах найчастіше зустрічається 10-35%. А ось знежирений варіант продукту - не більше, ніж маркетинговий хід та дієтологічний міф. Усе, що має вміст жиру менше 10% - уже не сметана, а сметанковий продукт [37].

Біологічна цінність сметани обумовлюється наявністю повноцінного молочного білка, що містить незамінні амінокислоти, легкозасвоювані жири та молочні цукри, а також тим, що в процесі дозрівання та сквашування утворюються речовини, які набагато краще засвоюються організмом людини, порівняно з молочними продуктами. Сметана містить цінні вітаміни: А, Е, В2, В12, С, РР, а також кальцій, фосфор і залізо, необхідні організму, що росте [36-38].

Завдяки молочнокислому бродінню сметана перетворюється на продукт пробіотичної дії: мікроорганізми, що містяться в ній, допомагають боротися з гнильною флорою кишечника, рости і розмножуватися корисним бактеріям [36].

Сметана позитивно впливає на стан кісток, сприяє травленню. Цей продукт допомагає запобігти атеросклерозу. Сметана позитивно впливає на гормональний фон. Вона містить багато тваринних жирів, які необхідні організму в адекватних

					<i>НУХТ БТЕК 04.01.11 КР ПЗ</i>		
		<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>				
<i>Розроб.</i>	<i>Бойко В.Я.</i>			РОЗДІЛ 3 ТЕХНІКО- ЕКОНОМІЧНЕ ОБГРУНТУВАННЯ	<i>Лім.</i>	<i>Арк.</i>	<i>Аркушів</i>
<i>Перевір.</i>	<i>Грегірчак Н.М.</i>					26	116
<i>Реценз.</i>					<i>Кафедра БТМ</i>		
<i>Н. Контр.</i>							
<i>Затверд.</i>	<i>Стабніков В.П.</i>						

кількостях для вироблення статевих гормонів (естроген та тестостерон), гормонів надниркових залоз (адреналін, норадреналін, кортизол), збереження здоров'я шкіри, волосся та нігтів. Ці гормони дозволяють організму пристосовуватися до стресів, застуд і підвищують загальну опірність організму. Позаяк, певною мірою сметану можна вважати афродизіаком [37,38].

Найбільшу користь несе сметана для жінок [38]:

- регулярне вживання допоможе стабілізувати гормональний фон та налагодити менструальний цикл;
- мінерали у складі продукту захищають від депресії, спричиненої прийомом оральних контрацептивів;
- у великій кількості містить кальцій, який корисний для жіночого організму під час менопаузи;
- вітамін В4 (холін) позитивно впливає на формування мозку малюка в період вагітності;
- при використанні в косметології покращує стан шкіри та тонізує, захищає від негативного впливу навколишнього середовища, відбілює та зменшує пігментні плями.

Сметана завдяки великому вмісту жиру є поживним продуктом. Тому вона широко застосовується для харчування виснажених і малокровних хворих, які страждають на поганий апетит і травлення [36].

Сметана дає силу м'язам, стимулює розумову діяльність: її можна використовувати при сонячних опіках як засіб для загоєння. Сметану рекомендується їсти вранці. З 10 до 14 години: у другій половині дня її вживання може призвести до загострення захворювань печінки [36].

Але всі свої корисні властивості втрачає сметана, розрахована на тривалий термін зберігання більше 10 днів. Крім пастеризації, для продовження термінів зберігання до неї додають консерванти. Сметану із тривалим терміном зберігання у дитячому харчуванні краще не використовувати. Нежирну сметану (краще 10%)

як заправку для супу, салатів і соусів можна запропонувати дітям починаючи з 1,5 років [36].

Проте сметана має й негативні сторони. Через високу кислотність її не рекомендують при виразці шлунка та кишківника, при гастритах із підвищеною кислотністю. Через високу жирність та консерванти у складі магазинної сметани лікарі не рекомендують давати її дітям до 1.5 років. Не варто зловживати сметаною при ожирінні через велику калорійність. Також надмірне споживання сметани може нашкодити людям, які страждають на захворювання жовчного міхура і печінки, а також гіпертонією та хворобами серцево-судинної системи, оскільки в ній відзначається високий вміст холестерину [36].

На виробництві сметану, як і в домашніх умовах, одержують із вершків. І відбувається це двома методами: термостатним та резервуарним. Термостатне виробництво дорожче. Сметана кисне прямо у фасувальній тарі, проводячи в термостатній камері 5-6 годин при температурі 32°C. Структура такої сметани густіша і щільніша. За словами дієтологів, у такому продукті більше корисних бактерій. При резервуарному методі сировину сквашують і перемішують у великих ємностях, потім подають на фасовку [38].

Наразі в Україні спостерігається зменшення споживання молочнокислих продуктів, у тому числі й сметани. Оскільки споживання молочних продуктів українським населенням скорочується, виробникам молочної продукції необхідно шукати шляхи підвищення привабливості своєї продукції, використовуючи стратегію диференціації. Ця стратегія базується на пропозиції продуктів з унікальними властивостями, брендів зі специфічними характеристиками, використанні мультибрендового підходу, виробництві продуктів, що відрізняються за якістю та смаком, а також розробці ефективної комунікації [39].

Проведене дослідження свідчить, що сьогодні, в умовах зменшення попиту на товари, для того, що виділитися на ринку молока та молокопродуктів, вітчизняні молокопереробні підприємства використовують стратегію диференціації за рахунок ширини товарного асортименту, кількості товарних

марок та їх капіталу, формування партнерських відносин із споживачами через використання соціальних мереж [39].

Через такий сучасний підхід, створення нової ще й якісної закваски є дуже перспективним варіантом, адже таким чином можна розширити асортимент продукції, або просто підвищити якість вже існуючого продукту. Але, щоб оцінити повноцінну картину потреби споживачів варто проаналізувати вже існуючий ринок виробників цього корисного молочного продукту. Такий аналіз приведено в табл.3.1.

Таблиця 3.1.

Українські виробники сметани [39]

Виробники	Торгові марки виробників, які випускають сметану	Основне місцезнаходження виробничих потужностей
ГК «Данон Україна» ТОВ «Данон Дніпро» ПрАТ «Данон Кременез»	«Простоквашино»	м. Кременчук або м. Херсон
ТОВ «Білоцерківський молочний комбінат» ТОВ «ТЕРРА ФУД»	«Premialle»	с. Томилівка, Білоцерківський район, Київська обл.
	«Біла лінія»	
	«Ферма»	
ГК «PepsiCo» ПрАТ «Вимм Біль Данн Україна»	«Слов'яночка»	м. Вишневе, Києво-Святошинський район, Київська обл.
	«Ромол»	м. Харків
ПАТ «Юрія»	«Волошкове поле»	м. Черкаси
ТОВ «Люстдорф»	«Селянське»	м. Іллінці, Вінницька обл.
ТОВ «Мілкіленд-Україна»	«Добряна»	м. Чернігів
ПАТ «Лакталіс Миколаїв» ТОВ «Молочний дім» ГК «Лакталіс-Україна»	«Президент»	м. Миколаїв
ПрАТ «Тернопільський молокозавод»	«Молокія»	м. Тернопіль
	«Молокія Сонечко»	
ПрАТ «Галичина»	«Галичина»	м. Радехів, Львівська обл.
	«Мої корівки»	
АТ «Молочний альянс» ПАТ «Яготинський маслозавод»	«Яготинське»	м. Яготин, Київська обл.

Цікавий факт є в тому, що довіра споживачів будується не щодо певного заводу, компанії чи фірми, а до певної торгової марки. Наприклад довіра до ТМ «Слов'яночка» за п'ятибальною шкалою становить 3,22, в той час, коли ТМ «Бурьонка» має оцінку в 0,95. Ці торгові марки відносяться до однієї компанії - ТОВ «Люстдорф» [39].

По всій Україні відмічається величезна довіра до бренду «Яготинське». Під даною торговою маркою випускається чи не найбільше кількість товарів молочної промисловості. Під даним брендом випускається не лише сметана, а ще й молоко, вершки, кефір, йогурти, айран, геролакт, закваски, масло, сир, сирки, напої молочні, сири м'які. Саме через якісний підхід компанія торгової марки і завоювала довіру українського споживача [39].

З цього можна зробити висновок, що не важливо яка кількість торгових марок присутня у фірмі. Головне – це дотримуватись політики забезпечення якості харчових продуктів. Другорядним фактором можна виділити розширення асортименту продукції для більшої впізнаваності бренду.

Тож, тепер маємо проаналізувати ринок заквашувальних композицій для виробництва сметани, які містять в своєму складі термофільного стрептокока. Такий аналіз показано в табл. 3.2.

Таблиця 3.2.

Закваски для виробництва сметани, представлені на українському ринку

Торгова марка	Країна виробник	Приготування	Вартість, грн*	Джерело
«Vivo»	Україна	1 флакон на 3 л молока	За флакон - 10,00	[40]
-	Італія	1 пакет на 3-5 л молока	За пакет – 10,99	[41]
«Cheese master»		1 пакет на 1-3 л молока	За пакет – 7,99	[42]
«Zakvaskin»		1 пакет на 1-3 л молока	За пакет – 10,00	[43]
«Sacco»		1 пакет на 1 л молока	За пакет – 5,20	[44]

«BIOVITEC»	Франція	10 г на 100 л молока	За пакет (200 г) - 568	[45]
------------	---------	-------------------------	---------------------------	------

Примітка*: ціни наведено станом на травень 2023 року.

Спираючись на вищенаведені дані для звичайних споживачів з українських виробників присутня лише торгова марка «Vivo», яка належить ТОВ «BIBO-AKТИВ». Це одна з найпопулярніших торгових марок, яка представлено на інтернет платформах. Це не дивно, оскільки на підприємстві діє система управління якістю та безпекою харчових продуктів ISO 9001:2008 та ISO 22000:2005. Вкотре можна впевнитись у важливості системи контролю якості виробництва та продукції [46].

Але найбільшу частину вітчизняного ринку заповнили закваски італійського виробництва, які мають не лише перевагу «закордонної якості», а й цінової політики. Французька закваска притаманна як раз таки промислового виробництву.

Тому, є необхідність у створенні нової заквашувальної композиції для виробництва сметани з метою підтримки українського виробництва вітчизняною сировиною та підтримки економіки нашої країни в такий складний час.

3.2. Розрахунок потужності виробництва

Розроблена Інститутом харчування НАНУ науково обґрунтована норма річного споживання сметани становить 6,5 кг на людину. Це з врахуванням добового споживання молока та молочних продуктів [3].

Порахуємо необхідну кількість сметани на рік на населення нашої країни. Станом на кінець серпня, через війну в Україні наразі налічується від 28 до 34 мільйонів людей. Таке різке зменшення пояснюється тим, що частина виїхала за кордон, частина потрапила в окупацію, куди тимчасово неможливо доставити будь-які товари українського виробництва [47]. Оскільки невідомо чітку кількість людей, пропонується робити розрахунок по мінімальному числу, що становить 28 мільйонів. Отже, кількість сметани на рік для забезпечення такої кількості населення становить:

$$28\,000\,000 \times 6,5 = 182\,000\,000 \text{ кг або } 182\,000 \text{ тонн}$$

В джерелі [38] описано приблизне вагове одержання нашого продукту. Щоб отримати 1 кг сметани потрібно використати 5 л молока. Отже, щоб отримати таку кількість сметани, потрібна наступна кількість молока:

$$182\,000\,000 \times 5 = 910\,000\,000 \text{ л}$$

Оскільки на ринку вже присутні не мала кількість фірм, які виробляють закваски, пропонується забезпечити 2,5% від загальної потреби. Отже, кількість молока за зазначених потреб буде становити:

$$910\,000\,000 \times 0,025 = 22\,750\,000 \text{ л}$$

Для прорахунку подальшої кількості закваски, будемо орієнтуватися на препарат від ТМ «Vivo». До компонентного складу входять наступні бактерії: *Lactococcus lactis*, *L. cremoris*, *L. diacetylactis*, *S. thermophilus*. На жаль, в інструкції не вказано конкретне співвідношення даних мікроорганізмів, тому припустимо, що воно дорівнює 1:1:1:1. Для виробництва сметани з 3 літрів молока компанія пропонує використати 1 флакон, що містить 0,5 г закваски [40]. Отже, в одному флаконі міститься така кількість термофільного стрептокока:

$$0,5 \times 0,25 = 0,125 \text{ г}$$

Тож, для 3 літрів молока необхідна кількість термофільного стрептококу становить 0,125 г. Кількість стрептококу, яка потрібна на рік для забезпечення 2,5% потреби в сметані становить:

$$\frac{0,125 \times 22\,750\,000}{3} = 947\,917 \text{ г або } 948 \text{ кг}$$

Обраний біологічний агент синтезує близько 9,65 г/л біомаси [4]. Отже, кількість культуральної рідини на рік становить:

$$\frac{948}{9,65} = 98,2 \text{ м}^3$$

Таблиця 3.3

Узагальнені дані

Продукція	Кількість молока, л	Кількість стрептококу, кг	Кількість КР, м ³
Закваска для сметани	22 750 000	948	98,2

3.3. Розрахунок об'єму ферментера та кількості виробничих циклів

Для одержання 98,2 м³ культуральної рідини приймаємо, що необхідно 300 робочих трудоднів (T_{рд}). Тоді, відповідна кількість на добу культуральної рідини (V_д) становитиме:

$$V_{д} = V_{кр}/T_{рд} = 98,2/300 \approx 327 \text{ л}$$

Знаючи це, можемо розрахувати кількість культуральної рідини за 1 виробничий цикл, (V_{крц}):

$$V_{крц} = K_1 \cdot V_{д} \cdot T_{цф} / 24 = 1,1 \cdot 327 \cdot 15 / 24 \approx 225 \text{ л},$$

де T_{цф} - цикл роботи ферментера, що складається з таких етапів: миття та ретельний огляд виробничого обладнання – 1,5 год, визначення герметичності виробничого обладнання – 0,5 год, попередній підігрів та обов'язкова стерилізація усього необхідного обладнання – 1,5 год, зменшення температури у ферментері до прийнятої – 1 год, подання поживного середовища до апарату – 1,5 год, подання посівного матеріалу до ферментеру – 0,5 год, виробничий процес культивування – 8 год, та перекачування культуральної рідини до збірника на зберігання – 0,5 год, і становить 31 години. K₁– коефіцієнт запасу, що враховує можливість нестерильних операцій (K₁ = 1,1).

Тепер, маючи попередні дані, можна визначити геометричний об'єм ферментера для отримання 225 л культуральної рідини. Оскільки обрано аеробні умови, коефіцієнт заповнення становить 0,6. Тоді, геометричний об'єм має бути:

$$V_{г} = V_{цк}/K_{зап} = 225/0,6 \approx 375 \text{ л},$$

де K_{зап} – коефіцієнт заповнення ферментера.

Знаючи це, маємо обрати наступний об'єм ферментеру V_ф = 400 л

При цьому, уточнений коефіцієнт заповнення становить:

$$K_{зф} = V_{цк}/V_{ф} = 225/400 = 0,563$$

3.4. Розрахунок кількості стадій підготовки посівного матеріалу

Під час виробничого циклу вдається одержати V_{кр} = 225 л культуральної рідини.

Поживне середовище та рівень посівного матеріалу перед початком виробничого біогенезу є наступними, з урахуванням втрат через крапельний транспорт у витяжному колекторі (10%):

$$V_{\text{роб.1}} = V_{\text{кр}} / (1 - E_{\text{ф}}) = 225 / (1 - 0,1) = 250 \text{ л,}$$

де $E_{\text{ф}}$ – втрати культуральної рідини під час біосинтезу.

Отже, виробниче культивування здійснюється в ферментері з геометричним робочим об'ємом $V_{\text{роб.1}} = 250$ л.

При вибраному коефіцієнті заповнення $K_{\text{зап}} = 0,6$ можливий геометричний об'єм ферментера $V_{\text{ф.1}} = 250 / 0,6 = 416$ л. Найближчим за габаритами та робочим об'ємом є ферментер на $V_{\text{сф}} = 400$ л. Знаючи це, уточнюємо коефіцієнт заповнення:

$$K_{\text{зап.1}} = V_{\text{роб.1}} / V_{\text{сф}} = 250 / 400 \approx 0,62$$

Коефіцієнт знаходиться у межах норми для ферментерів з аерацією.

Кількість інокуляту, що треба внести у ферментер, відповідає 10% від загального об'єму живильного середовища. Отже, кількість поживного бульйону у ферментері становитиме:

$$V_{\text{пс1}} = V_{\text{роб.1}} / (1 + X_{\text{ф}}) = 250 / (1 + 0,1) \approx 227,3 \text{ л}$$

де $X_{\text{ф}}$ – доза посівного матеріалу для ферментера.

Тепер, знаючи минулі параметри, кількість посівного матеріалу в ферментері становить:

$$V_{\text{пм1}} = V_{\text{роб.1}} - V_{\text{пс1}} = 250 - 227,3 = 22,7 \text{ л}$$

Для одержання 22,7 л враховуємо 10% на краплевинос. Отже, кількість живильного середовища в інокуляторі має бути:

$$V_{\text{роб.2}} = V_{\text{пм1}} / (1 - E_{\text{ф}}) = 22,7 / (1 - 0,1) \approx 25,2 \text{ л}$$

Можливий геометричний об'єм інокулятора $V_{\text{ін}} = 25,2 / 0,6 \approx 42$ л. Найближчим за габаритами та робочим об'ємом є інокулятор $V_{\text{сін}} = 40$ л. Тепер, уточнюємо коефіцієнт заповнення:

$$K_{\text{зап.2}} = V_{\text{роб.2}} / V_{\text{сін}} = 25,2 / 40 = 0,63$$

Коефіцієнт перебуває у нормальних ежах при аераційному культивуванні.

Кількість поживного середовища в інокуляторі становитиме:

$$V_{\text{пс2}} = V_{\text{роб.2}} / (1 + X_{\text{ін}}) = 25,2 / (1 + 0,1) \approx 22,91 \text{ л}$$

Тоді кількість посівного матеріалу для інокулятора становить:

$$V_{\text{пм2}} = V_{\text{роб.2}} - V_{\text{пс2}} = 25,2 - 22,91 = 2,29 \text{ л}$$

2290 мл посівного матеріалу отримується за допомогою певної кількості колб об'ємом 750 мл та коефіцієнтом заповнення $K_{\text{зк}} = 0,2$. Кількість колб становитиме:

$$N_{\text{колб}} = V_{\text{пм4}} / (V_{\text{колб}} \times K_{\text{зап}}) = 2290 / (750 \times 0,2) = 15 \text{ шт.}$$

Отже, для стадії приготування інокуляту в колбах на качалках необхідно підготувати 15 колб.

Визначено, що підготовка посівного матеріалу відбувається у 2 стадії, першою з яких є 15 колб, а другою – культивування в інокуляторі на 40 л. Виробниче культивування здійснюється у ферментері на 400 л з вахуванням коефіцієнту заповнення для аерації 0,6.

РОЗДІЛ 4

БІОСИНТЕЗ ЦІЛЬОВОГО ПРОДУКТУ

4.1. Шляхи катаболізму молочної сироватки у *S. thermophilus*

Як біологічний агент було обрано штам *S. thermophilus* 95/2. Основним джерелом поживних речовин у цього мікроорганізму виступає молочна сироватка. З цього можна зробити висновок, що основним джерелом вуглецю є лактоза [4].

На жаль, в Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes відсутня схема катаболізму *S. thermophilus* 95/2. Отже, зазначити всі особливості цього шляху за цим штамом ми не маємо можливості. Тому схема буде продемонстрована за штамом *S. thermophilus* S9.

Важливо зазначити, що в штаму *S. thermophilus* S9 відсутній фермент (КФ 3.2.1.108), який перетворює лактозу на глюкозу. Але, присутня бета-галактозидаза (КФ 3.2.1.23), яка трансформує лактозу в галактозу. Для вищенаведеного штаму характерний шлях гліколізу. Тож, схему катаболізму зазначеного ростового субстрату продемонстровано на рис.4.1.

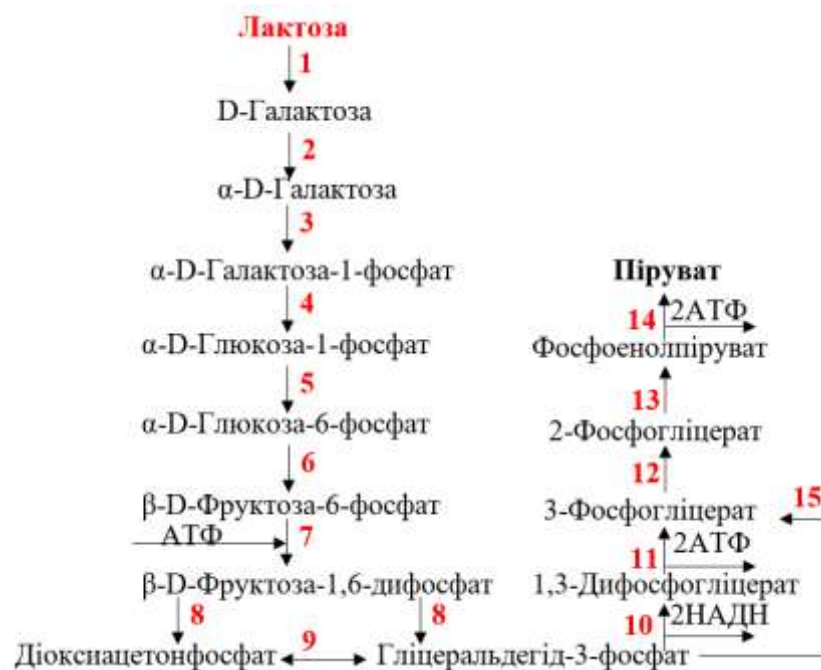


Рис.4.1. Катаболізм лактози. Шлях Ембдена-Мейєргофа-Парнаса (KEGG)

					<i>НУХТ БТЕК 04.01.11 КР ПЗ</i>			
		№ докум.	Підпис					
Розроб.	Бойко В.Я.				РОЗДІЛ 4 БІОСИНТЕЗ ЦІЛЬОВОГО ПРОДУКТУ	Літ.	Арк.	Аркушів
Перевір.	Грегірчак Н.М.						36	116
Реценз.						<i>Кафедра БТМ</i> - -		
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).

Перший етап перетворення лактози в галактозу вже було зазначено вище. Далі, галактоза залучається до наступної реакції, під дією галактозної мутаротози (КФ 5.1.3.3) утворюється D-галактоза, з якої, за допомогою галактокінази (КФ 2.7.1.6) одержують α -D-галактозу. Ця сполука трансформується в D-галактозо-1-фосфат в присутності галактозо-1-фосфат уридилілтрансферази (КФ 2.7.7.12). D-глюкозо-1-фосфат одержують з попередньої речовини при дії фосфоглюкомутази (КФ 5.4.2.2). З неї отримують D-глюкозо-6-фосфат, першу сполуку з «класичного» шляху гліколізу. Для цього застосовується фермент глюкозо-6-фосфат ізомераза (КФ 5.3.1.9). Фосфофруктокіназа (КФ 2.7.1.11) наступною вступає в реакції та утворює D-фруктозо-6-фосфат. З цієї сполуки одержуються 2 речовини, під дією фруктозодифосфат альдолази (КФ 4.1.2.13) синтезується діоксиацетонфосфат та гліцеральдегід-3-фосфат. Останню речовину також можна одержати з діоксиацетонфосфату за допомогою тріозофосфат ізомерази (КФ 5.3.1.1).

Подальший шлях синтезу продовжується через гліцеральдегід-3-фосфат, а наступним ферментом в цій ланці виступає гліцеральдегідфосфатдегідрогеназа (КФ 1.2.1.12), після дії якої утворюється 1,3-дифосфогліцерат. З нього, під впливом фосфогліцерат кінази (КФ 2.7.2.3) синтезується 3-фосфогліцерат. Він також може синтезуватись з гліцеральдегід-3-фосфату через фермент гліцеральдегід-3-фосфатдегідрогенази (НАДФ+) (КФ 1.2.1.9). Після 3-фосфогліцерату починає функціонувати фермент фосфогліцератмутаза (КФ 5.4.2.11) та одержується 2-фосфогліцерат. З нього, за допомогою енолази (КФ 4.2.1.11), утворюється

фосфоенолпіруват, з якого одержується кінцевий продукт гліколізу – піруват. Остання реакція відбувається під дією піруваткінази (КФ 2.7.1.40).

4.2. Біотрансформація молочної сироватки у біомасу *S. thermophilus* 95/2

Кінцевим продуктом синтезу є біомаса *S. thermophilus*. Зважаючи на це, необхідно зазначити синтез всіх необхідних компонентів, з яких вона складається. Сюди входять білки, жири, нуклеїнові кислоти, пептидоглікан та ліпополісахариди (компоненти клітинної стінки).

Доречно зауважити, *S. thermophilus* є молочнокислою бактерією, а вони, як відомо, є метаболічними інвалідами. Тобто, ферментний комплекс мікроорганізму не може повністю забезпечити її потребу в поживних речовинах для конструктивної побудови клітини. Тому, цей фактор враховано в загальній схемі біотрансформації лактози в біомасу нашого біологічного агента (рис.4.2).

Як видно зі схеми, ЦТК є неповноцінним, його взагалі важко назвати циклом саме в цьому випадку. Але, деякі ферментні системи таки дозволяють поновлювати певні проміжні речовини. Так, наприклад, фумарат синтезується під час синтезу аргініну, під дією ферменту аргініносукцинат ліази (КФ 4.3.2.1).

Важливою речовиною для синтезу великої кількості амінокислот є саме оксалоацетат. Дану речовину навряд чи поновлює поживне середовище, але слід звернути увагу на те, що вихідною (найпершою та останньою) амінокислотою є аспартат. Дану субстанцію бактерія як раз таки може одержати через поживне середовище. А оскільки, подальший біосинтез триває саме по ньому, ензими дозволяють перетворювати його на інші необхідні компоненти для побудови клітини.

Амінокислоти, які не синтезуються в клітини, це – лізин, аспарагін, аспартат, гістидин, тирозин та фенілаланін. Крім цього, зауважимо, що деякі шляхи біосинтезу амінокислот, а також деяких речовин, продемонстровано скорочено. Окремо потрібно зазначити про відсутність анаплоретичних реакцій, по тій самій причині, яка є характеристикою всіх молочнокислих бактерій.

Оскільки біосинтез відбувається на тому ж самому середовищі, яке застосовують для катаболізму, схема гліколізу залишається незмінною, та є співставною з рис. 4.1.

Як було вже зазначено, ЦТК є неповноцінним, але, деякі його елементи бактерія таки здатна синтезувати. Ацетил-КоА утворюється з пірувата за допомогою 2 ферментів – піруват дегідрогенази та дигідроліпоамід ацетилтрансферази (16, КФ 1.2.4.1, КФ 2.3.1.12). Після чого, під дією цитрат синтетази (17, КФ 2.3.3.1) утворюється цитрат, з якого, після впливу аконітат дегідратази (18, КФ 4.2.1.3), утворюється ізоцитрат. З цієї речовини утворюється останній інтермедіат даного циклу, а саме 2-оксалоглутарат, за допомогою ізоцитрат дегідрогенази (КФ 1.1.1.42).

Подальший опис схему буде представлено скорочено, але за порядком пронумерованих ферментів.

Ліпополісахариди: УДФ-глюкозо-1-фосфат уридилілтрансфераза (21, КФ 2.7.7.9), УДФ-глюкоза 4-епімераза (22, КФ 5.1.3.2).

Пептидоглікан: глутамін-фруктозо-6-фосфат трансаміназа (23, КФ 2.6.1.16), фосфоглюкозамінмутаза (24, КФ 5.4.2.10), глюкозамін-1-фосфат N-ацетилтрансфераза (25, КФ 2.3.1.157), біфункціональна УДФ-N-ацетилглюкозамінпірофосфорилаза (26, КФ 2.7.7.23), УДФ-N-ацетилглюкозамін 1-карбоксивінілтрансфераза (27, КФ 2.5.1.7), УДФ-N-ацетилмураматдегідрогеназа (28, КФ 1.3.1.98).

Утворення нуклеїнових кислот: транскетолаза (29, КФ 2.2.1.1), рибулозофосфат-3-епімераза (30, КФ 5.1.3.1), рибоза 5-фосфат ізомераза А (31, КФ 5.3.1.6), рибозо-фосфат пірофосфокіназа (32, КФ 2.7.6.1), амідифосфорибозилтрансфераза (33, КФ 2.4.2.14), фосфорибозиламін-гліцинлігаза (34, КФ 6.3.4.13), фосфорибозилгліцинамідформіл трансфераза 1 (35, КФ 2.1.2.2), фосфорибозилформілгліцинамідин синтаза (36, КФ 6.3.5.3), фосфорибозилформілгліцинамідин циклолігаза (37, КФ 6.3.3.1), 5-(карбоксиаміно)імідазол рибонуклеотидсинтаза (38, КФ 6.3.4.18), , фосфорибозиламіноімідазол-сукцинокарбоксамідсинтаза (39, КФ 6.3.2.6),

аденілосукцинат ліаза (40, КФ 4.3.2.2), фосфорибозиламіноимідазолкарбоксамідформил трансфераза (41, КФ 2.1.2.3), ІМР циклогідролаза (42, КФ 3.5.4.10).

АТФ: 5'-нуклеотидаза (43, КФ 3.1.3.5), аденозин деаміназа (44, КФ 3.5.4.4), УДФ-цукродифосфатаза (45, КФ 3.6.1.45), аденілаткіназа (46, КФ 2.7.4.3), нуклеозид-дифосфат кіназа (47, КФ 2.7.4.6).

ГТФ: ІМР дегідрогеназа (48, КФ.1.1.1.205), ГМФ-синтаза (49, КФ.6.3.5.2), гуанілат кіназа (50, КФ.2.7.4.8), апіраза (51, КФ.3.6.1.5).

ЦТФ та УТФ: аспартат-карбамоїл трансфераза (87, КФ.2.1.3.2), дигідрооротаза (88, КФ.3.5.2.3), дигідрооротат дегідрогеназа (НАД+) (89, КФ.1.3.1.14), уридинмонофосфат синтетаза (90, КФ.2.4.2.10), уридинмонофосфат синтетаза (891, КФ.4.1.1.23), УМФ-ЦМФ кіназа (92, КФ.2.7.4.14), нуклеозид-дифосфат кіназа (93, КФ.2.7.4.6), ЦТФ-синтаза (94, КФ.6.3.4.2).

Утворення амінокислот:

Фенілаланін, тирозин та триптофан: 3-дезоксид-7-фосфогептулонатсинтаза (52, КФ 2.5.1.54), 3-дегідрохінатсинтаза (53, КФ 4.2.3.4), хоризматсинтаза (54, КФ 4.2.3.5), хоризмат мутаза (55, КФ 5.4.99.5), префенатдегідратаза (56, КФ 4.2.1.51), антранілатсинтаза компонент I (57, КФ 4.1.3.27), альфа-ланцюг триптофансинтази (58, КФ 4.2.1.20), бета-ланцюг триптофансинтази (59, КФ 4.2.1.20).

Аспартат, аспарагін, лізин, метіонін, треонін, ізолейцин: аспартат-аміачна лігаза (106, КФ.6.3.1.1), аспартат кіназа (60, КФ. 2.7.2.4), аспартат-семіальдегід дегідрогеназа (61, КФ.1.2.1.11), гомосерин дегідрогеназа (62, КФ.1.1.1.3), гомосеринкіназа (63, КФ.2.7.1.39), треонін синтаза (64, КФ.4.2.3.1), L-треонін аміак-ліаза (65, КФ.4.3.1.19), лейцин дегідрогеназа (66, КФ.1.4.1.9), гомосерин О-ацетил трансфераза (67, КФ. 2.3.1.31), цистатіонін-гамма-синтаза (68, КФ.2.5.1.48), гомоцистеїн S-метил трансфераза (69, КФ.2.1.1.10).

Серин, цистеїн, гліцин: 3-фосфогліцерат дегідрогеназа (70, КФ.1.1.1.95), фосфосерин аміотрансфераза (71, КФ.2.6.1.52), фосфосерин фосфатаза (72,

КФ.3.1.3.3), цистеїнсинтаза (74, КФ 2.5.1.47), триптофан синтаза (73, КФ.4.2.1.20).

Аланін, валін, лейцин: аланін-синтезуюча трансаміназа (20, КФ 2.6.1.2), ацетолактат синтаза (75, КФ.2.2.1.6), дигідроксикислотна дегідратаза (76, КФ.4.2.1.9), амінокислота амінотрансфераза з розгалуженим ланцюгом (77, КФ 2.6.1.42), лейцин дегідрогеназа (78, КФ.1.4.1.9), 2-ізопропілмалат синтаза (79, КФ.2.3.3.13), лейцин трансаміназа (80, КФ.2.6.1.6).

Глутамат, глутамін, аргінін, пролін: аланін-синтезуюча трансаміназа [81, КФ 2.6.1.2), глутамін синтетаза (82, КФ.6.3.1.2), глутамат-5 кіназа (83, КФ.2.7.2.11), глутамат-5-семіальдегід дегідрогеназа (85, КФ.1.2.1.41), піролін-5-карбоксилат редуктаза (86, КФ.1.5.1.2), ацетилорнітинінамін трансфераза (95, КФ.2.6.1.11), аміноацилаза (96, КФ.3.5.1.14), орнітин-карбамоїл трансфераза (97, КФ.2.1.3.3), аргініносукцинат синтаза (98, КФ.6.3.4.5), аргініносукцинат ліаза (99, КФ.4.3.2.1),

Гліколіпіди, фосфоліпіди та жирні кислоти:

Гексадеканоїл-АПБ: ацетил-КоА карбоксилаза карбокситрансфераза субодиниця альфа (100, КФ 6.4.1.2), S-малонілтрансфераза (101, КФ 2.3.1.39), 3-оксоацил синтаза II (102, КФ 2.3.1.179), 3-оксоацил редуктаза (103, КФ 1.1.1.100), 3-гідроксиацил дегідратаза (104, КФ 4.2.1.59), транс-2-еноїл-КоА редуктаза (105, КФ. 1.3.1.38).

РОЗДІЛ 5

ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ

5.1. Обґрунтування доферментаційних процесів та виробничого біосинтезу

5.1.1. Обґрунтування способу культивування і типу ферментера

Спираючись на вищенаведену характеристику можна зробити аналіз умов та способу культивування. Наш продуцент – факультативний анаероб, а тому може рости як з киснем так і без. Більш доцільним буде аераційне культивування, оскільки безкисневі умови передбачають використання інертних газів, які постійно потрібно закуповувати, в той час звичайне повітря можливо відбирати з атмосфери та готувати для промислового культивування [48].

Оптимальним рН для культивування нашого біологічного агента вважається рН 6.0 - 6.5. Потрібно також врахувати, що основним компонентом вуглецевого живлення в нашому випадку є молочна сироватка, тобто лактоза. Як було зазначено вище, *S. thermophilus* синтезують молочну кислоту на цій речовині, а отже рівень рН буде знижуватись, тому слід врахувати та приготувати лужний титрант для врівноваження цього значення та нагального культивування [48].

Стосовно перемішування, культура не потребує високих обертів. Оптимальною швидкістю мішалки для *S. thermophilus* вважається 200 об/хв. Такий рівень можна забезпечити звичайною лопатевою мішалкою, оскільки потреби у високих обертах немає [49].

Оптимальним рівнем температури вважається 37 °С. За такого режиму може рости велика кількість мезофільних біологічних агентів. Тому, існує потреба у створенні стерильних умов культивування. Тим паче, що нашим цільовим продуктом є біомаса *S. thermophilus*.

S. thermophilus найчастіше за все культивують періодичним способом культивування, оскільки безперервний має ряд недоліків. До них можна віднести

					<i>НУХТ БТЕК 04.01.11 КР ПЗ</i>		
		№ докум.	Підпис				
Розроб.	Бойко В.Я.			РОЗДІЛ 5 ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ	Лім.	Арк.	Аркушів
Перевір.	Грегірчак Н.М.					43	116
Реценз.					<i>Кафедра БТМ</i>		
Н. Контр.							
Затверд.	Стабніков В.П.						

вимивання поживного середовища, яке було спожито не повністю, а також можливу втрату цільового продукту. Тому, залишаємось на періодичному методі.

Для молочнокислих бактерій використовувати поверхневий спосіб біосинтезу недоцільно. Дані мікроорганізми культивуються виключно глибинно, тому обираємо саме цей метод.

За нашим аналізом можна зробити певну збірку, яким має бути ферментер. Апарат має бути оснащений сорочкою – для підтримки оптимальної температури. Окрім цього, для її контролю має бути присутній датчик температури. Також, обладнання повинно мати датчики рівню рН та швидкості перемішування мішалки. Стосовно останнього, ферментер повинен мати можливість підключення лопатевої мішалки. Об'єм ферментеру має становити 400 л. Тож, за цими параметрами обираємо наш біологічний реактор.

Гарним варіантом може бути ферментер від компанії Eppendorf North America на 400 л BioFlo® Pro. Його зображення показано на рис. 5.1 [50].



Рис.5.1. BioFlo® Pro [50]

Даний апарат має датчики повітря. Конструкція передбачає подвійні входні повітряні фільтри, що дозволяє досягнути ще вищого рівня асептики. Також, оснащений додатковими портами для перевірки цілості апарата. Має

можливість підключення кількох типів мішалок. Має клапан для стерильного відбору проб. Комп'ютерна система аналізує температуру, рН, рівень аерації та кількість обертів в ферментері. Оснащений подвійною сорочкою для холодоагента та гарячого повітря. Може культивувати як аеробні так і анаеробні культури [50].

5.1.2. Обґрунтування вибору стадії підготовки аераційного повітря

S. thermophilus може рости в присутності кисню і виживати при низьких концентраціях H_2O_2 . Стосовно нашого штаму, в статті вказано, що ферментацію проводять за кисневих умов. Це дає підставу на підготовку аераційного повітря [4, 51].

Використання волокнистих і пористих матеріалів забезпечує економічну та ефективну очистку повітря. Таким чином отримують повітря з чистотою 99,99%. Частинки повітря затримуються у волокнистих матеріалах завдяки інерційному та дифузійному механізмам осадження [52].

Кожен механізм осадження має різні характеристики, і зазвичай перевага надається тому чи іншому, що вимагає використання фільтрувальних матеріалів з різною структурою [52].

Попередня груба фільтрація повітря здійснюється за допомогою пакетного фільтра з волокнистого матеріалу. Головний фільтр наповнений грубими волокнами і видаляє приблизно 95% забруднюючих мікроорганізмів. Індивідуальні фільтри заповнені ультратонкими волокнами або мембранами, які видаляють решту 2% забруднень. Основними вимогами до фільтрувальних волокон є висока пилоємність і здатність ефективно працювати при низькому перепаді тиску до і після фільтра [52].

Як фільтр грубого очищення пропонується обрати рулонні повітряні фільтроматеріали класу чистоти G4. Таке рішення дозволить закуповувати даний матеріал на постійній основі навіть при зміні геометричного корпусу загального фільтра. Дані фільтри виробляються з висококласних синтетичних волокон 100% поліестера, виконаним термальним скріпленням при температурі понад 100 °C. Через свою структуру, фільтр класу G4 гарантує високу місткість і результативність очищення повітря [53].

Для головного фільтру пропонується обрати фільтр класу чистоти F9. Кишеньковий фільтр цього класу має стійкість до вологи до 100%. Фільтри витримують температуру повітря до 80°C. Головна перевага кишенькового фільтра - площа фільтрації. Чим більше площа кишень фільтра для вентиляції, тим кращою є фільтрація і тим менший перепад тиску припливної вентиляції [54].

Стосовно індивідуальних фільтрів пропонується обрати фільтри типу HEPA з класом чистоти H14. Це сучасні бактерицидні фільтри, HEPA фільтри для вентиляції які забезпечують надтонке очищення повітря, затримуючи мікрочастинки розміром до 0,3 мкм. Даний клас чистоти забезпечує ефективність фільтрації до 99,995%. Види рамок для фільтрів вентиляції: МДФ, пластик, екструдований алюміній, сталева плита з порошковим покриттям, оцинкована сталь. Фільтр ультратонкого очищення HEPA не пропускає навіть найдрібніші частки. Подібного розміру найчастіше бувають такі забруднення: бактерії, туман (масляний, сольовий), хімічні аерозолі, пил від шліфування, порошкова фарба, лужний конденсат, зварювальний дим, кислоти та ін [55].

5.1.3. Вибір мийних та дезінфікуючих засобів

Дезінфектанти - це речовини, які забезпечують видалення або інактивацію патогенних мікроорганізмів, особливо коли об'єкти обробляються з метою знищення патогенів або зменшення їхньої кількості. Для цього використовуються хімічні розчини, до яких пред'являються такі основні вимоги [56]:

- Високоєфективний проти різних видів мікроорганізмів;
- Низька токсичність та алергенність для людини;
- Нешкідливий для навколишнього середовища;
- Хороша розчинність у воді;
- Нешкідливий для об'єктів, що обробляються;
- Зручність у використанні;
- Тривалий термін зберігання без втрати активності; тривалий термін зберігання

Також існують додаткові вимоги, які мають більше рекомендаційний характер. До них відносяться наступні положення [56]:

- Можна використовувати без засобів захисту;
- Повинні мати миючі властивості;
- Можна чистити та відбілювати.

Сучасні дезінфекційні засоби - це багатокомпонентні композиції, що складаються з активних компонентів і допоміжних речовин, які забезпечують досягнення поставленої мети. За хімічними властивостями діючих речовин вони належать до таких груп хімічних сполук: альдегідовмісні, галогеновмісні, кисневмісні, поверхнево-активні, спиртовмісні, фенолвмісні, лужні та кислотні. Кожна група дезінфекторів має свої переваги і недоліки, які повинні визначати ефективний діапазон використання [57].

Найбільш широко в сучасній дезінфекції використовуються поверхнево-активні речовини (ПАР), особливо четвертинні амонієві сполуки (ЧАС) і галогеновмісні речовини (переважно хлоровмісні); перевагами ЧАС є низька токсичність, сприятливі фізико-хімічні та екологічні властивості, миюча здатність і стабільність продукту і робочого розчину, простота приготування; недоліками - відсутність спороцидної дії і недостатньо виражена віруліцидна і туберкулоцидна активності. Препарати на основі алкіламінів за спектром антимікробної дії близькі до препаратів на основі альдегідів, дещо менш токсичні для людини і мають добрі фізико-хімічні властивості [57].

Гуаніди мають низьку токсичність і взагалі є нелеткі, але їхні віруліцидні та туберкулоцидні властивості недостатні, порівняно з іншими групами дезінфекторів. Їх здатність утворювати плівку на об'єктах дезактивації сприяє пролонгації цього ефекту, але є неприйнятною для високотехнологічних об'єктів знезараження [57].

Хлоровмісні речовини є найдешевшими і мають досить широкий спектр антимікробної дії. Але їх фізико-хімічні властивості небажані, оскільки вони мають виражену подразнюючу дію на слизові оболонки очей або верхніх дихальних шляхів, а іноді є дія, що сприяє пошкодженню об'єкта знезараження [57].

Альдегідовмісні продукти універсальні за спектром антимікробної дії та стабільні під час зберігання, але водночас високотоксичні [57].

Кисневмісні продукти мають очевидну бактерицидну, віруліцидну, фунгіцидну та спороцидну дію, але мають погані фізико-хімічні властивості та недостатню стабільність при зберіганні [57].

Спиртовмісні засоби швидко діють, але також швидко випаровуються, тому їх варто використовувати для дезінфекції дрібних предметів і важкодоступних частин обладнання та техніки. Хімічні засоби на основі фенолу, кислоти та луги залишилися в минулому [57].

На цьому етапі оптимальним є використання фунгіцидів на основі ЧАС, а також алкіламінів, гуанінів, спиртів, пероксидів та альдегідів [57].

Сьогодні в Україні було зареєстровано більше 400 власне дезінфекційних засобів (з них лише 22 % вітчизняного виробництва), які у переважній більшості являють собою багатофункціональні композиції, що складаються з діючих та допоміжних речовин [57].

Асортимент дезінфекційних засобів є достатнім у кількісному складі і достатньо різноманітним у якісному відношенні. В умовах можливості раціонального вибору дезінфекційних засобів слід відходити від практики виправданого широкого застосування універсальних за спектром протимікробної дії препаратів, а надавати перевагу найбільш придатним за своїм призначенням дезінфектантам [57].

Для правильного та обгрунтованого вибору дезінфікувальних засобів маємо використовувати інформацію з Державного реєстру дезінфікувальних засобів на 2020 рік [58]. Оскільки для нашого виробництва передбачено 300 робочих трудоднів, потрібно передбачити щонайменше 3 засоби дезінфекції, які в своєму складі як основний інгредієнт має різні сполуки. Такий підхід дозволить зменшити ризик появи резистентності забруднюючих бактерій виробництва.

Порівняння різноманітних засобів для дезінфекції, які ми будемо використовувати на запропонованому біотехнологічному виробництві, продемонстровано в табл.5.1.

Таблиця 5.1.

Порівняння різних дезінфікуючих засобів

Тип активної сполуки	Назва засобу	Вартість за 1 л, грн	Діючі речовини	Концентрація робочого розчину	Вартість 1 літра робочого розчину, грн	Джерело
ЧАС	МІРОДЕЗ	280	комплекс ЧАС, гліюксаль, синергисти біоцидів	0,5	1,4	[59]
	Септадор-Форте	1170	суміш ЧАС – 37,5%, глутаровий альдегід – 12,5%	0,5	5,85	[60]
	Ласепт 344-М	400	додецилбіспропілен тріамін – 10 %, алкілдиметилбензіламмоніум хлорид -13%, дидецилдиметиламмоніум хлорид – 7 %	0,5	2,0	[61]
Альдегіди	STERANIOS 20 %	1765	глутаровий альдегід - 18,0-22,0 %	0,5	8,82	[62]
	Фамідез форте	590	формальдегід - 7,6% глутаровий альдегід - 4,5 %	0,5	2,95	[63]
	Клиндезин ОПА плюс	370	ортофталевий альдегід - 0,6 %	0,3	1,11	[64]
Органічні кислоти	Секусепт® актив	900	Надоцтова кислота - 10%	1	9	[65]
	ЕСТЕР ДЕЗ	150	надоцтова кислота до 16,0%; перекис водню 16,0-26,0%; оцтова кислота 12,5-20,5%	0,1	0,15	[66]
	Дезосепт Форте	396	надоцтова кислота 15-18%, перекис водню – 15%	0,15	0,6	[67]

Примітка: ціни наведено станом на лютий 2023 року

Спираючись на таблицю 5.1. маємо обрати 3 дезінфекційні засоби різними активними діючими речовинами. Першою групою було розглянуто препарати на основі ЧАС. Концентрації робочих розчинів є однаковими, що дає можливість оцінити робочі розчини за ціною. Найменша вартість відмічається у МІРОДЕЗ. Тому, використання цього засобу є просто економічно вигідним, серед усіх інших препаратів з такою самою діючою речовиною. Також, варто зауважити наявність альдегіду в Септадор-Форте. Оскільки наступною групою було розглянуто саме препарати на основі альдегідів, використовувати саме цей препарат в нашому випадку – недоцільно. Тому, залишаємо наш вибір на МІРОДЕЗ.

Серед альдегідних дезінфікувальних засобів найнижча концентрація робочого розчину притаманна Клиндезин ОПА плюс. При цьому, цей же препарат має найдешевшу вартість за 1 л, а також за літр робочого розчину. Найбільша вартість притаманна STERANIOS 20 %, тому його використання для виробництва – економічно недоцільне. Фамідез форте також не варто використовувати, оскільки він майже вдвічі дорожче за Клиндезин ОПА плюс.

Серед дезінфікувальних розчинів, які в своєму складі використовують органічні кислоти, найбільш економічно вигідний це ЕСТЕР ДЕЗ, оскільки 1 літр робочого розчину коштує всього 15 копійок. Другим по вартості цього ж розчину йде Дезосепт Форте. В нього доволі подібний склад щодо ЕСТЕР ДЕЗ, проте він дорожчий на 45 копійок. Самий невідповідний серед усіх зазначених дезінфектантів виявився Секусепт® актив, за 1 літр робочого розчину потрібно буде заплатити 9 гривень, це найвища вартість за будь який із зазначених дезінфектантів з табл.5.1

Тому, за кінцевим порівнянням пропонується обрати МІРОДЕЗ, Клиндезин ОПА плюс та ЕСТЕР ДЕЗ.

Варто зазначити, що на промислових виробництвах для миття обладнання часто використовується СІР система. Переваги використання станції СІР [68]:

- промивну воду можна використовувати повторно;
- Автоматичне підтримання концентрації, температури та тривалості миючого розчину
- Вбудована функція відведення миючого розчину;

- Можливість автоматичного та ручного керування;
- Індивідуальні програми очищення в залежності від об'єкта, що очищається;
- Функція зворотного зв'язку з об'єктом, що очищається;
- Можливість модернізації для додавання контурів очищення та опцій;
- Можливість нейтралізації миючого розчину;
- Економне споживання пари завдяки системі рекуперації тепла;
- Мінімізація впливу людського фактору;
- Економічна витрата миючого засобу завдяки контролю провідності миючого розчину і води при виведенні з контуру очищення;
- Ефективність (низьке споживання води, електроенергії та пари; висока якість прання);
- Надійність і простота використання;
- Повністю автоматичні та комп'ютерно керовані параметри;

Очищення SIP працює за принципом циркуляції миючого розчину за попередньо визначеною програмою залежно від обраного об'єкта. Оператор може вибрати необхідну програму очищення зі списку і навіть змінити деякі операції та процедури. Програма управління забезпечує приготування миючого розчину, його подачу на об'єкти, що очищаються, збір миючого засобу, а також підтримання концентрації і температури відповідно до параметрів, заданих в автоматичному режимі[68].

Процеси мийки складаються з виконуваних послідовно операцій або їх циклів [68]:

- Видалення залишків культуральної рідини;
- Попереднє ополіскування обладнання.
- Рециркуляція розчину для промивання;
- Проміжкове ополіскування обладнання;
- Рециркуляція засобу для миття (за потреби);
- Провторне проміжкове ополіскування;
- Дезінфекція

- Кінцеве ополіскування

Ефективний миючий засіб має володіти такими властивостями [68]:

- Здатність розчиняти органічні речовини та переводити білки і жири в розчинну форму;

- Диспергуюча та суспендує здатність: здатність суспендувати нерозчинні забруднення та запобігати їх повторному прилипанню до очищених поверхонь;

- Емульгуюча здатність: утримує жири та олії в миючих розчинах у вигляді емульсій або дисперсій

- Комплексоутворююча здатність: утворює водорозчинні хелатні комплекси (наприклад, кальцію і магнію у жорсткій воді), забезпечуючи таким чином очищувальну дію;

- Здатність до змочування: зменшує поверхневий натяг, дозволяючи миючим засобам проникати до фактичного забруднення; і

- Здатність змиватися: здатність повністю видаляти плями і не залишати слідів бруду або миючого засобу на поверхні, що очищається.

Дезінфекція обладнання є складним і трудомістким завданням, на яке припадає до 25% робочого часу. Погані практики очищення та дезінфекції, недотримання особистої гігієни персоналу та використання обладнання, інвентарю і тари, які не відповідають гігієнічним і санітарним вимогам, можуть призвести до зниження якості продукції, мікробного та хімічного забруднення, а також до поширення кишкових інфекцій і харчових отруєнь (для кінцевих продуктів, що використовуються в харчовій промисловості) [69].

Для очищення технічного обладнання компанії використовують як окремі хімічні речовини (луги та кислоти), так і миючі засоби зі складними хімічними сумішами: Багатокомпонентні системи, що складаються з 5-10 компонентів (всього використовується більше 100 компонентів), серед яких, як правило, важливу роль відіграють поверхнево-активні речовини з миючим, емульгуючим і змочувальним ефектом, дезінфікуючі, дезінфікуючі та катіонні поверхнево-активні речовини, які також є агентами [69].

Після санітарної обробки, з врахуванням важливості того, що обладнання буде використовуватись і в подальшому на виробництві, запроваджено конкретні вимоги щодо безпечного використання миючих засобів [69]:

- Всі препарати повинні мати висновок державної санітарно-епідеміологічної експертизи центрального органу виконавчої влади у сфері охорони здоров'я для використання в заявлених сферах;

- Всі миючі та чистячі засоби підлягають обов'язковій сертифікації та вимагають наявності сертифікату відповідності;

- Кожна партія продукції повинна супроводжуватися документами, що підтверджують якість продукції;

- Водні розчини миючих засобів певних концентрацій повинні гарантувати абсолютну чистоту оброблюваних поверхонь за фізико-хімічними та мікробіологічними показниками;

- Миючий засіб та його компоненти повинні бути ретельно змиті з оброблюваної поверхні;

- Миючі засоби не повинні містити наркотичних, алергенних, канцерогенних та мутагенних компонентів у концентраціях, з якими можуть контактувати працівники;

- Миючі засоби не повинні змінювати фізичні та хімічні властивості оброблюваного продукту;

- Миючі засоби не повинні мати руйнівного впливу на матеріали обладнання;

- Кожен засіб має інструкцію із застосування, положень якої необхідно суворо дотримуватися;

- Миючі засоби повинні бути стабільними при зберіганні і зручними у використанні;

- Приготування миючих розчинів та гігієнічна обробка обладнання повинні здійснюватися спеціально навченим персоналом.

Миючі засоби являють собою окремі хімічні речовини або складні суміші хімічних речовин з поверхнево-активними речовинами й речовинами, що

викликають піногасіння. Доцільно застосовувати складні суміші, оскільки вони мають ширший спектр дії й справляють кращий миючий ефект. Вимоги, які висувають до миючих засобів при підборі, полягають у наступному. Вони не повинні шкідливо впливати на організм людини, мати високу корозійну активність і повинні забезпечувати абсолютну чистоту устаткування. Забруднення, що залишаються на встаткуванні після закінчення технологічного процесу, являють собою складні білково-жиро- мінеральні сполуки. Саме тому як миючі засоби, що розчиняють усі складові забруднення, застосовують лужні й кислотні речовини. Білки й жири гідролізуються й змиваються лугами, а мінеральні речовини розчиняються й видаляються з поверхні устаткування кислотами [70].

Лужні миючі засоби використовуються окремо або в поєднанні з іншими хімічними речовинами і в основному містять гідроксид натрію (каустичну соду) та його солі: карбонат натрію (кальциновану соду), силікат натрію і тетрасилікат натрію (рідке скло), які входять до складу багатьох миючих засобів, а також фосфати, такі як гексаметафосфат натрію і триполіфосфат натрію, які мають поверхнево-активні і водопом'якшувальні властивості і містяться в багатьох синтетичних миючих засобах [70].

До кислотних засобів відносяться в основному азотна кислота, амідосульфонова кислота (сульфамінова), РОМ-ФОС, КСЦ-1. Ці миючі засоби рекомендується використовувати в концентрації 0,4-0,6%. При особливо твердих осадах концентрацію необхідно підвищувати до 0,7-1,5%. Застосовуються також імпортовані концентровані добавки для кислотних миючих засобів [70].

Як окремі миючі засоби, а також у суміші з іншими синтетичними миючими засобами для посилення ефекту при митті устаткування використовують кальциновану й каустичну соду, концентрації яких у водяному розчині мають бути від 2 до 4%. Це свідчить про те, що ані каустична, ані кальцинована сода не досягають високого миючого ефекту у малих концентраціях. Крім того, вони характеризуються поверхнево-активними властивостями, здатністю змочувати й емульгувати [70].

Миючі засоби застосовують у вигляді розчинів, які повинні мати наступні властивості: низький поверхневий натяг; гарна змочувальна, піноутворювальна й емульгуюча здатності; стабілізуюча дія; солубілізація; викликати пептизацію й набрякання білків; справляти гарний миючий ефект і добре змиватися з поверхні устаткування водою. Миючий розчин, стикаючись із забрудненою поверхнею, повинен, насамперед, змочити її. Розтікання краплі рідини на поверхні твердого тіла пов'язане з поверхневим натягом на межі поділу фаз. Якщо сили притягання між молекулами твердого тіла й рідини більше сил притягання між молекулами рідини, то рідина розпливається на поверхні, тобто змочує її [70].

Гарне змочування твердої поверхні миючими засобами залежить від властивостей і температури розчинів, а також від матеріалу змочуваної поверхні. Для підвищення змочувальної здатності миючих розчинів і зниження їхнього поверхневого натягу застосовують також поверхнево-активні речовини, які при розчиненні у воді внаслідок полярності молекул орієнтовано адсорбуються на поверхні поділу рідина-повітря [70].

Отже, спираючись на всю вищенаведену інформацію, маємо вбрати і лужний і кислотний засіб. Лужний виступатиме як засіб постійного миття, а кислотний – лише у випадку, коли лужний засіб не справляється з миттям обладнання (табл.5.2).

Отже, з таблиці 5.2 маємо зробити вибір щодо лужного та кислотного миючих засобів. Стосовно лугів, найдешевший робочий розчин утворюється з ЛОЙРАН ПРО FOAM, а найдорожчий – з ТАНДЕМ ДЕЗ. Варто зазначити, що всі засоби, вказані в даній таблиці – є не пінними, або малопінними. Це пов'язано з тим, що піна буде дуже довго осідати і збільшувати час миття обладнання. А як було сказано раніше, лише цей процес займає щонайменше 25% виробничого часу. Тому, піні засоби використовувати недоцільно.

Спираючись на попереднє порівняння лужних миючих засобів, доцільно обрати ЛОЙРАН ПРО FOAM за його дешевизну та економічність.

Таблиця 5.2

Порівняння миючих засобів

Тип миючого засобу	Назва засобу	Вартість 1 л засобу, грн	Концентрація робочого розчину	Ціна за 1 л робочого розчину, грн	Джерело
Лужний	ЛОЙРАН ПРО ФОАМ	95	0,8	0,76	[71]
	ТАНДЕМ ДЕЗ	122	2	2,44	[72]
	ЭКСАН – ПРО ДЕЗ	140	1	1,4	[73]
Кислотний	Industry-1	300	0,5	1,5	[74]
	CRYSTAL	42,2	0,5	0,21	[75]
	ПРОФІ 151	68,2	1	0,68	[76]

Примітка: ціни наведено станом на лютий 2023 року

Таблиця 5.3.

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
ЛОЙРАН ПРО FOAM	Обладнання	0,8	775	76 475	95	0,76	58121
CRYSTAL	Обладнання	0,5	775	76 475	42,2	0,21	16059,75
МІРОДЕЗ	Стіни, підлога, вікна, двері	0,5	18987,5	1898,75	280	1,4	2658,25
Клиндезин ОПА ПЛЮС	Стіни, підлога, вікна, двері	0,3	18987,5	1898,75	370	1,11	2107,61
ЕСТЕР ДЕЗ	Стіни, підлога, вікна, двері	0,1	18987,5	1898,75	150	0,15	284,81

Стосовно кислотних засобів, варто звернути увагу на CRYSTAL, робочий розчин якого коштує всього 21 копійку з літр. Варто зауважити, що кислотні засоби в принципі всі дешевші ніж лужні. Найдорожчий кислотний агент – це Industry-1, за 1 літр робочого розчину потрібно буде заплатити 1,5 грн. Тому, спираючись на вартість пропонується обрати кислотний миючий засіб CRYSTAL.

Виробництво препарату для одержання закваски з культурою *S. thermophilus* відбувається впродовж 300 днів. Для запропонованого виробництво потрібно підготувати наступне обладнання: ферментер об'ємом 400 л, посівний апарат на 40 л, реактори-змішувачі на 20, 25, 40 та 250 л. Крім обладнання також до роботи готують бокс та лабораторне устаткування, до якого входить: термостат, автоклав, апаратура для проведення різних видів контролю та холодильник, тощо.

Список обладнання та його розміри показано у табл. 5.4.

Таблиця 5.4

Габарити обладнання для виробництва заквашувального препарат на основі біомаси *S. thermophilus*

Обладнання	Геометричний об'єм, л	Діаметр, мм
Збірник 1	25	300
Посівний апарат	40	400
Збірник 2	40	400
Збірник 3	250	1200
Збірник 4	20	250
Ферментер	400	700
Всього	775	

Виробничі потужності включають цех біосинтезу, автоклави, бокси, термостати, холодильники та лабораторію для різних завдань з обладнанням для різних видів контролю.

На рисунку 5.2 наведено приблизний план приміщення для виробництва заквасок на основі біомаси термофільних стрептококів. План враховує діаметр обладнання, відстань між обладнанням (не менше 1 м) та відстань від стін (не менше 1,5 м).

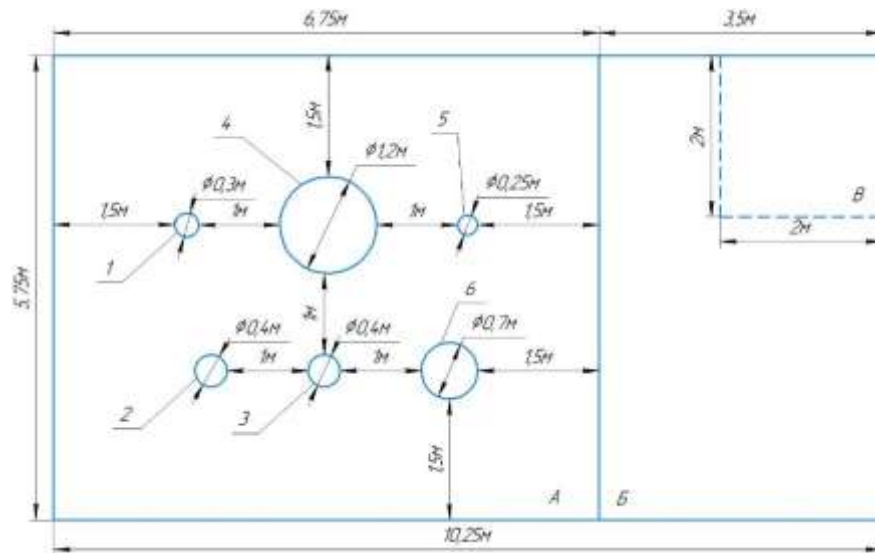


Рис. 5.2. План виробничого приміщення для виробництва закваски на основі *S. thermophilus* для виробництва сметани

А – цех виробничого культивування: 1 – збірник об’ємом 25 л, 2 – посівний апарат об’ємом 40 л, 3 – збірник об’ємом 40 л, 4 – збірник об’ємом 250 л, 5 – збірник об’ємом 20, 6 – ферментер об’ємом 400 л; Б – лабораторія; В – бокс.

Площа цеху виробничого культивування (А) становить $5,75 \times 6,75 = 39 \text{ м}^2$. Площа лабораторії (Б) становить $3,5 \times 5,75 = 20 \text{ м}^2$. Таким чином, загальна площа виробничого приміщення становить $39 + 20 = 59 \text{ м}^2$.

Тепер розрахуємо площу стіни, яку потрібно відмити. З урахуванням висоти стіни, що миється (2,5 м), загальна площа стіни, що миється:

$$((5,75 \times 4) + (10,25 \times 2) + (2 \times 4)) \times 2,5 = 128,75 \text{ м}^2$$

Одержані дані площі приміщень наведено у табл. 5.5.

Таблиця 5.5

Розрахунок загальної площі приміщень для виробництва закваски

Приміщення	Обладнання	Площа приміщення, м ²	Площа стін, м ²
Цех виробничого біосинтезу (А)	Ферментер об’ємом 150 л, інокулятор на 20 л, реактор-змішувач на 10 л та реактор-змішувач на 5 л.	39	80
Лабораторія (Б)	Автоклави, бокс (В), термостати, холодильники, апаратура для проведення контролю, хімічний посуд, та інше.	20	4,75
Всього		59	128,75

На основі наведених вище даних слід розрахувати кількість миючих та дезінфікуючих засобів, необхідних для очищення заводу та обладнання.

Обладнання необхідно чистити та дезінфікувати після кожного виробничого циклу, тобто 437 разів на рік (кількість циклів на рік).

Підлоги необхідно мити та дезінфікувати один раз на день, тобто загалом 300 разів (залежно від кількості робочих днів).

Стіни, двері та вікна миються та дезінфікуються раз на місяць в рамках генерального прибирання. Кількість циклів генерального прибирання має становити 10.

Таблиця 5.6

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	0,775	437	338,675
Підлога	59	300	17700
Стіни, двері, вікна	128,75	10	1287,5

5.1.4. Особливості підготовки та стерилізації поживного середовища

Для ретельної підготовки поживного середовища необхідно його розбити на певні композиції. Їх обирають за температурним режимом, оскільки деякі компоненти не можуть витримати високих температур, а деякі мають стерилізуватись в дуже гарячих умовах. Тому, маємо наступний поділ:

Композиція А: молочна сироватка. Стерилізація проходить при 112 °С, протягом 30 хв.

Композиція Б: кукурудзяний екстракт, казеїновий пептон. Стерилізація проходить при 121 °С, протягом 30 хв.

Композиція В: K₃PO₄. Стерилізація проходить при 131 °С, протягом 40 хв.

Також, важливим моментом є приготування титрувальних агентів, оскільки під час процесу буде синтезуватись молочна кислота. Необхідно передбачити велику кількість лужного титранту – 6-% NaOH, та не дуже велику кількість кислоти – 6-% HCl, у випадку збоїв роботи ферментеру.

5.2. Основні етапи післяферментаційного виділення, концентрування та очищення цільового продукту

Цільовим продуктом запропонованого виробництва є висушена біомаса. Отже, можна виділити 2 основні етапи: відділення осаду від супернатанту а також сушіння одержаної бактеріальної маси.

Відділення біомаси

Процеси відділення, як видалення клітин або клітинних компонентів, так і для збирання клітинних компонентів після руйнування, повинні здійснюватися в обладнанні та приміщеннях, спроектованих таким чином, щоб мінімізувати ризик забруднення [77].

Обладнання для процесів розділення біомаси повинно бути спроектоване таким чином, щоб поверхні, які контактують з сировиною, не змінювали властивості. Обладнання також повинно мінімізувати вплив на активність, клітинну цілісність і кількісний склад бактерій, виділених з поживних середовищ [77].

Для відділення біомаси використовують 4 основні методи. Їх суть та порівняння показано в табл.5.7.

Таблиця 5.7.

Методи відокремлення біомаси від культуральної рідини [77]

Назва методу	Принцип відділення	Переваги застосування	Недоліки технології
Фільтрація	Розділення твердої та рідкої фаз досягається шляхом пропускання суспензії через фільтрувальний матеріал або полімерну сітку з відповідним розміром пор.	Є менш енергоємним	Оскільки частина клітин проходить через пори фільтрувального матеріалу, втрати біомаси є високими.

Флотація	Відділення твердих частинок або частинок іншої рідини від рідкого середовища відбувається шляхом вдування в нього газу.	Вони економічно ефективні та підходять для використання в безперервних процесах.	Великі втрати біомаси
Центрифугування	Процес розділення суспензії на рідку і тверду фази відбувається під дією відцентрових сил, при цьому суспензія проходить через фільтрувальну тканину або металеву сітку, а тверда фаза одночасно затримується.	Можливість автоматизації процесу з меншими втратами біомаси порівняно з фільтрацією та флотацією	Менша ефективність порівняно із сепаруванням
Сепарування	Поділ суспензії на рідку і тверду фази відбувається під дією відцентрових сил при проходженні суспензії через міжтарілчастий зазор сепаратора	Потенціал для автоматизації процесу. Низькі втрати біомаси порівняно з фільтрацією і флотацією та висока ефективність порівняно з центрифугуванням.	Порівняно вищий механічний вплив на клітини

Оскільки наш основний продукт – це біомаса, методи фільтрації та флотації можна вважати недоречними, через високі втрати цінного продукту. Метод сепарації хоча і є більш ефективним за метод центрифугування, але він може механічно впливати на клітини, а одним з найважливіших показників заквасок є кількість життєздатних клітин. Тому, пропонується обрати метод центрифугування, оскільки він не має всіх вищезазначених недоліків, а отже, не буде, або буде мінімально впливати на кінцевий результат якості продукту.

Сушіння біомаси

В загальному, біомасу термофільного стрептокока сушать двома методами: методом конвективного сушіння, або методом ліофілізації. Відзначається, що ступінь виживаності між конвективним та сублимаційним сушінням *S. thermophilus* майже не відрізняється, проте перед цим потрібно вносити захисне середовище, найкращим з яких виявляється сироватко-сахарозний розчин [78].

Найбільше розповсюдження отримали конвективні сушильні установки, які складаються з калорифера, в якому підігрівається повітря, та сушильної камери. Цей тип сушарки має труднощі процесу. Це пов'язано з тим, що тепло, необхідне для випаровування вологи в матеріалі, подається відразу, і повітря швидко нагрівається до відносно високої температури, яка зазвичай є максимально допустимою температурою матеріалу, що висушується. Якщо цю температуру перевищити, матеріал може розкластися або зіпсуватися. У деяких випадках матеріали потрібно сушити в більш м'яких умовах, наприклад, у вологому повітрі або при нижчих температурах. Тому існує цілий ряд варіантів сушильного обладнання. [79]:

- сушарка з частковим підігрівом повітря в сушильній камері;
- сушарка з проміжним підігрівом повітря за зонами;
- сушарка з частковою рециркуляцією відпрацьованого повітря.

Конструктивно конвективні сушилки розподіляють на камерні, тунельні, барабанні, стрічкові, з псевдозрідженим шаром, пневматичні, розпилювальні тощо. Їх ефективність характеризується споживанням газу (8-50 кг) і тепла (3000-5000 кДж) для видалення 1 кг води з ефективністю 20-60% [79].

Сублімаційна сушарка - пристрій призначений для консервування продуктів методом сублімації зневоднення у вакуумі. У цьому методі поєднуються два відомих методи консервування - заморожування і сушіння в вакуумі. При заморожуванні зміни властивостей продукту практичні відсутні, а при сушінні у вакуумі структура, склад і поживні властивості продукту зберігаються в набагато більшій мірі, ніж при консервуванні іншими методами. Процес проходить без застосування будь-яких консервантів або добавок, абсолютно нешкідливий як для навколишнього середовища, так і для продуктів, які йому піддаються. Після сублімації будь-який з продуктів, при додаванні до нього води, практично повністю відновлює свій первісний вигляд, аромат, смак і колір. При використанні герметичної металізованої упаковки продукти сублімації можна зберігати протягом тривалого часу в будь-яких умовах [80].

Сублімації сушіння - це процес сушіння вже замороженого продукту в вакуумі нижче потрійної точки. Завдяки використанню вакууму процес сублімації полегшує пряме перетворення льоду в пар, пропускаючи проміжну рідку фазу. Тому цей процес сушіння дуже щадний і допомагає зберегти форму, колір, смак і поживні речовини продукту [80].

Проте, метод ліофілізації має 2 суттєві недоліки перед конвективним сушінням. Перший – це обов'язкова ручна загрузка до апарату. Даний недолік проявляється у тому випадку, коли сушать суспензію, яку можна насосом атоматично подати до розпилювальної конвективної сушарки. Другий і самий основний – ліофілізація – це дуже дорогий процес. При застосуванні цього методу продукція одразу здорожчується в декілька разів, що є небажаним варіантом. Тому, пропонується обрати саме конвективне сушіння, з попереднім внесенням захисного середовища.

Отже, для одержання сухої біомаси термофільного стрептокока необхідно виконати наступні етапи:

- відділення біомаси центрифугуванням;
- додавання захисного середовища до біомаси;
- конвективне сушіння біомаси.

5.3. Пропозиції щодо підбору обладнання для реалізації післяферментаційних процесів

Центрифугування

Важливими параметрами центрифугування є сама швидкість обертання ротора, а також об'єм культуральної рідини, який необхідно відокремити. Для відокремлення біомаси *S. thermophilus* універсальна одиниця сили центробіжної сили ротора складає 6000 g [78]. Як було вказано раніше, за 1 цикл утворюється 223 л культуральної рідини. Оскільки об'єм дуже великий, варто розглядати центрифуги проточного типу.

Американська компанія CARR BIOSYSTEM представляє собою одного з найголовніших закордонних провідних фірм-виробників проточних центрифуг на будь-який смак. Щоб забезпечити наші потреби, достатньо використовувати

центрифугу Powerfuge P12. Сила ротора цього апарату має максимальне значення в 20000 g. Апарат може підключатися до СІР мийки, а за потреби – і стерилізуватися. Продуктивність – 500 л/год. Саму центрифугу виконану з нержавіючої сталі класу 316L, 17-4 PH та Nitronic 60 [81]. Зображення апарату наведено на рис.5.3.



Рис.5.3. Powerfuge P12 [81]

Сушіння

Попередньо було обрано конвективне сушіння. Даний метод можна виконати за допомогою звичайної сушарки з гарячим циркулюючим повітрям (16 год, 24°C) [78], або ж використати конвективну сушарку розпилюючого типу (вхід 220 °C, вихід 77 °C, тривалість залежить від апарату) [82]. Оскільки попередньо було вказана обов'язковість використання захисного середовища, перед сушінням буде утворюватися суспензія, що дозволяє використовувати конвективну сушарку розпилюючого типу. Враховуючи концентрацію біомаси та кількість культуральної рідини на 1 цикл, кількість вологої біомаси становитиме 2,15 кг. Ресуспензування відбувається в 14,4 л розчину захисного середовища [78]. Такий об'єм можна висушити як в звичайній сушці з деко, так і в розпилювальній.

Недоліком розпилювальної сушарки можна виділити те, що кількість життєздатних клітин навіть з захисним середовищем при зазначеній температурі може впасти до 70% [82]. Недолік звичайної сушарки – ручне вивантаження, але

збереження кількості життєздатних клітин до 98%. Оскільки об'єм вивантаження не займає великих об'ємів, пропонується обрати звичайну конвективну сушарку з деко.

Повністю закрити наші потреби по питанню сушіння може сушарка від компанії Lyson. Дане обладнання повністю виконано з нержавіючої сталі. Має встановлений модуль температури, який регулює роботу двох грілок. Оснащений рухомим візочком, що значно полегшує умови завантаження деко відповідною субстанцією. Номінальний об'єм, який може висушити даний апарат – 60 л [83]. Зображення сушарки показано на рис.5.4.



Рис.5.4. Конвективна сушарка з деко [83]

РОЗДІЛ 6
СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ ДОФЕРМЕНТАЦІЙНИХ
ПРОЦЕСІВ ТА ВИРОБНИЧОГО БІОСИНТЕЗУ

Специфікацію обладнання для виробництва біомаси термофільного стрептокока наведено в табл.6.1. Номери, зазначені в таблиці, відповідають номерам, що наведені в апаратурній схемі (див. графічну частину).

Таблиця 6.1.

Специфікація обладнання для виробництва біомаси термофільного стрептокока

Позиція	Найменування	К-ть	Технічна характеристика (виробник)
1	2	3	4
ПЗ – 1	Повітрозабірник	1	Оснащений металевую сіткою для видалення механічних забруднень
Ф- 2	Фільтр грубої очистки повітря	1	Фільтр Verfiltan V2 - призначений для грубої фільтрації повітря. Вентиляційний фільтр класу G4. Затримує великі частинки забруднень, такі як пісок, пил, вата, волокнистий матеріал та інші видимі частинки. Матеріал - просочене олією скловолокно. Виробник: «Verfiltan» (Україна) ¹
К- 3	Компресор	1	Matari M250A18-1. Повітряний компресор. Продуктивність всмоктування - 320 л/хв. продуктивність нагнітання - 250 л/хв. потужність двигуна - 1,8 кВт. Максимальний тиск - 10 бар. Виробник: «Matari Motors Inc.» (Японія) ²
Т-4 Т-6	Теплообмінник-охолоджувач Теплообмінник-нагрівач	2	Теплообмінник STA-4. Матеріал - нержавіюча сталь 316L. робочий тиск - 25 бар. Максимальна температура нагріву - 180 °С. Продуктивність до 250 л/хв. Виробник: ООО «НПП «Термопром» (Україна) ³

				<i>НУХТ БТЕК 04.01.11 КР ПЗ</i>			
		<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>				
<i>Розроб.</i>	<i>Бойко В.Я.</i>			РОЗДІЛ 6 СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ ДОФЕРМЕНТАЦІЙНИХ ПРОЦЕСІВ ТА ВИРОБНИЧОГО БІОСИНТЕЗУСХЕМИ	<i>Лім.</i>	<i>Арк.</i>	<i>Аркушів</i>
<i>Перевір.</i>	<i>Грегірчак Н.М.</i>					67	116
<i>Реценз.</i>					Кафедра БТМ		
<i>Н. Контр.</i>							
<i>Затверд.</i>	<i>Стабніков В.П.</i>						

Позиція	Найменування	К-ть	Технічна характеристика (виробник)
1	2	3	4
Р-5	Ресивер	1	Ресивер для стисненого повітря Р500. Ємність 500 літрів Робочий тиск: 16 бар. Виробник: ООО «ЭНТЕХ УКРАИНА» (Україна) ⁴
Ф-7	Головний фільтр очистки повітря	1	Фільтр JABLOTRON F7 400x220x48 мм- клас очищення F7. Фільтр призначений для утримання часток розміром 1-3 мкм. Застосовується для досягнення більш високих вимог до якості повітря у приміщенні й ефективний проти бактерій, цементного пилу і частково проти сажі або тютюнового диму. Виробник: «Jablotron» (Чехія) ⁵
Ф-11 Ф-26	Індивідуальний фільтр	4	НЕРА-фільтр, клас фільтрації H14. Матеріал на основі мікроволокна. Ефективність 99,995%. Розміри: (в х д х ш, мм): 305x305x78. макс. продуктивність: 200 м3/год. Макс. робоча температура: 280 °С. Виробник: «ВЕНТ-ФІЛЬТР» (Україна) ⁶
Д-8 Д-16 Д-20 Д-24 Д-30	Об'ємно ваговий дозатор для рідин	5	Дозатор рідини. Номінал дози – 0,1 л. Продуктивність – 9999 л. Похибка дозування ±2-5%. Робочий тиск – 0-1,5 МПа. Швидкість – до 10 л/хв. Виробник: «mBev» (Україна) ⁷
З-9	Збірник на 25 л	1	Збірник на 25 л РСМ-25. Реактор змішувач переносного типу. Можливість підключення до СІР мийки. Робочий тиск від -0,7 до +3 бар. Швидкість мішалки від 10 до 375 об/хв. Матеріал – нержавіюча сталь. Виробник: ТОВ «КАБЕЛЬФАРМТЕХНИКА» (Україна) ⁸
Н-10	Насос перистальтичний	1	Насос перистальтичний серії В1201. Продуктивність 12 л/год. Максимальний тиск 1 бар. Виробник: «ETATRON D.S.» (Італія) ⁹

ПА-12	Посівний апарат на 40 л	1	Ферментер на 40 л BioPilot 40L. Матеріал: нержавіюча сталь 316L. Оснащений подвійною рубашкою та барботером. Можливість підключення до СІР мийки. Включено датчики контролю рН, температури, подачі повітря, оптичної густини культури. Габарити (в×d, мм): 1200×400. Виробник: «Resea Biotec GmbH» (Швейцарія) ¹⁰
Н-13 Н-25 Н-31	Насос перистальтичний	2	Насос перистальтичний DYNAMIK NPR. Продуктивність – 30 л/год. Тиск 0,1 бар. Двигун 0,24 кВт. Виробник: «SEKO» (Італія) ¹¹
Д-14 Д-18 Д-22	Дозатор сипких матеріалів	3	Ваговий дозатор ВД-4. Продуктивність – 1-50 кг. Теоретично допустима фасовка – 0,2 – 100 кг. Швидкість – до 5 доз/хв. Виробник: «ABC-TECH» (Україна) ¹²
3-15	Збірник на 40 л	1	Реактор-змішувач Т-40L. Матеріал – нержавіюча сталь 304L AISI. Оснащений подвійною рубашкою, перемішувачим пристроєм та манометром. Виробник: «Ollital Technology» (Китай) ¹³
3-19	Збірник на 250 л	1	Хімічний реактор на 250 л. Матеріал – нержавіюча сталь 316L AISI. Робочий тиск – від -1 до +3 бар. Оснащений подвійною сорочкою та мішалкою. Габарити (в×d, мм): 1850×1200. Виробник: «Промвіт» (Україна) ¹⁴
Н-17 Н-21 Н-28	Насос перистальтичний	3	Насос перистальтичний РТ 15. Продуктивність – від 50 до 600 л/год. Тиск до 15 бар. Максимальна робоча температура 180 °С. Виробник: «Garflo» (Україна) ¹⁵
3-23	Збірник на 20 л	1	Хімічний реактор на 20 л. Матеріал – нержавіюча сталь 316L AISI. Робочий тиск – від -1 до +6 бар. Оснащений подвійною сорочкою та мішалкою. Виробник: «Промвіт» (Україна) ¹⁶

ФР-27	Ферментер на 400 л	1	Ферментер на 400 л BioFlo® Pro. Оснащений подвійною сорочкою. Матеріал: прями́й контакт із середовищем - нержавіюча сталь 316L. Робочий тиск до 3 бар. Обладнаний датчиками контролю рН, температури, подачі повітря, кількості обертів мішалки. Габарити (в×d, мм): 2300×700 Виробник: «Eppendorf» (Великобританія) ¹⁷
З-29	Збірник на 200 л	1	Хімічний реактор на 200 л. Матеріал – нержавіюча сталь 316L AISI. Робочий тиск – від -0,5 до +2 бар. Оснащений подвійною сорочкою та мішалкою. Габарити (в×d, мм): 2400×1375. Виробник: «Промвіт» (Україна) ¹⁸

Примітка: 1 - <https://newfilter.com.ua/ua/ventilacia/filtruyuchi-y-material-g4.html>, 2 - <https://matari.ua/ru/product/matari-m250a18-1>, 3 - <https://termoprom.com.ua/produkt/heat-exchangers/heatexchangers/gasket.php>, 4 - <https://entech-ukraine.dp.ua/ua/p1187397428-vozduhosbornik-resiver-dlya.html>, 5 - <https://shop.alterair.ua/product/jablotron-f7-filter/>, 6 - <https://ventfilter.kiev.ua/goods/filtr-hepa-dlya-himicheskoy-promyshlennosti/>, 7 - <https://magnum-beer.com.ua/ua/p1493971053-dozator-zhidkosti-vody.html>, 8 - <http://www.kft2.com.ua/reaktor25.html>, 9 - https://www.etatron.com.ua/ru/pumps/peristaltic_pumps/b-per/, 10 - <https://www.reseabiotec.ch/our-products/biobench-and-pilot-bundle/>, 11 - <https://doznasos.com.ua/uk/katalog-produkcii/nasosy-dozatory-2/peristaltichni-nasosy-dozatory/seko-dynamik-2/>, 12 - <https://prom.ua/p1155858084-vesovoj-dozator-dlya.html?&primelead=My42>, 13 - https://www.ollital.com/40l-60l-80l-lined-stainless-steel-chemical-reactor_p696.html, 14 - <https://promvit.com.ua/reaktor-250-1-2/>, 15 - https://tapflo.ua/images/pdf_uk/pt_ptl_ua.pdf, 16 - <https://promvit.com.ua/reaktor-20-1-davlenie-1-6-bar/>, 17 - <https://www.eppendorf.com/gb-en/eShop-Products/Bioprocess/Bioprocess-Controllers/BioFloPro-p-PF-12577>, 18 - <https://promvit.com.ua/reaktor-rsg-200-dlya-peremeshivaniya-zhidkosti-obemom-200-l/>

РОЗДІЛ 7

ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ДОФЕРМЕНТАЦІЙНИХ ПРОЦЕСІВ ТА ВИРОБНИЧОГО БІОСИНТЕЗУ

Виробничий біосинтез біомаси термофільного стрептокока передбачає деяку кількість допоміжних робіт, до яких входять наступні стадії: підготовка аераційного повітря, приготування титрувальних агентів, приготування та стерилізація поживного середовища для різних стадій технологічного процесу.

Після виконання усіх допоміжних робіт можна переходити до технологічного процесу. До нього відноситься підготовка посівного матеріалу, а також виробниче культивування.

Технологічна схема виробництва біомаси *S. thermophilus* зазначено в графічній частині роботи.

ДР 1. Санітарна підготовка виробництва

ДР 1.1 Підготовка мийних та дезінфікувальних засобів

ДР 1.1.1 Приготування мийного розчину CRYSTAL

Для очищення обладнання використовуйте миючий засіб CRYSTAL. Щоб забезпечити очищення всього обладнання, приготуйте приблизно 155 літрів робочого розчину. Для цього наповніть 200-літровий бак (Р-29) 1,24 літрами обраного миючого засобу за допомогою 2-літрового циліндра з внутрішньою поверхнею. Потім додайте 154 літри водопровідної води за допомогою об'ємного вагового дозатора (D-30). Перемішайте за допомогою мішалки.

ДР 1.1.2 Приготування робочого розчину Мікродез

Для поточного (щоденного) прибирання виробничих приміщень необхідний об'єм робочого розчину засобу Мікродез з концентрацією 0,5% становить 5,9 л: 30 мл концентрату на 10-літрове відро, додати 5,9 л водопровідної води і перемішати до повного розчинення.

					<i>НУХТ БТЕК 04.01.11 КР ПЗ</i>		
		<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>				
<i>Розроб.</i>	<i>Бойко В.Я.</i>			РОЗДІЛ 7 ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ДОФЕРМЕНТАЦІЙНИХ ПРОЦЕСІВ ТА ВИРОБНИЧОГО БІОСИНТЕЗУ	<i>Літ.</i>	<i>Арк.</i>	<i>Аркушів</i>
<i>Перевір.</i>	<i>Грегірчак Н.М.</i>					71	116
<i>Реценз.</i>					Кафедра БТМ		
<i>Н. Контр.</i>							
<i>Затверд.</i>	<i>Стабніков В.П.</i>						

Для генерального прибирання примієнь необхідний робочий розчин з концентрацією 1% об'ємом 12,9 л. Приготуйте розчин для одноразового прибирання, помістивши 129 мл концентрату в 15-літрове відро, додавши 12,8 л водопровідної води і перемішавши до повного розчинення.

ДР 1.2 Підготовка виробничих примієнь

ДР 1.2.1 Щоденне прибирня

Щоденне прибирання примієнь проводиться за допомогою мийно-дезінфікуючого засобу – Мікродез (від ДР 1.1.2.) концентрацією 0,5%.

ДР 1.2.2 Генеральне прибирання

Для генерального прибирання виробничих примієнь використовується розчин Мікродезу (з ДР 1.1.2.) у концентрації 1%. Генеральне прибирання проводиться один раз на місяць і включає в себе миття підлоги, а також дверей, стін і вікон. Після прибирання слід провести мікробіологічну перевірку підлоги. Необхідно перевірити швидкість утворення мікробних колоній на підлозі і переконатися, що значення КУО не перевищує 1000.

ДР 1.3 Підготовка обладнання та комунікацій

ДР 1.3.1 Миття та ополіскування обладнання

Для миття обладнання та комунікацій застосовують мийні розчин (від ДР 1.1.1) підігріті до температури 55°C.

CIP-очишувач підключається за допомогою гнучкого шланга до розпилювача, вбудованого в обладнання, і режим очищення встановлюється, коли миючий розчин готовий до використання.

З'єднайте відповідне обладнання та мобільну мийку CIP за допомогою шланга. Потім підключіть розпилювач і вимкніть всю систему, крім виходу миючого засобу. Подайте миючий розчин в CIP-обладнання відповідно до встановленого режиму очищення: 15 хвилин ополіскування, 30 хвилин миття розчином, 15 хвилин ополіскування. Миючий розчин циркулює і повторно використовується для наступного циклу очищення. Після декількох циклів миття використаний миючий засіб і вода використовуються повторно.

ДР 1.3.2 Технічний огляд

Після очищення та промивання перевірте систему комунікацій та на герметичність. У разі пошкодження затягніть різьбові з'єднання.

ДР 1.3.3 Перевірка обладнання на герметичність

Закрити всі закриті отвори в обладнанні та заповнити насос повітрям до надлишкового тиску $P = 0,1-0,2$ МПа. Після цього подачу повітря перекривають, а показання манометра і час очікування (30-60 хвилин) записують в експлуатаційний журнал. Якщо падіння тиску не перевищує 0,01 МПа, обладнання вважається герметичним. В іншому випадку для пошуку витоків використовуйте галогеновий течешукач. Додайте до обладнання невелику кількість четвертинного вуглецю і загерметизуйте всю ділянку ущільнення. Нагрійте обладнання до температури 80°C і встановіть тиск 0,2 МПа. Пари небезпечних речовин потрапляють через отвір для витоків і виявляються зустрічним зондом для виявлення витоків. Випробування на герметичність триває одну годину. Якщо витік виявлено, його усувають, після чого проводять зворотну перевірку на герметичність.

ДР 1.3.4 Стерилізація обладнання

Нагрівання обладнання. Нагрійте обладнання, подаючи на сорочку глуху пару до температури 80-90°C.

Простерилізувати обладнання. Закрийте всі труби, що під'єднані до обладнання, та всі заправні пристрої з відкритими комунікаційними кінцями, подайте гарячу пару безпосередньо до обладнання через нижній отвір та відкрийте витяжний вентиляційний отвір для відведення повітря з обладнання. Коли обладнання досягне постійної температури 130-135 °С, закрийте запірні клапани, крім клапана з правого боку, і дайте обладнанню відстоятися протягом 1,5 годин (тиск 0,15 МПа).

Охолодження. Вимкніть всю систему подачі пари. Потім заповніть сорочку холодною водою. Охолодження обладнання вирішується шляхом досягнення температури 30-40°C за рахунок генерації пари, а також шляхом відкриття та фіксації клапана подачі стерильного повітря.

ДР 1.4 Підготовка персоналу

На додаток до навчання персоналу, компанія також проводить гігієнічні тренінги про те, як користуватися станціями для миття рук і як чистити обладнання та приміщення.

ДР 2. Підготовка аераційного повітря

ДР 2.1 Забір атмосферного повітря

Атмосферне повітря забирається через повітрозабірник (ПЗ-1) на висоті 10 м. Така висота обумовлена дуже низьким вмістом пилу та біологічного матеріалу.

ДР 2.2. Груба очистка повітря

Важливим кроком є очищення повітря від пилу та механічних частинок. Це робиться за допомогою фільтра (Ф-2) з утриманням 80%.

ДР 2.3. Компресування повітря

Повітря стискається компресором (К-3) до тиску близько 0,4 МПа. Очікується, що це призведе до підвищення температури повітря, яке потім охолоджується.

ДР 2.4. Охолодження повітря та зменшення надлишкової вологості.

Щоб мінімізувати забруднення, повітря швидко охолоджується до 19 °С у теплообміннику (Т-4). Потім волога зріджується в ресивері (Р-5) до кінцевого вмісту вологи приблизно 60%.

ДР 2.5. Нагрівання повітря

Для запобігання конденсації пари на волокнах основного та індивідуальних фільтрів, охоложене повітря в теплообміннику (Т-6) нагрівається до температури 30 °С.

ДР 2.6. Очищення повітря в головному фільтрі

Нагріте повітря проходить через головний фільтр (Ф-7). Чистота повітря покращується до $E = 95\%$.

ДР 2.7. Очищення повітря в індивідуальному фільтрі

Індивідуальні фільтри встановлюють прямо перед інокуляторами та ферментерами (Ф-11, Ф-26), ступінь очищення $E = 99,995\%$.

ДР 3. Підготовка титрантів та піногаснику

ДР 3.1. Підготовка аміачної води

Для нашого виробництва пропонується закуповувати вже готову аміачну воду. Тому, потрібно просто передбачити необхідно кількість даного титрувального агенту. Прерахунок показано в табл.7.1.

Таблиця 7.1.

Необхідна кількість аміачної води

Стадія	Об'єм поживного середовища, л	Необхідна кількість 25-% розчину аміаку, мл
Посівний апарат на 40 л	24	720
Ферментер на 400 л	240	7200
Всього		7920

Тож, для одного виробничого циклі необхідно передбачити близько 8 літрів аміачної води.

ДР 3.1.1 Підготовка аміачної води для посівного апарату об'ємом 40 л

Готову аміачну воду в асептичних умовах наливають в 1 л мірний циліндр до мітки в 800 мл. Після чого, рідину переливають у стерильну колбу на 1 л. Колбу закривають стерильною пробкою. Аміачну воду з цієї стадії підключають асептично безпосередньо до посівного апарату перед початком його роботи.

ДР 3.1.2. Підготовка аміачної води для виробничого ферментеру

Готову аміачну воду в асептичних умовах наливають в 5 л мірний циліндр до мітки 4 л. Після чого, рідину переливають у стерильну колбу на 10 л. Процедуру відмірювання циліндром виконують двічі. Колбу закривають стерильною пробкою. Аміачну воду з цієї стадії підключають асептично безпосередньо до ферментеру перед початком його роботи.

ДР 3.1. Підготовка 6-% розчину соляної кислоти

Оскільки наш біологічний агент і так буде виробляти кислоту, пропонується виконати розрахунок як 1 мл кислотного титранту до 1 л середовища.

Таблиця 7.2.

Необхідна кількість аміачної води

Стадія	Об'єм поживного середовища, л	Необхідна кількість 6-% HCl, мл
Посівний апарат на 40 л	24	24
Ферментер на 400 л	240	240
Всього		264

Оскільки об'єм є дуже малим, пропонується приготувати одну колбу одразу на 2 стадії.

В стерильному боксі за допомогою мірного циліндру на 250 мл відміряють 248 мл води стерильної. Рідину вносять в плоскодонну колбу на 500 мл. Потім, за допомогою мірного циліндру 25 мл відміряють 16 мл 36-% розчину соляної кислоти та вносять до колби з водою. Саме в такому порядку, для уникнення небажаної реакції. Колбу закривають скляною пробкою та передають на стадію підготовки інокуляту в посівному апараті.

ДР 3.3. Підготовка олеїнової кислоти

На 1 л поживного середовища з врахуванням інокуляту необхідно близько 20 мл розчину піногасника. Пропонується приготувати мінімальну концентрацію олеїнової кислоти, 0,2% розчин. Розрахунок необхідної кількості піногасника на кожну стадію зазначено в табл. 7.3. На колби не розраховуємо, оскільки об'єм є замалим.

Таблиця 7.3.

Розрахунок піногасника , що потрібен на стадії культивування та виробничого біосинтезу

Стадії	Об'єм на стадії, л	Необхідна кількість піногасника на стадію, л	Необхідна кількість олеїнової кислоти на стадію, мл	Необхідна кількість води на стадію, л
Інокулятор 40 л	24,9	0,5	1	0,499
Ферментер 400 л	247	5	10	4,99
Всього		5,5	11	5,489

Олеїнова кислота сама по собі виконує роль консерватора, а тому її додатково не стерилізують.

ДР 3.3.1. Приготування піногасника на стадії культивування в інокуляторі на 40 л

В колбі на 1 л за допомогою мірного циліндрі на 0,5 л наливають 0,5 л дистильованої води. Після чого, за допомогою дозатору на 1 мл до води в асептичних умовах додають 1 мл олеїнової кислоти. Розчин ретельно перемішують та закривають кришкою.

ДР 3.3.2. Приготування піногасника для виробничого культивування

В колбу об'ємом 10 л за допомогою мірного циліндру на 5 л наливають 5,5 л дистильованої води. Потім, в асептичних умовах, за допомогою дозатора на 20 л доливають 11 мл олеїнової кислоти. Колбу закривають кришкою.

ДР 4. Приготування та стерилізація поживного середовища

ДР 4.1. Приготування та стерилізація поживного середовища для вирощування інокуляту в колбах на качалках

Для початку необхідно приготувати 2 л поживного середовища. Враховуємо, що до колб буде додано 10% інокуляту з пробірок (за допомогою змиву фізичним розчином). Тому, кінцевий об'єм в колбах буде складати 2,29 л. В табл. 7.4. зазначена необхідна кількість компонентів для нашого поживного середовища.

Таблиця 7.4.

Розрахунок вмісту компонентів для приготування 2 л середовища

Компонент ПС	Концентрація, г/л	Вміст компоненту в 2 л ПС, г	Композиція	Об'єм композиції, мл
Молочна сироватка	50	100	А	400
Вода	≈ 300 мл			
Кукурудзяний екстракт	50	100	Б	1500
Казеїновий пептон	20	40		
Вода	≈ 1360 мл			
КЗРО4	20	40	В	100
Вода	≈ 60 мл			

ДР 4.1.1. Приготування та стерилізація композиції А

На технічних вагах зважують 100 г молочної сироватки, яку переносять в плоску конічну колбу на 1 л. За допомогою мірного циліндра на 500 мл доливають 300 мл дистильованої води та перемішують композицію до повного розчинення. Колбу закривають ватно-марлевою пробкою і стерилізують в автоклаві при температурі 112°C упродовж 30 хв, під тиском 0,05 МПа.

ДР 4.1.2 Приготування та стерилізація композиції Б

На технічних вагах зважують 100 г кукурудзяного екстракту та 40 г казеїнового пептону. Компоненти переносять в плоску конічну колбу на 3 л. За допомогою мірного циліндра на 2 л доливають 1360 мл дистильованої води та перемішують композицію до повного розчинення. Колбу закривають ватно-марлевою пробкою і стерилізують в автоклаві при температурі 120°C упродовж 30 хв, під тиском 0,05 МПа.

ДР 4.1.3 Приготування та стерилізація композиції В

На технічних вагах зважують 40 г ортофосфату калію. Наважку переносять в плоску конічну колбу на 0,25 л. За допомогою мірного циліндра на 250 мл доливають 115 мл дистильованої води та перемішують композицію до повного розчинення. Колбу закривають ватно-марлевою пробкою і стерилізують в автоклаві при температурі 131°C упродовж 40 хв, під тиском 0,15 МПа.

ДР 4.2. Приготування та стерилізація поживного середовища для вирощування інокуляту в посівному апараті на 40 л

Для цієї стадії готуємо 22,91 л поживного середовища. Це вже з врахуванням того, що з минулої стадії надійде 2,29 л посівного матеріалу, який додасть об'єму. Вміст та кількість компонентів вказано в табл.7.5.

Таблиця 7.5.

Розрахунок вмісту компонентів для приготування 22,91 л середовища

Компонент ПС	Концентрація, г/л	Вміст компоненту в 22,91 л ПС, г	Композиція	Об'єм композиції, л
Молочна сироватка	50	1145,5	А	3
Вода	≈ 1,85 л			

Кукурудзяний екстракт	50	1145,5	Б	18
Казеїновий пептон	20	458,2		
Вода	≈ 14,6 л			
Конденсат	1,8 л		В	1,91
КЗРО4	20	458,2		
Вода	≈ 1,45 л			

ДР 4.2.1. Приготування та стерилізація композиції А

На технічних вагах зважують 1,145 кг молочної сироватки, яку переносять в плоску конічну колбу на 5 л. За допомогою мірного циліндра на 2 л доливають 1,85 л дистильованої води та перемішують композицію до повного розчинення. Колбу закривають ватно-марлевою пробкою і стерилізують в автоклаві при температурі 112°C упродовж 30 хв, під тиском 0,05 МПа.

ДР 4.2.2. Приготування та стерилізація композиції Б

На технічних вагах зважують 1145,5 г кукурудзяного екстракту та 458,2 г казеїнового пептону. Компоненти переносять в реактор змішувач (З-9) на 25 л. За допомогою об'ємно-вагового дозатора (Д-8) доливають 14,6 л питної води. Кришку реактора закривають та перемішують композицію до повного розчинення. Встановлюється наступний режим стерилізації: 120°C упродовж 30 хв, під тиском 0,05 МПа.

ДР 4.2.3 Приготування та стерилізація композиції В

На технічних вагах зважують 458,2 г ортофосфату калію. Наважку переносять в плоску термостійку колбу на 5 л. За допомогою мірного циліндра на 2 л доливають 1,45 л дистильованої води та перемішують композицію до повного розчинення. Колбу закривають ватно-марлевою пробкою і стерилізують в автоклаві при температурі 131°C упродовж 40 хв, під тиском 0,15 МПа.

ДР 4.3. Приготування та стерилізація поживного середовища для виробничого біосинтезу

Для виробничого біосинтезу готується 227,3 л поживного середовища, при цьому враховується, що з минулої стадії має надійти 22,91 л посівного матеріалу. Загальний об'єм цієї стадії разом з інокулятом складає 250 л. Розрахунок компонентів представлено в табл.7.6.

Таблиця 7.6.

Розрахунок вмісту компонентів для приготування 227,3 л середовища

Компонент ПС	Концентрація, г/л	Вміст компоненту в 227,3 л ПС, кг	Композиція	Об'єм композиції, л
Молочна сироватка	50	11,4	А	30
Вода	≈ 15,6 л			
Конденсат	3 л			
Кукурудзяний екстракт	50	11,4	Б	183
Казеїновий пептон	20	4,55		
Вода	≈ 148,75 л			
Конденсат	18,3 л			
КЗРО4	20	4,55	Б	14,8
Вода	≈ 8,75 л			
Конденсат	1,5 л			

ДР 4.3.1. Приготування та стерилізація композиції А

На ваговому дозаторі (Д-14) зважують 11,4 кг молочної сироватки, переносять в реактор змішувач (З-15) на 40 л. За допомогою вагового дозатора (Д-16) доливають 15,6 л питної води. Кришку реактора закривають та перемішують композицію до повного розчинення. Встановлюється наступний режим стерилізації: 112°C упродовж 30 хв, під тиском 0,05 МПа.

ДР 4.3.2. Приготування та стерилізація композиції Б

На ваговому дозаторі (Д-18) зважують 11,4 кг кукурудзяного екстракту та 4,55 кг казеїнового пептону. Компоненти переносять в реактор змішувач (З-19) на 250 л. За допомогою вагового дозатора (Д-20) доливають 148,75 л питної води. Кришку реактора закривають та перемішують композицію до повного розчинення.

Встановлюється наступний режим стерилізації: 120°C упродовж 30 хв, під тиском 0,05 МПа.

ДР 4.3.3 Приготування та стерилізація композиції В

На ваговому дозаторі (Д-22) зважують 4,55 кг ортофосфату калію. Наважку переносять в реактор змішувач (З-23) на 20 л. За допомогою вагового дозатора (Д-24) доливають 8,75 л питної води. Кришку реактора закривають та перемішують композицію до повного розчинення. Встановлюється наступний режим стерилізації: 131°C упродовж 40 хв, під тиском 0,15 МПа.

ТП 5. Підготовка посівного матеріалу

ТП 5.1. Підтримання колекційної культури

Культури *S. thermophilus* 95/2 зберігають на агаризованому середовищі MRS при 4°C. Пересів на свіже поживне середовище виконують кожні 1-3 місяці. Всі дослідження з цією культурою проводять в абсолютно асептичних умовах.

ТП 5.2. Одержання робочої культури на агаризованому середовищі

Колекційні культури, що зберігалися в пробірках з агаром MRS, сіють петлями на чашки Петрі з живильним агаром та інкубували при 37°C протягом 24 годин.

ТП 5.3. Вирощування посівного матеріалу в пробірках

Отримані ізольовані колонії (з ТП 5.2) переносять у пробірки з агаром MRS (одна пробірка використовується для посіву однієї ізольованої колонії). Інкубаційний період становить 24 години. Засіяні пробірки поміщають у термостат при 37°C та інкубують протягом 24 годин. Чистота культур контролюється під мікроскопом.

ТП 5.4. Вирощування посівного матеріалу в колбах на качалках

Додати 160 мл Композиції В (з ДР 4.1.3) і 400 мл Композиції А (з ДР 4.1.1) до колби об'ємом 3 л, що містить 1,5 л розчину Композиції Б (з ДР 4.1.2), у стерильних умовах. Перемішати і розлити по 180 мл у 12 стерильних герметичних пляшок об'ємом 750 мл.

У пробірку з робочою культурою *S. thermophilus* 95/2, вирощеною на поживному агаровому середовищі MRS, налейте 2 мл стерильного фізіологічного

розчину, суспендуйте клітини (промийте поживне середовище), наберіть стерильною піпеткою отриману бактеріальну суспензію і внесіть її в закриту колбу з поживним середовищем. Бактеріальну суспензію, отриману з пробірки, використовують для посіву в колбу.

Бактерії інкубують у колбах, що струшуються. Умови інкубації: температура - 37°C, швидкість обертання - 200 об/хв, час інкубації - 24 години. Інкубація проводиться в аеробних умовах в термостаті-шейкері. Після інкубації колбову культуру переносять у стерильну 5-літрову колбу для посіву.

ТП 5.5. Вирощування посівного матеріалу в інокуляторі на 40 л

У стерильний 40-літровий апарат для культивування (ПА-12) в стерильних умовах за допомогою перистальтичного насоса (Н-10) вносять 18 л Композиції Б (з ДР 4.2.2), 1,6 л Композиції В (з ДР 4.2.3) і 3 л Композиції А (з ДР 4.2.1). У сорочку апарата подають холодну воду та насичену пару, а температуру живильного середовища підтримують на рівні 37 °С.

Насіння (ТП 5.4) переносять в апарат у суворо асептичних умовах за допомогою перистальтичного насоса. Процес інкубації здійснюється за наступних умов: температура - 37 °С, швидкість струшування - 200 об/хв, час інкубації - 24 години. Асептичне повітря подається з барботера, а відпрацьовані гази відводяться. Корекцію рН під час інкубації проводять за допомогою аміачної води (ДР 3.1.1) та розчину гідроксиду натрію (ДР 3.2). Також додають антипіноутворювач (з ДР 3.3.1).

ТП 6. Біосинтез

ТП 6.1. Виробничий біосинтез

183 літрів Композиції Б (з ДР 4.3.2), 30 літрів Композиції А (з ДР 4.3.1) і 14,3 літрів сполуки В (з ДР 4.3.3) подають у стерильний 400-літровий ферментер (Ф-27) за допомогою перистальтичного насоса (Н-17, Н-21, Н-25). У сорочку обладнання подається холодна вода, а для підтримання температури живильного середовища до 45°C використовується насичена пара.

Посівний матеріал (з ТП 5.5) переноситься в ферментер в строго стерильних умовах за допомогою перистальтичного насоса. Процес інкубації здійснюється за

наступних умов: температура - 45°C, швидкість перемішування - 250 об/хв, час інкубації - 8 годин. Стерильне повітря подається за допомогою барботера, а відпрацьовані гази відводяться. Під час інкубації корекція рН здійснюється за допомогою аміачної води (ДР 3.1.2) і 6% розчину соляної кислоти (ДР 3.2). Також додають антипіноутворювач (з ДР 3.3.2).

Культуру культивують до досягнення концентрації біомаси 9,65 г/л. Одержану культуральну рідину подають у збірник на зберігання для подальшого виділення та очистки біомаси.

РОЗДІЛ 8

КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА

8.1. Мікробіологічний контроль

Для промислових підприємств багатьох галузей мікробіологічні показники є важливими індикаторами якості та безпечності продукції. Для таких підприємств мікробіологічний контроль виробленої та готової продукції є обов'язковою умовою забезпечення якості та безпечності продукції [84].

Для того, щоб зрозуміти ключові моменти технічного процесу та основні фактори, що впливають на характеристики продукту, необхідно впровадити мікробіологічний контроль для всіх критичних точок виробництва, а не тільки для готового продукту [84].

Також дуже важливо контролювати мікробне забруднення, пов'язане з виробництвом (наприклад, поверхні рослин, технічне обладнання, посуд, контейнери, транспорт, системи вентиляції та кондиціонування повітря, побутова та технологічна вода) [84].

Зразок стерильного середовища об'ємом 50 мл і з цього відбирають певну кількість для пересіву безпосередньо на агарове середовище. Контролі проводять шляхом посіву та інкубації зразка стерильного середовища (або складу стерильного середовища перед змішуванням) у чашці Петрі, що містить відповідне агарове середовище [85].

Для виявлення грибів і дріжджів у СА та бактерій у МПА посіви проводять, відбираючи 0,1 мл зразка стерильною піпеткою і наносячи його на поверхню. Суспензію рівномірно розподіляють по поверхні середовища поплескуючими рухами за допомогою стерильного бактеріального кільця. Планшети з культурою поміщають в термостатичний інкубатор при температурі 30-35°C. Культури аналізують через 6 або 8 годин. На поверхні поживних середовищ

					<i>НУХТ БТЕК 04.01.11 КР ПЗ</i>		
		<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>				
<i>Розроб.</i>	<i>Бойко В.Я.</i>			РОЗДІЛ 8 КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА	<i>Лім.</i>	<i>Арк.</i>	<i>Аркушів</i>
<i>Перевір.</i>	<i>Грегірчак Н.М.</i>					84	116
<i>Реценз.</i>					<i>Кафедра БТМ</i>		
<i>Н. Контр.</i>							
<i>Затверд.</i>	<i>Стабніков В.П.</i>						

візуально визначають відсутність ознак росту мікроорганізмів [85].

Мікробіологічний контроль чистоти культури здійснюється двома способами: прямим посівом на агарові поживні середовища та мікроскопічним спостереженням [85].

Прямий посів здійснюється шляхом пересіву поживного середовища на ізолювані колонії в чашках Петрі з використанням м'ясо-пептонного агару для виявлення сторонніх бактерій та сусло-агару або глюкозно-картопляного агару для грибів і дріжджів.

Мікроскопічне дослідження проводять за допомогою оптичного мікроскопа з імерсійною системою. Методика мікроскопії [85]:

На стерильне, знежирене, чисте предметне скло наносять невеликі краплі води дистильованої за допомогою стерильного кільця для мазка і рівномірно розподіляють по поверхні предметного скла. Мазок сушать при кімнатній температурі без нагрівання до повного видалення вологи. Тричі зафіксуйте скло з препаратом боковим краєм над полум'ям пальника. На отриманий шар препарату нанесіть кілька крапель генціанвіолету і розподіліть по всій поверхні висушеного мазка. Час фарбування - 5 хвилин. Потім пігмент зливають, а препарат ретельно промивають дистильованою водою. Надлишки води витирають фільтрувальним папером і знову висушують при кімнатній температурі. На висушені предметні скельця капають гліцерин. Мікроскопію проводять при великому збільшенні (x90). Залишки гліцерину на імерсійному об'єктиві витирають ватою, змоченою етиловим спиртом.



Рис. 8.1. Продуцент на кров'яному агарі [86]

Для ідентифікації *S. thermophilus* найчастіше за все використовують МРС агар. Також, часто використовують кров'яний агар [86].

8.2. Показники росту і синтезу цільового продукту

8.2.1. Концентрація біомаси

Ваговий метод

Автори основної статті за обраним біологічним агентом зазначають, що через осадження сироваткового білка при низьких значеннях рН (оскільки воно знижується через молочну кислоту) дані про біомасу не могли бути адекватно визначені [4].

Для мінімізації похибки в сторону білкового осаду у вагу біомаси, стерильні середовища, які використовувалися під час ферментації, готували, а їх рН доводили до кінцевого рН, отриманого в кінці ферментації. Кількість білкових преципітатів визначали центрифугуванням (при 2800 об/хв протягом 15 хв) і висушуванням осаду при 43°C до досягнення постійної ваги. Біомасу, включаючи осад наприкінці кожної ферментації, центрифугували та сушили до постійної ваги при 105 °С. Біомасу (г/л) визначали шляхом віднімання кількості білкових преципітатів (визначених із стерильного середовища) із висушеного осаду (біомаси, включаючи осад), отриманого наприкінці ферментації [4].

8.2.2. Концентрація клітин

Прямий метод (Метод Коха)

Методика включає приготування серійних розведень зразків (1:10, 1:100, 1:1000 і т.д.) у стерильній воді, висівання на агар MRS для молочнокислих бактерій у чашки Петрі та інкубування чашок за певних умов (протягом 24-48 год при температурі $(37\pm 1)^\circ\text{C}$ – для молочнокислих бактерій. Після відповідної інкубації, чашки були досліджені на наявність колоній, що вирости на середовищі. Для можливості підрахунку колоній мікроорганізмів, що вирости після інкубації на поверхні середовища, зразки розводили так, щоб у середньому було від 30 до 300 колоній у чашці. Одиницею виміру є КУО/мл (колонієутворюючих одиниць на мілілітр), розрахунок якого включає помноження підрахованого числа колоній на

відповідне розведення. Після число перемножують на 1 мл суспензії і отримують кінцеве значення [87].

8.2.3. Концентрація джерела вуглецю і азоту

Основним джерелом карбону в поживному середовищі виступає лактоза. Її можна визначити йодометричним методом.

Важливо попередньо центрифугувати культуральне середовище. Зважують 25 мл надосадової рідини з точністю до 0,01 мл у конічну колбу на 500 мл. Додають дистильовану воду, 10 мл розчину Фелінга і 4 мл 0,1 н розчину КОН приблизно до половини об'єму. Рідини ретельно перемішують після кожного додавання. Вміст колби доводять до відповідного об'єму (до мітки на колбі), перемішують і залишають на 30 хвилин. Рідину, що випала в осад, фільтрують через складений паперовий фільтр у суху колбу. Відбирають перші 10-20 мл фільтрату. Наступні 50 мл фільтрату переносять піпеткою в конічну колбу на 250-300 мл, додають 25 мл 0,1 н розчину йоду і, продовжуючи перемішувати, повільно додають 37,5 мл 0,1 н розчину натрій гідроксиду. Закривають колбу пробкою і витримують у темряві при 20 °С протягом 20 хв [88].

Для визначення кількості йоду, що не прореагував, додають піпеткою 8,0 мл 0,5 н розчину гіпохлориту для виділення вільного йоду і забарвлення фільтрату в чорно-коричневий колір; через 10 хв титрують вільний йод 0,1 н розчином гіпосульфиту натрію; в кінці титрування додають 1,0 мл індикатора (0,5% розчин крохмалю), який додають, коли забарвлення в реакційній колбі стає світло-жовтим. Титрування продовжують до зникнення синювато-фіолетового забарвлення [88].

Паралельно проводять контрольний експеримент, в якому в колбу відміряють 50 мл води (замість фільтрату) і проводять експеримент у тому ж порядку, що і в поточному досліді [88].

Масову частку (%) лактози W_1 розраховують за формулою [88]:

$$W_1 = \frac{(V_0 - V_1) \cdot T_1 \cdot 0.97 \cdot 100}{m},$$

де V_0 – об'єм розчину тіосульфату натрію, витрачений на титрування йоду в контрольному випробуванні, см³; V_1 - об'єм розчин тіосульфату натрію, витрачений на титрування фільтрату, см³; T_1 - титр розчину тіосульфату натрію, виражений у грамах лактози, $T_1 = 0,1801$ г; $0,97$ - емпіричний коефіцієнт; m – маса молока, взята для титрування, яка відповідає 50 см³ фільтрату. За наважки молока, що дорівнює 25 г, формула для розрахунку лактози такого вигляду [88]:

$$W_1 = 0.699 \cdot (V_0 - V_1).$$

Як джерело нітрогену виступає кукурудзяний екстракт, а точніше його амінокислоти та пептиди. Також, для визначення цього показника, потрібно спочатку одержати супернатант [89].

Реакція нінгідрину з α -амінокислотами є відомим методом аналізу амінокислот. У процесі аналізу нінгідрин з α -амінокислотами утворює забарвлений барвник, концентрацію якого можна аналізувати на спектрофотометричному обладнанні. Нінгідринова реакція протікає за схемою окиснювального дезамінування. Окисником виступає нінгідрин, який як трикетонем із сильноакцепторними групами біля центрального карбонілу та існує у гідратній формі. При цьому аміногрупа окиснюється до амоніаку, а нінгідрин відновлюється до дикетогідроксигідриндену. Одночасно відбувається декарбоксилування COOH -групи і утворення альдегіду з амінокислоти. Утворений амоніак взаємодіє з відновленим нінгідрином та другою молекулою нінгідрину з утворенням відповідного барвника синьо-фіолетового кольору, яку називають „фіолетовий Руемана“. Вміст барвника у аналізованому розчині визначають спектрофотометричним методом. Чутливість нінгідринової реакції достатньо висока (виявлення амінокислоти становить до 1 нмоль (1 наномоль = 10^{-9} моль)) Цю реакцію застосовують також для хроматографічного аналізу наявності амінокислот при хроматографії на папері [89].

Аналіз розчинів продуктів реакції амінокислот та нінгідрину проводять у фосфатно-буферному розчині гідрофосфату та дигідрофосфату калію при рН $6,6$. Довжину хвилі зі стабільним показником оптичної щільності встановлюють на рівні 540 нм. При проведенні дослідження, використовували отримані оптимальні

умови проведення нінгідринової реакції: температуру (70°C) і тривалість нагрівання (10-30 хв). Після реакції досліджувані розчини набувають синьо-фіолетового кольору. Охолодивши розчини до 20°C, проводять вимірювання їх оптичної щільності. В якості контрольного зразку використовували розчин фосфатного буферу [89].

8.3. Вимоги до заквашувальних композицій

До заквасок молочнокислих бактерій висувається певна кількість вимог. В першу чергу, бактеріальні закваски (БЗ) поділяють на рідкі та ліофільно висушені, окремо виділяються бактеріальні концентрати (БК) [90]. Норми безпеки, які пред'являються до БЗ та БК, що найчастіше зустрічаються у специфікаціях представлено в таблиці 8.1.

Таблиця 8.1

Норми безпеки БЗ та БК [90]

Мікроорганізми	Наявність
БГКП (коліформи)	< 10 КУО/г
Пліснява та дріжджі	< 10 КУО/г
<i>S. aureus</i>	< 10 КУО/г
Сальмонелла	Не виявлено в 25 г продукту
<i>Listeria spp.</i>	Не виявлено в 25 г продукту

Важливим параметром є вміст життєздатних клітин в залежності від типу заквашувального препарату. Замала або перевищена кількість клітин напряду впливає на якість та на кількість готового продукту [90]. Вимоги продемонстровано в таблиці 8.2.

Таблиця 8.2

Вміст життєздатних клітин на основних етапах виробництва молочних продуктів [90]

Етап технологічного процесу		Кількість життєздатних клітин КУО/г, не менше
БЗ (готові)	Рідкі (в т.ч. заморожені)	10 ⁸
	Сухі	10 ⁹
БК (готові)	Рідкі (в т.ч. заморожені)	10 ¹⁰
	Сухі	10 ¹⁰

Початкова закваска	Пряма інокуляція БЗ/БК	10^7
	Виробнича закваска	10^6
До кінця ферментації		10^8
Максимальний рівень в процесі дозрівання		10^9

Для отримання конкурентоспроможної та стабільно якісної продукції, добре знайомою споживачам по стійким органолептичним показникам, при виробництві кожного виду ферментованого молочного продукту необхідно з великою відповідальністю ставитись до підбору видового складу бактеріальних препаратів. При такому підборі слід враховувати характер їх метаболізму, температурний інтервал розвитку, можливість розвитку при низьких температурах та відносну терmostійкість, граничну кислотність, органолептичні характеристики та ряд інших показників. Видовий склад закваски повинен забезпечити інтенсивність та спрямованість мікробіологічних та біохімічних процесів, що забезпечують формування органолептичних показників конкретного виду ферментованого молочного продукту та його збереження [90].

За видами заквашувальних мікроорганізмів *S. thermophilus* як один з компонентів відноситься до кислотоутворювальних. Інтервал росту для одержання молочнокислого продукту складає 5-55 °С, а температура оптимуму – 40-46 °С. Гранична кислотність для даної бактерії становить 100-120 в залежності від штаму [90].

8.3.1 Ідентифікація термфільного стрептокока

Даний організм в загальному визначають за його фізіологічними та біохімічними властивостями, які включають наступні тести [91]:

Морфологія. Культуру вирощують в знежиреному молоці в інкубаторі при 37 °С протягом 18 годин. Перед мікроскопічним дослідженням мазки культур фарбують метиленовим синім протягом кількох хвилин. *S. thermophilus* мають бу грампозитивними та утворювати коки в продовговуватих ланцюжках.

Виробництво CO₂. 10 мл бульйонної культури M17 тестового штаму, інкубованого при 37 °С протягом 18 годин, покривають поверхню бульйону

розплавленим накладним агаром, попередньо охолодженим до $47\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$, на глибину 1 см. Культуру інкубують протягом 1 тижня при $37\text{ }^{\circ}\text{C}$. Наявність газу стає очевидною, коли шар агару відокремлюється від основного вмісту. *S. thermophilus* не повинні утворювати газу.

Каталазна реакція. Змішують однакові об'єми бульйонної культури М17, інкубують при 37°C протягом 18 годин, з 150 г/л перекису водню в пробірці з гумовою пробкою. Обережно пробірку перевертають догори дном, щоб сприяти перемішуванню, і спостерігають за утворенням бульбашок кисню в бульйоні при кімнатній температурі протягом 20 хвилин. *S. thermophilus* не повинні вступати в каталазну реакцію.

Дія в лакмусовому молоці. У 10 мл лакмусового молока (70 г лакмусу в 1000 мл знежиреного молока) вносять петлю досліджуваної культури. Підкислене *S. thermophilus* лакмусове молоко стає рожевим, а потім згортається. Після коагуляції колір залишається рожевим через дуже повільне і часто неповне відновлення лакмусу з більш інтенсивним забарвленням верхнього кільця.

Термостійкість. У 5 мл знежиреного молока петлею вносять досліджуваний штам, інкубують при $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ протягом 4 год. Після цього пробірки поміщають на водяну баню при температурі $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ на 30 хвилин, а потім охолоджують. Після, зразки інкубують при $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ протягом 24 годин. Підкислене або згорнуте молоко означає термостійкість досліджуваних штамів.

Зростання в присутності хлориду натрію. Інокульовані пробірки, що містять бульйон М17 з 20 г/л і 40 г/л NaCl інкубують протягом 7 днів при $37\text{ }^{\circ}\text{C}$. Наявність каламуті в пробірці свідчить про ріст культури. *S. thermophilus* повинні рости при 20 г/л, але не при 40 г/л.

Зростання в присутності метиленового синього. Інокульоване знежирене молоко з додаванням 0,1 г/л і 1,0 г/л розчину метиленового синього інкубують при 37°C . Коагуляцію або її відсутність визначають візуально через 12, 24 та 48 год. *S. thermophilus* не росте в присутності метиленового синього. Зростання при рН 9,6 спостерігають після 48 годин інкубації при 37°C у бульйоні М17, рН якого доводили до 9,6. *S. thermophilus* не мають рости за такого значення рН.

Ізоляція екзополісахаридів. 100 мл йогурту центрифугують при 837 рад/с протягом 10 хв і до кожного зразка додають 17 мл трихлороцтової кислоти. Зразки охолоджують до 4°C і знову центрифугують при 837 рад/с протягом 10 хв. Осадження сахаридів із зразків забезпечують холодним етанолом (1:3). Зразки зберігають в холодильнику протягом 24 годин, а потім центрифугують (40 °С, 837 рад/с, протягом 10 хвилин). Стрептококи мають виділяти глюкозу, лактозу та галактозу.

8.3.2 Методи контролю закваски

Визначення ефективності пастеризації молока для закваски. Асептично відбирають невелику пробу (10-20 мл) пастеризованого молока і поміщають в стерильну пробірку. Проби термостатують при температурі 40-45 ° С протягом 24-48 год, після чого відзначають характер згустку та переглядають його мікроскопічний препарат. При виявленні в пробі пепхонізації молока, а в мікроскопічному препараті спор та паличок (вегетативні клітини) пастеризація проведена правильно [92].

Визначення чистоти закваски. Асептично відбирають пробу закваски (10-20 мл) в стерильну пробірку, роблять її розведення і 5 перших розведень засівають у пробірки зі стерильним знежиреним молоком. Посіви термостатують протягом 72 год. Закваску, що містить мезофільні молочнокислі стрептококи, досліджують на присутність сторонніх паличок при температурі 40—45°C, закваску, що містить молочнокислі палички, — на присутність сторонніх стрептококів при 30-35 °С. Отримані згустки мікроскопують та встановлюють наявність або відсутність сторонніх мікроорганізмів [93].

Якість маткової і виробничої заквасок на стерилізованому молоці контролюють за активністю (граничної кислотності і тривалості згортання молока). У разі її зниження перевіряють кількість технологічної заквасок мікрофлори і чистоту закваски шляхом перегляду пофарбованого мікроскопічного препарату не менш ніж в 10 полях зору мікроскопа [93].

Якість виробничої закваски на пастеризованому молоці перевіряють щодня, визначаючи активність, наявність сторонньої мікрофлори шляхом перегляду

мікроскопічного препарату, вміст БГКП, органолептичні властивості згустку, наявність ацетоина, діацетила, вуглекислоти і з'ясовують причини порушення процесу сквашування, якщо такі є [93].

Наявність бактерій групи кишкових паличок в заквасці визначають посівом її на середу Кесслер. Закваску попередньо нейтралізують до рН 7,4-7,6, додаючи до 10 см³ закваски 1 см³ 10% -ного розчину питної соди. Посіви інкубують при 37 °С протягом 24 год. Результати оцінюють за освітою або відсутності газу в газівке. БГКП повинні бути відсутні при посіві 3 см³ закваски для кефіру і 10 см³ закваски для інших продуктів. Аналіз на наявність бактерій групи кишкових паличок виробляють з кожної ємності закваски щодня [93].

Зміст діацетила і ацетоина визначають по креатинової пробі. На білу порцелянову платівку завдають в рівних обсягах (по 1 краплі) фільтрат закваски, 40% -ний розчин КОН і 0,04% -ний розчин креатину, ретельно перемішують [93].

Відзначають час появи рожевого забарвлення. Якщо порозовеніє відбулося менш ніж за 7 хв, то закваска вважається хорошим продуцентом чотирехуглеродних з'єднань (діацетила + ацетоина). Якщо ж поява рожевого забарвлення відзначається після 7-10 хв, це вказує на слабку ароматобрауючих здатність мікроорганізмів [93].

Наявність вуглекислого газу в заквасці визначають, наливаючи закваску (20 см) в пробірку діаметром 15 мм, фіксуючи рівень і поміщаючи її на водяну баню з холодною водою. Температуру води встановлюють на 90°С і реєструють рівень води, не виймаючи пробірку. Якщо закваска містить вуглекислий газ, згусток буде пористим і на 0,6-5 см вищим за сироватку [93].

Наявність бактеріофагів виявляють шляхом посіву закваски в стерильне знежирене молоко з додаванням розчину метиленового синього. Якщо під час інкубації протягом 4-5 годин знову спостерігається посиніння молока після зміни кольору метиленового синього, це свідчить про наявність бактеріофагів у заквасці [93].

РОЗДІЛ 9

АНАЛІЗ ПЕРСПЕКТИВ ВПРОВАДЖЕННЯ СИСТЕМИ ЕКОЛОГІЗАЦІЇ ВИРОБНИЦТВА

9.1. Системи знешкодження рідких відходів

Для ретельного аналізу маємо виконати приблизні розрахунки витрати стічних вод. Наше виробництво передбачає використання біомаси для заквашувальних композицій. Культуральна рідна на добу становить 325 л, а концентрація біомаси – 9,65 г/л. Отже, кількість супернатанту на добу становить:

$$325 - (325 \times 0,00965) = 321,9 \text{ л/доба}$$

Припускаємо, що вода, яку було витрачено на підігрів ферментеру – повернулась до циркуляційної системи водопостачання виробництва, оскільки вона не є забрудженою. Такий самий висновок робимо щодо конденсату.

Отже, середні за зміну витрати виробничих стічних вод становить 321,9 л/добу.

Тепер, маємо порахувати середні за зміну витрати побутових стічних вод. Припускаємо, що норма відведення побутових стічних вод в м³/зм на одного робітника становить 0,045 м³/(зм люд). Проте, для початку маємо порохвати кількість співробітників на 1 зміну. Пропонується використати 8-годнну зміну. Тобто, на 1 добу буде працювати 3 зміни. Кількість робітників при цьому становитиме:

$$3 \times \frac{24}{8} = 9 \text{ чоловік}$$

Кількість робітників на зміну становитиме 9 осіб. Отже, можемо порохувати середні витрати побутових вод на зміну:

$$0,045 \times 9 = 0,405 \frac{\text{м}^3}{\text{зміну}}, \text{ або } 405 \frac{\text{л}}{\text{зміну}}$$

Тоді, кількість побутових вод на добу становитиме:

					<i>НУХТ БТЕК 04.01.11 КР ПЗ</i>		
		<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>				
<i>Розроб.</i>	<i>Бойко В.Я.</i>			РОЗДІЛ 9 АНАЛІЗ ПЕРСПЕКТИВ ВПРОВАДЖЕННЯ СИСТЕМИ ЕКОЛОГІЗАЦІЇ ВИРОБНИЦТВА	<i>Літ.</i>	<i>Арк.</i>	<i>Аркушів</i>
<i>Перевір.</i>	<i>Грегірчак Н.М.</i>					94	116
<i>Реценз.</i>					<i>Кафедра БТМ</i>		
<i>Н. Контр.</i>							
<i>Затверд.</i>	<i>Стабніков В.П.</i>						

$$405 \times 3 = 1215 \text{ л/добу}$$

Загальна витрата атмосферних стічних тоді становитиме близько 243 л/добу.

Отже, загальна кількість стічних вод становитиме: $321,9+1215+243 \approx 1780$ л/добу

Оскільки за добу утворюється мала кількість стічних вод, пропонується використовувати біофільтри з крапельною фільтрацією [94].

Вода фільтрується через шар грубозернистого матеріалу, вкритого біоплівкою, що складається з аеробних мікроорганізмів. Забруднюючі речовини, що містяться в стічних водах, адсорбуються біоплівкою і піддаються реакції окислення під впливом організмів, що утворюють біоплівку. Реакція окислення відбувається в присутності повітря, що подається на установку природним або штучним шляхом [95].

Біофільтри з природним завантаженням використовуються для очищення невеликих об'ємів стічних вод. Грубозернистий матеріал з великою поверхнею, на якому розташована біоплівка, називається матеріалом-носієм. В якості фільтруючого матеріалу в біофільтрах використовують щебінь, гальку, керамзит і пластикові елементи [95].



Рис.9.1. Схема одноступінчатої роботи біофільтра з рециркуляцією [95]

Принцип дії біофільтра наступний: стічні води надходять в розподільні пристрої, які періодично подають їх на поверхню фільтра; профільтрована через товщу біофільтра вода проходить через отвори в дірчастому дні на суцільне днище і видаляється по лотках з фільтра і далі надходить у вторинні відстійники, в яких затримується біоплівка, відокремлена від чистої води [95].

Високонавантажувані біофільтри відрізняються від крапельних: матеріалом завантаження фільтра (крупність зерен 40-60 мм); штучною продувкою матеріалу завантаження; збільшенням висоти шару фільтрації завантаження; зменшенням тривалості перерви подачі води на фільтр і більшим обсягом робочої поверхні фільтра; введенням рециркуляції і збільшенням навантаження. Високонавантажувані біофільтри характеризуються великою продуктивністю [95].

9.2 Системи знешкодження газоподібних відходів

Для очистки повітря (газів) застосовують такі способи [96]:

а) механічне очищення в відцентрових циклонах («сухих»), в яких частинки матеріалу відокремлюються під дією відцентрових сил і сил тяжкості, а також в циклонах-промивачі («мокрих») при наявності води;

б) очищення за допомогою рукавних (матер'яних) фільтрів, тканину яких затримує на своїй поверхні частинки матеріалу і пропускає очищене повітря;

в) електричну очищення газів (повітря) в електрофільтрах; частинки матеріалу осідають в електричному полі високої напруги;

г) мокру очистку газів (в скрубберах).

Циклони або циклонні фільтри – пристрої фільтрації, які використовують відцентрову силу інерції для видалення твердих часток з забрудненого повітря. Циклонні сепаратори є одним з декількох пристроїв фільтрації забрудненого повітря, оскільки вони, видаляють великі фракції частинок [97].

Це допомагає фільтрам з більш тонким ступенем фільтрації, які встановлені після циклонних сепараторів, боротись з великими частками бруду та відфільтровувати тільки малі фракції забруднень, що забезпечує довший час експлуатації фільтрувальної установки [97].

Циклонні сепаратори працюють подібно до центрифуг. У циклонному сепараторі забруднене повітря подається в камеру. У камері створюється ураганоподібний спіральний вихор. Чисте повітря має меншу інерцію і тому проходить далі по магістралі завдяки формі камери, в той час як тверді частинки мають більшу інерцію і фільтруються під впливом інерційних відцентрових сил. Частинки вдаряються об внутрішні стінки бункера і потрапляють у збірний бункер.

Дно бункера має конічну форму і дозволяє частинкам легко осідати в бункері. Очищене повітря проходить через верхню частину сепаратора і потрапляє в основний повітропровід [97].

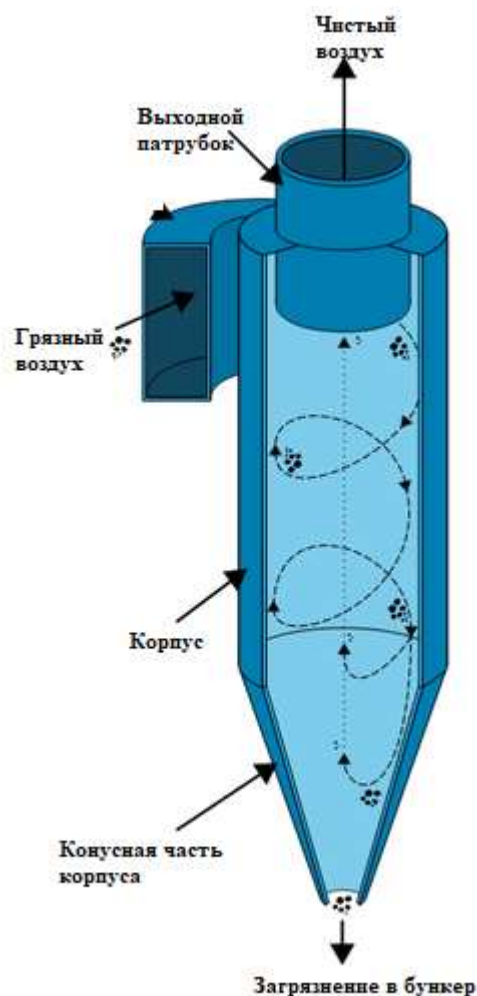


Рис.9.2. Приклад зображення циклону [97]

Більшість циклонів побудовані для фільтрації твердих частинок діаметром більше 10 мкм. Тим не менше, існують такі циклонні фільтри, які спроектовані так, щоб фільтрувати частинки розміром до 2,5 мкм. Також ці сепаратори не є ефективними на дуже великих твердих частинках, наприклад, для твердих часток розміром близько 200 мікрометрів [97].

З усіх пристроїв фільтрації твердих часток, циклонні сепаратори є одними з найменш дорогих. Вони часто використовуються як попередня фільтрація для того, щоб повітря потрапляло до фільтра з меншим ступенем забруднення. Отже,

циклонні сепаратори можна розглядати як «грубі сепаратори», перш ніж повітря досягне тонких етапів фільтрації [97].

Переваги циклонних фільтрів [97]:

- Як правило, циклонні фільтри можуть видалити приблизно 50-99% всіх забруднень у стислутому повітрі, але це багато в чому залежить від розміру часток;
- Циклонні сепаратори не дорогі для установки та обслуговування і не мають рухомих частин. Саме за рахунок цього знижуються витрати на технічне обслуговування та експлуатацію.
- Відфільтровані тверді частинки збираються в сухому вигляді, що полегшує їх видалення.
- Займають малу площу та мають можливість роботи при високих температурах.
- Циклонний фільтр допомагає економити гроші, збільшуючи термін служби рукавних і картриджних фільтрів. Він вловлює більшість пилових частинок до потрапляння в фільтрелементи, за рахунок цього вони не будуть заповнюватися так швидко.

9.3 Системи знешкодження твердих відходів

Тверді відходи представлені в загальному пластиковими контейнерами з-під рагентів. На даний час існує декілька способів знешкодження полімерів. Один з них – це спалювання, але при такій технології в повітря виділяються шкідливі гази, забруднюють довкілля різними шкідливими сполуками, зокрема важкими металами, що може призвести до небажаних глобальних наслідків, таких як парниковий ефект. В промислових варіантах зазвичай такі сполуки уловлюють, але це істотно підвищує вартість знешкодження, а отже й виробництва самої продукції. Інший спосіб, порівняно з першим, більш перспективніший і ефективніший – це вторинна переробка використаних полімерних виробів, якій передують сортування відходів на види і категорії за допомогою сміттесортирувальних заводів. Але, на жаль, такі заводи в нашій країні є прерогативою лише деяких комерційних структур [98].

Найсерйозніших успіхів у сфері керування відходами досягли країни ЄС, де роздільне збирання, вторинне перероблення твердих побутових відходів та їх енергетичне використання сприяє зменшенню кількості розміщуваних на полігонах відходів. Досягається це багато в чому завдяки спеціальним нормативно встановленим на державному рівні вимогам. У США, які є одними із світових «лідерів» за утворенням ТПВ на душу населення (близько 3 кг на добу), навпаки, розміщення твердих побутових відходів на звалищах і полігонах залишається найбільш популярною практикою, що обумовлено економічними міркуваннями. Наявність великих вільних територій дозволяє США поки не застосовувати систему повного рециклінгу, отже роздільне збирання сміття практично не застосовується. У цілому, розвинені країни вибирають шлях ЄС або США. Країни з обмеженими земельними площами дотримуються політики ЄС, а країни з великими вільними площами прагнуть наслідувати приклад США [99].

Неналежна системи поводження з твердими побутовими відходами посилює екологічну небезпеку пластикових відходів, обумовлену їх негативним впливом на довкілля та здоров'я людей. Потрапивши у довкілля пластик біологічно не розкладається, а поступово накопичується у вигляді відходів. Під впливом різних факторів (температури, ультрафіолетового випромінювання, хімічних сполук, контактування з рідинами або іншими предметами, дії морських хвиль тощо) пластикові вироби піддаються деградації, тобто повільно розпадаються на невеликі фрагменти, відомі як мікропластик. По мірі руйнування пластикових частинок збільшується площа ураження ґрунтів та водойм [99].

Іншим способом утилізації відпрацьованих пластикових виробів є їх термічне знешкодження шляхом проведення процесів спалювання, газифікації та піролізу. Таким чином можна зменшити обсяг близько 90 % відходів, які не можна запобігти або переробити. Фахівці стверджують, що найсучасніші сміттєспалювальні заводи є високо механізованими і автоматизованими підприємства, які оснащені складними приладами контролю забруднення повітря для забезпечення екологічної безпеки викидів. Ризик забруднення навколишнього середовища надтоксичними речовинами при спалюванні полімерних відходів був

значно перебільшений і пов'язаний зі старими сміттєспалювальними заводами. При температурі 1200-1400°C, що є звичайною для сучасних заводів, ці речовини незворотно розкладаються, а залишки поглинаються адсорбційними фільтрами. Викиди діоксинів становлять лише 0,6 мкг на тонну полімеру; при спалюванні тонни вугілля виділяється від 1 до 10 мкг діоксинів [99].

Зараз в Україні працює лише один сміттєспалювальний завод «Енергія» (м. Київ), потужності якого дозволяють спалювати лише 20 % ТПВ столиці. Крім того, у м. Люботин Харківської області експлуатується одна установка, а у м. Харкові – дві мобільні сміттєспалювальні установки [99].

Повторне використання відходів (Reuse) – це використання речей за їх первісним призначенням або для виконання нових, невласливих їм раніше, функцій. Ремонт і продовження терміну служби – основа повторного використання. Найяскравіші приклади: оборотна пластикова тара для напоїв, торгівля вживаними речами, відновлення виробів у промислових умовах (remanufacturing) шляхом заміни вузлів і деталей; створення предметів мистецтва і декору з деталей і речей, що відслужили свій термін [99].

Під переробленням (Recycling) мають на увазі фізичне (механічне) чи хімічне перетворення будь-яких речей у нові матеріали або сировину, готові промислові вироби, в упаковку, конструкції, чи інші товари широкого вжитку. Найпоширеніші приклади: виготовлення полімерних виробів з пластикових відходів, флісового одягу і синтепону з PET-пляшок [99].

Під час хімічного перероблення пластикові відходи розкладаються на вихідні молекулимономері, з яких потім знову можна виготовити полімерний продукт з тими ж властивостями. Механічне перероблення – це фізичний процес, який складається з етапів розподілу пластику за видами полімерів, їх очищення, подрібнення і розплаву в гранули (як вторинну сировину) або відразу в кінцеві товари, наприклад в плівку [99].

Задля вирішення проблеми утворення та накопичення твердих побутових відходів, зокрема і пластикових, в Україні в 2017 р. було схвалено Національну стратегію управління відходами до 2030 р. Стратегія розроблена на принципах

політики ЄС згідно з зобов'язаннями, взятими Україною за Угодою про Асоціацію. Одним із головних Технології захисту навколишнього середовища 119 принципів Стратегії є впровадження системи Розширеної відповідальності виробника (РВВ) [99].

Політика РВВ вперше почала застосовуватися на початку 1990-х р.р. серед низки європейських держав, особливо для відходів пакування, і в подальшому поширилася у країнах ЄС та за його межами. З того часу система РВВ сприяла значному збільшенню темпів перероблення відходів, допомогла зекономити державні витрати на управління відходами і сприяла незалеженню сфери управління відходами від економічних коливань і надходжень податків. Згідно з РВВ виробники відповідають за свою продукцію навіть після того як продукція була використана, відслужила свій термін, стала непотрібною споживачеві тощо. Ця відповідальність включає зокрема збір, сортування та підготовку продукції для подальшого перероблення чи відновлення [99].

Особливо треба відзначити, що Розширена відповідальність виробника стосується також і упаковки товарів. Усі ланки виробництва та збуту упаковки (виробники, імпортери та ритейлери) беруть на себе значну вагу відповідальності за вплив упаковки на довкілля. Йдеться і про «первинний» вплив, пов'язаний з відбором матеріалів для упаковки, її розробкою і виробничими процесами як такими. А також – і про вплив «на виході», який включає використання упаковки та її утилізацію після виконання нею своїх функцій. Так, завдяки РВВ в країнах ЄС у 2016 р. перероблялося від 40 до 80 % відходів упаковки [99].

Задля ефективного перероблення твердих побутових відходів, зокрема і відпрацьованого пластику, деякими країнами Європи та світу було введено систему роздільного збирання сміття, законодавчо закріплену ще в кінці ХХ ст. Зараз і Україна намагається впровадити таку систему. Наразі, з 1 січня 2018 р. Україна зобов'язалася сортувати все сміття за видами матеріалів. Основні засади цього викладено у статті 32 Закону України «Про відходи», до якої був доданий відповідний пункт у 2012 р. Якість поділу сміття залежить від активності і

свідомості всіх учасників (громадян, місцевої влади, виробників продукції) на всіх етапах цього процесу [99].

Тому, пропонується, за можливості, обрати варіант вторинної переробки пластикових матеріалів, задля виконання політики РВВ.

РОЗДІЛ 10

НОРМАТИВНО-ТЕХНІЧНА ДОКУМЕНТАЦІЯ, ВИКОРИСТАНА ПІД ЧАС ПРОЕКТУВАННЯ ВИРОБНИЦТВА

Будь-яке виробництво має свою базу нормативно-технічну документації, за якої і регламентується її діяльність. Нерідко для біотехнологічної промисловості застосовуються не лише ДСТУ та/або ТУ, а ще й різноманітні настанови (наприклад, GMP) та принципи (наприклад, HACCP), які закладають положення контролю якості у виробництві, а також її систематизацію.

Виробництво заквашувальних композицій так чи інакше торкається харчової промисловості. Це варто брати до уваги, при систематизації відповідних документів, оскільки порівнюючи з іншими галузями, тою ж самою фармацевтичною, список може кардинально відрізнятись.

Для біотехнологічного виробництва стрептококу термофільного з метою використання в заквасці для одержання сметани варто використовувати наступні документи:

ДСТУ ISO 6887-1:2003 Мікробіологія харчових продуктів та кормів для тварин. Готування досліджуваних проб, вихідної суспензії та десятикратних розведень для мікробіологічного досліджування. Частина 1. Загальні правила готування вихідної суспензії та десятикратних розведень (ISO 6887-1:1999, IDT)

ДСТУ ISO 4833:2006 Мікробіологія харчових продуктів і кормів для тварин. Горизонтальний метод підрахунку мікроорганізмів. Техніка підрахування колоній за температури 30 °C (ISO 4833:2003, IDT)

ДСТУ 3278-95 Система розроблення та поставлення продукції на виробництво. Основні терміни та визначення

ДСТУ 3803-98 Біотехнологія

ДСТУ EN 12689:2019 Біотехнологія. Настанови щодо оцінювання чистоти, біологічної активності та тривкості продуктів на основі мікроорганізмів (EN

					<i>НУХТ БТЕК 04.01.11 КР ПЗ</i>			
		<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>					
<i>Розроб.</i>	<i>Бойко В.Я.</i>				<i>РОЗДІЛ 10 НОРМАТИВНО-ТЕХНІЧНА ДОКУМЕНТАЦІЯ, ВИКОРИСТАНА ПІД ЧАС ПРОЕКТУВАННЯ ВИРОБНИЦТВА</i>	<i>Лім.</i>	<i>Арк.</i>	<i>Аркушів</i>
<i>Перевір.</i>	<i>Грегірчак Н.М.</i>						103	116
<i>Реценз.</i>						<i>Кафедра БТМ</i>		
<i>Н. Контр.</i>								
<i>Затверд.</i>	<i>Стабніков В.П.</i>							

12689:1998, IDT)

ДСТУ 2424-94 Промислова мікробіологія. Терміни та визначення

ДСТУ EN ISO/IEC 17000:2021 Оцінювання відповідності. Словник термінів і загальні принципи (EN ISO/IEC 17000:2020, IDT; ISO/IEC 17000:2020, IDT)

(заміна ДСТУ 2462-94 Сертифікація. Основні поняття. Терміни та визначення)

ДСТУ 3410-96. Система сертифікації УкрСЕПРО. Основні положення

ДСТУ 3413-96 Система сертифікації УкрСЕПРО. Порядок проведення сертифікації продукції

ДСТУ 3414-96 Система сертифікації УкрСЕПРО. Атестація виробництва. Порядок здійснення

ДСТУ 3417-96 Система сертифікації УкрСЕПРО. Процедура визначення результатів сертифікації продукції, що імпортується

ДСТУ 3419-96 Система сертифікації УкрСЕПРО. Сертифікація систем якості. Порядок проведення

КНД 50-004-93 Система сертифікації УкрСЕПРО. Вимоги до випробувальних лабораторій та порядок їх акредитації

ДСТУ ISO 14001:2015 Системи екологічного управління. Вимоги та настанови щодо застосування (ISO 14001:2015, IDT)

ДСТУ ISO 14040:2013 Екологічне управління. Оцінювання життєвого циклу. Принципи та структура (ISO 14040:2006, IDT)

ДСТУ ISO 9001:2015. Системи управління якістю. Вимоги (ISO 9001:2015, IDT)

ДСТУ ISO/TR 10013:2003 Настанови з розроблення документації системи управління якістю

ДСТУ ISO 45001:2019 Системи управління охороною здоров'я та безпекою праці. Вимоги та настанови щодо застосування (ISO 45001:2018, IDT)

ДСТУ EN ISO/IEC 17025:2019 Загальні вимоги до компетентності випробувальних та калібрувальних лабораторій (EN ISO/IEC 17025:2017, IDT; ISO/IEC 17025:2017, IDT)

ДСТУ 4418:2005 Сметана. Технічні умови.

ДК 016-97 Державний класифікатор продукції та послуг, затверджений наказом Держстандарту України від 30.12.97 № 822

ДСТУ 7525:2014 Вода питна. Вимоги та методи контролювання якості

ГОСТ 10444.11-89 Продукти пищевые. Методы определения молочнокислых микроорганизмов (Продукти харчові. Методи визначання молочнокислих мікроорганізмів)

ДСТУ 4540:2006. Напої ацидофільні. Технічні умови.

Постанова Кабінету Міністрів України від 24.01.2001р. № 50 «Про затвердження загальних вимог до здійснення переробки, утилізації, знищення або подальшого використання вилученої з обігу неякісної та небезпечної продукції»

ДСП 201-97 Державні санітарні правила охорони атмосферного повітря населених місць від забруднення хімічними та біологічними речовинами

СанПіН 4630-88 Санитарные правила и нормы охраны поверхностных вод от загрязнения

СП 1042-73 Санитарные правила организации технологических процессов и гигиенические требования к производственному оборудованию (Санітарні правила організації технологічних процесів і гігієнічні вимоги до виробничого обладнання)

НПАОП 0.00-7.14-17 Вимоги безпеки та захисту здоров'я під час використання виробничого обладнання працівниками

ТУ У 15.5-00419880-100:2010 Препарати сухі для сметани, кефіру, йогурту, йогурту в капсулах, сиру кисломолочного, ряжанки, кисломолочних продуктів, в т. ч. штами мікроорганізмів - закваски ViVo для молочних продуктів лікувально-профілактичного харчування, ТИММ – Сімбілакт - М, ТИММ-БМК, ТИММ - Стрептосан, твердих сирів, сухих продуктів

ТУ У 46.39 ГО 073-96 Концентрат бактеріальний сухий «ССК» (сметана)

ДСТУ ISO 22000:2019 Системи управління безпечністю харчових продуктів. Вимоги до будь-якої організації в харчовому ланцюзі (ISO 22000:2018, IDT)

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Гладій М. Р., Просович О. П. Сучасний стан та перспективи розвитку молочної галузі України. Вісник Національного університету “Львівська політехніка”. 2022, 2(10): 20-31.
2. Бойко А. І., Півень О. Т. Моніторинг фальсифікації сметани домашнього виробництва. Міжнародна науково-практична інтернет-конференція «Актуальні питання судової ветеринарії, морфології та патоморфології» (17–18 червня 2021 р., м. Одеса). С. 105-106.
3. Россоха В., Петриченко О. Розвиток ринку молока та молокопродукції в Україні. Матеріали II Міжнародної науково-практичної інтернет-конференції з нагоди святкування 5-ти річчя кафедри глобальної економіки Національного університету біоресурсів і природокористування України (Київ, НУБІП, 11 квітня 2019 р.). С. 195-196.
4. Tari C., Ustok F. I., Harsa S. Optimization of the associative growth of novel yoghurt cultures in the production of biomass, β -galactosidase and lactic acid using response surface methodology. *International Dairy Journal*. 2009, 19(4): 236–243. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2008.10.009>
5. Молочнокислые стрептококки и их полезные свойства. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://symbiter.ua/ru/articles-ru/266-molochnokislye-streptokokki-i-ikh-poleznye-svojstva.html>
6. Cui Y., Xu T., Qu X., Hu T., Jiang X., Zhao C. New insights into various production characteristics of *Streptococcus thermophilus* strains. *International journal of molecular sciences*. 2016, 17(10): 1701. doi: 10.3390/ijms17101701
7. Dan T., Jin R., Ren W., Li T., Chen H., Sun T. Characteristics of milk fermented by *Streptococcus thermophilus* MGA45-4 and the profiles of associated volatile compounds during fermentation and storage. *Molecules*. 2018, 23(4): 878. doi: 10.3390/molecules23040878
8. Burton J. P., Chanyi R. M., Schultz M. Common organisms and probiotics: *Streptococcus thermophilus* (*Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*). In The

microbiota in gastrointestinal pathophysiology. Academic Press. P. 165-169. doi: 10.1016/B978-0-12-804024-9.00019-7

9. Thorning T. K., Raben A., Tholstrup T., Soedamah-Muthu S. S., Givens I., Astrup A. Milk and dairy products: good or bad for human health? An assessment of the totality of scientific evidence. *Food & nutrition research*. 2016, 60(1); 32527. doi: 10.3402/fnr.v60.32527

10. Tarrah A., Castilhos J. D., Rossi R. C., Duarte V. D. S., Ziegler D. R., Corich V., Giacomini A. In vitro probiotic potential and anti-cancer activity of newly isolated folate-producing *Streptococcus thermophilus* strains. *Frontiers in microbiology*. 2018, 9: 2214. doi: 10.3389/fmicb.2018.02214

11. Li S., Tang S., He Q., Gong J., Hu J. Physicochemical, textural and volatile characteristics of fermented milk co-cultured with *Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium animalis* or *Lactobacillus plantarum*. *International Journal of Food Science & Technology*. 2020, 55(2): 461-474. doi: 10.1111/ijfs.14279

12. Сметана Vivo, закваска. [Электронный ресурс]. Режим доступа: http://biolavka.com/smetana_vivo

13. Закваска сметана Бакздрав. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://bakzdrav.ru/internet-magazin/zakvaski/zakvaska-smetana-detail.html>

14. Закваска для сметаны "LAT BIO". [Электронный ресурс]. Режим доступа: https://www.hlebdoma.by/product/zakvaska-%20dlya-smetany-lat-bio_2378

15. Сухая кисломолочная закваска Сметана-Н. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://xn--80aafjltcrpc3a.xn--p1ai/p5/t144/11023/index.html>

16. Закваска Ипровит-ССК для производства сметаны. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://www.iprovit-shop.com.ua/ru-4538770/zakvaska-iprovit-ssk-dlya-proizvodstva-smetany-d21.htm>

17. Закваска ВІВО (VIVO) бактеріальна пробіо йогурт. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://sanitas.ua/product/29089>

18. Закваска MilkDay "Йогурт для детей". [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://www.iprovit-shop.com.ua/ru-4538770/zakvaska-MilkDay-yogyrt-dlya-detey-d71.htm>
19. Закваска для йогурта. [Электронный ресурс]. Режим доступа: https://cheesemaster.com.ua/p1087665363-zakvaska-dlya-jogurta.html?source=merchant_center&gclid=CjwKCAiA7dKMBhBCEiwAO_crFLIb40a9Yon3eYqNH8HPheKt1Yv2Ex9UqAJQDY4KQrk6dLQxcVXD3RoCO1EQAvD_BwE
20. Закваска ГАУДА ЧИЗПРО. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://413.com.ua/p294099986-zakvaska-gauda-chizpro.html>
21. Закваска для сыра Сулугуни. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://milkservis.com/p124362392-zakvaska-dlya-syra.html>
22. Закваска для творога, свежего сыра. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://prodservis.com.ua/p1405247028-zakvaska-dlya-tvoroga.html>
23. Закваска Ипровит-Кефир. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://www.iprovit-shop.com.ua/ru-4538770/zakvaska-iprovit-kefir-d1.htm>
24. Закваска MilkDay "Кефир для детей". [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://www.iprovit-shop.com.ua/ru-4538770/zakvaska-MilkDay-kefir-dlya-detey-d81.htm>
25. Закваски для БиоКефира, Мацони. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://milkservis.com/p9899114-zakvaski-dlya-biokefira.html>
26. Aghababaie M., Khanahmadi M., Beheshti M. Developing a detailed kinetic model for the production of yogurt starter bacteria in single strain cultures. *Food and Bioproducts Processing*. 2015, 94: 657–667. doi:10.1016/j.fbp.2014.09.007.
27. Benattouchea Z., Bouhadib D., Rahoc G. B. Antioxidant and Antibacterial Activities of Exopolysaccharides Produced by Lactic Acid Bacteria Isolated from Yogurt. *International Journal of Food Studies*. 2018, 7: 30-37.

28. Spann R., Lantz A. E., Roca C., Gernaey K. V., Sin G. Model-based process development for a continuous lactic acid bacteria fermentation. *28th European Symposium on Computer Aided Process Engineering*. 2018:1601–1606. doi:10.1016/b978-0-444-64235-6.50279-5.
29. Mahmood T., Masud T., Imran M., Ahmed I., Khalid N. Selection and characterization of probiotic culture of *Streptococcus thermophilus* from dahi. *International journal of food sciences and nutrition*. 2013, 64(4): 494-501. doi: 10.3109/09637486.2012.749840
30. Spann R., Gernaey K. V., Sin G. A compartment model for risk-based monitoring of lactic acid bacteria cultivations. *Biochemical Engineering Journal*. 2019, 151: 107293. doi: 10.1016/j.bej.2019.107293
31. Naumenko O., Danylenko S., Bal-Prylypko L., Gunko S. Development of the biotechnology of *Streptococcus thermophilus* bacteria as producers of exopolysaccharides. *Food science and technology*. 2020, 14(3): 29-36
32. Vamvakaki A. N., Kandarakis I., Kaminarides S., Komaitis M., Papanikolaou S. Cheese whey as a renewable substrate for microbial lipid and biomass production by *Zygomycetes*. *Engineering in Life Sciences*. 2010, 10(4): 348-360. <https://doi.org/10.1002/elsc.201000063>
33. *Streptococcus thermophilus*: характеристики, морфологія. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://uk.warbletoncouncil.org/streptococcus-thermophilus-3326>
34. Laiche A. T., Khelef C., Daoudi H. Study of the Antimicrobial Activity of Bacteriocins Produced by Lactic Bacteria Isolated from Camel Milk in Southern Algeria. *J. Pure Appl. Microbiol.* 2019, 13(2): 1285-1292. <https://dx.doi.org/10.22207/JPAM.13.2.72>
35. Stephens J., Turner D. P. *Streptococcus thermophilus* bacteraemia in a patient with transient bowel ischaemia secondary to polycythaemia. *JMM Case Reports*. 2015, 2(3): 1-3. <http://dx.doi.org/10.1099/jmmcr.0.000060>

36. Сметана. [Електронний ресурс]. Режим доступу: https://edaplus.info/produce/sour_cream.html

37. Що потрібно знати про сметану. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://harchi.info/blogs/san-ayt-j/shcho-potribno-znaty-pro-smetanu>

38. Сметана: как сделать в домашних условиях, чем полезна, какая лучше. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://www.zakvaski.com/ru/stati/smetana-kak-sdelat-v-domashnikh-usloviyakh-chem-polezna-kakaya-luchshe.html>

39. Кубрак Н. Р. Конкурентні переваги виробників на ринку молокопродуктів України. Науковий вісник Херсонського державного університету. Серія «Економічні науки». 2018, (31): 90-95.

40. Сметана. [Електронний ресурс]. Режим доступу: https://www.zakvaski.com/production/smetana-vivo.html?gclid=CjwKCAiAv9ucBhBXEiwA6N8nYADUOdnsPqCRB8TrXMc8zNq08MQF3Q5SWTzyzJcYRuuDMTuEASEufRoCGekQAvD_BwE

41. Закваска для сметаны на 3-5л молока. [Електронний ресурс]. Режим доступу: https://cheesemaster.com.ua/p1087695279-zakvaska-dlya-smetany.html?source=merchant_center&gclid=CjwKCAiAv9ucBhBXEiwA6N8nYAhONbUOqZxmKTqIx-NFII9hK6yzReFAG9uXA9GM44j1wOB2OMJO3BoCT2MQAvD_BwE

42. Закваска для сметаны на 1-3л молока. [Електронний ресурс]. Режим доступу: https://cheesemaster.ua/ru/zakvaska-dlya-smetani-na-1-3l-moloka/?gclid=CjwKCAiAv9ucBhBXEiwA6N8nYAVYCaJ7kb8OVINDzBkusVQjs-zFijVutcJFcCxb_xNmSFDzBstoRoCfTgQAvD_BwE

43. Закваска Zakvaskin для Сметаны 1 г зақваска прямого внесения на 3 л молока. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://rozetka.com.ua/44862512/p44862512/>

44. Закваска для сметани (10шт x 1л). [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://xn--90anbnvc.com.ua/ua/p745036225-zakvaska-dlya-smetany.html>

45. Закваска для Сметаны Питьевого йогурта BIOVITEC PRODALACT TS04 на 20 U/2000 л молока. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://rozetka.com.ua/312703780/p312703780/>

46. ТОВ «ВІВО-АКТИВ». [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://listex.info/merchant/tov-vivoaktiv>

47. Чисельність населення України варіюється від 28 до 34 мільйонів – демографи. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://www.ukrinform.ua/rubric-society/3692466-ciselnist-naselenna-ukraini-variuetsa-vid-28-do-34-miljoniv-demografi.html>

48. Bostan K., Unver Alcaay A., Yalçin S., Eren Vapur U., Nizamlioglu M. Identification and characterization of lactic acid bacteria isolated from traditional cone yoghurt. *Food science and Biotechnology*. 2017, 26(6): 1625-1632. doi: 10.1007/s10068-017-0222-z

49. Ban O. H., Oh S., Park C., Bang W. Y., Lee B. S. Yang S. Y., et al. Safety assessment of *Streptococcus thermophilus* IDCC 2201 used for product manufacturing in Korea. *Food science & nutrition*. 2020, 8(11): 6269-6274. doi: 10.1002/fsn3.1925

50. BioFlo® Pro. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://online-shop.eppendorf.at/SP-en/Bioprocess-44559/Bioprocess-Systems-60767/BioFloPro-PF-12577.html>

51. Wang T., Lu W., Lu S., Kong J. Protective role of glutathione against oxidative stress in *Streptococcus thermophilus*. *International dairy journal*. 2015, 45, 41-47. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2015.01.015>

52. Конспект лекцій з дисципліни «Асептика біотехнологічних виробництв» освітньо-професійної програми другого (магістерського) рівня вищої освіти зі спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія» усіх форм навчання / Укл.: Головей О.П. , Гуляєв В.М. – Кам`янське, ДДТУ, 2017 р., 140 с.

53. Фільтрувальний матеріал очищення повітря G4, 20 мм. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://aff.in.ua/ua/p1178996009-filtruyuschij-material-ochistki.html>

54. Кишенькові фільтри F5 для вентиляції від NEW FILTER. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://newfilter.com.ua/ua/ventilacia/kishenkovi-filtri-f5-dlya-ventilyatsiyi.html>

55. HEPA фільтри для вентиляції від NEW FILTER. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://newfilter.com.ua/ua/ventilacia/hepa-filtri-dlya-sistem-ventilyatsiyi.html>

56. Дезінфектанти або дезінфекційні засоби. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://www.pharmencyclopedia.com.ua/article/2423/dezinfektanti-abo-dezinfekcijni-zasobi>

57. Сучасні дезінфекційні засоби. [Електронний ресурс]. Режим доступу: https://www.oblses.ck.ua/index.php?option=com_content&view=article&id=1466:suchasni-dezinfektsiini-zasoby&catid=41:2013-05-13-02-14-47&Itemid=57

58. Державний реєстр дезінфекційних засобів 2020 рік. [Електронний ресурс]. Режим доступу: https://moz.gov.ua/uploads/ckeditor/%D0%B4%D0%BE%D0%BA%D1%83%D0%BC%D0%B5%D0%BD%D1%82%D0%B8/%D0%94%D0%BE%D1%81%D1%82%D1%83%D0%BF%20%D0%B4%D0%BE%20%D0%BF%D1%83%D0%B1%D0%BB%D1%96%D1%87%D0%BD%D0%BE%D1%97%20%D1%96%D0%BD%D1%84%D0%BE%D1%80%D0%BC%D0%B0%D1%86%D1%96%D1%97/2020_%D1%80%D0%B5%D1%94%D1%81%D1%82%D1%80%20%D0%B4%D0%B5%D0%B7%D0%B7%D0%B0%D1%81%D0%BE%D0%B1%D1%96%D0%B21.pdf

59. Міродез. [Електронний ресурс]. Режим доступу: http://www.xn--80aaolbmrsqie.com.ua/ua/catalog_item?attr_id=19305

60. Септодор Форте, 1000 мл. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://hlorka.in.ua/p610886216-septodor-forte-1000.html>

61. Ласепт 344-М. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://lasept.com.ua/ru/dlya-dezinfekcii-poverhnostey/lasept-344-m>
62. Стераниос 20% концентрат (500мл) Anios, дезсредство для инструментов. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://medsolve.com.ua/meditsinskim-uchrezhdeniyam/dezinfektsiya/sredstvo-dlya-dezinfektsii-instrumentov-steranios-20-kontsentrat-flakon-na-500-ml-g-01-0100.html>
63. Фамідез ФОРТЕ. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://www.aitas.com.ua/product/famidez-forte/>
64. Клиндезин ОПА плюс дезінфікуючий засіб, 3,8 л. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://profiplus.in.ua/ua/p772223653-klindezin-opa-plyus.html>
65. Секусепт® актив. [Електронний ресурс]. Режим доступу: https://dezplus.com.ua/catalogue/disinfection/pre-sterilized-cleansing/Sekusept_Aktiv.html
66. Засіб дезінфікуючий "ЕСТЕР ДЕЗ" надощтова кислота. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://egh.prom.ua/ua/p1184969069-zasib-dezinfikuyuchij-ester.html>
67. Дезосепт-форте дезінфектант на надощтовій кислоті. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://ekohimiya.com.ua/ua/p59180331-dezosept-forte-dezinfektant.html>
68. Станція СІР-мийки обладнання КМЗ-СЦМ. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://kmbp.com.ua/produktsiya/rishennia-dlia-molochnoi-promyslovosti/stantsiji-cip-mijki/stantsiia-cip-myiky-obladnannia-kmz-stsm>
69. Миючі засоби для харчової промисловості – гігієнічні вимоги. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://ekohimiya.com.ua/ua/a182346-moyuschie-sredstva-dlya.html>
70. Методичні рекомендації з дисципліни «Гігієна та санітарія харчових виробництв» для виконання лабораторних занять для здобувачів вищої освіти

ступеня «Бакалавр» освітньої спеціальності 181 «Харчові технології» денної форми навчання / Укл. А. О. Бондар / Миколаїв: МНАУ. – 2020 р. – с. 75.

71. ЛОЙРАН ПРО ФОАМ. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://novahim.com.ua/mojushchie-sredstva-dlja-predprijatij-mjasopererabatyvajushchej-promyshlennosti/mojushchie-sredstva-dlja-ochistki-tehnologicheskogo-oborudovaniya-stolov-sten/lojran-pro-14-mojushchee-sredstvo-antibakterialnym-dejstviem>

72. ТАНДЕМ ДЕЗ. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://novahim.com.ua/mojushchie-sredstva-dlja-predprijatij-mjasopererabatyvajushchej-promyshlennosti/mojushchie-sredstva-dlja-ochistki-tehnologicheskogo-oborudovaniya-stolov-sten/tandem-21-mojushchee-sredstvo-s-antibakterialnym-dejstviem-4>

73. ЭКСАН ПРО ДЕЗ. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://novahim.com.ua/mojushchie-sredstva-dlja-predprijatij-mjasopererabatyvajushchej-promyshlennosti/mojushchie-sredstva-dlja-ochistki-tehnologicheskogo-oborudovaniya-stolov-sten/eksan-pro-dez-mojushchee-sredstvo-dlja-udaleniya-zhirovyyh-zagryaznenij-4>

74. Кислотний концентрований миючий засіб Industry-1. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://prom.ua/ua/p1488415061-kislotnoe-kontsentririvannoe-moyuschee.html>

75. Кислотний низькопінний мийний засіб "CRYSTAL". [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://prom.ua/ua/p1253353422-kislotnoe-nizkopennoe-moyuschee.html?&primelead=M4xNQ>

76. Миючий засіб концентрований кислотний ПРОФІ 151. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://prom.ua/ua/p1477309655-moyuschee-sredstvo-kontsentririvannoe.html?&primelead=M4xNQ>

77. Черепанський В. В., Грегірчак Н. М. Особливості технологічного процесу виробництва пробіотичного препарату на основі лактобацил. *Наукові праці НУХТ*. 2020, 26 (2): 45-59.

78. Champagne C. P., Gardner N. J. The effect of protective ingredients on the survival of immobilized cells of *Streptococcus thermophilus* to air and freeze-drying. *Electronic Journal of Biotechnology*. 2001, 4(3): 7-8.

79. Сушіння. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://www.pharmencyclopedia.com.ua/article/712/sushinnya>

80. Сублімаційна (ліофільна) сушка. Режим доступу: <https://www.sublimat.com.ua/uk/sublimatsionnaja-sushilka%20-siriy>

81. Powerfuge P12. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://www.carrbiosystems.com/products/stainless-steel-centrifuges/powerfuge-p12-stainless-steel-centrifugation>

82. Tan D. T., Poh P. E., Chin S. K. Microorganism preservation by convective air-drying—A review. *Drying Technology*. 2018, 36(7): 764-779. <https://doi.org/10.1080/07373937.2017.1354876>

83. Сушка для пилку 60 кг. [Електронний ресурс]. Режим доступу: https://lyson-ukraine.com.ua/ua/p1517585364-sushka-dlya-pyltsy.html?source=merchant_center&gclid=Cj0KCQjwz6ShBhCMARIsAH9A0qWkmM140fbieUXdiy62fa_yUcr5HZjnVyTKlw0A4ESt0oQpOJCqsU8aAinGEALw_wcB

84. Мікробіологічний моніторинг (мікробіологічний контроль) підприємств. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://uk.interdez.com.ua/mikrobiologicheskij-monitoring-predpriyatij>

85. 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.

86. Пирог Т. П., Антонюк М.М. Загальна мікробіологія і вірусологія: лабораторний практикум для студ. освітнього ступеня «Бакалавр» спец. 162 «Біотехнології та біоінженерія». – К.: НУХТ, 2016. – с. 21-35.

87. 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

88. Визначення вмісту лактози йодометричним методом. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://kc.pnu.edu.ua/wp-content/uploads/sites/11/2020/09/Lab-2-lactose.pdf>

89. Скропишева О. В., Гнідець В. П., Лисенко В. А. Сучасні методи визначення амінокислот в харчових продуктах. *Вісник Херсонського національного технічного університету*. 2017, (2): 191-198.

90. Свириденко Г. М. Требования к бактериальным закваскам для производства ферментируемых молочных продуктов. *Сыроделие и маслоделие*. 2014, (4): 24-27.

91. Cartasev A. Identification, characterization and industrial utilization of autochthonous strains of *Streptococcus thermophilus* isolated from Moldavian raw milk and dairy products of spontaneous fermentation. *Ukrainian food journal*. 2018, 7(3): 453-463. <https://doi.org/10.24263/2304-974X-2018-7-3-10>

92. Okunevska S. O., Tkachenko N. A., Nazarenko J. V. Визначення ефективності режиму теплового оброблення молочної основи у технології сиркових десертів для людей, схильних до артеріальної гіпертензії. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Food Technologies*. 2016, 18(2): 174-177.

93. Мікробіологічний контроль якості заквасок. [Електронний ресурс]. Режим доступу: http://www.ni.biz.ua/9/9_2/9_23785_mikrobiologicheskij-kontrol-kachestva-zakvasok.html

94. Очищення в біофільтрах. [Електронний ресурс]. Режим доступу: https://stud.com.ua/177745/ekologiya/ochischennya_biofiltrah

95. Біофільтр. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://www.wiki-data.uk-ua.nina.az/%D0%91%D1%96%D0%BE%D1%84%D1%96%D0%BB%D1%8C%D1%82%D1%80.html>

96. Механічна очистка. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://sites.google.com/view/prirodoohoronnisporidi/%D0%BE%D1%85%D0%BE%D1%80%D0%BE%D0%BD%D0%B0-%D0%B0%D1%82%D0%BC%D0%BE%D1%81%D1%84%D0%B5%D1%80%D0%BD%D0%BE%D0%B3%D0%BE-%D0%BF%D0%BE%D0%B2%D1%96%D1%82%D1%80%D1%8F/%D0%BC%D0%B5%D1%85%D0%B0%D0%BD%D1%96%D1%87%D0%BD%D0%B0-%D0%BE%D1%87%D0%B8%D1%81%D1%82%D0%BA%D0%B0-%D0%BF%D0%BE%D0%B2%D1%96%D1%82%D1%80%D1%8F>

97. Циклонні сепаратори. Особливості та принцип їх роботи. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://abtechnologies.com.ua/korysni-instrumenty/tsiklonni-separatori-osoblivosti-ta-printsip-yih-roboti/>

98. Трунова І. О., Кононова О. О. Позитивні та негативні аспекти використання пластику. *Вид-во СумДУ*. 2010.

99. Михайлова Є. О. Пластикове забруднення—одна з головних екологічних проблем людства. *Комунальне господарство міст*. 2020, 157(4): 109-121. <https://doi.org/10.33042/2522-1809-2020-4-157-109-121>