

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ
Інститут (факультет) Біотехнології та екологічного контролю
Кафедра біотехнології і мікробіології

«До захисту в ЕК»

Директор інституту(декан факультету)

Наталія ГРЕГІРЧАК

(підпис)

(ім'я та прізвище)

«__» __ лютого 2024 р.

«До захисту допущено»

Завідувач кафедри

Віктор СТАБНІКОВ

(підпис)

(ім'я та прізвище)

«__» __ лютого 2024 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 *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* для використання у харчових продуктах»

Виконала: здобувачка 5 курсу, групи 1

МИХАЙЛОВА Поліна Олександрівна

(прізвище, ім'я, по батькові повністю)

Керівник ПЕНЧУК Юрій Миколайович

(прізвище, ім'я, по батькові повністю)

(підпис)

(підпис)

Консультанти

(ім'я та прізвище)

(підпис)

(ім'я та прізвище)

(підпис)

(ім'я та прізвище)

(підпис)

Рецензент Олександра КОСТЮК

(ім'я та прізвище)

(підпис)

Я як здобувачка Національного університету харчових технологій розумію і підтримую політику університету з академічної доброчесності. Я не надавала і не одержувала недозволеної допомоги під час підготовки цієї роботи. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

Здобувач

(підпис)

Київ – 2024 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

«30» жовтня

2023 року

ЗАВДАННЯ

НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ ЗДОБУВАЧА

МИХАЙЛОВА Поліна Олександрівна

(прізвище, ім'я, по батькові)

1. Тема роботи «Одержання біомаси *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* для використання у харчових продуктах»

керівник роботи ПЕНЧУК Юрій Миколайович, доцент.

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

затверджені наказом закладу вищої освіти від «6» листопада 2023 року № 915-кс

2. Строк подання здобувачем роботи 29.01.2024

3. Вихідні дані до роботи: біологічний агент: *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*; цільовий продукт: біомаса; геометричний об'єм ферментера: 100 л; коефіцієнт заповнення: 0,8

4. Зміст пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно розробити)

Характеристика цільового продукту; обґрунтування вибору та характеристика

біологічного агента; техніко-економічне обґрунтування; обґрунтування вибору технологічної схеми; специфікація обладнання доферментаційних процесів та виробничого біосинтезу; опис технологічної схеми доферментаційних процесів та виробничого біосинтезу; контроль виробництва;

5. Перелік графічного матеріалу

Технологічна схема біосинтезу біомаси - 1 аркуш формату А1

Апаратурна схема біосинтезу біомаси - 1 аркуш формату А1

6. Консультанти розділів роботи

Розділ	Прізвище, ініціали та посада консультанта	Підпис, дата	

7. Дата видачі завдання 30 жовтня 2023 року

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№	Назва етапів виконання кваліфікаційної роботи	Строк виконання етапів роботи	Примітка
1.	<i>Характеристика цільового продукту</i>	<i>30.10.2023– 12.11.2023</i>	
2.	<i>Обґрунтування вибору та характеристика біологічного агента</i>	<i>13.11.2023-19.11.2023</i>	
3.	<i>Техніко-економічне обґрунтування</i>	<i>20.11.2023-03.12.2023</i>	
4.	<i>Обґрунтування вибору технологічної схеми виробництва</i>	<i>04.12.2023-17.12.2023</i>	
5.	<i>Специфікація обладнання</i>	<i>18.12.2023-24.12.2023</i>	
6.	<i>Опис технологічної схеми</i>	<i>25.12.2023-31.12.2023</i>	
7.	<i>Контроль виробництва</i>	<i>01.01.2024-05.01.2024</i>	
8.	<i>Оформлення кваліфікаційної роботи</i>	<i>06.01.2024-14.01.2024</i>	
9.	<i>Оформлення графічної частини</i>	<i>15.01.2024-22.01.2024</i>	

Здобувач

(підпис)

Поліна МИХАЙЛОВА

(ім'я та прізвище)

Керівник роботи

(підпис)

Юрій ПЕНЧУК

(ім'я та прізвище)

РЕФЕРАТ

Кваліфікаційну роботу присвячено розробці технологічної та апаратурної схеми культивування біомаси *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* DSM 20081 який синтезує на середовищі з лактозою 4.6×10^8 КУО. Розрахована потужність його виробництва становить 80 л культуральної рідини за цикл. Технологічний процес складається з допоміжних (підготовка аераційного повітря, приготування та стерилізація поживного середовища, розчину сульфатної кислоти та гідроксиду натрію, та ін.) та основних робіт (виращування інокуляту в колбах на качалці, інокуляторі та посівному апараті, виробничого біосинтезу).

Кваліфікаційна робота викладена на 70 сторінках друкованого тексту, містить 10 таблиць, 12 рисунків і складається з вступу, восьми розділів, списку використаної літератури (46 джерел) та графічної частини (2 креслення формату А1).

Ключові слова: *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* DSM 20081, молочнокислі бактерії, лактоза, біомаса, біосинтез, культивування.

ЗМІСТ

ВСТУП	7
РОЗДІЛ 1. ХАРАКТЕРИСТИКА КІНЦЕВОЇ ПРОДУКЦІЇ ВИРОБНИЦТВА	9
РОЗДІЛ 2. ОБГРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТА ХАРАКТЕРИСТИКА БІОЛОГІЧНОГО АГЕНТА	14
2.1. Обґрунтування вибору біологічного агента та поживного середовища для його культивування.....	14
2.2. Морфолого-культуральні та фізіолого-біохімічні ознаки біологічного агента	17
2.3. Таксономічний статус біологічного агента	19
РОЗДІЛ 3. ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБГРУНТУВАННЯ	20
3.1. Потреба у цільовому продукті	20
3.2. Розрахунок потужності виробництва	20
3.3. Розрахунок кількості виробничих циклів для отримання річної потреби продукту і геометричного об'єму ферментера.....	21
3.4. Розрахунок кількості стадій підготовки посівного матеріалу	22
3.5. Біосинтез цільового продукту	23
3.5.1. Катаболізм ростового субстрату у біологічного агента.....	23
3.5.2. Біотрансформація ростового субстрату у цільовий продукт	26
РОЗДІЛ 4. ОБГРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ	29
4.1. Обґрунтування способу культивування і типу ферментера	29
4.2. Обґрунтування вибору стадії підготовки повітря.....	30
4.3. Особливості підготовки та стерилізації поживного середовища.....	30
4.4. Вибір мийних та дезінфікуючих засобів.....	31
РОЗДІЛ 5. СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ	35
РОЗДІЛ 6. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ	38
РОЗДІЛ 7. КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА	49
7.1. Карта постадійного контролю доферментаційних процесів та процесу виробничого біосинтезу.....	49
7.2. Мікробіологічний контроль	55

7.3. Показники росту і синтезу цільового продукту	57
7.3.1. Концентрація цільового продукту	57
7.3.2. Концентрація джерела вуглецю та азоту	57
РОЗДІЛ 8. ОХОРОНА ДОВКІЛЛЯ	60
8.1. Аналіз технологічної схеми виробництва цільового продукту на місцях емісії твердих, рідких та газоподібних відходів	60
8.2. Перспективи впровадження системи екологізації виробництва	60
8.2.1. Система знешкодження та утилізації рідких відходів	60
8.2.2. Система знешкодження та утилізації газоповітряних відходів	63
8.2.3. Система знешкодження та утилізації твердих відходів	64
СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ	65

ВСТУП

Бактерії родини *Lactobacillus* разом із *Bifidobacterium* відносять до основної мікрофлори людини і виявляють майже в усіх біотопах травного тракту. Лактобактерії неймовірно різноманітні за формою та розмірами, можуть мають форму від коротких до довгих ниткоподібних паличок, розташовуються поодинокі, парами або короткими ланцюжками [1].

Раціональне харчування є найбільш важливим і ефективним фактором, що забезпечує збереження життя і здоров'я людини. З найдавніших часів відома особлива роль молока і молочних продуктів, вироблених з нього, в харчуванні людей. Найбільш перспективні в процесі організації лікувального та дієтичного харчування – комбіновані кисломолочні продукти як джерело живих клітин мікроорганізмів, які беруть участь у мікроекології шлунково-кишкового тракту людини [2].

Також завдяки тому, що лактобацили здатні синтезувати органічні кислоти (молочну, оцтову), багатоатомні спирти, ферменти глікозидази і ліпази, бактеріоцини, вітаміни групи А, В, С і К, їх лізати використовують як компонент косметичних кремів для догляду за чутливою проблемною шкірою при зовнішньому лікуванні гіперфункції сальних залоз. Також лізати *Lactobacillus* вносять у захисні косметичні креми і маски з догляду за шкірою з ослабленим імунним захистом, для регенерації і відновлення шкіри, для боротьби з віковим старінням шкіри та старінням, викликаним ультрафіолетовим опроміненням (фотостарінням), для поліпшення тургору шкіри, її еластичності, пружності та відновлення рогового шару, а також для комплексного догляду за шкірою, включаючи живлення, зволоження, профілактику старіння [1].

					НУХТ БТЕК 05.01.20 КР ПЗ			
Зм	Арк	№ докум.	Підп ис	Дата				
Розробив		Михайлова П.О.			ВСТУП			
Перевірив		Пенчук Ю.М.						
Реценз.								
Н. контр.								
Затверд.		Стабніков В.П.						
					Лт.	Арк.	Аркушів	
					Кафедра БТМ			

Новизна курсового проекту полягає у використанні штаму *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* DSM 20081, який на середовищі з лактозою утворює біомасу 4.6×10^8 КУО. Культивування відбувається на середовищі яке містить сухе знежирене молоко, та дослідження [3] демонструє, як збільшується кількість КУО/мл із збільшенням кількості лактози у поживному середовищі.

Актуальність полягає у розширенні вітчизняного ринку бактеріальних заквасок. Молочні пробіотичні продукти, такі як йогурти, можуть бути більш доступними за ціною, враховуючи собівартість культивування штаму *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* DSM 20081 за зазначеною технологічною схемою, описаній в роботі.

РОЗДІЛ 1. ХАРАКТЕРИСТИКА КІНЦЕВОЇ ПРОДУКЦІЇ ВИРОБНИЦТВА

Кінцевий продукт виробництва – біомаса *L. delbrueckii ssp. Bulgaricus*, що використовується для виготовлення пробіотичних заквасок. Розглянемо приклад форми випуску готової пробіотичної закваски на прикладі препарату «Закваска бактеріальна Vivo Йогурт по 0.5 г №4 у флаконах»:

Форма випуску: пластикові флакони по 0,5 г;

Маса нетто: 2,0 г;

Допустиме відхилення маси нетто: 3%;

Склад закваски: *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium lactis*; 1 г продукту містить не менше 2×10^{10} КУО молочнокислих бактерій.

Активність закваски: кількості бактерій у флаконі вистачить для гарантованого заквашування 3 літрів молока (наприкінці терміну придатності закваски). Для приготування йогурту у тепле молоко 40 °С додають закваску. Ретельно загортають ємність в великий рушник, щоб суміш залишалася теплою. Залишають сквашуватися на 8-10 годин у теплому місці. Після загустіння продукту його поміщають у холодильник до охолодження.

Умови зберігання: У холодильнику (при температурі + 2 ..+ 8 °С) - 12 місяців.

Пакування: стерильні пластикові флакони по 0,5 г, одна упаковка закваски містить 4 флакони.

						НУХТ БТЕК 05.01.20 КР ПЗ									
Зм	Арк	№ докум.		Підп ис	Дата	РОЗДІЛ 1. Характеристика кінцевої продукції виробництва				Лт.		Арк.		Аркушів	
Розробив		Михайлова П.О.													
Перевірив		Пенчук Ю.М.													
Реценз.															
Н. контр.															
Затверд.		Стабніков В.П.													
												Кафедра БТМ			

Маркування: згідно ТУ У 15.5-3060300036-001:2009 кожен флакон має містити етикетку з наступною інформацією:

- назва продукту;
- бактеріальний склад;
- назва, адреса та контактні дані виробництва;
- товарний знак;
- маса нетто;
- термін придатності;
- умови зберігання;
- номер партії;
- код партії виробництва;
- інформацію про відсутність у продукті генетично модифікованих організмів;
- знак відповідності якості згідно ДСТУ 2296 (Система сертифікації УкрСЕПРО. Знак відповідності. Форма, розміри, технічні вимоги та правила застосування. Зі Зміною № 1 (ІПС № 11-2002);
- позначення технічних умов ТУ У 15.5-3060300036-001:2009.

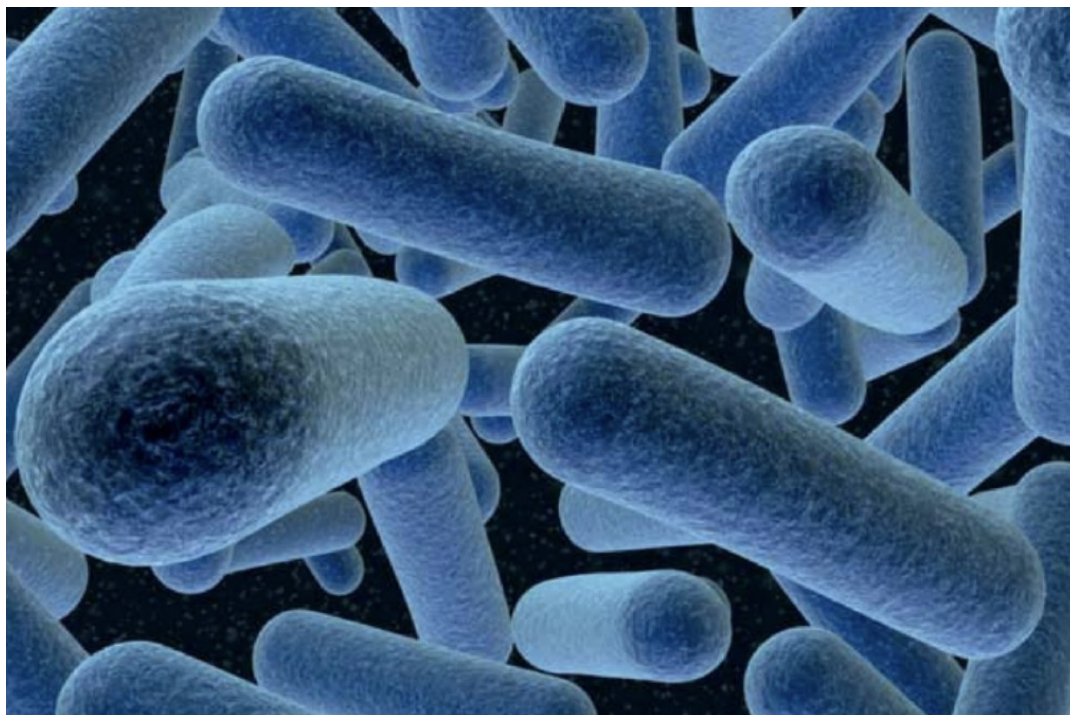
Традиційно йогурт виготовляється з використанням *Streptococcus thermophilus* і *L. delbrueckii ssp. bulgaricus* як закваски. Стверджується, що ці організми мають певну користь для здоров'я, однак вони не є природними мешканцями кишечника. Тому йогурт слід розглядати як пробіотичний продукт. *L. delbrueckii ssp. bulgaricus* і *S. thermophilus* у добовій дозі 10^9 КУО. Кілька авторів вказали, що для пробіотичного ефекту потрібна мінімальна концентрація 10^6 КУО/г продукту.

Традиційні культури, які використовуються для виготовлення йогурту (наприклад, *L. delbrueckii ssp. bulgaricus* і *S. thermophilus*), містять значну кількість b-

D-галактозидази, тому як йогурт, так і пробіотичний йогурт добре переносяться особами, які страждають від порушення всмоктування лактози.

Повідомляється, що йогурт має гіпохолестеринемічний ефект, а споживання великої кількості культивованого йогурту знижує рівень холестерину в сироватці крові. Усвідомлюючи користь для здоров'я, пробіотичні бактерії повинні бути життєздатними та доступний у високій концентрації, зазвичай 10^6 КУО г/л продукту. Було припущено, що це пов'язано з фактором, який створюється або посилюється дією закваски під час бродіння йогурту [4].

Крім того, що закваска має різні позитивні ефекти, якщо її використовувати для приготування хлібобулочних виробів. Порівняно з іншими розпушувачами



(наприклад, пекарськими дріжджами) він покращує консистенцію, смак, харчову цінність і термін зберігання. Залежно від рівня підкислення молочної кислоти використання закваски призводить до збільшення об'єму хліба. Перед випіканням також було показано зниження стійкості тіста до розтягування та збільшення як розтяжності, так і ступеня розм'якшення. Загалом, бродіння закваски покращує утримання газу в хлібному тісті. Підкислення впливає на розчинність структуроутворюючих компонентів, таких як глютен, крохмаль і арабіноксилани, і позитивно впливає на активність ендогенних ферментів зернових культур. Підкислення молочної кислоти також впливає на поведінку тіста при змішуванні, завдяки чому, коли досягається низький рН, досягається коротший час замішування та менша стабільність, ніж у звичайного тіста [5].

Рис. 1.1. Зображення *L. delbrueckii ssp. Bulgaricus*



Рис. 1.2. Приклади заквасок, що використовуються для виробництва йогурту, фірми «Vivo» та «GoodFood»

РОЗДІЛ 2. ОБГРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТА ХАРАКТЕРИСТИКА БІОЛОГІЧНОГО АГЕНТА

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

Вибір біологічного агента здійснюється виходячи із продуктивності штаму, в нашому випадку кількості КУО/мл за певну кількість годин. Також враховується вартість поживного середовища, що використовується для культивування обраного біологічного агента.

Таким чином, здійснимо порівняння штамів виходячи із даних таблиць 2.1 та 2.2. Середовище для культивування штамів *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* ATCC 11842 та *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* LBB.B5-R використовується однакове – MRS, з вартістю 136,21 грн за 1 л поживного середовища. *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* ATCC 11842 утворює 10^7 КУО/мл за 24 години, *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* LBB.B5-R за цей самий час утворює 10^6 КУО/мл. Можна побачити, що штам *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* DSM 20081 буде вигідніший ніж два штами що порівнювалися вище, оскільки цей штам утворює 4.6×10^8 КУО/мл за 24 години при вартості поживного середовища 33,9 грн за 1 л. Тому обираємо для культивування штам *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* DSM 20081.

Таблиця 2.1

		Назва штаму та літературне джерело		Склад поживного середовища, г/л		Концен- трація клітин, КУО/мл		Трива- лість культи- вування, год		Умови культивування					
						НУХТ БТЕК 05.01.20 КР ПЗ									
Зм	Арк	№ докум.	Підп ис	Дата											
Розробив		Михайлова П.О.				РОЗДІЛ 2. Обґрунтування вибору та характеристика біологічного агента				Лт.		Арк.		Аркушів	
Перевірів		Пенчук Ю.М.													
Реценз.										Кафедра БТМ					
Н. контр.															
Затверд.		Стабніков В.П.													

<i>Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus</i> DSM 20081 [6]	•Моногідрат лактози – 36; •Казеїновий пептон – 10; •Дріжджовий екстракт – 5; •Полісорбат-80 – 1; •Ацетат натрію $C_2H_3NaO_2$ -5; •Дигідрофосфат калію $KH_2 PO_4$ – 2; •Цитрат амонію $(NH_4)3C_6H_5O_7$ – 2; •Гептагідрат сульфату магнію $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ – 0,2; •Моногідрат сульфату марганцю $MnSO_4 \cdot H_2O$ – 0,05.	4.6×10^8	24	40 °C, pH – 6, у анаеробних умовах.
<i>Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus</i> ATCC 11842 [7]	•Глюкоза – 20.00 •Агар – 12.00 •Протеозопептон – 10.00 •М'ясний екстракт – 10.00 •Дріжджовий екстракт – 5.00 •Ацетат натрію – 5.00 •Цитрат амонію – 2.00 •Калію гідрофосфат – 2.00 •Полісорбат-80 – 1.00 •Сульфат магнію – 0.10 •Сульфат марганцю – 0.50	10^7	24	37 °C, pH – 6, у анаеробних умовах
<i>L. delbrueckii subsp. bulgaricus</i> LBB.B5-R [8]	•Глюкоза – 20.00 •Агар – 12.00 •Протеозопептон – 10.00 •М'ясний екстракт – 10.00 •Дріжджовий екстракт – 5.00 •Ацетат натрію – 5.00 •Цитрат амонію – 2.00 •Калію гідрофосфат – 2.00 •Полісорбат-80 – 1.00	10^6	24	37 °C, pH – 6, у анаеробних умовах

	•Сульфат магнію – 0.10			
	•Сульфат марганцю – 0.50			

Таблиця 2.2

Вартість поживних середовищ для культивування продуцентів

Продуцент	Компонент поживного середовища	Концентрація у ПС, г/л	Ціна компонента, грн/кг	Вартість компонента (грн) на 1 л середовища	Джерело інформації (1, 2, 3)*
<i>Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus</i> DSM 20081	Моногідрат лактози	36	188	6,7	1
	Казеїновий пептон	10	1 604	16,04	2
	Дріжджовий екстракт	5	1 800	9	3
	Полісорбат-80	1	698	0,6	4
	Ацетат натрію	5	170	0,8	1
	Дигідрофосфат калію	2	4,16	0,008	3
	Цитрат амонію	2	380	0,76	4
	Гептагідрат сульфату магнію	0,2	75	0,015	3
	Моногідрат сульфату марганцю	0,05	99	0,004	4
	Усього – 33,9 грн				
<i>Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus</i> ATCC 11842	Глюкоза	20	100	2	3
	Агар	12	642	7,7	3
	Протеозопептон	10	4 800	48	3
	М'ясний екстракт	10	6 718	67	5
	Дріжджовий екстракт	5	1 800	9	3
	Ацетат натрію	5	170	0.8	1
<i>L. delbrueckii subsp. bulgaricus</i> LBB.B5-R	Цитрат амонію	2	380	0,76	4
	Калію гідрофосфат	2	152	0,3	4
	Полісорбат-80	1	698	0,6	4
	Сульфат магнію	0,1	152	0,01	4
	Сульфат марганцю	0,5	99	0,04	4
	Усього – 136,21 грн				

Примітка. * - Ціни наведено станом на 2023 рік. 1 - <https://rozetka.com.ua>; 2 - <https://logiclab.com.ua/uk>; 3 - <https://prom.ua/ua/>; 4 - <https://klebrig.com.ua/ua/>; 5 - <https://realab.ua/uk>

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

Морфолого-культуральні ознаки. *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* є грампозитивною, паличкоподібною бактерією і росте ланцюжками різної довжини, але часто у вигляді трьох-чотирьох клітин ($0,5\text{--}0,8 \times 2,0\text{--}9,0$ мкм). Неоптимальні умови росту, як правило, призводять до більшої кількості клітин у кожному ланцюзі [9].

Lactobacillus із закваски утворюють колонії, що прилипають до поверхні живильного середовища, і вони мають плоску та непрозору поверхню з зубчастими краями [10].

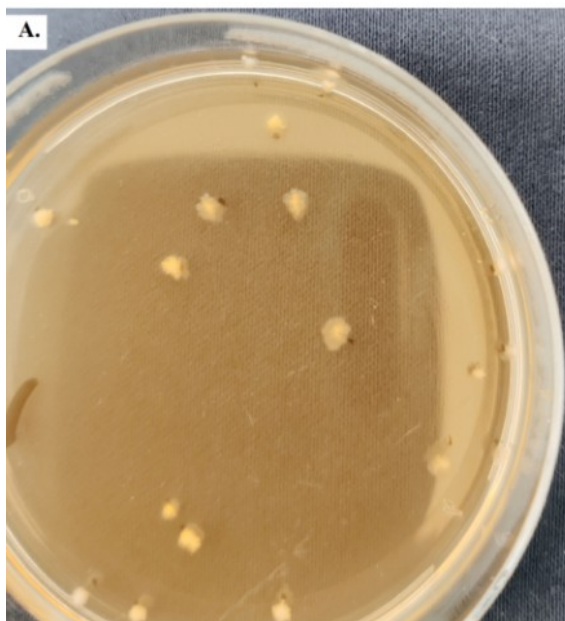


Рис. 2.1. Колонії *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* на MRS



Рис. 2.2. Колонії *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* на China Blue Lactose Agar

Фізіолого-біохімічні ознаки. *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* демонструє гомоферментативний метаболізм лактози, але замість L(+) молочної кислоти ця бактерія виробляє D(-) молочну кислоту. Це вважалося недоліком, особливо в харчуванні немовлят. Рівень D(-) молочної кислоти, що виробляється *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* може досягати 18 г/кг йогурту. *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* є набагато більш стійкий до кислот, ніж *S. thermophilus*, що може призвести до певного домінування *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* наприкінці циклу бродіння йогурту та в зберігаються йогуртах, які мають досить високу кислотність. Лактоза, фруктоза і глюкоза утилізуються *L. delbrueckii subsp. bulgaricus*. Деякі штами можуть також використовувати галактозу. *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* може гідролізувати білки молока, особливо β -казеїн, до пептидів за допомогою протеїнази, пов'язаної з клітинною стінкою. Однак бактерії мають обмежену здатність виробляти вільні амінокислоти з казеїну. Однак у йогуртовій заквасці *S. thermophilus* здатний гідролізувати пептиди, що продукуються *L. delbrueckii subsp. bulgaricus*, тим самим роблячи амінокислоти доступними для росту обох *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* і *S. thermophilus*.

Оптимальна температура росту *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* становить приблизно 45 °C, і, отже, температура інкубації для виробництва йогурту 42 °C є ефективним компромісом між оптимумами росту для двох основних видів у заквасці для йогурту [9].

2.3. Таксономічний статус біологічного агента

У систематиці бактерій *L. d. bulgaricus* був "*Thermobacterium bulgaricum*" за класифікацією Orla-Jensen 1919. Потім бактерія отримала назву *Lactobacillus bulgaricus* у 1973 році завдяки роботі Rugosa та Hansen, і була перекласифікована як підвид *Lactobacillus delbrueckii* у 1984 році [11].

Домен:	Bacteria
Тип:	Bacillota
Клас:	Bacilli
Порядок:	Lactobacillales
Родина:	Lactobacillaceae
Рід:	Lactobacillus
Вид:	<i>L. delbrueckii</i>
Підвид:	<i>L. d. subsp. bulgaricus</i>

РОЗДІЛ 3. ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБГРУНТУВАННЯ

3.1. Потреба у цільовому продукті

Згідно даних, наведених у Державній службі статистики України, виробництво молока станом на 2020 складало 16 000 000 тон. Кількість виробленого йогурту за той самий рік складала 2 500 000 тон, це говорить про те, що відсоток молока, який був використаний для виробництва йогуртів складав $\approx 15\%$ [12].

Розглянемо ринок заквасок в Україні. Основні виробники, які займають найбільшу частину ринку – Vivo (Продукти – «Закваска бактеріальна Vivo Йогурт», «Закваска бактеріальна Vivo Пробіо», «Закваска бактеріальна Vivo Йогурт з лактулозою») та Good Food (Продукти – «Закваска бактеріальна Good Food Йогурт», «Закваска бактеріальна Good Food Вітамін», «Закваска бактеріальна Good Food Фітнес») [13,14,15,16,17,18]. Враховуючи це, забезпечимо $\approx 1\%$ від річних потреб у йогуртах.

Загальні обсяги виробництва молока в Україні, зафіксовані Держстатом у 2021 році, становлять $\approx 8,7$ мільйонів тон — натомість ще у 2019 році вони перевищували 10 мільйонів тон. Станом на 2021 рік, згідно з офіційною статистикою, було вироблено 8 719 000 тон молока [19]. Тобто, $8\,719\,000 \text{ тон} \times 15\% = 1\,307\,850 \text{ тон}$ молока використовується для виробництва йогурту, із них ми плануємо використати для зброджування 12 600 л молока (0,1%).

3.2. Розрахунок потужності виробництва

В 1 мл культуральної рідини вміст клітин становить $4,8 \times 10^9$ КУО, тобто у 1 л культуральної рідини вміст КУО становить $4,8 \times 10^{11}$ КУО/л. Вміст біомаси в 1 л культуральної рідини складає 10 г/л, але для заквашування молока не

						НУХТ БТЕК 05.01.20 КР ПЗ		
Зм	Арк	№ докум.	Підпис	Дата		Лт.	Арк.	Аркушів
Розробив		Михайлова П.О.			РОЗДІЛ 3. Техніко-економічне обґрунтування			
Перевірив		Пенчук Ю.М.						
Реценз.						Кафедра БТМ		
Н. контр.								
Затверд.		Стабніков В.П.						

використовується волога біомаса.. Таким чином, враховуючі, що 90% вмісту бактеріальної клітини – це вода, то вміст сухої біомаси в 1 л культуральної рідини складає $10 \times 90\% = 1$ г. Для отримання 1 л йогурту використовується 1 г закваски на 1 л молока [13,14,15,16,17,18]. Потреба молока для виробництва йогурту становить 12 600 л. Тобто 1 л культуральної рідини, який і містить 1 г сухої біомаси бактерій, зброджує 1 л молока. Складемо пропорцію:

1 л культуральної рідини – 1 л молока

x л культуральної рідини – 12 600 л молока

$$x = 12\,600 \text{ л або } 12,6 \text{ м}^3$$

Отримуємо кількість культуральної рідини, яка необхідна для виробництва йогурту на зазначену потребу.

Окрім цього, нам необхідно врахувати втрати, які можуть виникнути в процесі виробництва, вони становлять 20%, отже, з урахуванням втрат річний об'єм культуральної рідини становитиме:

$$V_{\text{к.р. річ}} = 12\,600 \text{ л} \times 1,2 = 15\,120 \text{ л}$$

3.3. Розрахунок кількості виробничих циклів для отримання річної потреби продукту і геометричного об'єму ферментера

1. Приймаємо кількість робочих днів на рік – 300.

$$\text{Ефективний фонд робочого часу } N_{\text{еф}} = 300 \times 24 = 7200 \text{ год.}$$

2. Розрахуємо цикл роботи ферментера:

$$T_{\text{цф}} = T_{\text{ф}} + T_{\text{др}} = 24 + 14 = 38 \text{ (год), де}$$

$T_{\text{ф}}$ – тривалість виробничої ферментації (біосинтезу);

$T_{\text{др}}$ – тривалість допоміжних робіт (допоміжні роботи включають: миття та огляд (4 год), перевірка на герметичність (2 год), стерилізація (2 год), охолодження

(1 год), завантаження середовища (2 год), засів (1 год), вивантаження культуральної рідини (1 год).

3. Кількість циклів за рік становитиме:

$$n_{\text{ц}} = N_{\text{еф}} / T_{\text{цф}} = 7200 / 38 = 189,4 \approx 189$$

4. Об'єм культуральної рідини, який треба одержати за цикл:

$$V_{\text{к.р. цикл}} = V_{\text{к.р. річ}} / n_{\text{ц}} = 15\,120 \text{ л} / 189 = 80 \text{ л}$$

Обираємо ферментер об'ємом 100 л із коефіцієнтом заповнення 0,8. Об'єм культуральної рідини становить $V_{\text{к.р.}} = 80 \text{ л}$

3.4. Розрахунок кількості стадій підготовки посівного матеріалу

Для культивування *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* використовують ферментер об'ємом 100 л із коефіцієнтом заповнення 0,8.

Робочий об'єм ферментера становить:

$$V_{\text{роб}} = 100 \times 0,8 = 80 \text{ л}$$

Кількість посівного матеріалу (доза) становить 10 % від об'єму поживного середовища. Отже, для одержання 80 л культуральної рідини потрібно:

$$V_{\text{роб.1}} = 80 \times 0,1 = 8 \text{ л посівного матеріалу}$$

Таку кількість інокуляту можна одержати під час культивування бактерій у посівному апараті об'ємом 10 л з коефіцієнтом заповнення 0,8.

Для засіву посівного апарату (одержання 5 л культуральної рідини) необхідно:

$$V_{\text{роб.2}} = 8 \times 0,1 = 0,8 \text{ л або } 800 \text{ мл посівного матеріалу}$$

Для одержання 800 мл посівного матеріалу необхідно провести культивування у колбах об'ємом 750 мл та коефіцієнтом заповнення $K_{\text{зк}}=0,2$. Кількість колб становитиме:

$$N_{\text{колб}} = V_{\text{роб.4}} / (V_{\text{колб}} \times K_{\text{зк}}) = 800 / (750 \times 0,2) = 5 \text{ колб.}$$

Отже, процес одержання посівного матеріалу для забезпечення виробничого біосинтезу у ферментері об'ємом 100 л з коефіцієнтом заповнення 0,8 буде проходити у три етапи, два з яких – одержання посівного матеріалу у інокуляторах (посівний апарат на 10 л, ферментер на 100 л), і один – отримання посівного матеріалу у колбах на качалках (800 мл посівного матеріалу).

3.5. Біосинтез цільового продукту

3.5.1. Катаболізм ростового субстрату у біологічного агента

Джерелом вуглецю у середовищі є лактоза. Згідно Kegg, *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* перетворюють лактозу до альфа-Д-глюкозо-6-фосфату за шляхом зазначеним на рис. 3.1.

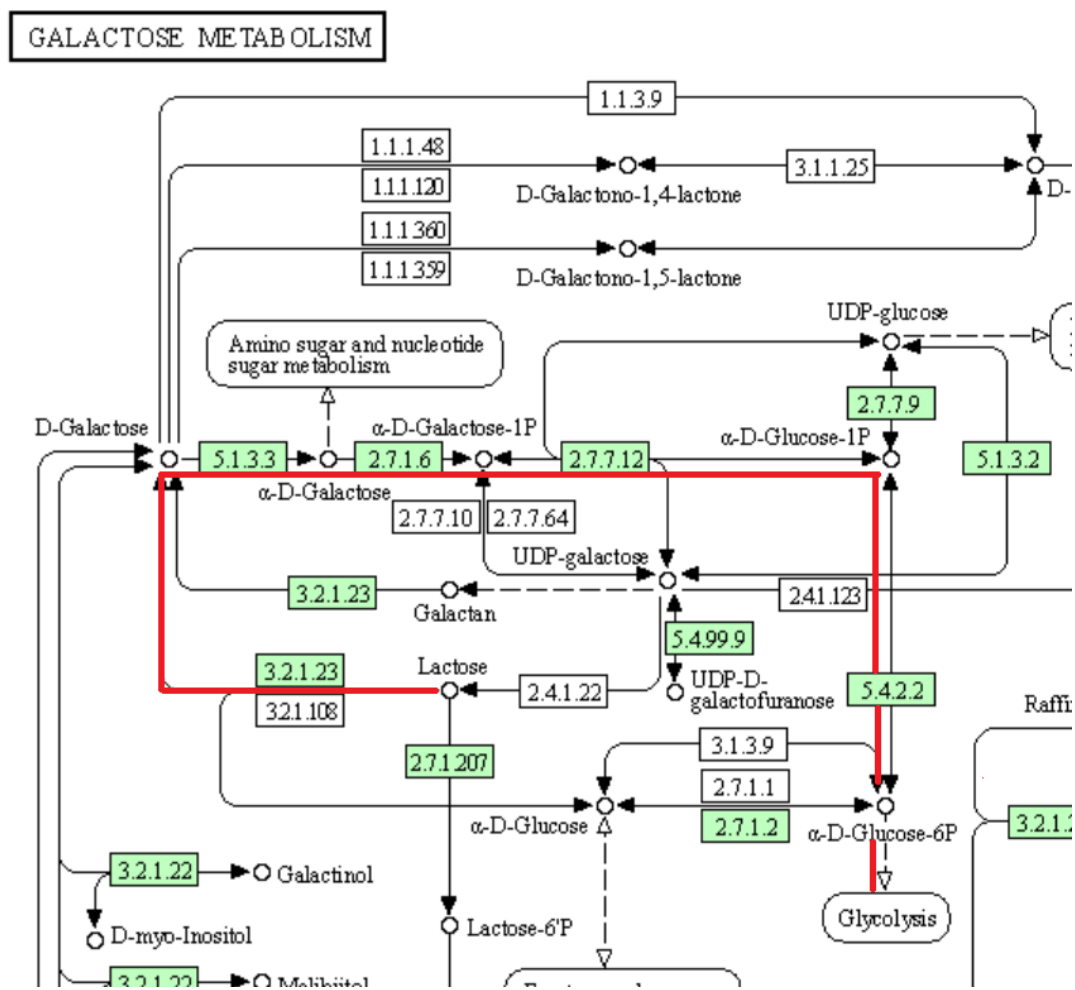


Рис. 3.1. Перетворення лактози до альфа-Д-глюкозо-6-фосфату. Ферменти: 3.2.1.23 - бета-галактозидаза, 5.1.3.3 - альдозо-1-епімераза, 2.7.1.6 - галактокіназа, 5.4.2.2 – фосфоглюкомутаза [20].

Надалі шлях переходить у гліколіз до утворення пірувату, як зображено на рис. 3.2:

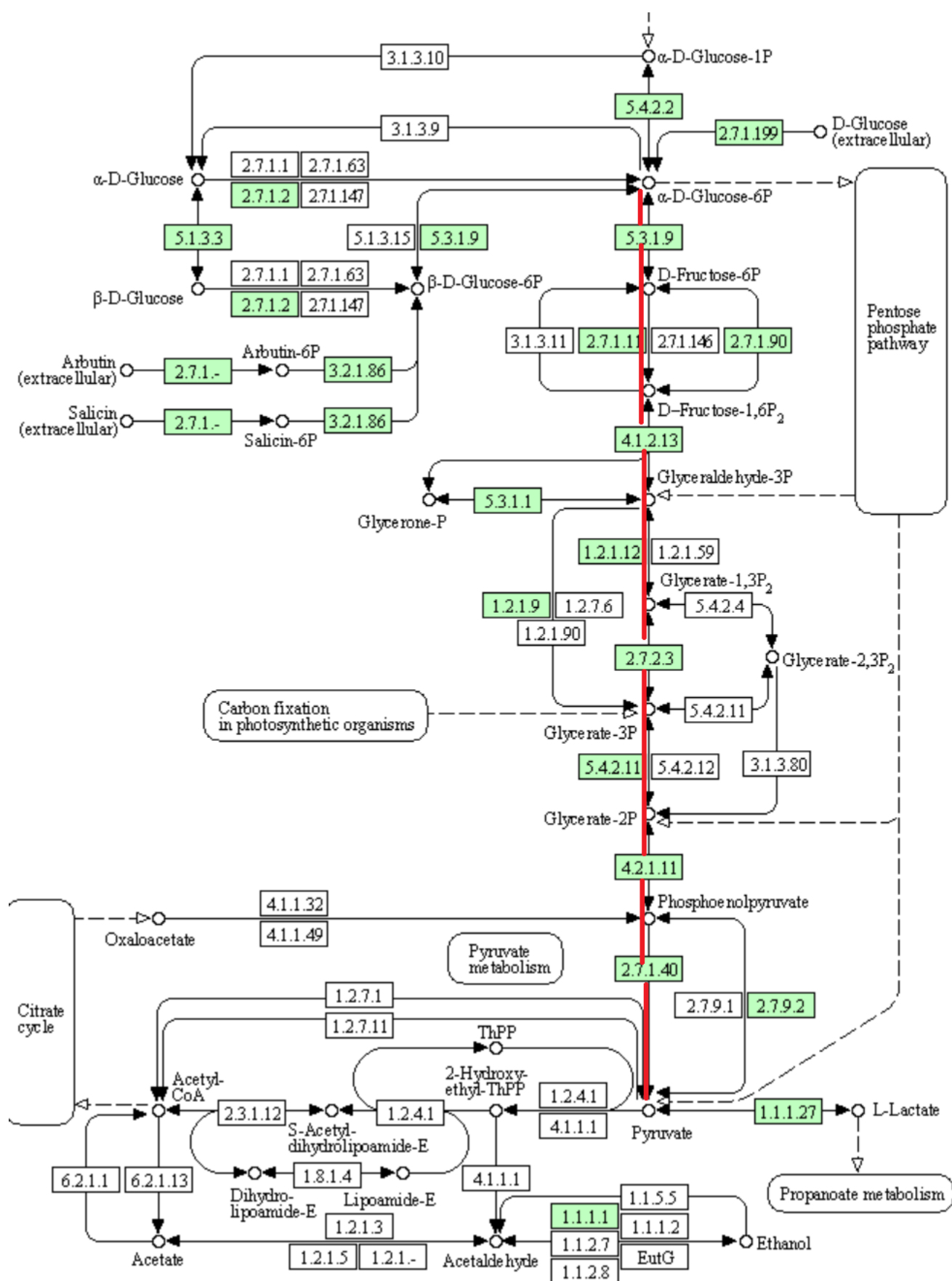


Рис. 3.2. Гліколіз. Ферменти: 5.3.1.9 - 5.3.1.19 - глюкозо-6-фосфат-ізомераза, 2.7.1.90 - АТФ-залежна фосфофруктокіназа, 4.1.2.13 - фруктозо-бісфосфатацьдолаза, 5.3.1.1 – тріозофосфатізомераза, 1.2.1.12 - гліцеральдегід-3-фосфатдегідрогеназа, 2.7.2.3 – фосфогліцераткіназа, 5.4.2.11 - 2,3-бісфосфогліцератзалежна фосфогліцератмутаза, 4.2.1.11 – енолаза [21].

3.5.2. Біотрансформація ростового субстрату у цільовий продукт

Цільовий продукт – біомаса бактерій *L. delbrueckii subsp. bulgaricus*. Структурно клітина мікроорганізму побудована з основних структурних елементів – білків, ліпідів, полісахаридів та нуклеїнових кислот. Розглянемо їх синтез.

У процесі гліколізу молекула глюкозо-6-фосфату перетворюється в дві молекули пірувату, останній в анаеробних умовах відновлюється до лактату. Третя важлива реакція - окислювальне декарбоксилювання пірувату, яке завершується утворенням ацетил-КоА (C2-фрагмент), який потім втягується в цикл трикарбонових кислот. Через реакцію трансаміні-вання піруват пов'язаний з амінокислотами, а при окисленні гліцерину (метаболіт ліпідів) утворюються тріози (3-фосфогліцеріновий альдегід).

Через ацетил-КоА перекидається місток від моносахаридів і амінокислот до ліпідів. Основним джерелом ацетил-КоА є окисне декарбоксилювання пірувату і р-окислення жирних кислот.

Таким чином, на утворюється практично єдиний загальний метаболіт катаболізму біомолекул різних класів в клітинах - активована форма оцтової кислоти. Оцтова кислота з усіх утворюються в обміні структурних молекул (двох-трьох вуглецевих фрагментів) найбільш краща для використання в біологічних системах як для реакцій біосинтезу, так і подальшого катаболізму до утворення кінцевих продуктів.

Метаболічні перетворення другого етапу супроводжуються генерацією енергії у формі АТФ або генеруванням відновлювальних еквівалентів НАДФН, необхідних

для реакцій біосинтезу багатьох сполук. Незначна частина АТФ при цьому синтезується шляхом субстратного фосфорилування (гліколіз); основна частина - шляхом окисного фосфорилування.

Надалі відбуваються реакції циклу трикарбонових кислот, процесу, наочно демонструє єдність метаболічних перетворень. це основний амфіболічний шлях, що забезпечує, з одного боку, повне окислення ацетил-КоА, і, з іншого боку, - що надає вихідні сполуки для біосинтезу різних сполук. Цикл трикарбонових кислот грає також центральну роль в енергетичному обміні, відновлювальні еквіваленти окислювальних реакцій циклу депонуються в формі НАДН і ФАДН₂ [22].

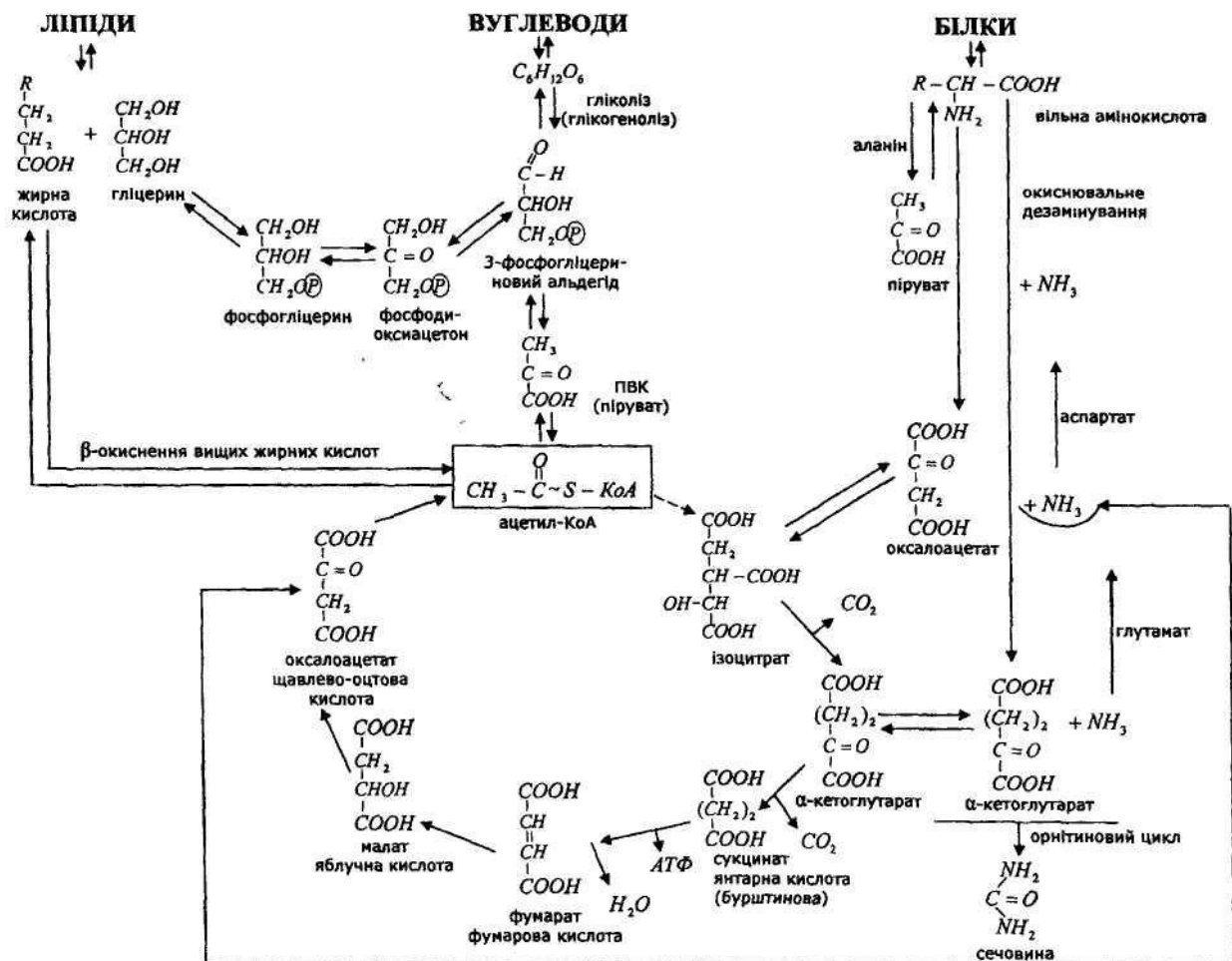


Рис. 3.3. Синтез білків, жирів та вуглеводів



Рис. 3.4. Синтез нуклеїнових кислот

РОЗДІЛ 4. ОБГРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ

4.1. Обґрунтування способу культивування і типу ферментера

Згідно літературних даних [3] культивування *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* DSM 20081 проводиться глибинним періодичним способом. Аерація середовища не відбувається, оскільки мікроорганізм – факультативний анаероб. Умови культивування – 40 °С, рН підтримували на рівні 6. Враховуючи це, процес потребує дотримання асептичних умов, оскільки є високий ризик контамінації сторонньою мікрофлорою.

Отже, ферментер, в якому буде проводитися процес виробничого культивування, має бути оснащений сорочкою, щоб підтримувати температуру та здійснювати процес стерилізації; приладами вимірювання та контролю рН, температури, тиску; мішалкою для гомогенізації.

Для задоволення річної потреби, щоб здійснити виробниче культивування, необхідний ферментер об'ємом 100 л. Для цього розглянемо ферментери лінійки Biostat D-DCU («Sartorius») об'ємом 100 л [23]. Конструкційно ферментер представляє собою апарат із нержавіючої сталі AISI 316 L з кожухом (сорочкою) із вертикальним оглядовим склом і шестилопатевою дисковою мішалкою. Він включає у себе:

- Клапан для відбору проб, який можна повторно стерилізувати;
- Датчик рН, температури, піни, тиску;
- Цифровий контролер, кольоровий дисплей із сенсорним екраном;
- Двигун перемішування, що не потребує технічного обслуговування;
- Опція автоматичного очищення на місці (CIP).

					НУХТ БТЕК 05.01.20 КР ПЗ			
Зм	Арк	№ докум.	Підпис	Дата	РОЗДІЛ 4. Обґрунтування вибору технологічної схеми	Лт.	Арк.	Аркушів
Розробив		Михайлова П.О.						
Перевірив		Пенчук Ю.М.						
Реценз.						Кафедра БТМ		
Н. контр.								
Затверд.		Стабніков В.П.						

Оснащення та конструкція ферментеру Biostat D-DCU 100 л відповідає необхідним вимогам для здійснення процесу культивування *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* DSM 20081 глибинним періодичним способом у анаеробних умовах, тому будемо використовувати це обладнання.

4.2. Обґрунтування вибору стадії підготовки повітря

Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus DSM 20081 є факультативним анаеробом, та сам процес культивування проводиться у анаеробних умовах. Іноді підготовка аераційного повітря є необхідною для створення надлишкового тиску у ферментері з метою забезпечення стерильності процесу та для здійснення передачі інокуляту через трубу перетискування [24]. Але в нашому випадку є інокулятор на 10 л та ферментер на 100 л, та інокулят буде подаватися самоплином, оскільки інокулятор невеликий [24], та використання труби перетискування та повітря не є необхідним.

4.3. Особливості підготовки та стерилізації поживного середовища

Культивування мікроорганізму з метою отримання біомаси відбувається на середовищі зазначеного складу (г/л):

- Моногідрат лактози – 36;
- Казеїновий пептон – 10;
- Дріжджовий екстракт – 5;
- Полісорбат-80 – 1;
- Ацетат натрію $C_2H_3NaO_2$ -5;
- Дигідрофосфат калію $KH_2 PO_4$ – 2;
- Цитрат амонію $(NH_4)_3C_6H_5O_7$ – 2;
- Гептагідрат сульфату магнію $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ – 0,2;
- Моногідрат сульфату марганцю $MnSO_4 \cdot H_2O$ – 0,05.

Середовище поділяється на такі композиції:

Композиція А: Моногідрат лактози; Казеїновий пептон; Дріжджовий екстракт; Полісорбат-80; Режим стерилізації 112 °С, 0,05 МПа, 20-30 хв.

Композиція Б: Ацетат натрію; KH_2PO_4 . Режим стерилізації 131°C, 0,15 МПа, 50 хв;

Композиція В: Цитрат амонію; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$. Режим стерилізації 131°C, 0,15 МПа, 50 хв;

На етапі приготування середовища для колб, необхідно підготувати 800 мл поживного середовища. Об'єм композиції А на даному етапі становить 392,6 мл, стерилізація відбувається у автоклаві, оскільки об'єм композиції невеликий, у колбі об'ємом 1 л. Композиції Б об'ємом 205,6 та В об'ємом 201,8 по такому самому принципу стерилізуються у автоклаві.

Для культивування у інокуляторі об'ємом 10 л необхідно підготувати 8 л поживного середовища. Стерилізація композиції А об'ємом 5,926 л відбувається безпосередньо у інокуляторі на 10 л, щоб зменшити кількість встановлюваних реакторів для стерилізації композицій. Композиція Б об'ємом 1056 мл стерилізується в автоклаві у колбі на 2 л, композиція В об'ємом 1018 також стерилізується таким же чином.

Для виробничого культивування у ферментері об'ємом 100 л необхідно 80 л поживного середовища. Стерилізація композиції А об'ємом 77, 260 л відбувається безпосередньо у ферментері на 100 л. Композиція Б об'ємом 1560 мл стерилізується в автоклаві у колбі на 2 л, композиція В об'ємом 1180 також стерилізується таким же чином.

4.4. Вибір мийних та дезінфікуючих засобів

Засоби для миття та дезінфекції виробничих приміщень, обладнання, поверхонь підбираються із врахуванням їх вартості, дієвості, нешкідливості для персоналу. Порівняння та вибір засобів зазначений у таблиці 4.1.

Згідно даних таблиці, засіб «Біюшаум» від «КроносАгро» найбільш відповідає зазначеним вимогам – засіб має економічний розхід, враховуючи його ціну, яка є найнижчою серед інших засобів, та оптимальний клас небезпеки для персоналу (Клас 3, у порівнянні, наприклад з Класом 2 у «Хлорантоїну»). Засіб крім

дезінфікуючої дії проти мікроорганізмів та пролонгованої бактерицидної дії також знищує білкові та жирові забруднення з поверхонь та технологічного обладнання, бруд, має відмінні піноутворюючі властивості. Тому обираємо засіб «Біошаум» для миття та дезінфекції виробничих приміщень, обладнання та поверхонь.

Для миття частин ємнісного обладнання, що забруднені сторонніми речовинами та відкладеннями, зазасту використовують лише миючі засоби для видалення органічних та неорганічних забруднень від попереднього процесу культивування, оскільки конструкція обладнання дозволяє проводити стерилізацію обладнання парою. Таким чином, порівняно засоби у таблиці 4.2.

Враховуючи наведені дані, обираємо для миття ємнісного обладнання розчин каустичної соди, оскільки він є значно дешевшим у порівнянні із засобом «Біомой».

Таблиця 4.1

Порівняльна характеристика миючих та дезінфікуючих засобів для виробничих приміщень, поверхонь, обладнання

Назва деззасобу та виробник	Склад	Спектр дії	Необхідна кількість для обробки	Вартість	Ступінь безпеки
Віросан, ООО «БіоТестЛаб», Україна [25]	Алкілдиметил-бензіламонію хлорид – 25,0 г, глутаровий альдегід – 11,0 г;	Staphylococcus aureus, Streptococcus faecalis, Pseudomonas aeruginosa, E. coli, Klebsiella pneumoniae, Proteus mirabilis, Listeria monocytogenes, Mycoplasma spp, Mycoplasma spp. , Penicillium spp.), віруліцидно (Newcastledisease virus, Reovirus, Rotavirus, Coronavirus, Paramyxovirus, Poxvirus, Orthomyxovirus, Pestivirus) та інші бактерії та віруси.	0,1-0,5%-ний розчин препарату з розрахунку 1 л робочого розчину на 4-12 м2	700 грн 1 л	Клас 3
Хлорантоїн, «Фармакос», Україна [26]	1,3-дихлор-5,5-диметилгідантоїн (дихлорантин) – 21,5-23,5 (діюча речовина); 5,5-диметилгідантоїн – 12,5-16,5; диспергатор - 9,0-12,5; аніонні поверхнево-активні речовини	Має бактерицидні, туберкулоцидні, віруліцидні (включаючи збудника поліомієліту, всіх типів грипу, парагрипу, коронарної респіраторно-синцитіальної, ротавірусної, аденовірусної інфекцій, SARS, гепатитів, ВІЛ, вірусних гастроентеритів і інших), спороцидні і фунгіцидні (включаючи збудників кандидозів, дерматомікозів, цвілевих грибів) властивості.	1 г на 1 л води (0,1% розчин)	553 за 1 кг	Клас 2

	– 3,2-5,0; інгібітор корозії до 10,0; наповнювач до 100,0. Масова частка активного хлору становить не менше, ніж 14,1 %.	Крім того, застосовується в осередках особливо небезпечних і зооносних інфекцій (чума, холера, сибірська виразка і т.п.).			
✓ Біошаум, «КроносАгро», Україна [27]	Полігексаметилен-гуанідин гідрохлорид – 0,5% (діюча речовина); функціональні компоненти та емоменти – 0,1; ароматизатор – 0,01; дистильована вода.	Проявляє антимікробну дію на грамнегативну та грампозитивну мікрофлору: стафілококи, колібактерії, сальмонели, протей, клебсієли, псевдомонах, кампілобактер, клостридії (<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>E.coli</i> , <i>Salmonella enteritidis</i> , <i>Salmonella pullorum gallinarum</i> , <i>Proteus vulgaris</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Campylobacter jejuni</i> , <i>Clostridium perfringens</i> , інших бактерій та їх спор), проявляє віруцидну дію (ДНК- та РНК- вмісні віруси – збудники хвороб Ньюкасла, Гамборо, Марека, хвороби Тешена, цирковірусної інфекції, чуми свиней, респіраторно-репродуктивного синдрому, хвороби Ауескі, трансмісивного гастроентериту, паратрипу ВРХ, вірусної діареї ВРХ, лейкозу ВРХ, інфекційного ринотрахеїту та ін.), антипротозойну дію проти кокцидій (<i>Eimeria tenella</i> , <i>Eimeria necatrix</i> , <i>Eimeria acervulina</i> , <i>Eimeria maxima</i>), фунгіцидну дію (<i>Aspergillus fumigatus</i> , плісняви та ін.), діє проти дріжджів (<i>Saccharomyces cerevisiae</i> , <i>Candida albicans</i> та ін.).	1 – 3% розчин препарату з розрахунку 1 літр на 4 – 6 м²	90 грн 1 л	Клас 3

Таблиця 4.2

Порівняльна характеристика миючих засобів для ємнісного обладнання

Назва деззасобу та виробник	Склад	Спектр дії	Необхідна кількість для обробки	Вартість	Ступінь безпеки
Біомой, «Фармакос», Україна [28]	Алкілбензол-сульфонат натрію (сульфанол) 5,0-8,0%; лужна протеаза 1,0-1,1%, карбонат	Біоактивний миючий засіб з дезінфікуючим ефектом. Має виражені властивості по очищенню поверхонь, які обробляються, від жирів і білка.	1,5 г на 1 л води	424 грн за 1 кг	Клас 4

	натрію; диспергатор; наповнювач				
✓ Розчин каустичної соди [29]	NaOH	Добре видаляє органічні забруднення: обмилюють жири, гідролізують білки, розщеплюють вуглеводи.	1-2% розчини для циркуляційного миття, 0,5% розчини для ручного миття обладнання	75,1 грн за 1 кг	Клас 2

РОЗДІЛ 5. СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ

Специфікація обладнання наведена у таблиці 5.1. Це обладнання зображене на апаратурній схемі.

Таблиця 5.1.

Пози- ція	Найменування	Кіль- кість	Технічна характеристика (виробник)
Д-1	Дозатор води для інокулятора на 10 л	1	Насос-дозатор "Ехactus" Виробник: «Fluidra»; Потужність: 20 л на годину; Робочий тиск: 5 бар [30]
I-2	Інокулятор об'ємом 10 л	1	Biostat Cplus RCP-M 10L Виробник: «Sartorius»; Матеріал: нержавіюча сталь AISI 316L; Оснащений сорочкою, 6-лопатевою дисковою мішалкою, датчиками рН, тиску, температури, швидкості обертання. Потужність мотору: 0,8 кВт; Частота обертів: 25-1500 об/хв (регулюється); Габарити, м: 1.0×1.9×0.75. [31]
ВД-3	Ваговий дозатор для	1	Ваговий дозатор ВД-10

						НУХТ БТЕК 05.01.20 КР ПЗ						
Зм	Арк	№ докум.	Підпис	Дата		РОЗДІЛ 5. Специфікація обладнання			Лт.	Арк.	Аркушів	
Розробив		Михайлова П.О.										
Перевірів		Пенчук Ю.М.										
Реценз.					Кафедра БТМ							
Н. контр.												
Затверд.		Стабніков В.П.										

	ферментеру на 100 л		Виробник: «PackTech»; Матеріал: нержавіюча сталь AISI 304; Діапазон дозування: 1-10 кг; Продуктивність: 3600 доз/год; Габарити, мм: 1500×1100×1200. [32]
Д-4	Дозатор води для ферментеру на 100 л	1	Дозатор-змішувач води TriDOMIX 100 Виробник: «STM Products»; Діапазон озучання: до 999 л; Продуктивність: 35 л у хвилину; Потужність: 60 Вт; Робочий тиск: 5 бар. [33]
Ф-5	Ферментер об'ємом 100 л	1	Biostat D-DCU 100 л Виробник: «Sartorius»; Матеріал: нержавіюча сталь AISI 316L; Оснащений сорочкою, 6-лопатевою дисковою мішалкою, датчиками рН, тиску, температури, швидкості обертання. Потужність мотору: 4,9 кВт; Частота обертів: 25-1500 об/хв (регулюється); Габарити, м: 1.95×2.56×1.57. [23]
Н-6	Насос від ферментеру до збірника культуральної рідини	1	Перистальтичний насос IP100 Виробник: «CRANE»; Продуктивність: 100-500 л/год;

			Робочий тиск: макс. 13 бар; Матеріал корпусу: алюміній; Матеріал з'єднань: нержавіюча сталь; Матеріал шлангу: NR, NBR, CSM, EPDM. [32]
--	--	--	---

РОЗДІЛ 6. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ

ДР 1. Санітарна підготовка виробництва

ДР 1.1. Підготовка персоналу

ДР 1.1.1. Навчання персоналу

Персонал повинен мати необхідну кваліфікацію та практичний досвід роботи. Персонал повинен проходити навчання відповідно до своїх трудових обов'язків, якщо персонал працює у зоні чистих приміщень, то необхідне додаткове вивчення правил та поведінки роботи у чистих приміщеннях.

ДР 1.1.2. Інструктаж персоналу

Персонал ознайомлюється з технічними інструкціями, згідно до яких забезпечується та реалізується робота працівників, та також з інструктажем з техніки безпеки.

ДР 1.2. Приготування миючих та дезінфікуючих засобів

ДР 1.2.1. Приготування розчину біошаум

3% розчин «Біошаум» використовується для миття приміщень (підлоги, стіни, двері, ін) та поверхонь. Розчин готують у збірнику із перемішуючим пристроєм, визначену кількість миючого засобу змішують з водою для досягнення концентрації засобу у 3%, за температури 40-50 °C при постійному перемішуванні пристроєм.

ДР 1.2.2. Приготування розчину каустичної соди

2% розчин каустичної соди використовується для миття ємнісного обладнання. Розчин готують у збірнику із перемішуючим пристроєм, визначену кількість

						НУХТ БТЕК 05.01.20 КР ПЗ		
Зм	Арк	№ докум.	Підпис	Дата	РОЗДІЛ 6. Опис технологічної схеми			
Розробив	Михайлова П.О.							Лт.
Перевірів	Пенчук Ю.М.							Арк.
Реценз.								Аркушів
Н. контр.								
Затверд.	Стабніков В.П.							Кафедра БТМ

миючого засобу змішують з водою для досягнення концентрації засобу у 2%, за температури 40-50 °С при постійному перемішуванні пристроєм

ДР 1.3. Підготовка приміщень

ДР 1.3.1. Генеральне прибирання

Генеральне прибирання проводиться один раз на місяць, КУО на см² має становити < 300. Для прибирання використовують миючі та дезінфікуючі засоби від ДР 1.2, генеральне прибирання включає у себе миття підлоги, стін, дверей, вікон, поверхонь.

ДР 1.3.2. Щотижневе прибирання

Прибирання здійснюється один раз на тиждень, КУО на см² має становити < 800. Для прибирання використовують миючі та дезінфікуючі засоби від ДР 1.2, прибирання включає у себе миття підлоги та поверхонь.

ДР 1.4. Підготовка обладнання та комунікацій

ДР 1.4.1. Технічний огляд обладнання

Перевірка персоналом цілісності та коректності роботи обладнання.

ДР 1.4.2. Миття обладнання

Обладнання відключають від електромережі, та проводять миття від зовнішніх забруднень, пилу. Миття проводять розчином миючого засобу (ДР 1.2.1) та теплою водою, після чого витирають насухо. Миття ємнісного обладнання відбувається розчином каустичної соди (ДР 1.2.2) температурою 40-50 °С.

ДР 1.4.3. Перевірка на герметичність

Перевірку обладнання на герметичність проводять подачею стисненого повітря при 0,25 МПа.

ДР 1.4.4. Стерилізація обладнання

Обладнання стерилізується подачею глухої пари під тиском 0,2 МПа, температура стерилізації складає 125-130 °С.

ДР 2. Приготування та стерилізація титрувальних розчинів

Робочий об'єм середовища	H ₂ SO ₄ 6%		NaOH 6%	
	Вміст, мл	Особливість приготування	Вміст, мл	Особливість приготування
0,8 л	1,6	Колба на 10 мл	1,6	Колба на 10 мл
8 л	16	Колба на 50 мл	16	Колба на 50 мл
80 л	160	Колба на 300 мл	160	Колба на 300 мл

ДР 2.1. Приготування 6% розчину H₂SO₄

Для робочого об'єму середовища у 800 мл необхідно підготувати 1,6 мл 6% розчину H₂SO₄. Для цього необхідно у колбу на 10 мл додати 0,26 мл 36% розчину кислоти та додати 1,34 мл води. Розчин перемішують, закривають ватно-марлевым короком та стерилізують при T=131°C, 0,15 МПа, протягом 50 хв.

Для робочого об'єму середовища у 8 л необхідно підготувати 16 мл 6% розчину H₂SO₄. Для цього необхідно у колбу на 10 мл додати 2,6 мл 36% розчину кислоти та додати 13,4 мл води. Розчин перемішують, закривають ватно-марлевым короком та стерилізують при T=131°C, 0,15 МПа, протягом 50 хв.

Для робочого об'єму середовища у 80 л необхідно підготувати 160 мл 6% розчину H₂SO₄. Для цього необхідно у колбу на 10 мл додати 26 мл 36% розчину кислоти та додати 134 мл води. Розчин перемішують, закривають ватно-марлевым короком та стерилізують при T=131°C, 0,15 МПа, протягом 50 хв.

ДР 2.2. Приготування 6% розчину NaOH

Для робочого об'єму середовища у 800 мл необхідно підготувати 1,6 мл 6% розчину NaOH. Для цього необхідно у колбу на 10 мл додати 0,26 мл 36% розчину

кислоти та додати 1,34 мл води. Розчин перемішують, закривають ватно-марлевым короком та стерилізують при $T=131^{\circ}\text{C}$, 0,15 МПа, протягом 50 хв.

Для робочого об'єму середовища у 8 л необхідно підготувати 16 мл 6% розчину NaOH. Для цього необхідно у колбу на 10 мл додати 2,6 мл 36% розчину кислоти та додати 13,4 мл води. Розчин перемішують, закривають ватно-марлевым короком та стерилізують при $T=131^{\circ}\text{C}$, 0,15 МПа, протягом 50 хв.

Для робочого об'єму середовища у 80 л необхідно підготувати 160 мл 6% розчину NaOH. Для цього необхідно у колбу на 10 мл додати 26 мл 36% розчину кислоти та додати 134 мл води. Розчин перемішують, закривають ватно-марлевым короком та стерилізують при $T=131^{\circ}\text{C}$, 0,15 МПа, протягом 50 хв.

ДР 3. Приготування та стерилізація поживних середовищ

ДР 3.1. Приготування та стерилізація поживного середовища для культивування інокуляту в колбах

Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	Кількість для приготування 800 мл середовища, г	Композиції	Об'єм композиції V, мл	Режим стерилізації
Моногідрат лактози	36	28,8	А	392,6	112 °C, 0,05 МПа, 20-30 хв
Казеїновий пептон	10	8			
Дріжджовий екстракт	5	4			
Полісорбат-80	1	0,8			
Вода	-	351			
Ацетат натрію	5	4	Б	205,6	131°C, 0,15

$C_2H_3NaO_2$					МПа, 50 хв
Дигідрофосфат калію $KH_2 PO_4$	2	1,6			
Вода		200			
$(NH_4)_3C_6H_5O_7$	2	1,6			
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0,2	0,16			
$MnSO_4 \cdot H_2O$	0,05	0,04			
Вода	-	200			
Усього	800 мл				
			В	201,8	131°C, 0,15 МПа, 50 хв

ДР 3.1.1. Приготування та стерилізація композиції А

На технічних терезах зважується 28,8 г лактози, 8 г казеїнового пептону, 4 г дріжджового екстракту, 0,8 г полісорбату-80, наважки переміщують у колбу об'ємом 1 л та розчиняють у воді. Перемішують, колбу закривають ватно-марлевым короком та проводять стерилізацію композиції у автоклаві при $T=112^\circ C$, 0,05 МПа, протягом 20-30 хв.

ДР 3.1.2. Приготування та стерилізація композиції Б

На технічних терезах зважується 4 г ацетату натрію, 1,6 г дигідрофосфату калію, наважки переміщують у колбу об'ємом 500 мл та розчиняють у воді. Перемішують, колбу закривають ватно-марлевым короком та проводять стерилізацію композиції у автоклаві при $T=131^\circ C$, 0,15 МПа, протягом 50 хв.

ДР 3.1.3. Приготування та стерилізація композиції В

На технічних терезах зважується 1,6 г цитрату амонію, 0,16 г $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0,04 г $MnSO_4 \cdot H_2O$, наважки переміщують у колбу об'ємом 500 мл та розчиняють у

воді. Перемішують, колбу закривають ватно-марлевым короком та проводять стерилізацію композиції у автоклаві при $T=131^{\circ}\text{C}$, 0,15 МПа, протягом 50 хв.

ДР 2.2. Приготування та стерилізація поживного середовища для культивування у інокуляторі об'ємом 10 л

Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	Кількість для приготування 8 л середовища, г	Композиції	Об'єм композиції V, мл	Режим стерилізації
Моногідрат лактози	36	288	А	5 926	112 °С, 0,05 МПа, 20-30 хв
Казеїновий пептон	10	80			
Дріжджовий екстракт	5	40			
Полісорбат-80	1	8			
Вода	-	5 510			
Ацетат натрію C ₂ H ₃ NaO ₂	5	40	Б	1056	131°С, 0,15 МПа, 50 хв
Дигідрофосфат калію КН ₂ РО ₄	2	16			
Вода		1000			
(NH ₄) ₃ С ₆ Н ₅ О ₇	2	16	В	1018	131°С, 0,15 МПа, 50 хв
MgSO ₄ ·7Н ₂ О	0,2	1,6			
MnSO ₄ ·Н ₂ О	0,05	0,4			
Вода	-	1000			
Усього	8000 мл (8 л)				

ДР 3.2.1. Приготування та стерилізація композиції А

На технічних терезах зважується 288 г лактози, 80 г казеїнового пептону, 40 г дріжджового екстракту, 8 г полісорбату-80. Наважки розчиняють у 5 510 мл води безпосередньо у посівному апараті на 10 л. Вмикають перемішуючий пристрій, та проводять стерилізацію композиції при $T=112\text{ }^{\circ}\text{C}$, 0,05 МПа, протягом 20-30 хв.

ДР 3.2.2. Приготування та стерилізація композиції Б

На технічних терезах зважується 40 г ацетату натрію, 16 г дигідрофосфату калію, наважки переміщують у колбу об'ємом 2 л та розчиняють у воді. Перемішують, колбу закривають ватно-марлевым короком та проводять стерилізацію композиції у автоклаві при $T=131\text{ }^{\circ}\text{C}$, 0,15 МПа, протягом 50 хв.

ДР 3.2.3. Приготування та стерилізація композиції В

На технічних терезах зважується 16 г цитрату амонію, 1,6 г $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,4 г $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, наважки переміщують у колбу об'ємом 2 л та розчиняють у воді. Перемішують, колбу закривають ватно-марлевым короком та проводять стерилізацію композиції у автоклаві при $T=131\text{ }^{\circ}\text{C}$, 0,15 МПа, протягом 50 хв.

ДР 3.3. Приготування та стерилізація поживного середовища для виробничого біосинтезу у ферментері на 100 л.

Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	Кількість для приготування 80 л середовища, г	Композиції	Об'єм композиції V, мл	Режим стерилізації
Моногідрат лактози	36	2 880	А	77 260	112 °C, 0,05 МПа, 20-30 хв
Казеїновий пептон	10	800			
Дріжджовий	5	400			

екстракт					
Полісорбат-80	1	80			
Вода	-	73 100			
Ацетат натрію C ₂ H ₃ NaO ₂	5	400	Б	1560	131°C, 0,15 МПа, 50 хв
Дигідрофосфат калію KH ₂ PO ₄	2	160			
Вода		1000			
(NH ₄) ₃ C ₆ H ₅ O ₇	2	160	В	1180	131°C, 0,15 МПа, 50 хв
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0,2	16			
MnSO ₄ ·H ₂ O	0,05	4			
Вода	-	1000			
Усього	80 000 мл (80 л)				

ДР 3.3.1. Приготування та стерилізація композиції А

За допомогою вагового дозатора зважується 2880 г лактози, 800 г казеїнового пептону, 400 г дріжджового екстракту, 8 г полісорбату-80. Розчиняють у 73 100 мл води безпосередньо у ферментері на 100 л. Вмикають перемішувачий пристрій, та проводять стерилізацію композиції при $T=112^\circ C$, 0,05 МПа, протягом 20-30 хв.

ДР 3.3.2. Приготування та стерилізація композиції Б

На технічних терезах зважується 400 г ацетату натрію, 160 г дигідрофосфату калію, наважки переміщують у колбу об'ємом 2 л та розчиняють у воді. Перемішують, колбу закривають ватно-марлевим короком та проводять стерилізацію композиції у автоклаві при $T=131^\circ C$, 0,15 МПа, протягом 50 хв.

ДР 3.3.3. Приготування та стерилізація композиції В

На технічних терезах зважується 160 г цитрату амонію, 16 г $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 4 г $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, наважки переміщують у колбу об'ємом 2 л та розчиняють у воді. Перемішують, колбу закривають ватно-марлевим короком та проводять стерилізацію композиції у автоклаві при $T=131^\circ\text{C}$, 0,15 МПа, протягом 50 хв.

ТП 4. Підготовка посівного матеріалу

ТП 4.1. Підтримання колекційної культури

Колекційну культуру *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* DSM 20081 зберігають у пробірках із скошеним поживним середовищем MRS. Пересіви роблять кожні 2-3 місяці. Робота із колекційною культурою потребує суворо асептичних умов.

ТП 4.2. Одержання робочої культури

Колекційну культуру із пробірок розсівають петлею до ізольованих колоній на чашки Петрі із середовищем RSM (100 г/л сухого знежиреного молока, 10 г/л казеїнового пептону, 5 г/л дріжджового екстракту). Вирощують при температурі 40°C впродовж 24 год.

ТП 4.3. Одержання робочої культури на агаризованому середовищі

Отримані ізольовані колонії від ТП 3.2 пересівають в пробірки із середовищем MRS. Засіяні пробірки культивують у термостаті при температурі 40°C впродовж 24 год. Контроль чистоти культури здійснюють мікроскопіюванням.

ТП 4.4. Вирощування інокуляту в колбах

У стерильну колбу на 2 л асептично вносять композиції А, Б та В від ДР 2.1.1, 2.1.2, 2.1.3. Перемішують і розливають у стерильні колби об'ємом по 750 мл із коефіцієнтом заповнення 0,2.

У пробірку із робочою культурою вносять 5 мл фізіологічного розчину стерильною піпеткою щоб змити культуру. Одержану бактеріальну суспензію піпеткою вносять у колби.

Культивування у колбах проводять у анаеробних умовах за температури 40 °С, рН – 6, протягом 24 годин. Середовище, аерували 0,1 л/хв N₂ для отримання анаеробних умов при переміщуванні у 200 rpm.

Після проходженні процесу культивування культуральну рідину із колб асептично переносять у стерильну засівну колбу об'ємом 2 л.

ТП 4.5. Вирощування інокуляту в посівному апараті об'ємом 10 л

В інокулятор, в якому вже міститься простерилізована композиція А, асептично передають стерильні розчини композиції Б та В охолоджені до кімнатної температури від ДР 2.2.3, 2.2.3.

Посівний матеріал із засівної колби об'ємом 2 л асептично переноситься у інокулятор об'ємом 10 л.

Процес культивування ведуть за температури 40 °С, рН – 6, протягом 24 годин у анаеробних умовах. Рівень рН контролюється на рівні 6 за допомогою датчику, при необхідності значення рН доводять подачею стерильного розчину сульфатної кислоти або розчином гідроксиду натрію від ДР 1.1 та 1.2.

ТП 5. Виробничий біосинтез

ТП 5.1. Виробниче культивування у ферментері об'ємом 100 л

В ферментер, в якому вже міститься простерилізована композиція А, асептично передають стерильні розчини композиції Б та В охолоджені до кімнатної температури від ДР 2.3.3, 2.3.3.

Засів проводиться за допомогою труби перетискування з використання стерильного стисненого повітря із інокулятора на 10 л від ТП 4.5 до ферментера.

Процес культивування ведуть за температури 40 оС, рН – 6, протягом 48 годин у анаеробних умовах. Рівень рН контролюється на рівні 6 за допомогою датчику, при необхідності значення рН доводять подачею стерильного розчину сульфатної кислоти або розчином гідроксиду натрію від ДР 1.1 та 1.2.

РОЗДІЛ 7. КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА

7.1. Карта постадійного контролю доферментаційних процесів та процесу виробничого біосинтезу

Контрольна точка та назва стадії	Об'єкт контролю, показник, який визначається	Засоби та методи здійснення контролю	Періодичність перевірки та порядок відбору проб	Нормативна характеристика показника
<i>Кт, Км, Кх 1.1. Приготування 6% розчину H_2SO_4</i>	Розчин H_2SO_4 Температура, тиск, час, концентрація, відсутність сторонньої мікробіоти.	Термометр, манометр, годинник, технічні ваги, мікробіологічний контроль.	Температура, тиск контролюються протягом всього процесу стерилізації. Концентрацію контролюють при приготуванні розчину шляхом зважування наважки на технічних вагах. Мікробіологічний контроль здійснюється після стерилізації.	$T=131^{\circ}C$, 0,15 МПа, протягом 50 хв.
<i>Кт, Км, Кх 1.2. Приготування 6%</i>	Розчин NaOH Температура, тиск, час, концентрація,	Термометр, манометр, годинник,	Температура, тиск контролюються	$T=131^{\circ}C$, 0,15 МПа, протягом 50 хв.

						НУХТ БТЕК 05.01.20 КР ПЗ						
Зм	Арк	№ докум.	Підпис	Дата		РОЗДІЛ 7. Контроль виробництва			Лт.	Арк.	Аркушів	
Розробив	Михайлова П.О.											
Перевірів	Пенчук Ю.М.											
Реценз.									Кафедра БТМ			
Н. контр.												
Затверд.	Стабніков В.П.											

<i>розчину NaOH</i>	відсутність сторонньої мікробіоти.	технічні ваги, мікробіологіч ний контроль.	протягом всього процесу стерилізації. Концентрацію контролюють при приготуванні розчину шляхом зважування наважки на технічних вагах. Мікробіологічни й контроль здійснюється після стерилізації.	
<i>Кт, Км, Кх 2.1.1. Приготування та стерилізація композиції А</i>	Композиція А Температура, тиск, час, кількість вносимих компонентів, стерильність.	Термометр, манометр, технічні ваги, годинник, мікробіологіч ний контроль.	Температура, тиск контролюються протягом всього процесу стерилізації. Мікробіологічни й контроль здійснюється після стерилізації.	T=112 °C, 0,05 МПа, протягом 20-30 хв
<i>Кт, Км, Кх 2.1.2. Приготування та стерилізація композиції Б</i>	Композиція Б Температура, тиск, час, кількість вносимих компонентів, стерильність.	Термометр, манометр, технічні ваги, годинник, мікробіологіч ний контроль.	Температура, тиск контролюються протягом всього процесу стерилізації. Мікробіологічни	T=131°C, 0,15 МПа, протягом 50 хв.

			й контроль здійснюється після стерилізації.	
<i>Кт, Км, Кх 2.1.3. Приготування та стерилізація композиції В</i>	Композиція В Температура, тиск, час, кількість вносимих компонентів, стерильність.	Термометр, манометр, технічні ваги, годинник, мікробіологічний контроль.	Температура, тиск контролюються протягом всього процесу стерилізації. Мікробіологічний контроль здійснюється після стерилізації.	Т=131°C, 0,15 МПа, протягом 50 хв.
<i>Кт, Км, Кх 2.2.1. Приготування та стерилізація композиції А</i>	Композиція А Температура, тиск, час, кількість вносимих компонентів, стерильність.	Термометр, манометр, технічні ваги, годинник, мікробіологічний контроль.	Температура, тиск контролюються протягом всього процесу стерилізації. Мікробіологічний контроль здійснюється після стерилізації.	Т=112 °С, 0,05 МПа, протягом 20-30 хв
<i>Кт, Км, Кх 2.2.2. Приготування та стерилізація композиції Б</i>	Композиція Б Температура, тиск, час, кількість вносимих компонентів, стерильність.	Термометр, манометр, технічні ваги, годинник, мікробіологічний контроль.	Температура, тиск контролюються протягом всього процесу стерилізації. Мікробіологічний	Т=131°C, 0,15 МПа, протягом 50 хв.

			й контроль здійснюється після стерилізації.	
<i>Кт, Км, Кх 2.2.3. Приготування та стерилізація композиції В</i>	Композиція В Температура, тиск, час, кількість вносимих компонентів, стерильність.	Термометр, манометр, технічні ваги, годинник, мікробіологічний контроль.	Температура, тиск контролюються протягом всього процесу стерилізації. Мікробіологічний контроль здійснюється після стерилізації.	Т=131°C, 0,15 МПа, протягом 50 хв.
<i>Кт, Км, Кх 2.3.1. Приготування та стерилізація композиції А</i>	Композиція А Температура, тиск, час, кількість вносимих компонентів, стерильність.	Термометр, манометр, технічні ваги, годинник, мікробіологічний контроль.	Температура, тиск контролюються протягом всього процесу стерилізації. Мікробіологічний контроль здійснюється після стерилізації.	Т=112 °С, 0,05 МПа, протягом 20-30 хв
<i>Кт, Км, Кх 2.3.2. Приготування та стерилізація композиції Б</i>	Композиція Б Температура, тиск, час, кількість вносимих компонентів, стерильність.	Термометр, манометр, технічні ваги, годинник, мікробіологічний контроль.	Температура, тиск контролюються протягом всього процесу стерилізації. Мікробіологічний	Т=131°C, 0,15 МПа, протягом 50 хв.

			й контроль здійснюється після стерилізації.	
<i>Кт, Км, Кх 2.3.3. Приготування та стерилізація композиції В</i>	Композиція В Температура, тиск, час, кількість вносимих компонентів, стерильність.	Термометр, манометр, технічні ваги, годинник, мікробіологічний контроль.	Температура, тиск контролюються протягом всього процесу стерилізації. Мікробіологічний контроль здійснюється після стерилізації.	T=131°C, 0,15 МПа, протягом 50 хв.
<i>Кт, Км 3.1. Підтримання колекційної культури</i>	Колекційна культура <i>Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus</i> DSM 20081 Температура, мікробіологічний контроль.	Холодильник, термометр, мікробіологічний контроль.	Температура контролюється протягом всього процесу зберігання культури у холодильнику. Мікробіологічний контроль здійснюється кожна 2-3 місяці.	T=4 °C у холодильнику протягом 2-3 місяців. Відсутність сторонньої мікробіоти.
<i>Кт, Км 3.2. Одержання робочої культури</i>	Культура <i>Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus</i> DSM 20081 Температура, мікробіологічний	Термостат, мікробіологічний контроль.	Температура контролюється протягом всього процесу вирощування культури у термостаті.	T=40°C, протягом 24 годин.

	контроль.		Мікробіологічний контроль здійснюється після росту культури.	
<i>Кт, Км 3.3.</i> <i>Одержання</i> <i>робочої культури</i> <i>на агаризованому</i> <i>середовищі</i>	Культура <i>Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus</i> DSM 20081, MRS Температура, мікробіологічний контроль.	Термостат, мікробіологічний контроль.	Температура контролюється протягом всього процесу вирощування культури у термостаті. Мікробіологічний контроль здійснюється після росту культури.	T=40°C, протягом 24 годин.
<i>Кт, Км 3.4.</i> <i>Вирощування</i> <i>інокуляту в колбах</i>	Посівний матеріал Температура, рН, час, концентрація біомаси, мікробіологічна чистота.	Термометр, рН-метр, центрифуга, електронні ваги, мікробіологічний контроль.	Температура і рН контролюються протягом процесу культивування. Мікробіологічний контроль, концентрація біомаси визначаються після культивування.	T=40°C, рН -6, С біомаси = 4.6×10^8 КУО, протягом 24 годин.
<i>Кт, Км 3.5.</i> <i>Вирощування</i> <i>інокуляту в</i> <i>посівному апараті</i>	Посівний матеріал Температура, рН, час, концентрація біомаси,	Термометр, рН-метр, центрифуга, електронні	Температура і рН контролюються протягом процесу	T=40°C, рН -6, С біомаси = 4.6×10^8 КУО, протягом 24 годин.

<i>об'ємом 10 л</i>	мікробіологічна чистота.	ваги, мікробіологіч ний контроль.	культивування. Мікробіологічни й контроль, концентрація біомаси визначаються після культивування.	
<i>Кт, Км 4.1. Виробниче культивування у ферментері об'ємом 100 л</i>	Культуральна рідина Температура, рН, час, концентрація біомаси, мікробіологічна чистота.	Термометр, рН-метр, центрифуга, електронні ваги, мікробіологіч ний контроль.	Температура і рН контролюються протягом процесу культивування. Мікробіологічни й контроль, концентрація біомаси визначаються після культивування.	Т=40°C, рН -6, С біомаси = 4.6×10^8 КУО, протягом 24 годин.

7.2. Мікробіологічний контроль

Мікробіологічний контроль реалізується шляхом:

- Висівом на агаризовані середовища. Для перевірки стерильності поживного середовища його зразок висівають на чашки Петрі із суцільним агаром для виявлення грибків та дріжджів, та на чашки із МПА для виявлення бактерій. Чашки інкубують у термостаті протягом 48-73 годин, при наявності росту можна зробити висновок що середовище є забруднене сторонньою мікрофлорою [35].
- Мікроскопіюванням. Здійснюється для перевірки наявності росту сторонньої мікрофлори на різних етапах культивування, у мікроскопійованому зразку має

бути наявний лише біологічний агент *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* DSM 20081. Невелику кількість культуральної рідини поміщають на предметне скельце, накривають покривним скельцем. На покривне скельце наносять імерсійну олію та мікроскопіюють на об'єктиві 90, занурюючи його в олію [35]. Клітини *Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus*, які мають спостерігатися грампозитивні довгі ниткоподібні палички. Іноді морфологія, довжина окремих паличок або ланцюжків може залежати від рН, за якого проводилося культивування [36], або від наявності певних речовин у поживному середовищі [37].

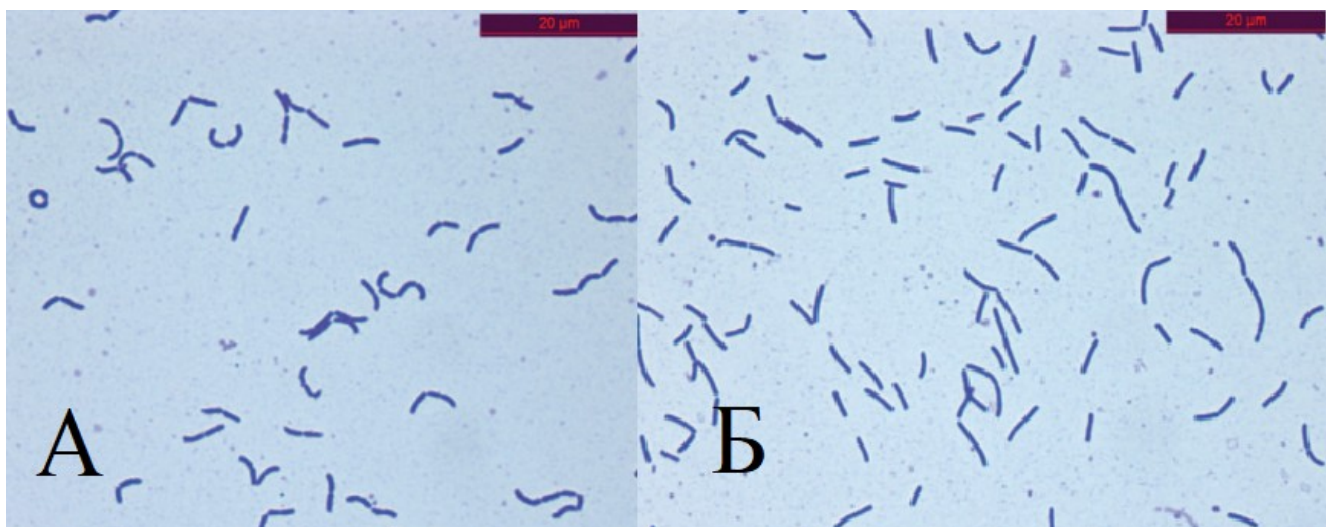


Рис. 5.1. *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* (А) при рН 5.1 та (Б) при рН 5.7 [36].

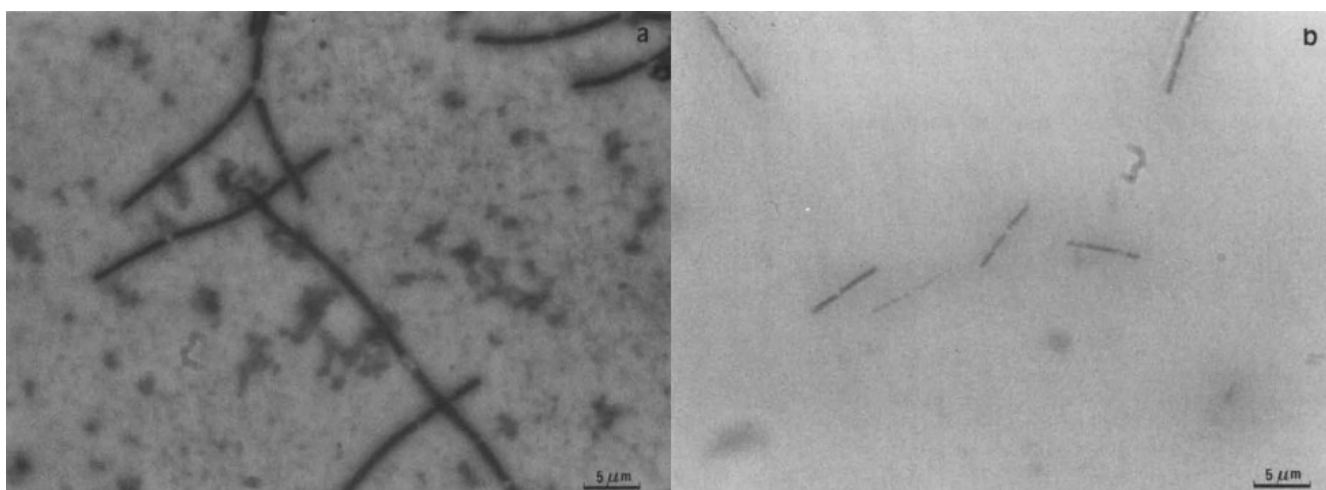


Рис. 5.2. *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* (А) через 2 години культивування в середовищі з 1% карбометилцелюлозою, та (Б) у середовищі без карбометилцелюлози [37].

7.3. Показники росту і синтезу цільового продукту

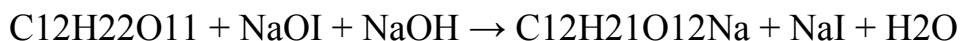
7.3.1. Концентрація цільового продукту

Інтенсивність накопичення біомаси визначали за показниками оптичної густини культуральної рідини. Дослідження проводили на КФК-3-01 в кюветах №5 при довжині хвилі 450 нм. Відсоток життєздатних клітин визначали шляхом висіву відповідних розведень культуральної рідини на агаризоване (щільне) середовище МРС з наступним встановленням кількості колонієутворюючих одиниць в 1 мл суспензії [38].

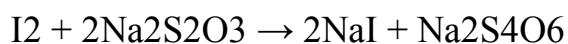
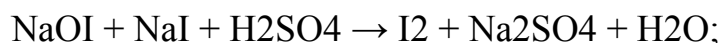
7.3.2. Концентрація джерела вуглецю та азоту

Визначення концентрації лактози проводили за допомогою йодометричного методу. Сутність йодометричного методу полягає у взаємодії між альдегідною групою молочного цукру і глюкозою з йодом в лужному середовищі, в якій йод є окислювачем. Атомарний кисень, який виділився окислює молочний цукор в лактобіонову кислоту, а глюкозу, що утворюється під час інверсії цукрози, в глюконову кислоту. Під час визначення цукрів беруть надлишок йоду, і за різницею між кількістю взятого йоду і йодом, який не прореагував під час титрування розчином тіосульфату натрію, знаходять вміст (лактози) молочного цукру [39].

Механізм реакції відбувається наступним чином [41]:



Розчин йоду, що не прореагував з лактозою, далі визначають титруванням розчином натрій тіосульфату у кислому середовищі. Ця реакція також проходить у дві стадії:



Методика проведення.

1. Підготовка зразка до аналізу: У мірну колбу об'ємом 500 см³ відважують наважку зразку масою 25 г з точністю $\pm 0,01$ г або відміряють, піпеткою 25 см³. Туди ж додають дистильовану воду приблизно до половини об'єму, потім додають 10 см³ розчину Фелінга і 4 см³ 0,1 н розчину КОН. Після кожного додавання рідину ретельно перемішують. Вміст колби доводять до мітки перемішують і залишають на 30 хв. Рідину, що відстоялась, фільтрують у суху колбу через складчастий паперовий фільтр. Перші порції фільтрату 10-20 см³ видаляють. 50 см³ фільтрату переносять піпеткою у конічну колбу ємністю 250-300 см³ з притертим або гумовим корком. Додають 25 см³ 0,1 н розчину йоду і повільно, неперервно перемішуючи, додають 37,5 см³ 0,1 н розчин гідроксиду натрію. Колбу закривають корком і залишають у темному місці на 20 хв за температури 20 °С.

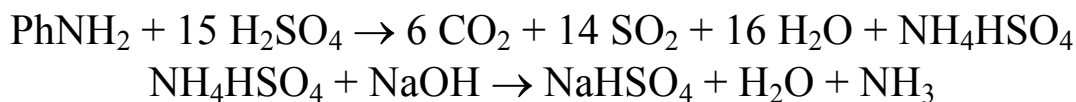
2. Проведення досліджень. Для визначення кількості йоду, що не вступають у реакцію, до суміші вносять піпеткою 8,0 см³ 0,5 н розчину хлоридної кислоти, після чого виділяється вільний йод, який забарвлює фільтрат у чорно-коричневий колір. Через 10 хв йод, що виділився, титрують 0,1 н розчином гіпосульфиту натрію. 1,0 см³ індикатора (0,5 %-й розчин крохмалю) вносять наприкінці титрування, коли забарвлення в реакційній колбі набуває світло-жовтого кольору. Титрування продовжують до моменту зникнення синьо-фіолетового забарвлення. Паралельно проводять контрольний дослід, відміряючи колбу 50 см³ води (замість фільтрату) і виконуючи експеримент у тій самій послідовності, як і в основному досліді.

3. Оброблення результатів аналізу. Масову частку лактози W1, у відсотках, обчислюють за формулою

$$W1 = (V0 - V1) \cdot T1 \cdot 0,97 \cdot 100 \text{ m},$$

де V0 – об'єм розчину тіосульфату натрію, витрачений на титрування йоду в контрольному випробуванні, см³ ; V1 - об'єм розчин тіосульфату натрію, витрачений на титрування фільтрату, см³ ; T1 - титр розчину тіосульфату натрію, виражений у грамах лактози, T1 = 0,1801 г; 0,97 - емпіричний коефіцієнт; m - маса зразку, взята для титрування, яка відповідає 50 см³ фільтрату [42].

• **Визначення концентрації джерела азоту.** Джерелом азоту у середовищі виступає цитрат амонію та казеїн, використовується метод К'ельдаля. Метод оснований на повному розкладі органічної речовини при кип'ятінні її в концентрованій сірчаній кислоті в присутності окисників та каталізаторів окиснення. Азот при цьому кількісно перетворюється в гідросульфат амонію, який лугом переводять в аміак; останній визначають методом зворотного титрування:



Методика проведення.

Принцип методу К'ельдаля полягає в наступному: розклад проби ведуть протягом 60-90 хвилин (до повного обезбарвлення розчину) при температурі 350-360 °С в концентрованій сірчаній кислоті, яку беруть в 6-20- кратному надлишку (в залежності від вмісту кисню в досліджуваному зразку). Для підвищення температури розкладу, до сірчаної кислоти додають сульфат калію (сульфат натрію) у вигляді таблеток (в 3- кратному надлишку по відношенню до досліджуваного зразку). При розкладі проби використовують наступні каталізatori окиснення: ртуть, селен, сульфат міді (II) або їх суміш (кількість каталізатору еквівалентна масі досліджуваного зразку). Підвищувати температуру вище 360 °С не рекомендується із-за можливого розкладу сульфату амонію, який утворюється при розкладі проби. Також розроблені методики, в яких для прискорення розкладу досліджуваного зразку використовують наступні суміші окисників: $\text{HClO}_3 : \text{H}_2\text{SO}_4$ (1:15) чи $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_8 : \text{H}_2\text{SO}_4$ (1:20). Після розкладу проби до реакційної суміші через лійку добавляють надлишок концентрованого розчину лугу, після чого зібраний в приймачу аміак, визначають титрометричним чи спектрофотометричним методом, що дозволяє автоматизувати аналіз [43].

РОЗДІЛ 8. ОХОРОНА ДОВКІЛЛЯ

8.1. Аналіз технологічної схеми виробництва цільового продукту на місцях емісії твердих, рідких та газоподібних відходів

Аналіз утворення рідких відходів. Утворення виробничих стічних вод відбувається в процесі миття тари, устаткування, під час прибирання виробничих приміщень. Ці води містять також залишки клітин продуцента, виробничі відходи, хімічні реагенти та змиті з поверхні устаткування домішки. Отже, стічні води підприємств галузі є висококонцентрованими за вмістом органічних сполук, а також характеризуються нестабільним складом.

Аналіз утворення газоподібних відходів. Відпрацьоване повітря, яке використовувалося для аерації культурального середовища може містити у собі залишки клітин продуцента, метаболіти та продукти обміну, забруднення у вигляді пилу, спор та інше.

Аналіз утворення твердих відходів. Залишки речовин, матеріалів, предметів, виробів, товарів, продукції, що не можуть у подальшому використовуватись за призначенням.

8.2. Перспективи впровадження системи екологізації виробництва

8.2.1. Система знешкодження та утилізації рідких відходів

В світовій практиці серед існуючих механічних, хімічних, фізико-хімічних та біологічних методів очищення комунальних стічних вод найбільш перспективними вважають біохімічні методи. В локальних системах для глибокого очищення стічних вод застосовують три типи біореакторів: біофільтри, аеротенки та поля фільтрації. Серед них — занурені біофільтри з піском в якості завантаження та носія —

						НУХТ БТЕК 05.01.20 КР ПЗ		
Зм	Арк	№ докум.	Підпис	Дата				
Розробив		Михайлова П.О.			РОЗДІЛ 8. Охорона довкілля	Лт.	Арк.	Аркушів
Перевірив		Пенчук Ю.М.						
Реценз.						Кафедра БТМ		
Н. контр.								
Затверд.		Стабніков В.П.						

біоплівки (розповсюджені в США, Великобританії, Японії, Франції). Для роботи в стандартному діапазоні забруднень стічних вод застосовують фільтри «Біокарбон» (Франція) та «Оксіпор» (СНГ), для очищення специфічних та висококонцентрованих стоків — фільтри «Окситрон» (США), «Антиконтактор» (Японія), «Хайлоу» (Великобританія). Занурені біофільтри типу «Біокарбон» та «Оксіпор» забезпечують високий ступінь біологічного очищення господарчо-побутових стоків. Так, значення БСК₅ зменшується на 85-95%, а зважених речовин — до 96%. Органічні навантаження при цьому становлять 5-6 кг БСК₅/(м³ доб.), а гідравлічні — 72-96 м³/(м² доб.), що перевищує відповідні навантаження на високо навантажені фільтри в 3-3,5 та 6-7 разів.

В спорудах різних типів поєднуються різні рівні обробки води: деструкція органічних споруд, нітрифікація, денітрифікація, мікрофільтрація. Біологічна стадія очищення може бути обладнана вертикальними циліндричними стаканами, заповненими нерухомим завантаженням для іммобілізованої біомаси мікроорганізмів. Стакани встановлюються на решітковому дренажі, під яким змонтовані тарілчасті аератори. За рахунок аерації, таким чином, створюється вертикальна циркуляція стоків, що забезпечує оптимальний контакт стічних вод з біомасою та високий ефект очищення.

Біохімічне очищення побутових стоків проводять також в споруді, що має вертикальний прямокутний корпус, в якому вмонтована чотиригранна піраміда, повернена вершиною униз. Об'єми між стінками корпусу та піраміди є зонами аерації, а об'єм піраміди виконує функцію вторинного відстійника. Відокремлений активний мул повертається в зони аерації крізь чотири придонні щілини.

Інтенсифікація процесів первинного відстоювання перед подачею стічних вод в аеротенк завдяки зміні дисперсійного складу стоків дозволяє зменшити загальне навантаження на біологічну стадію обробки, а також значно підвищити питому швидкість окислення органічних забруднень [44].

Прикладом подібної установки є станція «MakBoxBio» від компанії «Акваполімер» під індивідуальне замовлення [38].

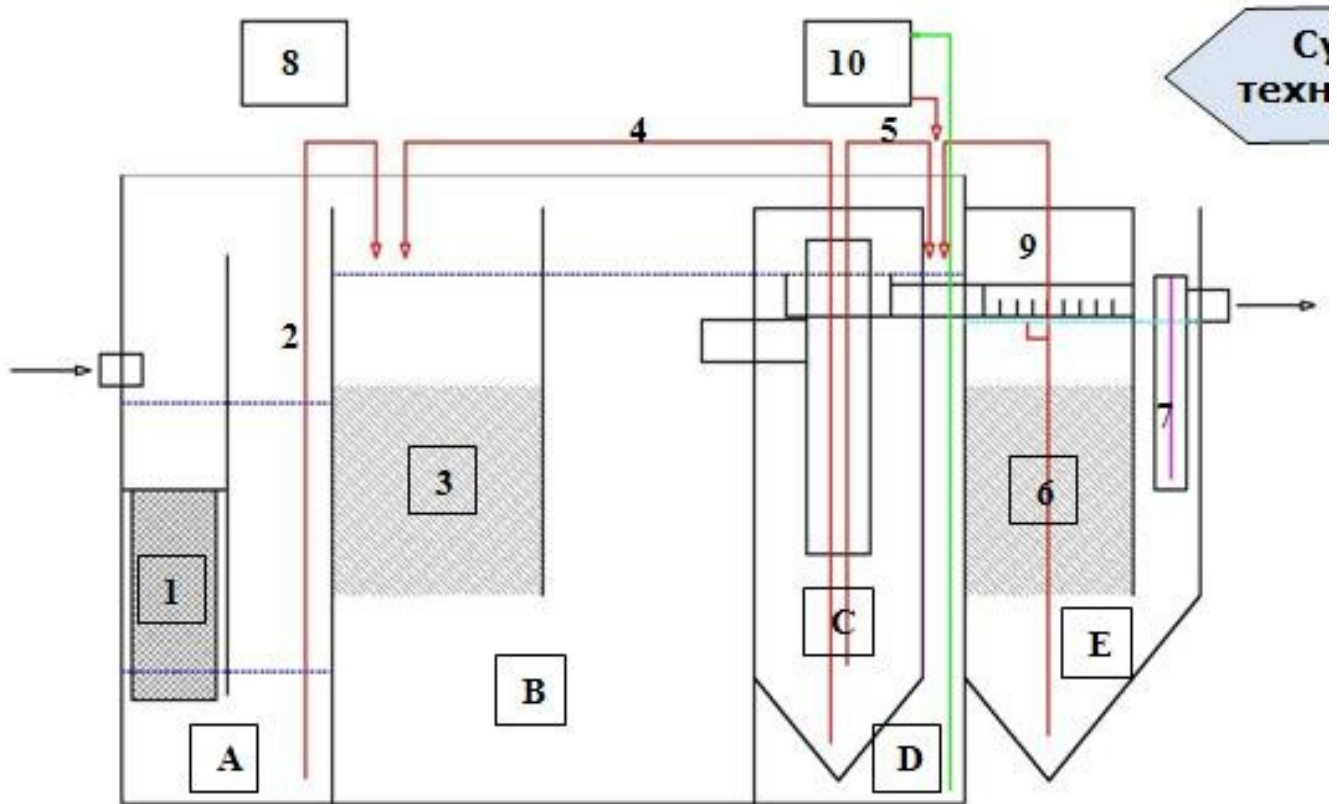


Рис. 8.1. Технологія очищення стічних вод

Стічна вода через вхідний трубопровід надходить до усереднювача (А), проходячи через корзину (1). Далі за допомогою аерліфта (2) вода перекачується до аеротенку (В), попадаючи спочатку на пластиковий аерований біофільтр (3). Завдяки біофільтру з прикріпленою аеробною мікрофлорою відбувається очищення основної маси забруднень та СПАР. Далі, пройшовши другу зону аеротенка, стічна вода надходить у вторинний відстійник (С), де проходить розподіл на очищену воду та мул. При цьому активний мул направляється на рециркуляцію (4) на біофільтр, а надлишковий мул (5) у окремий відсік накопичення і стабілізації (D).

З вторинного відстійника вже очищена вода може подаватись в дренажну систему самопливно (9) або за допомогою дренажного насосу.

При необхідності скиду очищеної води в водойму або для використання у технічних цілях (полив, змив унітазів тощо) потрібно використовувати додатковий блок доочищення (Е), який встановлюється всередині станції біологічного очищення MakBox. Цей блок складається зі спеціального фільтра доочищення (6) та лампи ультрафіолетового знезараження (7). Компресор та блок керування знаходяться в окремому сухому відсіку (8) під кришкою [45].

8.2.2. Система знешкодження та утилізації газоповітряних відходів

Для очищення великих об'ємів відпрацьованого повітря доцільно використовувати циклон.

Принцип роботи циклона оснований на дії відцентрової інерційної сепарації – під впливом відцентрової сили, що виникає під час обертання газового потоку в корпусі апарата, відокремлюються тверді частинки від газового середовища (рис. 1). Газовий потік 1, забруднений твердими частинками, вводиться в циклон через патрубок 2. Здійснюючи обертальний рух по спіралі тверді частинки притискаються до стінок циклона, втрачають швидкість, скочуються вниз і через отвір 3 потрапляють в бункер, де відбувається їх осадження і накопичення. Очищений газовий потік 4 з центральної зони гвинтоподібно піднімається вгору і через трубу 5 виходить назовні. Бункер в разі його повного або часткового заповнення розвантажується від твердих частинок [46].

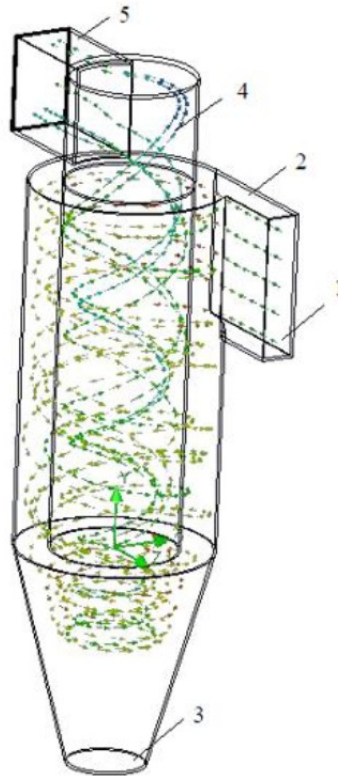


Рис. 8.2. Циклон

8.2.3. Система знешкодження та утилізації твердих відходів

Утилізація тари й упаковки в Києві є дуже актуальною проблемою. Частковим вирішенням цих питань займаються спеціалізовані підприємства, які організовують збір і вивіз непотрібної одноразової упаковки з подальшим її сортуванням залежно від матеріалу. В Україні працюють компанії, які надають послуги з утилізації усіх видів тари і упаковки. Представниками цієї галузі є: «Бровари-вторма», ТОВ «НВК «УкрЕкоПром», «Крамар-Рисайклинг», «Экологические Инвестиции», та інші [46].

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. М.О. Рубель, І.М. Волошина. Використання пробіотичних мікроорганізмів у косметичних лікарських засобах. *Наукові праці НУХТ*. -2014. 20(2). [Електронний ресурс]. Режим доступу: https://dspace.nuft.edu.ua/jspui/bitstream/123456789/22560/1/20_2.pdf#page=23
2. В.М. Гуляєв, О.П. Головей, О.Ю. Філімоненко, І.М. Криворучко. Дослідження умов отримання біологічно активних продуктів із сироватки та ягід. *Хімічні технології. Біотехнології*. С. 195-199.
3. Mende, S., Krzyzanowski, L., Weber, J., Jaros, D., & Rohm, H. Growth and exopolysaccharide yield of *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* DSM 20081 in batch and continuous bioreactor experiments at constant pH. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, - 2012. 113(2), 185–191. [Електронний ресурс]. Режим доступу: doi:10.1016/j.jbiosc.2011.10.012
4. Reyhan Irkin and Ufuk Vapur Eren. A Research about Viable *Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* Numbers in the Market Yoghurts. *World Journal of Dairy & Food Sciences*. 3 (1): 25-28, 2008. [Електронний ресурс]. Режим доступу: https://www.researchgate.net/profile/Reyhan-Irkin/publication/242115434_A_Research_about_Viable_Lactobacillus_bulgaricus_and_Streptococcus_thermophilus_Numbers_in_the_Market_Yoghurts/links/5971dc740f7e9b25e8606ff4/A-Research-about-Viable-Lactobacillus-bulgaricus-and-Streptococcus-thermophilus-Numbers-in-the-Market-Yoghurts.pdf
5. Gobbetti, M., De Angelis, M., Cagno, R. D., & Rizzello, C. G. (2008). Sourdough/lactic acid bacteria. *Gluten-Free Cereal Products and Beverages*, 267–288. doi:10.1016/b978-012373739-7.50014-9
6. S. Abbasalizadeh, M. Amin Hejazi, M. Pesaran Hajiabbas. Kinetics of β -galactosidase Production by *Lactobacillus bulgaricus* During pH Controlled Batch Fermentation in Three Commercial Bulk Starter Media. *Applied food*

- biotechnology, 2015, 2(4): 39-47. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://doi.org/10.22037/afb.v2i4.9512>
7. Veselá, K., Kumherová, M., Kloidová, I., Solichová, K., Horáčková, Š., & Plocková, M. (2019). Selective culture medium for the enumeration of *Lactobacillus plantarum* in the presence of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus*. LWT, 108365. [Електронний ресурс]. Режим доступу: doi:10.1016/j.lwt.2019.108365
 8. Xiaochen Yin,a, M.R. Salemi, B. S. Phinney, V. Gotcheva, A. Angelov, M. L. Marcoa. Proteomes of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* LBB.B5 Incubated in Milk at Optimal and Low Temperatures. MSystems. -2017. -2(5): 1-13. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://journals.asm.org/doi/full/10.1128/msystems.00027-17>
 9. Judith A. Narvhus, Roger K. Abrahamsen. Yogurt: Role of Starter Culture. Encyclopedia of Dairy Sciences (Third edition). 2022, Pages 496-501. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818766-1.00226-9>
 10. Liliana Luca and Mircea Oroian. Oat Yogurts Enriched with Synbiotic Microcapsules: Physicochemical, Microbiological, Textural and Rheological Properties during Storage. Foods 2022, 11, 940. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://doi.org/10.3390/foods11070940>
 11. LPSN - List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature. Subspecies *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://lpsn.dsmz.de/subspecies/lactobacillus-delbrueckii-bulgaricus>
 12. Кучмій І.А. Аналіз галузі молочної продукції в Україні. The XXI International Scientific and Practical Conference «Actual priorities of modern science, education and practice». –May 31- 03 June 2022, Paris. – p. 227.

13. Tabletki.ua. Закваска бактеріальна Vivo Йогурт по 0.5 г №4 во флак. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://tabletki.ua/Виво-Йогурт/1000110/>
14. Tabletki.ua. Закваска бактеріальна Vivo Пробио йогурт по 1,0 г №4 во флак. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://tabletki.ua/Виво-Пробио-йогурт/1031020/>
15. Tabletki.ua. Закваска бактеріальна Vivo Йогурт с лактулозой по 0.5 г №4 во флак. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://tabletki.ua/Виво-Йогурт-с-лактuloзой/1038415/>
16. Tabletki.ua. Закваска бактеріальна Good Food Йогурт №5 в пак. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://tabletki.ua/Гуд-Фуд-Йогурт/1002630/>
17. Tabletki.ua. Закваска бактеріальна Good Food Йогурт Вітамін D по 1 г №5 в пак. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://tabletki.ua/Гуд-Фуд-Йогурт-Вітамін-D/1000487/>
18. Tabletki.ua. Закваска бактеріальна Good Food Йогурт Фітнес №5 в пак. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://tabletki.ua/Гуд-Фуд-Йогурт-Фітнес/1012401/>
19. Корман І.І., Леменовська В.А., Семенда О.В. Маркетингове дослідження ринку молока та молочних продуктів України. *Економічна наука*. -2022. -4: 62-67. [Електронний ресурс]. Режим доступу: http://www.economy.in.ua/pdf/4_2022/12.pdf
20. Kegg. Galactose metabolism - Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus ND02. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://www.genome.jp/pathway/lde00052>
21. Kegg. Glycolysis / Gluconeogenesis - Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus ND02. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://www.genome.jp/pathway/lde00010>

22. Шаталов А. Т. Філософія здоров'я. - М. -2001. Біохімія. Частина друга.
[Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://ibib.ltd.ua/biohimiya-chastina-2.html>
23. Stainless Steel Bioreactors. Sartorius. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://www.sartorius.com/en/products/fermentation-bioreactors/stainless-steel-bioreactors>
24. Основи проектування біотехнологічних виробництв [Електронний ресурс]: метод. рекомендації до викон. курс. проекту для здобувачів вищої освіти освіт. ступ. «бакалавр» спец.162 ««Біотехнології та біоінженерія» осв.-проф. прогр. «Біотехнології: фармацевтична, промислова, харчова, природоохоронна» ден. форми навч./ уклад. Т.П. Пирог, Ю.В. Карлаш, В.О. Красінько. – К.: НУХТ, 2022. –79 с.
25. Віросан, 1000 мл, дезінфікуючий засіб. BioTestLab. [Електронний ресурс].
Режим доступу: https://biotestlab.shop/ru/virosan/3097/?gclid=Cj0KCQiA6vaqBhCbARIsACF9M6nt28siW6j6ulM7Z_10aHEkMqjF9Ynth4AHy3BZJzlmWnRHrfnpx0aAhl2EALw_wcB
26. Хлорантоїн засіб д/дезінфек. по 1 кг у бан. Tabletki.ua. [Електронний ресурс].
Режим доступу: <https://tabletki.ua/uk/Хлорантоин/1007495/>
27. Біошаум. Кронос Агро. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <http://kronos-agro.com/product/bioshaum/>
28. Біомой - передстерилізаційний засіб. Фармакос. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://farmakos.ua/ua/bimoj.html>
29. МОЗ Наказ «Про затвердження методичних рекомендацій щодо виконання санітарно-гігієнічних вимог та проведення мікробіологічного контролю у виробництві нестерильних лікарських засобів» [Електронний ресурс] – режим доступу: <https://zakon.rada.gov.ua/rada/show/v0502282-01#Text>

30. Насос-дозатор "Exactus". [Електронний ресурс] – режим доступу: <https://more-doma.com.ua/ua/nasos-dozator-exactus-20-l-ch-5-bar-ruchnoe-upravlenie/>
31. Biostat Cplus RCP-M 10L. [Електронний ресурс] – режим доступу: <https://www.sartorius.com/en/products/fermentation-bioreactors/stainless-steel-bioreactors/biostat-cplus>
32. Ваговий дозатор ВД-10. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://pack-tech.com.ua/ua/p1264956428-multigolovochnyj-vesovoj-dozator.html>
33. Дозатор-змішувач води TriDOMIX 100. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://ucdap.com/uk/dozatori-zmishuvachi-vodi-stm/65-dozator-zmishuvach-vodi-tridomix-100.html>
34. Перистальтичний насос IP100. [Електронний ресурс]. Режим доступу: https://mir-nasosov.com.ua/sites/default/files/1_1.pdf
35. Методи контролю біотехнологічних, фармацевтичних і харчових виробництв [Електронний ресурс] [Текст] : метод. рекомендації до вивч. дисц., провед. практ. занять та викон. контрол. роботи для здобувачів освіт. ступ. "Бакалавр", спец. 162 освіт.-проф. програми "Біотехнології: фармацевтична, промислова, харчова, природоохоронна" ден. та заоч. форм навч. / уклад. : В. О. Красінько, Т. Л. Сулейко, В. М. Удимович ; Нац. ун-т харч. технол. — Київ : НУХТ, 2022. — 80 с. — каф. біотехнології і мікробіології.
36. Shao, Y., Gao, S., Guo, H., & Zhang, H. (2014). Influence of culture conditions and preconditioning on survival of *Lactobacillus delbrueckii* subspecies *bulgaricus* ND02 during lyophilization. *Journal of Dairy Science*, 97(3), 1270–1280. [Електронний ресурс]. Режим доступу: doi:10.3168/jds.2013-7536 .
37. Arnaud, J. P., Lacroix, C., Foussereau, C., & Choplin, L. (1993). Shear stress effects on growth and activity of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. *Journal of Biotechnology*, 29(1-2), 157–175. [Електронний ресурс]. Режим доступу: doi:10.1016/0168-1656(93)90048-r

38. О.В. Акулевич, Л.Б. Орябінська, В.Ю. Горчаков. Карбюлоза як компонент комплексного пробіотику на основі бактерій роду *Lactobacillus*. Актуальні проблеми фармації та фармакотерапії. -2012. –с. 249-251.
39. Романчук І.О., Рудакова Т.В., Мінорова А.В. та ін. Інноваційні підходи щодо визначення фруктози в молочних продуктах з комбінованим вуглеводним складом. *Journal of Chemistry and Technologies*. -2022. -30(2): 205-215. [Електронний ресурс]. Режим доступу: https://rep.btsau.edu.ua/bitstream/BNAU/7805/1/Innovatsiini_pidkhody.pdf
40. В.В. Раєць, Р.О. Денисюк. Визначення лактози в молоці. Матеріали III Всеукраїнської студентської науково-практичної конференції «Хімія і технології: теоретичні та практичні аспекти», ЖБФФК, 27 квітня 2023 р. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <http://eprints.zu.edu.ua/36740/1/Раєць%2В.pdf>
41. Визначення вмісту лактози йодометричним методом. Інструкція до лабораторної роботи із дисципліни «Аналітична хімія харчових продуктів». Міністерство освіти і науки України ДВНЗ «Прикарпатський національний університет імені Василя Стефаника». [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://kc.pnu.edu.ua/wp-content/uploads/sites/11/2020/09/Lab-2-lactose.pdf>
42. С.М. Хрипак, М.В. Сливка, В.Г. Лендел. Методичний посібник до лабораторних робіт з спецкурсу “Органічний аналіз”. Частина II. – Ужгород, Ужгородський національний університет, 2004. – 105с.
43. Шаповал О. Є., Кравець В. В. Компактні очисні споруди в практиці очищення стічних вод. Охорона навколишнього середовища. Випуск 6. -2005.
44. Акваполімер Інжиніринг. Станції біологічного очищення. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://aquapolymer.com.ua/produktsiya/station-biologichnogo-ochyshhennya/>

- 45.Н. В. Резидент, Н. Д. Степанова. Дослідження показників роботи циклона-утилізатора з використанням cfd-пакета solidworks flow simulation. Інженерні мережі будівель та споруд. -2022. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://stmkvb.vntu.edu.ua/index.php/stmkvb/article/view/783/731>
- 46.І.М. Ткаченко, А.В. Ковальчук, І.О. Ляшок. Ефективні способи переробки тари та упаковки. Ресурсозбереження та охорона навколишнього середовища. - 2017. [Електронний ресурс]. Режим доступу: https://er.knutd.edu.ua/bitstream/123456789/8675/1/NRMSE2017_V2_P496-497.pdf