

**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)

«__» _____ червня 2025 р.

«До захисту допущено»
Завідувач кафедри

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

«__» _____ червня 2025 р.

**КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА
НА ЗДОБУТТЯ ОСВІТНЬОГО СТУПЕНЯ БАКАЛАВРА**

зі спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія»
(код та назва спеціальності)
освітньо-професійної програми «Біотехнології: фармацевтична,
промислова, харчова, природоохоронна»
на тему: Одержання біомаси *Lactococcus lactis* для виробництва м'якого сиру

Виконав: здобувач IV курсу, групи III

_____ (прізвище, ім'я, по батькові повністю) БОНДАРЄВСЬКИЙ Данііл Васильович	_____ (підпис)
Керівник _____ (прізвище, ім'я та по батькові повністю) ГРЕГІРЧАК Наталія Миколаївна	_____ (підпис)

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

Рецензент <u>Андрій КОТИНСЬКИЙ</u> (ім'я та прізвище)	_____ (підпис)
--	-------------------

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

Здобувач _____
(підпис)

Київ – 2025 р.

НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ

Інститут _____ (факультет) Біотехнології та _____ екологічного контролю _____

Кафедра біотехнології і мікробіології

Освітній ступінь бакалавр

Спеціальність 162 «Біотехнології та біоінженерія»

(код і назва)

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

(назва)

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри біотехнології і мікробіології

Віктор СТАБНИКОВ

“ 01 ” березня 2025 року

З А В Д А Н Н Я

НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ ЗДОБУВАЧА

БОНДАРЕВСЬКОГО Данііла Васильовича

(прізвище, ім'я, по батькові)

1. Тема роботи: Одержання біомаси *Lactococcus lactis* GHI для виробництва м'якого сиру

керівник роботи ГРЕГІРЧАК Наталія Миколаївна, доцент, к.т.н.

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

затверджені наказом закладу вищої освіти від 27 березня 2025 року № 188-к

2. Строк подання здобувачем роботи 28 травня 2025 р.

3. Вихідні дані до роботи: біологічний агент – *Lactococcus lactis*; цільовий продукт – біомаса; геометричний об'єм ферментера – 1000 л; коефіцієнт заповнення – 0,7.

4. Зміст пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно розробити) Характеристика цільового продукту; обґрунтування вибору та характеристика біологічного агента; техніко-економічне обґрунтування; біосинтез цільового продукту; обґрунтування вибору технологічної схеми; специфікація обладнання; опис технологічної схеми; виділення та очищення цільового продукту; контроль виробництва.

5. Перелік графічного матеріалу

Апаратурна схема біосинтезу біомаси – 1 аркуш формату A1;

Технологічна схема біосинтезу біомаси – 1 аркуш формату A1.

6. Консультанти розділів роботи

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

7. Дата видачі завдання 01.03.2025 р.

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№	Назва етапів виконання кваліфікаційної роботи	Строк виконання етапів роботи	Примітка
1.	Характеристика цільового продукту	01.03.25 – 09.03.25	
2.	Обґрунтування вибору та характеристика біологічного агента	10.03.25 – 22.03.25	
3.	Техніко-економічне обґрунтування	24.03.25 – 04.04.25	
4.	Біосинтез цільового продукту	05.04.25 – 11.04.25	
5.	Обґрунтування вибору технологічної схеми виробництва	12.04.25 – 26.04.25	
6.	Специфікація обладнання	27.04.25 – 04.05.25	
7.	Опис технологічної схеми	05.05.25 – 17.05.25	
8.	Виділення та очищення цільового продукту	05.05.25 – 17.05.25	
9.	Контроль виробництва	18.25.25 – 21.04.25	
10.	Оформлення кваліфікаційної роботи	21.05.25 - 28.05.25	
11.	Оформлення графічної частини	21.05.25- 28.05.25	

Здобувач

(підпис)

Данііл БОНДАРЕВСЬКИЙ

(ім'я та прізвище)

Керівник роботи

(підпис)

Наталія ГРЕГІРЧАК

(ім'я та прізвище)

ABSTRACT

The qualified robot has developed a technological and hardware scheme for the biosynthesis of *Lactococcus lactis* biomass - bacteria that synthesize up to 8.7 g/l of biomass over a period of 16 days. Biomass can be used for the preparation of starter cultures, which can then be used for the fermentation of dairy products for the extraction of a number of lactic acid products, such as cheese, lactic acid drinks (ryazhanka, yogurt, sour milk).

The potency of the vibrator was secured and 112 kg of dried, lyophilized biomass were deposited on the river. The technological scheme for biosynthesis of biomass includes additional steps (preparation and sterilization of living media), as well as a complete technological process (three stages of growth of seed material (in flasks on rocking chairs, in an inoculator with a volume of 3 l and in an inoculator with a volume of 50 l) and biosynthesis in a fermenter with a volume of 1.0 m³ with a variable filling factor of 0.7. biomass.

Keywords: *Lactococcus lactis*, biomass, starter, soft cheeses, Camembert, fermentation, anaerobic cultivation, antifoam, pH-adjustment solutions.

РЕФЕРАТ

У кваліфікаційній роботі розроблено технологічну та апаратурну схеми біосинтезу біомаси *Lactococcus lactis* — бактерій, які синтезують до 8,7 г/л біомаси протягом 16 ± 2 год. Біомаса може використовуватись для виготовлення заквасок, які, в подальшому, можуть бути використані для сквашування молочної продукції для отримання ряду молочнокислих продуктів, таких, як сири, молочнокислі напої (ряжанка, йогурт, кисляк).

Розрахована потужність виробництва склала 112 кг висушеної, шляхом ліофілізації, біомаси на рік. Технологічна схема біосинтезу біомаси включає допоміжні роботи (підготовка і стерилізація поживного середовища), а також безпосередньо технологічний процес (три стадії вирощування посівного матеріалу (у колбах на качалках, в інокуляторі об'ємом 3 л і в інокуляторі об'ємом 50 л) та біосинтез у ферментері об'ємом 1,0 м³ зі змінним коефіцієнтом заповнення 0,7. Також наведено схему виділення та очищення біомаси.

Ключові слова: *Lactococcus lactis*, біомаса, закваска, м'які сири, камамбер, ферментація, анаеробне культивування, піногасник, розчини для рН-корекції.

ЗМІСТ

ВСТУП	8
РОЗДІЛ 1. ХАРАКТЕРИСТИКА ЦІЛЬОВОГО ПРОДУКТУ	10
1.1. Загальна інформація	10
1.2. Мікробіологічні властивості	11
1.3. Фізико-хімічні властивості	11
1.4. Практичне застосування заквасок	12
1.5. Технологічне призначення	13
1.6. Умови зберігання та транспортування	13
РОЗДІЛ 2. ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТА ХАРАКТЕРИСТИКА БІОЛОГІЧНОГО АГЕНТА	14
2.1. Обґрунтування вибору біологічного агента та поживного середовища для його культивування	14
2.2. Розрахунок складу поживного середовища	18
2.3. Морфолого-культуральні та фізіолого-біохімічні ознаки біологічного агента	20
2.4. Таксономічний статус біологічного агента	22
РОЗДІЛ 3. ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ	24
3.1. Потреба у виробництві заквасок	24
3.2. Розрахунок потужності виробництва	25
3.3. Розрахунок загальної кількості циклів проектного виробництва та об'єму виробничого ферментера	27
3.4. Розрахунок кількості необхідних етапів для підготовки посівного матеріалу	29
РОЗДІЛ 4. БІОСИНТЕЗ ЦІЛЬОВОГО ПРОДУКТУ	31
4.1. Шлях катаболізму фруктози у <i>Lactococcus lactis</i> GH1	31
4.2. Біотрансформація ростового субстрату у цільовий продукт	33
РОЗДІЛ 5. ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ	35
5.1. Обґрунтування способу культивування і типу ферментера	36
5.2. Обґрунтування вибору стадії підготовки азоту	37
5.3. Вибір мийних та дезінфікуючих засобів	39
5.3.1. Обґрунтування вибору мийних та дезінфікуючих засобів	39
5.3.2. Розрахунок витрат мийних та дезінфікуючих засобів	43
5.4. Особливості підготовки та стерилізації поживного середовища	48
5.4.1. Поживне середовище для одержання інокуляту в колбах на качалках	49
5.4.2. Поживне середовище для вирощування інокуляту в посівних апаратах	50
5.4.3. Поживне середовище для виробничого біосинтезу	51
5.4.4. Обґрунтування вибору розчинів для регуляції рН та піногасника ...	52
РОЗДІЛ 6. СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ	54
РОЗДІЛ 7. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ	56

РОЗДІЛ 8. ВИДІЛЕННЯ ТА ОЧИЩЕННЯ БІОМАСИ	62
РОЗДІЛ 9. КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА	65
9.1. Мікробіологічний контроль	66
9.2. Аналіз життєздатності	66
9.3. Визначення концентрації біомаси бактерій	68
9.4. Визначення концентрації джерела вуглецю (фруктози)	68
9.5. Визначення концентрації джерела нітрогену	69
СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ	74

ВСТУП

У сучасних умовах розвитку харчової промисловості одним із найперспективніших напрямів є використання біотехнологічних методів для одержання високоякісної мікробної біомаси, зокрема молочнокислих бактерій. Молочнокислі мікроорганізми, як основа для заквасок, широко застосовуються у виробництві молочнокислих продуктів, де вони виконують ключову роль у формуванні смаку, аромату, текстури, а також у забезпеченні мікробіологічної стабільності готової продукції.

Особливу увагу останніми роками привертає штам *Lactococcus lactis* GH1, який демонструє високу біосинтетичну активність, стійкість до умов культивування, а також здатність до синтезу бактеріоциноподібних інгібуючих речовин (BLIS), що пригнічують патогенну та умовно-патогенну мікрофлору. Це робить його перспективним кандидатом як для створення ефективних заквасок у сироварінні, так і для застосування у якості пробіотики.^[3]

Актуальність даної теми зумовлена зростаючим попитом на якісну та безпечну молочну продукцію, особливо на м'які сири, такі як камамбер, де мікрофлора має вирішальне значення для органолептичних властивостей і безпеки продукту. Використання *L. lactis* GH1 як компоненту закваски дозволяє не лише покращити властивості продукту, а й підвищити його функціональну цінність за рахунок наявності BLIS.^[1,2]

Метою даної кваліфікаційної роботи є розробка науково обґрунтованої технології культивування *Lactococcus lactis* GH1 для одержання біомаси, придатної для використання у виробництві заквасок м'яких сирів.

Для досягнення поставленої мети було визначено такі завдання:

- обґрунтувати вибір штаму-продуцента та складу поживного середовища для його культивування;
- розрахувати необхідні об'єми біомаси, виходячи з потреби виробництва м'якого сиру;

- обґрунтувати спосіб культивування і параметри біопроцесу;
- розробити технологічну та апаратурну схеми культивування, запропонувати етапи виділення та очищення біомаси;
- оцінити техніко-економічні показники виробництва.

Наукова новизна роботи полягає у:

- застосуванні штаму *L. lactis* GH1, який, на відміну від традиційних заквасочних культур, демонструє здатність до синтезу BLIS, що підвищує безпечність кінцевого продукту;
- оптимізації процесу біосинтезу з урахуванням анаеробного культивування із подачею азоту, що відповідає фізіологічним особливостям мікроорганізму;
- інтеграції мембранних технологій для м'якого й ефективного виділення біомаси з високим рівнем збереження життєздатності клітин;

Таким чином, представлена робота має не лише теоретичне, але й практичне значення, оскільки результати можуть бути використані при проєктуванні лінії виробництва заквасок або при модернізації існуючих підприємств молочної промисловості. Крім того, запропоновані технологічні рішення враховують енергозбереження, ефективне використання ресурсів та вимоги до мікробіологічної безпеки, що є особливо важливим у сучасних умовах ведення харчового виробництва.

РОЗДІЛ 1. ХАРАКТЕРИСТИКА ЦІЛЬОВОГО ПРОДУКТУ

1.1 Загальна інформація

Цільовим продуктом біотехнологічного процесу, що розглядається в даній роботі, є біомаса молочнокислого штаму *Lactococcus lactis* GH1 - мікроорганізма, який широко використовується в харчовій промисловості, зокрема у виробництві різноманітних ферментованих молочних продуктів, серед яких особливе місце займають м'які сири. Завдяки своїм унікальним фізіолого-біохімічним властивостям, зазначений штам виявляє високий біотехнологічний потенціал у процесах бродіння, а також забезпечує стабільність і прогнозованість якості кінцевої продукції. Біомаса *L. lactis* GH1 є одним із ключових компонентів для приготування заквасок, які відіграють важливу роль у процесах молочнокислого бродіння, формування характерного смаку, аромату, текстури та збереження органолептичних властивостей готового продукту. Окрім того, застосування цієї культури сприяє пригніченню небажаної мікрофлори, що додатково підвищує безпечність харчової продукції [3, 4].

2. Мікробіологічні властивості

Клітини штаму *Lactococcus lactis* GH1 мають характерну морфологію грампозитивних коків, які зазвичай розташовуються поодинокі, попарно або формують короткі ланцюжки. Вони не здатні до спороутворення та є морфологічно стабільними - нерухомими. Цей штам характеризується високим рівнем кислотоутворення, що є ключовою властивістю для молочнокислих бактерій. Основним кінцевим продуктом їхньої метаболічної активності є молочна кислота, яка синтезується за гомоферментативним шляхом, що гарантує стабільне зниження рН середовища. Оптимальні умови активності клітин - температура в межах 30–32 °С, яка забезпечує максимальну біосинтетичну активність.[5]

					НУХТ БТЕК 04.03.19 КР ПЗ								
Змн.	Арк.	№ докум..	Підпис	Дата	РОЗДІЛ 1. Характеристика цільового продукту					Літ.		Арк..	Аркушів
Розроб.		БондаревськийД.В.											
Перевір.		ГрегірчакН.М.										10	78
Реценз.										10			
Н.Контр.										Кафедра БТМ			
Затверд.		СтабніковВ.П.											

Життєздатність культури зберігається протягом тривалого періоду - до 12 місяців у замороженому або ліофілізованому стані, при цьому концентрація життєздатних клітин залишається стабільно високою та не опускається нижче 10^9 КУО/г. Штам демонструє чутливість до широкого спектра антимікробних агентів, зокрема до антибіотиків, антисептиків і температурної дії (пастеризації), що підтверджує його безпечність і контрольованість у технологічному процесі.

3. Фізико-хімічні показники

Закваска, отримана на основі *Lactococcus lactis* GH1, представлена у вигляді порошкоподібного ліофілізату, який має типовий білий або світло-кремовий колір та характерний кисломолочний запах, що свідчить про активну метаболічну діяльність культури. Значення рН суспензії зазвичай знаходиться в діапазоні 5.5–6.5, що є оптимальним для подальшого сквашування молочної сировини. Вологість продукту не перевищує допустимих меж і становить 5–8% для порошкової форми, що гарантує його стабільність під час зберігання. Закваска характеризується високим рівнем дисперсності - вона легко і швидко змішується як з водою, так і з молоком, забезпечуючи рівномірне розподілення в рідкому середовищі. Механічні домішки відсутні. Незважаючи на те, що продукт не розчиняється повністю у воді, він створює стабільну суспензію, що ідеально підходить для використання у виробничих умовах.

4. Функціональні властивості

Закваска на основі *Lactococcus lactis* GH1 вирізняється високою швидкістю кислотоутворення, що дозволяє досягти необхідного рівня кислотності в мінімальні строки - критично важливий фактор у виробництві м'яких сирів. Протеолітична активність штаму є помірною, але достатньою для формування характерного смаку й аромату продукту. Також культура здатна до синтезу низки летких ароматичних сполук, таких як діацетил та ацетальдегід, що значною мірою збагачують смаковий профіль сирів. Антагоністична активність штаму, зокрема здатність пригнічувати ріст

небажаної мікрофлори, забезпечує мікробіологічну стабільність і безпечність кінцевого продукту. Завдяки сумісності з іншими культурами, закваска може ефективно застосовуватись у складі комбінованих заквасочних систем, що розширює можливості її використання в різних технологічних умовах.

5. Технологічне призначення

Закваска на основі *Lactococcus lactis* GH1 широко впроваджується у виробничі процеси, пов'язані з виготовленням м'яких сирів, таких як камамбер, брі, фета, моцарела тощо. Вона також застосовується у виробництві масла шляхом сквашування вершків та у створенні широкого спектра кисломолочних напоїв з ніжною, кремоподібною текстурою. Основними перевагами використання даної культури є стабільність процесу сквашування, збереження постійного рівня кислотності, формування однорідної консистенції готової продукції, а також забезпечення швидкого росту та розвитку корисної мікрофлори, що сприяє підвищенню біологічної цінності продуктів.

6. Умови зберігання та транспортування

Для збереження високої життєздатності та активності закваски, отриманої з *Lactococcus lactis* GH1, рекомендується дотримуватись визначених умов зберігання. У ліофілізованій формі продукт повинен зберігатися за температури не вище -18°C . У рідкій формі допустимим є температурний режим від $+2$ до $+6^{\circ}\text{C}$. Закваска пакується в герметичні, світлонепроникні фольговані пакети, скляні флакони або ампули, що забезпечує її захист від впливу зовнішнього середовища та продовжує термін придатності. Гарантований термін зберігання становить від 6 до 12 місяців, залежно від форми випуску, умов пакування та дотримання режиму транспортування.

Сфера застосування:

Виробництво сирів:

- М'які сири (камамбер, брі, фета, моцарела);
- Напівтверді сири (гауда, тильзітер, едам);

- Тверді сири (cheder, пармезан);
- Кисломолочні сири (творог).

Виробництво молочнокислих продуктів:

- Кефір;
- Сметана;
- Ряжанка;
- Йогурт;
- Кисляк.

РОЗДІЛ 2. ОБГРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТА ХАРАКТЕРИСТИКА БІОЛОГІЧНОГО АГЕНТУ

2.1 Обґрунтування вибору біологічного агента та поживного середовища для його культивування

М'які сири – це різновид ферментованих молочних продуктів, які отримують у результаті складного біохімічного процесу, що включає молочнокисле бродіння та ферментативне згортання молока. Цей процес здійснюється із подальшим визріванням сиру (або без нього), за умови активної дії спеціально підібраних заквасок, природної або доданої мікрофлори, а також ферментів, які забезпечують формування відповідної текстури, смаку та аромату готового продукту. Саме завдяки поєднанню цих біохімічних та технологічних чинників вдається досягти характерних для м'яких сирів органолептичних показників і функціональних властивостей [6].

Яскравим прикладом мікроорганізмів, які традиційно та ефективно використовуються у складі заквасок, призначених для виробництва м'яких сирів, є молочнокислі бактерії. Ці мікроорганізми відіграють надзвичайно важливу роль у технологічному процесі, адже саме вони відповідальні за процеси сквашування, кислототворення, синтез ароматичних сполук та пригнічення небажаної мікрофлори.^[7] З метою оптимального підбору біологічного агента для розробки ефективної закваски було здійснено поглиблений аналіз наукової та фахової літератури, що охоплює сучасні дослідження у сфері мікробіології та харчової біотехнології. В результаті аналізу було виокремлено кілька представників молочнокислих бактерій, властивості яких є найкраще вивченими, а їх застосування – найбільш обґрунтованим і перспективним з технологічної точки зору.

					НУХТ БТЕК 04.03.19 КР ПЗ						
Змн.	Арк.	№ докум.№	Підпис	Дата	РОЗДІЛ 2. Обґрунтування вибору та характеристика цільового продукту			Літ.	Арк.	Аркушів	
Розроб.		БондаревськийД.В.									
Перевір.		ГрегірчакН.М.							14	78	
Реценз.								14			
Н.Контр.								Кафедра БТМ			
Затверд.		СтабніковВ.П.									

У ході аналізу встановлено, що найбільш детально дослідженими та технологічно значущими виявились два роди молочнокислих бактерій - *Lactobacillus* та *Lactococcus*. Ці роди містять значну кількість штамів, які відзначаються високою активністю, стабільністю в умовах культивування та адаптивністю до умов молочного середовища. Серед численних штамів, що належать до згаданих родів, було обрано найбільш доцільні з точки зору отримання біомаси з метою подальшого використання у виробництві заквасок. Вибір здійснювався з урахуванням таких факторів, як рівень засвоюваності біомаси організмом людини, безпечність застосування культури у харчовій промисловості, швидкість росту, а також метаболічні особливості.^[6,7]

Зокрема, було встановлено, що *Lactococcus lactis* характеризується здатністю до стимулювання місцевого імунітету у шлунково-кишковому тракті людини при внесенні до складу мікробіоти^[7]. Це свідчить про його потенціал як функціонального інгредієнта не лише у сироварінні, а й у створенні пробіотичних продуктів. У свою чергу, *Lactobacillus plantarum* виявив здатність попереджувати і значною мірою полегшувати перебіг неврологічних розладів у лабораторних мишей, спричинених інфікуванням бактеріями роду *Salmonella*, що відкриває нові перспективи його використання в медичній та нутрицевтичній практиці.^[7]

У порівнянні з іншими штамми, *Lactococcus lactis* GH1 продемонстрував найкращі показники продуктивності: максимальний вихід біомаси (8,7 г/л), високу концентрацію клітин (8 КУО/мл) та короткий час культивування (16 год). Штам вирощувався в аеробних умовах з перемішуванням при 30 °C і рН 6,9, на простому середовищі з мінімальною кількістю компонентів, що знижує витрати та спрощує технологію. Інші штами (*L. plantarum* HJZW08, AC131, *L. lactis* DPC3147) мали нижчу продуктивність, потребували складніших умов та тривалішого часу. Таким чином, GH1 є найбільш технологічно доцільним для промислового застосування.

Таблиця 2.1

Особливості одержання біомаси для виробництва заквасок на суміші ростових субстратів

Біологічний агент	Склад поживного середовища, г/л	Показники синтезу г/л, КУО/мл	Тривалість процесу	Особливості технологічного процесу	Використана література
<i>L. plantarum</i> HJZW08	MRS бульйон: Триптон – 10 М'ясний екстракт – 8 Дріжджовий екстракт – 4 Декстроза – 20 Гідроортофосфат калію – 2 Полісорбат 80 – 1 Гідроцитрат діамонію – 2 Ацетат натрію – 5 Сульфат натрію – 0,2 Сульфат мангану – 0,04	Біомаса – 8* г/л Концентрація клітин – **	24 год на приготування клітинного препарату + 12 год на приготування вбитої культури	Анаеробні умови, статичне культивування, 37 °C	Wu Y, Wang Y, Hu A, Shu X, Huang W, Liu J, Wang B, Zhang R, Yue M, Yang C. <i>Lactobacillus plantarum</i> -derived postbiotics prevent <i>Salmonella</i> -induced neurological dysfunctions by modulating gut-brain axis in mice. Front Nutr. 2022 Jul 28;9:946096. doi: 10.3389/fnut.2022.946096. PMID: 35967771; PMCID: PMC9365972.
<i>L. plantarum</i> AC131	Пептон – 11 Дріжджовий екстракт – 4,5 Глюкоза – 0,6 Галактоза – 3 Арабіноза – 5,2 Сахароза – 2,4 Крохмаль – 8,8 K ₂ HPO ₄ – 0,25 KH ₂ PO ₄ – 0,25 CH ₃ COONa – 10 MgSO ₄ ·5H ₂ O MnSO ₄ – 0,05 FeSO ₄ ·7H ₂ O – 0,05	Біомаса - 3,1 г/л Концентрація клітин – **	80 год	Контроль і регуляція pH, 37 °C, статичні умови, pH 6,2	Danova S, Yankov D, Dobрева L, Dobрева A, Armenova N, Apostolov A, Mileva M. Postbiotics Production of Candidate-Probiotic <i>Lactiplantibacillus plantarum</i> AC131 with Renewable Bio Resources. Life (Basel). 2023 Oct 2;13(10):2006. doi: 10.3390/life13102006. PMID: 37895388; PMCID: PMC10608073.

Закінчення табл. 2.1

<i>L. lactis</i> GH1	Фруктоза – 5 Соевий пептон – 5 NaCl – 5 Na ₂ HPO ₄ – 2,5	Біомаса – 8,7 г/л Концентрація клітин – 8 КУО/мл	16 год	Аеробні умови, перемішування, pH 6,9, 30°C	Jawan R, Abbasiliasi S, Tan JS, Kapri MR, Mustafa S, Halim M, Ariff AB. Evaluation of the Estimation Capability of Response Surface Methodology and Artificial Neural Network for the Optimization of Bacteriocin-Like Inhibitory Substances Production by <i>Lactococcus lactis</i> Gh1. Microorganisms. 2021 Mar 12;9(3):579. doi: 10.3390/microorganisms9030579. PMID: 33809201; PMCID: PMC8001407.
<i>L. lactis</i> DPC3147	Триптон – 5 Соевий пептон – 5 М'ясний екстракт – 5 Дріжджовий екстракт – 2,5 Аскорбінова кислота – 0,5 MgSO ₄ – 0,25 Гліцерофосфат натрію – 19 Агар – 11	Біомаса – 7 г/л Концентрація клітин – 8 КУО/мл	16 год	Аеробні, статичні умови, pH 6,9, 30°C	Zamojska D, Nowak A, Nowak I, Macierzyńska-Piotrowska E. Probiotics and Postbiotics as Substitutes of Antibiotics in Farm Animals: A Review. Animals (Basel). 2021 Dec 1;11(12):3431. doi: 10.3390/ani11123431. PMID: 34944208; PMCID: PMC8697875.

* - біомаса розрахована за азотом

** - концентрації клітин в літературному джерелі не вказана

2.2 Розрахунок складу поживного середовища

Наступним етапом дослідження стало детальне вивчення економічних аспектів процесу культивування, що передбачає аналіз вартості окремих компонентів, які входять до складу поживного середовища. Було здійснено порівняльну характеристику вартості кожного інгредієнта, з урахуванням актуальних цін на ринку лабораторних та промислових реагентів. Відповідні дані систематизовано та наведено у табл. 2.2. Результати аналізу показали, що найменш затратним у плані економічної доцільності є поживне середовище, призначене для культивування штаму *Lactococcus lactis* GH1. Його загальна собівартість склала 109,36 грн за 1 літр середовища, що свідчить про значну економічну привабливість цього варіанту в умовах промислового виробництва біомаси, зокрема для цілей використання у складі заквасок для молочнокислих продуктів.

Таблиця 2.2

Вартість поживних середовищ для культивування мікроорганізмів,

Біологічний агент	Компонент поживного середовища	Концентрація у ПС, г/л	Ціна компонента поживного середовища, грн/кг	Вартість компонента для приготування 1 л. середовища	Джерело інформації (1, 2, 3...)*
<i>L. plantarum</i> HJZW08	Триптон	10	18 159,64	181,6	1
	М'ясний екстракт	8	26 987,04	215,9	1
	Дріжджовий екстракт	4	4508,3	18,03	1
	Декстроза	20	87,00	1,74	1
	Гідроортофосфат калію	2	210,00	0,42	2
	Полісорбат 80	1	330,00	0,33	1
	Цитрат амонію	2	198,00	0,396	2
	Ацетат натрію	5	165,00	0,825	1
	Сульфат натрію	0,2	328,80	0,06576	1
	Сульфат мангану	0,04	99,00	0,00396	1
	Вартість 1л середовища: 419,31 грн				
<i>L. plantarum</i> AC131	Пептон	11	4 962,56	54,59	1
	Дріждж. екстракт	4,5	4 508,3	20,29	1
	Глюкоза	0,6	120,0	0,072	1
	Галактоза	3	2 490,00	7,47	1
	Арабіноза	5,2	160 220,9	833,15	1
	Сахароза	2,4	300,0	0,72	1
	Крохмаль	8,8	120,0	1,056	1
	K ₂ HPO ₄	0,25	210,0	0,0525	2

	KH ₂ PO ₄	0,25	270,0	0,0675	<u>2</u>
	CH ₃ COONa	10	165,0	1,65	<u>1</u>
	MgSO ₄ ·5H ₂ O	0,05	78	0,0039	<u>1</u>
	MnSO ₄	0,05	99,0	0,00495	<u>1</u>
	FeSO ₄ ·7H ₂ O	0,05	55,2	0,00276	<u>1</u>
	Вартість 1л середовища: 919,14 грн				
<i>L. lactis</i> GH1	Фруктоза	35,38	284,00	10,05	<u>3</u>
	Соевий пептон	16	5 636,42	98,18	<u>1</u>
	NaCl	3,25	174,00	0,57	<u>4</u>
	Na ₂ HPO ₄	5,4	103,00	0,56	<u>5</u>
	Вартість 1л середовища: 109,36 грн				
<i>L. lactis</i> DPC3147	Триптон	5	18 159,64	90,80	<u>1</u>
	Соевий пептон	5	12 610,08	63,10	<u>1</u>
	М'ясний екстракт	5	26 987,04	134,90	<u>1</u>
	Дріжджовий екстракт	2,5	4 508,3	11,27	<u>1</u>
	Аскорбінова кислота	0,5	270,00	0,14	<u>1</u>
	MgSO ₄	0,25	51,00	0,013	<u>1</u>
	Гліцерофосфат натрію	19	11 421,16	217,00	<u>1</u>
	Агар	11	10,89	10,89	<u>1</u>

Примітка: * - Ціни наведені станом на лютий 2024 р.

1 - <https://shop.hlr.ua/ua/>,

2 - <https://logiclab.com.ua/ua>

3 - <https://city-soap.com.ua/ua>

4 - <https://rozetka.com.ua>

5 - <https://prom.ua>

Для остаточного та обґрунтованого визначення найкращого представника мікроорганізмів, придатного для використання у складі заквасок серед розглянутих варіантів, було здійснено порівняльний аналіз ключових показників їх біотехнологічної ефективності. Зокрема, увагу було зосереджено на кількості біомаси, яка синтезується мікроорганізмами за одиницю часу, а також на економічному аспекті виробництва — вартості отримання 1 грама кінцевого продукту, що представлено у табл. 2.3. Такий комплексний підхід дозволив врахувати як продуктивність штаму, так і доцільність його використання з позиції мінімізації витрат. У результаті проведеного аналізу встановлено, що найбільш економічно вигідною з усіх

досліджених варіантів є біомаса *Lactococcus lactis* GH1, яка характеризується найнижчою собівартістю серед представлених культур-продуцентів.

Таблиця 2.3

Умовна вартість 1 г біомаси, синтезованих на суміші ростових субстратів

Біологічний агент	Концентрація цільового продукту, г/л	Тривалість культивування, год.	Кількість цільового продукту, синтезованого за годину, г/год	Вартість 1л середовища, грн	Умовна вартість 1 г синтезованого цільового продукту, грн/г
<i>L. plantarum</i> HJZW08	8*	24	0,33	419,31	52,41
<i>L. plantarum</i> AC131	3,1	80	0,03875	919,14	296,5
<i>L. lactis</i> GH1	8,7	16	0,54	109,36	12,57
<i>L. lactis</i> DPC3147	7*	16	0,43	528,11	75,44

* - біомаса, що розрахована за азотом

2.3 Морфолого-культуральні та фізіолого-біохімічні ознаки

Lactococcus lactis GH1

Штам *Lactococcus lactis* GH1 є представником молочнокислих бактерій, які широко застосовуються в харчовій промисловості, зокрема у виробництві різних видів ферментованих молочних продуктів. Особливо активно він використовується у виготовленні м'яких сирів, таких як камамбер, де його метаболічна активність відіграє важливу роль у формуванні бажаних органолептичних властивостей готового продукту. Завдяки поєднанню низки морфологічних, культуральних і біохімічних властивостей, цей штам демонструє високу ефективність у рамках реалізації біотехнологічного процесу промислового культивування.

Морфологічні ознаки:

Клітини штаму *Lactococcus lactis* GH1 мають характерну морфологічну форму - це грампозитивні коки, які зазвичай розташовуються поодинокі, попарно або формують короткі ланцюжки. Їх типова форма - куляста або овальна, що відповідає загальноприйнятим морфологічним

характеристикам представників роду *Lactococcus*. Розміри клітин варіюються в межах приблизно 0,5–1,5 мікрметра, що забезпечує їм ефективне засвоєння поживних речовин у середовищі. Штам не утворює спор, не має здатності до руху, а також не формує захисних капсул, що є типовою ознакою для більшості молочнокислих бактерій. Тип дихання - факультативно-анаеробний, тобто бактерії здатні здійснювати життєдіяльність як у присутності, так і у відсутності кисню, що забезпечує їх високу адаптивність до різноманітних умов вирощування. При проведенні забарвлення за Грамом клітини демонструють позитивну реакцію - фарбуються у фіолетовий колір, що вказує на наявність товстої пептидогліканової клітинної стінки.^[5]

Культуральні ознаки:

Штам *L. lactis* GH1 характеризується здатністю до активного росту на живильному середовищі, зокрема на МРС-агарі, що є стандартним середовищем для молочнокислих бактерій. Після інкубації на агаризованому середовищі утворюються колонії кремово-білого кольору, які мають гладку поверхню та невеликі розміри, що свідчить про характерний тип росту. У рідких середовищах культура формує виражений осад на дні посудини, що супроводжується зниженням рН культуральної рідини - ознакою інтенсивного молочнокислого бродіння. Підкислення середовища вказує на високий рівень кислототвірної активності штаму.^[5]

Фізіолого-біохімічні ознаки:

Метаболізм *Lactococcus lactis* GH1 характеризується гомоферментативним типом бродіння, у процесі якого основним продуктом є молочна кислота. Такий тип ферментації сприяє ефективному підкисленню середовища, що є критично важливим у виробництві сирів для коагуляції білків. Оптимальна температура росту даного штаму становить 30–32 °С, але бактерії можуть зберігати життєздатність і розвиватися у ширшому температурному діапазоні - від 10 до 42 °С. Найсприятливіший рівень рН для активного росту культури - у межах 6,5–7,2. Штам стійкий до присутності до

4% кухонної солі, що дозволяє застосовувати його у середовищах із підвищеним осмотичним тиском. Газ з глюкози не утворюється, що типово для гомоферментативних штамів. Каталазна проба негативна, що вказує на відсутність ферменту каталази. *L. lactis* GH1 швидко знижує рН середовища завдяки високій кислотопродукуючій активності. Окрім того, він має здатність до синтезу ароматичних сполук, зокрема діацетилу, особливо при наявності у середовищі цитрату. Також для даного штаму характерна помірна протеолітична активність, яка сприяє розщепленню білків молока та формуванню органолептичного профілю сирів. Важливою властивістю є антагоністична активність до небажаної мікрофлори: бактерії можуть ефективно пригнічувати ріст патогенних мікроорганізмів, що підвищує безпечність кінцевого продукту.^[5]

2.4 Таксономічний статус *Lactococcus lactis* GH1

Lactococcus lactis GH1 - це специфічний штам молочнокислої бактерії, яка належить до роду *Lactococcus*. Даний рід є представником грампозитивних, не спороутворювальних кулястих бактерій, які, як правило, зустрічаються у вигляді пар або коротких ланцюжків. Ці мікроорганізми відіграють важливу роль у молочній промисловості, виконуючи функцію первинних ферментаторів у процесах сквашування молока, формування текстури, аромату та смаку молочнокислих продуктів.

Згідно з біологічною систематикою^[8], таксономічне положення штаму *Lactococcus lactis* GH1 виглядає наступним чином:

Домен: *Bacteria* (Бактерії)

Тип (відділ): *Firmicutes*

Клас: *Bacilli*

Порядок: *Lactobacillales*

Родина: *Streptococcaceae*

Рід: *Lactococcus*

Вид: *Lactococcus lactis*

Штам: GH1

Штам GN1 був виділений як активний продуцент молочної кислоти, а також значної кількості бактеріоцин-подібних інгібуючих речовин, що свідчить про його значну біохімічну активність і технологічну цінність. Саме завдяки цим властивостям він отримав широке застосування як закваска у виробництві м'яких сирів, зокрема камамберу. Його характеризує не лише висока швидкість кислотоутворення, а й добра адаптація до умов молочного середовища, що дозволяє отримувати стабільні результати в умовах виробництва та забезпечує високу якість кінцевого продукту.

РОЗДІЛ 3. ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБГРУНТУВАННЯ

1.1 Оцінка потреби населення в м'якому сирі

Молочна промисловість України традиційно вважається однією з ключових і базових галузей харчової промисловості. Вона забезпечує населення широким асортиментом високоякісної молочної продукції, зокрема таких соціально значущих товарів, як молоко, вершки, масло, кисломолочні продукти та сири. Попри складні економічні й соціальні умови, зумовлені воєнними подіями та глобальною нестабільністю, галузь демонструє поступове відновлення та позитивну динаміку зростання.

Зокрема, унаслідок збройного конфлікту в Україні було зафіксовано суттєве скорочення обсягів виробництва молока. Проте, згідно з останніми статистичними даними, зокрема за інформацією авторитетного джерела AgroPortal, вже у 2023 році обсяг отриманого молока склав 3,1 млн тонн, що на 5% перевищує показники попереднього року (рис.1). Така позитивна тенденція дає підстави прогнозувати, що за умови збереження темпів відновлення та сприятливої економічної ситуації, у 2025 році обсяги виробництва молока можуть сягнути **3,5 млн тонн.** ^[16]

					НУХТ БТЕК 04.03.19 КР ПЗ			
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата	РОЗДІЛ 3. Техніко-економічне обґрунтування			
Розроб.		Бондаревський Д.В.						
Перевір.		Грегірчак Н.М.						
Реценз.								
Н.Контр.								
Затверд.		Стабніков В.П.			Кафедра БТМ			
					Літ.	Літ.	Арк.	Аркушів
							24	78
					24			

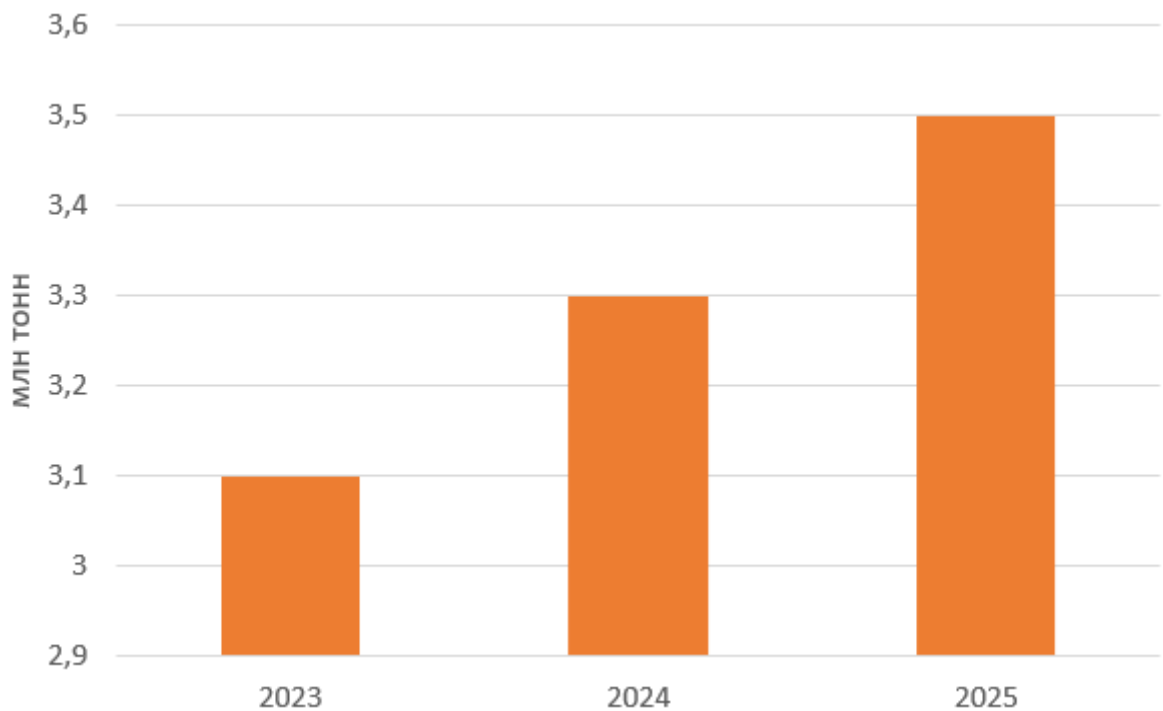


Рис. 1. Тенденції виробництва молока в Україні

Виходячи з наведених статистичних показників, можна зробити висновок, що зростаючі обсяги виробництва сировини відкривають значні можливості для розширення лінійки молочних продуктів та задоволення попиту серед населення. Разом з тим, постає інше, не менш важливе питання: наскільки доцільним і ефективним є виробництво тієї чи іншої категорії продукції, а також наскільки ця продукція відповідає уподобанням і запитам сучасного споживача.

Згідно з інформацією, оприлюдненою Державною службою статистики України, у 2024 році було експортовано 117,73 тис. тонн молочної продукції, що свідчить про зростання на 8% порівняно з попереднім роком^[2] Найбільшу частку в структурі експорту займають наступні категорії:

- молоко та вершки - 32%;
- сири - 22%;
- вершкове масло - 20%.

Серед усієї різноманітності сирів особливою популярністю користуються м'які сири, що зумовлено їхніми споживчими

характеристиками - ніжною консистенцією, вираженим ароматом, приємним смаком та високою засвоюваністю (рис.2). Одним із найвідоміших представників цієї категорії є сир Камамбер - продукт, який здобув широке визнання серед українських споживачів завдяки своїй харчовій цінності, традиційності та відносній доступності.

Варто зауважити, що виробництво високоякісного м'якого сиру неможливе без застосування відповідних заквасок, які містять спеціалізовані штами молочнокислих бактерій. Саме вони забезпечують правильний хід молочнокислого бродіння, створення бажаних смако-ароматичних характеристик, стабільну текстуру і безпечність кінцевого продукту.

На українському ринку одним із провідних виробників таких заквасок є компанія VIVO, яка пропонує широкий асортимент заквасок як для промислового, так і для домашнього використання. Наприклад, закваска CheeseMaster, яка відзначається високою якістю та ефективністю, дозволяє досягти стабільних органолептичних показників, що відповідають очікуванням споживачів. Її застосування також сприяє збільшенню строку зберігання продукції та зниженню ризику розвитку сторонньої мікрофлори.

Склад цієї закваски включає ряд класичних штамів: *Lactococcus lactis subsp. lactis*, *L. lactis subsp. cremoris*, *L. lactis subsp. lactis var. diacetylactis*, *Leuconostoc mesenteroides subsp. cremoris*, *Geotrichum candidum*, *Penicillium candidum*, *Rhizomucor miehei*.

У рамках вдосконалення безпечності та функціональної цінності кінцевого продукту пропонується заміна компонента *Lactococcus lactis subsp. lactis* на штам *Lactococcus lactis sp. lactis GH1*, який, на відміну від базових штамів, синтезує бактеріоциноподібні інгібіторні речовини. Це дозволяє значно підвищити антибактеріальні властивості готового сиру, знизити ризику контамінації й покращити якість продукту у процесі зберігання.

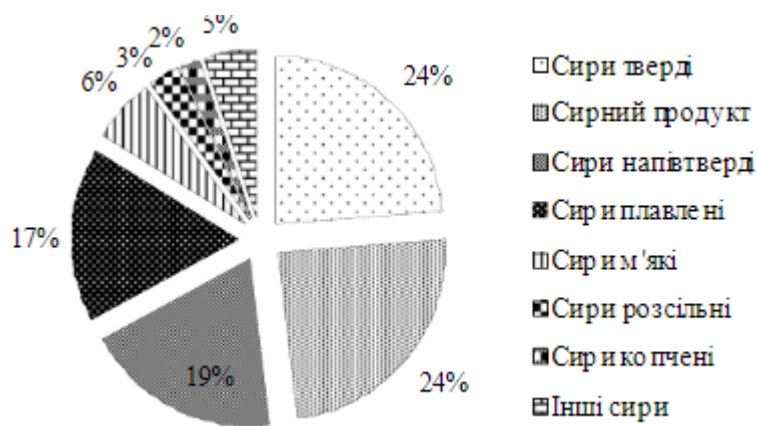


Рис. 2. Структура споживання сирів в Україні за класами^[9]

Таким чином, враховуючи тенденцію до зростання імпорту сирів в Україну, а також підвищену увагу споживачів до питань якості, безпеки та функціональності харчової продукції, удосконалення заквасок шляхом впровадження нових штамів мікроорганізмів є стратегічно важливим завданням для забезпечення конкурентоспроможності національного виробника та задоволення внутрішнього попиту.

Розрахуємо кількість біомаси, необхідної для задоволення потреби в заквасці для приготування 32 тон сиру:

0,0035 кг біомаси – 1 кг сиру

X біомаси – 32 000 кг сиру

$X = 32\,000 \cdot 0,0035 / 1 = 112$ кг сухої біомаси

Розрахуємо об'єм культуральної рідини:

$V_{\text{кр}} = 112 \text{ кг} / 0,00087 \text{ кг/л} = 128\,735 \text{ л} = 129 \text{ м}^3$

1.3 Розрахунок геометричного об'єму ферментера

Стадії підготовки ферментера: миття та огляд апаратури – 1,5 год, перевірка на герметичність – 1 год, підігрів апарату – 0,5 год, стерилізація апарату – 1 год, охолодження апарату – 1 год, завантаження апарату – 2 год, засів – 0,5 год, вивантаження - 0,5 год. Сумарно – 8 год.

Стадії підготовки інокулятора: миття та огляд апаратури – 1,5 год, перевірка на герметичність – 1 год, підігрів апарату – 0,5 год, стерилізація

апарату – 1 год, охолодження апарату – 0,5 год, завантаження апарату – 0,5 год, охолодження середовища та засів – 2 год. Сумарно – 7 год.

Цикл роботи ферментера:

$$T_{\text{цф}} = T_{\text{к}} + T_{\text{пр}} = 18 + 15 = 33 \text{ год}$$

Об'єм культуральної рідини за цикл:

$$V_{\text{цк}} = (K_1 * V_{\text{кр}} * T_{\text{цф}}) / (T_{\text{рд}} * 24) = (1,1 * 129 * 33) / (330 * 24) = 0,59 \text{ м}^3/\text{цикл}$$

Отже, кількість циклів складає:

$$T = (24 * 1,1 * T_{\text{пф}}) / 330 = (24 * 1,1 * 33) / 330 = 26,4 = 27$$

При коефіцієнті заповнення 0,7, об'єм ферментера має складати:

$$V_{\text{геом}} = 0,59 / 0,7 = 0,84 \text{ м}^3$$

Найближчим за значенням об'єму є ферментер, об'ємом 1 м³

Уточнюємо коефіцієнт заповнення:

$K_3 = 0,59 / 1 = 0,59$ – значення нижче заданого значення на досить низьке значення (0,6-0,8), необхідного для культивування молочнокислих бактерій.

1.4 Розрахунок стадій підготовки посівного матеріалу

Розрахуємо необхідну кількість культуральної рідини за умови втрати 10% при краплевиносі:

$$V_{\text{роб1}} = V_{\text{цк}} * (1 + 0,1) = 0,59 * 1,1 = 0,649 \text{ м}^3$$

Розрахуємо геометричний об'єм ферментера для отримання 0,649 м³ культуральної рідини при коефіцієнті заповнення 0,7:

$$V_{\text{геом1}} = V_{\text{роб1}} / K_3 = 0,649 / 0,7 = 0,93$$

Найближчий стандартний об'єм ферментера – 1 м³. Зробимо перевірочний розрахунок коефіцієнту заповнення:

$K_3 = V_{\text{роб1}} / V_{\text{геом1}} = 0,649 / 1 = 0,649$ (отримане значення не перевищує встановлений діапазон: 0,6 – 0,8.)

Відсоток посівного матеріалу: 5%

Для отримання $V_{роб1} = 0,649 \text{ м}^3$ культуральної рідини необхідно визначити кількість посівного матеріалу:

$$V_{пм1} = V_{роб1} * 0,05 = 0,649 * 0,05 = 0,03245 \text{ м}^3 \text{ або } 32,45 \text{ л}$$

Визначимо необхідний об'єм поживного середовища:

$$V_{пс1} = V_{роб1} - V_{пм1} = 0,649 - 0,03245 = 0,61655 \text{ м}^3$$

Розрахуємо необхідну кількість культуральної рідини за умови втрати 10% при крапливності:

$$V_{роб2} = V_{пм1} * (1 + 0,1) = 0,03245 * 1,1 = 35,7 \text{ л}$$

Розрахуємо геометричний об'єм ферментера для отримання 35,7 л культуральної рідини при коефіцієнті заповнення 0,7:

$$V_{геом2} = V_{роб2} / K_3 = 35,7 / 0,7 = 51 \text{ л}$$

Найближчий стандартний об'єм ферментера – 50 л. Зробимо перевірочний розрахунок коефіцієнту заповнення:

$K_3 = V_{роб2} / V_{геом2} = 35,7 / 50 = 0,714$ (отримане значення відповідає встановленому діапазону: 0,6 – 0,8)

Відсоток посівного матеріалу: 5%

Для отримання $V_{роб2} = 35,7 \text{ л}$ культуральної рідини необхідно визначити кількість посівного матеріалу:

$$V_{пм2} = V_{роб2} * 0,05 = 35,7 * 0,05 = 1,785 \text{ л}$$

Визначимо необхідний об'єм поживного середовища:

$$V_{пс2} = V_{роб2} - V_{пм2} = 35,7 - 1,785 = 33,915 \text{ л}$$

Розрахуємо необхідну кількість культуральної рідини за умови втрати 10% при крапливності:

$$V_{роб3} = V_{пм2} * (1 + 0,1) = 1,785 * 1,1 = 1,9635 \text{ л}$$

Розрахуємо геометричний об'єм ферментера для отримання 1,9635 л культуральної рідини при коефіцієнті заповнення 0,7:

$$V_{геом3} = V_{роб3} / K_3 = 1,9635 / 0,7 = 2,805 \text{ л}$$

Найближчий стандартний об'єм ферментера – 3 л. Зробимо перевірочний розрахунок коефіцієнту заповнення:

$K_3 = V_{\text{роб3}} / V_{\text{геом3}} = 1,9635 / 3 = 0,6545$ (отримане значення відповідає встановленому діапазону: 0,6 – 0,8)

Відсоток посівного матеріалу: 5%

Для отримання $V_{\text{роб3}} = 1,9635$ л культуральної рідини необхідно визначити кількість посівного матеріалу:

$$V_{\text{пм3}} = V_{\text{роб3}} * 0,05 = 1,9635 * 0,05 = 0,098 \text{ л}$$

Визначимо необхідний об'єм поживного середовища:

$$V_{\text{пс2}} = V_{\text{роб2}} - V_{\text{пм2}} = 1,9635 - 0,098 = 1,8655 \text{ л}$$

Наступну кількість посівного матеріалу (0,098 л) можна отримати при культивуванні в колбах, об'ємом $V_{\text{колб}} = 0,75$ л з коефіцієнтом заповнення $K_3 = 0,2$.

Визначимо кількість посівного матеріалу, отриманого з однієї колби:

$$V_{\text{роб.к.}} = 0,75 * 0,2 = 0,15 \text{ л}$$

Визначимо необхідну кількість колб:

$$N_{\text{колб}} = 0,098 / 0,15 = 0,65 \approx 1 \text{ колба}$$

Таблиця 3.3

Об'єми середовищ та апаратів для стадії підготовки посівного матеріалу та виробничого біосинтезу

№ стадії	Об'єм культуральної рідини, $V_{\text{кр}}$, м^3 (л)	Уточнений об'єм культуральної рідини $V_{\text{роб}}$, м^3 (л)	Об'єм посівного матеріалу, $V_{\text{пм}}$, м^3 (л)	Об'єм поживного середовища, $V_{\text{пс}}$, м^3 (л)	Коефіцієнт заповнення, K_3 , частка	Геометричний об'єм ферментера, $V_{\text{геом}}$, м^3 (л)
IV	0,59	0,7	0,03	0,67	0,7	1
III	32,45 (л)	36	1,9 (л)	34,1 (л)	0,7	50 (л)
II	1,8 (л)	2 (л)	0,1 (л)	1,9 (л)	0,7	3 (л)
I	0,1	0,1	-	0,1	0,2	1 колба

РОЗДІЛ 4. БІОСИНТЕЗ ЦІЛЬОВОГО ПРОДУКТУ

4.1 Шляхи катаболізму ростового субстрату у біологічного агента

Згідно з даними літературних джерел,^[3] у процесі біосинтезу біомаси обраний біологічний агент *Lactococcus lactis* GH1 використовує фруктозу як основне джерело вуглецю. Оскільки у базі Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG)^[11] відсутня специфічна інформація щодо катаболізму фруктози саме для штаму *L. lactis* GH1, доцільним є використання даних про метаболічні шляхи спорідненого штаму в межах того самого виду.

Катаболізм зазначеного субстрату, згідно з наявними відомостями, розпочинається з його перетворення у D-фруктозо-6-фосфат, що відбувається під дією ферменту фруктокінази (КФ 2.7.1.4). Отриманий метаболіт далі ізомеризується за участі глюкозо-6-фосфат-ізомераз (КФ 5.3.1.9) до D-глюкозо-6-фосфату, з якого, завдяки дії фосфоглюкомутази (КФ 5.4.2.2), утворюється α -D-глюкозо-1-фосфат.

Надалі α -D-глюкозо-1-фосфат включається в послідовні етапи гліколітичного шляху. Цей метаболіт знову перетворюється на α -D-глюкозо-6-фосфат за допомогою фосфоглюкомутази (КФ 5.4.2.2), після чого фосфорилується 6-фосфотрикіназою (КФ 2.7.1.11) до D-фруктозо-1,6-біфосфату. Останній розщеплюється фруктозо-біфосфат-альдолазою (КФ 4.1.2.13) з утворенням гліцеральдегід-3-фосфату.

Гліцеральдегід-3-фосфат далі окиснюється до 1,3-бісфосфогліцерату під дією гліцеральдегід-3-фосфатдегідрогенази (КФ 1.2.1.12). У подальшому 1,3-бісфосфогліцерат за участі фосфогліцераткінази (КФ 2.7.2.3) перетворюється на 3-фосфогліцерат. Останній, у присутності 2,3-бісфосфогліцератзалежної фосфогліцератмутази (КФ 5.4.2.11), ізомеризується до 2-фосфогліцерату, з якого під впливом енолази 1/2/3 (КФ 4.2.1.11) утворюється фосфоенолпіруват (ФЕП).

					НУХТ БТЕК 04.03.19 КР ПЗ						
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата							
Розроб.		Бондаревський Д.В.			РОЗДІЛ 4. Біосинтез цільового продукту			Літ.	Арк.	Аркушів	
Перевір.		Грегірчак Н.М								31	78
Реценз.								31			
Н.Контр.								Кафедра БТМ			
Затверд.		Стабніков В.П.									

У фінальній стадії фосфоенолпіруват перетворюється на піруват за допомогою ферменту піруваткінази (КФ 2.7.1.40), що завершує гліколітичний шлях катаболізму фруктози.

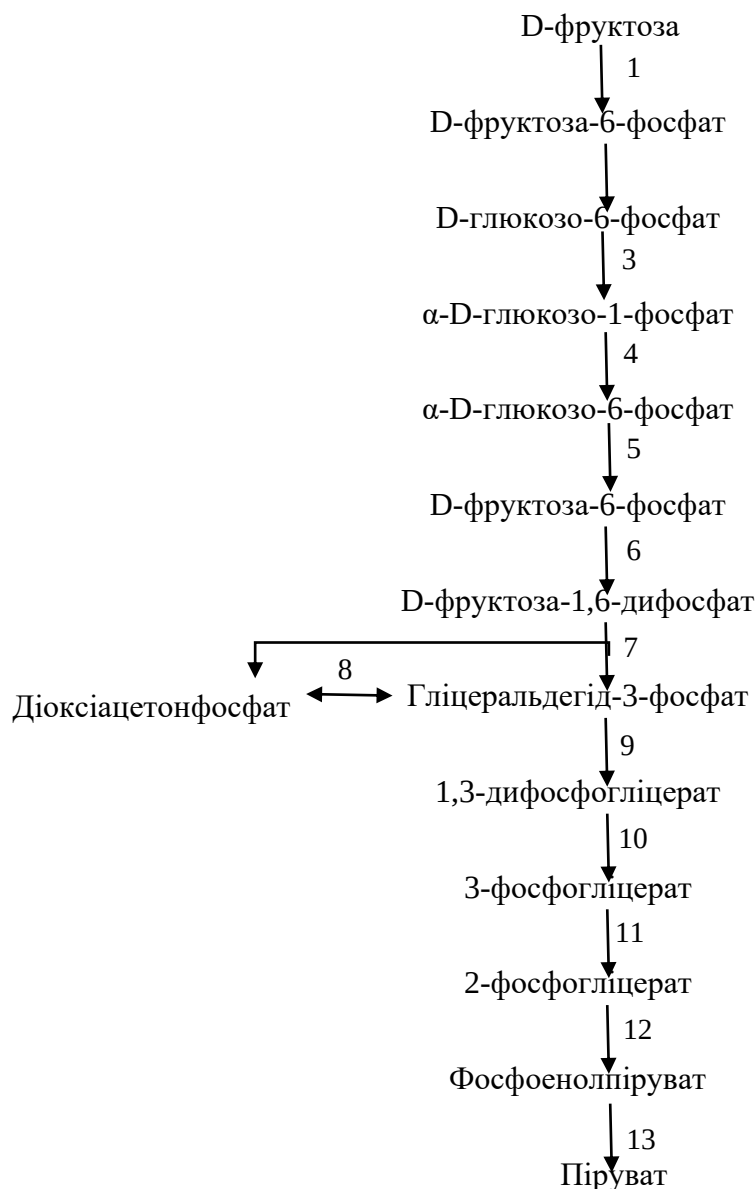


Рис. 4.1. Шлях катаболізму фруктози у *L. lactis* GN1.

Ферменти: 1 – фруктокіназа (КФ 2.7.1.4); 2 – глюкозо-6-фосфатна ізомераза (КФ 5.3.1.9); 3 – фосфоглюкомутаза (КФ 5.4.2.2); 4 – фосфоглюкомутаза (КФ 5.4.2.2); 5 – глюкозо-6-фосфатна ізомераза (КФ 5.3.1.9); 6 – 6-фосфотрикіназа (КФ 2.7.1.11); 7 – фруктозодифосфаталядолаза (КФ 4.1.2.13); 8 – тріозофосфатізомерирази (КФ 5.3.1.1); 9 – гліцеральдегідфосфатдегідрогеназа (КФ 1.2.1.12); 10 –

фосфогліцераткіназа (КФ 2.7.2.3); 11 – фосфогліцератмутаза (КФ 5.4.2.12); 12 – енолаза (КФ 4.2.1.11); 13 – піруваткіназа (КФ 2.7.1.40).

4.2 Біотрансформація ростового субстрату у цільовий продукт

Під час культивування *Lactococcus lactis* GH1 у поживному середовищі відбувається біотрансформація вуглеводного та білкового субстратів у біомасу — тобто у нові клітини бактерій, які накопичуються в культурі.

1. Надходження субстратів

У середовище вводять вуглеводи (наприклад, фруктозу, лактозу), джерела азоту (пептони, амінокислоти) та вітаміни і солі, необхідні для росту.

Ці речовини транспортуються в клітини *L. lactis* через спеціалізовані транспортні білки, що описані у KEGG (наприклад, системи PTS, ABC-переносники).

2. Метаболізм вуглеводів (гліколіз)

Головний шлях перетворення цукрів — емден-мейєргофівий гліколіз (KEGG *pathway: map00010*).

У ньому фруктоза → фруктозо-6-фосфат → глюкозо-6-фосфат → піруват → молочна кислота.

При цьому виділяється енергія у вигляді АТФ, яка використовується для синтезу клітинних структур.

3. Азотистий обмін

Білкові компоненти (пептони, амінокислоти) засвоюються клітиною, розщеплюючись на вільні амінокислоти (KEGG *map00360 – Amino acid biosynthesis*).

Ці амінокислоти використовуються для:

синтезу ферментів, білків клітинної оболонки, рибосом,

або включаються в енергетичний метаболізм після дезамінування.

4. Біосинтез клітинних компонентів

Отримані продукти гліколізу й амінокислотного метаболізму живлять шляхи:

- біосинтезу нуклеотидів (для ДНК і РНК) (*KEGG map00230, map00240*),
- жирних кислот (для мембран) (*KEGG map00061*),
- полісахаридів клітинної стінки (*KEGG map00520*).

Усе це призводить до утворення нових клітин бактерій, тобто накопичення біомаси.

5. Накопичення біомаси

У результаті узгодженої роботи метаболічних шляхів, які узагальнено описані у KEGG як Primary metabolism, бактерії утворюють:

- нові клітинні оболонки,
- ДНК і білки,

та розмножуються шляхом поділу.

Цей процес і є біотрансформацією субстрату в біомасу.

РОЗДІЛ 5. ОБГРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ

5.1 Обґрунтування способу культивування і типу ферментера

Для культивування штаму *Lactococcus lactis* GH1 обрано глибинний анаеробний спосіб культивування з перемішуванням у періодичному режимі. Цей підхід обумовлений потребою створення максимально комфортних умов для росту та розвитку даного мікроорганізму, що сприяє отриманню якісної та стабільної біомаси. Сам глибинний спосіб культивування є широко визнаним і використовується у біотехнологічних процесах, оскільки він дає змогу ефективно контролювати фізико-хімічні параметри середовища.

Глибинний спосіб культивування дозволяє підтримувати однорідність живильного середовища і рівномірний розподіл клітин, що є надзвичайно важливим фактором для одержання стабільної біомаси з високою життєздатністю. Саме рівномірний розподіл клітин у середовищі забезпечує умови для рівномірного росту, запобігаючи утворенню агломератів або зон з дефіцитом поживних речовин. Крім того, підтримка однорідності сприяє оптимальному взаємодії клітин із живильними речовинами, що позитивно впливає на загальну продуктивність культури.

Lactococcus lactis є факультативно анаеробним мікроорганізмом, тобто має здатність розвиватися як у присутності кисню, так і без нього, але краще росте у відсутності кисню або при низькому його рівні. Така особливість зумовлена метаболічними механізмами цього штаму, які більш ефективні у анаеробних умовах. Анаеробні умови сприяють оптимальному метаболізму, підвищеній активності ферментів, а також більш інтенсивній продукції цільових метаболітів, таких як бактеріюцини - речовини з антимікробною активністю, які є важливими для біотехнологічних застосувань.^[5,10]

Отже, забезпечення анаеробного режиму є критичною умовою для отримання високоякісної продукції.

					НУХТ БТЕК 04.03.19 КР ПЗ										
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата	РОЗДІЛ 5. Обґрунтування вибору технологічної схеми				Літ.		Арк..	Аркушів			
Розроб.		Бондаревський Д.В.									35	78			
Перевір.		Грегірчак Н.М.							35						
Реценз..									Кафедра БТМ						
Н.Контр.															
Затверд.		Стабніков В.П.													

Перемішування в процесі культивування забезпечує гомогенність середовища, що є важливим для запобігання осадженню клітин. Завдяки постійному перемішуванню клітини рівномірно розподіляються у всьому об'ємі живильного середовища, що у свою чергу покращує транспорт поживних речовин до клітин, а також ефективно відведення продуктів метаболізму, які могли б у разі накопичення інгібувати ріст культури. Таким чином, перемішування підтримує активний та стабільний ріст культури, що безпосередньо впливає на кінцеву кількість і якість одержуваної біомаси.

Вибір періодичного режиму (batch) культивування є оптимальним для контролю тривалості самого процесу, а також для спрощення технологічного процесу в цілому. Переваги цього режиму полягають у тому, що він дозволяє чітко регулювати фазу росту культури, що є особливо важливим у лабораторних або промислових умовах. Контроль над фазою росту дає змогу максимізувати вихід біомаси, що відповідає встановленим стандартам якості та потребам подальшої переробки. Окрім цього, періодичний режим зменшує ризик контамінації, полегшує планування технологічних операцій і забезпечує більш простий аналіз результатів.

Отже, даний спосіб культивування повністю відповідає біологічним особливостям штаму *Lactococcus lactis* GH1, а також відповідає технологічним вимогам, які висуваються для виробництва високоякісної біомаси. Це дозволяє отримувати стабільні результати, що є запорукою успішного застосування біомаси у подальших технологічних процесах.

5.2 Обґрунтування вибору стадії підготовки азоту

У представленій технологічній схемі підготовка аераційного повітря не передбачена, і це обумовлено низкою важливих причин, що ґрунтуються на особливостях процесу культивування та властивостях штаму.

Для забезпечення анаеробних умов в ферментерах замість звичайного повітря подається азот, який відіграє роль інертного газу і створює необхідний газовий режим. Азот надходить до системи за допомогою спеціального насоса і балонів, що дозволяє здійснювати точний і

контрольований подачу газу. Такий підхід дає змогу чітко регулювати концентрацію кисню у середовищі, підтримуючи умови, які є несприятливими для росту аеробних мікроорганізмів. Це вкрай важливо, оскільки навіть невелика кількість кисню може призвести до зміни метаболічного профілю культури або негативно вплинути на її життєздатність.^[3]

Використання азоту замість повітря також дозволяє виключити окислювальний стрес, який міг би виникнути за наявності кисню та активних форм кисню (ROS). Окислювальний стрес може суттєво знизити життєздатність клітин культури, вплинути на активність ферментів і продуктивність штаму *Lactococcus lactis*, а також призвести до втрати біологічної активності кінцевого продукту. Таким чином, застосування азоту є важливим фактором, що забезпечує стабільність і надійність технологічного процесу.^[10]

Отже, відсутність аерації повітрям у цій технологічній схемі виключає необхідність проведення додаткової очистки або стерилізації повітря, що суттєво спрощує технологічний процес. Це, в свою чергу, призводить до зниження експлуатаційних витрат, підвищення надійності обладнання і скорочення ризику контамінації. Загалом, такий підхід є раціональним і виправданим з погляду сучасних біотехнологічних вимог.

5.3 Обґрунтування вибору мийних та дезінфікуючих засобів

У виробництві м'якого сиру, а також під час біосинтезу заквасок на основі *Lactococcus lactis* sp. *lactis* GH1, особливе значення мають санітарно-гігієнічні заходи. Підтримання стерильності на етапах підготовки посівного матеріалу та ферментації є критичним чинником стабільної якості біомаси. Забруднення сторонньою мікрофлорою може не тільки знизити продуктивність культивування, а й повністю знищити посівний матеріал. Тому вибір ефективних мийних та дезінфікуючих засобів є важливою складовою проектування біотехнологічного процесу.

Основними вимогами до мийних і дезінфікуючих засобів є:

висока ефективність проти грампозитивних та грамнегативних бактерій, грибів і спор;

сумісність із матеріалами обладнання (нержавіюча сталь, поліпропілен, скло);

відсутність залишкової токсичності;

можливість застосування в СІР-мийках (автоматизованих системах мийки);

ефективність при невисоких концентраціях;

економічність використання.

З урахуванням особливостей виробництва біомаси *L. lactis* GH1 було обрано такі мийні та дезінфікуючі засоби:

Гіпохлорид натрію марки С 50 - основний лужний мийний засіб для очищення залишків білків, жиру та органічних речовин із поверхонь обладнання та трубопроводів. Використовується для лужної, жорсткої очистки обладнання і робочих поверхонь.

DEZALDUM 20- застосовується для дезінфекції та миття поверхонь цеху і лабораторії на основі бензалконію хлориду і глутарового альдегіду, а також ізопропілового спирту. Має бактерицидну, фунгіцидну та противірусну дію. Ціль використання – дотримання асептичних умов виробництва.

Санімакс - дезінфікуючий засіб на основі чотирьох ЧАС. Засіб має бактерицидну, фунгіцидну та спороцидну. Є нелетким і не утворює пари. Використовуються для дезінфекції як внутрішніх, так і зовнішніх поверхонь апаратури. Використовується для усунення всіх можливих сторонніх мікроорганізмів, а також продуктів їх життєдіяльності.

Інструклін Нью – дезінфікуючий засіб на основі комплексу коензимів і ПАР. Має бактерицидні, фунгіцидні та противірусні властивості. Призначений для очистки посуду і обладнання від мікроорганізмів і продуктів їх життєдіяльності. Виступає заміником Санімакса для попередження розвитку толерантності мікроорганізмів до миючого засобу.

Даноксин Ен – дезинфікуючий засіб на основі перкарбонату натрію, ТАЕД і комплексу ензимів. Має бактерицидні, фунгіцидні, спороцидні та противірусні властивості. Використовується для очищення обладнання і робочих поверхонь. Є замінником DAZELDUM 20 і гіпохлориду натрію марки С50.

Minisept Pro – дезинфікуючий засіб на основі ізопропілового спирту. Призначений для дезинфекції відкритих ділянок шкіри працівників цеху. Має противірусні, антибактеріальні і протигрибкові властивості.

Обґрунтований вибір засобів базується на їх ефективності при мінімальному впливі на культуру *L. lactis*, збереженні якості обладнання та зниженні витрат на санітарну обробку.

5.4 Розрахунок витрат мийних та дезинфікуючих засобів

У проекті передбачено використання:

ферментера об'ємом 1 м³,

інокуляторів на 3 л і 50 л,

реакторів-змішувачів для приготування розчинів,

трубопроводів і допоміжного обладнання.

Розрахунок об'ємів оброблюваної поверхні

Витрати засобів (на 1 цикл або 1 обробку). Для миття ємнісного обладнання використовується СІР-мийки. Витрати робочого розчину складають 20-30% від об'єму обладнання що миється, приймемо витрати на середньому рівні у межах 25%.

Таблиця 5.1

Норми витрат обраних мийних і дезинфікуючих засобів

Засіб	Концентрація	Об'єм робочого розчину
Гіпохлорид натрію марки С 50	0,5%	25% від об'єму ємності
DEZALDUM 20	0,5%	25% від об'єму ємності
Санімакс	0,25%	25% від об'єму ємності, 0,5% від площі

Інструклін Нью	0,5%	25% від об'єму ємності, 1% від площі
Даноксин Ен	0,5%	25% від об'єму ємності, 1% від площі
Minisept Pro	Готовий розчин	-

Ці розрахунки показують, що щомісячне споживання мийних і дезінфекційних засобів є відносно невеликим. Це дозволяє ефективно планувати витрати, а також забезпечує сталість санітарно-гігієнічного режиму.

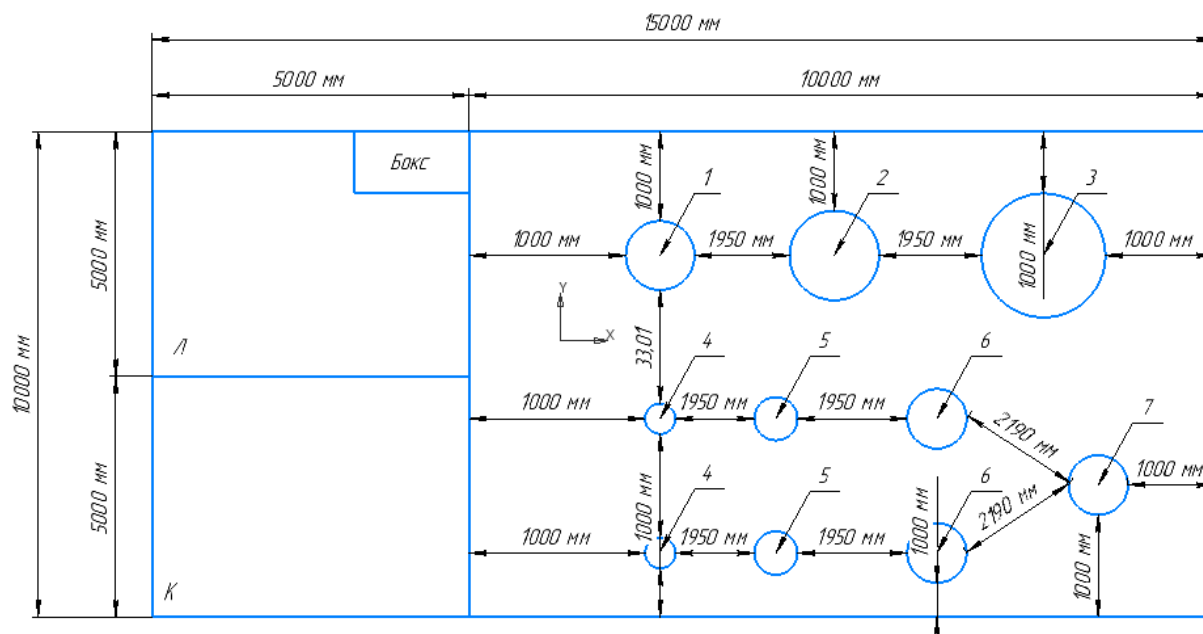


Рис. 5.1 Ескіз плану виробничого приміщення для виробництва біомаси *Lactococcus lactis* GH1

1 – інокулятор об'ємом 3 л (І-4), 2 – інокулятор об'ємом 50 л (І-7), 3 – ферментер об'ємом 1 м³ (Ф-10), 4 – реактор-змішувач (Р-3) для приготування композицій, 5 – реактор-змішувач (Р-6) для приготування композицій, 6 – реактор-змішувач (Р-8) для приготування композицій, 7 – реактор-змішувач (Р-9) для приготування розчину аміачної води; Л – мікробіологічна лабораторія; К – приміщення з качалками.

Розрахунок площі миття апаратури

Обладнання	Геометричний об'єм, л	Діаметр, м	Висота, м
Ферментер (Ф-10)	1000	0,825	1,96
Реактор змішувач (Р-8) для приготування композиції А	500	0,889	0,889
Реактор змішувач (Р-8) для приготування композиції Б	500	0,889	0,889
Інокулятор (І-7) об'ємом 50 л	50	0,151	0,36
Реактор-змішувач (Р-6) для приготування композиції А	100	0,46	0,5
Реактор-змішувач (Р-6) для приготування композиції Б	100	0,46	0,5
Інокулятор (І-4) на 3 л	3	0,055	0,025
Реактор-змішувач (Р-3) для приготування композиції А	1,3	0,0108	0,025
Реактор-змішувач (Р-3) для приготування композиції Б	1,3	0,0108	0,025
Реактор-змішувач (Р-3) для приготування розчину аміачної води (Р-9)	100	0,55	0,55
Всього	2,4		

Згідно даним *табл. 5.2*, загальний об'єм реакторів-змішувачів та апаратів для вирощування посівного матеріалу і виробничого біосинтезу становить 2,4 м³.

З метою забезпечення чистоти виробничих приміщень, миття підлоги проводиться щодня, тобто 330 разів. Один раз на місяць здійснюється

генеральне прибирання (обробка стін, підлоги, вікон тощо), тобто 1 рази на 30 днів. Для розрахунку кількості мийних засобів необхідно розрахувати приблизну площу оброблення мийними та дезінфікуючими засобами, враховуючи площу підлоги виробничого приміщення та площу стін на висоту.

Площа підлоги цеху виробничого біосинтезу становить 100 м^2 ($10 \times 10 \text{ м}$), площа стін – $10 \times 8 \times 4 = 320 \text{ м}^2$, загальна площа – $100 + 320 = 420 \text{ м}^2$. Загальну площу поверхні обробки мийними засобами наведено у *табл. 5.3*.

Табл. 5.3

Розрахунок загальної площі стін та підлоги виробничих приміщень

Приміщення	Площа підлоги, м^2	Площа стін, м^2	Загальна площа, м^2
Цех виробничого біосинтезу та вирощування інокуляту	100	320	420
Мікробіологічна лабораторія	25	160	185
Приміщення з качалками	25	160	185
Загальна площа	150	640	790

Кількість виробничих циклів 26. Оскільки миття обладнання відбувається перед кожним циклом, кількість процесів миття за весь період виробництва складає 28. Тоді загальний об'єм миття становитиме:

$$2,4 \times 28 = 67,2 \text{ м}^3$$

Узагальнені дані щодо розрахунку площі миття та/або дезінфекції за весь період виробництва наведено в *табл. 5.4*.

Розрахунок загальної площі миття оброблюваного об'єкту за весь період виробництва біомаси *Lactococcus lactis* GH1

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) миття та/або дезінфекції об'єкту за весь період виробництва, м² (м³)
Обладнання	2,4	28	68
Підлога	150	11	1650
Стіни, двері, вікна	640	11	7040

З метою забезпечення чистоти виробничих приміщень, миття підлоги проводиться щодня, тобто 330 разів. Один раз на місяць здійснюється генеральне прибирання (обробка стін, підлоги, вікон тощо), тобто 2 рази на 45 днів.

Для миття ємнісного обладнання використовується СІР-мийки. Витрати робочого розчину складають 25 % від об'єму обладнання що миється. Отже, для миття та дезінфекції 576 м³ обладнання необхідно витратити:

$$576 \times 0,25 = 144 \text{ м}^3 \text{ засобу в рік}$$

Дані щодо вибору мийних та дезінфікуючих засобів доцільніше наводити у вигляді узагальнюючої *таблиці* 5.5. Під час вибору мийних і дезінфікуючих засобів слід урахувувати не лише їхню ефективність і ціну, а й витрати, пов'язані з обробкою необхідної площі або об'єму.

Узагальнена характеристика витрат мийних та дезінфікувальних засобів для виробництва біомаси

Назва мийного/дезінфікувального засобу (діюча речовина)	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	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
Гіпохлорид натрію марки С 50	Обладнання, поверхні	0,1	9453	886	51	0,51	452
DEZALD UM 20	Обладнання	0,1	68	17	189,6	1,9	32,3
Санімакс	Обладнання	0,5	68	17	1260	6,3	107,1
Інструклін Нью	Обладнання	0,5	68	17	450	2,25	38,25
Даноксин Ен	Обладнання, поверхні	0,5	9453	886	930	4,65	4120
Minisept Pro	Персонал	Готовий розчин	-	99	151,32	151,32	14 980

5.4 Особливості підготовки та стерилізації поживного середовища

5.4.1 Для одержання інокуляту в колбах на качалках

Для стерилізації середовища необхідно розбити його компоненти на групи за способом їх стерилізації.

Група А: фруктоза, соєвий пептон (режим стерилізації: 112 °С, 40 хв, 0,05 Мпа);

Група Б: NaCl, Na₂HPO₄ (режим стерилізації: 130 °С, 40 хв, 0,15 Мпа);

В окрему колбу вносять фруктозу, соєвий пептон (композиція А) і додають 50 мл питної води. Вказані речовини є термолабільними

компонентами поживного середовища, тому їх стерилізація проводиться при м'яких умовах (112 °С, 40 хв, 0,05 Мпа).

В окрему колбу вносять NaCl, Na₂HPO₄ (композиція Б) і додають дистильовану воду. Вказані речовини стерилізують при жорстких умовах (130 °С, 40 хв, 0,15 Мпа).

Розрахунок необхідних кількостей компонентів для приготування поживного середовища для вирощування посівного матеріалу в колбах наведено в табл. 5.6.

Таблиця 5.6

Композиції стерилізації компонентів поживного середовища для вирощування посівного матеріалу в колбах

Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	Кількість для приготування 100 мл середовища	Композиція	Об'єм композиції, V, мл
Фруктоза	35,38	3,5 г	А	50
Соевий пептон	16	1,6 г		
Питна вода	45 мл			
Конденсат	5 мл			
NaCl	3,25	0,325 г	Б	50
Na ₂ HPO ₄	5,4	0,54 г		
Дистильована вода	45 мл			
Конденсат	5 мл			

5.4.2 Для одержання інокуляту в інокуляторі об'ємом 3 л

Для стерилізації середовища необхідно розбити його компоненти на групи за способом їх стерилізації.

Група А: фруктоза, соєвий пептон (режим стерилізації: 112 °С, 40 хв, 0,05 Мпа);

Група Б: NaCl, Na₂HPO₄ (режим стерилізації: 130 °C, 40 хв, 0,15 Мпа);

В перший інокулятор (Р-3) вносять фруктозу, соєвий пептон (композиція А) і додають 1 л питної води. Вказані речовини термолабільними компонентами поживного середовища, тому їх стерилізація проводиться при м'яких умовах (112 °C, 40 хв, 0,05 Мпа).

В другий інокулятор (Р-3) вносять NaCl, Na₂HPO₄ (композиція Б) і додають 1,57 л дистильованої води. Вказані речовини стерилізують при жорстких умовах (130 °C, 40 хв, 0,15 Мпа).

Розрахунок необхідних кількостей компонентів для приготування поживного середовища для вирощування посівного матеріалу в інокуляторі, об'ємом 3 л наведено в табл. 5.7.

Таблиця 5.7

Композиції стерилізації компонентів поживного середовища для вирощування посівного матеріалу в інокуляторі об'ємом 3 л

Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	Кількість для приготування 1,9 л середовища	Композиція	Об'єм композиції, V, л
Фруктоза	35,38	67,2 г	А	1
Соєвий пептон	16	30,4 г		
Питна вода	900 мл			
Конденсат	100 мл			
NaCl	3,25	6,2 г	Б	0,9
Na ₂ HPO ₄	5,4	10,3 г		
Дистильована вода	810 мл			
Конденсат	90 мл			

5.4.3 Для одержання інокуляту в інокуляторі об'ємом 50 л

Для стерилізації середовища необхідно розбити його компоненти на групи за способом їх стерилізації.

Група А: фруктоза, соєвий пептон (режим стерилізації: 112 °С, 40 хв, 0,05 Мпа);

Група Б: NaCl, Na₂HPO₄ (режим стерилізації: 130 °С, 40 хв, 0,15 Мпа);

В перший інокулятор (Р-6) вносять фруктозу, соєвий пептон (композиція А) і додають питну воду. Вказані речовини термолабільними компонентами поживного середовища, тому їх стерилізація проводиться при м'яких умовах (112 °С, 40 хв, 0,05 Мпа).

В другий інокулятор (Р-6) вносять NaCl, Na₂HPO₄ (композиція Б) і додають дистильовану воду. Вказані речовини стерилізують при жорстких умовах (130 °С, 40 хв, 0,15 Мпа).

Розрахунок необхідних кількостей компонентів для приготування поживного середовища для вирощування посівного матеріалу інокуляторі об'ємом 50 л наведено в табл. 5.8.

Таблиця 5.8

Композиції стерилізації компонентів поживного середовища для вирощування посівного матеріалу в інокуляторі об'ємом 50 л

Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	Кількість для приготування 35,7 л середовища	Композиція	Об'єм композиції, V, л
Фруктоза	35,38	1,26 кг	А	20
Соєвий пептон	16	0,57 кг		
Питна вода	18 л			
Конденсат	2 л			
NaCl	3,25	0,12 кг	Б	15,7
Na ₂ HPO ₄	5,4	0,19 кг		
Питна вода	14,13 л			
Конденсат	1,57 л			

5.4.3 Для виробничого біосинтезу

Група А: фруктоза, соєвий пептон (режим стерилізації: 112 °С, 40 хв, 0,05 Мпа);

Група Б: NaCl, Na₂HPO₄ (режим стерилізації: 130 °С, 40 хв, 0,15 Мпа);

В перший інокулятор (Р-3) вносять фруктозу, соєвий пептон (композиція А) і додають питну воду. Вказані речовини є термолабільними компонентами поживного середовища, тому їх стерилізація проводиться при м'яких умовах (112 °С, 40 хв, 0,05 Мпа).

В перший інокулятор (Р-3) вносять NaCl і Na₂HPO₄ (композиція Б) і додають дистильовану воду. Вказані речовини стерилізують при жорстких умовах (130 °С, 40 хв, 0,15 Мпа).

Розрахунок необхідних кількостей компонентів для приготування поживного середовища для виробничого біосинтезу наведено в табл. 5.9.

Таблиця 5.9

Композиції стерилізації компонентів поживного середовища для виробничого біосинтезу у ферментері об'ємом 1 м³

Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	Кількість для приготування 649 л середовища	Композиція	Об'єм композиції, V, л
Фруктоза	35,38	22,96 кг	А	349
Соєвий пептон	16	10,4 кг		
Питна вода	314,1 л			
Конденсат	34,9 л			
NaCl	3,25	2,1 кг	Б	300
Na ₂ HPO ₄	5,4	3,5 кг		
Дистильована вода	270 л			
Конденсат	30 л			

5.4.4 Обґрунтування вибору розчинів для регуляції рН та піногасника

У процесі біосинтезу *Lactococcus lactis* sp. *lactis* GH1 активно продукує органічні кислоти (зокрема молочну), що призводить до зниження рН середовища. Для підтримки оптимального рівня рН (6,0–6,5), що є критичним для життєдіяльності культури, застосовують 25% розчин NH_4OH .

Цей розчин має такі переваги:

- Висока ефективність у нейтралізації кислот;
- Хімічна стабільність і простота у приготуванні;
- Легкість дозування автоматичними дозуючими системами;
- Відсутність токсичних або побічних продуктів, що можуть впливати на ріст клітин.

Особливості підготовки допоміжних розчинів

Об'єм середовища, л	NH_4OH (25 %)		HCl (6%)	
	Об'єм, мл	Особливість приготування	Об'єм, мл	Особливість приготування
1,9	57	у колбі на 100 мл	1,8*	у колбі на 10 мл
33,9	1017	у колбі на 2 л	31,4*	у колбі на 50 мл
620	18,6 (л)	у реакторі на 30 л	600*	у колбі на 1000 мл

*об'єм 6%-го розчину хлоридної кислоти розраховували, виходячи з об'єму композиції солей перед стерилізацією – 0,9 л, 15,7 л та 300 л відповідно.

Враховуючи, що поживне середовище містить у своєму складі компоненти, які спричиняють піноутворення - соєвий пептон, необхідно врахувати додавання піногасника, для зменшення рівня піноутворення й підвищення економічності технологічного процесу та якості цільового продукту біосинтезу. Останні роки все частіше використовують саме синтетичні піногасники, а саме поліетиленгліколь. Використаємо поліетиленгліколь в концентрації 0,05% (об/об) до об'єму культуральної рідини.

Об'єм культуральної рідини, л	Поліетиленгліколь	
	Об'єм, мл	Особливість приготування
1,9	95	у колбі на 100 мл
33,9	1695	у колбі на 2 л
620	31 (л)	у реакторі на 30 л

РОЗДІЛ 6. Специфікація обладнання

Таблиця 6.1

Позиція	Найменування	Кількість	Технічна характеристика (виробник)
1	2	3	4
ІФ-1	Індивідуальний фільтр	6	НЕРА-фільтр з класом очистки Н10, матеріал - скловолокно ^[12]
РТ-2	Редуктор тиску	3	Редуктор азотний БАЗО-50ДМ. Пропускна здатність – 50 м³/год. Максимальний робочий тиск – 1,25 МПа. ^[13]
Р-3	Реактор-змішувач для композиції	2	Реактор ІС 01М, об'єм 1,3 л, швидкість мішалки – до 500 об/хв, матеріал – сталь AISI 316, габарити: 108x250 мм ^[14]
І-4	Інокулятор на 3 л	1	Біореактор BioFlo 120, геометричний об'єм – 3л, має трилопатеvu мішалку діаметром 50 мм, контроль кислотності, газового складу середовища і температури, датчиками піноутворення, габарити: 24,7x55,9x62,9 см ^[15]
Н-5	Насос відцентровий	5	Гігієнічний насос ASCO MX, матеріал – нержавіюча сталь 316, робочий тиск – до 6 бар, продуктивність – до 220 л /хв ^[16]
Р-6	Реактор-змішувач для композиції	2	Реактор VGR-N 100, об'єм 100 л, швидкість мішалки – до 150 об/хв, матеріал – сталь AISI 304 ^[17]

					НУХТ БТЕК 04.03.19 КР ПЗ			
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Бондаревський Д.В.			РОЗДІЛ 6. Специфікація обладнання		Літ.Літ.	Арк...
Перевір.		Грегірчак Н.М.						51
Реценз.								51
Н.Контр.							Кафедра БТМ	
Затверд.		Стабніков В.П.						

I-7	Інокулятор на 50 л	1	Біореактор BioFlo 510, геометричний об'єм – 50 л, контроль кислотності, газового складу середовища і температури, габарити: 1160x860x1510 мм ^[18]
P-8	Реактор-змішувач для композиції	2	Реактор USA Lab 500L Mixing Tank, об'єм 500 л, швидкість мішалки – до 1750 об/хв, матеріал – сталь AISI 304, габарити: 889x889x940 мм ^[19]
P-9	Реактор для 25%-го розчину аміачної води	1	Реактор VJR100S, об'єм 100 л, швидкість мішалки – до 150 об/хв, матеріал – сталь AISI 316 ^[20]
Ф-10	Ферментер	1	Ферментер BR500Pro-C1 об'ємом 1 м ³ , 825x2000мм. Матеріал – нержавіюча сталь. Оснащений датчиком кислотності, газовим аналізатором, контролем оптичної густини, температури, перестальтичним насосом, мішалками, автоматичним регулятором аерації, витримує тиск до 0,35 МПа. ^[21]

РОЗДІЛ 7. Опис технологічної схеми

ДР 1. Підготовка титрувальних розчинів

ДР 1.1. Приготування і стерилізація 25%-го розчину аміачної води для інокулятор об'ємом 3 л

В колбу об'ємом 100 мл вносять 14,25 мг NH_4OH і розчиняють в 57 мл дистильованої води.

Стерилізація відбувається методом стерильної стерилізації шляхом пропускання через мембрану з пористістю 0,2-0,22 мкм, перед внесенням в ферментер.

ДР 1.2. Приготування і стерилізація 25%-го розчину аміачної води для інокулятора об'ємом 50 л

В колбу об'ємом 2 л вносять 254,25 г NH_4OH і розчиняють в 1017 мл дистильованої води.

Стерилізація відбувається методом стерильної стерилізації шляхом пропускання через мембрану з пористістю 0,2-0,22 мкм, перед внесенням в ферментер.

ДР 1.3. Приготування і стерилізація 25%-го розчину аміачної води для виробничого біосинтезу

В реактор об'ємом 30 л вносять 4,65 кг NH_4OH і розчиняють в 18,6 л дистильованої води.

Стерилізація відбувається методом стерильної стерилізації шляхом пропускання через мембрану з пористістю 0,2-0,22 мкм, перед внесенням в ферментер.

					НУХТ БТЕК 04.03.19 КР ПЗ		
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата	Розділ 7. Опис технологічної схеми		
Розроб.		Бондаревський Д.В.					
Перевір.		Грегірчак Н.М.					
Реценз.							
Н.Контр.							
Затверд.		Стабніков В.П.			Кафедра БТМ		
					Літ.	Арк.	Аркушів
						53	78
					53		

ДР 2. Приготування і стерилізація поживних середовищ

ДР 2.1. Приготування і стерилізація поживного середовища для колб

Значення кількості необхідних компонентів для приготування поживного середовища, яке буде використовуватись для вирощування посівного матеріалу в колбах, вказані у *табл 7.1*.

Таблиця 7.1

Композиції стерилізації компонентів поживного середовища для вирощування посівного матеріалу в колбах

Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	Кількість для приготування 100 мл середовища	Композиція	Об'єм композиції, V, мл
Фруктоза	35,38	3,5 г	А	50
Соевий пептон	16	1,6 г		
Питна вода	45 мл			
Конденсат	5 мл			
NaCl	3,25	0,325 г	Б	50
Na ₂ HPO ₄	5,4	0,54 г		
Дистильована вода	45 мл			
Конденсат	5 мл			

ДР 2.1.1. Приготування і стерилізація композиція А

На лабораторних вагах зважують 3,5 г фруктози і 1,6 г соєвого пептону (композиція А) і вносять 50 мл питної води. Вказані речовини термолабільними компонентами поживного середовища, тому їх стерилізація проводиться при м'яких умовах (112 °С, 40 хв, 0,05 Мпа).

ДР 2.1.2 Приготування і стерилізація композиція Б

На лабораторних вагах зважують 0,325 г NaCl і 0,54 г Na₂HPO₄ (композиція Б) і вносять 50 мл дистильованої води. Вказані речовини стерилізують при жорстких умовах (130 °С, 40 хв, 0,15 Мпа).

ДР 2.2. Приготування і стерилізація поживного середовища для інокулятора об'ємом 3 л

Значення кількості необхідних компонентів для приготування поживного середовища, яке буде використовуватись для вирощування посівного матеріалу в колбах, вказані у *табл 7.2*.

Таблиця 7.2

Композиції стерилізації компонентів поживного середовища для вирощування посівного матеріалу в інокуляторі об'ємом 3 л

Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	Кількість для приготування 1,9 л середовища	Композиція	Об'єм композиції, V, л
Фруктоза	35,38	67,2 г	А	1
Соевий пептон	16	30,4 г		
Питна вода	900 мл			
Конденсат	100 мл			
NaCl	3,25	6,2 г	Б	0,9
Na ₂ HPO ₄	5,4	10,3 г		
Дистильована вода	810 мл			
Конденсат	90 мл			

ДР 2.2.1. Приготування і стерилізація композиція А

На лабораторних вагах зважують 67,2 г фруктози і 30,4 г соєвого пептону (композиція А) і вносять 1 л питної води. Вказані речовини термолабільними компонентами поживного середовища, тому їх стерилізація проводиться при м'яких умовах (112 °С, 40 хв, 0,05 Мпа).

ДР 2.2.2. Приготування і стерилізація композиція Б

На лабораторних вагах зважують 6,2 г NaCl і 10,3 г Na₂HPO₄ (композиція Б) і вносять 1,57 л дистильованої води. Вказані речовини стерилізують при жорстких умовах (130 °С, 40 хв, 0,15 Мпа).

ДР 2.3. Приготування і стерилізація поживного середовища для інокулятора об'ємом 50 л

Значення кількості необхідних компонентів для приготування поживного середовища, яке буде використовуватись для вирощування посівного матеріалу в колбах, вказані у *табл 7.3*.

Таблиця 7.3

Композиції стерилізації компонентів поживного середовища для вирощування посівного матеріалу в інокуляторі об'ємом 50 л

Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	Кількість для приготування 35,7 л середовища	Композиція	Об'єм композиції, V, л
Фруктоза	35,38	1,26 кг	А	20
Соевий пептон	16	0,57 кг		
Питна вода	18 л			
Конденсат	2 л			
NaCl	3,25	0,12 кг	Б	15,7
Na ₂ HPO ₄	5,4	0,19 кг		
Дистильована вода	14,13 л			
Конденсат	1,57			

ДР 2.3.1. Приготування і стерилізація композиція А

На технічних зважують 1,26 кг фруктози і 0,57 кг соєвого пептону (композиція А) і вносять 20 л питної води. Вказані речовини термолабільними компонентами поживного середовища, тому їх стерилізація проводиться при м'яких умовах (112 °С, 40 хв, 0,05 Мпа).

ДР 2.3.2. Приготування і стерилізація композиція Б

На технічних вагах зважують 0,12 кг NaCl і 0,19 кг Na₂HPO₄ (композиція Б) і вносять 15,7 л дистильованої води. Вказані речовини стерилізують при жорстких умовах (130 °С, 40 хв, 0,15 Мпа).

ДР 2.4. Приготування і стерилізація поживного середовища для виробничого біосинтезу

Значення кількості необхідних компонентів для приготування поживного середовища, яке буде використовуватись для вирощування посівного матеріалу в колбах, вказані у *табл 7.4*.

Таблиця 7.4

Композиції стерилізації компонентів поживного середовища для виробничого біосинтезу у ферментері об'ємом 1 м³

Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	Кількість для приготування 649 л середовища	Композиція	Об'єм композиції, V, л
Фруктоза	35,38	22,96 кг	А	349
Соевий пептон	16	10,4 кг		
Питна вода	314,1 л			
	34,9 л			
NaCl	3,25	2,1 кг	Б	300
Na ₂ HPO ₄	5,4	3,5 кг		
Дистильована вода	270 л			
Конденсат	30			

ДР 2.4.1. Приготування і стерилізація композиція А

На технічних вагах зважують 22,96 кг фруктози і 10,4 г соєвого пептону (композиція А) і вносять 349 л питної води. Вказані речовини термолабільними компонентами поживного середовища, тому їх стерилізація проводиться при м'яких умовах (112 °С, 40 хв, 0,05 Мпа).

ДР 2.4.2. Приготування і стерилізація композиція А

На технічних вагах зважують 2,1 кг NaCl і 3,5 кг Na₂HPO₄ (композиція Б) і вносять 300 л дистильованої води. Вказані речовини стерилізують при жорстких умовах (130 °C, 40 хв, 0,15 Мпа).

ТП 3. Підготовка посівного матеріалу

ТП 3.1. Вирощування інокуляту в колбах на качалках

З дотриманням асептичних умов проводять внесення попередньо простерилізованої композиції А в 1 колбі об'ємом 750 мл.

Культивування проводять в анаеробних умовах в колбі на качалці з частотою перемішування – 100 об/хв при 30 °C протягом 6 год.

ТП 3.2 Вирощування інокуляту в інокуляторі об'ємом 3 л

З реактора-змішувача вносять композицію А для приготування поживного середовища, яка була попередньо простерилізована (від ДР 2.2.1). Через посівну колбу вноситься посівний матеріал. Культивування проводять в анаеробних умовах, з перемішуванням з частотою перемішування 400 об/хв при 30 °C протягом 6 год.

ТП 3.3 Вирощування інокуляту в інокуляторі об'ємом 50 л

З реактора-змішувача подають композицію для приготування поживного середовища, яка була попередньо простерилізована (від ДР 3.3.1). Через спеціалізований канал, з інокулятора вноситься посівний матеріал. Культивування проводять в анаеробних умовах, з перемішуванням з частотою 400 об/хв при 30 °C протягом 6 год.

ТП 4 Виробничий біосинтез

З реакторів у попередньо простерилізований ферментер подають композицію для приготування поживного середовища, яка була попередньо простерилізована (від ДР 3.4.1). Через спеціалізований канал, з інокулятора вноситься посівний матеріал. Культивування проводять в анаеробних умовах, з перемішуванням з частотою 400 об/хв при 30 °C до встановлення стабільного значення концентрації біомаси протягом 2-3 год або вичерпання джерела вуглецю. З ферментеру кожні 3 - 4 год відбирають проби, в якій аналізують: концентрацію джерела азоту, вуглецю і біомаси.

РОЗДІЛ 8. ОСНОВНІ ЕТАПИ ВИДІЛЕННЯ ТА ОЧИЩЕННЯ ЦІЛЬОВОГО ПРОДУКТУ

8.1 Загальна характеристика процесу виділення біомаси

Після завершення процесу біосинтезу біомаси *Lactococcus lactis* GH1, який є важливим етапом у виробництві живих мікробних культур, виникає необхідність здійснити її ефективне та якісне виділення з культурального середовища, у якому відбувалося активне розмноження та накопичення клітин. Це виділення є ключовим кроком для подальшого використання отриманої біомаси в різних технологічних процесах, зокрема в якості інокуляційного матеріалу або складової частини закваски, яка застосовується у харчовій промисловості. Основною метою даного етапу є отримання концентрованої, мікробіологічно чистої, а також життєздатної клітинної маси, яка має мінімальну домішку культурального середовища, продуктів метаболізму бактерій, а також інших побічних речовин, що можуть негативно впливати на якість та стабільність кінцевого продукту.

Одним із найбільш перспективних і водночас високоефективних методів, який у наш час набуває все більшої популярності, є використання передових мембранних технологій, зокрема такого сучасного підходу, як мікрофільтрація. У науковій статті під назвою "Separation of lactic acid-producing bacteria from fermentation broth using a ceramic microfiltration membrane with constant permeate flow"^[15] наведено докладний опис інноваційного підходу до розділення клітин молочнокислих бактерій. Цей метод передбачає застосування керамічної мікрофільтраційної мембрани, яка має ряд суттєвих переваг, зокрема забезпечує стабільну та надійну якість отриманого концентрату, при цьому зберігаючи високий рівень життєздатності мікроорганізмів, що є критично важливим для подальшого використання біомаси. ^[22]

					НУХТ БТЕК 04.03.19 КР ПЗ			
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата	РОЗДІЛ 8. Основні етапи виділення та очищення цільового продукту	Літ.	Арк...	Аркушів
Розроб.		Бондаревський Д.В.					59	78
Перевір.		Грегірчак Н.М.				59		
Реценз.						Кафедра БТМ		
Н.Контр.								
Затверд.		Стабніков В.П.						

8.2 Технологія мікрофільтрації за допомогою керамічної мембрани

Мікрофільтрація — це технологічний метод, що базується на принципі проходження культурального бульйону, тобто суспензії клітин, через спеціальну пористу мембрану. Розмір пор цієї мембрани варіюється в діапазоні від 0,1 до 1 мікрометра, що дозволяє ефективно відокремлювати мікроорганізми від рідкої фази. У випадку *Lactococcus lactis* найбільш оптимальним вважається використання мембран з порами приблизно 0,2 мікрометра, які ефективно утримують бактеріальні клітини, не пропускаючи їх у пермеат, але при цьому дають змогу рідкій фазі безперешкодно проходити через мембрану. Це дає можливість отримати концентрат біомаси з мінімальними втратами клітин і без значного пошкодження їх життєвих структур.

У дослідженні, на яке посилаються автори, використовувалася саме керамічна мембрана, яка відзначається високою хімічною та термічною стійкістю, а також підвищеною зносостійкістю, що є надзвичайно важливим фактором з огляду на багаторазове використання мембранних систем у промислових масштабах. Однією з головних переваг цієї системи є стабільність потоку пермеату, тобто контрольований та постійний витік рідкої фракції за умови незмінного робочого тиску. Цей фактор має вирішальне значення, оскільки дозволяє суттєво знизити негативний ефект забруднення мембрани, що часто спостерігається при тривалій експлуатації.

8.3 Параметри процесу та ефективність розділення

Під час проведених експериментів було ретельно визначено оптимальні параметри технологічного процесу, що забезпечують максимальну ефективність розділення біомаси *Lactococcus lactis*. Зокрема, робочий тиск коливався в межах від 0,1 до 0,2 МПа, що сприяло підтриманню оптимального балансу між швидкістю фільтрації та збереженням цілісності клітин. Температурний режим було встановлено в діапазоні від 25 до 30°C, що є найбільш сприятливим для збереження

життєздатності бактерій. Швидкість потоку культурального середовища через мембрану складала приблизно від 300 до 500 літрів на годину, що дозволяло ефективно пропускати рідку фазу, водночас утримуючи клітини. Поверхнева щільність мембрани коливалась у межах 0,05–0,1 квадратного метра, що є оптимальним співвідношенням для забезпечення високої продуктивності процесу.

За таких умов досягнута концентрація клітинної суспензії *Lactococcus lactis* становила близько 10^{10} КУО/мл, що свідчить про високу продуктивність процесу концентрування. Водночас рівень життєздатності клітин перевищував 95%, що є критично важливим для забезпечення подальшого ефективного використання біомаси. Варто зазначити, що забруднення мембран відбувалося лише після 6–8 год безперервної роботи системи, що чітко свідчить про високу стабільність та надійність процесу мікрофільтрації.

Для очищення мембран застосовувалися спеціальні мийні розчини на основі лугів, зокрема NaOH, а також кислот, таких як HNO₃, які чергувалися між робочими циклами з метою максимальної відновлювальної дії. Після проведення двадцяти повних циклів мікрофільтрації функціональні характеристики мембран не виявили суттєвого погіршення, що підтверджує їхню довготривалу ефективність і надійність у промисловому застосуванні.

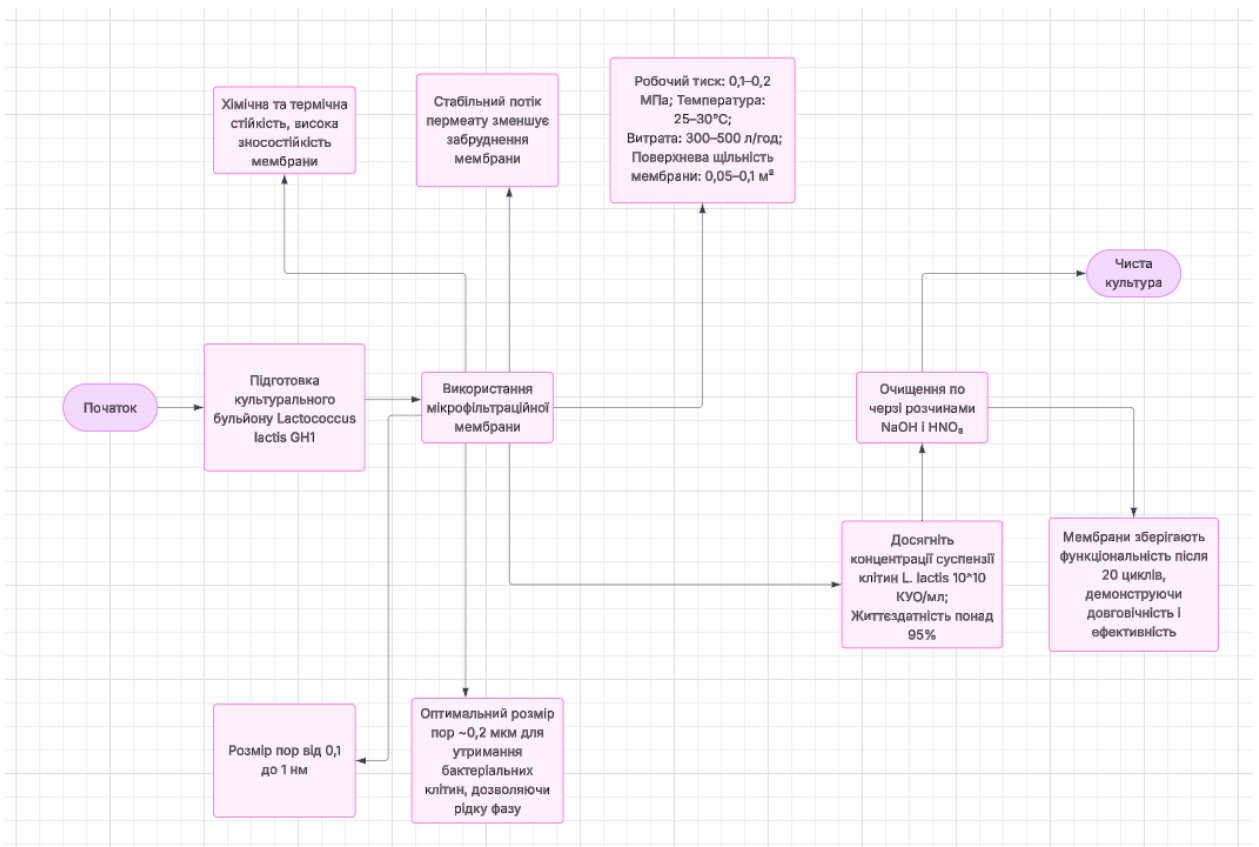


Рис. 8.1. Схема виділення і очищення біомаси

8.4 Порівняння з традиційними методами

У сучасній біотехнології процес виділення біомаси є одним із ключових етапів, що визначають ефективність та якість кінцевого продукту. У традиційній біотехнології виділення біомаси зазвичай здійснюється шляхом центрифугування — методу, який широко застосовується у багатьох галузях, починаючи від харчової промисловості і закінчуючи фармацевтикою. Проте, незважаючи на свою популярність, даний метод має низку суттєвих обмежень, які впливають як на технічну сторону процесу, так і на якість отриманої біомаси. Основними проблемами є:

Високі енергетичні витрати, що виникають через необхідність підтримувати великі оберти центрифуги протягом тривалого часу. Це призводить до значних експлуатаційних витрат, а також до підвищення температури робочого середовища, що може негативно впливати на біологічні властивості клітин;

Ризик руйнування клітин при високих обертах, що пов'язано з механічним стресом, який виникає внаслідок дії відцентрових сил. Особливо це актуально для делікатних або нестійких культур мікроорганізмів, де навіть незначні пошкодження клітинної структури можуть призвести до зниження життєздатності та функціональності біомаси;

Складність автоматизації у великих масштабах, адже робота з центрифугами великої потужності вимагає спеціального технічного обладнання, частого обслуговування, а також кваліфікованого персоналу для налаштування та контролю процесу.

На відміну від методу центрифугування, який має вищезазначені недоліки, альтернативним і більш сучасним підходом є використання **мікрофільтрації**. Цей метод дозволяє працювати при значно нижчих швидкостях потоку, що зменшує механічне навантаження на клітини. Завдяки цьому забезпечується більш висока стабільність процесу, а також знижується ризик пошкодження біомаси, що, у свою чергу, позитивно впливає на її загальну якість. Підвищення життєздатності клітин забезпечує кращі властивості кінцевого продукту, який застосовується як компонент майбутніх заквасок у виробництві харчових продуктів. Після завершення процесу фільтрації, отриману біомасу направляють на етап пакування, що гарантує збереження її властивостей під час зберігання та транспортування.

8.5 Практичне впровадження у виробництво

Для успішного впровадження даного методу у реальних виробничих умовах необхідно ретельно враховувати та контролювати низку ключових аспектів. Це зумовлено тим, що промислові умови значно відрізняються від лабораторних, і без належної організації процесу можуть виникати непередбачувані труднощі, що впливають на якість кінцевої продукції. Отже, серед основних моментів, на які слід звернути увагу, виділяють такі:

Попереднє видалення великих часток із робочого середовища, яке може здійснюватися за допомогою додаткових процесів, таких як фільтрація

або відстоювання. Це необхідно для того, щоб запобігти забиванню мембран та забезпечити ефективну роботу мікрофільтрації;

Контроль температурного режиму протягом всього процесу, адже температурні коливання можуть негативно впливати на активність і життєздатність клітин. Збереження оптимальної температури є критично важливим для підтримки стабільності біомаси;

Підтримка постійного потоку пермеату за допомогою автоматизованих насосів, що забезпечує рівномірність і стабільність процесу, а також дозволяє уникнути перепадів тиску, які можуть призвести до пошкодження мембран або клітин;

Періодичне очищення мембран за спеціальним графіком, який включає як кислотні, так і лужні мийки, спрямовані на видалення накопичених забруднень та підтримку високої пропускної здатності мембран. Цей аспект є важливим для довготривалої ефективної роботи системи;

Використання поліетиленгліколю (ПЕГ) як стабілізатора суспензії. ПЕГ допомагає запобігати піноутворенню, яке може негативно впливати на процес фільтрації, а також сприяє стабілізації клітин у робочому середовищі, що дозволяє покращити якість і однорідність кінцевого продукту.

Усі ці заходи в сукупності дозволяють максимально ефективно інтегрувати запропонований метод у виробничий цикл, підвищуючи продуктивність, якість біомаси та надійність технологічного процесу загалом.

РОЗДІЛ 9. КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА

9.1 Мікробіологічний контроль

Для проведення якісного і всебічного мікробіологічного контролю в процесі виробничого біосинтезу необхідно систематично і регулярно відбирати проби культуральної рідини. Це робиться з метою своєчасного виявлення можливих відхилень у рості і розвитку мікроорганізмів, контролю чистоти культури, а також оцінки життєздатності і продуктивності використовуваних штамів. Виробничий процес передбачає відбір проб кожні 4 години із двох ключових точок - безпосередньо з інокуляторів, де відбувається попереднє розмноження бактерій, а також із ферментера, в якому відбувається основний етап біосинтезу.

Отримані проби культуральної рідини піддають комплексному аналізу за допомогою різних мікробіологічних методик. Зокрема, застосовують прямий висів на поживне середовище для виявлення загального спектру мікроорганізмів, висів на селективне середовище з послідовним розведенням для оцінки життєздатності основної культури, а також мікроскопіювання — важливий метод для візуалізації клітин, їх морфології та виявлення можливих домішок або сторонніх мікроорганізмів.

Прямий висів культивують у чашках Петрі, використовуючи два основні типи поживних середовищ. Першим є м'ясо-пептонний агар (МПА), який традиційно застосовують для росту різноманітних бактерій і визначення їх кількісного складу. Другим — сусло-агар (СА), до якого додають 100 мг/л хлорамфіцикліну для селективного пригнічення бактеріального росту і стимулювання росту дріжджів і грибів. Такий підхід дозволяє не лише підтвердити чистоту культури, але й виявити можливі контамінації грибкової природи.

НУХТ БТЕК 04.03.19 КР ПЗ

					РОЗДІЛ 9. Контроль виробництва		
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата			
Розроб.		Бондаревський Д.В.			Кафедра БТМ	Літ.	Арк..
Перевір.		Грегірчак Н.М					65
Реценз.							65
Н.Контр.							
Затверд.		Стабніков В.П.					

Після підтвердження чистоти культури здійснюють розведення відібраної проби, що необхідно для більш точного визначення життєздатності бактерій. Висів роблять на селективне поживне середовище (Alsan-агар)^[23], після чого підраховують утворені колонії, що свідчить про кількість активних клітин у пробі.

Мікробіологічний контроль є одним із ключових етапів у забезпеченні якості та біологічної безпеки виробництва біомаси *Lactococcus lactis* GH1. Він включає два основні напрями: контроль стерильності поживних середовищ та контроль мікробіологічної чистоти посівного матеріалу на кожному з етапів вирощування.

Контроль стерильності поживних середовищ

Перед використанням усі компоненти поживного середовища піддаються стерилізації відповідно до їх термочутливості, після чого проводиться мікробіологічний контроль. Для цього:

Відібрані проби поживного середовища інкубують при 30 ± 2 °C протягом 3–5 діб;

Посів здійснюється на м'ясо-пептонний агар (МПА) та/або сусло-агар (СА);

У разі відсутності росту мікрофлори середовище визнається стерильним.

Такий підхід дозволяє запобігти контамінації культуральної рідини сторонньою мікрофлорою ще до внесення інокуляту.

Контроль посівного матеріалу

Контроль мікробіологічної чистоти посівного матеріалу *Lactococcus lactis* GH1 є критично важливою ланкою у забезпеченні надійності біотехнологічного процесу. Метою цього етапу є підтвердження моноштамовості культури та відсутності сторонньої мікрофлори, яка може вплинути на стабільність і безпечність виробничого процесу.

Після завершення кожного з етапів культивування — як у колбах на качалках, так і в посівних апаратах або ферментері — проводиться відбір

проб культуральної рідини. Для виявлення можливої контамінації здійснюють висів проб на такі середовища:

М'ясо-пептонний агар (МПА) — для виявлення загальної мікробної контамінації;

Сусло-агар (СА) з додаванням хлорамфеніколу (100 мг/л) — для селективного виявлення дріжджів і пліснявих грибів;

Після інкубації при температурі 30 ± 2 °C протягом 48–72 годин здійснюється візуальна оцінка росту колоній. Для підтвердження автентичності колоній *L. lactis* використовують:

Мікроскопію нативного препарату (грампозитивні кокові клітини, розташовані парами або ланцюжками);

Оцінку морфології колоній (дрібні, рівномірні, опуклі, білого або кремового кольору);

За потреби — біохімічну ідентифікацію (наприклад, каталаза-негативність, ферментація лактози, продукція молочної кислоти).

При виявленні сторонніх мікроорганізмів або змінених властивостей колоній партія посівного матеріалу підлягає вибракуванню, а повторне засівання виконується з контрольної резервної культури.

Такий підхід забезпечує високий рівень репродуктивності, стандартизації та безпеки біомаси, що особливо важливо для харчових та пробіотичних застосувань *L. lactis* GH1.

9.2 Аналіз життєздатності *Lactococcus lactis* GH1

Для більш глибокого і точного аналізу життєздатності культури *Lactococcus lactis* GH1 проводять серію послідовних розведень проб культуральної рідини. Зазвичай використовують розведення у співвідношеннях 1:100, 1:1000 та 1:10000, що дозволяє оцінити життєздатність клітин у широкому діапазоні концентрацій і уникнути перенасичення чашок Петрі колоніями.

Відповідні розведені проби наносять на чашки Петрі з MRS (Man, Rogosa and Sharpe) агаром, який є оптимальним середовищем для росту

молочнокислих бактерій. Після висіву чашки інкубують протягом 24 год при оптимальних умовах температури і вологості, що забезпечує максимальне утворення видимих колоній.

Після закінчення інкубації підраховують кількість колоній, що з'явилися на поверхні агарового середовища. Для кожного розведення визначають титр культури - кількість життєздатних клітин у 1 мл початкового зразка. Розрахунок титру здійснюється за формулою:

$$\text{Титр} = 1 / (\text{коефіцієнт розведення} * \text{обсяг посіву})$$

Цей показник є важливим індикатором якості біомаси і її продуктивності, що використовується в подальшому аналізі та оптимізації виробничого процесу.

9.3 Визначення концентрації біомаси

Визначення концентрації біомаси продуцента є одним із ключових параметрів контролю в процесі біосинтезу. Для цього застосовують метод спектрофотометричного вимірювання, який базується на оцінці оптичної густини (оптичного поглинання) культуральної суспензії при довжині хвилі 580 нм. Саме в цій області спектру відбувається достатнє поглинання світла клітинами біомаси, що дозволяє коректно оцінити їх концентрацію.

Для вимірювання використовують спектрофотометр SPEKOL 11 - прилад, що забезпечує високу точність і повторюваність результатів. Результати вимірювань порівнюють із калібрувальним графіком, який складають заздалегідь на основі відомих концентрацій сухої біомаси із точно визначеною масою. За цим графіком можна перетворити оптичну густину в реальну масову концентрацію.

Одна одиниця оптичної густини (ОД) відповідає приблизно 0,25 г/л біомаси, що дає змогу швидко і надійно контролювати рівень росту культури в процесі експерименту чи виробництва.^[24]

9.4 Визначення концентрації вуглецю

Для кількісного визначення вуглецевих сполук у культуральній рідині застосовують резорциновий метод - один із найпоширеніших

колориметричних методів, що базується на утворенні кольорового комплексу між фруктозою і речовиною резорцином у кислому середовищі. Максимум поглинання цього комплексу припадає на довжину хвилі в діапазоні 415–420 нм, що і використовується для спектрофотометричного вимірювання.^[25]

1. Пробопідготовка

Спочатку до 10 мл досліджуваного поживного середовища додають осаджувач білків - зазвичай це сульфосаліцилова або трихлороцтова кислота. Ця операція необхідна для видалення білкових домішок, які можуть перешкоджати точності подальших вимірювань. Суміш інкубують при кімнатній температурі протягом 10–15 хвилин, щоб осад добре сформувався. Потім отриману суспензію фільтрують через паперовий фільтр, щоб отримати прозорий фільтрат, готовий до колориметричного аналізу.

2. Колориметрична реакція

До 1 мл прозорого фільтрату додають 1 мл розчину резорцину та 3 мл концентрованої соляної кислоти. Отриману суміш поміщають у водяну баню при температурі 60–70 °C і витримують 10 хвилин для повного протікання реакції утворення кольорового комплексу. Після цього реакційну суміш охолоджують до кімнатної температури, готуючи до спектрофотометричного вимірювання.

3. Спектрофотометричне вимірювання

Оптичну густину кольорового комплексу визначають на спектрофотометрі при довжині хвилі 415–420 нм. Для корекції результатів паралельно вимірюють контрольний зразок, що не містить фруктози, що дозволяє врахувати фонові показники та підвищити точність аналізу.

4. Обробка результатів

За допомогою калібрувального графіка, складеного на основі відомих концентрацій фруктози, розраховують масову частку цієї речовини у досліджуваному зразку. Також враховують похибку і точність вимірювань, що є важливими для коректної інтерпретації отриманих даних.

9.5 Визначення концентрації азоту

Для визначення кількості амінного азоту у культуральних зразках застосовується титрувальний метод із використанням формули, що базується на роботах Beddows et al.^[26] Цей метод дозволяє точно оцінити концентрацію вільного амінного азоту, який є важливим показником метаболічної активності і якості біомаси.

Для початку зразок культуральної рідини центрифугують і відфільтровують через мембранний фільтр з пористістю 0,22 мкм, що забезпечує видалення клітин і твердої фази, залишаючи у фільтраті тільки розчинені речовини.

Далі 40 мл отриманого фільтрату піддають титруванню розчином 0,1 М натрію гідроксиду (NaOH) до значення рН 7,0. Наступним кроком до зразка додають 10 мл 37%-го формаліну (розчину формальдегіду). Після додавання формаліну титрування продовжують до кінцевого рН 8,5. Для точного контролю рН застосовується радіометр РНМ83, який забезпечує високоточні виміри.

ЛІТЕРАТУРА

1. AgroPortal. [Електронний ресурс]. URL:
<https://agroportal.ua/news/ukraina/nadoji-cini-ta-prodazhi-pidsumki-2024-roku-dlya-rinku-molochnih-produktiv?prevw=2857515017>
2. Комітет аграрної і земельної політики Верховної Ради.
[Електронний ресурс]. URL:
[https://www.rada.gov.ua/news/news_kom/257258.html#:~:text=B%202024%20поці%20Україна%20збільшила,та%20казеїн%20\(%2B3%25\)](https://www.rada.gov.ua/news/news_kom/257258.html#:~:text=B%202024%20поці%20Україна%20збільшила,та%20казеїн%20(%2B3%25))
3. Біотехнологія молочнокислих бактерій / За ред. І.І. Черенкова. – Київ: Аграрна освіта, 2015. – 240 с.
4. Todorov S.D., Franco B.D.G.M. *Lactococcus lactis: From Food to Health*. In: Dairy in Human Health and Disease Across the Lifespan. – Academic Press, 2017. – p. 67–84.
5. ABIS Encyclopedia [Електронний ресурс]. URL:
<https://www.tgw1916.net/Lactococcus/lactis.html>
6. Hu, A., Huang, W., Shu, X., Ma, S., Yang, C., Zhang, R., Xiao, X., & Wu, Y. (2023). *Lactiplantibacillus plantarum* Postbiotics Suppress *Salmonella* Infection via Modulating Bacterial Pathogenicity, Autophagy and Inflammasome in Mice. *Animals*, 13(20), 3215.
<https://doi.org/10.3390/ani13203215>
7. De Chiara I, Marasco R, Della Gala M, Fusco A, Donnarumma G, Muscariello L. Probiotic Properties of *Lactococcus lactis* Strains Isolated from Natural Whey Starter Cultures. *Foods*. 2024 Mar 21;13(6):957. doi: 10.3390/foods13060957. PMID: 38540945; PMCID: PMC10969739.
8. Zheng J, Wittouck S, Salvetti E, Franz CMAP, Harris HMB, Mattarelli P, O'Toole PW, Pot B, Vandamme P, Walter J, Watanabe K, Wuyts S, Felis GE, Gänzle MG, Lebeer S. A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: Description of 23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, and union of *Lactobacillaceae* and *Leuconostocaceae*. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2020

Apr;70(4):2782-2858. doi: 10.1099/ijsem.0.004107. Epub 2020 Apr 15. PMID: 32293557.

9. Turchyn, I., Maksimova, D. Аналіз ринку м'яких та твердих сирів в Україні та за кордоном. Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. 2018, 20: 46-50. doi: 10.15421/nvlvet8509.

10. Jawan, R., Abbasiliasi, S., Tan, J.S., Mustafa, S., Halim, M., Ariff, A.B. Influence of culture conditions and medium compositions on the production of bacteriocin-like inhibitory substances by *Lactococcus lactis* Gh1. Microorganisms. 2020, 8(10): 1454. doi: 10.3390/microorganisms8101454

11. KEGG: Kyoto Encyclopedia of Genes and Genoms. [Електронний ресурс]. URL: <https://www.genome.jp/kegg/>

12. НЕРА-фільтр. [Електронний ресурс]. URL: <https://tehno-parts.com.ua/hepa-filtr-610610292-h10-fias>

13. Редуктор азотний БАЗО-30ДМ. [Електронний ресурс]. URL: <https://deltaimpeks.com.ua/ua/p474218894-reduktor-azotnyj-bazo.html>

14. Реактор-змішувач JC 01М. [Електронний ресурс]. URL: <https://schmidt-seeheim.com/downloads/Datasheet-CM-Mixing%20vessel.pdf>

15. Біореактор BioFlo 120. [Електронний ресурс]. URL: <https://www.eppendorf.com/us-en/Products/Bioprocess/Bioprocess-Controllers/BioFlo-120-p-PF-176595>

16. Гігієнічний насос ASCO MX. [Електронний ресурс]. URL: https://ascopumps.com.ua/pumps/tsentrobeznhnye/gigienicheskie_tsentrobeznhnye/439.html

17. Реактор-змішувач VGR-N [Електронний ресурс]. URL: <https://oblana.com.ua/p1260927406-steklyannye-reaktory-protchnoj.html>

18. Реактор-змішувач USA Lab Mixing Tank. [Електронний ресурс]. URL: <https://www.usalab.com/usa-lab-500l-mixing-tank/>

19. Реактор-змішувач VJR100S. [Електронний ресурс]. URL: https://www.valuenlab.com/product/100l200ljacketed_stainless_steel_reactor

20. Інокулятор BioFlo 510. [Електронний ресурс]. URL: <https://alsi.ua/en/shop/equipment/specialised-equipment/bioreactors-fermenters/bioflo-510/>
21. Ферментер BR-500 Pro. [Електронний ресурс]. URL: <https://www.lab1st.com/fr/product/br500pro-stainless-steel-bioreactor-system>
22. Persson A, Jönsson AS, Zacchi G. Separation of lactic acid-producing bacteria from fermentation broth using a ceramic microfiltration membrane with constant permeate flow. *Biotechnol Bioeng.* 2001 Feb 5;72(3):269-77. doi: 10.1002/1097-0290(20010205)72:3<269::aid-bit3>3.0.co;2-h. PMID: 11135196.
23. AL-ZOREKY, N., & SANDINE, W. E. (1991). Lactococcus Genus: A selective and Differential Agar Medium. *Journal of Food Science*, 56(6), 1729–1730. doi:10.1111/j.1365-2621.1991.tb08681.
24. Jensen, N.B., Melchiorsen, C.R., Jokumsen, K.V., Villadsen, J. Metabolic behavior of Lactococcus lactis MG1363 in microaerobic continuous cultivation at a low dilution rate. *Appl Environ Microbiol.* 2001, 67(6): 2677-82. doi: 10.1128/AEM.67.6.2677-2682.2001.
25. Романчук, І., Рудакова, Т., Мінорова, А., Моїсєєва, Л., Крушельницька, Н., Наріжний, С., Білий, В., Ворощук, В. ІННОВАЦІЙНІ ПІДХОДИ ЩОДО ВИЗНАЧЕННЯ ФРУКТОЗИ В МОЛОЧНИХ ПРОДУКТАХ З КОМБІНОВАНИМ ВУГЛЕВОДНИМ СКЛАДОМ. *Journal of Chemistry and Technologies.* 2022, 30: 205-215. doi: 10.15421/jchemtech.v30i2.236760
26. Christensen CM, Kok CR, Auchtung JM, Hutkins R. Prebiotics enhance persistence of fermented-food associated bacteria in *in vitro* cultivated fecal microbial communities. *Front Microbiol.* 2022 Sep 2;13:908506. doi: 10.3389/fmicb.2022.908506. PMID: 36118245; PMCID: PMC9479011.

ДОДАТКИ

Анотація: Бактеріоциноподібні інгібіторні речовини (BLIS), що виробляються *Lactococcus lactis* Gh1 виявив антимікробну активність проти *Listeria monocytogenes* ATCC 15313. Бульйон Brain Heart Infusion (BHI) використовується для культивування та підрахунку молочнокислих бактерій, але існує потреба покращити поточний склад середовища для посилення виробництва BLIS, і одним із підходів є моделювання процесу оптимізації та визначення найбільш відповідного складу середовища. У цьому дослідженні використовувалися моделі поверхні відгуку (RSM) і штучної нейронної мережі (ANN). У середній оптимізації ШНМ ($R^2 = 0,98$) методологія забезпечила кращу точку оцінки та підгонку даних порівняно з RSM ($R^2 = 0,79$). У ANN оптимальне середовище складалося з 35,38 г/л соїтону, 16 г/л фруктози, 3,25 г/л хлориду натрію (NaCl) і 5,40 г/л динатрію фосфату (Na_2HPO_4). Виробництво BLIS в оптимальному середовищі ($717,13 \pm 0,76$ AU/мл) був приблизно в 1,40 разів вищим, ніж отриманий у неоптимізованому середовищі. Порівняння виходів BLIS для оптимізованого середовища з використанням КЗМ та ANN наведено в табл. 6. У RSM було змодельовано остаточні прогнозовані оптимальні значення чотирьох змінних, і було встановлено, що значення становлять: 107,63 г/л соїтону, 4 г/л фруктози, 2,50 г/л NaCl і 1,50 г/л Na_2HPO_4 . Прогнозована максимальна продукція BLIS становила 711,14 AU/мл. У ANN максимальне виробництво BLIS ($717,91$ AU/мл) було передбачено при 35,38 г/л соїтону, 16 г/л фруктози, 3,25 г/л NaCl і 5,40 г/л Na_2HPO_4 . Перевірку моделі проводили шляхом проведення експериментів за оптимального рівня ферментаційного середовища. Результати експериментальної перевірки показують, що методологія ANN (різниця 0,1%) є кращою за RSM (різниця 2,13%) для прогнозування експериментальних даних з оптимальним виходом $717,13 \pm 0,76$ AU/мл і $695,96 \pm 2,48$ AU/мл відповідно. Виробництво BLIS в оптимізованому середовищі FST порівняно з середовищем BHI відповідно (рис. 6A). Час бродіння для середовища FST (6 год) для досягнення максимальної активності BLIS також був коротшим, ніж час, отриманий у ферменті в середовищі BHI (8 год).

pH	
Початковий	Остаточний
7.10	6.28
6.71	5.29
6.72	4.94
6.70	4.45
6.85	4.86
6.77	4.89
6.69	4.94
6.83	4.97
6.77	4.89
6.72	4.87
6.67	4.67
6.79	5.04
6.87	5.46

культури з щільністю $\sim 2,68 \times 10^9$ КУО/мл. Для початку ферментації біореактор, що містить 1 л оптимізованого середовища, був засіяний 1% (v/v) посівний матеріал *L. lactis* Gh1. Під час бродіння швидкість перемішування була встановлена на рівні 100 об/хв (без аерації), а температура була встановлена на 30 °C. У наступному експерименті швидкість перемішування була зафіксована на необхідній швидкості робочого колеса (100, 200, 400, 600 і 800 об/хв) без аерації, щоб оцінити

Цікаво відзначити низьку життєздатність *L. lactis* клітини Gh1 спостерігалися на високому рівні DOT. Кисень сприяв токсичній дії на *Lactococcus lactis* шляхом пригнічення його росту та виживання [54,55]. Тривала аерація лактококових культур може спричинити зміну ДНК і загибель клітин через утворення гідроксильних радикалів і перекису водню, які можуть бути причиною кисневої токсичності [56]. У цьому дослідженні кисень не подавався протягом усього процесу бродіння; натомість кисень подавався лише на початку ферментації перед інокуляцією, поки рівень DOT не досягав максимуму для калібрування зонда DO як 100% насичення. Потім аерацію припиняли, щоб створити необов'язкові умови для прогресування бродіння на необов'язковій основі.

1. Загальні положення

1.1. Повна назва засобу – засіб дезінфекційний «Санімакс»;

1.2. Виробник – ТОВ «Інтердез» (Україна) за ТУ У 24.2-37403360-001: 2011 зі змінами 1-3;

1.3. Склад засобу, вміст діючих та допоміжних речовин, мас. %: комплекс 4-х четвертинних амонієвих сполук – сумарно не менше 50,0 (в т.ч. алкілдиметилбензиламоній хлорид – 20,0, октилдецилдиметиламоній хлорид – 15,0, дидецилдиметиламоній хлорид – 7,5, діоктилдиметиламоній хлорид – 7,5) (діючі речовини); допоміжні компоненти і вода до 100,0. На вимогу користувача до складу засобу може входити ароматизатор.

1.4. Форма випуску і фізико-хімічні властивості засобу.

1.5. Призначення засобу. Засіб «Санімакс» призначений для дезінфекції та санітарної обробки технологічного обладнання, апаратури та устаткування, торговельного і холодильного обладнання, інвентарю, посуду (виробничого, столового, лабораторного), тари, поверхонь в приміщеннях (виробничих, складських, санітарно-побутових та ін.), твердих меблів, санітарно-технічного обладнання, санітарного одягу, прибирального матеріалу та інвентарю, облаштування санітарних бар'єрів на підприємствах харчопереробної промисловості, а також для дезінфекції на об'єктах ресторанного господарства, харчової торгівлі, на складах, транспорті з перевезення продуктів харчування та харчової сировини тощо.

1.6. Спектр антимікробної дії. Робочі розчини засобу «Санімакс» кімнатної температури мають **бактерицидні** (включаючи мікобактерії туберкульозу, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, гнильні бактерії (в т.ч. роду *Proteus*),

2

Citrobacter spp., *Serratia* spp., *S. aureus* та *S. aureus* Methicillin Resistant (MRSA), *Salmonella enteritidis*, *Salmonella choleraesuis*, *Shigella dysenteriae*, *Klebsiella pneumoniae*, *E. coli*, *Streptococcus* spp. (в т.ч. *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*), *Micrococcus* spp., *Enterococcus* spp. (в т.ч. *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Enterococcus hirae*), *Yersinia enterocolitica* тощо), **віруліцидні** (включаючи збудників вірусних гепатитів В і С, ВІЛ, герпесу, грипу, рота-, коронавірус, вірус *Avian influenza* (збудник «пташиного грипу»), поліовірус, вакцинація вірус та ін.), **фунгіцидні** (включаючи збудників кандидозів, дерматомікозів, дріжджів, а також плісняві гриби) та **спороцидні властивості**. При застосуванні робочих розчинів підвищеної температури (50°C – початкова температура розчину, яка не підтримується в процесі обробки) їх антимікробна активність значно посилюється.

Згідно Тесту АОАС (США) по оцінці антимікробної дії засобів для санітарної обробки об'єктів, що контактують з харчовими продуктами, розчини засобу в концентрації 0,04% за 60 секунд на твердих поверхнях елімінують більш ніж 99,999% актуальних для харчової промисловості мікроорганізмів: *Campylobacter jejuni*, *Salmonella enteritidis*, *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae*, *Escherichia coli* O157:H7, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica*, *Salmonella choleraesuis*. Антимікробна дія теплих робочих розчинів значно посилюється, при цьому стабільність розчинів та їх сумісність з матеріалами об'єктів обробки не погіршуються.

1.7. Токсичність та безпечність засобу. Засіб не леткий і не утворює пари у стандартних умовах. За параметрами гострої токсичності згідно ГОСТ 12.1.007-76 засіб належить до 4 класу небезпеки (мало небезпечні речовини) при інгаляційній дії в умовах вільного випаровування та до 3 класу небезпеки (помірно небезпечні речовини) при введенні в шлунок і нанесенні на шкіру. Засіб не спричиняє сенсibilізуючої, алергенної, мутагенної, тератогенної, гонадотоксичної та канцерогенної дії. У вигляді концентрату спричиняє сильну подразнюючу дію на шкіру та можливі опіки слизової оболонки очей. Робочі розчини засобу при повторних аплікаціях викликають подразнення або сухість шкіри, у вигляді аерозолі спричиняють подразнювальну дію на слизові оболонки очей та дихальних шляхів.

За хімічним складом «Санімакс» відноситься до засобів, дозволених FDA США (21CFR Section 178.1010) для використання на обладнанні харчопереробних підприємств, посуді та інших виробках, які контактують з харчовими продуктами.

Засіб використовують для дезінфекції та миття поверхонь, для боротьби з пліснявими грибами та для дезінфекції, чистки і миття сміттєприбирального обладнання та сміттєзбірників на підприємствах комунально-побутового обслуговування, громадського харчування, торгівлі, промислових ринках, на об'єктах харчопереробної промисловості та підприємствах агропромислового комплексу, фармацевтичної, хімічної, біотехнологічної промисловості, у закладах освіти, соціального забезпечення, культури, відпочинку, спорту. Засіб ефективний проти грампозитивних і грамнегативних бактерій, виявляє противірусну дію до вірусу поліомієліту та, відповідно, до менш стійких вірусів, зокрема - грипу, вірусу імунodefіциту людини, кору, епідемічного паротиту, вірусних гепатитів А, В, С, D, норо-, аденовірусів, ротавірусних гастроентеритів, ЕСНО, Коксакі, коронавірусів людини, в тому числі SARS-CoV-2, що викликає COVID-19, та інших вірусів.

Гіпохлорид натрію С50

Дезінфекція приміщень

Рекомендуємо для дезінфекції поверхонь та обладнання, після попереднього їх очищення нейтральним мийним засобом, використовувати розчин з 0,1% гіпохлориту натрію - 1 мл гіпохлориту на 1 л води.

Для дезінфекційної обробки підлоги готують розчини з розрахунку 30-60 мл гіпохлориту натрію на 1 л води. Після закінчення дезінфекції приміщення обов'язково провітрюють.

Знезараження верхніх шарів ґрунту, асфальту та інших об'єктів на відкритому повітрі можна виконувати розчинами проготованими розбавленням гіпохлориту натрію у 10 разів, тобто 100 мл на 1 л води.

Інструклін Нью

ІНСТРУКЦІЯ
щодо застосування засобу дезінфікуючого з мийним ефектом «Інструклін Нью»
для миття і очистки медичних виробів

1. ЗАГАЛЬНІ ПОЛОЖЕННЯ

1.1. Повна назва засобу – Засіб дезінфікуючий з мийним ефектом «Інструклін Нью» що виготовляється у відповідності із ТУ У 20.2-40220141-003:2017.

1.2. Фірма виробник – «ДАНА МЕДІКАЛ» (Україна)

1.3. Склад засобу, вміст діючих та допоміжних речовин, мас. %: комплекс ензимів (ферментів) – протеаза 1,5-2,0%, мілаза – 1,5-2,0%; ліпаза -1,0-1,5%, ПАР до 4,0%, хелатний комплекс, інгібітор корозії, комплекс для зниження іноутворення, інші функціональні добавки, вода підготовлена - до 100,0%.

1.4. Форма випуску і фізико-хімічні властивості засобу. Засіб «Інструклін Нью» є засобом призначеним для дезінфекції та миття медичних виробів.

Засіб «Інструклін Нью» може застосовуватися в усіх підрозділах закладів охорони здоров'я, включаючи операційні блоки, відділеннях інтенсивної терапії та реанімації, неонатології, пологових будинках і перинатальних центрах, центрах з трансплантації органів, клінічних, бактеріологічних, вірусологічних та інших лабораторіях тощо.

1.6. Токсичність та безпечність засобу.

Засіб «Інструклін Нью» відповідає вимогам безпеки, наведених у таблиці 1.

Таблиця 1 Розрахунки для приготування робочих розчинів засобу «Інструклін Нью»

Концентрація робочого розчину (за препара-том), %	Кількість компонентів (мл) для приготування:					
	1,0 л		5,0 л		10,0 л	
	Кількість концентрату, мл.	Кількість води, мл.	Кількість Концентрату, мл	Кількість води, мл.	Кількість концентрату, мл.	Кількість води, мл.
0,01	0,1	999,9	0,5	4999,5	1,0	9999,0
0,02	0,2	999,8	1,0	4999,0	2,0	9998,0
0,05	0,5	999,5	1,0	4999,0	5,0	9995,0
0,1	1,0	999,0	5,0	4995,0	10,0	9990,0
0,2	2,0	998,0	10,0	4990,0	20,0	9980,0
0,3	3,0	997,0	15,0	4985,0	30,0	9970,0
0,4	4,0	996,0	20,0	4980,0	40,0	9960,0
0,5	5,0	995,0	25,0	4975,0	50,0	9950,0
0,8	8,0	992,0	40,0	4960,0	80,0	9920,0
1,0	15,0	985,0	7,5	4992,5	150,0	9850,0

Даносил Нью

ІНСТРУКЦІЯ

щодо застосування засобу дезінфікуючого «Даноксин» з метою дезінфекції, дезінфекції високого рівня (ДВР), передстерилізаційного очищення та стерилізації

1. ЗАГАЛЬНІ ПОЛОЖЕННЯ

1.1. Повна назва засобу – Засіб дезінфікуючий «Даноксин», що виготовляється у відповідності із ТУ У 20.2-40220141-004:2017 .

1.2. Фірма виробник – «ДАНА МЕДІКАЛ» (Україна),

1.3. Склад засобу, вміст діючих та допоміжних речовин, мас. %: перкарбонат натрію – 50%-55%, тетраацетилетилендіамін 18%-25%; інгібітор корозії, хелатний комплекси, стабілізатори, мийно-очищуюча композиція (в т.ч. може включати катіонактивні тензиди чи ензими), інші необхідні функціональні складові. При розчиненні у воді виділяється активний кисень.

1.4. Застосовується в лабораторіях різного профілю (клінічні, біохімічні, бактеріологічні, вірусологічні, імунологічні, мікологічні, клінічні та інші лабораторії різних підпорядкувань);

1.6.Спектр антимікробної дії. Засіб «Даноксин» має: **бактерицидні властивості по відношенню до грампозитивних та грамнегативних бактерій** у т. ч. щодо бактерій групи кишкової палички (включаючи ентерогеморагічну), інших ентеробактерій, в т.ч. стійких до гентаміцину і/або до цефалоспоринових), стафілококів (у т. ч. стійких до метациліну/оксациліну чи ванкоміцину, стійкі штами *S.pyogenes*, *S. maltophilia*), *Streptococcus pneumoniae*, ентерококів (у т. ч. стійких до ванкоміцину), неферментуючих бактерій із стійкістю до цефалоспоринових антибіотиків, *Pseudomonas aeruginosa* (в т.ч.

4

antibiotic resistant), *H. influenzae*, *Helicobacter pylori*, *Acinetobacter* spp. (у тому числі *A. baumannii* та *A. lwoffii*), *Citrobacter* spp., *Enterobacter* spp., *Enterobacter agglomerans*, *Klebsiella pneumoniae*, сальмонел, легіонел, лістерій, ієрсиніозів, чуми, туляремії, бруцельозу, холери, *Clostridium difficile*, інших збудників небезпечних та особливо-небезпечних, у т.ч. зоонозних інфекцій, анаеробних інфекцій тощо), туберкулоцидні (щодо збудників туберкульозу, *M. Terrae*)) і **спороцидні властивості** (в т.ч. щодо *Bacillus subtilis*, *Bacillus anthracis*); **віруліцидні властивості** (специфічна активність засобу перевірена на віруси групи поліомієліту, що забезпечує знищення усіх інших видів і груп збудників вірусних інфекцій, в т.ч. збудників парентеральних та ентеральних вірусних гепатитів (А, В, С), вірусу СНІДу (ВІІ), рота-, корона-, філовірусів, хантавірусів, ентеровірусів, вірусів грипу всіх видів (у т. ч. А(Н5N1) «пташиний грип», А(Н1N1) «свинячий грип» ін., парагрипу тощо), вірусу поліомієліту, герпесу та ін.; фунгіцидні властивості (включаючи збудників кандидозів, дерматомікозів, а також пліснявих грибів, в т.ч. у споровій формі тощо) та овоцидні і ларвіцидні властивості.

Таблиця 1. Розрахунки для приготування робочих розчинів засобу «Даноксин»

Концентрація розчину, (за препаратом), %	Кількість компонентів (мл) для приготування:			
	1,0 л		5,0 л	
	Кількість концентрату, г	Кількість води, мл	Кількість концентрату, г	Кількість води, мл
0,05	0,5	999,5	2,5	4997,5
0,1	1,0	999,0	5,0	4995,0
0,25	2,5	997,5	12,5	4987,5
0,5	5,0	995,0	25,0	4975,0
2,0	20,0	980,0	100,0	4900,0